

Analisis Kadar Metabolit Sekunder, Histokimia, dan Aktivitas Antioksidan Akar *Acalypha indica* L.

Novia Agustina^{1*}, Nurul Istiqomah¹

¹ Jurusan Biologi, Fakultas Teknologi dan Manajemen Kesehatan, Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri,

Jl. KH. Wahid Hasyim No. 65 Kota Kediri 64114, Indonesia

* Penulis Korespondensi. Email: novia.agustina05@gmail.com

ABSTRAK

Acalypha indica L. merupakan spesies tumbuhan liar yang diketahui memiliki senyawa metabolit sekunder yang dapat digunakan sebagai bahan obat, namun penggunaannya sampai saat ini masih belum optimal. Penelitian ini bertujuan untuk mengukur kadar, mengetahui lokasi dan distribusi senyawa metabolit sekunder yang terdapat di dalam akar *Acalypha indica* L., serta mengetahui kemampuannya sebagai agen antioksidan. Pengukuran kadar metabolit sekunder, meliputi fenol, flavonoid, dan tanin dari ekstrak kloroform dan methanol akar *Acalypha indica* L menggunakan spektrofotometer. Analisis histokimia dilakukan dengan membuat irisan segar akar yang direaksikan dengan reagen. Sedangkan pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH. Hasil penelitian menunjukkan kadar metabolit sekunder pada ekstrak kloroform, meliputi fenol $9,89 \pm 0,77$ %GAE, flavonoid $5,87 \pm 1,40$ %QE, dan tanin $3,33 \pm 1,21$ %GAE. Sedangkan pada ekstrak methanol, fenol $45,11 \pm 4,86$ %GAE, flavonoid $19,87 \pm 0,61$ %QE, dan tanin $6,76 \pm 0,31$ %GAE. Hasil analisis histokimia menunjukkan adanya fenol, flavonoid, tanin dan alkaloid pada akar *Acalypha indica* L. Pengukuran aktivitas antioksidan menunjukkan nilai IC₅₀ $161,81 \pm 7,88$ µg/mL untuk ekstrak kloroform dan $92,81 \pm 4,33$ µg/mL untuk ekstrak metanol.

Kata Kunci:

Metabolit sekunder; Histokimia; Antioksidan; Akar *Acalypha indica*

Diterima:

11-08-2021

Disetujui:

16-08-2021

Online:

25-08-2021

ABSTRACT

Acalypha indica L. is a species of wild plant that has secondary metabolites are used as medicine, but the usage is not optimized yet. The objective of of this study was to determine secondary metabolites content, location and distribution of secondary metabolites, and also the capacity for antioxidant. Secondary metabolites content was determined included phenol, flavonoids, tannin of chloroform and methanol extracts from *Acalypha indica* L. root, using spectrophotometre. Histochemical test was done by making fresh sliced preparation which was reacted with reagent. Antioxidant activity was determined by using DPPH method. The result of this study showed that secondary metabolites content of chloroform extract, were phenol $9,89 \pm 0,77$ %GAE, flavonoids $5,87 \pm 1,40$ %QE, and tannin $3,33 \pm 1,21$ %GAE, while methanol extract were phenol $45,11 \pm 4,86$ %GAE, flavonoids $19,87 \pm 0,61$ %QE, and tannin $6,76 \pm 0,31$ %GAE. Histochemical test showed that phenol, flavonoids, tannin, and alkaloids were found in *Acalypha indica* L. root. Antioxidant activity showed the IC₅₀ value was $161,81 \pm 7,88$ µg/mL for chloroform extract and $92,81 \pm 4,33$ µg/mL for methanol extract.

Keywords:

Secondary metabolites; Histochemical; Antioxidant; *Acalypha indica*'s root

Received:

Accepted:

Online:

1. Pendahuluan

Metabolit sekunder merupakan zat kimia bukan nutrisi yang memainkan peran penting dalam proses keberadaan suatu organisme di lingkungan. Tumbuhan diketahui memiliki ragam metabolit sekunder yang lebih banyak dibandingkan organisme lain, seperti hewan, maupun mikroorganisme [1]. Sebagian besar metabolit sekunder dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat. Tumbuhan memiliki banyak senyawa kimia yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat, seperti tanin, flavonoid, alkaloid, antosianin, fenol, dan senyawa lain. Komponen senyawa bioaktif tersebut bersifat farmakologi dan sebagian besar berasal dari metabolit sekunder [2].

Acalypha indica L. merupakan spesies tumbuhan yang umumnya dikenal sebagai tumbuhan liar karena dapat tumbuh di pinggir jalan, lapangan rumput dan lereng gunung. *Acalypha indica* L. masuk dalam kelompok famili Euphorbiaceae. *Acalypha indica* L. memiliki daun berseling, bentuk bulat lonjong sampai lanset, bagian ujung dan pangkal daun lancip, tepi bergerigi, panjang daun 2,5-8 cm dan lebar 1,5-3,5 cm. Bunga berkelamin tunggal dan berumah satu, keluar dari ketiak daun dan bertipe malai [3].

Acalypha indica L. telah digunakan dalam pengobatan tradisional sejak dahulu. *Acalypha indica* L. biasa digunakan untuk mengobati disentri, diare, malnutrisi, gangguan pencernaan, melena, hematuria, malaria, bisul, dermatitis, eksema dan gigitan ular [3]. Daun *Acalypha indica* L. juga berkhasiat untuk pencahar dan obat sakit mata [4]. Beberapa negara lain juga memanfaatkan *Acalypha indica* L. sebagai tumbuhan obat, seperti Sri Lanka dan India. Di India, daun, akar, batang dan bunga *Acalypha indica* L digunakan sebagai antelmintik, ekspektoran, emetik, dan *anodyne* [5][6]. Senyawa metabolit sekunder yang diketahui terkandung dalam *Acalypha indica* L. di antaranya saponin, tannin, flavonoid, dan minyak atsiri [4]

2. Metode

Penelitian yang dilakukan meliputi pengukuran kadar fenol, flavonoid, dan tanin, pengamatan histokimia lokasi dan distribusi senyawa metabolit sekunder, serta pengukuran aktivitas antioksidan. Data pengukuran kadar metabolit sekunder dilakukan dengan menggunakan kurva standard. Data hasil uji histokimia diperoleh melalui foto dari preparat segar penampang melintang sampel yang direaksikan dengan reagen pereaksi, dan dianalisis secara deskriptif. Sedangkan aktivitas antioksidan diukur menggunakan metode DPPH, dan dianalisis menggunakan regresi sehingga dihasilkan nilai IC₅₀

2.1. Bahan

Sampel yang dipakai adalah akar *Acalypha indica* L. yang diperoleh dari kawasan Bulaksumur, Yogyakarta.

2.2 Ekstraksi Tumbuhan

Ekstraksi sampel menggunakan metode maserasi bertingkat. Sampel simplisia serbuk sebanyak 10 gr dilarutkan dengan 150 mL pelarut kloroform selama 3 hari, kemudian di

remaserasi 2 kali dengan masing-masing volume 50 mL pelarut. Ekstrak kemudian disaring dan dikeringkan. Ekstrak tersebut kemudian dikeringkan hingga kloroformnya hilang dan dilarutkan kembali menggunakan metanol dengan cara yang sama.

2.3 Pengukuran Kadar Fenol Total

Pengukuran kadar fenol total menggunakan metode Folin Ciocalteu dengan modifikasi^[7]. Ekstrak sampel dilarutkan ke dalam metanol dengan konsentrasi 1mg/mL. Sebanyak 100 µL campuran tersebut ditambahkan dengan 100 µL reagen Folin Ciocalteu 50%. Larutan kemudian diinkubasi selama 3 menit pada suhu ruang dan ditambahkan 2 mL Natrium karbonat 2%. Volume larutan dibuat menjadi 3 mL dengan menambahkan akuades. Larutan tersebut kemudian disimpan 1 menit dalam water bath 100°C kemudian dibiarkan dingin dalam gelap. Sampel kemudian diabsorbansi dengan spektrofotometer *Visible* pada panjang gelombang 760 nm. Total fenol dihitung menggunakan kurva standar dari asam galat 1 mg/mL.

2.3. Pengukuran Kadar Flavonoid Total

Pengukuran kadar flavonoid total menggunakan spektrofotometer^[8]. Ekstrak sampel dengan konsentrasi 1 mg/mL, sebanyak 500 µL, ditambahkan dengan 2 ml akuabides dan 150 µL NaNO₂ 5%, kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 6 menit. Sampel kemudian ditambahkan dengan 150 µL AlCl₃ 10% dan diinkubasi pada suhu ruang selama 6 menit. Sampel kemudian ditambahkan lagi dengan 1 mL NaOH 1M dan akuabides hingga volume 5 mL. Selanjutnya, sampel diabsorbansi pada panjang gelombang 510 nm. Total flavonoid dihitung menggunakan kurva standar dari Quercetin 1 mg/mL.

2.4. Pengukuran Kadar Tanin

Tanin diukur dengan metode Folin Ciocalteu dengan modifikasi^[9]. Sebanyak 500 µL ekstrak sampel 1 mg/mL ditambahkan dengan 500 µL reagen Folin Ciocalteu, serta 1 mL Na₂CO₃ 35%. Larutan tersebut kemudian ditambahkan dengan akuades hingga 10 mL. Larutan dikocok dan disimpan pada suhu kamar selama 30 menit. Asam galat digunakan sebagai standar dan dibuat seri (20, 40, 60, 80 and 100 µg/mL). Larutan sampel dan standar diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-vis pada panjang gelombang 725 nm.

2.5. Analisis Histokimia

Analisis histokimia dilakukan dengan membuat preparat segar yang direaksikan dengan reagen^{[10][11]}. Preparat diamati dengan mikroskop cahaya monokuler Nikon dan dipotret menggunakan kamera digital CASIO Exilim EX-ZS6.

2.6. Pengukuran Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan diukur dengan metode DPPH. Ekstrak sampel sebanyak 10 mg dilarutkan ke dalam 10 mL metanol. Larutan stok ekstrak dibuat lima seri, misalnya 200, 400, 600, 800, dan 1000 $\mu\text{g/mL}$ hingga didapatkan nilai tengah inhibisi (inhibisi $\pm 50\%$). Larutan ekstrak tersebut sebanyak 1 mL ditambahkan dengan 2 mL larutan DPPH 0,05 mM dan diinkubasi dalam gelap selama 30 menit. Asam askorbat (vitamin C) digunakan sebagai kontrol positif dengan seri pengenceran (20, 40, 60, 80, dan 100 $\mu\text{g/mL}$).

3. Hasil dan Pembahasan

Pengukuran kadar metabolit sekunder pada penelitian ini dilakukan dengan mengukur kadar fenol, flavonoid dan tanin. Data pengukuran kadar metabolit sekunder pada akar *Acalypha indica* L., meliputi fenol, flavonoid, dan tanin, dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kadar Metabolit Sekunder Ekstrak Kloroform dan Methanol Akar *Acalypha indica* L.

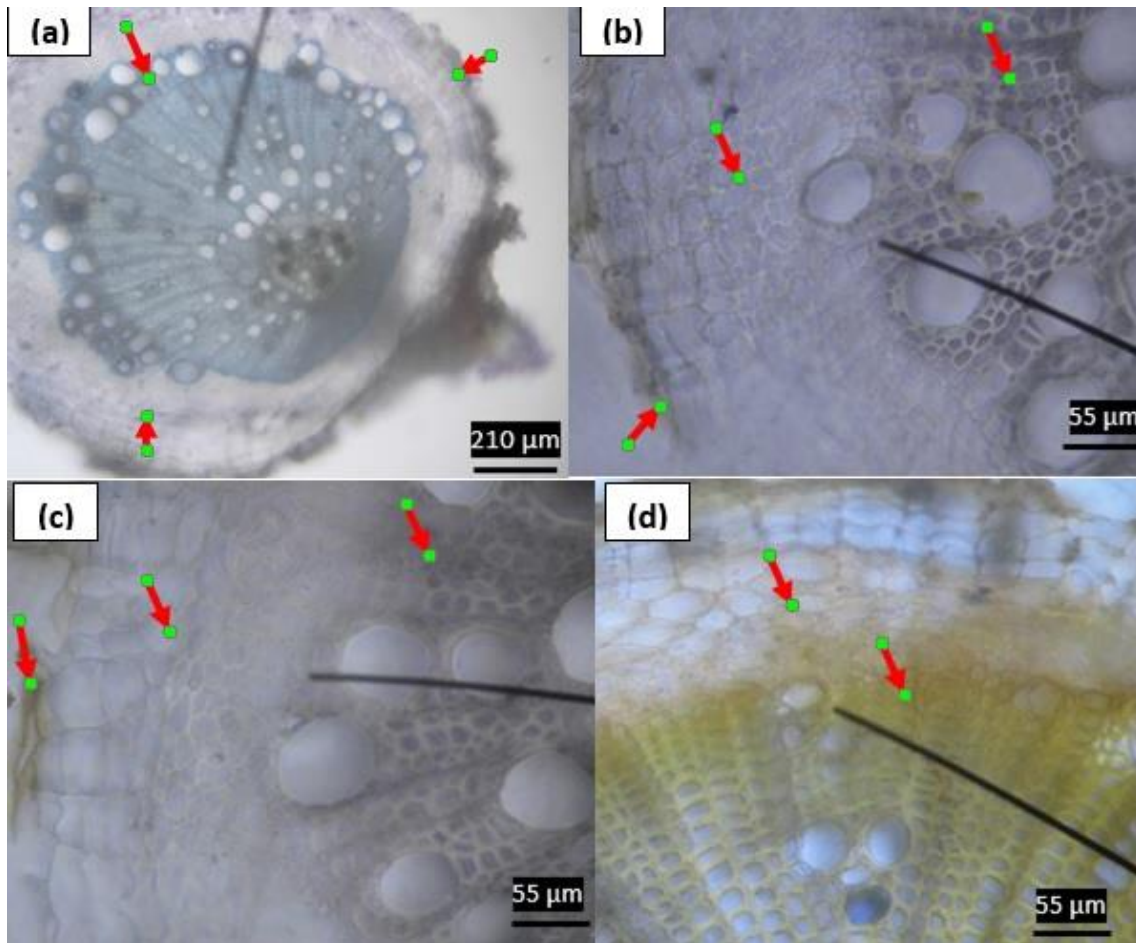
Ekstrak akar	Kadar metabolit sekunder		
	Fenol %GAE	Flavonoid %QE	Tanin %GAE
<i>A.indica</i>			
Kloroform	9,89 \pm 0,77	5,87 \pm 1,40	3,33 \pm 1,21
Metanol	45,11 \pm 4,86	19,87 \pm 0,61	6,76 \pm 0,31

Hasil penelitian menunjukkan adanya senyawa fenol, flavonoid, dan tanin pada ekstrak kloroform dan metanol akar *Acalypha indica* L. Penelitian yang dilakukan oleh [12] juga membuktikan adanya senyawa kimia alkaloid, saponin, flavonoid, fenol, dan glikosida pada daun *Acalypha indica*, sedangkan pada batang dan akar *Acalypha indica* terkandung tanin, alkaloid, saponin, flavonoid, fenol dan glikosida. Kadar senyawa fenol, flavonoid, dan tanin lebih banyak terkandung di dalam ekstrak metanol dibandingkan ekstrak kloroform akar *Acalypha indica* L. Hal ini dikarenakan senyawa tersebut lebih bersifat polar, dan metanol merupakan pelarut yang lebih polar dibandingkan kloroform.

Analisis histokimia dilakukan untuk mengetahui lokasi dan distribusi senyawa kimia tumbuhan. Analisis histokimia dilakukan dengan membuat preparat irisan segar dari akar *Acalypha indica* L. yang direaksikan dengan reagen spesifik. Hasil analisis histokimia menunjukkan adanya distribusi senyawa fenol, tanin, flavonoid, dan alkaloid, seperti pada Tabel 2 dan Gambar 1..

Tabel 2. Lokasi Senyawa Metabolit Sekunder pada Akar *Acalypha indica* L.

Metabolit sekunder	Lokasi senyawa metabolit sekunder pada akar <i>A.indica</i>
Fenol	Jaringan pelindung, jaringan xylem, lapisan dinding sel parenkim korteks
Flavonoid	Jaringan pelindung, jaringan xylem, parenkim korteks
Tanin	Jaringan pelindung, jaringan xylem, parenkim korteks
Alkaloid	Parenkim korteks, jaringan xylem



Gambar 1. Distribusi Metabolit Sekunder pada Akar *Acalypha indica* L., (a) Fenol, (b) Flavonoid, (c) Tanin, (d) Alkaloid; tanda panah menunjukkan lokasi metabolit sekunder

Deteksi senyawa fenol ditandai dengan terbentuknya warna biru pada jaringan akar. Hal ini seperti yang dinyatakan oleh [11], deteksi fenol dilakukan dengan reagen Toluidine blue yang menunjukkan positif warna biru. Flavonoid, tanin, dan alkaloid ditandai dengan terbentuknya warna kuning, hijau, dan jingga pada jaringan. Reagen $AlCl_3$ untuk flavonoid dengan warna positif kuning [13]. $FeCl_3$ untuk tanin dengan warna positif hijau kehitaman dan biru kehitaman [14] [15]. Dragendorff untuk alkaloid [15]

Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan mencari nilai IC_{50} dari ekstrak kloroform dan ekstrak metanol akar *Acalypha indica* L. Aktivitas antioksidan diukur dengan metode DPPH. Hasil pengukuran aktivitas antioksidan menunjukkan hasil nilai IC_{50} $161,81 \pm 7,88 \mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak kloroform dan $92,81 \pm 4,33 \mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak metanol akar *Acalypha indica* L. Nilai IC_{50} menunjukkan jumlah antioksidan yang dibutuhkan untuk menghambat 50% konsentrasi DPPH [16] [17]. Semakin tinggi aktivitas antioksidan maka nilai IC_{50} semakin rendah [18]. Sampel yang menunjukkan nilai $IC_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$ merupakan antioksidan yang sangat kuat, $50-100 \mu\text{g/mL}$ merupakan antioksidan kuat, $101-150 \mu\text{g/mL}$ merupakan antioksidan tingkat sedang, sedangkan $>150 \mu\text{g/mL}$ merupakan antioksidan yang lemah [19], sehingga ekstrak metanol *Acalypha indica* L. termasuk dalam kategori antioksidan kuat.

Hasil penelitian di beberapa negara juga menyebutkan adanya khasiat *Acalypha indica* L. sebagai antioksidan. Penelitian Shanmugapriya, *et al.* menunjukkan hasil bahwa ekstrak metanol akar *Acalypha indica* L. memiliki aktivitas antioksidan 53,27% pada konsentrasi 600 µg yang diuji dengan metode DPPH [20]. Penelitian Balakhrisnan *et al.* juga membuktikan bahwa ekstrak air akar *Acalypha indica* L. menunjukkan aktivitas antioksidan 59,83%, sedangkan ekstrak etanol 64,74% pada konsentrasi 1000 µg^[21].

4. Kesimpulan

Akar *Acalypha indica* L. memiliki kandungan senyawa fenol, flavonoid, dan tanin. Ekstrak methanol akar *Acalypha indica* L. memiliki kadar fenol, flavonoid, dan tanin yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak kloroform. Sebagian besar senyawa tersebut terdapat di jaringan pelindung, jaringan xylem, dan parenkim korteks. Ekstrak methanol akar *Acalypha indica* l. juga menunjukkan aktivitas antioksidan yang cukup kuat

Referensi

- [1] Mursyidi, A. 1990. *Analisis Metabolit Sekunder: Alkaloid*. Yogyakarta: Proyek Pengembangan Pusat Fasilitas Bersama Antar Universitas (Bank Dunia XVII)-PAU Bioteknologi Universitas Gadjah Mada.
- [2] Dewick, P.M. (2009). *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach*, Third Edition. United Kingdom: John Wiley and Sons Ltd.
- [3] Wijayakusuma, H., Wirian, A.S., Yaputra, T., Dalimartha, S., dan Wibowo, B. (1992). *Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia*. Jakarta: Pustaka Kartini
- [4] Hutapea, J.R. *et al.* (1993). *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (II)*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan-DepKes RI.
- [5] Handa, S.S., Rakesh, D.D. dan Vasisht, K. (2006). *Compendium of Medicinal and Aromatic Plants ASIA*. Italia: United Nations Industrial Development Organization and the International Centre for Science and High Technology.
- [6] Joy, P.P., Thomas, J., Mathew, S. Dan Skaria, B.P. (1998). *Medicinal Plants*. India: Kerala Agricultural University.
- [7] Mullick, A., Mandal, S., Bhattacharjee, R. dan Banerjee, A. (2013). In-Vitro Assay of Antioxidant and Antibacterial Activity of Leaf Extract and Leaf Derived Callus Extract of *Acalypha indica* L. *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 3(1): 504-510.
- [8] Woraratphoka, J., Intarapichet, K., & Indrapichate, K. (2012). Antioxidant Activity and Cytotoxicity of Six Selected, Regional, Thai Vegetables. *American-Eurasian Journal of Toxicological Sciences* 4 (2): 108-117.
- [9] Mythili, K., Reddy, C.U., Chamundeewari, D., dan Manna, P.K. (2014). Determination of Total Phenol, Alkaloid, Flavonoid and Tannin in Different Extracts of *Calanthe Triplicata*. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2(2): April - June
- [10] Berlyn, G.P. dan Miksche, J.P. (1976). *Botanical Microtechnique and Cytochemistry*. Iowa: The Iowa State University Press.
- [11] Stahl, E. (1985). *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi*. Bandung: ITB.
- [12] Nkumah, O.C., Esther, A.E., Adimonyemma, R.N., Cletus, N.O., dan Iroka, C.F. (2016). Preliminary Phytochemical Screening on the Leave, Stem and Root of *Acalypha Indica*, *The Pharmaceutical and Chemical Journal* 3(3):8-11

- [13] Markham, K.R. (1988). *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Terjemahan Kosasih Padmawinata. Bandung: Penerbit ITB
- [14] Upton, R., Graff, A., Jolliffe, G., Länger, R., Williamson, E. & Swisher, D. (2011). *Botanical Pharmacognosy-Microscopic Characterization of Botanical Medicines*. United State: CRC Press Taylor & Francis Group.
- [15] Evans, W.C. & Trease. (2009). *Pharmacognosy, 15th edition*. Edinburgh, London, New York, Philadelphia, St.Louis, Sydney, Toronto: Saunders Elsevier.
- [16] Antolovich, M., Prenzler, P.D., Patsalides, E., McDonald, S., dan Robards, K. (2002). Methods for Testing Antioxidant Activity. *Analyst*, 127: 183-198
- [17] Tirzitis, G. dan Bartosz, G. (2010). Determination of Antiradical and Antioxidant Activity: Basic Principles and New Insights. *Acta Biochimica Polonica*, 57(1): 139-142.
- [18] Molyneux, P. (2004). The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarinn J. Sci. Technol.*, 26(2): Maret-April
- [19] Fidrianny, I., Nurfitri, H., Sukrasno. (2015). In Vitro Antioxidant Activities, Phenolic, Flavonoid, and Carotenoid Content From Different Polarity Extracts of Five Citrus Peels Using DPPH and Cuprac Method, *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 7(4): 1525-1531
- [20] Shanmugapriya, R., Ramanathan, T. dan Thirunavukkarasu, P. (2011). Evaluation of Antioxidant Potential and Antibacterial Activity of *Acalypha indica* Linn. Using in vitro Model. *Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, 1(1): 18-22.
- [21] Balakhrisan, N., Panda A.B., Raj, N.R., Shrivastava, a., dan Prathani, R. (2009). The Evaluation of Nitric Oxide Scavenging Activity of *Acalypha Indica* Linn Root. *Asian Journal of Research in Chemistry*, 2(2): April-June.