AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN BIOAKTIVITAS *IN VITRO* EKSTRAK AIR DAN EKSTRAK ETANOL DAUN DAN RANTING BENALU *Macrosolen cochinchinensis* (Lour.) van Tiegh. PADA INANG NANGKA (*Artocarpus heterophyllus*)

Nina Artanti dan Akhmad Darmawan

Pusat Penelitian Kimia – Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia
Kawasan PUSPIPTEK Serpong, Tangerang, Banten

INTISARI

Telah dilakukan uji aktivitas antioksidan dan bioaktivitas terhadap ekstrak air dan ekstrak etanol daun dan ranting benalu *Macrosolen cochinchinensis* (Lour.) Van Tiegh. Yang tumbuh pada inang pohon nangka (*Artocarpus heterophyllus*). Ekstrak air daun dan ranting *M. cochinchinensis* aktif sebagai antioksidan dengan nilai IC_{50} 23,08 $\mu\text{g/mL}$ dan 21,56 $\mu\text{g/mL}$, untuk ekstrak etanol baik daun maupun ranting memberikan IC_{50} di atas 100 $\mu\text{g/mL}$ (tidak aktif sebagai antioksidan terhadap DPPH). Ekstrak air dan etanol daun dan ranting *M. cochinchinensis* tidak menunjukkan bioaktivitas terhadap larva udang *Artemia salina* Leach. dengan nilai LC_{50} masing-masing lebih dari 1000 $\mu\text{g/mL}$.

Kata kunci : Antioksidan, Bioaktivitas, *Macrosolen cochinchinensis* (Lour.) van Tiegh., *Artocarpus heterophyllus*, *Artemia salina* Leach.

ABSTRACT

Study on antioxidant activity and bioactivity of water and ethanol extracts from the leaves and twigs of mistletoe (Macrosolen cochinchinensis (Lour.) Van Tiegh) that grew on jackfruit (Artocarpus heterophyllus) tree as the host have been conducted. Water extracts of the M. cochinchinensis leaves and twigs were active as antioxidant with IC_{50} 23.08 $\mu\text{g/mL}$ dan 21.56 $\mu\text{g/mL}$ respectively. Whereas the ethanol

*extracts of both leaves and twigs was not active because the IC_{50} higher than 100 $\mu\text{g/mL}$ (not active as antioxidant against DPPH). Both water and ethanol extracts of *M. cochinchinensis* leaves and twigs did not showed bioactivity against *Artemia salina* Leach brine shrimp with each extracts has LC_{50} higher than 1000 $\mu\text{g/mL}$.*

Key words : Antioxidant, Bioactivity, *Macrosolen cochinchinensis* (Lour.) van Tiegh., *Artocarpus heterophyllus*, *Artemia salina* Leach.

PENDAHULUAN

Latar belakang

Indonesia sebagai salah satu negara dengan kekayaan hayati yang sangat melimpah merupakan surga bagi para peneliti khususnya yang bergerak dalam bidang eksplorasi, inventarisasi dan perkembangan obat hayati dan nabati. Untuk menjelajah dan mengeksplorasi kekayaan tersebut dalam rangka menemukan senyawa kimia baru, spesies baru bahkan senyawa bioaktif baru yang diantaranya diharapkan dapat dimanfaatkan sebagai obat bagi beberapa penyakit yang sampai saat ini belum ditemukan obatnya.

Mistletoe atau yang dalam bahasa Indonesia lebih dikenal sebagai benalu, merupakan salah satu kekayaan hayati yang banyak dimiliki negara kita namun belum banyak dieksplorasi mengenai kandungan kimia serta manfaatnya bagi

kesehatan maupun ilmu pengetahuan itu sendiri. Dikenal sebagai tumbuhan parasit pengganggunya merupakan salah satu penyebab belum banyaknya penelitian yang difokuskan pada tumbuhan ini. Namun demikian informasi yang menyatakan bahwa benalu, khususnya bagian daunnya dapat digunakan sebagai obat telah lama diketahui masyarakat, salah satunya adalah daun benalu teh yang dianggap mempunyai aktivitas sebagai antikanker (Pitojo Setiojo, 1996). Oleh sebab itu benalu dapat dikategorikan sebagai salah satu tumbuhan obat.

Kanker merupakan salah satu penyakit yang banyak diderita oleh masyarakat di negara-negara berkembang khususnya, dan di Indonesia kanker telah masuk ke dalam urutan 5 besar penyakit yang menyebabkan kematian. Kanker merupakan salah satu penyakit degeneratif yang salah satu penyebabnya adalah radikal bebas. Radikal bebas itu sendiri adalah atom atau molekul yang berada dalam keadaan bebas serta mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan, sehingga mempunyai sifat yang sangat reaktif (Sulistyo Indyah, 1998). Ikatan yang terjadi antara radikal mempunyai kecenderungan berlangsung sebagai reaksi berantai (Simanjuntak, 1998; Artanti, 2003). Dalam keadaan sehat, tekanan oksidasi dengan ketahanan system antioksidan dalam tubuh berlangsung secara seimbang, namun apabila tekanan oksidasi melebihi kemampuan sistem antioksidan tubuh, salah satunya disebabkan dengan masuknya senyawa-senyawa radikal bebas yang berasal dari luar (lingkungan, udara, makanan tidak sehat, dll) menyebabkan tidak semua radikal bebas yang ada dalam tubuh dapat dinetralisasi, sebagai akibatnya adalah mulai terjadinya kerusakan pada sel maupun jaringan tubuh (Simanjuntak, 1998). Apabila kerusakan sel

tersebut tidak dapat diatasi sangat besar kemungkinan terjadi kanker sebagai akibat dari terjadinya pembelahan sel dari sel yang rusak tersebut terlebih lagi jika didukung dengan adanya senyawa antiapoptosis, sehingga sel-sel yang rusak dan seharusnya mati menjadi tetap hidup dan terus membelah (Darmawan, 2008).

Antioksidan adalah senyawa yang terdapat di dalam sel, baik pada membran sel maupun di dalam ruang ekstra sel yang dapat mencegah dan menghambat terjadinya kerusakan sel sebagai akibat dari reaksi oksidasi. Antioksidan mampu merubah senyawa prooksidasi menjadi molekul yang tidak berbahaya (Widjaja Shirley, 1997). Mengingat kepercayaan masyarakat terhadap khasiat daun benalu sebagai salah satu obat antikanker, maka dalam penelitian ini dilakukan ekstraksi menggunakan air dan etanol terhadap ranting dan daun benalu *Macrosolen cochinchinensis* yang tumbuh pada inang pohon nangka (*Artocarpus heterophyllus*). *M. cochinchinensis* dipilih berdasarkan kenyataan bahwa jenis benalu yang hidup pada tumbuhan teh adalah *M. cochinchinensis*. Ekstrak air digunakan berdasarkan kebiasaan masyarakat yang menggunakan rebusan air benalu yang digunakan sebagai obat (Pitojo Setiojo, 1996). Ekstrak etanol dipilih untuk mengetahui apakah senyawa yang telah ada dalam rebusan air tersebut masih mempunyai senyawa lain yang tidak terlarut di air, dan kemungkinan aktivitasnya terhadap antioksidan dan bioaktivitas.

Uji bioaktivitas dilakukan terhadap larva udang *Artemia salina* dilakukan untuk mengetahui tingkat bioaktivitas baik ekstrak air maupun ekstrak etanol dari daun dan ranting benalu *M. cochinchinensis*

Tujuan penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak air dan etanol dari daun dan ranting benalu *M. cochinchinensis* yang tumbuh pada inang pohon nangka (*A. heterophyllus*) dan tingkat bioaktivitasnya terhadap larva udang *Artemia salina*.

BAHAN DAN METODA

Bahan

Bahan yang digunakan adalah daun dan ranting benalu *M. cochinchinensis* yang tumbuh pada inang pohon nangka (*A. heterophyllus*). Determinasi kebenaran nama benalu dan pohon inang yang diuji, dilakukan di Herbarium Bogoriense, Pusat Penelitian Biologi - LIPI, Bogor.

Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode "DPPH free radical scavenging effect" dimana DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) berfungsi sebagai radikal bebas yang direaksikan dengan ekstrak yang diduga mempunyai aktivitas sebagai antioksidan, diharapkan terjadi proses penangkapan hydrogen dari ekstrak oleh DPPH (berwarna ungu) sehingga terbentuk senyawa 1,1-difenil-2-hidrazin (berwarna kuning). Kemudian aktivitas antioksidan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm (Yen, 1995). Sebagai kontrol positif digunakan quersetin yang merupakan senyawa flavonoid, karena diketahui dari penelitian sebelumnya benalu memiliki kandungan senyawa flavonoid yang tinggi (Darmawan dan Artanti, 2006).

Bioaktivitas

Uji bioaktivitas dilakukan dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) menggunakan larva udang *Artemia salina*

Leach. sebagai obyek pengamatan. Larva udang 10-13 ekor dimasukkan ke dalam vial uji, kemudian diberi larutan ekstrak sampel. Aktivitas bioaktivitas ekstrak ditunjukkan oleh jumlah larva yang mati dibandingkan dengan blanko (vial uji yang diberi perlakuan sama tanpa di tambah dengan larva udang). Nilai bioaktivitas ditunjukkan dengan istilah *Lethal Concentration* (LC_{50}), semakin kecil nilai LC_{50} maka semakin toksik. (Meyer, 1982).

Ekstraksi

Ekstrak air

Sampel daun benalu atau ranting benalu dipotong kecil-kecil kemudian direbus menggunakan air mendidih selama kurang lebih 10-15 menit. Air rebusan kemudian disaring dan dikeringkan menggunakan oven 50°C sampai kering. Ekstraksi dengan air mendidih 3 kali pengulangan.

Ekstrak Etanol

Sampel daun dan ranting benalu sisa proses perebusan, kemudian dimaserasi menggunakan etanol teknis, didiamkan semalam, larutan ekstrak etanol kemudian dipekatkan menggunakan rotary evaporator sampai terbebas dari pelarut etanol. Proses ekstraksi dengan etanol dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas Antioksidan

Dari ekstraksi terhadap 52,98 gram daun dan 51,27 gram ranting *M. cochinchinensis* dengan air mendidih selama 15 menit dan dilakukan dengan 3 kali pengulangan diperoleh rendemen ekstrak air kering daun dan ranting *M. cochinchinensis* masing-masing sebesar 29,33 dan 17,20% w/w. Sementara, untuk ekstraksi menggunakan pelarut etanol teknis terhadap 5,15 gram daun dan

5,14 gram ranting *M. cochinchinensis* masing-masing diperoleh rendemen sebesar 2,63 dan 0,63% w/w.

Dari uji aktivitas antioksidan terhadap ekstrak air dan etanol terhadap daun dan ranting *M. cochinchinensis* diperoleh hasil seperti pada Tabel 1. Cara penghitungan inhibisi (%) adalah sebagai

berikut:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs. Blanko} - \text{Abs. Sampel} \times 100\%}{\text{Abs. Blanko}}$$

Adapun cara perhitungan IC_{50} selain menggunakan kurva regresi linear juga dapat dilakukan melalui persamaan regresi linear:

a) Mencari nilai *a*, *b* dan *r*

$$b = \frac{n\sum(XY) - (\sum X)(\sum Y)}{n\sum X^2 - (\sum X)^2}$$

$$a = \frac{\sum Y}{n} - b \frac{\sum X}{n}$$

$$r = \frac{n\sum(XY) - (\sum X)(\sum Y)}{\{[n\sum X^2 - (\sum X)^2][n\sum Y^2 - (\sum Y)^2]\}^{1/2}}$$

Keterangan:

Y = Inhibisi

a = Intersep

b = Gradien atau Kemiringan

n = Jumlah variasi konsentrasi

r = Koefisien korelasi

X = Konsentrasi sampel

b) Mencari nilai IC_{50} (X)

$$Y = a + bX$$

Keterangan:

Y = 50 (hambatan 50%)

X = IC_{50} (konsentrasi sampel yang dapat menghambat sebesar 50% radikal bebas DPPH)

Berdasarkan nilai IC_{50} yang diperoleh tersebut di atas dapat diketahui bahwa ekstrak air daun benalu mempunyai aktivitas sebagai antioksidan walaupun masih 4 kali lebih besar dibandingkan dengan kontrol positif berupa senyawa quercitrin. Berbeda halnya dengan ekstrak etanol sisa ekstraksi air bahan uji yang memberikan nilai IC_{50} lebih dari 100 $\mu\text{g/mL}$ sebagai batas paling besar suatu ekstrak agar dapat dikategorikan aktif. Kedua perbedaan hasil aktivitas antioksidan tersebut dapat dijadikan sebagai salah satu dasar ilmiah yang dapat mendukung penggunaan benalu daun teh yang direbus khususnya dalam hal ini adalah benalu jenis *M. cochinchinensis* sebagai salah satu obat antikanker. Mengapa hal tersebut dapat dijadikan sebagai salah satu dasar manfaat benalu sebagai salah satu tumbuhan obat, karena adanya keterikatan antara aktivitas antioksidan yang dapat menyeimbangkan kelebihan dari senyawa prooksidan yang ada dalam tubuh atau jaringan tubuh kita, sehingga tidak terdapat senyawa radikal bebas berlebih di dalam tubuh yang dapat menyebabkan terjadinya kerusakan sel dan diikuti dengan kerusakan jaringan sebagai awal mula mulai terjadinya gejala kanker, terutama apabila kerusakan sel tersebut ditunjang lagi dengan terdapatnya senyawa antiapoptosis sel yang menyebabkan sel rusak yang ada dalam tubuh tetap hidup dan terus membelah atau memperbanyak diri. Apabila perbanyak sel-sel yang rusak tersebut tidak terkendali, maka bukan tidak mungkin akan terbentuk sel kanker yang merupakan sel abnormal yang dapat terus berkembang dan menyebar tak terkendali keseluruh jaringan tubuh.

Tabel 1. Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak air dan etanol daun dan ranting *M. cochinchinensis* terhadap DPPH

Sampel	Konsentrasi (µg/mL)	Absorbansi (A)	Inhibisi (%)	Persamaan Linear	IC ₅₀ (µg/mL)
Air					
Blanko		1,205			
Daun	5	1,056	12,365	Y = -1,3568 + 2,2245X r = 0,997	23,086
	10	0,960	20,332		
	20	0,730	39,419		
	40	0,129	89,295		
Ranting	5	1,064	11,701	Y = 0,2164 + 2,3088X r = 0,9949	21,563
	10	0,964	20,000		
	20	0,585	51,452		
	40	0,110	90,871		
Etanol					
Daun	100	0,661	45,145		> 100
Ranting	100	0,853	29,211		> 100
Kontrol Positif					
Blanko		1,220			
Quercetin	2	1,178	3,443	Y = 20,6106 + 10,4876X r = 0,9967	6,733
	4	1,003	17,786		
	8	0,468	61,639		
	10	0,166	86,393		

Keterangan : ekstrak dinyatakan aktif apabila mempunyai nilai IC₅₀ di bawah 100 µg/mL

Ekstrak etanol bahan uji tidak mempunyai aktivitas antioksidan dapat disebabkan setidaknya oleh dua kemungkinan, yaitu : 1) bahwa hampir sebegini besar senyawa yang mempunyai aktivitas sebagai antioksidan sudah terambil dan terlarut dalam ekstrak air, atau 2) memang hanya sedikit sekali senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan dapat terlarut dalam etanol, dibandingkan dengan yang dapat terambil dalam rebusan air. Sehingga untuk dapat mengisolasi, mengidentifikasi dan mengelusidasi senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan lebih baik dilakukan dengan ekstraksi menggunakan rebusan air.

Bioaktivitas

Berdasarkan hasil pengujian bioaktivitas ekstrak air dan etanol dari daun dan ranting

benalu *M. cochinchinensis* diperoleh nilai LC₅₀ lebih dari 1000 µg/mL untuk semua ekstrak daun dan ranting, baik ekstrak air maupun ekstrak etanol. Nilai LC₅₀ > 1000 µg/mL menunjukkan bahwa ekstrak-ekstrak tersebut bersifat tidak toksik, sebab konsentrasi 1000 µg/mL untuk nilai LC₅₀ merupakan batas tertinggi suatu ekstrak dapat dikatakan bersifat toksik. Penghitungan LC₅₀ dapat dilakukan dengan menggunakan beberapa persamaan atau rumus di bawah ini :

a) Persentase kematian (mortalitas)

$$\% \text{ Mortalitas} = \frac{\text{Jumlah AM} \times 100\%}{\text{Jumlah AM} \times \text{AH}}$$

Keterangan :

AM = Akumulasi Mati

AH = Akumulasi Hidup

b) LC_{50} (persamaan garis regresi linear)

$$Y = a + bX$$

Dimana:

$$a = \frac{(\sum Y_i)(\sum X_i^2) - (\sum X_i)(\sum X_i Y_i)}{n\sum X_i^2 - (\sum X_i)^2}$$

$$b = \frac{(\sum X_i) \cdot Y_i - (\sum X_i)(\sum Y_i)}{n\sum X_i^2 - (\sum X_i)^2}$$

$$r = \frac{\sum x_i \cdot y_i}{[(\sum x_i^2 \cdot \sum y_i^2)]^{1/2}}$$

Keterangan:

a = Intersep

b = Slope

n = Jumlah variasi konsentrasi

r = Koefisien korelasi

X_i = Logaritma konsentrasi

Y_i = Mortalitas

x_i = Nilai deviasi X_i

y_i = Nilai deviasi Y_i

Berdasarkan data hasil uji bioaktivitas pada Tabel 2, dapat diketahui bahwa semua ekstrak benalu *M. cochinchinensis* baik air rebusan maupun etanol memberikan nilai $LC_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$. Hal tersebut mempunyai arti bahwa semua ekstrak tersebut tidak toksik, hal ini dapat dijadikan salah satu dasar awal dari segi keamanan terhadap kecenderungan masyarakat untuk merebus daun benalu khususnya benalu teh dan kemudian air rebusannya di minum. Namun demikian jika dilihat dari segi tingkat keamanan untuk di konsumsi masih harus lagi dilakukan pengujian yang lebih intens karena melibatkan kesehatan dan keselamatan konsumen yang meminumnya.

Tabel 2. Hasil uji toksisitas ekstrak air dan ekstrak etanol dari daun dan ranting *M. cochinchinensis* terhadap larva udang *Artemia salina* Leach

Sampel	K $\mu\text{g/mL}$	Log	Data awal (ekor)	Σ Data awal (ekor)	Mati (ekor)	Hidup (ekor)	AM	AH	AM/(AM+AH)	Mortalitas (%)	$LC_{50}(X)$
Air											
Daun	10	1	11 10 10	31	2	29	2	81	2/83	2,409	36673,715
	100	2	10 10 10	30	3	27	5	52	5/57	8,772	
	1000	3	10 10 11	31	6	25	11	25	11/36	30,555	
Ranting	10	1	11 10 10	31	1	30	1	84	1/85	1.176	72580,468
	100	2	10 11 10	31	3	28	4	54	4/58	6,896	
	1000	3	10 11 11	32	6	26	10	26	10/36	27.777	
Etanol											
Daun	10	1	10 10 11	31	28	28	3	79	3/82	3,658	10821,968
	100	2	10 10 10	30	26	26	7	51	7/58	12,069	
	1000	3	11 10 11	32	25	25	14	25	14/39	35,897	
Ranting	10	1	11 10 11	31	31	31	0	89	0/89	0	>1000000
	100	2	11 11 10	32	30	30	2	58	2/60	3,333	
	1000	3	11 10 10	31	28	28	5	28	5/33	15,151	

KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa benalu *Macrosolen cochinchinensis* yang hidup pada inang pohon nangka merupakan salah satu jenis benalu yang mempunyai aktivitas sebagai antioksidan dan bersifat tidak toksik berdasarkan uji bioaktivitas dengan BSLT.

SARAN

Proses isolasi, karakterisasi dan elusidasi terhadap senyawa murni aktif yang terkandung di dalam ekstrak air benalu *M. cochinchinensis* untuk kemudian dilanjutkan dengan uji aktivitas antioksidan maupun antikanker yang lebih komprehensif merupakan suatu langkah yang harus dilakukan dan terus dikembangkan tidak hanya pada tumbuhan benalu, tetapi juga pada tumbuhan lain yang belum banyak dieksplorasi dan diteliti.

DAFTAR PUSTAKA

1. Pitojo Setiojo, *Benalu Hortikultura : Pengendalian dan Pemanfaatan*, Penerbit PT. Trubus Agriwidya, Semarang, 1996, hal. 4 - 54.
2. Yen, G., dan Chen, H., Antioxidant Activity of Various Tea Extract in Relation to Their Antimutagenicity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 43, 1995, hal. 27 - 32.
3. Sulistyio Indyah., Radikal Bebas, Peroksidasi Lipida dan Antioksidan., *Cakrawala Pendidikan*, FMIPA IKIP Yogyakarta, No. 1, Tahun XVII, 1998, hal. 55 - 61.
4. Simanjuntak, D., dan Sudaryanti, E., Aspek Pencegahan Radikal Bebas melalui Antioksidan., *Majalah Kedokteran Indonesia*, Vol. 48, No. 1, 1998, hal. 50 - 53.
5. Artanti, N., et al. Evaluasi Aktivitas Antioksi dan Daun Benalu *Macrosolen cochinchinensis* yang Tumbuh pada Inang Duku (*Lansium domesticum*). Prosiding Semiloka Nasional Himpunan Kimia Indonesia, Jakarta, 2003, hal. 70 - 79.
6. Darmawan, A., dan Artanti, N., Isolasi dan Identifikasi Senyawa Aktif Antioksidan dari Ekstrak Air Daun Benalu *Dendrophthoe pentandra* yang Tumbuh pada Cemara (*Casuarina sp.*), *Kapita Selekta Widyaiset LIPI*, Vol. 9, No. 3, 2006. Hal. 43 - 52.
7. Meyer, B.N., Frigni, N.R., Putham, J.E., Jacosen, Nochols, D.E., McLaughlin, J.L., "Brine Shrimp A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents *Planta Medica*", *Medical Plant Research* Vol. 45, Department of Medicinal Chemistry and Pharmacognosy, West Lafayette, 1982, hal. 31 - 34.