

EKSTRAKSI BUAH API-API SERTA POTENSINYA SEBAGAI ANTIOKSIDAN ENDOGEN ENZIM KATALASE

MODUL KARYA TEKNOLOGI



Penyusun:

Dr. apt. Maria Caecilia Nanny Setiawati, M.Sc.

Dra. apt. Siti Munisih, M.Si.

apt. Ika Puspitaningrum, M.Sc.

apt. Yustisia Dian Advistasari, M.Sc.

**SEKOLAH TINGGI ILMU FARMASI
YAYASAN PHARMASI SEMARANG
AGUSTUS 2020**

EKSTRAKSI BUAH API-API SERTA POTENSINYA SEBAGAI ANTIOKSIDAN ENDOGEN ENZIM KATALASE

1. Latar Belakang

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan dan bersifat sangat reaktif (Fessenden, 1986). Radikal bebas berpotensi bahaya karena cenderung mengisi orbit terluar yang tunggal dengan elektron lain. Ketika radikal bebas dekat dengan target molekul, yang mempunyai satu atau lebih elektron, seperti molekul dari asam lemak tidak jenuh, radikal bebas tersebut akan segera menarik keluar elektron dari target molekul tadi (Winarsi, 2007).

Produksi radikal bebas yang melebihi dari kemampuan antioksidan intrasel untuk menetralkannya, sangat potensial menyebabkan kerusakan sel. Sering kali kerusakan ini disebut sebagai kerusakan oksidatif atau stress oksidatif (Suarsana, *et al.*, 2013). Stres oksidatif didefinisikan sebagai kondisi ketidakseimbangan produksi senyawa oksigen reaktif (SOR) dan status antioksidan endogenus (Barcelo, *dkk.*, 2006). Kerusakan oksidatif atau stress oksidatif yang diakibatkan oleh radikal bebas berimplikasi pada berbagai kondisi patologis, yaitu kerusakan sel, jaringan, dan organ baik pada manusia maupun hewan. Kerusakan ini dapat berakhir pada kematian sel sehingga terjadi percepatan timbulnya berbagai penyakit degeneratif (Valko, *et al.*, 2007).

Diabetes mellitus, salah satu penyakit degeneratif, umumnya terjadi stres oksidatif yang dapat merusak berbagai macam sel sehingga terjadi peningkatan radikal bebas berupa hidrogen peroksida (H_2O_2). Hidrogen peroksida merupakan senyawa toksik yang bersifat sangat reaktif. Antioksidan endogen dibutuhkan untuk meredamnya, salah satunya adalah enzim katalase. Enzim katalase adalah suatu antioksidan enzimatik yang terdapat di dalam tubuh, yang dapat mengkatalisis hidrogen peroksida menjadi oksigen dan air.

Sebenarnya tubuh memiliki mekanisme pertahanan tersendiri terhadap radikal bebas. Sistem antioksidan tubuh sebagai mekanisme perlindungan terhadap serangan radikal bebas, secara alamiah telah ada dalam tubuh. seperti Superoxyde Dismutase (SOD) dan katalase, namun jika Senyawa Oksigen Reaktif (SOR) terbentuk berlebihan maka tidak dapat dihambat secara proses oksidatif, oleh karena itu diperlukan tambahan antioksidan dari luar tubuh (antioksidan eksogen) (Suryohudoyo, 2000).

Avicennia marina yang dikenal dengan nama Api-api merupakan salah satu jenis tanaman bakau yang tersebar luas di Indonesia (Noor, dkk., 2006). Beberapa penelitian tentang Api-api menunjukkan khasiatnya sebagai antioksidan invitro dan hepatoprotektif (Hardiningtyas, dkk., 2014). Penelitian Setiawati (2016) membuktikan bahwa ekstrak etanol buah Api-api dapat berefek antidiabetes mellitus yang diduga disebabkan karena adanya kandungan metabolit sekunder flavonoid (Setiawati, dkk., 2016).

Berdasarkan penjelasan di atas, maka penelitian perlu dilakukan mengenai efek ekstrak etanol buah api-api (*Avicennia marina*) terhadap aktivitas antioksidan endogen enzim katalase pada tikus putih yang menderita diabetes melitus dengan penginduksian aloksan. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai manfaat ekstrak etanol buah api-api sebagai antioksidan sehingga dapat dijadikan salah satu alternatif obat herbal. Selanjutnya suatu produk sediaan farmasi tablet untuk diabetes mellitus dapat dihasilkan.

2. Tinjauan

2.1. Api-api (*Avicennia marina*)



Gambar 1. Tanaman dan Buah Mangrove Api-api (*Avicennia marina*)

Bakau api-api putih merupakan salah satu jenis bakau yang tersebar di seluruh Indonesia dengan kondisi yang melimpah (Noor, dkk., 2006). *A. marina* juga di kenal dengan nama api-api. Api-api juga memiliki nama daerah seperti kayu kendeke, kayu ting (Manado), kibalanak (Sunda), api-api brayu, api-api kacang, bogem (Jatim), peape (Madura). Di Indonesia, api-api memiliki sejumlah nama, diantaranya mangi-mangi, sia-sia, boak, koak, merana pejapi, papi, atau nyapi (Anonim, 2011).

Daun api-api putih dimanfaatkan oleh masyarakat pesisir sebagai bahan pangan dan obat-obatan. Pengalaman secara tradisional, bakau ini di beberapa daerah telah digunakan untuk sayuran serta mengobati berbagai jenis penyakit, contoh hepatitis, kusta, rematik,

cacar, bisul, dan obat luka bakar (Bandaranayake 2002; Noor, dkk. 2006). Daun digunakan untuk mengatasi kulit yang terbakar dan obat anti fertilitas tradisional oleh masyarakat pantai. Hampir seluruh bagian tumbuhan ini dapat dimanfaatkan seperti akar, kulit batang, daun, bunga atau biji, bahkan eksudat tanamannya (zat nabati yang secara spontan keluar, dikeluarkan, atau diekstrak dari jaringan sel tanaman) (Halidah, 2014).

Penelitian menunjukkan bahwa seluruh bagian tanaman memiliki kandungan alkaloid, saponin, dan glikosida yang cukup tinggi. Kandungan tanin terdapat pada daun, biji dan kulit serta sedikit pada batang, getah dan akar. Flavonoid banyak terdapat pada kulit, biji, batang dan akar. Tetapi flavonoid pada dan dan getah berada dalam jumlah yang lebih sedikit. Triterpenoid terdapat pada semua bagian terutama pada daun dan akar, sedangkan untuk seluruh bagian tanaman tidak ada yang mengandung steroid (Kusmana, dkk. 2009).

2.2. Katalase

Katalase adalah enzim yang mengubah hidrogen peroksida menjadi air. Katalase berlokasi di sitoplasma eritrosit tetapi berada dalam peroksisom pada sel lain. Konsentrasi katalase tertinggi di dalam hati dan eritrosit, tetapi kurang terdapat pada otak, jantung dan otot rangka. Konsentrasi katalase rendah pada saat produksi hidrogen peroksida direduksi secara efisien dalam sel oleh glutathion peroksida dan berperan penting bila konsentrasi hidrogen peroksida tersebut tinggi (Haliwell dan Gutteridge, 1999).

Hidrogen peroksida (H_2O_2) merupakan salah satu radikal bebas yang menjadi sumber toksik berbagai macam penyakit karena dapat bereaksi menimbulkan kerusakan jaringan. Katalase sebagai antioksidan endogen memiliki peran utama dalam mengontrol konsentrasi H_2O_2 dengan mengkatalisis H_2O_2 menjadi oksigen dan air sehingga bersifat non toksik (Murray *et al.*, 2003).

2.3. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan tahap awal untuk melepaskan senyawa dari suatu sampel atau matriks sehingga diperoleh ekstrak kasar yang masih berisi campuran senyawa yang sangat kompleks (Cannell, 1998). Ekstrak dapat berupa kering, kental, dan cair. Pembuatan ekstrak dimaksudkan agar zat berkhasiat dalam simplisia mempunyai kadar yang tinggi (Anief, 2000).

Ekstraksi atau penyarian adalah kegiatan penarikan zat kimia yang dapat larut dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Tujuan dari ekstraksi adalah untuk pemurnian, pemekatan atau pemisahan untuk tujuan analitik. Pemilihan ekstraksi tergantung

dari bahan tanaman yang akan diekstraksi. Ekstraksi bahan tanaman yang tahan terhadap suhu tinggi dapat dilakukan dengan menggunakan ekstraksi soxhletasi ataupun proses refluks. Sedangkan ekstraksi bahan tanaman yang tidak tahan terhadap suhu tinggi dapat dilakukan perendaman atau maserasi. Maserasi dibagi menjadi dua metode yaitu maserasi cara dingin dan maserasi cara panas. Maserasi cara panas atau yang biasa disebut digesti adalah perendaman simplisia yang dibantu dengan adanya suhu pemanasan 40°C – 50°C (Depkes RI, 1986). Larutan pengestraksi yang digunakan disesuaikan dengan kepolaran senyawa-senyawa yang diinginkan. Larutan pengestraksi yang digunakan adalah n-heksana, etil asetat, etanol (Voight, 1995).

3. Metode

3.1. Pengeringan dan Pembuatan Serbuk

Buah api-api dibersihkan dari bahan-bahan pengotor dengan menggunakan air bersih. Buah yang telah dibersihkan tersebut lalu dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C sampai kering. Simplisia yang telah kering kemudian diblender dan diayak.

3.2. Ekstraksi Buah Api-api

Serbuk buah Api-api diremaserasi dengan 1 liter etanol 96% (1:10) selama 5 hari, sampai filtrat jernih. Hasil filtrat dari penyarian ini digabung dan diuapkan dengan rotary evaporator sampai diperoleh ekstrak kental.

3.3. Penapisan Fitokimia

Ekstrak diperiksa ada tidaknya kandungan alkaloid, flavonoid, saponin, kuinon, tanin, dan steroid/triterpenoidnya secara penapisan fitokimia.

3.4. Uji Antioksidan Enzim Katalase

a) Penyiapan Hewan Uji

Disiapkan 25 ekor tikus putih jalur Wistar umur 2-3 bulan berat 150-200 gram serta alat dan bahan yang akan dipakai. Sebelum perlakuan, tikus terlebih dahulu diadaptasikan dalam kondisi laboratorium selama satu minggu dengan diberi makan yang cukup.

b) Pengelompokan hewan uji

Hewan uji yang telah diadaptasi dikelompokkan menjadi 5 kelompok perlakuan, diambil darahnya melalui vena mata dan diukur kadar gula darah awalnya sebagai data normal (awal), setelah itu seluruh hewan uji dibuat diabetes melitus dengan induksi aloksan

dosis 150 mg/kgBB tikus secara intraperitoneal. Kemudian pada hari kelima setelah induksi diambil darahnya dan diukur kadar gula darahnya (induksi). Kelompok perlakuan terdiri dari 5 ekor hewan uji, terdiri dari:

Kelompok 1 : Hewan uji diberi CMC Na 0,1% secara oral sebagai kontrol negatif dan diberi pakan dan aquadest.

Kelompok 2 : Hewan uji diberi glibenklamid dengan dosis 0,63 mg/KgBB tikus secara oral sebagai kontrol positif serta diberi pakan dan aquadest.

Kelompok 3 : Hewan uji diberi ekstrak etanol buah api-api dosis 0,63 mg/KgBB tikus secara oral serta diberi pakan dan aquadest.

Kelompok 4 : Hewan uji diberi ekstrak etanol buah api-api dosis 1,26 mg/KgBB tikus secara oral serta diberi pakan dan aquadest.

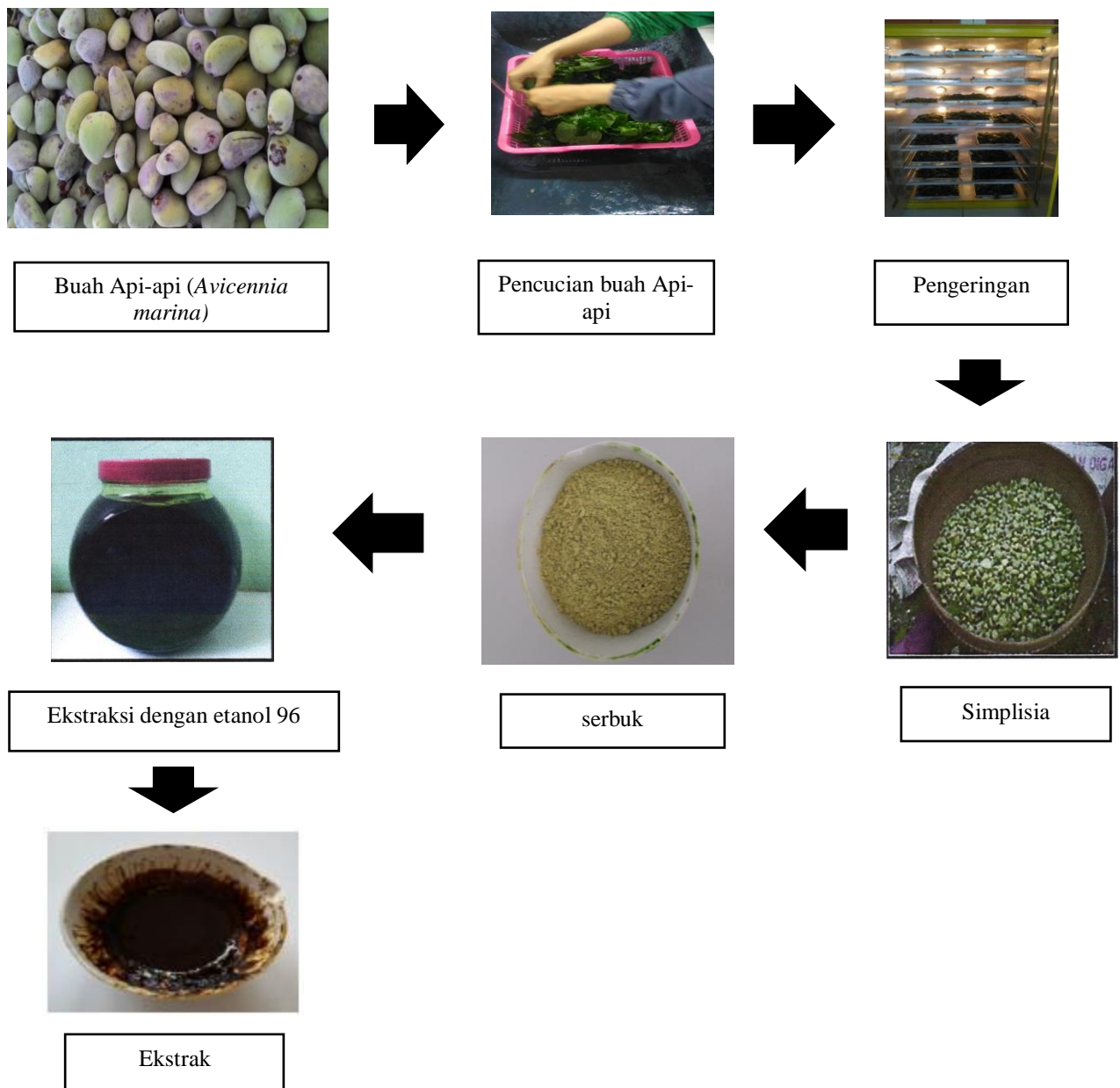
Kelompok 5 : Hewan uji diberi ekstrak etanol buah api-api dosis 2,52 mg/KgBB tikus secara oral serta diberi pakan dan aquadest.

Tiap kelompok diberi perlakuan satu kali sehari selama 7 hari. Kemudian diambil darahnya lewat vena mata dan diukur kadar gula darahnya dan enzim katalase pada hari ke 12 (perlakuan).

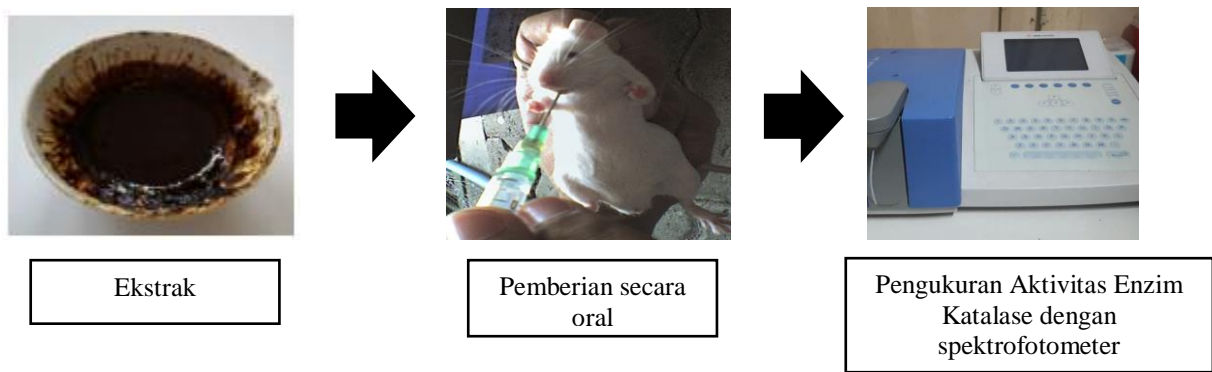
c) Pengukuran enzim katalase

Darah tikus diambil, disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit dan dipisahkan serumnya. Serum sebanyak 0,05 ml ditambah 6 ml substrat, diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 menit. Substrat dibuat dengan mengencerkan 1,5 ml H₂O₂ 30% menjadi 100 ml menggunakan dapar fosfat pH 7,4. Reaksi enzimatik dihentikan dengan penambahan 1,0 ml amonium molibdat [(NH₄)₆ Mo₇O₂₄ · 4H₂O] 32,4 mM. Absorbansi dibaca dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 485 nm. Data aktivitas katalase yang diperoleh dianalisis secara statistik.

Berikut ini adalah gambar proses ekstraksi dan uji imunomodulator buah Api-api (*Avicennia marina*).



Gambar 2. Proses ekstraksi buah Api-api (*Avicennia marina*)



Gambar 3. Uji Antioksidan Enzim Katalase ekstraksi buah Api-api (*Avicennia marina*)

4. Hasil

Hasil rendemen yang diperoleh saat ekstraksi dengan etanol 96% sebagai berikut:

Buah basah : 7000 gram

Serbuk simplisia kering : 2126 gram

2126 gram

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{2126 \text{ gram}}{7000 \text{ gram}} \times 100\% = 30,37 \%$$

Ekstrak kental : 300 gram

Berat serbuk simplisia kering : 600 gram

300 gram

$$\% \text{ Rendemen ekstrak} = \frac{300 \text{ gram}}{600 \text{ gram}} \times 100\% = 50 \%$$

Uji pendahuluan dimulai dengan melakukan skrining fitokimia untuk mengetahui senyawa-senyawa yang ada baik di dalam ekstrak etanol buah Api-api (*Avicennia marina*) yang diduga berefek imunomodulator. Skrining fitokimia meliputi uji fenolik, alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan triterpenoid. Apabila hasilnya positif maka dilanjutkan uji penegasan menggunakan KLT untuk memastikan benar terdapat zat yang positif saat uji skrining fitokimia. Hasil yang diperoleh baik skrining fitokimia maupun uji penegasan menunjukkan ekstrak etanol buah Api-api mengandung metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, saponin, tannin dan steroid.

Ekstrak etanol buah Api-api yang telah diperoleh selanjutnya dilakukan uji antioksidan endogen enzim katalase. Katalase sebagai antioksidan endogen memiliki peran utama dalam mengontrol konsentrasi H₂O₂ dengan mengkatalisis H₂O₂ menjadi oksigen dan air sehingga bersifat non toksik (Murray *et al.*, 2003). Alokasan dapat menyebabkan terbentuknya radikal

bebas karena adanya reaksi redoks dengan radikal superoksida. Radikal tersebut mengalami dismutase menjadi hydrogen peroksida. Banyaknya hydrogen peroksida yang terbentuk menyebabkan berkurangnya antioksidan endogen enzim katalase dalam mengkatalisis hydrogen peroksida tersebut.

Aktivitas enzim katalase pada hewan uji diukur pada hari ke 1 (awal), 5 (induksi) dan 12 (perlakuan) untuk mengetahui aktivitas enzim katalase awal, setelah induksi aloksan dan setelah pemberian senyawa uji baik CMC Na 0,5% (kontrol negatif), glibenklamid (kontrol positif), dan ekstrak etanol buah Api-api. Rerata aktivitas enzim katalase, persen penurunan dan persen kenaikan semua kelompok perlakuan dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Rerata Aktivitas Enzim katalase \pm SD (unit/ml), % Penurunan dan % Kenaikan Aktivitas Enzim Katalase Seluruh Kelompok Perlakuan

Kelompok	Aktivitas enzim katalase \pm SD			% Penurunan	% Kenaikan
	Awal	Induksi	Perlakuan		
I. CMC Na 0,5 % (Negatif)	18,58 \pm 3,64	13,35 \pm 1,78	8,93 \pm 1,80	-27,41 \pm 6,90	-33,48 \pm 5,48
II. Glibenklamid 0,63 mg/kg BB tikus (Positif)	19,05 \pm 4,55	14,56 \pm 4,06	19,83 \pm 4,25	-24,19 \pm 3,65	38,42 \pm 14,50
III. Ekstrak etanol buah api-api 0,63 mg/kgBB tikus	16,08 \pm 0,92	11,82 \pm 0,89	16,49 \pm 0,68	-26,49 \pm 3,75	39,79 \pm 6,58
IV. Ekstrak etanol buah api-api 1,26 mg/kgBB tikus	18,66 \pm 3,15	13,95 \pm 3,66	17,45 \pm 3,67	-26,13 \pm 7,20	27,25 \pm 15,75
V. Ekstrak etanol buah api-api 2,52 mg/kgBB tikus	15,78 \pm 4,89	11,89 \pm 4,55	19,15 \pm 2,30	-25,75 \pm 8,12	73,87 \pm 41,90

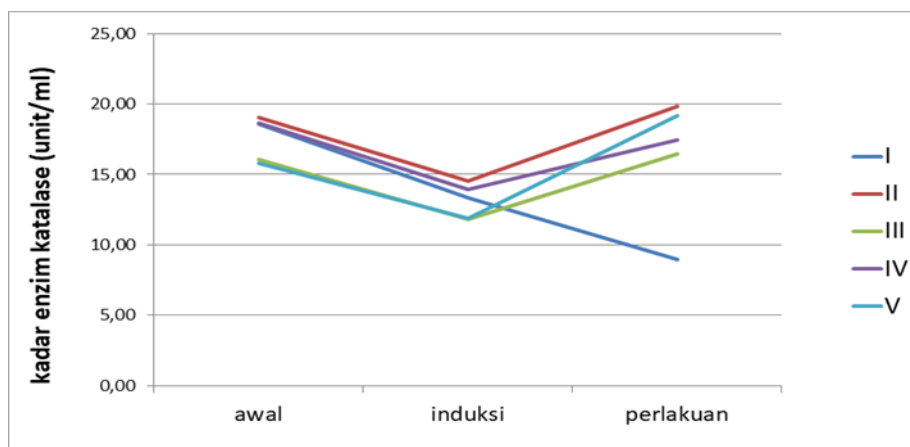
Keterangan:

*: *paired sample t test* aktivitas enzim katalase awal vs induksi yang menunjukkan nilai berbeda bermakna ($p < 0,05$)

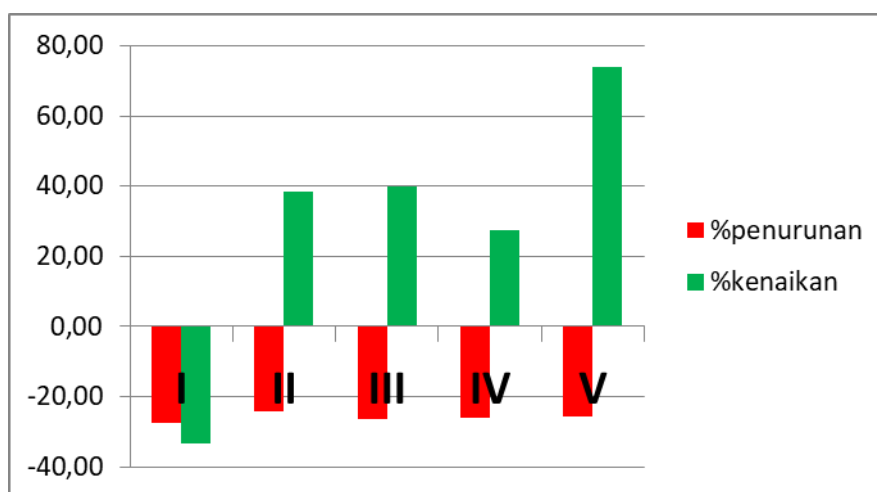
a: berbeda bermakna ($p < 0,05$) terhadap kelompok negatif dengan uji Mann-Whitney

b: berbeda bermakna ($p < 0,05$) terhadap kelompok positif dengan uji Mann-Whitney

Berdasarkan tabel 1, aktivitas enzim katalase hewan uji seluruh kelompok perlakuan terlihat terjadi penurunan lebih dari 20 persen setelah diinduksi aloksan. Setelah perlakuan 7 hari, terlihat aktivitas enzim katalase kelompok negatif tetap turun, sedangkan kelompok pemberian Glibenklamid, dan ketiga dosis ekstrak etanol buah Api-api dapat meningkatkan aktivitas enzim katalase. Hal ini terlihat dari uji statistika adanya perbedaan signifikan antara % peningkatan kelompok negatif dengan kelompok Glibenklamid, dan ekstrak etanol buah Api-api dosis 0,63; 1,26; dan 2,52 mg/kg BB tikus. Selain itu, perbandingan antara % peningkatan aktivitas enzim katalase kontrol positif Glibenklamid dengan ekstrak etanol buah Api-api ketiga dosis menunjukkan perbedaan tidak signifikan. Hal ini berarti efek antioksidan *in vivo* ekstrak etanol buah Api-api sebanding dengan Glibenklamid. Berdasarkan hal tersebut membuktikan bahwa ekstrak etanol buah Api-api dapat meningkatkan aktivitas enzim katalase (antioksidan *in vivo*) dengan dosis efektif 1,26 mg/kgBB tikus atau setara dengan 10 mg/50 kgbb manusia.



Gambar 4. Grafik perubahan aktivitas enzim katalase sebelum, induksi dan perlakuan semua kelompok perlakuan



Gambar 5. Diagram % penurunan & % kenaikan aktivitas enzim katalase semua kelompok perlakuan

Ekstrak etanol buah Api-api dapat berefek sebagai antioksidan dengan mengikat radikal bebas sehingga stres oksidatif berkurang dan mengurangi resistensi terhadap kerja insulin (Kaempe, dkk., 2013). Selain itu, flavonoid juga sebagai antioksidan dalam menangkap radikal bebas, sehingga diduga dapat meningkatkan aktivitas enzim katalase di dalam tubuh. Sebagaimana diketahui, pada diabetes umumnya terjadi stres oksidatif yang dapat merusak berbagai macam sel sehingga terjadi peningkatan radikal bebas berupa hidrogen peroksida (H_2O_2) yang merupakan senyawa toksik yang bersifat sangat reaktif sehingga untuk meredamnya diperlukan enzim katalase, suatu antioksidan enzimatis yang terdapat di dalam tubuh, yang dapat mengkatalisis hidrogen peroksida menjadi oksigen dan air.

5. Daftar Pustaka

- Anonim. 2011. Keluarga bakau yang banyak manfaat. <http://www.bataviase.co.id>. Koran Jakarta Nasional. 5 Januari 2011.
- Bandaranayake, W.M. 1998. Traditional and medical uses of mangroves. *Mangroves and Salt Marshes*. 2: 133-148.
- Barcelo A, Barbe F, de la Pena M, Vila M, Perez G, Pierola J, dkk. Antioxidant status in patients with sleep apnoea and impact of continuous positive airway pressure treatment. *J Eur Respir*. 2006;27:756–60.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Depkes RI.
- Fessenden, R. J dan Fessenden, J. S. 1986. *Kimia Organik*. Edisi 2. Jakarta : Erlangga.
- Halidah. 2014. *Avicennia marina (Forssk.) Vierh Jenis Mangrove Yang Kaya Manfaat*. Artikel. Makasar: Balai Penelitian Kehutanan Makasar.
- Hardiningtyas, SD., Purwaningsih, S., Handharyani, E. 2014. Aktivitas Antioksidan dan Efek Hepatoprotektif Daun Bakau Api-api Putih. *Jurnal IPB*, **17** (1).
- Kaempe, H., Suryanto, E. & Kawengian, S. 2013. Potensi Ekstrak Fenolik Buah Pisang Goroho (*Musa Spp.*) Terhadap Gula Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). *Chem. Prog.* **6(1)**: 6-10
- Kusmana, C., Suryani, A., Hartati, Y., Oktadiyani, P. 2009. Pemanfaatan Jenis Pohon Mangrove Api-api (*Avicennia Spp.*) Sebagai Bahan Pangan Dan Obat-obatan. *Tesis*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

- Murray, RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. 2003. *Biokimia Harper*. Edisi 27. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC
- Noor YR, Khazali M, dan Syadipura INN. 2006. *Panduan Pengenalan Mangrove di Indonesia*. Bogor: Wetlands Internatinal.
- Setiawati, M.C.N., Munisih, S., Puspitaningrum, I. 2016. Efek Antidiabetes Ekstrak Etanol Buah Api-api (*Avicennia marina*). *Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia*. Semarang: Universitas Negeri Semarang.
- Suarsana, W.T., Suprayogi, A. 2013. Respon Stres Oksidatif dan Pemberian Isoflavon terhadap Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase dan Peroksidasi Lipid pada Hati Tikus. *JITV*, 18(2), 146152
- Suryohudoyo P, Oksidan, Antioksidan dan Radikal Bebas. : Info Medika Kapita Selektta Ilmu Kedokteran Molekuler. Jakarta. 2000.
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin. MTD, Mazur M, Telser J. (2007). Review: Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39(1), 4484.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami & Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius