

## AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTITRIGLISERIDA EKSTRAK TUNGGAL KEDELAI, DAUN JATI BELANDA SERTA KOMBINASINYA

Hidayat, M., Soeng, S., Prahastuti, S., Patricia, T.H. dan Yonathan, K.A.

Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Maranatha Jl. Prof. Drg. Suria Sumantri MPH No. 65 Bandung

E-mail: mellahidayat@yahoo.com

### ABSTRAK

Pada keadaan obesitas, terjadi keadaan stress oksidatif dan kadar trigliserida >200 mg/dL. Terapi untuk mengatasinya adalah pemberian antioksidan dan anti trigliserida. Tanaman yang mempunyai efek terhadap kedua hal tersebut, antara lain Kedelai dan Jati Belanda. Tujuan Penelitian mengetahui aktivitas antioksidan dan antitrigliserida ekstrak etanol biji kedelai Detam 1 (EEKD), ekstrak etanol daun jati Belanda (EEJB) bentuk tunggal dan kombinasinya secara *in vitro* dan *ex vivo*. Percobaan antioksidan *in vitro*, EEKD dan EEJB dibuat dalam 5 konsentrasi berbeda, kemudian tiap konsentrasi dibagi menjadi 5 kelompok. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan *microplate reader digital* dengan  $\lambda$  600 nm. Data dianalisis menggunakan ANAVA dan uji Tukey LSD,  $\alpha=0,05$ . Pada percobaan *ex vivo*, sel kultur HepG2 diberi enam perlakuan dengan 4 kali pengulangan. Setiap kelompok diinduksi dengan asam oleat dan palmitat. Parameter yang diamati adalah kadar trigliserida dengan metoda spektrofotometri. Data dianalisis dengan uji Kruskal Wallis dilanjutkan uji Mann Whitney. Hasil penelitian *in vitro*, pada semua konsentrasi, semua ekstrak menunjukkan aktivitas antioksidan, dan pada konsentrasi 800  $\mu\text{g/mL}$ , aktivitas tertinggi didapatkan pada kelompok kombinasi V. Pada percobaan antitrigliserida *ex vivo*, semua perlakuan menunjukkan perbedaan bermakna dengan kontrol negatif ( $p<0,05$ ). Pada konsentrasi ekstrak 250  $\mu\text{g/mL}$  persentase penurunan pada ekstrak tunggal EEJB atau EEKD lebih tinggi dibandingkan kombinasi dan berbeda signifikan ( $p<0,05$ ). Kedelai Detam 1 dan Daun Jati Belanda memiliki aktivitas antioksidan dan antitrigliserida. Ekstrak kombinasi memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak tunggalnya sedangkan ekstrak etanol tunggal daun Jati Belanda memiliki potensi antitrigliserida paling baik.

**Kata Kunci:** Antioksidan, antitrigliserida, EEKD, EEJB, kombinasi

### ABSTRACT

In obesity state, oxidative stress is happened and the triglyceride levels usually >200 mg/dl. The suitable therapy is giving antioxidants and anti triglyceride. Plants that have both effects, is soybean and Jati Belanda leaves. Research objectives is to determine antioxidant activities of single ethanol extract of soybean seeds Detam 1 (EESD), ethanol extract of Jati Belanda leaves (EEJB) and their combinations *in vitro* and *ex vivo*. The Research Methods is a real laboratory experimental. In antioxidants experiments, EESD and EEJB were made in 5 different concentrations, then each concentration subdivided into 5 groups. Measurements were performed using a microplate reader. Data were analyzed using ANOVA and Tukey LSD test,  $\alpha=0.05$ . In *ex vivo* experiments, HepG2 cells cultured were given six treatments with four replications. Parameters measured were trigly-

ceride levels by spectrophotometric method. Data were analyzed with the Kruskal-Wallis test followed with Mann Whitney test. Conclusion, Detam 1 soybean and Jati Belanda leaves have antioxidant activities and antitriglyceride. Extract combination has a higher antioxidant activity than single extracts while the ethanol extract of leaves of Jati Belanda has the most potential antitriglyceride effect.

**Key words:** Antioxidant, antitriglyceride, EESD, EEJB, combination

### PENDAHULUAN

Kasus kejadian obesitas meningkat pesat dalam tahun-tahun terakhir ini baik di negara maju maupun di negara berkembang. Di Indonesia prevalensi obesitas cenderung meningkat dari tahun ke tahun. Obesitas memegang peran penting dalam patogenesis berbagai kejadian penyakit kronik dan kasus kematian, seperti penyakit kardiovaskuler (WHO, 2012).

Penyakit kardiovaskuler, kanker, proses penuaan, penyumbatan pembuluh darah yang meliputi hiperlipidemia, aterosklerosis, stroke, dan tekanan darah tinggi, semuanya itu tergolong ke dalam penyakit degeneratif. Kerusakan yang terjadi terutama karena inflamasi yang disebabkan oleh stres oksidatif (Meerson, 1982; Abe dan Berk, 1998). Stres oksidatif adalah keadaan saat jumlah radikal bebas di dalam tubuh melebihi kemampuan tubuh untuk menetralkannya. Pada kondisi stres oksidatif terjadi peningkatan *Reactive Oxygen Species (ROS)* yang akan menyebabkan kerusakan sel, jaringan atau organ (Moller, 1996). Salah satu pendekatan terapi dalam menangkali stres oksidatif adalah dengan menyediakan antioksidan yang memadai untuk mengatasinya (Guyton dan Hall, 2007).

Trigliserida merupakan salah satu jenis lemak yang diangkut dalam darah dan disimpan pada jaringan lemak tubuh, kadar normalnya dalam darah tidak melebihi 150 mg/dL. Pada kondisi tertentu, seperti diabetes melitus, hiperlipidemia, kegemukan, dan penyakit bawaan lain, kadar trigliserida dapat meningkat hingga lebih dari 200 mg/dL, bahkan dapat mencapai 500 mg/dL-1000 mg/dL, kadang-kadang dapat mencapai 2000 mg/dL, disebut sebagai hipertrigliseridemia (Guyton dan Hall, 2007). Salah satu pendekatan terapi dalam mengatasi obesitas adalah menurunkan kadar trigliserida. Penderita obesitas umumnya memiliki kebiasaan mengkonsumsi lemak dan karbohidrat yang banyak dan melebihi kebutuhan tubuhnya dalam jangka waktu lama. Lemak dan karbohidrat yang tidak langsung digunakan akan disimpan dalam bentuk trigliserida. Lemak terutama disimpan dalam dua organ tubuh utama, yaitu jaringan adiposa dan hati (Guyton dan Hall, 2007). Metabolisme

lemak yang efisien sangat penting karena gangguan dalam proses ini akan menyebabkan berbagai penyakit metabolik. Cadangan lemak di hati sebagai hasil lipogenesis yang berlebihan akan menurunkan fungsi dan menyebabkan penyakit hati. Peningkatan asam lemak bebas (asam palmitat dan stearat) sebagai produk lipogenesis berperan besar dalam perlemakan hati dan obesitas dan meningkatkan gen lipogenik (Wei, 2007).

Terdapat beberapa sumber makanan dan tanaman obat yang mempunyai efek antioksidan serta antitrigliserida, antara lain Kedelai dan Jati Belanda. Dalam penelitian ini bahan penelitian yang dipilih adalah biji kedelai unggulan varietas *Detam 1* yang ditanam di perkebunan Balitkabi Malang (Balitkabi, 2011). dan daun Jati Belanda yang ditanam di perkebunan Bumi Herbal Dago (Bumi Herbal Dago, 2012). untuk diuji kandungan antioksidan dan potensi antitrigliseridanya. Selanjutnya bahan penelitian ini dibuat menjadi ekstrak etanol dengan metode maserasi sederhana dan didapatkan ekstrak etanol Kedelai *Detam 1* (EEKD) dan ekstrak etanol Jati Belanda (EEJB).

Hasil penelitian terdahulu, Ekstrak Etanol Biji Kedelai *Detam 1* terbukti mengandung fenolik, flavonoid H SO<sub>2</sub> triterpenoid, steroid, saponin, kuinon dan tanin, namun tidak mengandung alkaloid. Ekstrak Etanol Daun Jati Belanda terbukti mengandung fenolik, flavonoid H SO<sub>2</sub> triterpenoid, kuinon dan tanin, tapi tidak mengandung alkaloid steroid, saponin (Hidayat, 2012).

Isoflavon yang tergolong ke dalam flavonoid, merupakan antioksidan utama dalam kedelai. Genistein, salah satu jenis isoflavon, bersifat inhibitor ekstraselular pembentukan adiposit. Sedangkan dalam Daun jati Belanda, kandungan kimia alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, musilago, dan damar diduga dapat mendegradasi lemak dan menurunkan kadar Trigliserida dalam darah (Damanik, 2009). Kadar trigliserida plasma tikus *Sprague-Dawley* yang diberi daidzein dan genistein sintesis (23.6 mg/kgBB/hari turun secara signifikan dibandingkan yang diberi Casein (Damanik, 2002). Banyak penelitian yang mendukung, bahwa dosis farmakologis yang tinggi dari isoflavon dapat menghambat deposit jaringan adiposa. Bagaimana mekanisme isoflavon menurunkan adiposa belum diketahui dengan jelas. Penelitian *in vitro* yang menggunakan sel adiposa tikus yang diiso-lasi, menunjukkan bahwa genistein dan daidzein menginduksi lipolisis dengan cara menghambat cAMP phosphodiesterase (Szkudelska, 2000; Szkudelska, 2002).

Kombinasi dari dua jenis antioksidan mungkin dapat menghasilkan potensi aktivitas total antioksidan yang lebih tinggi, yang dikenal dengan efek sinergisme (Lingga, 2012). Untuk menguji efek tersebut, pada penelitian ini akan dilakukan pengukuran aktivitas antioksidan dan antitrigliserida ekstrak etanol tunggal dan kombinasi kedelai *Detam 1* serta daun jati Belanda secara *in vitro* dan *ex vivo*. Pemberian kombinasi EEKD dan EEJB diperkirakan menghasilkan aktivitas antioksidan dan anti trigliserida yang lebih tinggi daripada ekstrak tunggalnya sehingga potensinya lebih baik dalam menanggulangi obesitas dan penyakit degeneratif.

## TUJUAN PENELITIAN

Mengetahui aktivitas antioksidan dalam ekstrak etanol tunggal biji kedelai varietas *Detam 1*, daun Jati Belanda, dan kombinasinya secara *in vitro*, serta mengetahui potensinya sebagai antitrigliserida secara *ex vivo* pada sel kultur HepG2.

## METODOLOGI

Metode penelitian yang dilakukan adalah laboratorium eksperimental sungguhan dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Alat yang digunakan: alat ekstraksi, mikropipet, timbangan analitik, spatula, *falcon tube* 15 mL, *microtube*, *96-well plate*, dan *digital microplate reader*. Bahan yang digunakan: biji kedelai unggulan varietas *Detam 1*, daun Jati Belanda, etanol teknis 95%, aquadest, kit *Total Antioxidant Status (TAS)* Randox, *Dimethyl sulfoxide (DMSO)*.

Untuk penelitian antioksidan *in vitro*, Ekstrak Etanol Kedelai *Detam 1* (EEKD) dan Ekstrak Etanol Jati Belanda (EEJB) dibuat dalam 5 konsentrasi berbeda, yaitu: 800 µg/mL, 400 µg/mL, 200 µg/mL, 100 µg/mL dan 50 µg/mL. Kemudian masing-masing konsentrasi ekstrak dibagi lagi dalam 5 kelompok: Kelompok I (EEKD), Kelompok II (EEJB), Kelompok III (EEKD: EEJB= 1:1), Kelompok IV (EEKD: EEJB= 2:1), dan Kelompok V (EEKD: EEJB= 1:2). Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan *microplate reader digital* dengan panjang gelombang 600 nm.

Pada penelitian antitrigliserida *ex vivo*, subjek penelitian adalah kultur sel HepG2. Sel kultur HepG2 didapat dari *the American Type Culture Collection* (ATCC) (ATCC, 2013). dan selanjutnya dikultur terlebih dahulu dalam DMEM dengan 10% *fetal calf serum*, 100 U/mL penicillin, 100 mg/mL streptomycin, dan 2 mL-glutamine dan dijaga pada suhu 37 °C pada suasana kelembaban 5% CO<sub>2</sub>. Sel ditumbuhkan hingga konfluens 70% lalu diinkubasi dalam medium tanpa serum selama 24 jam sebelum perlakuan. Untuk menginduksi asam lemak, HepG2 cells pada konfluens 70% diberi campuran asam oleat dan palmitat (Kevin, 2013).

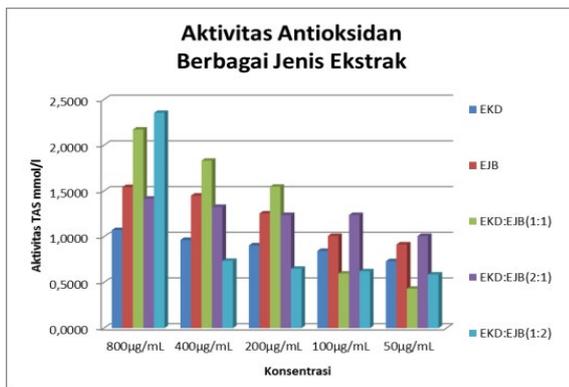
Sel HepG2 diberi enam perlakuan yaitu EEJB tunggal (P1), EEKD tunggal (P2), EEJB: EEKD= 1:1 (P3), EEJB: EEKD= 2:1 (P4), EEJB: EEKD= 1:2, dan kontrol negatif (P6) dengan 4 kali pengulangan pada konsentrasi ekstrak 250 µg/mL dan 15,625 µg/mL.

## HASIL PENELITIAN

Telah dilakukan penelitian *in vitro* aktivitas antioksidan (*Total Antioxidant Status*) ekstrak etanol kedelai *Detam 1* dan ekstrak etanol jati Belanda dalam ekstrak tunggal dan kombinasinya dengan hasil sebagai berikut:

Hasil Aktivitas antioksidan sebagaimana yang tampak dalam gambar 1 adalah:

Pada konsentrasi 800 µg/mL, aktivitas antioksidan tertinggi didapatkan pada kelompok V dengan kombinasi EEKD: EEJB= 1:2, yaitu 2,3543 mmol/L. Pada



Gambar 1. Diagram Hasil Aktivitas Antioksidan

konsentrasi 400 µg/mL dan 200 µg/mL, aktivitas antioksidan tertinggi didapatkan pada kelompok III dengan kombinasi EEKD: EEJB= 1:1, yaitu 1,8311 mmol/L dan 1,5464 mmol/L. Pada konsentrasi 100 µg/ml dan 50 µg/ml, aktivitas antioksidan tertinggi didapatkan pada kelompok IV dengan kombinasi EEKD: EEJB= 2:1, yaitu 1,2371 mmol/L dan 1,0071 mmol/L.

Untuk mengetahui apakah antar kelompok dengan konsentrasi 800 µg/mL berbeda bermakna dengan konsentrasi 100 µg/mL dan 50 µg/mL, maka dilakukan pengolahan data aktivitas antioksidan menggunakan uji ANAVA satu arah dengan tingkat kemaknaan  $\alpha=0,05$  dilanjutkan dengan uji LSD dengan hasil sebagai berikut (tabel 1 dan 2) (Patricia, 2013).

Dari hasil data yang diperoleh, kelompok konsentrasi 800 µg/ml berbeda bermakna dibandingkan dengan kelompok konsentrasi yang lainnya. Untuk menentukan apakah terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok ekstrak, maka dilakukan pengolahan data aktivitas antioksidan pada konsentrasi terbesar yaitu 800 µg/mL

Tabel 1. Nilai *P* Antar Keompok Dengan Konsentrasi 800 µg/mL Dana 400 µg/mL dengan 100 µg/mL dan 50 µg/mL

	Konsentrasi 800 µg/mL		Konsentrasi 400 µg/ml	
	Konsentrasi 50 µg/mL	Konsentrasi 100 µg/mL	Konsentrasi 50 µg/mL	Konsentrasi 100 µg/mL
EEKD	0,001	0,007	0,007	0,113
EEJB	0,000	0,000	0,000	0,000
EEKD: EEJB= 1:1	0,000	0,000	0,000	0,004
EEKD: EEJB= 2:1	0,000	0,002	0,001	0,209
EEKD: EEJB= 1:2	0,000	0,000	0,061	0,141

Tabel 2. Hasil uji ANAVA Aktivitas Antioksidan Antar Ekstra pada konsentrasi 800 µg/mL

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3.452	4	.863	54.497	.000
Within Groups	.158	10	.016		
Total	3.611	14			

menggunakan uji ANAVA satu arah dengan tingkat kemaknaan (*Level of Significance*)  $\alpha=0,05$ , dilanjutkan dengan uji Tukey LSD dengan hasil sebagai berikut (tabel 3).

Tabel 3. Hasil Uji Beda Rata-Rata Metode Tukey LSD

	KI (1,0726)	KII (1,5428)	KIII (2,1728)	KIV (1,4157)	KV (2,3543)
KI (1,0726)		**	**	**	**
KII (1,5428)			**	NS	**
KIII (2,1728)				**	NS
KIV (1,4157)					**
KV (2,3543)					

Berdasarkan analisis statistik dengan metode Tukey LSD dengan  $\alpha= 0,05$ , bila kelompok I dibandingkan dengan kelompok II, III, IV dan V, didapatkan perbedaan yang sangat bermakna. Hal ini menunjukkan bahwa kelompok II, III, IV dan V memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibanding dengan kelompok I. Kelompok II dibandingkan dengan kelompok III dan V, didapatkan perbedaan yang sangat bermakna namun, dibandingkan dengan kelompok IV didapatkan hasil tidak bermakna.

Hal ini menunjukkan kelompok II dan IV memiliki aktivitas antioksidan yang setara. Kelompok III dibandingkan dengan kelompok perlakuan IV didapatkan hasil yang sangat bermakna pada namun berbeda tidak bermakna dengan kelompok V. Hal ini menunjukkan kelompok III dan V memiliki aktivitas antioksidan yang setara. Kelompok IV dibandingkan dengan kelompok V menunjukkan hasil yang berbeda sangat bermakna. Hal ini menunjukkan potensi kelompok V lebih tinggi pada dibanding dengan kelompok IV. Kelompok kombinasi EEKD: EEJB= 1:2 menunjukkan aktivitas antioksidan yang paling tinggi.

Hasil pengujian aktivitas antitrigliserida ekstrak etanol kedelai Detam 1 dan ekstrak etanol jati Belanda dalam ekstrak tunggal dan kombinasinya pada konsentrasi 250 ug/mL dan 15,625 ug/mL, pada sel kultur HepG2 dengan dapat dilihat pada Tabel 3 dan 4 berikut (Kevin, 2013):

Pada konsentrasi rendah (15,625 ug/mL) kombinasi ekstrak etanol kedelai Detam 1 (EEKD) dan ekstrak etanol jati Belanda (EEJB) perbandingan 1:2 memiliki aktivitas antitrigliserida lebih tinggi (84,79%) dibandingkan dengan ekstrak tunggalnya. Akan tetapi pada konsentrasi yang tinggi, (250 ug/mL) ekstrak tunggal, baik EEKD maupun EEJB jauh lebih baik (Kevin, 2013).

Setelah dianalisis menggunakan uji Kruskal Wallis dilanjutkan dengan uji Mann Whitney semua perlakuan menunjukkan perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan dengan kontrol negatif ( $p<0,05$ ), menunjukkan bahwa semua perlakuan memiliki efek antitrigliserida. Pada konsentrasi ekstrak 250 µg/mL persentase penurunan trigliserida pada ekstrak

Tabel 3. Rerata Trigaserida dan Persentase Penurunan Triglicerida dengan Konsentasi Ekstrak 250 µg/ml

Perlakuan	Rerata	Persentase Penurunan Triglicerida
EEJB	1.59	97,52%
EEKD	3.40	94,69%
EEJB:EEKD (1:1)	36.40	43,04%
EEJB:EEKD (2:1)	14.29	77,63%
EEJB:EEKD (1:2)	44.77	29,94%
Kontrol (-)	63.90	

Tabel 4. Rerata Trigaserida dan Persentase Penurunan Triglicerida dengan Konsentasi Ekstrak 15,625 µg/ml

Perlakuan	Rerata	Persentase Penurunan Triglicerida
EEJB	21.03	84,15%
EEKD	39.54	70,20%
EEJB:EEKD (1:1)	79.62	39,98%
EEJB:EEKD (2:1)	20.18	84,79%
EEJB:EEKD (1:2)	61.77	53,44%
Kontrol (-)	132.67	

tunggal EEJB atau EEKD lebih tinggi dibandingkan kombinasi dan berbeda signifikan ( $p < 0,05$ ). Pada konsentrasi ekstrak 15,625 µg/mL, persentase penurunan trigliserida tertinggi adalah kombinasi EEJB:EEKD (2:1), namun berbeda tidak signifikan dengan EEJB tunggal, sebagaimana dapat dilihat pada Tabel 5 di bawah ini (Kevin, 2013):

Tabel 5. Analisis Uji Mann-Whitney Konsentrasi Ekstrak 15,625 µg/ml

Perlakuan	P1	P2	P3	P4	P5	P6
P1		*	*	NS	*	*
P2			*	*	*	*
P3				*	*	*
P4					*	*
P5						*
KN						

Keterangan :

- P1: Induksi asam oleat dan asam palmitat dengan pemberian konsentrasi EEJB 15,625 µg/ml
- P2: Induksi asam oleat dan asam palmitat dengan pemberian konsentrasi EEKD 15,625 µg/ml
- P3: Induksi asam oleat dan asam palmitat dengan pemberian konsentrasi EEJB:EEKD (1:1) 15,625 µg/ml
- P4: Induksi asam oleat dan asam palmitat dengan pemberian konsentrasi EEJB:EEKD (2:1) 15,625 µg/ml
- P5: Induksi asam oleat dan asam palmitat dengan pemberian konsentrasi EEJB:EEKD (1:2) 15,625 µg/ml
- P6: Kontrol negatif hanya induksi asam oleat dan asam palmitat

Keterangan: NS: Non signifikan\* : Signifikan

### PEMBAHASAN

Penelitian antioksidan *in vitro* yang telah dilakukan pada lima kelompok perlakuan dengan konsentrasi berbeda, didapatkan bahwa pemberian kombinasi EEKD dan EEJB mempunyai aktivitas total antioksidan

yang lebih tinggi dibandingkan dengan aktivitas EEKD dan EEJB pada ekstrak tunggalnya. Hal ini mungkin disebabkan adanya sinergisme antioksidan yang terkandung dalam EEKD dan EEJB memberikan potensi peningkatan aktivitas total antioksidan yang lebih tinggi (Lin, 2007). Sinergisme adalah efek kooperatif antioksidan atau antioksidan dengan senyawa lainnya untuk menghasilkan peningkatan aktivitas antioksidan dari jumlah masing-masing aktivitas antioksidan (Papas, 1999).

Pada tanaman obat, selain zat aktif sebagai komponen utama yang paling berpengaruh, masih terdapat senyawa-senyawa sampingan lain, walaupun dalam konsentrasi kecil, mungkin dapat mempengaruhi respon yang diharapkan. Dalam ekstrak etanol terdapat senyawa metabolit sekunder seperti: tanin, saponin, alkaloida dan lain-lain. Senyawa-senyawa tersebut akan mempengaruhi hasil respon. Pada konsentrasi kecil, senyawa-senyawa sampingan tersebut masih terdapat dalam jumlah yang kecil dan belum mempengaruhi atau mengganggu hasil yang diharapkan. Pada konsentrasi yang lebih besar, efek dari senyawa-senyawa sampingan tersebut menjadi besar secara perbandingan sehingga mulai berpengaruh dan mengganggu respon. Hal ini terjadi pada konsentrasi tinggi, senyawa-senyawa sampingan akan mengganggu hasil respon yang diharapkan (Hidayat, 2011). Dengan dikombinasikan dua jenis ekstrak, yang masing-masing mempunyai senyawa metabolit sekunder, akan saling berinteraksi. Mungkin berefek potensiasi pada konsentrasi yang kecil, mungkin juga sebaliknya yaitu saling melemahkan. Selain itu perlu juga menjadi pertimbangan bahwa pada konsentrasi yang terlalu tinggi, antioksidan yang berlebihan dapat berubah menjadi prooksidan. Oleh karena itu, pada konsentrasi yang lebih tinggi, respon antioksidan belum tentu menjadi lebih baik. Hal ini perlu diteliti lebih lanjut.

Percobaan antitrigliserida *ex vivo*, pada konsentrasi 250 µg/mL, dari semua perlakuan didapatkan hasil berbeda signifikan ( $p < 0,05$ ) jika dibandingkan kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwasemua perlakuan, EEJB dosis tunggal, EEKD dosis tunggal, maupun kombinasinya mempunyai efek antitrigliserida. Persentase penurunan trigliserida pada ekstrak tunggal EEJB atau EEKD lebih tinggi dibandingkan kombinasi dan berbeda signifikan ( $p < 0,05$ ) sehingga disimpulkan bahwa ekstrak tunggal mempunyai efek yang lebih baik. Pada konsentrasi 15,625 µg/mL semua perlakuan didapatkan hasil signifikan ( $p < 0,05$ ) dibandingkan kontrol negatif. Angka persentase penurunan trigliserida paling besar didapatkan pada kelompok EEJB: EEKD= 2:1 (84,79%). Akan tetapi dari hasil statistik, EEJB tunggal (84,15%) dibanding EEJB: EEKD= 2:1 menunjukkan hasil yang berbeda tidak signifikan ( $p > 0,05$ ), artinya potensi antara EEJB tunggal dibanding EEJB: EEKD= 2:1 dapat dianggap setara dalam menurunkan trigliserida. Jadi secara keseluruhan, disimpulkan bahwa efek antitrigliserida ekstrak tunggal lebih baik daripada kombinasinya (Patricia, 2013).

Ekstrak Etanol Kedelai *Detam 1* pada penelitian ini mengandung fenolik, flavonoid H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> triterpenoid, steroid, saponin, kuinon dan tanin, namun tidak mengandung

alkaloid.<sup>9</sup> Senyawa aktif dalam kedelai yang diduga berperan penting baik sebagai antioksidan maupun antitrigliserida adalah isoflavon fitoestrogen (isoflavones, subkelas dari flavonoid) (Irawati, 2011). Dikenal tiga isoflavon utama yaitu *genistein* (4',5,7-trihidroksiisoflavon), *daidzein* (4',7-dihidroksiisoflavon) serta unsur terkait seperti  $\beta$ -glikosida, dan *glycetin*. Pada manusia, *genistein* akan dimetabolisme menjadi *dihydrogenistein* dan 6'-hidroksi-*Odesmetilangolensin* (Anderson, 1995; Lichtenstein, 1998). Penelitian dari Harp menunjukkan bahwa *genistein* merupakan salah satu inhibitor ekstraselular pembentukan adiposit (Harp, 2004), sementara Hwang *et al.*, 2005 mendapatkan bahwa *genistein* dengan konsentrasi 20-200  $\mu$ M dapat menghambat proses diferensiasi adiposit (Hwang, 2005). Szkudelska mengemukakan bahwa *genistein* dapat mengurangi jumlah dan ukuran adiposit pada perkembangannya (Szkudelska, 2000). Pada sel kultur 3T3-L1 *daidzein* (20-200 $\mu$ M) terbukti menurunkan akumulasi trigliserida, meningkatkan apoptosis adiposit, meningkatkan lipolisis (aktivitas AMPK meningkat), meningkatkan pelepasan ROS dan menurunkan ekspresi PPAR $\gamma$  (Cox, 1994; dan Harmon, 2001).

Daun jati Belanda dapat mendegradasi lemak dan menurunkan kadar trigliserida karena kandungan kimia aktifnya, yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, musilago, karotenoid, asam fenol, dan damar (Cox, 1994). Kandungan alkaloid daun jati Belanda memiliki kemiripan struktur kimia dengan Orlistat, obat sintesis yang dapat menekan nafsu makan dengan cara menghambat kinerja enzim lipase sehingga absorpsi lemak dalam tubuh berkurang. Senyawa musilago yang terkandung dalam jati Belanda berefek mengendapkan protein yang ada di dalam permukaan usus halus sehingga dapat mengurangi penyerapan makanan sehingga menghambat proses absorpsi (Widyati, 2012). Senyawa tanin berefek inhibisi terhadap enzim lipase. Enzim ini berfungsi untuk menghidrolisis 1,3-54triasilgliserol menjadi 2 monoasilgliserol dan asam lemak bebas (Silitonga, 2008). Pada penelitian ini EEJB tidak mengandung musilago, alkaloid, saponin maupun damar (Hidayat, 2012). Senyawa aktif EEJB yang berperan sebagai antioksidan dan antitrigliserida kemungkinan adalah flavonoid, tannin, karotenoid, dan asam fenol.

## SIMPULAN

Kombinasi ekstrak etanol kedelai Detam 1 (EEKD) dan ekstrak etanol jati Belanda (EEJB) baik tunggal maupun kombinasi memiliki aktivitas antioksidan, namun aktivitas ekstrak kombinasi secara statistik lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak tunggal pada semua konsentrasi secara *in vitro*.; Ekstrak etanol kedelai Detam 1 (EEKD) dan ekstrak etanol jati Belanda (EEJB) baik tunggal maupun kombinasi memiliki aktivitas antitrigliserida, namun aktivitas ekstrak tunggal secara statistik lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak kombinasi pada sel kultur Hep G2 secara *ex vivo*. Ekstrak etanol tunggal daun Jati Belanda memiliki potensi antitrigliserida paling baik.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih LPPM Universitas Kristen Maranatha atas dukungan dana untuk terlaksananya penelitian ini. Kami haturkan terima kasih kepada Ibu Yellianty Lab Aretha Medika atas bantuannya dalam pengerjaan penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abe, J. & Berk, B.C. 1998. Reactive oxygen species as mediators of signal transduction in cardiovascular disease. *Trends Cardiovasc. Med.* 8: 59-64.
- Anderson, J.W., Johnstone, B.M. & Cook-Newell, M.E. 1995. Meta-analysis of the effects of soy protein intake on serum lipids. *N Engl J Med.* 333: 276-82.
- Balitkabi. 2011. *Balai Penelitian Tanaman Kacangkacangan dan Umbi-umbian*. Diambil dari <http://balitkabi.litbang.deptan.go.id/index.php/Kedelai/Varietas-unggul-Kedelai-Detam-1.html>. Diunduh 28 Jan 2011.
- Bumi Herbal Dago. 2012. Diambil dari <http://bumiherbal.com>/Diunduh 23 Januari 2013.
- Cox, P.A. & Balick, M.O.J. 1994. The ethnobotanical approach to drug discovery. *Sci Am* 270: 82-7.
- Damanik, & Alrasyid, H. 2009. Potensi Tempe Kedelai dalam Terapi Nutrisi Medik pada Obesitas Dewasa dengan Komorbid. Skripsi. Universitas Sumatera Utara *Institutional Repository*. Diunduh 25 Maret 2014.
- Damanik, I., Lamarche, B., Deshaies, Y. & Jacques, H. 2002. Role of soy isoflavones in the hypotriglyceridemic effect of soy protein in the rat. *J Nutr Biochem.* 13: 671-7.
- Guyton AC dan Hall JE. 2007. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. 11<sup>th</sup> edition. Jakarta: EGC.
- Harmon, A.W. & Harp, J.B. 2001. Differential effects of flavonoids on 3T3-L1 adipogenesis and lipolysis. *Am J Physiol Cell Physiol* 280: C807-13.
- Harp, J.B. 2004. New Insights into Inhibitors of Adipogenesis. *Curr Opin.* 15 (3): 303-7.
- Hidayat, M., Soeng, S. & Prahastuti, S. 2012. Characteristics of Combination of Ethanol Extract Detam 1 Soybean (*Glycine max* L.merr) and Ethanol Extract Jati Belanda Leaves (*Guazuma ulmifolia*) in Potential Inhibition of Pancreas Lipase Enzyme. Poster in International Seminar on Natural Products Medicines

- (ISNPM), School of Pharmacy, Bandung Institute of Technology.
- Hidayat, M. 2011. Aktivitas Ekstrak Protein Biji Kedelai (*Glycine Max L. Merr*) Varietas Detam 1 terhadap Pengendalian Berat Badan Dan Peningkatan Kadar Kolesistokinin Melalui Mekanisme Aktivitas *Mitogen Activated Protein Kinase* (MAPK) pada Tikus Wistar Jantan. Universitas Padjadjaran: Disertasi.
- Hwang, J.T., Park, I.J., Shin, J.I., Lee, Y.K., Lee, S.K. & Baik, H.W. 2005. Genistein, EGCG, and Capsaicin Inhibit Adipocyte Differentiation Process via Activating AMP-Activated Protein Kinase. *Biochem Biophys Res Commun.* 338 (2): 694-9.
- Irawati. & Dwi, R.R. 2011. Faktor-faktor yang Berhubungan dengan Kadar Trigliserida dalam Darah. Unimus Semarang. Digital Library.
- Kevin, P. 2013. Efek Ekstrak Etanol Kedelai Varietas Detam 1, daun Jati belanda (*Guazuma ulmifolia*) dan Kombinasinya terhadap Kadar Trigliserida Sel Kultur HepG2 secara *ex vivo*. Universitas Kristen Maranatha Repository. Diunduh tanggal 24 Maret 2014.
- Lichtenstein, A.H. 1998. Soy Protein, Isoflavones. *J. Nutr.* 128 (10):1589-92. Review. PubMed PMID: 9772121.
- Lin, C.L., Huang, H.C. & Lin, J.K. 2007. Theaflavins attenuate hepatic lipid accumulation through activating AMPK in human HepG2 cells. *Journal of Lipid Research.* 48: 2334-43.
- Lingga, L. 2012. The Healing Power of Anti-oxidant. Jakarta: Elex Media Komputindo.
- Meerson, F.Z., Kagan, V.E., Yu, K.P., Belkina, L. & Yu, A.V. 1982. The role of lipid peroxidation in pathogenesis of ischemic damage and the antioxidant protection of the heart. *Basic Res. Cardiol.* 77: 465-485.
- Papas, A.M. 1999. Antioxidant, Status, Diet, Nutrition, and Health. Washington DC: CRC Press.
- Hermanto, P.T. 2013. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Biji Kedelai (*Glycine max (L.) Merr*) Varietas Detam 1, daun Jati belanda (*Guazuma ulmifolia*) dan Kombinasinya. Universitas Kristen Maranatha Repository. Diunduh tanggal 24 Maret 2014.
- Silitonga, R.F. 2008. Daya Inhibisi Ekstrak Daun Jati Belanda dan Bangle Terhadap Aktivitas Lipase Pankreas sebagai Antiobesitas. [skripsi]. Lampman GM. 2005. Diunduh 25 Februari 2014.
- Szkudelska, K., Nogowski, L. & Szkudelski, T. 2000. Genistein affects lipogenesis and lipolysis in isolated rat adipocytes. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 75: 265-71.
- Szkudelska, K., Szkudelski, T. & Nogowski, L. 2002. Daidzein, coumestrol and zearalenone affect lipogenesis and lipolysis in rat adipocytes. *Phytomedicine.* 9: 338-45.
- Wei, Y., Wang, D., & Pagliassotti, M.J. 2007. Saturated fatty acid-mediated endoplasmic reticulum stress and apoptosis are augmented by trans-10, cis-12-conjugated linoleic acid in liver cells. *Molecular and Cellular Biochemistry.* 303 (1-2) 105-113.
- WHO. 2012. Obesity and overweight. *WHO*. [Online] May 2012. <http://www.who.int>.
- Widyati, R.M. 2012. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Jati Belanda (*Guazuma Ulmifolia* Lamk) terhadap Berat Badan, Berat Testis, dan Jumlah Sperma Mencit (*Mus Musculus L*) Swiss Webster. Digital Repository. Universitas Pendidikan Indonesia. Diunduh 25 Maret 2014.