

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SENYAWA FLAVOIOD PADA EKSTRAK n-BUTANOL DAUN CENDANA DAN POTENSINYA SEBAGAI AGEN ANTIKANKER DENGAN METODE *BRINE SHRIMP* *LETHALITY TEST*

I Wayan Pramana Eka Putra, Ni Made Puspawati, I Made Oka Adi Parwata

Program Studi Magister Kimia Terapan FMIPA Universitas Udayana, Denpasar Bali

Wayanpramana@gmail.com

ABSTRAK: Radikal bebas yang berlebihan dalam tubuh dapat menimbulkan berbagai masalah kesehatan seperti kanker dan penyakit degeneratif lainnya. Senyawa flavonoid diketahui memiliki aktivitas antioksidan sehingga dapat meredam dan mencegah kerusakan sel akibat reaksi radikal bebas. Cendana (*Santalum album*, L) merupakan salah satu tumbuhan obat Indonesia yang secara tradisional telah digunakan untuk mengatasi berbagai macam penyakit. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan senyawa flavonoid pada ekstrak n-butanol daun cendana dan potensinya sebagai agen antikanker dengan uji toksisitas menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Ekstraksi daun cendana dilakukan dengan maserasi menggunakan metanol. Ekstrak metanol yang diperoleh selanjutnya difraksinasi dengan n-heksana, kloroform, dan n-butanol. Ekstrak n-butanol yang mengandung flavonoid kemudian ditentukan kandungan total flavonoidnya, dipisahkan dan dimurnikan menggunakan teknik kromatografi kolom. Evaluasi aktivitas antioksidan dilakukan secara *in vitro* dengan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) dan uji toksisitas dilakukan menggunakan larva *Artemia salina* Leach sebagai bioindikator. Hasil maserasi 500 g serbuk cendana diperoleh 30,17 g ekstrak pekat metanol. Fraksinasi 25 g ekstrak pekat metanol menghasilkan berturut-turut 3,39 g ekstrak pekat n-heksana, 3,41 g ekstrak kloroform, 7,73 g ekstrak n-butanol dan 9,11 g ekstrak pekat air. Hasil uji fitokimia menunjukkan ekstrak n-butanol mengandung flavonoid. Pemisahan dengan kromatografi kolom menghasilkan 6 fraksi gabungan (F1, F2, F3, F4, F5, dan F6). Fraksi F3 yang mengandung flavonoid menunjukkan aktivitas antioksidan dengan IC_{50} sebesar 182,73 ppm dan bersifat toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan LC_{50} sebesar 158,49 ppm sehingga berpotensi sebagai agen antikanker.

Kata kunci: daun cendana, *Santalum album*, L, flavonoid, toksisitas, antioksidan

ABSTRACT: Excessive amount of free radical in the body can generate many health problems including cancer, cardiovascular and others. Flavonoid compounds have been reported to have ability in scavenging and preventing our body from cell damage cause by free radicals. Cendana (*Santalum album* L.) is one of Indonesian traditional plant that has traditionally been used to treat various diseases. This study was aimed to evaluate the antioxidant activity and toxicity of the flavonoid compounds present in n-buthanol extract of leaf Cendana. Extraction of Cendana leaf powder was done by maceration with

methanol. The Crude methanol extract was then fractionated with n-hexane, chloroform, and n-butanol respectively. n-butanol extract possessing flavonoid was further separated and purified into silica gel column chromatography. Antioxidant activity was determined using DPPH method (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) and toxicity test was performed using Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) with *Artemia salina* Leach as bioindicator. Extraction of 500 g leaf powder cendana yielded 30.17 g of crude methanol extract. Fractionation of 25 g crude methanol extract gave 3.39 g n-hexane, 3.41 g chloroform, 7.73 g of n-butanol and 9.11 g of water extracts respectively. Flavonoid compound was present in n-butanol extract. Flash column chromatography separation of n-butanol extract gave 6 fractions (F1, F2, F3, F4, F5, and F6). Fraction F3 exhibiting the flavonoid compound showed antioxidant activity with IC_{50} of 182.73 ppm and toxic to *Artemia salina* Leach larvae with LC_{50} value of 158.49 ppm, hence it is potential as anticancer agent.

Keywords: Santalum album, L., flavonoid, toxicity, antioxidant

1. PENDAHULUAN

Kanker merupakan penyakit yang ditandai dengan kelainan siklus sel yang menyebabkan kemampuan sel untuk tumbuh tidak terkendali (pembelahan sel melebihi batas normal), serangan terhadap jaringan biologis di dekatnya, dan dapat bermigrasi ke jaringan tubuh yang lain melalui sirkulasi darah atau sistem limfatik yang disebut metastasis sehingga dapat menyebabkan kematian. Banyak faktor resiko yang dapat memicu munculnya kanker, salah satunya adalah stres oksidatif [1]. Stres oksidatif merupakan suatu keadaan ketidakseimbangan jumlah radikal bebas dengan jumlah antioksidan yang diproduksi oleh tubuh (enzimatik atau endogen). Keberadaan radikal bebas berlebih dalam tubuh dapat menyerang komponen seluler seperti lipid, lipoprotein, protein, karbohidrat, RNA, dan DNA. Jika radikal bebas menyerang RNA dan DNA maka dapat menimbulkan penyakit kanker yang ditandai dengan meningkatnya supresor tumor gen p53 [2]. Radikal bebas dapat diredam dengan senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan.

Flavonoid merupakan kandungan kimia yang khas untuk tanaman yang terdapat pada akar, batang, kulit batang, daun, bunga, buah, biji dan dikenal sebagai agen antikanker [3]. Menurut Muaja *et al.* [4] flavonoid dari daun suyogik bersifat toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan LC_{50} sebesar 44,40 ppm, Hasan *et al.* [5] juga mengungkapkan flavonoid dari ekstrak etanol propolis bersifat toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan LC_{50} sebesar 16,010 ppm yang berpotensi sebagai agen antikanker. Flavonoid juga memiliki sifat sebagai antioksidan untuk meredam efek radikal bebas yang dapat menyebabkan berbagai dampak antara lain kerusakan sel atau jaringan yang dapat memicu timbulnya penyakit kanker [5].

Tanaman cendana (*Santalum album* L.) adalah salah satu tanaman obat Indonesia yang minyak, ekstrak batang kayu dan akarnya telah dimanfaatkan secara tradisional sebagai obat untuk menyembuhkan berbagai penyakit seperti sakit perut, asma, sakit kulit, infeksi ginjal, berbagai peradangan, obat penenang, dan antibakteri [6], namun daunnya belum banyak dimanfaatkan sebagai obat.

Menurut Prasad [7] daun cendana mengandung senyawa alkaloid, fenol, glikosida kardiak, tanin, flavonoid, terpenoid, dan steroid tetapi tidak terdapat senyawa saponin pada ekstrak metanol daun cendana. Dari hasil uji pendahuluan yang telah dilakukan, ekstrak n-butanol daun cendana mengandung senyawa flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan dengan IC_{50} sebesar 153,32 ppm terhadap DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhidrazil*) dan bersifat toksik terhadap larva *Artemia salina* L. dengan LC_{50} sebesar 128,82 ppm sehingga berpotensi sebagai agen antikanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan senyawa flavonoid pada ekstrak n-butanol daun cendana terhadap DPPH dan potensinya sebagai agen antikanker dengan uji toksisitas menggunakan metode BSLT.

2. PERCOBAAN

2.1 Bahan dan Peralatan

Penelitian ini menggunakan daun cendana (*Santalum album* L.) yang diperoleh dari Hutan Lindung Taman Wisata Camplong, Kupang (NTT). Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah metanol teknis, metanol p.a, kloroform ($CHCl_3$) p.a, n-heksana ($CH_3(CH_2)_4CH_3$) p.a, n-butanol p.a, silika gel GF₂₅₄ untuk kromatografi lapis tipis, silika gel 60 untuk uji kromatografi kolom, aquades, HCl pekat, $FeCl_3$, logam Mg, Natrium hidroksida, DPPH, tween 80, telur *Artemia salina* L, air laut.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah : seperangkat alat gelas, penguap putar vakum, lampu UV 254 dan 366 nm, kertas saring, pipet mikro, timbangan elektronik, oven, penangas air, aquarium dan blender, Kromatografi Lapis Tipis (KLT), seperangkat alat kromatografi

kolom, botol sampel, botol vial

2.2 Metode

Ekstraksi

Serbuk halus daun cendana sebanyak 500 g dimaserasi dengan metanol (1L) sampai terendam selama 24 jam. Ekstrak yang diperoleh disaring, filtratnya ditampung, sedangkan ampasnya dimaserasi kembali dengan pelarut metanol yang baru selama 24 jam, disaring dan ampasnya dimaserasi kembali dengan cara yang sama dan dilakukan sampai 3 (3 x 24 jam). Filtrat yang diperoleh dikumpulkan dan diuapkan pada tekanan rendah dan suhu 40°C dengan penguap putar vakum (*vacuum rotary evaporator*) sehingga diperoleh ekstrak pekat metanol.

Fraksinasi (partisi)

Sebanyak 25 g ekstrak pekat metanol dilarutkan dengan campuran metanol-air (7:3), kemudian metanolnya diuapkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* sampai habis sehingga diperoleh ekstrak air. Ekstrak air ini kemudian dipartisi berturut-turut dengan 350 mL n-heksana, 400 mL kloroform dan 400 mL n-butanol. Setelah masing-masing pelarutnya diuapkan diperoleh ekstrak n-heksana, kloroform, n-butanol, dan air. Ekstrak n-butanol selanjutnya diuji flavonoid dan ditentukan kandungan total flavonoidnya, dipisahkan dengan kromatografi kolom dan diuji kemurniannya dengan kromatografi lapis tipis. Isolat yang mengandung flavonoid dan relatif murni diuji aktivitas antioksidannya secara *in vitro* dengan DPPH dan toksisitasnya terhadap larva *Artemia salina* Leach.

Uji flavonoid

Uji flavonoid terhadap ekstrak n-

butanol dan fraksi hasil kolom dengan mengambil sedikit ekstrak dan fraksi kemudian ditambahkan pereaksi Wilstater (larutan HCl pekat ditambahkan serbuk Mg), uji flavonoid juga dilakukan dengan melarutkan sedikit ekstrak dengan etanol kemudian ditambahkan pereaksi Bate Smith-Metacalfe (larutan HCl pekat yang kemudian dipanaskan), dan dengan melarutkan sedikit ekstrak dengan etanol kemudian ditambahkan pereaksi NaOH 10% reaksi positif jika terjadi perubahan warna merah.

Pemisahan senyawa flavonoid

Kromatografi kolom

Silika gel 60 diaktifkan dalam oven pada suhu $\pm 110^{\circ}\text{C}$. Silika kemudian ditambah eluen yang memberikan pemisahan terbaik hingga menjadi bubuk. Kapas diletakkan pada dasar kolom sebagai penahan fase diam. Bubur silika dimasukkan ke dalam kolom yang sudah berisi fase gerak dengan hati-hati agar tidak terbentuk gelembung-gelembung udara dalam kolom, dan kolom ditepatkan selama 24 jam. Ekstrak pekat n-butanol dilarutkan dalam eluennya kemudian dimasukkan ke dalam kolom dengan hati-hati. Eluen kemudian dimasukkan ke dalam kolom sedikit demi sedikit sampai semua sampel masuk ke dalam fase diam. Eluat ditampung setiap 3 mL dalam satu botol penampung. Elusi dihentikan setelah diperkirakan semua komponen keluar dari kolom. Setiap eluat dianalisis nodanya menggunakan kromatografi lapis tipis. Eluat yang memiliki pola pemisahan yang sama digabungkan, diuapkan pelarutnya, dan ditimbang beratnya. Fraksi gabungan yang diperoleh diuji dengan pereaksi pendeteksi flavonoid. Fraksi yang positif flavonoid diuji kemurniannya dengan

kromatografi lapis tipis. Fraksi yang relatif murni ditandai dengan terbentuknya satu noda tunggal dengan beberapa eluen yang mempunyai kepolaran yang berbeda.

Uji kemurnian

Uji kemurnian dilakukan dengan menggunakan kromatografi lapis tipis pada beberapa campuran fase gerak. Jika isolat tetap menunjukkan noda tunggal pada plat KLT dengan fase gerak yang berbeda maka isolat tersebut sudah relatif murni (relatif murni secara KLT) dan kemudian diuji aktivitas antioksidannya secara *in vitro* dengan DPPH dan toksisitasnya terhadap larva *Artemia salina* Leach.

Uji toksisitas isolat positif flavonoid ekstrak n-butanol terhadap larva *Artemia salina* Leach.

Uji toksisitas dimulai dengan penyiapan wadah bak kaca (akuarium) yang telah diberi sekat berlubang, dimana satu bagiannya dibuat gelap sementara bagian lainnya dibuat terang. Proses selanjutnya yaitu menyiapkan air laut yang telah disaring sebagai media penetasan telur *Artemia salina* L. Medium selanjutnya dimasukkan ke dalam wadah bak kaca (akuarium) dan dilengkapi dengan *airrator*. Telur udang *Artemia salina* Leach kemudian dimasukkan secukupnya pada bagian yang gelap dan setelah 24 jam telur yang telah menetas berenang ke bagian yang terang dan selam dibiarkan selama ± 48 jam sampai semua telur menetas dan siap digunakan untuk pengujian.

Pengujian dilakukan dengan mengambil sebanyak 10 mg ekstrak pekat kemudian dilarutkan dengan 1 mL pelarutnya, sehingga diperoleh larutan stok dengan konsentrasi 10.000 ppm. Sebanyak

500 μ L, 50 μ L, dan 5 μ L dipipet dan dimasukkan kedalam masing-masing botol vial dan pelarutnya diuapkan selama 24-48 jam (dilakukan 3x pengulangan). Konsentrasi 1000 ppm, 100 ppm, dan 10 ppm diperoleh dengan memipet sebanyak 50 μ L tween 80 dan sedikit air laut dimasukkan kedalam masing-masing botol vial yang berisi cuplikan, kemudian dikocok sampai ekstrak larut dan bercampur. Campuran kemudian ditambahkan masing-masing 10 ekor larva udang, dan air laut sampai volumenya 5 mL. Kontrol dibuat dengan cara memasukan 50 μ L tween 80, dan 10 ekor larva udang ke dalam botol vial dan air laut hingga volumenya 5 mL. Masing-masing botol vial ditutup dengan aluminium foil dan dilubangi sedikit, setelah 24 jam dilakukan pengamatan dan pencatatan terhadap jumlah larva udang yang mati serta dilakukan analisis data untuk mencari konsentrasi kematian (LC_{50}) dari ekstrak dengan metode (Reed-Muin) dengan membuat plot grafik % (persen) mortalitas versus log konsentrasi.

Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil)

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan pada konsentrasi 10, 20, 40, 60, 80, 100 ppm dengan menggunakan metode DPPH. Masing-masing larutan uji/sampel dipipet sebanyak 0,1 mL, masukan didalam cuvet dan tambahkan 0,7 mL larutan DPPH 0,001 % (b/v). Campuran tersebut dikocok lalu diinkubasi selama 30 menit, kemudian diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer *UV-Vis* pada panjang gelombang maksimum 517 nm dengan pengulangan pengukuran sebanyak tiga kali. Kemampuan antioksidan diukur sebagai penurunan serapan larutan DPPH 0,001 %

(b/v), akibat adanya penambahan sampel. Nilai IC_{50} dihitung berdasarkan persentase inhibisi terhadap radikal DPPH dari masing-masing konsentrasi larutan sampel, berdasarkan harga % inhibisi yang diperoleh kemudian dibuat kurva terhadap konsentrasi larutan uji sampel atau pembanding yaitu berupa asam galat. Konsentrasi sampel (ppm) sebagai sumbu x dan % inhibisi sebagai sumbu y, persamaan regresi linearnya ditentukan dari $y = bx + a$ dan nilai IC_{50} dapat dihitung dengan memasukan nilai y sebesar 50 sehingga diperoleh x sebagai IC_{50} . Nilai IC_{50} menyatakan besarnya konsentrasi inhibisi larutan uji yang mampu menangkal radikal bebas atau menurunkan 50% absorbansi radikal bebas DPPH.

3. HASIL dan PEMBAHASAN

3.1 Ekstraksi Sampel

Hasil ekstraksi 500 g serbuk halus daun cendana didapatkan ekstrak kasar metanol daun cendana (*Santalum album* L.) berwarna coklat kehitaman sebanyak 30,17 g.

3.2 Pemisahan dan Pemurnian Flavonoid

3.2.1 Fraksinasi (partisi).

Tabel 1 menunjukkan bahwa hasil partisi ekstrak metanol diperoleh berat ekstrak kental n-heksana 3,39 g dengan warna coklat, ekstrak kental kloroform 3,41 g dengan warna coklat kehitaman, ekstrak kental n-butanol 7,73 g dengan warna hitam pekat, dan ekstrak kental air 9,11 g dengan warna hitam yang mengindikasikan bahwa senyawa dalam daun cendana cenderung bersifat polar karena berat ekstrak n-butanol dan air yang didapatkan lebih banyak.

Tabel 1 Hasil Partisi Ekstrak Metanol

No	Jenis ekstrak pekat	Berat ekstrak kental (g)	Warna
1	n-Heksana	3,39	Cokelat
2	Kloroform	3,41	Cokelat kehitaman
3	n-Butanol	7,73	Hitam pekat
4	Air	9,11	Hitam

Tabel 2 Hasil Uji Flavonoid Ekstrak n-Butanol

Sampel	Pereaksi	Hasil
Ekstrak pekat n-butanol	Willstatter	+
	Bate Smith-Melcalfe	++
	NaOH 10%	+++

+ : memberikan perubahan warna dengan intensitas rendah,

++: memberikan perubahan warna dengan intensitas sedang

+++ : memberikan perubahan warna dengan intensitas kuat.

3.2.2 Uji flavonoid

Hasil uji flavonoid ekstrak n-butanol dengan pereaksi Wilstater, Bate Smith-Metacalfe, dan NaOH 10% dipaparkan pada Tabel 2. Tabel 2 menunjukkan bahwa ekstrak n-butanol daun cendana positif mengandung flavonoid yang ditandai dengan perubahan warna yang terjadi. Pada penambahan ekstrak n-butanol daun cendana dengan pereaksi Wilstater terjadi perubahan warna dari kuning bening menjadi kuning pekat, dengan pereaksi Bate Smith-Melcalfe terjadi perubahan warna dari kuning bening menjadi cokelat, dan dengan NaOH 10% terjadi perubahan warna dari kuning bening menjadi cokelat kemerahan.

3.2.3 Kromatografi kolom

Pemisahan komponen ekstrak n-

butanol daun cendana dilakukan menggunakan kromatografi kolom dengan fase diam silika gel 60 dan fase gerak (eluen) berupa campuran pelarut kloroform: n-butanol (5:3). Eluen ini digunakan karena mampu memberikan pola pemisahan terbaik pada proses KLT dengan menghasilkan jumlah noda sebanyak 7 noda yang ditandai pula dengan kisaran harga R_f yang berjauhan satu sama lain dibandingkan dengan eluen yang lainnya.

Hasil pemisahan 4,0 g ekstrak n-butanol dengan kromatografi kolom menghasilkan 256 botol eluat yang ditampung setiap 3 mL. Ke-256 botol eluat tersebut di KLT, dan eluat yang memiliki pola pemisahan yang sama digabungkan sehingga diperoleh 6 fraksi (F1-F6). Keenam fraksi kemudian diuji flavonoidnya, fraksi yang positif flavonoid

dilanjutkan dengan uji kemurnian dengan kromatografi lapis tipis, uji antioksidan terhadap DPPH dan uji toksisitas dengan metode BSLT.

3.2.4 Uji flavonoid fraksi hasil kromatografi kolom

Hasil Uji flavonoid fraksi dengan pereaksi Willstater, Bate Smith-Metacalfe, dan NaOH 10% dipaparkan pada Tabel 3. Tabel 3 menunjukkan bahwa hanya fraksi F3 ekstrak n-butanol daun cendana positif mengandung flavonoid yang ditandai dengan perubahan warna yang terjadi. Pada penambahan fraksi F3 n-butanol daun cendana dengan pereaksi Willstater terjadi perubahan warna dari kuning menjadi kuning pekat, dengan pereaksi Bate Smith-Melcalfe terjadi perubahan warna dari kuning menjadi cokelat, dan dengan NaOH 10% terjadi perubahan warna dari kuning bening menjadi cokelat.

3.2.5 Uji kemurnian

Hasil uji kemurnian fraksi F3 dengan kromatografi lapis tipis dengan berbagai macam eluen seperti n-butanol-kloroform (3:5), n-butanol: metanol (1:1), n-butanol: etil asetat (1:1) dan kloroform-n-heksana (1:1) menunjukkan bahwa fraksi F3 sudah relatif murni karena mengandung 1 noda sehingga dilanjutkan untuk uji aktivitas antioksidan dan toksisitasnya terhadap larva *Artemia salina* Leach.

3.3 Uji Toksisitas Fraksi F3 Ekstrak n-butanol Daun Cendana terhadap Larva *Artemia salina* Leach

Hasil perhitungan LC_{50} fraksi F3 ekstrak n-butanol daun cendana terhadap larva *Artemia salina* Leach dapat dilihat pada Tabel 4. Data menunjukkan bahwa

fraksi F3 ekstrak n-butanol daun cendana bersifat toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach dan berpotensi sebagai agen antikanker dengan LC_{50} sebesar 158,49 ppm. Menurut Meyer (1982) suatu zat dikatakan aktif atau toksik bila nilai LC_{50} kurang 1000 ppm. Berdasarkan nilai LC_{50} yang diperoleh menunjukkan ekstrak n-butanol lebih bersifat toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan nilai LC_{50} 128,82 daripada fraksi F3 yang memberikan nilai LC_{50} 158,49 ppm, hal ini berarti senyawa toksik yang terkandung dalam ekstrak n-butanol bersifat lebih bersifat toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach karena kemungkinan senyawa flavonoid dalam ekstrak n-butanol bersinergis dengan senyawa lainnya sehingga lebih bersifat toksik daripada fraksi F3. Menurut penelitian Putra [8] ekstrak n-butanol daun nagasari bersifat lebih toksik dengan LC_{50} 27,54 ppm daripada fraksi FB ekstrak n-butanol daun nagasari dengan LC_{50} 83,18 ppm.

3.4 Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi F3 Ekstrak n-Butanol Daun Cendana terhadap DPPH

Salah satu parameter yang dapat digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidan suatu senyawa adalah nilai IC_{50} yaitu konsentrasi sampel yang mampu memberikan persen peredaman radikal bebas sebesar 50%. Semakin rendah nilai IC_{50} maka semakin tinggi aktivitas antioksidan suatu senyawa atau sebaliknya. Pada penelitian ini, penentuan aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH. *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH) merupakan radikal bebas yang stabil sehingga dapat digunakan sebagai metode penentuan aktivitas antioksidan dari senyawa bahan alam [9]. Hasil perhitungan IC_{50} fraksi F3

Tabel 3 Hasil uji flavonoid fraksi hasil pemisahan kromatografi kolom

Sampel	Hasil		
	Willstatter	Bate smith-melcalfe	NaOH 10%
Fraksi 1	-	-	-
Fraksi 2	-	-	-
Fraksi 3	+	+++	+++
Fraksi 4	-	-	-
Fraksi 5	-	-	-
Fraksi 6	-	-	-

+ : memberikan perubahan warna dengan intensitas rendah,
+++ : memberikan perubahan warna dengan intensitas kuat
- : tidak memberikan perubahan warna.

Tabel 4 Hasil Uji Toksisitas Isolat Flavonoid Ekstrak n-Butanol Daun Cendana Terhadap Larva *Artemia salina* Leach

Fraksi	Konsentrasi (ppm)	Jumlah larva yang mati			% Mortalitas	LC ₅₀ (ppm)
		1	2	3		
F3	0	0	0	0	0	158,49
	10	2	2	1	9,11	
	100	4	4	4	40,50	
	1000	6	7	7	84,12	

Tabel 5 Hasil Perhitungan IC₅₀ Fraksi F3 Ekstrak n-Butanol Daun Cendana Terhadap DPPH

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	Regresi Linier	Nilai IC ₅₀ ppm
0	0,630	0,00	y = 0,625x + 1,5765 R ² = 0,986	182,73
10	0,599	4,92		
20	0,582	7,62		
40	0,557	11,59		
60	0,511	18,89		
80	0,482	23,49		
100	0,462	26,67		

daun cendana terhadap DPPH dapat dilihat pada Tabel 5. Data menunjukkan aktivitas antioksidan fraksi F3 ekstrak n-butanol daun cendana dengan nilai IC₅₀ 182,73 ppm. Aktivitas antioksidan fraksi F3 ekstrak n-butanol daun cendana dengan

nilai IC₅₀ 182,73 ppm yang berarti pada konsentrasi 182,73 ppm fraksi F3 ekstrak n-butanol daun cendana telah mampu meredam radikal bebas 50%. Kemampuan senyawa flavonoid dalam meredam radikal bebas erat hubungannya dengan struktur

dasar yang dimiliki oleh senyawa flavonoid yang mengandung gugus hidroksil sehingga mampu menyumbangkan atom hidrogennya untuk berikatan dengan suatu radikal bebas sehingga radikal bebas yang terbentuk memiliki sifat yang stabil [10].

Peranan antioksidan dalam mencegah kanker ditunjukkan melalui kemampuannya menghambat oksidasi dan tahap inisiasi guna mencegah aktivasi karsinogen (*blocking agent*) serta menghambat tahap promosi dan progresi dengan cara menekan proliferasi sel [11]. Mekanisme kanker oleh adanya radikal bebas adalah dimulai dari reaksi oksidasi antara radikal bebas dengan lemak pada membran sel yang dinamakan peroksidasi lemak. Peroksidasi lemak ini dapat merusak sel normal di sekitarnya. Selanjutnya akan bereaksi dengan protein pada sel. Reaksi ini dapat merusak komposisi DNA dimana terjadinya oksidasi pada salah satu basa penyusun DNA yaitu Guanosin. Guanosin yang teroksidasi akan menjadi 8-hidroksi-2-deoksi-Guanosin atau 8-OHdG. Senyawa 8-OHdG merupakan salah satu marker yang menunjukkan terjadinya kerusakan DNA akibat radikal bebas yang berlebih. Reaksi-reaksi ini bila tidak tertangani dapat menyebabkan terjadinya kanker. Pemberian antioksidan yang salah satu sifat dari flavonoid dapat mengikat radikal bebas sehingga tidak menyerang DNA sehingga kanker dapat dihindari.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa isolat flavonoid ekstrak n-butanol daun cendana memiliki aktivitas antioksidan dengan IC_{50} sebesar 182,73 ppm dan

bersifat toksik dan berpotensi sebagai agen antikanker dengan LC_{50} sebesar 158,49 ppm.

5. DAFTAR PUSTAKA

- [1] Oemiati, R., Rahajeng, E., dan Yudi, K. 2011. Prevalensi Tumor Dan Beberapa Faktor Yang Mempengaruhinya di Indonesia. *Bul. Peneliti Kesehatan*. 39(4): 190 – 204.
- [2] Sukardiman, Cholies N.Z., Sisindari. 2006. Induksi Apoptosis dan Peningkatan Ekspresi p53, Bax serta Aktivasi Enzim Caspase Sel Kanker Payudara Manusia oleh 5-hydroxy-7-ethoxy-flavanones dari *Kaempferia pandurata* Roxb. *Laporan Penelitian Hibah Bersaing Tahun I*, Lembaga Penelitian Universitas Airlangga.
- [3] Ren, W., Qiao, Z., Wang, H., Zhu, L., and Zhang, L., 2003, Flavonoids: Promising Anticancer Agents. *Medicinal Research Review*. 23(4): 519-53.
- [4] Muaja, A.D., Koleangan, H.S.J., dan Runtuwene, M.R.J. 2013. Uji Toksisitas dengan Metode BSLT dan Analisis Kandungan Fitokimia Ektrak Daun Soyogik (*Saurauia bracteosa* DC) dengan Metode Soxhletasi. *Journal of Biochemistry*. 2(2): 115-118.
- [5] Hasan, A.E.Z., Purnamasari, A., dan Wardatun S. 2013. Uji Toksisitas, Aktivitas Antioksidan dan Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 70% Propolis serta Serbuk Nanopropolis. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*. 23(1): 13-21.
- [6] Rahayu, S., Wawo, A.H., Noordwijk, M.V., and Hairiah, K. 2002. *Cendana*. Kupang. Balai Kehutanan.

- [7] Prasad, M.P., Soumya, M., and Brinda. 2014. Phytochemical Screening and In-Vitro Evaluation of Anti-oxidant and Anti-bacterial Properties of Medicinal Plants. *Journal of Biotechnology*. 3(1): 18-25.
- [8] Putra, I.W.P.E., Santi, S.R, dan Rustini, N.L. 2016. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Sitotoksik Daun Nagasari (*Calophyllum nagassarium* Burm. f.) terhadap Larva *Artemia salina* Leach. *Jurnal Kimia*. 10(1): 96-102.
- [9] Molyneux, P. 2004. The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazil(DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarinn J. Science Tecnology*. 26(2): 211-219.
- [10] Yuhernita dan Juniarti. 2011. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Metanol Daun Surian Yang Berpotensi Sebagai Antioksidan. *Makara Sains*. 15(1): 48-52.
- [11] Annabi, B., Bouzeghrane, M., Currie, J.C., Hawkins, R., Dulude, H., Daigneault, L., Ruiz, M., Wisniewski, J., Garde, S., Rabanni, S.A., Panchal, C., Wu, J.J., and Beliveau, R. 2005. APSP94-Derived Peptide PCK3145 Inhibits MMP-9 Secretion and Triggers CD44 cell Surface Shedding: Implication In Tumor Metastasis. *Clinical and Experimental Metastasis*. 22(8): 429-43

