

Antioxidant Activity Of Hydrolyzed Black Soybean (*Glycine Soja* Linn. Sieb.) By β -Carotene Bleaching

Masdiana Tahir, Zainal Abidin, Nilla Sukmawati

Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia, Makassar-Indonesia

Artikel info

Diterima : 15 Maret 2017
Direvisi : 21 Maret 2017
Disetujui : 03 April 2017

Kata kunci

Antioxidant
Glycine soja Linn. Sieb.
 β -carotene bleaching

Keyword

Antioksidan
Glycine soja Linn. Sieb.
 β -carotene bleaching

ABSTRACT

Black soybean (*Glycine soja* Linn. Sieb.) contain flavonoid compounds known as isoflavones. Isoflavones are kind of flavonoid which is the highest antioxidative activity exhibited by the isoflavones aglycones, especially genistein. Isoflavone glycosides contain in *G. soja* can be hydrolyzed to be aglycone (genistein) using an acid. The aim of this research was to investigate the antioxidant activity of the hydrolyzed *G. soja* extract that was obtained by β -carotene bleaching method. The result showed that the hydrolyzed *G. soja* extract has the value of antioxidant activity 42.8% and 81.1% for the standards solution of quercetin. Therefore, it can conclude that the hydrolyzed *G. soja* extract has the efficacy as an antioxidant.

ABSTRAK

Kedelai hitam (*Glycine soja* Linn. Sieb.) mengandung senyawa flavonoid yang lebih dikenal sebagai isoflavon. Isoflavon merupakan senyawa golongan flavonoid yang aktivitas antioksidatif tertingginya ditunjukkan oleh isoflavon aglikon, terutama genistein. Isoflavon glikosida pada *G. soja* dapat dihidrolisis menjadi aglikon (genistein) dengan menggunakan asam. Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya aktivitas antioksidan (AA) ekstrak *G. soja* terhidrolisis menggunakan metode β -carotene bleaching yang dihidrolisis dengan penambahan HCl 7%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak *G. soja* terhidrolisis 200 ppm memiliki nilai AA sebesar 42,8% (*intermediate*) sedangkan kuersetin 10 ppm sebagai pembanding sebesar 81,1%. Sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak *G. soja* terhidrolisis memiliki khasiat sebagai antioksidan.

Koresponden author

Masdiana Tahir
Email: masdiana.tahir@umi.ac.id
Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia, Makassar-Indonesia

PENDAHULUAN

Tubuh manusia secara terus menerus memproduksi radikal bebas, sebagai produk samping dari proses metabolisme normal tubuh. Polusi, radiasi ultraviolet, stress, rokok, diet tidak stabil, makanan berlemak tinggi, bahan tambahan makanan, dan faktor lainnya tanpa disadari masuk ke dalam tubuh dan menyebabkan peningkatan produksi radikal bebas. Radikal bebas dapat menjadi molekul yang menimbulkan penyakit pada manusia. Antisipasi terhadap terbentuknya radikal bebas di dalam tubuh dapat dilakukan dengan mengatur pola makan dan mengonsumsi makanan tambahan (suplemen) yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan untuk meredam radikal bebas tersebut. Ada beberapa tumbuhan yang memiliki aktivitas antioksidan dan bermanfaat untuk melindungi tubuh manusia dari bahaya radikal bebas yang dapat menimbulkan penyakit degeneratif (Regina 2008; Tan, 2013).

Salah satu jenis biji-bijian yang banyak dimanfaatkan saat ini adalah kedelai. Konsumsi masyarakat telah bergeser dari bahan makanan hewani ke bahan makanan nabati. Pada umumnya, kedelai yang lebih banyak digunakan dalam produk pangan adalah kedelai kuning (*Glycine max* Linn Merr.) misalnya diolah menjadi tahu, tempe dan susu kedelai. Pemanfaatan kedelai hitam (*Glycine soja* Linn. Sieb.) kurang mendapat perhatian dan tidak sepopuler kedelai kuning dikarenakan warnanya yang kurang menarik (Noer *et al.*, 2009).

Meskipun demikian *G. soja* merupakan jenis kedelai dengan kandungan flavonoid 6 kali lebih banyak dibandingkan kedelai jenis lainnya. *G. soja* mengandung senyawa flavonoid yang lebih dikenal sebagai isoflavon, yang merupakan senyawa non-nutritif (Xu dan Chang, 2007).

Salah satu aktivitas fisiologis yang menonjol dari isoflavon adalah aktivitas antioksidannya. Isoflavon dalam kedelai terdapat dalam 4 bentuk, yaitu bentuk malonil-glikosida, asetil-glikosida, glikosida, dan aglikon (bebas). Aktivitas antioksidatif tertinggi ditunjukkan oleh isoflavon aglikon, terutama genistein (Purwoko, 2004).

Sebagian besar isoflavonoid dalam *G. soja* ditemukan dalam bentuk glikosida yang mengikat satu molekul gula atau biasa juga disebut glikon, dalam penelitian ini glikosida akan diurai menjadi bentuk glikon dan aglikon dan untuk menarik senyawa aglikon yang terdapat dalam *G. soja* perlu dilakukan metode ekstraksi secara hidrolisis.

Hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Fukutake (1996) menunjukkan bahwa *G. soja* yang terhidrolisis mengandung genistein yang lebih tinggi (6,574%) dibandingkan dengan sebelum dihidrolisis (3,007%).

Metode β -carotene bleaching merupakan suatu metode untuk mengukur aktifitas antioksidan (AA) dalam menghambat peroksidasi lipid. Metode ini didasarkan pada kemampuan antioksidan untuk mencegah atau menghambat pemudaran warna jingga karoten akibat oksidasi dari radikal peroksida yang terbentuk pada reaksi oksidasi asam linoleat. Laju pemudaran β -karoten ini dapat diperlambat dengan adanya antioksidan lain (Kulisic *et al.*, 2003); Lai *et al.*, 2013).

Berdasarkan uraian diatas, maka perlu dilakukan penelitian mengenai pengujian AA *G. soja* terhidrolisis berdasarkan kemampuan pengikatan radikal bebas menggunakan metode β -Carotene bleaching untuk menambah data ilmiah mengenai sumber antioksidan yang dapat dikembangkan untuk penelitian selanjutnya.

METODE PENELITIAN

Pengolahan sampel dan pembuatan ekstrak

Sampel *G. soja* di peroleh dari pasar Sleman-Yogyakarta kemudian dicuci sampai bersih menggunakan air yang mengalir. Biji yang telah bersih kemudian diangin-anginkan pada tempat yang terlindung dari sinar matahari hingga kering, diserbukkan. Serbuk kering diekstraksi menggunakan etanol 70% dengan perbandingan 1:2 g/mL dan dipanaskan pada suhu 90°C sambil diaduk secara konstan selama 2 jam. Campuran dipisahkan dari zat terlarut menggunakan vakum filter. Filtrat ditambahkan HCl 7% hingga larutan mencapai pH 4. Larutan kemudian dipanaskan kembali pada suhu 70°C sambil diaduk secara konstan selama 2 jam. Selanjutnya ditambahkan aquadest dengan perbandingan 1:1 v/v dan diaduk secara konstan pada suhu kamar. Endapan yang terbentuk dipisahkan menggunakan vakum filter, hasilnya disimpan pada suhu 4°C (Zhang *et al.*, 2007).

Analisis AA menggunakan metode β -caroten bleaching (Salamah, 2014)

Emulsi β -karoten asam linoleat dibuat dengan mencampurkan: 1 mg larutan β -karoten (1 mg/mL dalam kloroform) 30,5 mg asam linoleat dan 200,16 mg Tween-80. Campuran dihomogenkan hingga terbentuk emulsi kemudian dilarutkan dalam 60 mL aquadest dan divortex dengan ultrasonifikasi selama 4 menit.

Sebanyak 1,0 mL larutan sampel (200 ppm) ditambahkan 2,0 mL emulsi β -karoten asam linoleat dan 2,0 mL aquadest kemudian diinkubasi pada suhu 50°C. Blanko dibuat dengan mencampurkan 5,0 mg asam linoleat dan 33,33 mg tween-80. Campuran kemudian dihomogenkan hingga terbentuk emulsi, dilarutkan dalam 10 mL aquadest. Kontrol negatif dibuat dengan mencampurkan 2,0 mL emulsi β -karoten asam linoleat dan 2,0 mL aquadest dan 1,0 mL etanol 96%. Absorbansi diukur pada λ 459,13 nm dengan spektrofotometer Vis (Simadzu). Absorbansi diukur dengan selang interval 15 menit sampai warna β -karoten memudar (120 menit). Persentase AA sampel dibandingkan dengan kuersetin 10 ppm.

ANALISIS DATA

Analisis data pengujian AA dengan metode β -carotene bleaching dilakukan dengan menghitung nilai % antioksidan. Persen AA ditentukan dengan menggunakan rumus berikut:

$$\% \text{ AA} = [1 - (A^0 - A^{120}) / (A_0^0 - A_{120}^0)] \times 100$$

Ket:

A^0 = absorbansi sampel waktu 0 menit; A^{120} = absorbansi sampel waktu 120 menit; A_0^0 = absorbansi kontrol waktu 0 menit; A_{120}^0 = absorbansi kontrol waktu 120 menit.

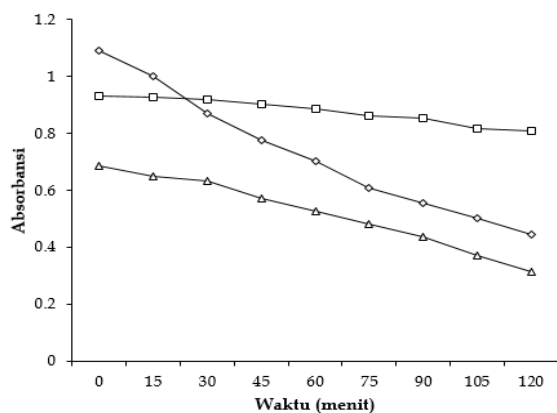
Tabel 1. Absorbansi kontrol negatif, ekstrak *G. soja* terhidrolisis dan kuersetin pada menit ke-0 dan 120 serta persen AA masing-masing

Menit ke-	Absorbansi			% AA	
	Kontrol negatif	<i>G. soja</i>	Kuersetin	<i>G. soja</i>	Kuersetin
0	1,092	0,687	0,931	42,8	81,1
120	0,444	0,316	0,808		

HASIL DAN PEMBAHASAN

Senyawa antioksidan merupakan inhibitor oksidasi, cara kerja senyawa antioksidan adalah bereaksi dengan radikal bebas reaktif membentuk radikal bebas tak reaktif yang relatif stabil. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas. Dalam suatu sistem biologis terdapat sistem pertahanan tubuh untuk melawan atau meredam radikal bebas. Sistem pertahanan tubuh tersebut didukung oleh zat-zat gizi yang berfungsi sebagai antioksidan. Salah satu sumber zat gizi yang dapat dijadikan sebagai sumber antioksidan adalah *G. soja*.

Tingginya kadar flavonoid terutama golongan isoflavon yang dikandung oleh *G. soja* bertanggung jawab terhadap tingginya AA tanaman ini. Sebagian besar isoflavonoid dalam *G. soja* ditemukan dalam bentuk glikosida. Penambahan HCl 7% dimaksudkan untuk menghidrolisis glikosida tersebut. Adapun rendamen dari ekstrak *G. soja* adalah 0,532%. Glikosida yang telah terhidrolisis diuji aktifitas antioksidannya dengan metode β -carotene bleaching. Pengukuran absorbansi degradasi β -karoten yang telah diinkubasi bersama dengan ekstrak *G. soja* terhidrolisis, kuersetin, dan kontrol negatif dilakukan selama 120 menit dengan interval waktu per 15 menit. Adanya penambahan ekstrak *G. soja* yang diduga mengandung antioksidan diharapkan dapat menghambat laju degradasi β -karoten. Adapun hasilnya dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Pengaruh ekstrak *G. soja* terhidrolisis terhadap laju degradasi β -karoten yang dibandingkan dengan kontrol dan kuersetin

Keterangan:

- ◇ Kontrol negatif
- Kuersetin
- △ Ekstrak *G. soja* terhidrolisis

Gambar 1 memperlihatkan pengaruh ekstrak *G. soja* terhidrolisis terhadap degradasi β -karoten yang dibandingkan dengan kontrol negatif dan kuersetin. Laju degradasi β -karoten meningkat seiring dengan bertambahnya waktu, akan tetapi laju degradasi β -karoten dapat dihambat oleh penambahan ekstrak *G. soja* terhidrolisis jika dibandingkan dengan kontrol, meskipun penghambatan tertinggi ditunjukkan oleh penambahan kuersetin.

Menurut Hassimotto (2005), daya AA metode β -carotene bleaching digolongkan menjadi tiga tingkat yaitu antioksidan kuat (>70%), *intermediate* (40-70%), dan lemah (<40%). Berdasarkan data hasil penentuan %AA dengan metode metode β -carotene bleaching maka, diperoleh %AA ekstrak *G. soja* terhidrolisis sebesar 42,8% sedangkan kuersetin sebesar 81,1% (Tabel 1). Aktivitas antioksidan kuersetin sebagai pembanding lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak *G. soja* terhidrolisis. Namun hal ini tetap menunjukkan bahwa ekstrak *G. soja* terhidrolisis memiliki aktivitas antioksidan dengan kategori antioksidan *intermediate* (40-70%).

KESIMPULAN

Aktivitas antioksidan ekstrak *G. soja* terhidrolisis adalah 42,8% (kategori *intermediate*).

DAFTAR PUSTAKA

- Fukutake M, Takahashi M, Ishida K, Kawamura H, Sugimura T, Wakabayashi K. Quantification of genistein and genistin in soybeans and soybean products. *Food Chem Toxicol*. 1996; 34(5): 457-461
- Hassimotto NMA, Genovese IS, Lajolo FM. Antioxidant activity of dietary fruits, vegetables, and commercial frozen fruit pulps. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005;53(8): 2928-2935
- Kulicic T, Radonic A, Katalinic V, Milos M. Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food Chemistry*. 2003: 633-640
- Lai H Y, Lim Y Y. Evaluation of antioxidant activities of the methanolic extracts of selected ferns in Malaysia. *J of Envr Sci and Develop*, 2013;12, pp 87-97
- Noer L, Epy M L, Bambang S L. 2009. The effect of black soybean milk on liver to recovery hispathology in rat with high fat diet. *Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga*. Surabaya
- Purwoko T. Kandungan isoflavon aglikon pada tempe hasil fermentasi *Rhizopus microspores* var. *oligosporus*: Pengaruh perendaman. *BioSMART*, 2004;6(2); 8587
- Regina Andayani. Penentuan aktifitas antioksidan, kadar fenolat total dan likopein pada buah tomat

- (*Solanum lycopersicum*). Jurnal sains dan teknologi farmasi. 2008; 13(1)
- Salamah N, Nurushoimah. Uji antioksidan ekstrak etanol herba pegagan [*Centella asiatica* (L). Urb.] dengan metode penghambatan degradasi betakaroten. Farmasi sains, 2014:2(4)
- Tan Hoan Tjay, Kirana Rahardja. Obat-obat penting Edisi ketujuh. 2015. Elex Media Komputindo. Jakarta
- Xu B J, Chang S C. A comparative study on phenolic profiles and antioxidant activities of legumes as affected by extraction solvents. J Food sci. 2007:72; 159-166
- Zhang E J, Ming K, Luo K Q. Extraction and purification of isoflavones from soybeans and characterization of their estrogenic activities. J angric food chem. 2007: 55(17); 6940-6950