

## Analisis *In Silico* dan Aktivitas Antioksidan Senyawa Nano Kompleks pada Daun dan Cabang Bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk )

### *In Silico Analysis and Antioxidant Activity of Nano Complex Compounds on Leaves and Branches of Bidara (Ziziphus mauritiana Lamk)*

Kholisatun Nisa<sup>1\*</sup>, Tintrim Rahayu<sup>2</sup>, Gatra Ervi Jayanti<sup>3\*\*</sup>

<sup>1,2,3</sup>Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Malang, Indonesia

#### ABSTRAK

Bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) merupakan sumber antioksidan alami yang memiliki kandungan senyawa antioksidan seperti flavonoid, karotenoid, fenolik, dan asam askorbat. Antioksidan dalam penelitian ini berupa senyawa kompleks tanpa mengambil salah satu senyawanya (senyawa tunggal). Selain senyawa kompleks, bidara dengan ukuran nano dapat berperan maksimal dalam menjalankan fungsinya sebagai antioksidan di dalam tubuh. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui komposisi senyawa aktif yang berperan sebagai antioksidan pada daun, cabang, dan kombinasi daun-cabang bidara melalui analisis *in silico* serta untuk mengetahui efektivitas dari uji antioksidan pada senyawa nano kompleks daun, cabang, serta kombinasi daun-cabang bidara. Analisis senyawa aktif melalui *in silico* dilakukan secara *online* dengan menggunakan *website Dr. Duke's Phytochemical and Ethnobotanical Databases, Passonline, Smiles dan Stitch*. Penelitian eksperimental dengan menggunakan *freeze dry* sehingga bidara menjadi serbuk berukuran nanometer. Sampel yang digunakan adalah daun, cabang dan kombinasi daun-cabang dan diuji dengan metode 2,2 *Diphenyl 1 picrylhydrazyl* (DPPH). Hasil analisis *in silico* terdapat 4 senyawa dalam tanaman bidara yang memiliki peran sebagai antioksidan yaitu caumarin dan rutin pada daun, batulinic-acid dan ceanothic-acid pada cabang. Hasil penelitian eksperimental menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan dari tiga perlakuan memiliki perbedaan efektivitas antioksidan. Perubahan warna DPPH menunjukkan adanya antioksidan, warna pada sampel daun dari ungu pekat menjadi kuning, warna pada sampel cabang dari ungu pekat menjadi ungu muda, dan sampel kombinasi daun-cabang dari ungu pekat menjadi putih keruh kekuningan. Perubahan warna tersebut menunjukkan bahwa kombinasi daun-cabang memiliki aktivitas antioksidan tinggi, kemudian daun dan terakhir cabang. Pada pengamatan mikroskop menunjukkan terbentuknya kristal dalam serbuk bidara. Struktur kristal menunjukkan pola yang teratur dan terorganisir. Senyawa aktif dalam bidara yang berperan sebagai antioksidan adalah caumarin, rutin, batulinic-acid dan ceanothic-acid. Kombinasi daun-cabang mempunyai aktivitas antioksidan yang tinggi dibandingkan daun dan cabang.

**Kata kunci:** bidara, *In silico*, senyawa kompleks, aktivitas antioksidan.

#### ABSTRACT

Bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) is a source of natural antioxidants that contain antioxidant compounds such as flavonoids, carotenoids, phenolic, and ascorbic acid. Antioxidants in this study were in the form of complex compounds without taking any of the compounds (single compounds). In addition to complex compounds, bidara with nano size can play a maximum role in carrying out its function as an antioxidant in the body. This study aims to determine the composition of active compounds that act as antioxidants in leaves, branches, and combinations of bidara leaves through *in silico* analysis and to determine the effectiveness of antioxidant tests on nano complex compounds of leaves, branches, and combinations of bidara leaves. *In silico* analysis of active compounds was carried out online using the Dr. website. Duke's Phytochemical and Ethnobotanical Databases, Passonline, Smiles and Stitch. Experimental research using freeze dry so that bidara becomes a nanometer-sized powder. The samples used were leaves, branches and a combination of leaves and branches tested by the 2,2 *Diphenyl 1 picrylhydrazyl* (DPPH) method. The results of the *in silico* analysis showed that there are 4 compounds in the bidara plant that act as antioxidants, namely caumarin and rutin in the leaves, batulinic-acid and ceanothic-acid in the branches. The experimental results showed that the antioxidant activity of the three treatments had differences in antioxidant effectiveness. The color change of DPPH indicates the presence of antioxidants, the color of the leaf sample from dark purple to yellow, the color of the branch sample from dark purple to light purple, and the sample of the combination of leaves from dark purple to yellowish cloudy white. The color change indicates that the combination of leaves and branches has high antioxidant activity, then leaves and finally branches. Microscopic observations showed the formation of crystals in the bidara powder. The crystal structure shows an orderly and organized pattern. The active compounds in bidara that act as antioxidants are caumarin, rutin, batulinic-acid, and ceanothic-acid. The combination of leaves and branches has a high antioxidant activity compared to leaves and branches.

**Keywords:** bidara, *In silico*, complex compound, antioxidant activity.

## Pendahuluan

Penyakit degeneratif seperti kardiovaskuler, diabetes dan kanker, salah satu penyebabnya adalah perubahan gaya hidup masyarakat dengan mengonsumsi makanan *junk food*. Penyakit degeneratif dapat diantisipasi dengan mengonsumsi makanan kaya antioksidan. Senyawa antioksidan dapat menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi sehingga sering digunakan sebagai peluruh radikal bebas [1]. Tanaman yang mengandung antioksidan sangat melimpah di Indonesia, contohnya tanaman bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.). Menurut Abalaka [2] bidara termasuk salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antioksidan alami. Antioksidan adalah senyawa yang berguna mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak dalam membantu mengatasi kerusakan oksidatif berpasangan dan dapat menimbulkan kerusakan akibat radikal bebas atau senyawa oksigen reaktif [3].

Antioksidan dalam arti biologis adalah senyawa yang mampu menangkal atau meredam dampak negatif oksidan dalam tubuh. Suatu jenis tumbuhan dapat memiliki aktivitas antioksidan jika mengandung senyawa yang mampu menangkal radikal bebas seperti fenol, flavonoid, vitamin C dan E, katekin, karoten, dan resveratrol [4]. Umumnya di alam, senyawa dalam keadaan kompleks, senyawa dalam keadaan kompleks berbeda dengan senyawa tunggal yang selama ini dipelajari. Senyawa tunggal yang diisolasi dari alam tersebut dianggap bioaktif dengan target spesifik, padahal belum pernah diperkirakan mekanisme alamiahnya. Sebaliknya, senyawa kompleks tidak didapatkan melalui isolasi dan memiliki kemampuan otomatis untuk mencari target dalam tubuh yang memerlukan senyawa tersebut [5]. Contoh dari senyawa kompleks yaitu senyawa antioksidan kompleks.

Senyawa kompleks dapat menjebak radikal bebas tanpa membentuk spesies radikal baru karena banyaknya elektron pada permukaan [6]. Senyawa dalam keadaan kompleks berbeda dengan senyawa tunggal. Senyawa kompleks tidak didapatkan melalui isolasi dan memiliki kemampuan otomatis untuk mencari target dalam tubuh yang memerlukan senyawa tersebut [7]. Pemanfaatan ekstrak cabang dan daun bidara secara tunggal telah banyak dimanfaatkan, sedangkan untuk pemanfaatan dari campuran cabang dan daun bidara masih belum ada yang melakukan penelitian. Penelitian ini bertujuan mengetahui komposisi senyawa aktif yang berperan sebagai antioksidan pada daun, cabang, dan kombinasi daun-cabang bidara melalui analisis *in silico* serta untuk mengetahui efektivitas dari uji antioksidan pada senyawa nano kompleks daun, cabang, serta kombinasi daun-cabang bidara.

## Material dan Metode

### Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan untuk uji efektivitas aktivitas antioksidan digunakan bahan DPPH (*Sigma Aldrich*<sup>®</sup>), etanol 96%, aquades, daun bidara, cabang bidara. Alat yang digunakan untuk studi *in silico* adalah laptop dengan spesifikasi *Intel Dual Core N3060*, website *Dr. Duke's Phytochemical and Ethnobotanical Databases*, *PubChem*, *Passonline*, *Smiles* dan *Stitch*. Alat yang digunakan untuk uji efektivitas antioksidan antara lain spektrofotometer UV-Vis (*Epoch*), sentrifuge (*PLC Series-03*<sup>®</sup>), freeze dryer (*Alpha 1-2 LD Plus*<sup>®</sup>), neraca analitik (*Shimadzu ATX 224*<sup>®</sup>), vortex (*Bio-Rad BR-2000*<sup>®</sup>), blender, microtube, tabung falcon, pipet tetes, gelas beaker, gelas ukur, spatula, cawan petri, alu, mortar.

### Metode

Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimental untuk mengetahui efektivitas antioksidan nano kompleks daun-Cabang bidara dengan 3 perlakuan yaitu pertama Daun (0,1 mM DPPH + 3mg/ml daun), Cabang (0,1 mM DPPH + 3mg/ml cabang) dan Daun-cabang (0,1 mM DPPH + 3mg/ml daun+cabang). dan sebagai pembanding digunakan kontrol yaitu DPPH. Penelitian ini dilakukan ulangan sebanyak 3 ulangan.

### Cara Kerja

**Studi *in silico*:** Pencarian data senyawa aktif pada tanaman bidara melalui website *Dr. Duke's Phytochemical and Phytochemical Databases*. Selanjutnya mencari identitas senyawa yang telah didapatkan melalui website *PubChem* agar dapat diketahui rumus senyawa maupun rumus SMILES. Rumus SMILES yang didapatkan digunakan untuk memprediksi potensi senyawa melalui *website*

Passonline. Rumus SMILES juga digunakan untuk memprediksi target dari senyawa melalui *website Stitch*.

**Pembuatan Sampel Senyawa Nano Kompleks:** Daun dan cabang bidara dicuci kemudian diblender. Perlakuan pertama yaitu 10 g daun bidara dilarutkan dengan aquades hingga 70 ml. Perlakuan kedua yaitu 10 g cabang bidara dilarutkan dengan aquades hingga 70 ml. Perlakuan ketiga yaitu 5 g daun dan 5 g cabang dilarutkan dengan aquades hingga 70 ml. Ketiga sampel dimasukkan ke dalam tabung falcon kemudian dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 2500 rpm selama 15 menit untuk memisahkan *pelet* dan *supernatant*. *Supernatant* dari tiap sampel diambil untuk dilakukan proses *freeze dry*. Sampel hasil *freeze dry* masing-masing diambil 8 mg, 9 mg dan 10 mg kemudian dilarutkan dalam 10 ml aquades didapatkan konsentrasi 1 mg/ml. Larutan sampel yang telah dibuat kemudian dihomogenkan menggunakan vortex.

**Uji Aktivitas Antioksidan:** Penetapan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan menggunakan larutan DPPH. Larutan DPPH 0,1 mM diambil sebanyak 1 ml kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada interval panjang gelombang 400-600 nm. Setelah dilakukan pengukuran didapatkan panjang gelombang maksimum yaitu 517 nm. Selanjutnya, dilakukan uji antioksidan dengan menambahkan 1 ml larutan DPPH 0,1 mM pada 3 ml larutan sampel dalam kosentrasi 2 mg/ml. Larutan tersebut diinkubasi selama 30 menit dalam suhu ruang. Setiap larutan sampel diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Aktivitas antioksidan ditunjukkan dengan persen inhibisi, rumusnya yaitu sebagai berikut:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs}_{\text{kontrol}} - \text{Abs}_{\text{sampel}}}{\text{Abs}_{\text{kontrol}}} \times 100\%$$

Keterangan:  $\text{Abs}_{\text{kontrol}}$  = Larutan DPPH + Metanol;

$\text{Abs}_{\text{sampel}}$  = Larutan DPPH + Sampel

## Hasil dan Diskusi

### Hasil Penelitian

Senyawa Aktif pada Daun Bidara (*Ziziphus jujuba*) sinonim dari *ziziphus mauritiana* Lamk didapatkan sebanyak 14 senyawa meliputi ASH, Calcium, Carbohydrates, Coumarin, Fat, Fiber, Mucilage, Phosphorus, Protein, Resin, Rutin, Saponin, Tannin dan Tartatic-Acid. Senyawa Aktif pada Cabang Bidara (*Ziziphus jujuba*) sinonim dari *Ziziphus mauritiana* Lamk. didapatkan 3 senyawa yaitu Betulinic-Acid, Ceanothic-Acid dan Leucopelargonidine. Nilai Pa dan Pi senyawa bidara ditunjukkan pada Tabel 1, dan hasil pengukuran bidara pada Tabel 2.

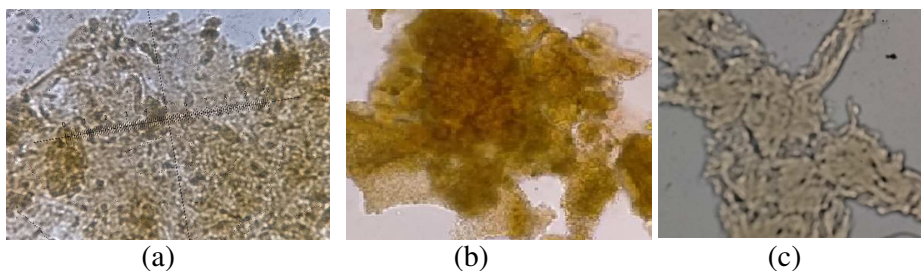
Tabel 1. Nilai Pa dan Pi Senyawa Aktif pada Bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk) pada website Pass online.

| Senyawa Aktif  | Bagian | Pa    | Pi    | Bioaktivitas                     |
|----------------|--------|-------|-------|----------------------------------|
| Betulinic-Acid | Cabang | 0,366 | 0,015 | Antioksidan                      |
| Coumarin       | Daun   | 0,389 | 0,013 | Antioksidan                      |
|                |        | 0,472 | 0,012 | <i>Free radical scavenger</i>    |
| Rutin          | Daun   | 0,923 | 0,003 | Antioksidan                      |
|                |        | 0,272 | 0,005 | <i>Radical formation agonist</i> |
|                |        | 0,988 | 0,001 | <i>Free radical scavenger</i>    |
| Ceanothic-Acid | Cabang | 0,290 | 0,025 | Antioksidan                      |

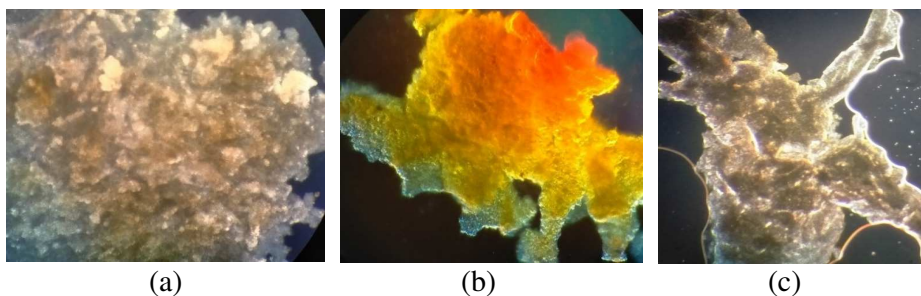
Tabel 2. Hasil DPPH Sampel Bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.)

| Sampel            | A1    | A2    | A3    | Rata2 A | % Inhibisi |
|-------------------|-------|-------|-------|---------|------------|
| Blanko            | 0,571 | 0,573 | 0,575 | 0,573   |            |
| Daun 8 mg         | 0,646 | 0,628 | 0,664 | 0,646   | -12,740    |
| Daun 9 mg         | 0,676 | 0,677 | 0,663 | 0,672   | -17,277    |
| Daun 10 mg        | 0,44  | 0,431 | 0,435 | 0,435   | 24,026     |
| Cabang 8 mg       | 0,55  | 0,623 | 0,609 | 0,594   | -3,678     |
| Cabang 9 mg       | 0,532 | 0,508 | 0,509 | 0,516   | 9,889      |
| Cabang 10 mg      | 0,605 | 0,604 | 0,609 | 0,611   | -6,690     |
| Daun+ Cabang 8 mg | 0,708 | 0,719 | 0,752 | 0,726   | -26,760    |
| Daun +Cabang 9 mg | 0,815 | 0,713 | 0,727 | 0,752   | -31,181    |
| Daun+Cabang 10mg  | 0,626 | 0,646 | 0,642 | 0,638   | -11,344    |

### Pengamatan Mikroskop.



Gambar 1. Pengamatan kristal pada mikroskop binokuler (400x). (a) serbuk nano kompleks daun, (b) serbuk nano kompleks cabang, (c) serbuk nano kompleks cabang+daun



Gambar 2. Pengamatan kristal pada mikroskop fase kontras (400x). (a) Serbuk nano kompleks daun, (b) Serbuk nano kompleks cabang, (c) Serbuk nano kompleks cabang+daun.

## Pembahasan

Berdasarkan hasil analisis pencarian senyawa dalam daun bidara dan cabang bidara melalui website *Dr. Duke's Phytochemical and Ethnobotanical Database* didapatkan beberapa senyawa dengan rincian 14 senyawa daun bidara dan 3 senyawa cabang bidara. Kemudian setelah ditemukan hasil prediksi dari seluruh senyawa memiliki kemungkinan sebagai senyawa yang baik sebagai antioksidan, karena senyawa tersebut memiliki nilai  $Pa > Pi$ . Senyawa yang memiliki nilai  $Pa > 7$  tidak akan jauh berbeda dari hasil uji laboratorium. Hasil analisis prediksi senyawa Tanaman bidara telah disajikan pada Tabel 1. Senyawa dalam daun bidara yang memiliki nilai  $Pa > 0,7$  ada 2 senyawa yaitu senyawa Coumarin dan Rutin. Sedangkan senyawa dalam cabang bidara yang memiliki nilai  $Pa > 0,7$  yaitu Alpha.

Berdasarkan hasil penelitian, sampel bereaksi dengan DPPH didapatkan warna yang berbeda-beda. Pada perlakuan sampel pertama yaitu daun warna yang semula berwarna ungu pekat menjadi kuning. Pada sampel kedua yaitu cabang yang semula berwarna ungu pekat menjadi ungu muda. Selanjutnya pada perlakuan ketiga yaitu kombinasi daun dan cabang warna yang semula ungu pekat menjadi putih keruh kekuningan. Perubahan warna tersebut menunjukkan adanya antioksidan yang bekerja terhadap radikal bebas (DPPH). Pengamatan perubahan warna menunjukkan bahwa campuran daun dan cabang mempunyai antioksidan yang tinggi, kemudian daun, sedangkan cabang menunjukkan hasil antioksidan yang lebih rendah. Menurut Nazilah [8], Perubahan warna pada DPPH merupakan pengamatan fisik terhadap aktivitas antioksidan. Warna ungu merupakan warna asli dari radikal bebas DPPH yang belum bereaksi dengan senyawa antioksidan dan memiliki elektron yang tidak berpasangan. ketika DPPH direaksikan dengan senyawa alam yang mampu mendonorkan atom hidrogen, warna ungu berubah menjadi ungu muda atau kuning muda.

Setiap sampel mempunyai nilai persen inhibisi yang berbeda. Perlakuan pertama yaitu pemberian senyawa nano kompleks daun bidara memiliki rata-rata persen inhibisi sebesar 24,026. Perlakuan kedua yaitu pemberian senyawa nano kompleks cabang bidara memiliki rata-rata persen inhibisi sebesar 9,889. Perlakuan ketiga yaitu pemberian senyawa nano kompleks daun-cabang bidara memiliki rata-rata persen inhibisi sebesar -11,344. Hal tersebut telah di sajikan pada bagian hasil penelitian Tabel 2. Seharusnya perubahan warna sesuai dengan hasil inhibisi, tetapi pada penelitian ini terdapat hasil negatif. Hasil negatif dimungkinkan terjadi karena nilai blanko lebih kecil dibanding nilai sampel. Karena  $Pa > 0,7$  bermakna secara komputasi tidak akan jauh berbeda dari hasil uji lab.

Antioksidan yang tinggi dapat meluruhkan radikal bebas di dalam tubuh. Menurut Wahdaningsih [9], adanya aktivitas antioksidan dalam sampel mengubah warna larutan DPPH. Kristal nano ditunjukkan pada Gambar 1 dengan pengamatan mikroskop binokuler. A.Serbuk nano kompleks daun, B. Serbuk nano kompleks cabang, C.Serbuk nano kompleks kombinasi daun+cabang. Menurut Sukmaningsih dkk [10], pembekuan yang lebih cepat akan menyebabkan terbentuknya kristal-kristal kecil di dalam sel. Pada saat yang sama, kristal ini dapat menyebabkan deformasi sel yang cukup besar. Kristal adalah suatu material yang memiliki pola teratur tiga dimensi yang terorganisir dengan ikatan atom yang terarah dan orde yang rapat.

## Kesimpulan

Senyawa pada tanaman bidara yang memiliki peran penting dalam aktivitas antioksidan yaitu Betulinic-Acid, Ceanothic-Acid, Coumarin dan Rutin. Berdasarkan hasil penelitian terdapat perbedaan efektivitas dari uji antioksidan pada senyawa nano kompleks daun, cabang, serta kombinasi daun. Dari ketiga perlakuan didapatkan hasil yang berbeda. Aktivitas antioksidan dari senyawa nano kompleks daun, cabang, daun-cabang terhadap DPPH masing-masing sebesar 24,760%, 9,889 %, -11,344 %.

## Ucapan Terima Kasih

Terimakasih kepada program Hibah Institusi UNISMA (HI-ma 2021) dan seluruh pihak yang telah berkontribusi dalam penelitian ini.



## Daftar Pustaka

- [1] Rizkayanti, Anang Wahid. M. Diah dan Minarni Rama Jura. 2017. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air Dan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa Oleifera* Lam). *J. Akad. Kim.* 6(2) pp 125-131.
- [2] Abalaka, M.E., Mann, A., Adeyemo, S.O. 2011. Studies on in-vitro antioxidant and free radical scavenging potential and phytochemical screening of leaves of *Ziziphus mauritiana* L. and *Ziziphus spina-christi* L. compared with ascorbic acid. *Journal of Medical Genetics and Genomics*, 3(2) pp28-34.
- [3] Malangngi, L.P., Sangi, M.S., & Paendong, J.J.E. 2012. Penentuan Kandungan Tanin dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Buah Alpukat (*Persea Americana* Mill.). *Jurnal Mipa Unstrat*, 1(1) pp 5-10.
- [4] Hernani dan M. Rahardjo. 2006. *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- [5] Rates, S. M. K. 2001. Plants as source of drugs. *Toxicon* 39. pp 603-0613.
- [6] Azizah, R., T. Rahayu, A. Hayati, and G. E. Jayanti. 2020. Scavenging activity nano complex compounds of kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) leaves and seeds. *Berkala Penelitian hayati* 26 (1) pp 26-30.
- [7] Sumitro, S.B, Sri. W, Sofy.P. 2017. *Biology Sel: Sebuah Perspektif Memahami Kehidupan*. UB Press. Malang.
- [8] Nazilah, N. R. K. 2019. Uji aktivitas antioksidan dan skrining potensi antikanker ekstrak metanol buah kurma ajwa (*Phoenix dactylifera*). Skripsi. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Sunan Ampel. Surabaya.
- [9] Wahdaningsih, S., Setyowati, E. P., & Wahyuono, S. 2011. Aktivitas penangkap radikal bebas dari batang pakis (*Alsophila glauca* J.Sm). *Majalah Obat Tradisional* 16(3) pp.156-160. <https://doi.org/10.22146/tradmedj.8053>
- [10] Sukmaningsih, A. A. S. A., Permana, S., Santjojo, D. J. D. H., Wardoyo, A. Y. P., & Sumitro, S. B. 2018. Investigating natural transition metal coordination anthocyanin complex in java plum (*Syzygium cumini*) fruit as free radical scavenging. *Rasayan Journal of Chemistry*, 11(3), 1193-1203.