

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN SITOTOKSISITAS EKSTRAK DAUN MALEK (*Litsea garciae* Vidal)

Rio Andrie^{1*}, Nora Idiawati¹

¹Program Studi Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura,
Jln. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi78124, *email: rio_cysers@yahoo.com

ABSTRAK

Malek adalah salah satu tumbuhan dari suku Lauraceae. Daun malek digunakan untuk mengobati luka bakar kulit ringan dan bisul. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikril-hidrazil), kandungan total fenol menggunakan metode Folin-Ciocalteu dan sitotoksik dengan menggunakan metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) pada daun malek pada ekstrak metanol kental, fraksi metanol, kloroform dan n-heksana. Hasil penelitian ini menunjukkan aktivitas antioksidan yang ditunjukkan dengan nilai IC_{50} untuk fraksi n-heksana sebesar 777,11 $\mu\text{g/ml}$, fraksi kloroform sebesar 237,21 $\mu\text{g/ml}$ dan fraksi metanol sebesar 90,89 $\mu\text{g/ml}$ yang termasuk sumber antioksidan dengan kandungan total fenol sebesar 237,35 $\mu\text{g TAE/mg}$. Terdapat korelasi positif antara kandungan total fenol dan nilai IC_{50} . Hasil uji sitotoksik menunjukkan nilai LC_{50} pada fraksi metanol sebesar 512,404 $\mu\text{g/ml}$, fraksi kloroform sebesar 328,321 $\mu\text{g/ml}$ dan fraksi n-heksana memiliki nilai LC_{50} paling baik dengan nilai 181,736 $\mu\text{g/ml}$ dan berpotensi sebagai sumber antikanker.

Kata kunci : malek, antioksidan, fenol, sitotoksik, BSLT, DPPH, antikanker.

PENDAHULUAN

Kalimantan Barat dengan luas wilayah 14,68 juta ha dan beriklim tropis, memiliki beranekaragam jenis tumbuhan hutan sebagai sumber daya alam hayati. Tumbuhan dapat digunakan sebagai obat-obatan karena dapat menghasilkan suatu senyawa yang memperlihatkan aktifitas biologis tertentu (Nohong, 2009). Banyak penelitian telah membuktikan manfaat mengkonsumsi tumbuhan yang berkhasiat dapat menurunkan resiko penyakit jantung, kanker, katarak dan penyakit degeneratif lainnya. Hal ini yang menjadikan antioksidan yang berasal dari bahan alami banyak diminati saat ini (Yuhernita dan Juniatri, 2011).

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menghambat oksidasi molekul lain dan mampu melindungi tubuh terhadap kerusakan oleh oksigen reaktif yang ditimbulkan oleh radikal bebas (Sunarni dkk, 2007). Radikal bebas itu sendiri adalah molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan di orbital terluar, bersifat tidak stabil dan sangat reaktif (Pokorny *et al.*, 2001).

Salah satu tumbuhan yang berpotensi sebagai antioksidan yang berasal dari marga *litsea* adalah tumbuhan malek (*Litsea garciae* Vidal). Menurut Voon dan Kueh (1999), komposisi gizi proksimat dari buah malek ini adalah per 100 g bagiannya adalah: air 78,3%, energi 104 kkal, protein 1,4%, lemak 6,8%, karbohidrat 10%, serat kasar 1,0%, abu 2,5%, P 26 mg, K 355 mg, Ca 7 mg, Mg 17 mg, Fe 0,5 mg, Mn 5 ppm, Cu 2,6 ppm, Zn 10,2 ppm dan

vitamin C 3,4 mg. Daun malek digunakan untuk mengobati luka bakar kulit ringan akibat sengatan ulat. Selain itu daunnya digunakan untuk bisul dengan cara di tumbuk dan rebusannya dapat mengekstrak nanah dari bisul. Selain itu minyak dari biji buah malek dapat digunakan untuk membuat sabun dan lilin (Lim, 2012).

Penelitian mengenai kandungan senyawa kimia pada daun malek belum banyak diketahui, sehingga perlu dilakukan penelitian mengenai kandungan daun malek dari aspek fitokimia, kandungan total fenol, aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (1,1 Diphenyl-2-picrylhidrazil) dan uji sitotoksik dengan metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) dengan membandingkan ekstrak metanol kental dan masing-masing fraksi (metanol, kloroform dan n-heksana) dari daun malek (*L. garciae* Vidal).

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan Uji

Bahan uji yang digunakan adalah daun malek yang berasal dari kecamatan Pontianak Tenggara, Kota Pontianak, Kalimantan Barat.

Bahan Kimia

Bahan kimia yang digunakan adalah akuades (H_2O), asam klorida (HCl), asam sulfat (H_2SO_4), 2,2-difenil-1-pikril-hidrazil (DPPH), dimetil sulfoksida (DMSO), kloroform (CHCl_3), metanol (CH_3OH), n-heksana (C_6H_{14}), natrium karbonat (Na_2CO_3), natrium klorida (NaCl), reagen

Wegner, reagen Dragendorff's, reagen Folin-Ciocalteu, dan serbuk Mg.

Alat

Alat-alat yang digunakan adalah maserator, *rotary evaporator*, seperangkat alat gelas dan spektrofotometer UV/Vis.

Prosedur Kerja

Ekstraksi

Sebanyak 1,5 kilogram sampel dihaluskan. Selanjutnya, sampel dimaserasi selama 3x24 jam dengan menggunakan metanol pada suhu kamar. Hasil maserasi kemudian disaring agar diperoleh filtrat yang terpisah dari residu. Ekstrak metanol kemudian dilakukan partisi menggunakan pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda. Ekstrak metanol dipartisi menggunakan pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda-beda. Langkah pertama dipartisi dengan menggunakan pelarut *n*-heksana sehingga diperoleh fraksi *n*-heksana dan fraksi metanol. Kemudian fraksi metanol di partisi kembali dengan pelarut kloroform sehingga diperoleh fraksi metanol dan fraksi kloroform. Selanjutnya masing-masing fraksi tersebut dipekatkan menggunakan evaporator untuk memperoleh ekstrak yang pekat, sehingga diperoleh sampel dari tiap fraksi metanol, kloroform dan *n*-heksana.

Uji Fitokimia

- Identifikasi alkaloid

Masing-masing sampel di ambil beberapa tetes dan dicampur dengan beberapa tetes asam sulfat pekat (H_2SO_4) pada tabung reaksi, kemudian dikocok dan didiamkan hingga terjadi pemisahan. Setelah itu bagian atas lapisan asam ditambahkan pereaksi Dragendorf dan pereaksi Wagner. Jika terbentuk endapan berwarna merah jingga dan coklat maka sampel menunjukkan hasil positif adanya alkaloid (Sangi dkk, 2008).

- Identifikasi flavonoid

Masing-masing sampel di ambil beberapa tetes dan ditambahkan dengan beberapa tetes asam klorida (HCl) dan 0,2gr logam Mg di dalam tabung reaksi. Selanjutnya di amati terbentuknya warna merah yang menunjukkan hasil positif adanya flavonoid. (Sangi dkk, 2008).

- Identifikasi tanin/polifenol

Masing-masing sampel di ambil beberapa tetes dan ditambahkan dengan 2-3 tetes larutan feriklorida ($FeCl_3$) 1% .Terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau menunjukkan adanya tanin (Sangi dkk, 2008).

- Penentuan terpenoid-steroid dengan metode Lieberman–Burchard

Uji Lieberman–Burchard, masing-masing sampel di ambil beberapa tetes dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan dengan pereaksi Lieberman–Buechard. Adanya triterpenoid ditunjukkan dengan terjadinya warna merah jingga atau ungu, sedangkan adanya steroid ditunjukkan dengan adanya warna biru. (Sangi dkk, 2008).

Penentuan Kandungan Total Fenol

Kandungan total fenol ditentukan dengan metode Folin-Ciocalteu. Sebanyak 0,5 mL masing-masing fraksi (metanol, kloroform dan *n*-heksana) 0,1% dari sampel dicampurkan dengan 0,5 mL reagen Folin-Ciocalteu 10%. Kemudian campuran didiamkan pada suhu kamar selama 5 menit. Selanjutnya di campur kembali dengan 2 mL Na_2CO_3 (6% w/v). Campuran di kocok dan dipanaskan pada suhu 45°C selama 15 menit. Lalu campuran didiamkan pada suhu kamar selama 90 menit. Absorbansi sampel diukur pada λ_{maks} 725 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Kandungan total fenol dinyatakan sebagai mg/g ekuivalen asam galat (Azlim *et al.*, 2010).

Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Sebanyak 2 mL masing-masing larutan sampel divariasikan konsentrasinya menjadi 20, 50, 100, 250, dan 500 ppm, setelah itu dicampurkan dengan 2 mL larutan DPPH 0,002% dalam tabung reaksi dan didiamkan selama 30 menit. Absorbansinya diukur pada λ_{maks} 517 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Kekuatan inhibisinya dihitung menggunakan rumus:

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

Dari data yang diperoleh, dapat dihitung dengan persamaan regresi kemudian ditentukan nilai IC_{50} , dimana konsentrasi efektif yang dibutuhkan untuk menginhibisi 50% radikal bebas (Kekuda *et al.*, 2009).

Uji Aktivitas Sitotoksisitas dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test)

Sebanyak 1L air laut, dimasukkan kedalam wadah. Lalu telur udang *Artemia salina* di masukan dan diberi penerangan 48 jam sehingga larva telur akan menetas dan digunakan untuk uji analit. Setelah itu, disiapkan larutan uji dari ekstrak metanol kental dan masing-masing fraksi (metanol, kloroform dan *n*-

heksana) dengan konsentrasi 10, 100, 500 dan 1000 ppm. Kemudian ditambahkan sampel pada air laut sehingga volumenya sebanyak 5mL dan dimasukkan larva udang sebanyak 10 ekor dengan mikropipet ke dalam botol vial. Di lakukan triplo pada masing-masing konsentrasi dan di diamkan selama 24 Jam. Di buat juga larutan kontrol dibuat tanpa penambahan sampel sebagai perbandingan. Setiap larva yang mati dari masing-masing konsentrasi dihitung dan dicatat jumlahnya.

Nilai LC_{50} ditentukan dengan kurva persen larva yang mati terhadap konsentrasi ekstrak. Nilai LC_{50} didefinisikan sebagai konsentrasi ekstrak yang dapat mengakibatkan 50% kematian larva udang (McLaughlin, 1998).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi Sampel dan Uji Fitokimia

Daun malek diperoleh di kecamatan Pontianak Tenggara, Kota Pontianak, Kalimantan Barat. Sampel daun malek yang diperoleh dikering anginkan, digiling hingga halus dan dimaserasi selama 3x24 jam agar senyawa dapat terekstrak secara maksimal. Maserat kemudian dipekatkan dengan evaporator dan diperoleh ekstrak metanol kental. Ekstak metanol kental dipartisi kembali menggunakan pelarut n-heksana, kloroform dan metanol dan dipekatkan dengan evaporator.

Partisi merupakan kemampuan zat terlarut untuk terdistribusi antara dua pelarut yang tidak saling campur dengan ekstraksi cair-cair. Proses ini berdasarkan sifat *like dissolve like*, dimana senyawa yang bersifat polar akan lebih mudah larut dalam pelarut yang polar dan sebaliknya. Partisi dilakukan menggunakan 2 pelarut yang berbeda tingkat kepolarannya yaitu pelarut n-heksana yang bersifat nonpolar dan pelarut kloroform yang bersifat semipolar.

Analisis kandungan fitokimia merupakan salah satu uji pendahuluan secara kualitatif untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder pada suatu tanaman.

Tabel 1 Uji fitokimia daun malek

Golongan Senyawa	Fraksi n-Heksana	Fraksi Kloroform	Metanol
Alkaloid			
-Wagner	+	+	+
-Dragendoff	+	+	+
Flavonoid	-	-	+
Tanin/Polifenol	-	+	+
Steroid/Terpenoid	+	+	+

Fraksi metanol bersifat polar dan menunjukkan hasil uji positif untuk polifenol sedangkan fraksi n-heksana bersifat non polar menunjukkan hasil negatif mengandung senyawa fenol (Tabel 1).

Uji Kandungan Total Fenol

Uji kandungan total fenol bertujuan untuk menentukan total senyawa fenolik yang terkandung dalam sampel dengan menggunakan reagen *folin-ciocalteau*. Senyawa fenol banyak terdapat pada senyawa bersifat polar dan semipolar (Hayati *et al.*, 2010).

Tabel 2 Nilai kandungan total fenol

Sampel	Kandungan Total Fenol (μ g TAE/mg)
Fraksi n-heksana	24,48
Fraksi kloroform	103,75
Fraksi metanol	237,75

Tabel 2 menunjukkan fraksi n-heksana memiliki nilai kandungan total fenol paling kecil karena bersifat non polar sedangkan fraksi metanol yang bersifat polar memiliki nilai kandungan total fenol yang besar.

Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikril-hidrazil)

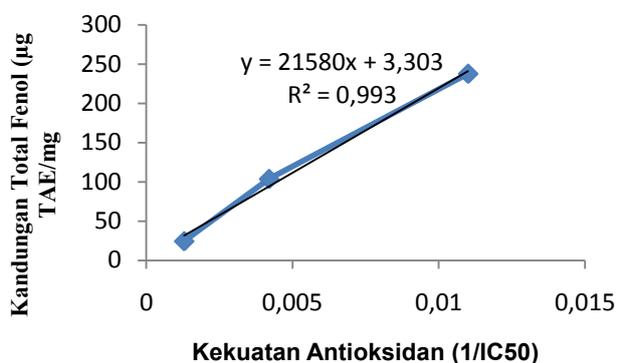
Uji aktivitas antioksidan didasarkan pada kemampuan senyawa antioksidan dalam menghambat radikal bebas DPPH, dimana radikal bebas DPPH akan mengambil satu atom hidrogen antioksidan untuk menghasilkan senyawa DPPH yang stabil atau tereduksi (Molyneux, 2004). Warna akan berubah dari violet menjadi kuning dan diikuti penurunan serapan pada panjang gelombang 517 nm. Tabel 3 menunjukkan nilai hasil uji aktivitas antioksidan.

Tabel 3 Nilai aktivitas antioksidan

Sampel	Aktivitas antioksidan IC_{50} (ppm)
Fraksi N-heksana	777,11
Fraksi Kloroform	237,21
Fraksi Metanol	90,89
Vitamin C	3,39

Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam IC_{50} . Antioksidan dikatakan sangat kuat apabila nilai $IC_{50} < 50 \mu$ g/mL, antioksidan kuat jika nilai IC_{50} 50-100 μ g/mL, antioksidan sedang dengan nilai IC_{50} 100-150 μ g/mL dan antioksidan lemah apabila nilai $IC_{50} > 150 \mu$ g/mL (Miryanti dkk, 2011). Pengujian aktivitas antioksidan ini menggunakan larutan pembanding yaitu asam askorbat (vitamin C) karena asam askorbat

merupakan antioksidan yang sangat kuat dan sering digunakan sebagai larutan pembanding dalam pengukuran aktivitas antioksidan. Fraksi metanol memiliki nilai 90,98 ppm dan tergolong antioksidan kuat.



Gambar 1 korelasi antara kandungan total fenol dengan kekuatan antioksidan.

Nilai IC₅₀ pada uji antioksidan memiliki hubungan korelasi dengan kandungan total fenol (Gambar 1). Apabila nilai kandungan total fenol semakin besar, maka nilai IC₅₀ pada uji aktivitas antioksidan akan semakin kecil, artinya antioksidan semakin baik/kuat.

Uji Toksisitas dengan metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test)

Uji toksisitas dilakukan dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) yang diujikan dengan larva udang *Artemia Salina Leach*. Larva udang *A.salina leach* dapat dimanfaatkan sebagai hewan uji dalam penentuan ketoksikan (racun) pada suatu ekstrak atau senyawa dan dianggap memiliki korelasi dengan daya sitotoksik senyawa-senyawa antikanker.

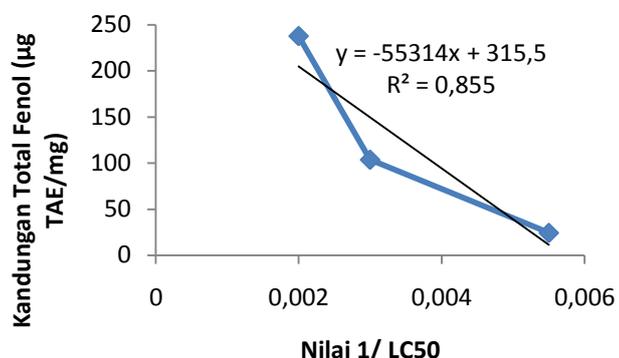
Tiap-tiap sampel dilarutkan dengan air laut dan dibuat dalam konsentrasi 10, 100, 500 dan 1000 ppm. Uji toksisitas menggunakan 10 ekor larva udang *A.salina leach*, di mana akan dilihat jumlah kematian udang pada tiap konsentrasi sampel. Hasil kematian larva udang ini dianalisis menggunakan analisis probit untuk memperoleh nilai LC₅₀.

Tabel 4 nilai LC₅₀ tiap fraksi

Sampel	Nilai LC ₅₀
Fraksi n-heksana	181,736
Fraksi kloroform	328,321
Fraksi metanol	512,404

Dari data tersebut, semua ekstrak pada metanol kental dan tiap fraksi sampel daun malek memiliki potensi sebagai antikanker. Ekstrak sampel bersifat toksik apabila mempunyai nilai LC₅₀ (konsentrasi yang dapat

mematikan 50% larva udang laut) < 1000 ppm (Meyer *et al.*1982). Grafik dibawah menunjukkan hasil persamaan korelasi antara kekuatan sitotoksitas (1/LC₅₀) dengan kandungan total fenol.



Gambar 2 korelasi antara kandungan total fenol dengan kekuatan sitotoksik.

Gambar 2 menunjukkan tidak adanya hubungan antara kandungan total fenol dengan sitotoksik, artinya senyawa golongan fenol pada sampel daun malek tidak berpengaruh terhadap pembentukan senyawa antikanker. Senyawa antioksidan hanya menghambat proses pembentukan radikal bebas yang akan menjadi sel kanker, sedangkan senyawa toksik membunuh sel kanker tersebut.

SIMPULAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Daun malek berpotensi sebagai sumber antioksidan pada fraksi metanol dengan nilai IC₅₀ sebesar 90,89 µg/ml dengan total fenol 237,35 µg TAE/ml karena banyak mengandung senyawa dari golongan fenol.
2. Daun malek berpotensi sebagai sumber antikanker pada fraksi n-heksana dengan nilai LC₅₀ sebesar 181,736 µg/ml bersifat paling toksik.

DAFTAR PUSTAKA

Azlim, A., A., Ahmed, J., K., Syed, Z., I., Mustapha, S., K., Aisyah, M., R., 2010, Total phenolic content and primary antioxidant activity of methanolic and ethanolic extracts of aromatic plants' leaves, *International Food Research Journal* 17: 1077-108.

Kekuda, T., R., Vinayaka, K., S., Kumar, S., V., Sudharshan, S., J., 2009., Antioxidant and antibacterial activity of lichen extracts, honey and their

- combination, *Journal of Pharmacy Research*, 2(12):1875-1878.
- Lim T.K., 2012, Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants, Volume 3, Springer Dordrecht Heidelberg, London, New York.
- Meyer B.N, Ferigni N.R, Putnam J.E, Jacobsen L.B, Nichols D.E, dan McLaughlin J.L, 1982. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituent. *Planta Medica*, 45: 31-34.
- McLaughlin J.L and Roger L.L., 1998, The Use Of Medical Assays To Evaluate Botanicals, *Drug Information Journal*, 32 : 513-524.
- Miryanti A.Y.I P., Sapei L., Budiono K., Indra S., 2011, Ekstraksi Antioksidan dari Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.), Universitas Katolik Parahyangan, Bandung.
- Molyneux, P., 2004, The Use of Stable Free Radical Diphenyl-picrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity, *J. Sci. Technol*, 26(2): 211-219.
- Nohong, 2009, Skrining Fitokimia Tumbuhan *Ophiopogon jaburan* Lodd dari Kabupaten Kolaka Provinsi Sulawesi Tenggara, *Jurnal Pembelajaran Sains*, 5(2):172-178.
- Pokorny J., Yanishlieva N., Gordon M., 2001, Antioxidants in food, CRC Press, Boston, Washington DC.
- Sangi, M.; Runtuwene, M.R.J.; Simbala, H.E.I. dan Makang, V.M.A. 2008, Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara. *Chemistry Progress*. 1:47-53.
- Sunarni T., Pramono S. dan Asmah R., 2007, Flavonoid Antioksidan Penangkal Radikal dari Daun Kepel *Stelechocarpus burahol* (Bl.), *Majalah Farmasi Indonesia*, 18(3): 111–116.
- Voon B.H and Kueh H.S., 1999, Nutritional Value of Indigenous Fruits and Vegetables in Sarawak, *Asia Pacific J C lin Nutr*, 8(1):24-31.
- Yuhernita dan Juniarti, 2011, Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Metanol Daun Surian yang Berpotensi sebagai antioksidan, *Makara Sains*, 15(1):45-52.