

## PROFIL SENYAWA DAN AKTIFITAS ANTIOKSIDAN DAUN YAKON (*Smallanthus sonchifolius*) DENGAN METODE DPPH DAN CUPRAC

Arde T. Nugraha\*, Muhammad S. Firmansyah, Pinus Jumaryatno

Program Studi Farmasi Universitas Islam Indonesia

\*email : [arde.toga@uii.ac.id](mailto:arde.toga@uii.ac.id)

### ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the potential antioxidant activity of yacon leaf (*Smallanthus sonchifolius*) based on the antioxidant activity DPPH and CUPRAC. It also searches compounds from the leaves yacon (*Smallanthus sonchifolius*). The research process begins with the extraction process used soxletasion with 96% ethanol. The extract was tested qualitatively DPPH and calculated levels of total flavonoids and total phenolic. Result of total flavonoids was 98.229 mg QE / g. Result of total phenolic content was 27.246 mg GAE / g. Extract later in the fractionation and produces seven factions. The results of the fractions are conducted quantitative DPPH and CUPRAC. The value of antioxidant activity using DPPH method was IC<sub>50</sub> 106.57 µg/ml and CUPRAC 31407.79 RE mol/g extract. The results showed that yacon (*Smallanthus sonchifolius*) has a good potential as an antioxidant.

**Keywords** : Yacon, *Smallanthus sonchifolius*, DPPH, CUPRAC

### PENDAHULUAN

Radikal bebas dapat didefinisikan sebagai suatu atom atau molekul yang reaktif memiliki elektron tidak berpasangan dan menginduksi radikal bebas. *Reactive Oxygen Species* (ROS) secara luas diyakini terlibat sebagai penyebab berbagai penyakit seperti penuaan dini, kanker, penyakit jantung koroner, penyakit alzheimer,

### INTISARI

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi aktifitas antioksidan dari daun yacon (*Smallanthus sonchifolius*) berdasarkan pada aktifitas antioksidan DPPH dan CUPRAC. Selain itu juga melakukan penelusuran kandungan senyawa dari daun yacon (*Smallanthus sonchifolius*). Proses penelitian diawali dengan proses ekstraksi menggunakan metode sokhletasi dengan pelarut etanol 96%. Ekstrak kemudian di uji DPPH secara kualitatif dan dilakukan penghitungan kadar total flavonoid dan total fenoliknya. Hasil total flavonoid sebesar 98,229 mg QE/ g ekstrak dan total fenolik sebesar 27,246 mg GAE/ g. Ekstrak kemudian di fraksinasi dan menghasilkan tujuh fraksi. Hasil fraksi-fraksi tersebut kemudian dilakukan uji kuantitatif DPPH dan CUPRAC. Nilai aktifitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH sebesar IC<sub>50</sub> 106,57 µg/ml dan CUPRAC sebesar 31407,79 µmol Rutin Equivalence/g ekstrak. Hasil tersebut memperlihatkan bahwa yacon (*Smallanthus sonchifolius*) memiliki potensi yang cukup baik dalam perannya sebagai antioksidan.

**Kata kunci** : yacon, *Smallanthus sonchifolius*, DPPH, CUPRAC

gangguan neurodegeneratif, aterosklerosis, katarak dan termasuk peradangan yang ditunjukkan dengan tanda-tanda stress oksidatif (Battu *et al.*, 2011). Senyawa ROS diantaranya adalah radikal anion superoksida, oksigen singlet, hidrogen peroksida dan radikal hidroksil yang sangat reaktif (Waris dan Ahsan, 2006).

Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) merupakan herbal abadi yang berasal dari

family Asteraceae dan merupakan tanaman asli pegunungan andes. Russo, *et al.* mengemukakan bahwa salah satu manfaat dari tanaman Yakon ialah sebagai antioksidan. Pembuktian bahwa yakon memiliki kemampuan antioksidan digunakan uji dengan metode *FARP*, *DPPH*, *nitric oxide dan superoxide*. Yakon juga dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan diukur dengan menggunakan metode ABTS (Sousa *et al.*, 2015). Kemudian dari hasil pengujian yang dilakukan, diketahui kapasitas antioksidan daun yakon dengan menggunakan metode DPPH adalah  $EC_{50} = 220,5 \text{ g/ dry weight}$  dan menggunakan ABTS sebesar  $433,13 \mu\text{M equiv. trolox/g dry weight}$  (Andrade *et al.*, 2014).

Proses isolasi senyawa aktif dari tanaman yakon sudah pernah dilakukan dengan menggunakan aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glucosidase sebagai penuntun. Hasil penelitian diperoleh persen penghambatan ekstrak etanol daun yakon terhadap enzim  $\alpha$ -glucosidase sebesar 17,67 %. Kemudian dari proses fraksinasi, fraksi ketujuh merupakan fraksi terbaik dalam menghambat enzim tersebut yaitu sebesar 22,42 % (Jumaryatno *et al.*, 2015)

Yakon (*Smallanthus sonchifolius*) memiliki kandungan senyawa fenol alami seperti *chologenic (3-caffeoylaltratic)*, *3,5-dicaffeoylquinic* dan *caffeic acids*. Selain itu, yakon juga memiliki kandungan senyawa flavonoid yaitu quersetin yang diperoleh dari hasil hidrolisis (Tekenaka *et al.*, 2003). Oleh karena itu, tanaman Yakon merupakan salah satu tanaman yang memiliki potensi dalam aktivitas antioksidan yang cukup baik.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi antioksidan dari tanaman yakon dengan menggunakan *Bioassay guided isolation* dengan metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) dan CUPRAC (*Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity*). Pengujian dilakukan terhadap ekstrak hingga fraksi aktifnya. Selain itu juga mengidentifikasi kandungan senyawa pada tanaman yakon.

## METODOLOGI PENELITIAN

### **Bahan dan Alat**

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun Yakon (*Smallanthus*

*sonchifolius*) yang diperoleh dari Daerah. Etanol 96% sebagai pelarut, metanol, kloroform, n-heksan, etil asetat yang berderajat proanalisis. Plat TLC silica gel 60 F<sub>254</sub>, silica gel Kiesegel 60 (0,063mm-200mm).

Bahan yang digunakan untuk uji penangkapan radikal DPPH adalah DPPH *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*, Metanol (MeOH) yang berderajat pro analisis. Bahan yang digunakan untuk uji aktivitas antioksidan CUPRAC adalah etanol 96%, aquabides, CuCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O, ammonium asetat dan neokuproin

### **Jalannya Penelitian**

Penelitian diawali dengan melakukan determinasi tanaman Yakon di Laboratorium Biologi Farmasi, Laboratorium Terpadu, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia. Kemudian daun yang telah diperoleh dibersihkan dan disortasi untuk menghilangkan kotorannya. Daun yang telah bersih kemudian dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 50°C selama 48 jam. Simplisia tersebut kemudian dihaluskan hingga lolos mesh 60.

Serbuk daun Yakon kemudian diekstraksi dengan menggunakan metode soxhletasi dengan pelarut etanol 96%. Hasil ekstraksi tersebut kemudian dipekatkan dengan metode vacuum rotary evaporator hingga di peroleh ekstrak kental.

Ekstrak kental yang diperoleh kemudian difrasinasi dengan menggunakan metode VLC (Vacuum Liquid Chromatography) dengan variasi fase gerak.

### **Uji Total Fenolik dan Total Flavonoid Ekstrak**

Ekstrak yang diperoleh terlebih dahulu dihitung total senyawa fenolik yang terkandung dengan menggunakan metode *Folin-Ciocalteu*. Pengukuran dilakukan dengan 1 mL sampel dicampurkan dengan 1 mL reagen *Folin-Ciocalteu*. Setelah 3 menit ditambahkan 1 mL Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> jenuh (35%) dan di campurkan hingga larut. Larutan kemudian didiamkan 90 menit diruang yang gelap untuk kemudian dilihat absorbansinya pada gelombang 725 nm.

Penghitungan kadar total Flavonoid pada ekstrak juga dilakukan dengan mencampurkan 500  $\mu\text{l}$  aliquot ekstrak ditambahkan 1 mL NaNO<sub>2</sub> (5%). Setelah

didiamkan 6 menit ditambahkan 1 mL  $AlCl_3$  10% dan 10 mL NaOH (1M) dan tambahkan etanol 70% sampai 25 mL dan didiamkan selama 15 menit. Larutan tersebut kemudian dilihat dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 515 nm dengan etanol 70 % sebagai kontrol.

### **Pengujian aktivitas penangkapan radikal DPPH**

Pengujian aktivitas penangkapan radikal DPPH dilakukan dengan cara sampel uji dengan berbagai variasi kadar (10  $\mu$ g/ml, 15  $\mu$ g/ml, 20  $\mu$ g/ml, 25  $\mu$ g/ml, 30  $\mu$ g/ml) ditambahkan 1ml DPPH (25ppm). Campuran tersebut kemudian diiamkan selama 30 menit dan dibaca menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517nm (Sarker dan Nahar, 2012). Senyawa pembanding digunakan dalam uji penangkapan radikal bebas DPPH ini adalah kuersetin yang sudah diketahui sebagai antioksidan.

Parameter yang digunakan untuk aktivitas antioksidan dengan metode penangkapan radikal DPPH ini adalah IC50, yaitu konsentrasi senyawa uji yang dibutuhkan untuk menangkap radikal bebas DPPH sebanyak 50%. Semakin kecil nilai dari IC50, maka semakin kuat senyawa uji tersebut sebagai penangkap radikal DPPH.

### **Pengujian Aktivitas Antioksidan CUPRAC**

Penentuan aktivitas antioksidan dengan metode CUPRAC (*Cupric ion Reducing Antioxidant Capacity*) dilakukan dengan cara melakukan uji CUPRAC menggunakan senyawa pembanding yaitu rutin. Senyawa rutin dibuat dengan berbagai konsentrasi (10  $\mu$ g/ml, 15  $\mu$ g/ml, 20  $\mu$ g/ml, 25  $\mu$ g/ml dan 30  $\mu$ g/ml) kemudian ditambahkan kedalam larutan  $CuCl_2 \cdot 2H_2O$  0,01 M, neokuproin etanolik 0,0075 dan buffer amonium asetat pH 7 1M. Campuran tersebut kemudian diiamkan selama 1 jam dan dibaca pada serapan gelombang maksimum 451 nm. Aktivitas antioksidan dinyatakan pada kapasitas reduksi CUPRAC hasil pengurangan absorbansi sampel terhadap absorbansi kontrol (Apak *et al.*, 2008).

### **Identifikasi Golongan Senyawa**

Identifikasi golongan senyawa yang dilakukan terdiri dari uji golongan alkaloid, flavonoid, polifenol, fenolik dan terpenoid. Uji golongan yang dilakukan sebagian besar

menggunakan KLT dan pereaksi semprot (secara kualitatif). Pada pengujian golongan senyawa alkaloid dilakukan dengan pereaksi semprot menggunakan larutan Dragendroff. Larutan  $AlCl_3$  digunakan untuk mengidentifikasi senyawa flavonoid. Selain itu untuk mendeteksi senyawa terpen digunakan larutan anisaldehyd yang disemprotkan pada plat KLT yang telah di eluasi dengan ekstrak maupun fraksi.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Ektrak kental yang diperoleh ditimbang dan dibandingkan bobotnya dengan simplisia awal yang digunakan. Perbandingan dalam persen menyatakan nilai rendeman dari ekstrak tersebut. Hasil rendeman ekstrak etanol daun yakon *Smallanthus sonchifolius* adalah sebesar 22,4%.

Tahap selanjutnya setelah proses ekstraksi adalah fraksinasi. Proses tersebut dilakukan dengan metode *Vaccum Liquid Chromatography* menggunakan 7 variasi fase gerak yaitu n-heksan 100%, n-heksan:etil asetat (30:20), n-heksan:etil asetat (20:30), etil asetat 100%, etil asetat:metanol (30:20), etil asetat:metanol (20:30), metanol 100% masing-masing volume 100 ml. Yang kemudian disebut fraksi 1-7. Hasil rendemen fraksi dapat dilihat pada tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil Rendemen Fraksi dari Ekstrak Etanol Daun *Smallanthus sonchifolius*

Fraksi	Bobot (g)
n-heksan 100% [F1]	n/a
n-heksan : etil asetat (30:20) [F2]	1,2426
n-heksan : etil asetat (20:30) [F3]	1,2851
etil asetat 100% [F4]	1,18
etil asetat : metanol (30:20) [F5]	1,2837
etil asetat : metanol (20:30) [F6]	1,1634
metanol 100% [F7]	1,0627

Total flavonoid dan total fenolik adalah metode yang dapat melihat secara kuantitatif jumlah senyawa-senyawa fenolik di dalam suatu tanaman. Kadar total flavonoid pada ekstrak etanol daun yakon sebesar 98,229 mg QE/ g ekstrak. Hal tersebut menandakan bahwa setiap 1 gram ekstrak yakon memiliki kadar senyawa

flavonoid sebesar 98,229 mg. Hal ini juga berlaku pada perhitungan total fenolik. Hasil perhitungan menunjukkan angka 27,246 mg GAE/ g ekstrak. Hasil tersebut bermakna bahwa setiap 1 gram ekstrak yakon memiliki senyawa fenolik dengan kadar 27,246 mg.

Pengujian antioksidan dilakukan dengan dua metode yaitu DPPH dan CUPRAC. Selain itu untuk metode DPPH juga dilakukan pengujian secara kualitatif. Pengujian kualitatif ini dilakukan untuk melihat lebih awal apakah ada aktifitas antioksidan dari sampel.

Pengujian antioksidan DPPH pada penelitian ini dilakukan menggunakan plat KLT yang telah di eluasi dan ditotolkan sampel. Terdapat bercak putih kekuningan pada plat KLT. Hal ini menunjukkan secara kualitatif ekstrak yakon memiliki efek antioksidan. Pengujian secara kualitatif juga dilakukan pada fraksi dari ekstrak yakon. Terlihat adanya bercak putih kekuningan pada fraksi nomer 4,5,6 dan 7. Hal ini dapat diartikan bahwa senyawa-senyawa antioksidan yang terdapat pada daun yakon memiliki sifat semipolar hingga polar.

Fraksi-fraksi yang dihasilkan kemudian dilakukan pengujian antioksidan secara kuantitatif dengan metode DPPH maupun CUPRAC. Metode DPPH digunakan untuk melihat daya antioksidan suatu senyawa dengan adanya reduksi antara DPPH dengan senyawa oksidan (pokorny *et al.*, 2001). Dari hasil penelitian diperoleh nilai kapasitas antioksidan yang terbaik adalah pada fraksi empat dan enam yaitu dengan  $IC_{50}$  sebesar 106,57  $\mu\text{g/ml}$  dan 141,02  $\mu\text{g/ml}$ . Hasil tersebut dinilai cukup baik walaupun jauh dari angka control positifnya yaitu kuersetin dengan  $IC_{50}$  2,61  $\mu\text{g/ml}$ . Namun, mengingat kontrol positif merupakan senyawa murni dan tunggal maka nilai aktivitas antioksidan dari fraksi empat dan enam masih dapat dikatakan cukup baik.

Pengujian aktifitas antioksidan dengan metode CUPRAC juga memperlihatkan adanya aktifitas antioksidan yang positif. Hasil tersebut memperlihatkan bahwa fraksi empat dan enam memiliki aktifitas antioksidan yang sangat baik bila dibandingkan dengan control positif yang digunakan. Nilai aktifitas antioksidan fraksi 4 adalah 31407,79  $\mu\text{mol}$  Rutin Equivalence/g ekstrak dan fraksi 6 sebesar 16323,10  $\mu\text{mol}$  Rutin Equivalence/g ekstrak. Metode

CUPRAC sendiri digunakan lebih banyak pada pengujian kapasitas antioksidan untuk senyawa-senyawa fenolik (Apak, 2008). Oleh karena itu, dari fraksi-fraksi tersebut diprediksi memiliki kandungan senyawa-senyawa fenolik yang cukup banyak.

Identifikasi senyawa selain dengan kuantitatif (total fenolik dan total flavonoid) juga dilakukan dengan kualitatif. Identifikasi dilakukan dengan deteksi flavonoid, polifenol, fenol, alkaloid dan terpenoid. Identifikasi senyawa dilakukan pada ekstrak dan fraksi etil asetat yaitu fraksi ke empat.

Hasil pengujian identifikasi flavonoid dengan menggunakan plat KLT yang telah di totolkan sampel, dieluasi dan kemudian di semprot menggunakan  $\text{AlCl}_3$  memperlihatkan hasil yang positif dengan ditandai oleh bercak berwarna kuning pada ekstrak maupun fraksi.

Hasil pengujian identifikasi senyawa polifenol menggunakan pereaksi semprot  $\text{FeCl}_3$ . Setelah proses eluasi dan penyemprotan pada ekstrak maupun fraksi memiliki hasil yang positif. Hal ini dapat terlihat pada bercak berwarna biru kehijauan pada plat KLT yang telah disemprot dengan pereaksi  $\text{FeCl}_3$ .

Hasil pengujian identifikasi senyawa fenol dalam ekstrak maupun fraksi etil asetat daun yakon juga menghasilkan kesimpulan bahwa kedua sampel tersebut positif mengandung senyawa fenol, dimana setelah dilakukan eluasi dan kemudian di semprot dengan pereaksi Folin Ciocalteu menghasilkan warna biru.

Pengujian deteksi senyawa alkaloid dilakukan dengan menggunakan pereaksi semprot *Dragendorff*. Setelah dilakukan penotolan dan eluasi dengan fase gerak, plat KLT di semprot menggunakan pereaksi *Dragendorff*. Hasil pengamatan tidak terlihat adanya senyawa alkaloid pada ekstrak maupun fraksi, dimana tidak ada bercak berwarna merah bata yang muncul setelah dilakukan penyemprotan.

Pengamatan juga dilakukan untuk melakukan identifikasi terhadap senyawa terpenoid. Deteksi menggunakan pereaksi semprot anisaldehyd-asam sulfat. Dari hasil pengamatan yang dilakukan diperoleh bahwa ekstrak dan fraksi yang di uji positif mengandung senyawa terpenoid. Hal ini dapat dilihat pada timbulnya bercak biru dan merah pada plat KLT.

## KESIMPULAN

Hasil penelitian dan pembahasan yang telah dilakukan menunjukkan bahwa daun yacon (*Smallanthus sonchifolius*) diketahui memiliki kandungan senyawa flavonoid, polifenol, fenolik dan terpenoid. Secara kuantitatif juga diketahui bahwa kandungan flavonoid pada ekstrak sebesar 98,229 mg QE/ g ekstrak dan fenolik sebesar 27,246 mg GAE/ g. Hasil pengamatan aktifitas antioksidan diperoleh aktifitas peredaman radikal bebas DPPH sebesar IC<sub>50</sub> 106,57 µg/ml dan CUPRAC sebesar 31407,79 µmol Rutin Equivalence/g ekstrak.

## DAFTAR PUSTAKA

- Battu, G.R. Ethadi, S.R. Veda Priya, G. Swathi Priya, K. Chandrika, K. Venkateswara Rao, A. 2011. Evaluation of antioxidant and anti-inflammatory activity of *Euphorbia heyneana* Spreng. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1, S191–S194.
- Russo, D. Valentão, P. Andrade, P. Fernandez, E. dan Milella, L. 2015. Evaluation of Antioxidant, Antidiabetic and Anticholinesterase Activities of *Smallanthus sonchifolius* Landraces
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., dan Esin Çelik, S., 2008. Mechanism of antioxidant capacity assays and the CUPRAC (cupric ion reducing antioxidant capacity) assay. *Springer-Verlag*, 160, 413–419.
- and Correlation with Their Phytochemical Profiles. *International Journal of Molecular Sciences*, 16, 17696-17718.
- Sousa, S. Pinto, J. Rodrigues C. Gíao M. Pereira C. Távora F. Malcata F.X. Gomes A. Pacheco, M.T. B. Pintado, M. 2015. Antioxidant properties of sterilized yacon (*Smallanthus sonchifolius*) tuber flour. *Food Chemistry*, 188, 504-509.
- Andrade, E.F. Leone, R.S. Ellendersen, L.N, Masson, M.L. 2014. Phenolic Profile and Antioxidant Activity of Extract of Leaves and Flowers of Yacon(*Smallanthus sonchifolius*). *Industrial Crops and Products* 499-506.
- Jumaryatno, P. Nugraha, A.T., Anshory, H. 2015. *Potensi Antiglikemia Ekstrak dan Fraksi Daun Yacon (Smallanthus sonchifolius) terhadap Penghambatan Enzim α-Glukosidase*. Prosiding Symposium Himpunan Kimia Bahan Alam. Malang, 10-11 November 2015.
- Tekenaka, M., Yan, X., Ono, H., Yoshida, M., Nagata, T., Nakanishi, T., 2003. Caffeic acid derivatives in roots of yacon (*Smallanthus sonchifolius*). *J. Agric. Food Chem.* 51, 793–796.
- Pokorny, J. Yanishlieva, N. dan Gordon, M. 2001. Antioxidants in Food: Practical Applications. *Elsevier*, 15-60.