

## UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN TOKSISITAS KULIT BIJI PINANG SIRIH (*Areca catechu* L.)

Revina Petrina<sup>1\*</sup>, Andi Hairil Alimuddin<sup>1</sup>, Harlia<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Progam Studi Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura,  
Jln. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi 78124, Pontianak

\*email: revina.petrina@gmail.com

### ABSTRAK

Tanaman pinang sirih (*Areca catechu* Linn) telah digunakan secara tradisional dalam bidang pengobatan. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan pengujian potensi antioksidan dan toksisitas dari ekstrak kulit biji pinang sirih (*Areca catechu* L.). Aktivitas antioksidan diuji dengan metode DPPH dengan reagen 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil. Pengujian toksisitas dilakukan dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan nilai IC<sub>50</sub>. nilai IC<sub>50</sub> ekstrak kental kulit biji pinang sirih sebesar 30,39 ppm, fraksi metanol 29,42 ppm, fraksi etil asetat 45,11 ppm, dan fraksi *n*-heksana 17,85 ppm. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak dan semua fraksi mempunyai sifat antioksidan yang kuat. Aktivitas yang paling kuat ditunjukkan pada fraksi *n*-heksana. Efek toksistas dinyatakan dengan nilai LC<sub>50</sub>. Nilai LC<sub>50</sub> ekstrak kental metanol kulit biji pinang sirih sebesar 7,695 ppm, fraksi metanol 5,481 ppm, fraksi etil asetat 6,323 ppm, dan fraksi *n*-heksana 5,727 ppm. Fraksi metanol menunjukkan tingkat toksisitas yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak kental metanol, fraksi etil asetat dan fraksi *n*-heksana. Hasil pengujian ini menunjukkan bahwa ekstrak kulit biji pinang sirih (*Areca catechu* L.) mengandung senyawa yang memiliki potensi sebagai antioksidan dan sitotoksik.

**Kata Kunci:** antioksidan, *Areca catechu* Linn, BSLT, DPPH, toksisitas

### PENDAHULUAN

Pinang merupakan tanaman yang banyak manfaatnya bagi kesehatan. Kandungan kimia dari biji pinang adalah karbohidrat, lemak, polifenol termasuk flavonoid dan tanin, alkaloid, dan mineral (Jaiswal, dkk., 2011). Biji buah pinang juga berpotensi untuk dikembangkan sebagai agen sitotoksik yang dapat dikombinasikan dengan agen kemoterapi sehingga mampu meningkatkan sensitivitas sel kanker. Tumbuhan pinang berpotensi anti kanker karena memiliki efek antimutagenik dan antioksidan (Meiyanto, 2008).

Penelitian aktivitas antioksidan tanaman pinang sudah pernah dilakukan oleh Mamonto, dkk., (2014) dengan judul "Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Biji Buah Pinang Yaki (*Areca vestiaria* Giseke) yang Diekstraksi Secara Soklet". Hasil dari penelitian tersebut disimpulkan bahwa kulit biji pinang yaki memiliki potensi sebagai antioksidan. Penelitian ini menggunakan kulit biji buah pinang sirih yang didasari oleh pendekatan kemotaksonomi dengan pinang

Yaki untuk diuji aktivitas antioksidan dan toksisitas.

Metode ekstraksi yang dilakukan dalam penelitian ini adalah metode sokletasi menggunakan pelarut metanol. Ekstrak metanol yang diperoleh kemudian difraksinasi dengan metanol, etil asetat, dan *n*-heksana. kemudian dilanjutkan dengan pengujian antioksidan dan toksisitas.

Penentuan aktivitas antioksidan menggunakan metode 1,1-difenil-2-pikrihidrazil (DPPH). Penentuan efek toksisitas pada ekstrak kasar dan fraksi menggunakan uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

### METODE PENELITIAN

#### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi alat – alat gelas, blender, alat soklet, oven, timbangan analitik merk *Ohaus*, desikator, kertas saring, pompa udara, spektrofotometer Uv–Vis merk *Genesys 6*, dan *rotary evaporator* merk *Heidolph*.

Bahan utama yang digunakan adalah kulit biji buah pinang sirih yang diperoleh dari Kabupaten Sekadau, sedangkan bahan lainnya yaitu air laut, anhidrida asetat, asam askorbat (vitamin C), asam klorida pekat (HCl), asam sulfat (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) pekat, besi klorida (FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O) 5%, DMSO 0,1 %, etil asetat, metanol, *n*-heksana, reagen DPPH, telur *Artemia salina* Leach, dan tween 80.

### Prosedur Kerja Preparasi sampel

Sampel pinang sirih diambil dan dicuci, lalu dipisahkan antara kulit buah, kulit biji dan biji. Kemudian, diambil bagian kulit biji pinang sebagai bahan utama. Selanjutnya, dikering anginkan selama 4 hari. Sampel yang kering dihaluskan dengan menggunakan blender hingga berbentuk serbuk.

### Ekstraksi sampel

Sampel kulit pinang sirih yang telah dihaluskan sebanyak 23 gram diekstraksi secara sokletasi dengan pelarut methanol sebanyak 400 mL. Proses ekstraksi dilakukan 2,5 jam hingga pelarut yang terdapat di dalam labu tidak berwarna. Hasil ekstrak dievaporasi pada suhu 50°C sampai diperoleh ekstrak metanol.

Randemen ekstrak kulit biji buah pinang sirih dihitung dengan menggunakan rumus berikut :

$$\text{Randemen} = \frac{\text{berat ekstrak pekat}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

### Uji fitokimia

Uji fitokimia dilakukan secara kualitatif dengan tujuan untuk mengidentifikasi metabolit sekunder. Golongan metabolit sekunder yang akan diuji yaitu flavonoid, alkaloid, fenolik, dan triterpenoid.

#### a. Uji flavonoid

Identifikasi flavonoid dilakukan dengan menambahkan serbuk Mg dan HCl pekat. Hasil positif akan membentuk larutan berwarna merah ceri.

#### b. Uji alkaloid

Identifikasi senyawa alkaloid dengan menambahkan reagen mayer. Jika terdapat senyawa alkaloid akan membentuk endapan pada larutan.

#### c. Uji fenolik

Identifikasi senyawa fenolik dilakukan dengan mereaksikan sampel dengan reagen FeCl<sub>3</sub> yang akan membentuk larutan hijau kehitaman.

#### d. Uji triterpenoid

Identifikasi triterpenoid pada sampel uji dengan menambahkan asetat anhidrida pekat dan asam sulfat pekat yang akan membentuk warna coklat kehitaman.

### Uji antioksidan

Metode uji aktivitas antioksidan yang digunakan dalam penelitian Maro, dkk., 2015 dengan sedikit modifikasi. Sebanyak 5 mg sampel, kemudian dilarutkan dalam 5 mL dengan metanol pro analisis (1000 ppm), larutan ini merupakan larutan induk. Sebanyak 10, 20, 30, 40, dan 50 µL larutan induk dipipet dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah ditara 5 mL untuk mendapatkan konsentrasi sampel 2, 4, 6, 8, dan 10 µg/mL. Ke dalam masing – masing tabung ditambahkan 2 mL larutan DPPH 0,2 mM dan ditambahkan dengan metanol pro analisis hingga total volume menjadi 5 mL. Larutan uji dihomogenkan dan seluruh bagian tabung reaksi ditutup dengan aluminium foil.

Larutan ini selanjutnya diukur absorbansinya pada λ<sub>maks</sub> 518 nm. Perlakuan yang sama juga dilakukan pada blanko dan kontrol positif vitamin C. Data hasil pengukuran absorbansi dianalisa persentase aktivitas antioksidannya menggunakan persamaan berikut:

$$\% \text{inhibisi} = \frac{A. \text{blanko} - A. \text{sampel}}{A. \text{blanko}} \times 100\%$$

### Uji toksisitas

Uji toksisitas dengan metode BSLT mengacu pada penelitian Ningdyah, dkk., 2015 dengan sedikit modifikasi. Sebanyak 10 larva udang dalam 10 µL air laut dimasukkan ke dalam vial uji. Kemudian ditambahkan 4865 µL (untuk konsentrasi 2,5 ppm); 4740 µL (untuk konsentrasi 5 ppm); 4615 µL (untuk konsentrasi 7,5 ppm) air laut dalam masing-masing vial uji, untuk setiap konsentrasi dilakukan 3 kali pengulangan. Larutan blanko dilakukan dengan perlakuan yang sama tanpa penambahan larutan sampel pada vial uji. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam

dengan menghitung jumlah larva yang masih hidup dan yang sudah mati, kemudian dihitung % mortalitasnya (jika larva pada blanko ada yang mati) menggunakan persamaan berikut:

$$\%Mortalitas = \frac{\text{larva mati} - \text{blanko}}{\text{larva awal} - \text{blanko}} \times 100\%$$

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Preparasi sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah kulit biji pinang sirih yang berasal dari kabupaten Sekadau provinsi Kalimantan Barat. Berdasarkan hasil determinasi dari laboratorium Biologi FMIPA Universitas Tanjungpura nomor 012/A/LB/FMIPA/UNTAN/2017 bahwa sampel pinang yang merupakan bahan utama pada penelitian tergolong famili *Arecaceae* dan spesies *Areca catechu* L. Berat kering kulit biji pinang sirih yang telah dihaluskan sebanyak 597,4841 gram.

### Ekstraksi Sampel

Metode ekstraksi yang digunakan dalam mengekstraksi kulit biji pinang sirih adalah metode sokletasi dengan menggunakan metanol sebagai pelarut. Hasil ekstraksi dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* sehingga dihasilkan 150 mL ekstrak kental kulit biji pinang sirih. Penentuan berat ekstrak kental

metanol dilakukan melalui penentuan secara alikuot dengan mengambil 15 mL dari 150 mL ekstrak kental kulit biji pinang sirih, lalu dipekatkan sehingga diperoleh massa ekstrak metanol kulit biji pinang sirih sebanyak 3,1200 gram (31,2 gram massa total ekstrak kental metanol). Proses partisi dilakukan dengan cara mengambil sebanyak 135 mL ekstrak metanol untuk dipartisi dengan tiga pelarut secara berurutan yaitu metanol diperoleh massa keringnya sebanyak 15,2285 gram, etil asetat 10,6634 gram, dan *n*-heksana sebanyak 1,9986 gram. Randemen sampel yang diperoleh sebesar 5,22% dari 597,4841 gram sampel kering kulit biji pinang.

### Metabolit Sekunder

Uji metabolit sekunder dilakukan beberapa uji yaitu uji fitokimia dan uji menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT). Hasil uji metabolit sekunder dicantumkan pada Tabel 1. Uji fitokimia yang dilakukan meliputi uji flavonoid, uji alkaloid dengan reagen mayer, uji fenolik, dan uji triterpenoid. Hasil positif semua uji senyawa dalam analisis fitokimia adalah ekstrak metanol, fraksi metanol, fraksi etil asetat, sedangkan pada fraksi *n*-heksana menunjukkan hasil positif hanya pada uji senyawa alkaloid, fenolik, dan triterpenoid (lihat Tabel 1).

**Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia untuk Penentuan Kandungan Golongan Senyawa Metabolit Sekunder dalam Kulit Buah Pinang Sirih**

Sampel	Berat Sampel (gram)	Uji Metabolit Sekunder			
		Flavonoid	Alkaloid (mayer)	Fenolik	Triterpenoid
Ekstrak metanol	31,2	+	+	+	+
Fraksi metanol	15,2285	+	+	+	+
Fraksi etil asetat	10,6634	+	+	+	+
Fraksi <i>n</i> -heksana	1,9986	+	+	+	+

keterangan : +\* merupakan hasil uji menggunakan analisis kromatografi lapis tipis

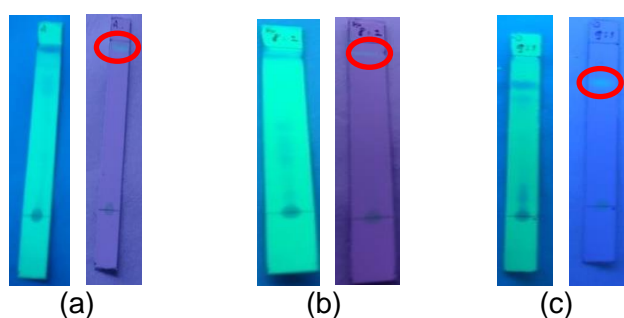
Senyawa flavonoid dalam fraksi *n*-heksana pada uji fitokimia tidak teridentifikasi. Hal ini dikarenakan adanya gugus OH yang termetilasi atau terikat dengan glikosida sehingga ion Mg<sup>+</sup> dari

MgCl<sub>2</sub> tidak dapat mengikat gugus OH dan tidak membentuk senyawa kompleks yang ditandai dengan larutan berwarna merah. Oleh sebab itu, dilakukan pengujian kembali pada fraksi *n*-heksana dengan

menggunakan analisis kromatografi lapis tipis (KLT).

Pengujian dilakukan pada fraksi *n*-heksana dengan analisis kromatografi lapis tipis (KLT) yang bertujuan untuk memastikan kandungan senyawa flavonoid dalam sampel. Hasil dari analisis KLT ini diidentifikasi dengan menggunakan lampu UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Lampu UV akan mengidentifikasi kerangka dasar pada suatu senyawa dalam hal ini adalah senyawa flavonoid, sehingga

gugus OH pada flavonoid yang termetilasi atau terikat dengan glikosida tidak akan berpengaruh dalam mengidentifikasi senyawa flavonoid. Fase diam yang digunakan adalah plat TLC silika gel 60 F<sub>254</sub> dan fase geraknya *n*-heksana dan etil asetat. Penelitian ini dilakukan dengan beberapa perbandingan dari eluen *n*-heksana:etil asetat yaitu (1:1), (8:2) dan (9:1). Tujuan dari perbandingan ini untuk menurunkan nilai R<sub>f</sub>. Hasil dari analisis KLT dapat dilihat pada Gambar 1.

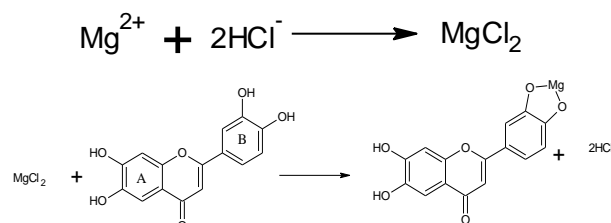


**Gambar 1. Hasil KLT yang Disinari Lampu UV Kiri (254 nm) dan Kanan (366 nm) dengan Perbandingan *n*-Heksana:EtOAc (a) 1:1, (b) 8:2, (c) 9:1**

Hasil uji ini dapat disimpulkan bahwa semakin banyak perbandingan pelarut *n*-heksana daripada etil asetat maka spot noda semakin turun dan menandakan bahwa senyawa bersifat polar. Hasil uji KLT pada perbandingan 9:1 menunjukkan terdapat 4 noda menggunakan penampak noda lampu UV pada panjang gelombang 254 nm. Sedangkan, pada panjang gelombang 366 nm terdapat satu noda berwarna biru yang menunjukkan adanya senyawa flavonoid pada fraksi *n*-heksana (Markham, 1988).

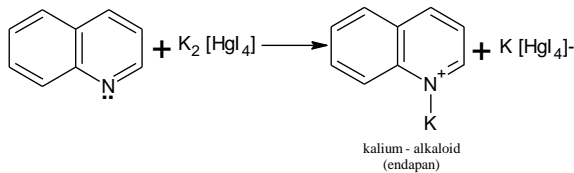
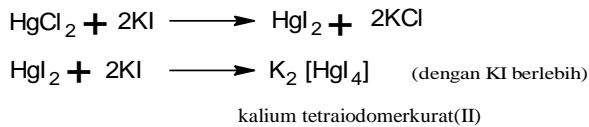
Uji flavonoid dilakukan dengan menambahkan serbuk Mg dan HCl pada sampel. Reaksi reduksi antara Mg dan HCl pekat membentuk MgCl<sub>2</sub>. Molekul MgCl<sub>2</sub> bereaksi dengan gugus OH pada cincin B membentuk senyawa khelat dan membentuk senyawa kompleks berwarna merah. Pembentukan khelat lebih mudah terjadi pada cincin B dikarenakan gugus OH lebih mudah melepaskan Hidrogen dibandingkan gugus OH pada cincin A. Hal ini disebabkan adanya cincin piran yang terbentuk pada jembatan C<sub>3</sub>, yang memiliki gugus karbonil sehingga dapat terjadinya resonansi pada kedua cincin yang menyebabkan gugus OH pada cincin A lebih stabil dibandingkan pada cincin B.

Reaksi yang terjadi pada uji flavonoid ditunjukkan dalam Gambar 2.



**Gambar 2. Reaksi Uji Flavonoid (Marliana, 2012)**

Uji alkaloid dilakukan dengan reagen mayer, ekstrak yang positif alkaloid akan membentuk endapan putih. Hal ini dapat terjadi karena alkaloid mengandung atom nitrogen yang memiliki PEB (Pasangan Elektron Bebas) yang dapat digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion logam sehingga terbentuk endapan. Endapan yang terbentuk menunjukkan adanya senyawa alkaloid pada sampel uji. Reaksi yang terjadi pada uji alkaloid dengan reagen Mayer ditunjukkan dalam Gambar 3.



**Gambar 3. Reaksi Uji Alkaloid dengan Reagen Mayer (Marliana, dkk., 2005)**

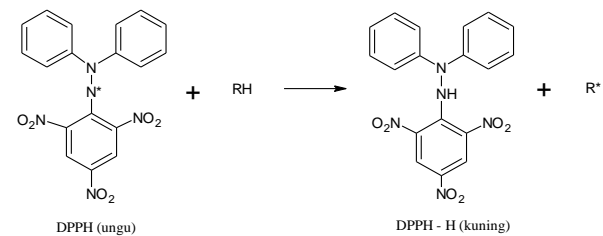
Uji fenolik atau polifenol dilakukan dengan mereaksikan sampel uji dengan  $\text{FeCl}_3$  yang akan membentuk senyawa kompleks antara logam Fe dan fenolik (tanin) sehingga terbentuk warna kuning - hijau. Senyawa polifenol memiliki ciri khas yaitu cincin aromatis yang mengandung satu atau dua gugus hidroksil. Pada atom oksigen (O) pada tanin/polifenol mampu mendonorkan pasangan elektron bebasnya ke  $\text{Fe}^{3+}$  yang memiliki orbital "d" kosong membentuk ikatan kovalen koordinat sehingga terbentuk senyawa kompleks (Harborne, 1987).

Uji triterpenoid dilakukan dengan penambahan asam kuat yaitu anhidrida asetat dan asam sulfat pekat sehingga senyawa triterpenoid mengalami dehidrasi dan membentuk garam yang menghasilkan warna coklat kehitaman pada sampel uji.

#### Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Adanya aktivitas antioksidan ditunjukkan dengan perubahan intensitas warna ungu pada DPPH sesuai dengan konsentrasi larutan sampel. Penelitian ini dilakukan variasi konsentrasi pada larutan sampel dan larutan standar Vitamin C yaitu 2, 4, 6, 8, dan 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Selanjutnya, ditambahkan 2 mL larutan DPPH 0,02 mM dan metanol p.a hingga volume menjadi 5 mL. Kemudian larutan dihomogenkan, lalu diinkubasi selama 30 menit untuk mengoptimalkan reaksi. Selama proses tersebut berlangsung terjadi perubahan warna pada larutan yaitu dari warna larutan ungu pekat menjadi larutan kuning. Hal ini menunjukkan bahwa adanya reaksi peredam radikal bebas dari DPPH dengan atom hidrogen yang

dilepaskan oleh senyawa antioksidan dari sampel sehingga membentuk senyawa 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin(DPPH-H). Mekanisme reaksi metode DPPH dicantumkan pada Gambar 5.



**Gambar 4. Mekanisme Reaksi Metode DPPH**

Perubahan warna DPPH juga disebabkan oleh atom N yang memiliki elektron tidak berpasangan menyebabkan terjadinya transisi  $n-\sigma^*$ . Keadaan dasar pada transisi ini lebih bersifat polar dibandingkan keadaan terekstraksi. Perubahan intensitas warna ini memberikan perubahan absorbansi pada panjang gelombang maksimum DPPH, dimana semakin besar konsentrasi sampel, maka semakin kecil absorbansinya.

Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan instrumen spektrofotometer Uv – Vis pada panjang gelombang 518 nm. Nilai aktivitas antioksidan akan dinyatakan dengan nilai  $\text{IC}_{50}$  (*Inhibitory concentration*), yaitu besar konsentrasi senyawa uji yang dapat meredam radikal bebas sebanyak 50%. Semakin kecil nilai  $\text{IC}_{50}$  maka aktivitas peredam radikal bebas semakin tinggi (Molyneux, 2004). Hasil perhitungan aktivitas antioksidan ditunjukkan dalam Tabel 2.

**Tabel 2. Hasil Perhitungan  $\text{IC}_{50}$  dari Sampel Uji**

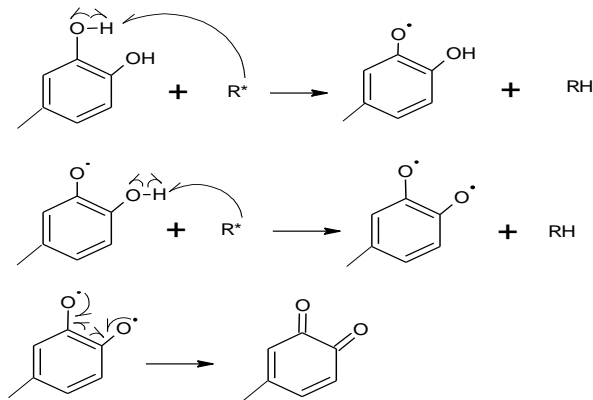
Jenis Sampel	Nilai $\text{IC}_{50}$ (ppm)
Ekstrak metanol	30,39
Fraksi metanol	29,42
Fraksi etil asetat	45,11
Fraksi n-heksana	17,85
Vitamin C	4,86

Kemampuan aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh jumlah dan posisi gugus hidroksil dalam suatu senyawa bioaktif. Senyawa yang mengandung gugus  $-\text{OH}$  yang dalam pemecahan heterolitiknya akan

menghasilkan  $O^-$  dan  $H^+$ . Gugus hidroksil ini melepaskan ion hidrogen yang akan bereaksi dengan radikal bebas DPPH sehingga dapat meredam radikal bebas dari DPPH sehingga membentuk 1,1-difenil-2-dipikrilhidrazin (DPPH-H). Oleh sebab itu, semakin banyak gugus OH dalam suatu senyawa bioaktif maka kemampuannya dalam meredam radikal bebas akan semakin tinggi. Adapun senyawa yang berperan sebagai antioksidan adalah fenolik, flavonoid, alkaloid dan triterpenoid.

Senyawa fenolik merupakan senyawa yang memiliki sejumlah gugus hidroksil. Selain itu, fenol berperan sebagai antioksidan (Hart, 2003). Aktivitas antioksidan sangat dipengaruhi dengan struktur rantai samping dan juga substitusi pada cincin aromatikanya.

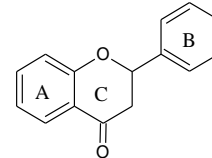
Flavonoid merupakan senyawa fenolik berpotensi sebagai antioksidan karena dapat mentransfer atom hidrogen ke senyawa radikal bebas dengan menghentikan tahap awal reaksi. Akibatnya, flavonoid menghambat peroksidasi lipid, dan menekan kerusakan jaringan oleh radikal bebas.



**Gambar 5. Mekanisme Reaksi Senyawa Flavonoid Terhadap Radikal Bebas**

Hasil uji fitokimia penelitian ini pada ekstrak kental maupun fraksi memiliki senyawa flavonoid, akan tetapi kemampuannya dalam meredam radikal bebas berbeda. Faktor yang melemah aktivitas antioksidan dalam ekstrak kasar, fraksi metanol dan fraksi etil asetat pada flavonoid diduga tergolong senyawa flavonon. Hal ini diperkuat oleh Harbone (1987), bahwa senyawa flavonon memiliki ciri khas berwarna merah kuat bila direaksi

dengan  $Mg/HCl$ . Secara umum, struktur senyawa flavonon memiliki sedikit gugus hidroksil dan pada cincin C flavonon tidak memiliki ikatan ganda pada ikatan 2-3 gugus 4-okso, sehingga kemungkinan besar untuk menstabilkan struktur senyawanya yang kehilangan elektron dari proses donor hidrogen tidak terjadi (Burda dan Oleszek, 2001). Hal inilah yang menyebabkan senyawa flavonon memiliki potensi aktivitas antioksidan yang lemah.



**Gambar 6. Struktur Senyawa Flavonon**

Suatu senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat jika nilai  $IC_{50} < 50$  ppm, antioksidan kuat jika  $IC_{50} 50 - 100$  ppm, antioksidan sedang jika  $IC_{50} 100 - 150$  ppm, dan antioksidan lemah jika nilai  $IC_{50} 151 - 200$  ppm (Blois, 1958). Vitamin C pada uji aktivitas antioksidan berperan sebagai kontrol positif.

Senyawa aktif pada vitamin C yaitu asam askrobat yang bersifat peredam radikal bebas yang sangat baik. Vitamin C dapat langsung menangkap radikal bebas oksigen, baik dengan atau tanpa katalisator enzim. Reaksinya terhadap senyawa oksigen reaktif lebih cepat dibandingkan dengan komponen lainnya.

Berdasarkan hasil data sampel pada Tabel 2 menunjukkan bahwa kemampuan senyawa pada vitamin C, ekstrak kasar dan semua fraksi dalam meredam radikal bebas sangat kuat. Hal ini dapat dikatakan bahwa kemampuan aktivitas antioksidan pada vitamin C setara dengan sampel uji yaitu pada ekstrak maupun fraksi, sehingga dapat disimpulkan bahwa pada ekstrak kental maupun fraksi dari kulit biji pinang sirih dapat menjadi sumber bahan alami yang memiliki sifat antioksidan yang sangat tinggi.

#### Uji Toksisitas dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Pengujian toksisitas dilakukan dengan metode BSLT. Bahan uji yang menggunakan larva udang *Artemia salina*. Larva udang ini digunakan sebagai hewan uji dikarenakan *Artemia salina* merupakan

hewan memiliki sensitivitas yang tinggi, dimana larva udang memiliki membran kulit yang tipis, sehingga kematian suatu larva akibat efek sitotoksik dari senyawa bioaktif dapat dianalogikan dengan kematian sebuah sel dalam organisme (Fenton, 2002). Selain itu, menurut Panjaitan (2011), *Artemia salina* memiliki beberapa kesamaan dengan mamalia, misalnya pada tipe DNA – *dependent RNA polymerase Artemia salina* serupa dengan mamalia dan organisme yang memiliki *ouabaine sensitive* Na<sup>+</sup> dan K<sup>+</sup> *dependent* ATPase, sehingga senyawa maupun ekstrak yang terdapat aktivitas pada sistem tersebut dapat terdeteksi.

Kematian *Artemia salina* Leach dihitung ketika proses inkubasi selama 24 jam, setelah pemberian sejumlah larutan uji pada media hidup. Tingkat toksisitas suatu senyawa dapat diketahui dengan menghitung jumlah kematian larva dengan parameter *Lethal Concentration* 50 (LC<sub>50</sub>). Hasil perhitungan tingkat toksisitas ditunjukkan dalam Tabel 3.

**Tabel 3. Hasil Perhitungan LC<sub>50</sub> dari Sampel Uji**

Jenis Sampel	Nilai LC <sub>50</sub> (ppm)
Ekstrak metanol	7,695
Fraksi metanol	5,481
Fraksi etil asetat	6,323
Fraksi <i>n</i> -heksana	5,727

Mekanisme kematian larva bermula saat senyawa bioaktif pada ekstrak masuk ke dalam mulut, lalu masuk ke saluran pencernaan melalui membran sel, dan saat proses itu berlangsung terjadi deformasi atau perubahan bentuk sel enterosit dalam lumen pada jaringan usus larva yang diakibatkan keberadaan senyawa bioaktif yang mengganggu alat pencernaannya sehingga larva mengalami keracunan atau *stomach poisoning* (Sirinthipaporn, dkk., 2016). Hal ini menyebabkan terjadinya gangguan pada indra perasa pada larva sehingga larva tidak mampu mengenali makanannya. Akibatnya larva mengalami kelaparan dan mati.

Potensi toksisitas akut pada sampel uji dipengaruhi oleh kandungan metabolit sekunder yang dimiliki oleh sampel uji tersebut. Menurut Scheuer (1994), adanya flavonoid pada sampel uji dalam lingkungan sel, menyebabkan gugus –OH pada

flavonoid berikatan dengan protein integral membran sel. Hal ini menyebabkan terbundungnya transport aktif Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>. Transport aktif yang berhenti menyebabkan pemasukan ion Na<sup>+</sup> yang tidak terkendali ke dalam sel, hal ini menyebabkan pecahnya membran sel sehingga mengakibatkan kematian pada larva *Artemia salina*.

Menurut Meyer, dkk (1982), jika ekstrak atau fraksi senyawa yang memiliki harga LC<sub>50</sub> > 0 – 30 ppm berpotensi sebagai antikanker dan antioksidan, LC<sub>50</sub> > 30 – 200 ppm berpotensi sebagai antibakteri, sedangkan LC<sub>50</sub> > 200 – 1000 ppm berpotensi sebagai pestisida (Meyer, dkk., 1982). Hasil pada Tabel 3. dapat disimpulkan bahwa ekstrak kental maupun fraksi dari sampel sangat berpotensi sebagai antikanker. Hal ini menunjukkan bahwa distribusi senyawa bioaktif yang bersifat toksik pada saat partisi ekstrak kental berlangsung tersebar juga pada fraksi metanol, etil asetat, dan *n*-heksana, hal ini juga diperkuat dengan hasil uji metabolit sekunder dengan melalui uji fitokimia dan analisis kromatografi lapis tipis (KLT), yang mana senyawa flavonoid dan senyawa lainnya yaitu fenolik, alkaloid dan triterpenoid terdapat ekstrak maupun fraksi.

## SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. kemampuan aktivitas antioksidan pada kulit biji pinang sirih dipengaruhi oleh senyawa metabolit sekunder yang berperan aktif didalamnya, yaitu senyawa flavonoid, alkaloid, fenolik, dan terpenoid. Aktivitas antioksidan paling kuat terdapat pada fraksi *n*-heksana sebesar 17,85 ppm, fraksi metanol 29,42 ppm, ekstrak metanol 30,399 ppm dan fraksi etil asetat 45,11 ppm.
2. Kemampuan toksisitas pada uji BSLT diperoleh nilai LC<sub>50</sub> tertinggi pada fraksi metanol 5,481 ppm, fraksi *n*-heksana 5,727 ppm, fraksi etil asetat 6,323 ppm dan ekstrak metanol 7,695 ppm.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ningdyah, A.W., Alimuddin, A.H., Jayuska, A., 2015, Uji Toksisitas Dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) Terhadap Hasil Fraksinasi

- Ekstrak Kulit Buah Tampoi (*Baccaurea macrocarpa*), *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 4(1): 75-83.
- Blois, M.S., 1958, Antioxidant Determination by The Use of A Stable Free Radical, *Journal Nature*, 181:1199 – 1200.
- Burda dan Oleszek, W., 2001, Antioxidant and Antiradical Activities of Flavonoid, *Journal Agric Food Chem*, 49(6):2779.
- Fenton, J., 2002, Toxicologi: A Case Oriental Approach, ORC Pr, Boca Raton.
- Harbone, J.B., 1987, Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, Terjemahan oleh Kosasih Padmawinata K. dan Soediro, L., Edisi 2, ITB, Bandung.
- Hart, H., 2003, Kimia Organik, Erlangga, Jakarta.
- Jaiswal, P., Kumar, P., Singh, V.K., Singh, D.K., 2011, *Areca catechu* L: A valuable herbal medicine againsts different health problems, *Res J Med Plant*, 5(2):145-52.
- Kikuzaki, H., Hisamoto, M., Hirose, K., Akiyama, K., Taniguchi, H., 2002, Antioxidant Properties of Ferulic Acid and Its Related Compounds, *J. Agric. Food Chem*, 50:2161-2168.
- Mamonto, I.S., M.R. Runtuwene., F. Wehantouw, 2014, Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Biji Buah Pinang Yaki (*Areca Vestiarina Giseke*), *Jurnal Ilmiah Farmasi-UNSTRAT*, 3(3):263-272 ISSN 2302-2493.
- Markham, K.R., 1988, Cara Mengidentifikasi Flavonoid, Terjemahan oleh Kosasih Padmawinata K., ITB, Bandung.
- Marliana, E., 2012, Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Andong (*Cordyline fruticosa* [L] A. Cheval), *Jurnal Mulawarman Scientifie*, 2(1) ISSN 1412-498X.
- Marliana, S.D., Suryanti, V., Suyono, 2005, Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol, *Jurnal Biofarmasi*, 3(1):26-31 ISSN: 1693-2242.
- Maro, JP., Alimuddin, A.H., Harlia, 2015, Aktivitas Antioksidan Hasil Kromatografi Vakum Cair Fraksi Metanol Kulit Batang Ceria (*Baccaurea hooker*), *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 4(4): 35-40.
- Meiyanto, E., 2008, Ekstrak Etanolik Biji Buah Pinang (*Areca cathecu* Linn) Mampu Menghambat Poliferasi dan Memacu Apoptosis Sel MCF-7, *Majalah Farmasi Indonesia*, 19(1):12-19.
- Meyer, B.N., N.R. Feerigni., J.E. Putnam., L.B. Jacobson., D.E. Nicholas., J.L. McLaughlin, 1982, Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay For Active Plants Constituents, *Planta Medica* 45:31-34.
- Mokoginta, E.P., Runtuwene, M.R.J., Wehantouw, F., 2013, Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Aktivitas Penangkal Radikal Bebas Ekstrak Metanol Kulit Biji Pinang Yaki (*Areca Vestiarina Giseke*), *Jurnal Ilmiah Farmasi-UNSRAT*, 2(4) ISSN 2302-2493.
- Molyneux, P., 2004, The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicryl -hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity, *Songklanakarin, Journal Science Technology*, 26(2): 211-21.
- Panjaitan, R.B., 2011, Uji Toksisitas Akut Ekstrak Kulit Batang Pulasari (*Alyxia cortex*) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), Universitas Sanata Dharma Fakultas Farmasi. Yogyakarta.
- Sirinthipaporn, A., Karnitta, J., Wannee, J., 2016, *Artemia salina* Lethality and Histopathological Studies of Siam Weed (*Chromoleana odorata*), *Journal of Natural Remedies*, DOI: 10.18311/Jnr/2016/7035.
- Xing, Z., Jiao, W., Zhuang, H., Wen-Li, M., Hao-Fu, D., 2010, Antioxidant and Cytotoxic Phenolic Compounds of Areca Nut (*Areca catechu*), *Journal Chem Res Chin Univ*, 26 (1):161-64.