

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN TOKSISITAS EKSTRAK
n-HEKSANA TANAMAN KERSEN (*Muntingia calabura*)
(Antioxidant and Toxicity Activity from *n*-Hexane Extract of Kersen Plant
(*Muntingia calabura*))**

Fitriyanti¹, Tarso Rudiana^{1,2}, Ambar lafah¹, Farhan Riza Afandi¹, Hana Nurbaiti¹, Indira Puspa Dewanti¹, Lien Sururoh¹, Titik Tiara¹, Widyaningsih¹

¹ Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi UIN Syarif Hidayatullah Jakarta

² Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Farmasi Universitas Mathla'ul Anwar
Pandeglang Banten.

e-mail/telp: vheveefitri@gmail.com/082216689508

ABSTRAK

Batang tanaman kersen *Muntingia calabura* pada penelitian ini diekstraksi dan difraksinasi untuk diuji aktivitas antioksidannya menggunakan uji DPPH bioautografi dan DPPH *free radical scavenging* dan uji toksisitas. Serbuk batang kersen diekstraksi dengan metanol dan kemudian difraksinasi cair-cair dengan *n*-heksana. Ekstrak metanol diuji kandungan fitokimianya dan aktivitas antioksidannya. Berdasarkan hasil uji fitokimia, batang tanaman kersen mengandung flavonoid dan steroid yang cukup tinggi. Fraksi *n*-heksana menunjukkan aktivitas antioksidan yang tinggi dengan nilai IC₅₀ mencapai 8,76 ppm dan toksisitas yang rendah pada *Artemia salina leach* (LC₅₀ 46.778,98 ppm).

Kata kunci: *Muntingia calabura*, aktivitas antioksidan, aktivitas sitotoksik, DPPH, dan *Artemia salina leach*

ABSTRACT

The stem of *Muntingia calabura* in this study was extracted and fractionated to evaluate antioxidant activities using bioautography DPPH and free radical scavenging DPPH and toxicity analysis. The stem was extracted using methanol and fractionated with *n*-hexane. The antioxidant activity was determined using DPPH free radical scavenging and toxicity activity was tested against *Artemia salina leach*. Based on the result, methanol extract contained a high flavonoid and steroid content. The *n*-hexane fraction exhibited a high activity in scavenging free radical with IC₅₀ value reached to 8.76 ppm and a very low activity against *Artemia salina leach* with LC₅₀ was 46,778.98 ppm.

Key words: *Muntingia calabura*, antioxidant activity, toxicity activity, DPPH, and *Artemia salina leach*

1. PENDAHULUAN

Indonesia telah dikenal sebagai sumber keanekaragaman hayati yang mengandung beragam sumber substansi kimia dengan berbagai macam manfaat. Sebagian besar masyarakat telah memanfaatkan ekstrak tanaman sebagai bahan obat alami untuk berbagai macam jenis penyakit, contohnya antibakteri, antiinflamasi, antihelmitik, dan obat batuk (Nakamura *et al.*, 1999; Leal-Cardoso *et al.*, 1999; Holets *et al.*, 2002; Ramos *et al.*, 2009).

Senyawa bahan alam merupakan senyawa hasil isolasi dari tumbuhan, insektisida, organisme laut, dan mikroorganisme. Sebagian besar dari senyawa bahan alam, biasanya mempunyai struktur yang relatif kompleks, dan variasi struktur yang menarik. Kebanyakan dari senyawa tersebut berasal dari golongan alkaloid, flavonoid, terpenoid, tanin, sterol, dan kumarin yang memiliki aktivitas biologi dan berperan penting dalam dunia kesehatan (Okwu, 2001). Kimia bahan alam terlibat dalam penelitian dari berbagai fenomena biologi, seperti mekanisme obat untuk gametofita dan reseptor, metabolisme obat di dalam tubuh dan protein dan enzim kimia.

Tanaman *cherry* atau kersen dengan nama latin *Muntingia calabura L.* ini merupakan tanaman yang dapat tumbuh dan berbuah dengan cepat sepanjang tahun dengan bentuk buahnya yang kecil bulat. Pertumbuhan tanaman ini berkembang sangat pesat di Indonesia karena tanaman *cherry* atau kersen membutuhkan iklim tropis sehingga cocok ditanam di Indonesia. Buah kersen mengandung vitamin C, flavonoid, fenol, niasin, dan beta karoten yang tinggi dan dapat digunakan sebagai antioksidan yang dapat menghalangi atau mengurangi pembentukan radikal bebas akibat proses oksidasi (Figueiredo *et al.*, 2008).

Dengan mempertimbangkan penelitian bioaktivitas pada buah kersen, maka pada penelitian ini dipilih batang tanaman kersen untuk diuji keefektifannya sebagai antioksidan dalam mengurangi keberadaan radikal bebas serta menganalisis kandungan kimianya.

2. METODE PENELITIAN

A. Tanaman

Batang tanaman kersen *Muntingia calabura L* yang telah diidentifikasi di Herbarium Bogor.

B. Ekstraksi dan Isolasi

Batang tanaman yang telah kering dan halus, ditimbang sebanyak 100 gram. Setelah itu, dimaserasi dengan metanol sebanyak 1 liter selama 1 x 24 jam. Hasil maserasi kemudian disaring dan residu direndam kembali dengan metanol hingga pelarut yang digunakan tidak berwarna. Masing-masing cairan hasil penyaringan dipekatkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak metanol hasil maserasi dilarutkan dengan 50 mL metanol : air (1:1). Ditambahkan 50 *n*-heksana kemudian dikocok sampai terbentuk 2 lapisan, dimasukkan hasil pengocokan ke dalam corong pisah dan ditampung fraksi *n*-heksana dalam botol. Dilanjutkan kembali proses fraksinasi dengan pelarut *n*-heksana hingga dihasilkan lapisan *n*-heksana berwarna bening. Ekstrak metanol dilakukan proses skrining fitokimia menggunakan kromatografi lapis tipis dan difraksinasi dengan pelarut *n*-heksana : etil asetat (8:2) dalam kolom kromatografi.

C. Uji Fitokimia

Uji Alkaloid

Sebanyak 10 mL filtrat Sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan 10 mL kloroform dan 10 mL tetes amonia. Fraksi kloroform diambil dan ditambahkan 0,5 HCl 2% ke dalam tabung tersebut. Setelah itu divortex dan dibagi ke dalam tiga tabung reaksi. Tabung reaksi pertama ditambahkan 2-3 tetes reagen Dragendroff (positif alkaloid jika terdapat endapan jingga-merah). Tabung reaksi kedua ditambahkan 2-3 tetes reagen Mayer (positif alkaloid jika terdapat endapan putih-kuning). Tabung reaksi ketiga ditambahkan 5 yang tetes pereaksi Wagner (positif jika terbentuk endapan coklat).

Uji Flavanoid

Sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan sedikit serbuk Mg ke dalam tabung tersebut dan 10 tetes HCl pekat. Amati perubahan yang terjadi (positif flavonoid jika timbul busa dan berwarna bening-jingga).

Uji Terpenoid dan Steroid

Sebanyak 2 mL ekstrak simplisia dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan 10 tetes reagen *Liebermann-Burchard* ke dalam tabung tersebut (positif triterpenoid jika terbentuk cincin kecokelatan, merah atau violet dan positif steroid jika berwarna hijau).

Uji Fenolik dan Hidrokuinon

Sebanyak 2 mL filtrat tanaman dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan NaOH 2 N ke dalam tabung tersebut dan dikocok (positif jika berwarna merah).

Uji Tanin dan Polifenol

Ekstrak metanol tanaman sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan 5 tetes FeCl₃ 1% ke dalam tabung tersebut dan dikocok (positif tanin jika berwarna hijau kehitaman dan polifenol jika berwarna kebiruan).

Uji Saponin

Sampel tanaman yang telah kering dan halus ditimbang sebanyak 1 gram dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan aquades sebanyak 5 mL ke dalam tabung tersebut. Setelah itu dipanaskan dalam penangas air selama 5 menit. Filtrat yang diperoleh disaring dan didiamkan sampai agak dingin. Setelah itu dikocok dengan kuat sampai timbul busa (positif Saponin jika busa tersebut stabil selama 10 menit).

D. Uji Antioksidan

Metode Bioautografi Menggunakan DPPH 0,05%

Ekstrak sampel yang pekat ditotolkan pada plat kromatografi lapis tipis (KLT) dan dielusi dengan eluen hingga eluen mencapai tanda batas. Kemudian plat KLT dikering-anginkan dan disemprot dengan pereaksi DPPH. Jika bercak noda menghasilkan warna kuning maka positif aktif sebagai antioksidan.

Metode DPPH *Free Radical Scavenging*

Sebanyak 25 mL sampel dilarutkan dengan 25 mL metanol (1000 ppm) sebagai larutan induk. Dari larutan induk 1000 ppm dibuat sampel dengan konsentrasi 100, 50, 25, 12,5 ppm yang masing-masing larutan direaksikan dengan DPPH *free radical scavenging*. Larutan kemudian diinkubasi selama 30 menit dan dibaca absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Uji Toksisitas

Sebanyak 10 mg ekstrak dilarutkan dalam 1 mL DMSO dan diencerkan dengan air laut pada labu ukur 100 mL. masukkan 500, 50 dan 5 µL larutan sampel (konsentrasi 1000,100 dan 10 ppm) ke dalam botol vial. Tambahkan 5 mL air laut dan 10 ekor larva udang *A. salina Leach*. Larutan dibiarkan selama 24 jam di bawah cahaya lampu. Setelah 24 jam, larva udang yang mati dari masing-masing botol vial dihitung dan dicari nilai LC₅₀.

Mortalitas dihitung dengan cara, akumulasi mati dibagi jumlah akumulasi hidup dan mati (total) dikali 100%. Grafik dibuat dengan log konsentrasi sebagai sumber x terhadap mortalitas sebagai sumbu y. Nilai LC₅₀ merupakan konsentrasi zat yang menyebabkan kematian 50% dan diperoleh melalui persamaan regresi linier $y = a + bx$.

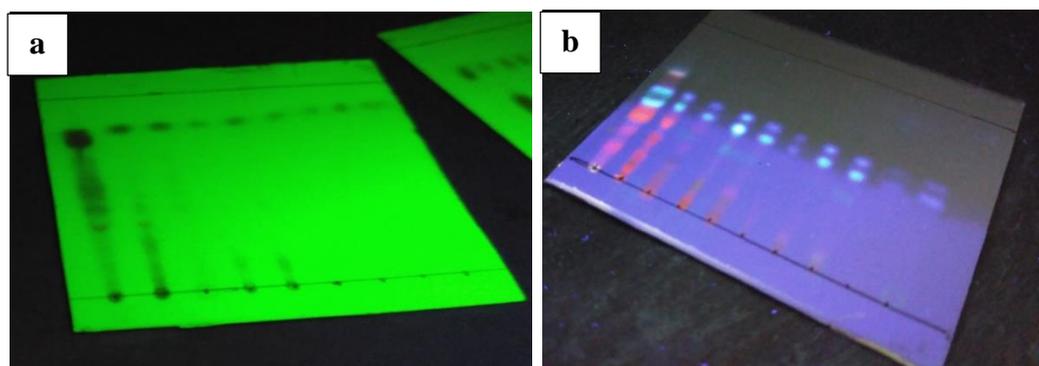
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi dan Isolasi

Serbuk kering daun *Muntingia calabura L.* sebanyak 100 gram diekstraksi dengan metanol menghasilkan 7,51 g ekstrak kental. Ekstrak kental ini selanjutnya dipartisi cair-cair menggunakan *n*-heksana dan diperoleh fraksi *n*-heksana yang

E-mail: jurnal.itekima@stack.ac.id

berwarna hijau tua seberat 2,1422 g. Ekstrak *n*-heksana batang kersen dimasukkan ke dalam kromatografi kolom menggunakan campuran eluen yaitu *n*-heksana : etil asetat (8:2) sebagai fase gerak dan fase diam berupa silika gel GF 60. Berdasarkan hasil kromatografi kolom dan lapis tipis diperoleh tiga jenis fraksi, F1, F2 dan F3. Berikut ini adalah hasil kromatografi kolom untuk fraksi *n*-heksana:



Gambar 1. Kromatografi lapis tipis fraksi *n*-heksana pada lampu UV a) 256 dan b) 354

Uji Fitokimia

Komponen yang terdapat pada ekstrak batang *cherry* atau kersen (*Muntingia calabura L.*) diidentifikasi golongan senyawa yang terkandung dengan uji kualitatif. Uji fitokimia dilakukan dengan beberapa pereaksi khusus untuk golongan alkaloid, flavonoid, terpenoid, steroid, tannin, dan saponin. Hasil uji fitokimia pada batang kersen atau *Muntingia calabura L.* disajikan pada Tabel 1 di bawah ini.

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia batang kersen *Muntingia calabura L.*

Uji Fitokimia	Perubahan yang terjadi	Ket
Alkaloid	Tidak terjadi perubahan warna	-
Flavonoid	Terbentuk gas, larutan hijau kekuningan	+
Steroid dan Triterpen	Hijau	+
Fenolik	Hijau pudar	-
Tanin/polifenol	Hijau keruh	-
Saponin	Tidak terbentuk busa	-

Hasil uji fitokimia menunjukkan hasil positif mengandung senyawa golongan flavonoid dan steroid/triterpen. Uji flavonoid yang positif ditandai dengan terbentuknya senyawa kompleks berwarna jingga dan disertai timbulnya busa. Penambahan serbuk Mg dan HCl pekat dinamakan uji *Wilstater*.

E-mail: jurnal.itekima@stack.ac.id

Magnesium dan asam klorida pekat bereaksi menimbulkan gelembung-gelembung dari gas H₂. Logam Mg dan HCl pekat berfungsi untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat pada struktur flavonoid sehingga terbentuk warna jingga (Mukhairini, 2012).

Uji steroid dilakukan dengan mengujikan sampel yang direaksikan reagen Liebermann-Burchard dengan hasil positif berwarna hijau. Reagen Liebermann-Burchard campuran antara anhidrida asetat dan H₂SO₄. Perubahan warna tersebut dikarenakan terjadinya oksidasi pada golongan senyawa steroid melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi. Prinsipnya dalam mekanisme reaksi uji terpenoid adalah pelepasan H₂O dan penggabungan karbokation. Reaksi ini diawali dengan proses asetilasi gugus hidroksil menggunakan asam asetat anhidrida. Gugus asetil yang merupakan gugus pergi yang baik kemudian lepas, yang akhirnya terbentuk ikatan rangkap. Kemudian lepasnya gugus hidrogen beserta elektronnya, menyebabkan ikatan rangkap pindah. Terjadi resonansi pada senyawa tersebut yang bertindak sebagai elektrofil atau karbokation. Karbokation menyebabkan adisi elektrofilik, diikuti dengan pelepasan hidrogen. Kemudian gugus hidrogen beserta elektronnya dilepas akibat senyawanya terjadi perpanjangan konjugasi yang munculnya cincin berwarna coklat.

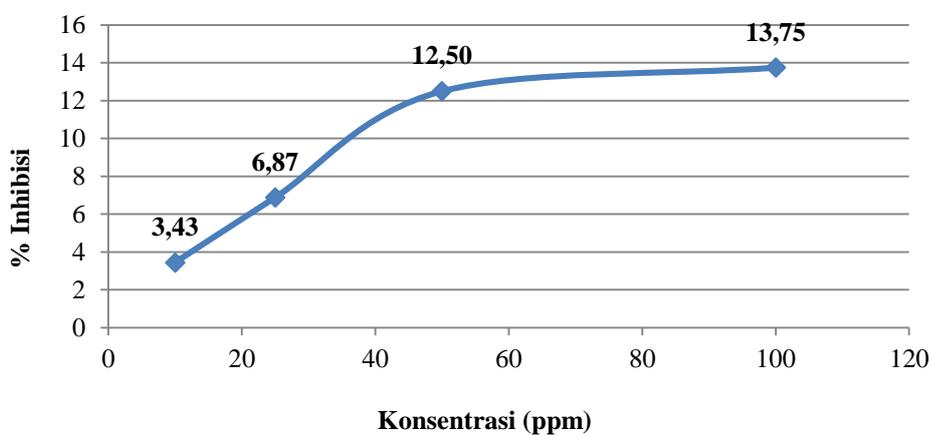
Uji Antioksidan

Ketiga fraksi selanjutnya diuji bioaktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH bioautografi yang dipaparkan pada Tabel 2. Seperti yang terlihat pada tabel dan plat KLT, fraksi 2 memberikan uji positif dengan DPPH yang ditandai terbentuknya noda kuning. Sementara fraksi 1 dan 3 tidak memberikan hasil positif. Hasil uji antioksidan tersebut menunjukkan bahwa terdapat senyawa bioaktif dalam fraksi 2. Yang mempunyai aktifitas antioksidan atau dapat menurunkan radikal bebas.

Tabel 2. Hasil uji antioksidan metode DPPH bioautografi

No	Fraksi	Hasil Reaksi	Ket
1	F1 (1-3)	Tidak menimbulkan warna	-
2	F2 (6-21)	Terbentuk noda kuning	+
3	F3 (24-44)	Tidak menimbulkan warna	-

Berdasarkan hasil uji antioksidan DPPH bioautografi, fraksi F2 kemudian dilakukan uji antioksidan menggunakan metode DPPH *free radical scavenging* untuk menentukan persentase inhibisi tersebut. Persentase inhibisi (%) digunakan untuk menentukan nilai IC_{50} dan menentukan persentase hambatan dari suatu bahan yang dilakukan terhadap senyawa radikal bebas (Romansyah, 2011). Semakin besar nilai % inhibisi maka semakin tinggi aktivitas antioksidan dalam sampel. Gambar 2 di bawah ini menunjukkan hasil uji antioksidan DPPH *free radical scavenging*.



Gambar 2. Grafik persentase (%) inhibisi DPPH *free radical scavenging*

Berdasarkan Gambar 2, nilai aktivitas tertinggi pada F2 yaitu pada konsentrasi 100 ppm dengan persentase inhibisi mencapai 13,75%. Nilai IC_{50} merupakan nilai konsentrasi dari larutan untuk menghambat aktivitas DPPH atau radikal sebesar 50% dan semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Berdasarkan hasil perhitungan diperoleh nilai IC_{50} pada F2 yaitu 8,76 ppm. Rendahnya nilai IC_{50} mengindikasikan bahwa fraksi F2 memiliki kemampuan untuk menangkap radikal bebas hanya dengan konsentrasi yang kecil.

Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang mengandung elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Radikal bebas bersifat tidak stabil dan sangat reaktif yakni cenderung bereaksi dengan molekul lainnya untuk mencapai kestabilan. Radikal dengan kereaktifan yang tinggi ini dapat memulai sebuah reaksi berantai dalam sekali pembentukannya sehingga menimbulkan senyawa yang tidak normal dan memulai reaksi berantai yang dapat merusak sel-

E-mail: jurnal.itekima@stack.ac.id

sel penting dalam tubuh. (Badarinath *et al.*, 2010). Radikal bebas dapat diatasi dengan penggunaan antoksidan. (Mandal *et al.*, 2009).

Uji Toksisitas

Nilai LC₅₀ serta nilai probit pada sampel ditentukan pada pengujian toksisitas ekstrak *n*-heksana batang seri atau kersen. Nilai LC₅₀ merupakan suatu nilai yang menyatakan sejumlah konsentrasi yang dapat membunuh larva *Artemia salina leach*. Berdasarkan hasil perhitungan Tabel 1 dan 2 diperoleh nilai LC₅₀ ekstrak *n*-heksana batang seri atau kersen yaitu sebesar 46.778,98 ppm. Menurut Meyer (1982) menyatakan bahwa suatu sampel dinyatakan toksik apabila memiliki nilai LC₅₀ di bawah 1000 ppm. Ekstrak *n*-heksana batang seri atau kersen memiliki nilai LC₅₀ di atas 1000 ppm sehingga bersifat tidak toksik. Sedangkan analisis probit bertujuan untuk menentukan toksisitas relatif bahan kimia untuk organisme hidup dengan menguji respon berbagai organisme di bawah konsentrasi dari masing-masing bahan kimia (Windyasari *et al.*, 2015).

Tabel 3. Hasil pengamatan kematian udang *Artemia salina leach*

Konsentrasi	Kontrol		10 ppm		100 ppm		1000 ppm	
	I	II	I	II	I	II	I	II
Udang Masuk	10	10	10	19	11	13	10	15
Total Masuk	20		29		24		25	
Rata-rata Masuk	10		14.5		12		12.5	
Udang Hidup	9	9	5	12	6	8	5	7
Total Hidup	18		17		14		12	
Rata-rata Hidup	9		8.5		7		6	
Udang Mati	1	1	5	7	5	5	5	8
Total Mati	2		12		10		13	
Rata-rata Mati	1		6		5		6.5	

Tabel 4. Hasil pengujian toksisitas

Konsentrasi [S]	Log [S]	Rata-rata kematian (100%)	Nilai Terkecil (Xt)	Nilai Terbesar (Xb)	Probit
0 ppm	0	10 %	3.659	3.718	3.78
10 ppm	1	41 %	4.747	4.773	4.8
100 ppm	2	42 %	4.773	4.798	4.82
1000 ppm	3	53 %	5.025	5.050	5.075

4. KESIMPULAN

Isolasi senyawa bahan alam dari batang tanaman kersen menggunakan metode maserasi dan partisi cair-cair menghasilkan tiga fraksi F1, F2, dan F3. Fraksi F2 memberikan aktivitas antiosidan yang tinggi dengan nilai IC₅₀ mencapai konsentrasi 8,76 ppm dan nilai LC₅₀ sebesar 46,77 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Figueiredo RA, Oliveira AA, Zacharias MA, Barbosa SM, Pereira FF, Cazels GN, Viana JP, & Camaro RA. 2008. Reproductive Ecology of The Exotic Tree *Muntingia calabura L.* in Southeastern Brazil. *J. R. Arove*. 32:993-999.
- Holetz FB, Pessini GL, Sanches NR, Cortez G, Nakamura CV, & Diaz-Filho BP. 2002. Screening of Some Plants Used in The Brazillian Folk Medicine for The Treatment of Infectious Diseases. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 1027-1031.
- Leal-Cardoso JH, & Fonteles MC. 1999. Pharmacological Effects of Essential Oil of Plants of the Notheast of Brazil. *An Acad Bras Cienc*, 71: 207-213.
- Meyer HN. 1982. Brine Shrimp Letality Test: Med. Palnt Research, Vol. 45. *Hipokrates Verlag Gmbrl, Amsterdam* :31-34.
- Mukhriani. 2012. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. Makassar: UIN Alauddin Makassar.
- Nakamura CV, Ueda-Nakamura T, Bando E, Melo FN, Cortez DG, & Dias-Filho BP. 1999. Antibacterial Activity of *Ocimum gratissimum L.* Essential Oil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 94: 675-678.
- Okwu DE. 2001. Evaluation of The Chemical Composition of Indigenous Spices and Flavouring Agents. *Journal of Global Pure Applied Science*, 7 (3): 455-459.
- Ramos SCS, Oliveira JCS, Camara CAG, Castelar I, Carvalho AFFU, & Lima-Filho JV. 2009. Antibacterial and Cytotoxic Properties of Some Plant Crude Extracts Used in Northeastern Folk Medicine. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 376-381.
- Rekha C, Poornima G, Manasa M, Abhipsa V, Devi JP, & Kekuda TRP. 2012. Ascorbic Acid, Total Phenol Content, and Antioxidant Activity of Fresh

E-mail: jurnal.itekima@stack.ac.id

Juice of Four Ripe and Unripe Citrus Fruit. Research Article. *Chemical Science Transaction* 1 (2):303-310.

Romansyah Y. 2011. Kandungan Senyawa Bioaktif Antioksidan Karang Lunak *Sarcophyton sp.* Alami dan Transplantasi di Perairan Pualu Pramuka, Kepulauan Seribu. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 2 (4) :127-133.

Windyasari S, Ari, Faramayuda F, & Ratnasari D. 2015. Kajian Pendahuluan Antikanker dengan Uji Toksisitas metode BSLT terhadap Ekstrak Etanol dan Fraksi-Fraksi dari Kulit Batang Kemiri. *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi*, Juni 2015, 3 (1) : 1-7.