

GAMBARAN STRUKTUR ANATOMIS DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAUN SERTA BATANG *Hydroleaspinosa*

Putri Vidiyasari Darsono, Evi Mintowati Kuntorini

Program Studi Biologi FMIPA Universitas Lambung Mangkurat
Jl. A. Yani Km 35,8 Banjarbaru, Kalimantan Selatan
email : evimintowati@yahoo.com

ABSTRACT

This study aimed to observe anatomical structure and antioxidant activities of leaves and stems *Hydroleaspinosa*. Anatomical tissues section of leaves and stems were prepared using paraffin method and analysis of antioxidant activities was done by DPPH method (1, 1-difenil-2-pikrilhidrazil). The results showed that the anatomical structure of *Hydroleaspinosa* leaves cross section consists of upper epidermis cells (adaksial) and lower epidermis cells (abaksial), trichomes, mesophyll that was differentiated into above palisade parenchyma and below spongy parenchyma, vascular tissues, the strengthen tissues and druse crystals. While on the cross section of the stems were epidermis, cortex, vessels, and pith. There was air space between medium stems and old stems. The results of analytical measurements of antioxidant activities on ethanolextract of *Hydroleaspinosa* leaves with IC_{50} value 52.735 ppm are higher than the stems with IC_{50} value 68.911 ppm but still lower than the control of vitamin C and BHT.

Key words: antioxidants, DPPH, *Hydroleaspinosa*, leaves, and stems.

PENDAHULUAN

Secara alami beberapa jenis tumbuhan merupakan sumber antioksidan, hal ini dapat ditemukan pada beberapa jenis sayuran, buah-buahan segar, beberapa jenis tumbuhan dan rempah-rempah (Praptiwi & Harapini, 2006). Salah satu tumbuhan dari familia Hydrophyllaceae yang belum diungkapkan potensinya secara ilmiah adalah *Hydroleaspinosa*. Ekstrak *H. spinosa* mempunyai senyawa fenolik

seperti golongan flavonoid dan tanin diduga memiliki aktivitas antioksidan, sehingga berpeluang untuk mengembangkan tumbuhan *H. spinosa* sebagai salah satu obat tradisional (Forestryana (2010) ; Dewi (2010)).

H. spinosa merupakan salah satu tumbuhan yang banyak tumbuh di desa Teluk Selong Martapura Kabupaten Banjar Kalimantan Selatan. Tumbuhan ini banyak tumbuh di sekitar sungai dan tempat yang berlumpur (lahan basah). Secara

empiris daunnya memiliki khasiat untuk mengatasi beberapa keluhan seperti diabetes, hipertensi, stroke, penurun demam (antipiretik) dan menyembuhkan luka. Penggunaan sebagai obat oleh masyarakat didasarkan atas pengalaman yang secara turun menurun merupakan warisan nenek moyang.

Biosintesis metabolit sekunder dapat terjadi didalam semua jaringan dan sel, tetapi umumnya biosintesis terjadi pada jaringan atau sel spesifik sedangkan akumulasi produk pada seluruh tanaman atau dalam organ yang berbeda dari tempat biosintesis dan sangat tergantung pada tingkat diferensiasi dan perkembangan tumbuhan tersebut (Wink, 1990). Untuk itu perlu dilakukan pengamatan struktur anatomis daun dan batang *H.spinosa* secara mikroskopik agar dapat mengetahui dimana akumulasi atau tempat metabolit sekunder yang bersifat sebagai antioksidan.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah daun dan batang tanaman *H.spinosa* asal Desa Teluk Selong Martapura Kabupaten Banjar Kalimantan Selatan, akuades, alkohol

70%, etanol p.a, metanol p.a, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) (Sigma-Aldrich, 1 g), vitamin C (Sigma-Aldrich, FW 176,13), BHT (Butil Hidroksitoluena), parafin, xilol, dan akuades, dan kertas saring Whatman.

Daun yang diambil berukuran panjang \pm 7-8 cm dan lebar \pm 2,5-3 cm, sedangkan bagian batang diambil mulai 7 cm dari pucuk sampai bagian batang yang tidak terendam air. Ukuran yang digunakan untuk preparat melintang daun yaitu 2x1 cm dan untuk preparat melintang batang berukuran 1 cm pada bagian batang pangkal, batang tengah dan batang ujung tumbuhan *H.spinosa*.

Pembuatan ekstrak etanol dari daun dan batang

Serbuk daun *H.spinosa* sebanyak 200 gram dimaserasi dengan pelarut etanol. Proses maserasi dilakukan 3x24jam. Filtrat yang diperoleh digabungkan dan dievaporasi menggunakan *rotary vacuum evaporator* hingga diperoleh ekstrak pekat dan dikeringkan dengan penangas air bersuhu 50-60°C (Harborne, 1987). Prosedur di atas diulang pada batang tumbuhan *H.spinosa*.

Uji Aktivitas Antioksidan

0,005 g ekstrak etanol dilarutkan dengan metanol, dimasukkan dalam labu takar 50 ml ditepatkan sampai tanda batas tera diperoleh konsentrasi 100 ppm. Selanjutnya dilakukan pengenceran untuk pembuatan larutan dengan konsentrasi 10 ppm, 30 ppm, 50 ppm dan 70 ppm sebanyak 10 mL. Untuk penentuan aktivitas antioksidan masing-masing konsentrasi ditambahkan 1 ml larutan DPPH 1 mM, campuran dihomogenkan dan dibiarkan selama 30 menit ditempat gelap dengan suhu 37°C, diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm. Prosedur diatas diulang pada ekstrak batang tumbuhan *H.spinosa*. Sebagai pembanding digunakan vitamin C (konsentrasi 2,3,4 dan 5 ppm) dan BHT (konsentrasi 2, 4, 6 dan 8 ppm) yang dilakukan dengan perlakuan yang sama seperti pada ekstrak etanol (Hanani *et al*, 2005).

Pembuatan Preparat Daun dan batang *H.spinosa* Dengan Metode Parafin

Pembuatan sediaan preparat awetan dengan metode parafin pewarnaan tunggal (Ruzin, 1999).

Sampel daun dan batang yang akan diamati secara mikroskopik dipotong dengan 2x1 cm untuk daun dan 1 cm untuk batang. Difiksasi dalam dengan FAA (Formalin, Alkohol, Asam Asetat Glasial) selama 24 jam. Dehidrasi dengan alkohol dari konsentrasi 70% , 80%, 95%, absolut I, absolut II, masing-masing selama 30 menit. Dealkoholisasi dalam alkohol : xilol dengan perbandingan 3:1, 1:1, 1:3, xilol I dan xilol II masing-masing selama 30 menit. Selanjutnya dilakukan proses infiltrasi dengan parafin : xilol (9:1) pada suhu 57°C selama 24 jam. Campuran parafin : xilol diganti dengan parafin murni pada suhu tetap 57°C selama 24 jam. Selanjutnya dilakukan penyelubungan dan sampel diblok dalam parafin murni. Bila telah mengeras parafinnya, balok berisi sampel dilakukan pengirisan pada ketebalan 20 µm menggunakan mikrotom. Setelah pita mongering pada gelas benda dilakukan pewarnaan dengan safranin

Analisis Data

Data kualitatif ditampilkan dalam bentuk gambar yang meliputi struktur anatomis daun dan batang

H.spinosa. Uji aktivitas antioksidan dianalisis menggunakan rumus persamaan regresi linier sehingga diperoleh nilai IC₅₀. Besarnya persen penghambat dapat dihitung dengan persamaan :

$$\% \text{ penghambatan (inhibisi)} = \left(\frac{\text{ - }}{\text{ - }} \right) 100\%$$

Absorban blanko : Serapan radikal DPPH 1 mM dalam etanol pada panjang gelombang 515 nm.

Absorban sampel : Serapan radikal DPPH 1 mM yang diberi perlakuan sampel dalam etanol pada panjang gelombang 515 nm (Andayani, 2008).

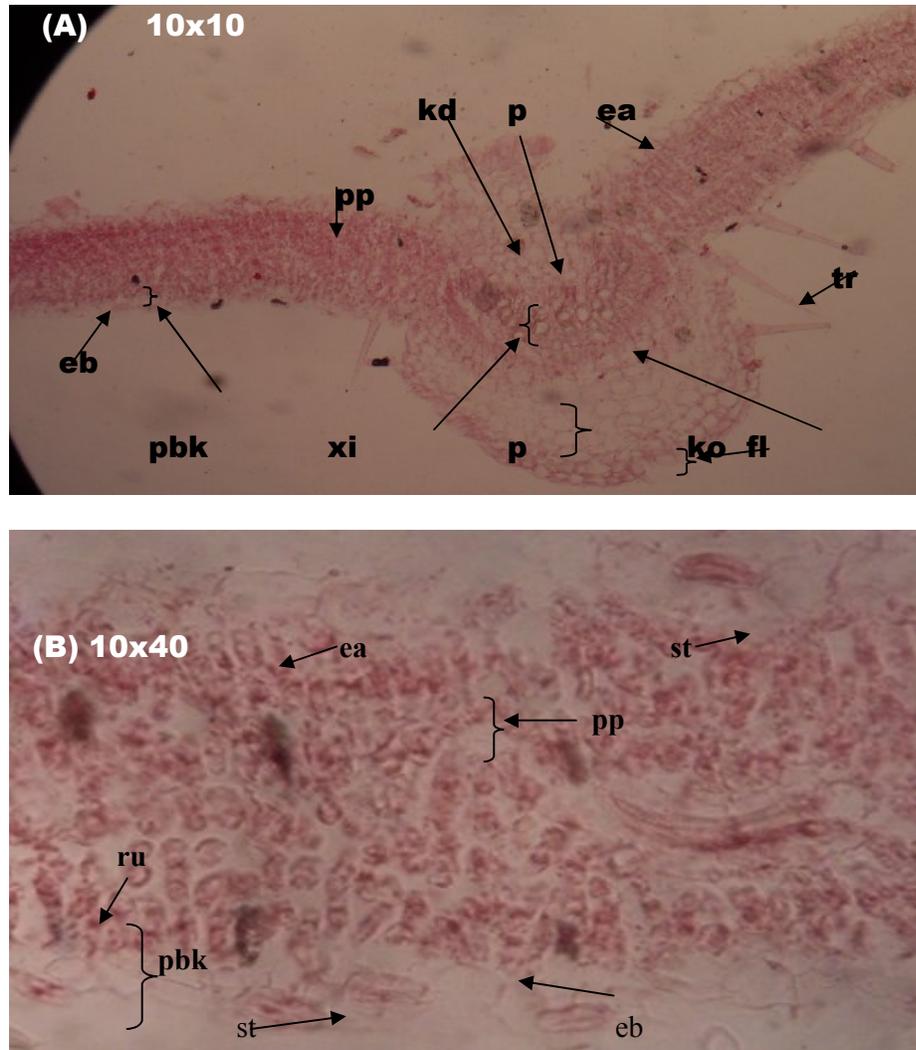
HASIL DAN PEMBAHASAN

Struktur Anatomis Daun dan Batang *H.spinosa*

H.spinosa merupakan tumbuhan Dikotil. Struktur anatomis melintang daun *H.spinosa* terdiri dari sel epidermis atas (adaksial) dan epidermis bawah (abaksial). Epidermis daun berbentuk heksagonal (Gambar 1 A&B). Stomata pada

penampang melintang terdapat pada epidermis bagian bawah, selain itu juga terdapat trikoma yang merupakan derivat epidermis (Gambar 1B). Trikoma pada daun menghasilkan sekret berupa getah, hal ini terlihat saat diraba daun *H.spinosa* akan terasa lengket pada kulit. Tipe trikoma pada daun *H.spinosa* yaitu multiselular terdapat sel kepala, sel tangkai dan sel basal. Selain itu terdapat juga trikoma uniselular yang panjang pada bagian daun dan batang.

Mesofil daun terdiferensiasi menjadi parenkim palisade dan parenkim spons (Gambar 1B), tipe jaringan palisade pada daun *H.spinosa* yaitu daun dorsiventral atau bifasial. Dibagian bawah lapisan epidermis atas daun terdapat jaringan parenkim palisade dengan bentuk memanjang, jaringan ini berfungsi sebagai tempat terjadinya fotosintesis. Jaringan spons atau jaringan bunga karang pada daun *H.spinosa* berongga, berbentuk heksagonal tidak teratur yaitu terletak dibagian bawah dari jaringan parenkim palisade.



Gambar 1. (A) Penampang melintang daun *H.spinosa* (10x10)
 (B) Penampang melintang lamina daun *H.spinosa* (10x40)
 ea : epidermis atas, eb: epidermis bawah, fl: floem, ko: kolenkim, kd: kristal drus terdapat di ibu tulang daun dan helaian lamina daun, p : parenkim, pp: parenkim palisade, pbk : parenkim bunga karang, st: stomata, tr: trikoma, ru: ruang udara , x: xilem.

Berkas pengangkut terdiri dari xilem dan floem (Gambar 1A), xilem berada di sebelah atas floem karena tulang daun yang berasal dari batang (xilem di sebelah dalam dan floem di luar). Berkas pengangkut pada daun

H.spinosa terletak pada ibu tulang daun dan lamina ibu cabang tulang daun.

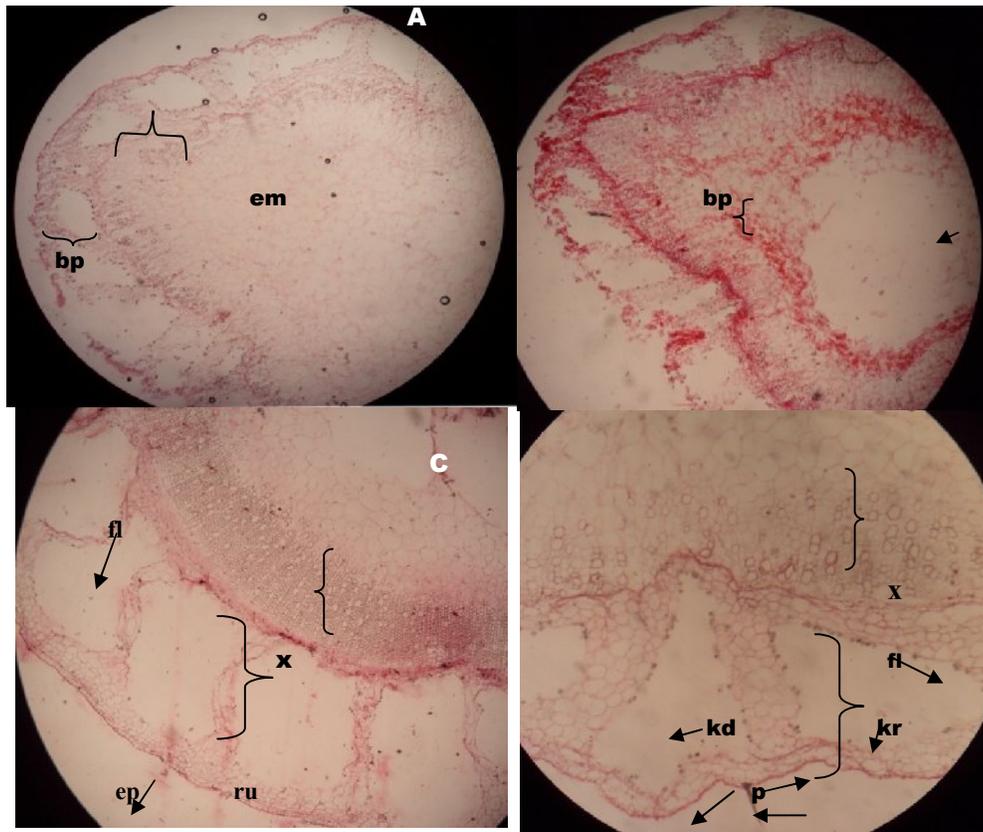
Struktur anatomis melintang batang *H.spinosa* terdiri dari epidermis, terdapat trikoma, korteks yang bermodifikasi sebagai jaringan

aerenkim, berkas pengangkut, terdapat rongga udara dibagian empulur batang. Batang *H.spinosaterdapat* korteks yang merupakan jaringan dasar terdiri dari sel parenkim. Pada korteks terdapat parenkim dengan ruang antar sel yang besar sebagai penyimpanan udara (aerenkim). Pada batang muda, sedang dan tua terlihat berbeda ukuran rongga udaranya (Gambar 2A-D)

Batang *H.spinosamempunyai* berkas pembuluh floem berada di sebelah luar xylem (Gambar 2C & D). Pada batang muda dan sedang, xilem dan floem belum terlihat jelas karena pada berkas pembuluh tersebut penebalan lapisan xilem, floem belum sempurna dibandingkan dengan berkas pembuluh batang tua. Menurut Fahn (1991), berkas pembuluh yang floemnya berada di bagian luar xilem disebut berkas kolateral.

Pada batang muda empulur terlihat jelas karena batang muda masih mengalami merupakan tahap

awal pertumbuhan (Gambar 2A). Bagian tengah empulur dapat rusak di waktu pertumbuhan, oleh sebab itu pada batang sedang dan tua empulur tidak terlihat lagi karena parenkim di bagian ini termodifikasi menjadi ruang udara. Menurut Fahn (1991), sel empulur pada ruas banyak spesies lebih cepat dewasa dan pertumbuhannya terhenti, sedangkan jaringan yang mengelilingi empulur tetap meristematik dan terus melebar secara membujur dan dalam lingkaran. Sehingga empulur dapat robek terpisah-pisah dan terbentuklah empulur kosong, dengan dinding sel yang pecah tadi menjadi lapisan rongga tersebut. Empulur yang demikian umumnya terdapat pada tumbuhan herba.

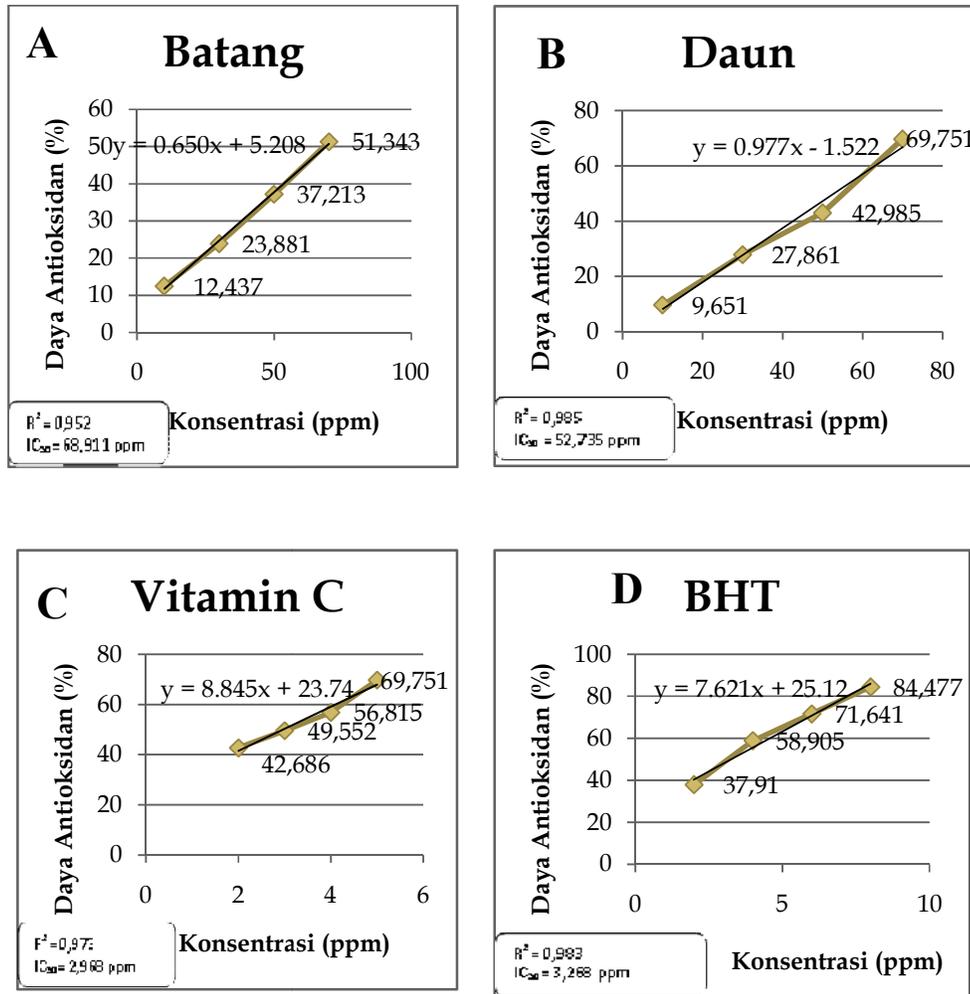


Gambar 2. Penampang melintang batang *H.spinosa* (A) batang muda, (B) batang sedang, (C & D) batang tua; ae: aerenkim, bp: berkas pembuluh, em: empulur, ep: epidermis, fl: floem, kd: kristal drus, ko: kolenkim, kr: korteks, p : parenkim, ru: ruang udara, tr: trikoma, x: xilem. Perbesaran 10x40

Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun dan Batang *H.spinosa*

Grafik hubungan antara konsentrasi ekstrak etanol daun dan

batang *H.spinosa* dengan daya antioksidan, sebagai pembanding digunakan BHT dan Vitamin C dapat dilihat pada Gambar 3A-D.



Gambar 3. A. Grafik hubungan antara konsentrasi ekstrak etanol batang *H. spinosa* dengan daya antioksidan
 B. Grafik hubungan antara konsentrasi ekstrak etanol daun *H. spinosa* dengan daya antioksidan
 C. Grafik hubungan konsentrasi vitamin C dengan daya antioksidan
 D. Grafik hubungan konsentrasi BHT dengan daya antioksidan

Pengukuran aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol daun (IC_{50} 52,735 ppm) dan batang (IC_{50} 68,911 ppm) pada penelitian ini memiliki aktivitas antioksidan yang rendah dibandingkan dengan kontrol vitamin C (IC_{50} 2,968 ppm) dan BHT

(IC_{50} 3,264 ppm). Nilai IC_{50} ekstrak etanol daun lebih kecil dibandingkan nilai IC_{50} ekstrak etanol batang *H. spinosa*. Hal tersebut menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun lebih kuat dibandingkan dengan ekstrak etanol batang.

Kemampuan menghambat radikal bebas DPPH dari ekstrak etanol daun dan batang *H.spinosaber* kaitan dengan senyawa kimia yang terkandung yaitu triterpenoid, alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin. Senyawa kimia yang dikandung dan berpotensi sebagai antioksidan akan menyumbangkan atom H melalui mekanisme penangkapan radikal. Sejumlah penelitian melaporkan bahwa banyak tanaman obat yang mengandung antioksidan dalam jumlah besar. Efek antioksidan disebabkan oleh adanya senyawa fenolat seperti flavonoid, merupakan senyawa polifenol yang terdapat pada teh, buah-buahan, sayuran, anggur dan tanaman lainnya (Sofia, 2006). Menurut Suhartono *et al* (2007) mekanisme pengikatan radikal bebas oleh flavonoid diawali oleh pelepasan hidrogen dan terjadi radikal flavonoid yang reaktif sehingga reaktivitasnya berkurang dan hilang. Selain itu menurut Hanani, *et al* (2005) golongan alkaloid yang terkandung dalam ekstrak *Calyspongia* sp mempunyai aktivitas antioksidan mempunyai IC₅₀ sebesar 41,21 µg/ml. Hal ini menunjukkan bahwa ada

kaitan antara senyawa yang dikandung dengan aktivitasnya sebagai antioksidan.

Menurut Hutapea (1991) tanaman Dewandaru (*Eugenia uniflora* L) adalah salah satu contoh dari sekian banyak tanaman obat Indonesia. Kandungan kimia dari daun dan batang Dewandaru mengandung saponin, flavonoid dan tannin. Di masyarakat, daun Dewandaru digunakan sebagai obat mencret, antihipertensi dan diuretik, antipiretik dan antirematik, bronkritis, influenza dan gangguan pencernaan. Penelitian yang dilakukan oleh Utami *dkk* (2005), membuktikan bahwa kandungan fenol dan flavonoid dalam ekstrak kloroform, etil asetat dan etanol daun dewandaru (*Eugenia uniflora* L.) memiliki aktivitas antioksidan. Ekstrak etanol daun dewandaru memiliki aktivitas sebagai agen penangkap radikal bebas dengan IC₅₀ 8,866 µg/ml.

Penelitian terhadap ekstrak etanol daun *H.spinosa* yang telah dilakukan Forestryana (2010) dan Dewi (2010), melaporkan kandungan fitokimia dari daun *H.spinosa* antara lain tanin, steroid, flavanoid, dan alkaloid. Kandungan fitokimia

tersebut hampir sama dengan kandungan fitokimia dewandaru. Flavonoid dari tumbuhan dilaporkan dapat berefek sebagai antioksidan disebabkan kemampuannya menangkap radikal-radikal bebas dan oksigen aktif (Hanasaki *dkk.*, 1994).

Ekstrak etanol daun *H.spinosa* lebih tinggi aktivitas antioksidannya daripada pada batang, hal tersebut diasumsikan berkaitan dengan adanya trikoma glanduler pada daun lebih banyak daripada batang, karena trikoma glanduler berperan sebagai penyimpan senyawa metabolit sekunder. Hal ini dapat dilihat pada penampang melintang batang dan daun *H.spinosa* secara mikroskopis Gambar 1 dan 2.

Menurut Hidayat (1995) struktur sel sekresi terdapat dipermukaan tumbuhan sebagai penyimpan dapat berupa rambut dan nektarium, namun dapat pula berada di dalam tubuh sebagai rongga atau saluran sekresi. Peristiwa sekresi dalam tumbuhan biasanya ditunjukkan pada rambut kelenjar, nektarium, saluran harsa, dan latisifer (sel getah, sel lateks), peristiwa sekresi tersebut menunjukkan berbagai tahap penimbunan zat dalam

organel dan vakuola, yakni dalam mengerahkan enzim yang terlibat dalam sintesis dan penguraian bagian sel; dalam pertukaran bahan organel; dan dalam peristiwa pengangkutan antarsel.

Sel sekresi merupakan sel yang terspesialisasi untuk menyimpan metabolit. Ukuran sel sekresi sedikit berbeda dengan sel-sel disekitarnya. Sel sekresi biasanya tersusun tunggal atau dalam barisan yang panjang. Sel sekresi dapat mengandung resin, tanin, lendir, kristal dan minyak (Iriawati, 2008). Pada daun jeruju komponen penyusun metabolit sekunder terdapat pada trikoma glandular, karena pada trikoma ini terdapat kelenjar yang menghasilkan sekret yang kental dan lengket. Sedangkan pada batang tidak ditemukan trikoma sekresi yang menghasilkan sekret atau kelenjar. Selain itu keberadaan senyawa metabolit sekunder yang bersifat antioksidan tidak hanya terdapat di dalam sel sekresi tetapi dapat juga berada di luar sel sekresi misalnya pada vakuola sel yang merupakan tempat menyimpan zat makanan dan penimbunan zat-zat sisa metabolisme,

termasuk senyawa metabolit sekunder.

KESIMPULAN

Struktur anatomis melintang daun *H.spinosa* terdiri dari sel epidermis atas (adaksial) dan epidermis bawah (abaksial), mesofil, jaringan kolenkim sebagai jaringan penguat, berkas pengangkut (xilem & floem) dan terdapat kristal Ca Oksalat tipe drus serta ditemukan adanya trikoma non glanduler dan trikoma glanduler sebagai tempat akumulasi metabolit sekunder. Struktur anatomis melintang batang *H.spinosa* terdiri dari epidermis, trikoma, terdapat korteks yang bermodifikasi sebagai jaringan aerenkim, berkas pengangkut, terdapat rongga udara dibagian empulur batang. Aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol daun *H.spinosa* (IC_{50} 52,735 ppm) lebih tinggi dibandingkan batang (IC_{50} 68,911 ppm), namun masih lebih rendah dibandingkan kontrol vitamin C dan BHT.

DAFTAR PUSTAKA

Andayani, R, Y. Lisnawati & Maimunah. 2008. Penentuan Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenolat Total dan Lipopen pada Buah Tomat (*Solanum Lycopersicum* L). *Jurnal Sains*

dan Teknologi.Farmasi.13 (1) : 1410-0177.

Ardiansyah. 2007. Antioksidan dan Peranannya Bagi Kesehatan.

<http://www.beritaiptek.com/pangan.php>

Diakses pada tanggal 30 Oktober 2010.

Blois, MS. 1958. Antioxidant Determinations by the Use of a stable free radical. *Nature*. 181: 1199-1200.

Dewi, E. 2010. Uji Aktivitas Antipiretik Ekstrak Etanol Daun Jeruju (*Hydrolea spinosa*) pada Mencit Jantan (*Mus musculus*) yang Diinduksi Pepton. *Skripsi*. FMIPA Universitas Lambung Mangkurat. Banjarbaru. (tidak dipublikasikan).

Fahn, A. 1991. *Anatomi Tumbuhan*. Edisi ke-3. Terjemahan A. Soediarso, T. Soemaningrat, M. Natasaputra & H. Akmal. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.

Forestryana, D. 2010. Kajian Farmakognostik Tumbuhan Jeruju (*Hydrolea spinosa*) Asal Teluk Selong Martapura Kabupaten Banjar Kalimantan Selatan. *Skripsi*. FMIPA Universitas Lambung Mangkurat. Banjarbaru. (tidak dipublikasikan).

Hanani, E. A. Mun'im, & R. Sekarini. 2005. Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam *Spongy Callyspongia sp* dari Kepulauan Seribu. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 2 (3) : 127-133.

Hanasaki, Y., Ogawa, S., and Fukui, S., 1994, The Correlation Between Active Oxygen, Scavenging and Antioxidative Effect of Flavonoid, *J. Free*

- Radical Biol Med.*, **16**, 845-850.
- Harborne, I.B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan, Cetakan II*, terjemahan K. Radmawinata dan I. Soediso. Penerbit ITB. Bandung.
- Hidayat, E. B. 1995. *Anatomi Tumbuhan Berbiji*. ITB. Bandung
- Hutapea, J.R., 1991, *Inventaris Tanaman Obat Indonesia III*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta
- Iriawati, 2008. *Struktur Sekresi Tanaman*.
http://www.gtibiz.struktur_sekresi.pdf
Diakses 21 Juni 2011.
- Praptiwi, P. D. & M. Harapini. 2006. Nilai peroksida dan aktivitas anti radikal bebas Diphenyl Picril Hydrazil Hydrate (DPPH) Ekstrak Metanol. *Knema laurina*. *Majalah Farmasi Indonesia*. 17 (1): 32-36.
- Ruzin, S. E. 1999. *Plant Microtechnique and Microscopy*. Oxford University Press. Oxford.
- Sofia, D. *Antioksidan dan Radikal bebas*, situs Web Kimia Indonesia (online) www.chemistry.org
- Suhartono, T., S. Pramono & R. Asmah. 2007. Flavonoid Antioksidan Penangkap Radikal dari Daun Kapel (*Stelechocarpus burahol* (Bl) Hook). *Majalah Farmasi Indonesia*. 18 (3): 111-116.
- Utami, W., Da'i, M & Sofiana, Y.S., 2005. Uji Aktivitas Penangkap Radikal dengan Metode DPPH serta Penetapan Kandungan Fenol dan Flavonoid dalam Ekstrak Kloroform, Ekstrak Etil Asetat, Ekstrak Etanol Daun Dewandaru (*Eugenia uniflora* L.), *Pharmakon*, 6 (1): 5-9
- Wink, M. 1990. Physiology of Secondary Product Formation in Plant. In: Charwood, B.V. & M.J.C Rodes (editors). *Secondary Products from Plant Tissue Culture*. Clarendon Press, Oxford. 23-37

