

	<p>PENENTUAN POTENSI EKSTRAK KULIT BATANG TUMBUHAN SIKKAM (<i>Bischofia javanica</i> Blume) SEBAGAI ANTIOKSIDAN DENGAN METODE DPPH DAN SITOTOKSIK DENGAN METODE BSLT</p> <p>Dapot Parulian Manurung*¹, Agus Sundaryono², Hermansyah Amir³ ^{1,2,3} Program Studi Pendidikan Kimia Jurusan PMIPA FKIP Universitas Bengkulu *E-mail : parulianmanurung44@gmail.com</p>					
						

ABSTRACT

This study aims to determine the level of antioxidant activity of Sikkam bark extract (*Bischofia javanica* Blume) and its potential as an anticancer agent. This research was conducted in November 2018 - April 2019 in the Laboratory of Chemical Education Guidance and Counseling and Basic Science Laboratory, University of Bengkulu. The sample in this study was obtained from Gunung Mariah village in Simalungun district, North Sumatra. The method used in this study was extraction using maceration, liquid-liquid fractionation, phytochemical test, DPPH (Diphenylpicrylhydrazyl) test and BSLT test (Brine Shrimp Lethality Test). Extraction maceration using ethanol 96%, fractionation using a solvent n-hexane and ethyl acetate, phytochemical tests using Mayer's reagent, Lieberman-Burchard, FeCl_3 1% and H_2SO_4 2N, antioxidant test using DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) and cytotoxic tests using shrimp *Artemia salina* Leach larvae. The results of the study on maceration of 800 grams of Sikkam bark obtained a crude extract of 53.6 grams (6.7%). Fractionation from 10 grams of crude extract obtained 7.24 gram ethanol fraction (72.4%), ethyl acetate fraction 2.14 gram (21.4%) and n-Hexane fraction 0.39 gram (3.9%). Phytochemical test results obtained the content of alkaloids, flavonoids, tannins, saponins and terpenoids with the highest yield on tannin compounds. The antioxidant activity test results obtained IC₅₀ values in crude extracts of 20.94 ppm, ethanol fraction 36.29 ppm, ethyl acetate fraction 83.28 ppm and n-Hexane fraction 39.13 ppm which showed that crude extract, ethanol fraction, n-Hexane fraction were categorized as very strong antioxidants and Ethyl acetate fraction is categorized as a strong antioxidant. The cytotoxic test results using crude extract obtained an LC₅₀ value of 54,827 ppm which showed that Sikkam bark extract was toxic so that it was potential as an anticancer agent.

Keywords: *Sikkam's, Phytochemicals profile, Antioxidant, Cytotoxic, Artemia salina* Leach

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat aktivitas antioksidan dari ekstrak kulit batang Sikkam (*Bischofia javanica* Blume) dan potensinya sebagai agen antikanker. Penelitian ini dilakukan pada bulan November 2018 – April 2019 di Laboratorium Pendidikan Kimia FKIP dan Laboratorium Basic Science FMIPA Universitas Bengkulu. Sampel dalam penelitian ini diperoleh dari desa Gunung Mariah di kabupaten Simalungun, Sumatera Utara. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstraksi menggunakan maserasi, fraksinasi cair-cair, uji fitokimia, uji DPPH (Diphenilaminpikrilhidrazil) dan uji BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). Ekstraksi maserasi menggunakan pelarut etanol 96%, fraksinasi menggunakan pelarut n-Heksana dan etil asetat, uji fitokimia menggunakan pereaksi Mayer's, Liberman-Burchard, FeCl_3 1% dan H_2SO_4 2N, uji antioksidan menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dan uji sitotoksik menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach. Hasil penelitian pada maserasi dari 800 gram kulit batang Sikkam memperoleh ekstrak kasar sebanyak 53.6 gram (6.7%). Hasil fraksinasi dari 10 gram ekstrak kasar diperoleh fraksi etanol 7.24 gram (72.4%), fraksi etil asetat 2.14 gram (21.4%) dan fraksi n-Heksana 0.39 gram (3.9%). Hasil uji fitokimia memperoleh adanya kandungan alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan terpenoid dengan hasil terbanyak pada senyawa tanin. Hasil uji aktivitas antioksidan memperoleh nilai IC₅₀ pada ekstrak kasar sebesar 20.94 ppm, fraksi etanol 36.29 ppm, fraksi etil asetat 83.28 ppm dan fraksi n-Heksana 39.13 ppm yang menunjukkan bahwa ekstrak kasar, fraksi etanol, fraksi n-Heksana dikategorikan sebagai antioksidan sangat kuat dan fraksi etil asetat dikategorikan sebagai antioksidan kuat. Hasil uji sitotoksik dengan menggunakan ekstrak kasar memperoleh nilai LC₅₀ sebesar 54.827 ppm yang menunjukkan bahwa ekstrak kulit batang Sikkam bersifat toksik sehingga berpotensi sebagai agen antikanker.

Kata Kunci : Sikkam, Profil Fitokimia, Antioksidan, Sitotoksik, *Artemia salina* Leach

PENDAHULUAN

Tumbuh-tumbuhan telah menjadi sumber penting dalam pengobatan sejak beribu-ribu tahun yang lalu yang merupakan bentuk pengobatan tertua di dunia [1]. Setiap budaya di dunia memiliki sistem pengobatan tradisional yang khas dan hampir disetiap daerah dijumpai berbagai

macam jenis tumbuhan yang dimanfaatkan sebagai bahan obat [2].

Obat tradisional adalah obat jadi atau ramuan bahan alam yang berasal dari tumbuhan, hewan, mineral, sediaan galenik atau campuran bahan-bahan tersebut yang secara tradisional telah digunakan untuk pengobatan berdasarkan

pengalaman [3]. Sifat alami dari tumbuhan-tumbuhan ini membuat efek samping penggunaannya minimal sehingga menjadi obat yang lebih aman [4]. Penggalian potensi tanaman obat telah banyak dilakukan karena melihat perhatian dunia terhadap obat-obatan dari bahan alam mengalami peningkatan [5].

Indonesia merupakan salah satu negara terbesar di dunia yang memiliki kekayaan alam hayati yang sangat melimpah dan beraneka ragam, sehingga disebut negara *mega-biodiversity* [6]. Di pulau Jawa terdapat sekitar 500 jenis pohon hutan, sedangkan di pulau Sumatera terdapat sekitar 1200 jenis pohon hutan [7]. Jenis-jenis pohon hutan tersebut berpotensi sebagai bahan baku obat-obatan yang dianggap sebagai produk hasil hutan non-kayu [8]. Pemanfaatan sebagian besar pohon hutan untuk obat tradisional saat ini sudah demikian banyaknya [9].

Daerah Sumatera Utara memiliki beberapa jenis tanaman yang jarang ada di daerah lain, contohnya adalah pohon Sikkam (*Bischofia javanica* Blume), yang berasal dari suku Euphorbiaceae, genus *Bischofia* dan spesies *Bischofia javanica* Blume [7]. Masyarakat Sumatera Utara di kabupaten Simalungun menggunakan kulit pohonnya sebagai bahan tambahan pada bumbu makanan yang dicampur pada daging dan obat diare [8]. Pengolahan kulit batang Sikkam sebagai bumbu makanan dilakukan dengan cara menumbuk kulit batang hingga halus dan mengambil air perasannya yang kemudian dicampur dengan santan kelapa [9]. Pengobatan diare juga dilakukan dengan cara menumbuk dan mengambil air perasan (kedua) dari kulit batang sikkam yang telah ditumbuk lalu diminum [10].

Penyakit diare umumnya diakibatkan oleh bakteri *Escheria Coli* [11], karena itu diduga kulit batang pohon Sikkam memiliki aktivitas biologi sebagai antibakteri, yang disebabkan karena adanya kandungan metabolit sekunder seperti Alkanoid, Terpenoid, Flavonoid dan lain-lain [12].

Umumnya Metabolit Sekunder juga dapat berfungsi sebagai Antioksidan, yaitu senyawa yang memiliki kemampuan untuk menetralkan radikal bebas dengan cara menyumbangkan elektronnya pada molekul radikal bebas [13]. Ekstrak etanol kulit batang pohon Sikkam terbukti dapat digunakan sebagai sediaan obat kumur [14] dan untuk mengobati diare [15].

Data ilmiah mengenai aktivitas antioksidan dan sitotoksik dari bagian kulit batang tumbuhan

Sikkam belum banyak dilakukan. Adanya kajian ilmiah akan lebih memperluas pemanfaatan dan pengembangan antioksidan alami dan bahan sitotoksik agar penggunaan kandungan dari pohon Sikkam menjadi lebih optimal. Berdasarkan uraian di atas, maka peneliti melakukan penelitian tentang aktivitas antioksidan dan sitotoksik dari ekstrak kulit batang pohon Sikkam (*Bischofia javanica* Blume).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2018 sampai April 2019 di laboratorium Pendidikan Kimia FKIP dan laboratorium Basic Science FMIPA Universitas Bengkulu. Alat yang digunakan adalah kamera, pisau/cutter, talenan, timbangan dapur Oxone 5 Kg, toples plastic (vol. 5 L), neraca analitik, kaca arloji, blender, alu dan lumpang, toples kaca (vol. 5 L), rotary evaporator (Heidolph Laborata 4000 Efficient), botol vial, gelas kimia, gelas ukur, gelas piala, sudip, batang pengaduk, hot plate, botol semprot, tabung reaksi, pipet tetes, nampan, bola lampu 5 W, kardus, lup, erlenmeyer, corong kaca, rak tabung reaksi, labu ukur, corong pisah, statif dan klem, biuret, aquarium (40 cm x 20 cm x 20 cm), kuvet, oven, gegap dan spektrofotometer UV 50 DA B-ONE.

Bahan uji kulit batang pohon Sikkam (*Bischofia javanica* Blume) diperoleh dari hutan di daerah persawahan desa Gunung Maria, kecamatan Dolok Panribuan, kabupaten Simalungun, Sumatera Utara (2081'70.4" N dan 99003'31.2" E) dan larva udang *Artemia salina* Leach yang diperoleh dari Laboratorium Biota Sumatera Fakultas Farmasi UNAND Padang.

Bahan kimia yang digunakan adalah etanol 96%, etanol p.a, etil asetat, n-Heksana, kertas saring, DMSO 1%, air laut, HgCl₂, aquades, HCl 1 M, FeCl₃ 1%, KI, H₂SO₄ 2N, NaOH 1%, C₄H₆O₃, NH₃, pita Mg, aluminium foil, CHCl₃, DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil).

Ekstraksi kulit batang sikkam dilakukan dengan metode ekstraksi maserasi. Maserasi merupakan suatu metode yang digunakan untuk mendapatkan ekstrak dari tumbuhan dengan cara perendaman menggunakan pelarut organik dengan beberapa kali pengocokan yang dilakukan pada suhu kamar. Sampel direndam selama 3x24 jam menggunakan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:5 (w/v) yaitu sampel sebanyak 800 gram dan pelarut 4000 ml. Ekstraksi

dilakukan terhadap sampel yang telah menjadi serbuk dengan ukuran partikel lebih kecil [10].

Fraksinasi dilakukan untuk memisahkan senyawa-senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak ke dalam fraksi-fraksinya. Sebanyak 25 gr ekstrak kental dilarutkan dalam 250 mL etanol 96%, diambil 100 mL dan ditempatkan dalam corong pisah, kemudian ditambahkan pelarut n-Heksana dengan perbandingan 1:2, dilakukan sampai pelarut n-Heksana tidak berwarna (bening) sebanyak 3 kali. Hasil fraksinasi dengan n-Heksana ditampung dalam satu wadah. Selanjutnya fraksi etanol difraksinasi lagi menggunakan pelarut etil asetat sebanyak 2 kali [11].

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa bioaktif yang terdapat pada kulit batang Sikkam secara kualitatif dengan menggunakan pereaksi kimia dan tumbuhan pembanding. Golongan senyawa yang diuji yaitu flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, steroid dan terpenoid [12].

Pengukuran aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH diujikan pada ekstrak kasar, fraksi etanol, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksana dari ekstrak kulit batang Sikkam dengan variasi konsentrasi masing-masing larutan uji 5, 10, 25, 50 dan 100 ppm serta larutan kontrol 0 ppm. Pengujian dilakukan dengan mengambil 1 ml masing-masing larutan sampel, dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 1 ml larutan DPPH 100 ppm dan 2 ml etanol p.a, diinkubasi selama 30 menit dan diuji pada spektrofotometer UV 50 DA B-ONE pada panjang gelombang 517 nm [13].

Nilai serapan larutan DPPH dihitung

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

Keterangan :

A_{kontrol} = Absorbansi DPPH tidak mengandung sampel

A_{sampel} = Absorbansi DPPH mengandung sampel

Persen larva udang yang mati dihitung menurut persamaan:

$$\% \text{ kematian} = \frac{\text{Jumlah larva mati}}{\text{Jumlah larva total awal}} \times 100\%$$

Hasil perhitungan diolah secara manual menggunakan persamaan regresi dan menggunakan Ms. Excel dengan membuat kurva hubungan antara konsentrasi dan % inhibisi

dengan konsentrasi ekstrak (ppm) sebagai absis (sumbu x) dan nilai % inhibisi (antioksidan) sebagai ordinatnya (sumbu y) sehingga akan diperoleh persamaan garis lurus $y = mx + C$ dengan y adalah 50 yang akan menghasilkan x sebagai nilai IC50 [14].

$$m = \frac{\sum(X) \cdot \sum(Y) - n\sum(X \cdot Y)}{(\sum(X))^2 - n\sum(X)^2}$$

Nilai Intersep (b) dihitung dengan rumus :

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

Uji toksisitas dilakukan dengan metode BSLT untuk mengetahui tingkat toksisitas ekstrak kulit batang Sikkam terhadap *Artemia salina* Leach. Pembuatan konsentrasi ekstrak dilakukan dengan orientasi konsentrasi 10, 100 dan 1000 ppm. Ekstrak kasar ditimbang 1 gr, dilarutkan dengan 100 ml etanol 96% sehingga diperoleh konsentrasi larutan induk 10.000 ppm. Kemudian diencerkan dengan menggunakan rumus:

Larutan uji dengan konsentrasi 10, 100 dan 1000 ppm diambil 5 mL dan dimasukkan ke dalam tabung vial. Larutan uji dalam tabung vial dibiarkan mengering kemudian ditambahkan DMSO 1% sebanyak 3 tetes dan air laut 1 mL, setelah larut dimasukkan sebanyak 10 ekor larva *Artemia* kedalam tabung uji dan kontrol, lalu ditambahkan air laut hingga volumenya 5 mL, diletakkan dibawah penerangan selama 24 jam. Untuk konsentrasi 0 ppm (kontrol) dibuat dengan penambahan DMSO 3 tetes dan air laut 1 mL tanpa penambahan ekstrak [15].

Penetasan larva udang dilakukan dalam wadah aquarium berbentuk kotak dengan ukuran panjang 40 cm, lebar 20 cm dan tinggi 20 cm dibagi menjadi dua bagian yaitu ruang terang dan ruang gelap yang dibatasi dengan kaca. Bagian bawah kaca dilubangi dengan diameter 3 cm sebagai tempat keluarnya telur yang telah menetas dari tempat gelap ke terang. Sebanyak 5 L air laut dimasukkan ke dalam wadah aquarium hingga lubang pada kaca terendam. Kemudian ruang terang dalam wadah tersebut diberi penerangan dengan cahaya lampu pijar 5 W untuk menghangatkan suhu dalam wadah penetasan dan merangsang proses penetasan. Penerangan lampu dinyalakan selama 48 jam untuk menetas telur. Ruang gelap diisi 1 gram telur udang *Artemia*

kemudian ditutup sampai tidak terkena cahaya. Setelah 48 jam, telur akan menetas menjadi larva dan akan bergerak menuju ruang terang. Larva yang digunakan untuk hewan uji pada metode BSLT adalah larva yang sudah berumur 48 jam, aktif bergerak dan bersifat fototropik [16].

Pengamatan dilakukan dengan menghitung persentase kematian (mortalitas) larva pada tiap konsentrasi. Hasil perhitungan kematian diperoleh dari hasil perkalian rasio dengan 100% untuk tiap konsentrasi. Setelah itu, dibandingkan dengan kontrol dan dilakukan analisis sehingga didapatkan nilai LC50. Dengan menggunakan metode analisis probit manual, maka dapat diketahui nilai probit dengan mengkonversi nilai persen kematian larva pada tiap konsentrasi ke nilai probit.

Nilai probit dari tiap kelompok hewan uji ditentukan melalui tabel probit. Kemudian ditentukan log konsentrasi dan dibuat grafik dengan persamaan garis lurus hubungan antara nilai probit dengan log konsentrasi dengan rumus :

Metode analisis menggunakan Microsoft Excel dilakukan dengan membuat grafik persamaan garis lurus hubungan antara nilai probit dengan log konsentrasi. Nilai LC50 dihitung dari persamaan garis lurus tersebut dengan memasukkan nilai $y = 5$ (probit 50% kematian hewan uji) sehingga dihasilkan x sebagai nilai log konsentrasi. Antilog nilai x tersebut merupakan nilai LC50 [17].

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel kulit batang Sikkam diambil dengan berat bersih 10 Kg yang kemudian dipotong-potong dan dikeringkan. Sampel yang telah kering kemudian ditimbang dan diperoleh massa sampel sebanyak 4 Kg, sehingga kadar air yang terdapat di dalam sampel kulit batang Sikkam adalah 60 %. Pada proses ekstraksi, filtrat hasil maserasi yang diperoleh diepavorasi menggunakan Rotary Evaporator yang menghasilkan ekstrak etanol sebanyak 53,6 gram yang merupakan rendemen 6.7% dari 800 gram sampel.

Filtrat hasil fraksinasi memperoleh tiga fraksi yaitu fraksi n-Heksana (berwarna kuning-kehijauan), fraksi etil asetat (berwarna merah jingga) dan fraksi etanol (endapan berwarna

cokelat). Ketiga fraksi ini kemudian dirotary menggunakan rotary epavorator untuk mendapatkan ekstrak kental, massa dan untuk di uji aktivitas antioksidannya. Hasil dari masing-masing fraksi setelah dirotary yaitu fraksi n-Heksana 0.39 gram, fraksi etil asetat 2.14 gram dan fraksi etanol 7.24 gram. Fraksi etanol mengandung senyawa polar yaitu flavonoid, tanin dan saponin. Fraksi etil asetat mengandung senyawa semi polar yaitu terpenoid. Fraksi n-Heksana mengandung senyawa non-polar yaitu alkaloid.

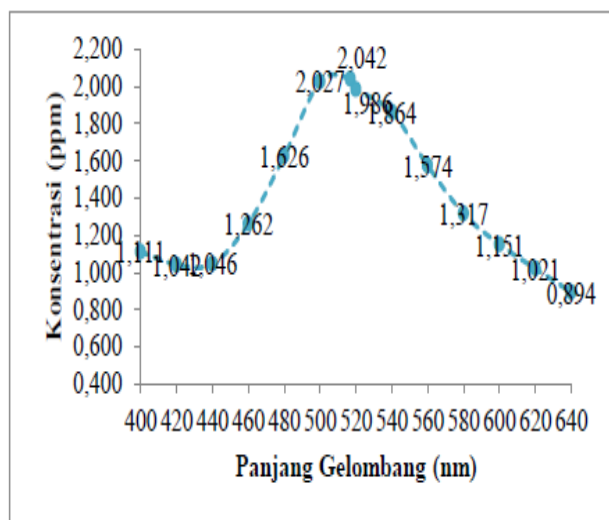
Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa kulit batang Sikkam mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan terpenoid yang dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Skrinning Fitokimia

Kandungan Kimia	Metode Pengujian	Uji Positif	Hasil
Alkaloid	Mayer	Endapan Putih	-
Tanin	FeCl ₃	Hijau	++
Saponin	Uji Forth	Berbusa	+++
Terpenoid	Plat KLT	Merah Jambu	√
Flavonoid	Bate Smith & Mertcalf	Merah Magenta	+
Steroid	Plat KLT	Ungu	-

Keterangan : (+) = sangat sedikit, (++) = sedikit, (+++) = sedang, (++++) = banyak

Pengujian antioksidan dimulai dengan penentuan panjang gelombang optimum. Larutan DPPH dengan konsentrasi 100 ppm diukur serapan optimumnya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 - 640 nm. Panjang gelombang optimum adalah panjang gelombang dimana sampel (DPPH) menunjukkan serapan maksimum (absorbansi paling besar). Hasil pengukuran menunjukkan absorbansi optimum DPPH berada pada panjang gelombang 517 nm, sehingga panjang gelombang ini digunakan untuk setiap pengukuran aktivitas antioksidan. Spektra penentuan panjang gelombang DPPH dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Panjang Gelombang Optimum DPPH

Hasil pengukuran nilai absorbansi dan hasil perhitungan % inhibisi ekstrak kasar, fraksi etanol, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksana memperoleh data sebagai berikut:

Tabel 2. Nilai Absorbansi Dan % Inhibisi

sebagai berikut:

Tabel 2. Nilai Absorbansi dan % Inhibisi

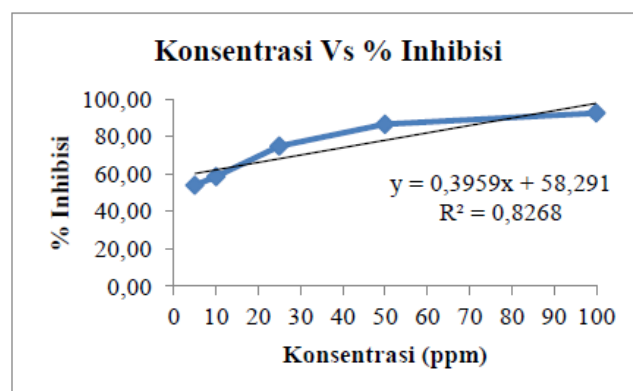
Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi		% Inhibisi $\left(\frac{A_b - A_s}{A_b}\right) \times 100\%$
		Sampel	Kontrol	
Ekstrak Kasar	5	0.337	0.732	53.96
	10	0.303	0.732	58.61
	25	0.184	0.732	74.86
	50	0.098	0.732	86.61
	100	0.054	0.732	92.62
Etanol	5	0.618	0.732	15.57
	10	0.505	0.732	31.01
	25	0.377	0.732	48.50
	50	0.213	0.732	70.90
	100	0.071	0.732	90.30
Etil Asetat	5	0.711	0.732	2.87
	10	0.703	0.732	3.96
	25	0.602	0.732	17.76
	50	0.519	0.732	29.10
	100	0.293	0.732	59.97
n-Heksana	5	0.619	0.732	15.44
	10	0.537	0.732	26.64
	25	0.374	0.732	48.91
	50	0.217	0.732	70.36
	100	0.112	0.732	84.70

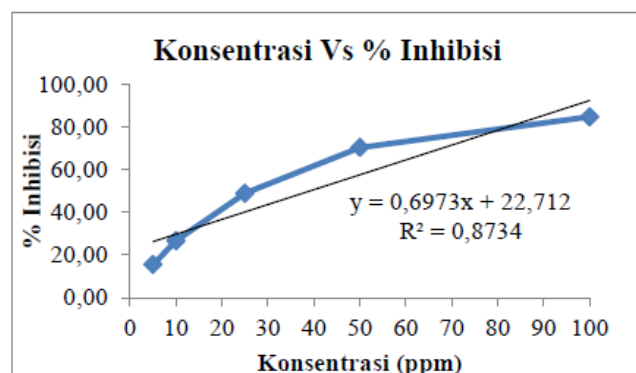
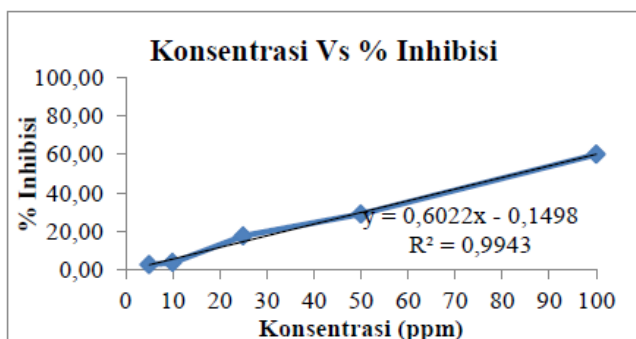
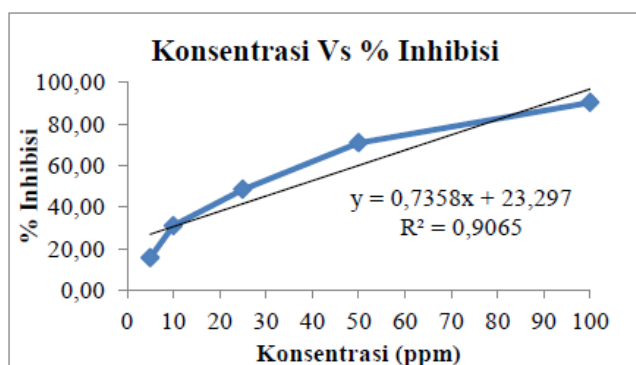
Data pada tabel diatas menunjukkan semakin besar konsentrasi sampel maka nilai absorbansi semakin kecil. Hasil ini menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi sampel maka semakin banyak radikal DPPH yang diikat sehingga senyawa DPPH yang bebas semakin sedikit untuk menyerap cahaya. Reaksi pengikatan/penetralkan radikal DPPH ditunjukkan dengan terjadinya perubahan warna dalam tabung reaksi yaitu dari warna ungu menjadi warna kuning. Perubahan warna yang terjadi secara signifikan terlihat di tabung reaksi sampel etanol dan ekstrak kasar pada konsentrasi 100 ppm.

Data % inhibisi diperoleh dari perhitungan nilai absorbansi. Semakin besar konsentrasi sampel maka semakin kecil nilai absorbansi radikal DPPH dan nilai % inhibisi semakin besar, sehingga dapat disimpulkan bahwa konsentrasi sampel berbanding lurus dengan % inhibisi, dimana semakin besar konsentrasi sampel maka semakin besar % inhibisinya.

Dari Tabel 2, dapat dihasilkan grafik hubungan antara konsentrasi sampel dengan % inhibisi yang akan menghasilkan persamaan regresi. Persamaan regresi digunakan untuk mencari nilai konsentrasi penghambat aktivitas radikal bebas sebanyak 50% (IC50). Secara spesifik suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC50 kurang dari 50 ppm ($IC_{50} < 50$ ppm), kuat (50 ppm $< IC_{50} < 100$ ppm), sedang (100 ppm $< IC_{50} < 150$ ppm), lemah (150 ppm $< IC_{50} < 200$ ppm) dan sangat lemah ($IC_{50} > 200$ ppm) [18].

Hasil dari hubungan antara konsentrasi sampel dan persentase penghambat aktivitas radikal bebas (% Inhibisi) dapat dilihat pada gambar dibawah ini :





Hasil perhitungan nilai IC_{50} yang diperoleh dari persamaan regresi pada ekstrak kasar dan masing-masing fraksi dapat dilihat pada Tabel 3.

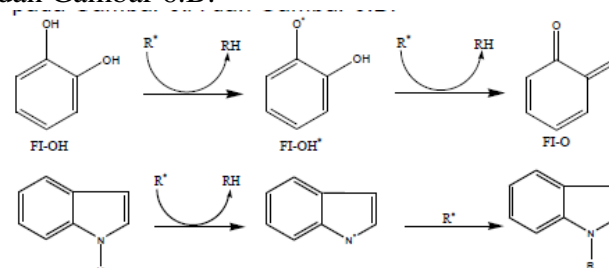
Tabel 3. Nilai IC_{50} Ekstrak Kulit Batang Sikkam

Sampel	Persamaan Regresi	IC_{50} (ppm)
Ekstrak Kasar	$y = 0,3959x + 58,291$ $R^2 = 0,8268$	20,94
Fraksi Etanol	$y = 0,7358x + 23,297$ $R^2 = 0,9065$	36,29
Fraksi Etil Setat	$y = 0,6022x - 0,1498$ $R^2 = 0,9943$	83,28
Fraksi n-Heksana	$y = 0,6973x + 22,712$ $R^2 = 0,8734$	39,13

Dari Tabel 3 terlihat bahwa nilai IC_{50} ekstrak kasar, fraksi etanol dan fraksi n-heksana < 50 ppm yaitu 20,94 ppm, 36,29 ppm dan 39,13 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak kasar, fraksi etanol dan fraksi n-heksana memiliki daya antioksidan yang sangat kuat. Fraksi etil asetat memiliki nilai IC_{50} 50 ppm < IC_{50} < 100 ppm yaitu 83,28 ppm sehingga fraksi etil asetat

termasuk ke dalam antioksidan yang kuat. Ekstrak kasar memiliki nilai IC_{50} yang sangat kecil dan merupakan antioksidan yang sangat kuat dibandingkan dengan fraksi-fraksinya. Hasil ini terjadi karena ekstrak kasar masih mengandung seluruh komponen metabolit sekunder sehingga reaksi penetralan terhadap radikal bebas lebih besar dari fraksi-fraksinya.

Hasil uji antioksidan menunjukkan bahwa ekstrak kasar dan ketiga fraksi aktif sebagai antioksidan dan memiliki daya hambat yang efektif. Senyawa metabolit sekunder yang sering digunakan sebagai zat antioksidan adalah flavonoid, alkaloid dan tanin. Senyawa flavonoid memiliki kemampuan sebagai antioksidan dengan mentransfer sebuah elektron ke senyawa radikal bebas, sehingga flavonoid dapat menghambat peroksidasi lipid dan menekan kerusakan jaringan oleh radikal bebas. Mekanisme reaksi penghambatan radikal bebas yang dilakukan oleh senyawa metabolit sekunder adalah sama, yaitu dengan mentransfer elektron ke senyawa radikal bebas, seperti pada Gambar 6.A dan Gambar 6.B:



Ekstrak dari sampel dilihat toksisitasnya dalam mematikan larva udang yang telah diberi perlakuan dengan konsentrasi 10, 100 dan 1000 ppm serta 0 ppm (kontrol) dengan 5 (lima) kali pengulangan. Keadaan lingkungan pada setiap tabung uji dan tabung kontrol dibuat sama seperti pada waktu penetasan telur larva dengan cara tetap memberikan aerasi pada setiap tabung agar kematian larva bukan disebabkan oleh daya tahan yang sudah menurun terhadap faktor-faktor luar akan tetapi disebabkan oleh sifat toksik dari ekstrak yang digunakan. Jumlah total larva yang digunakan adalah 180 ekor. Larva yang digunakan berumur 48 jam, karena pada umur ini anggota tubuh larva sudah lengkap dibandingkan pada saat larva itu menetas. Berdasarkan hasil penelitian uji sitotoksik menggunakan ekstrak kulit batang Sikkam diperoleh hasil seperti pada Tabel 4. yaitu :

Tabel 4. Hasil Uji Toksisitas dengan Metode BSLT

Tabung Vial	Angka Kematian Larva <i>Artemia salina</i> Leach dari 10 Larva / Tabung Uji			Kontrol
	Konsentrasi Ekstrak Uji Kulit Batang Sikkam (ppm)			
	1000	100	10	
S ₀	10	6	2	0
P1	10	6	1	0
P2	10	5	1	0
P3	10	6	1	0
P4	10	6	1	0
P5	10	6	1	0
Jumlah Total Kematian	60	35	7	0
% Kematian	100	58.33	11.67	0
% Kematian ± SD	100±0	58,33±0.408	11.67±0.408	0±0
Probit	7.37	5.2	3.82	0

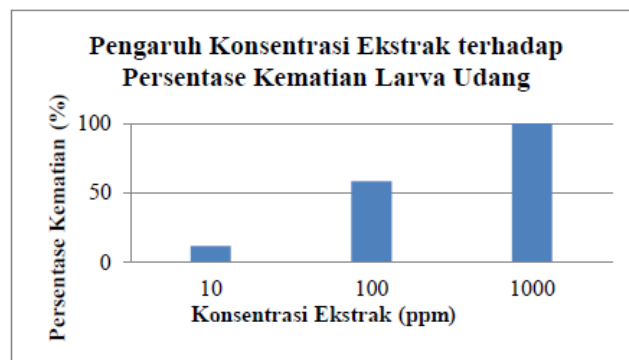
P=Pengulangan, SD=Standar Deviasi

Tabung vial	Angka Kematian Larva Udang <i>Artemia salina</i> Leach dari 10 larva			Kontrol
	Konsentrasi Ekstrak Uji Daun <i>Pandanus odorifer</i> (ppm)			
	10	100	1000	
P1	7	9	10	0
P2	7	8	10	0
P3	6	9	10	0
Jumlah total mati	20	26	30	0
Rata-rata kematian	6,667	8,667	10	0
% Kematian ± SD	66,67 ± 0,5773	86,67 ± 0,5773	100± 0	0
Probit	5,44	6,13	7,37	-

P = Pengulangan SD = Standar Deviasi

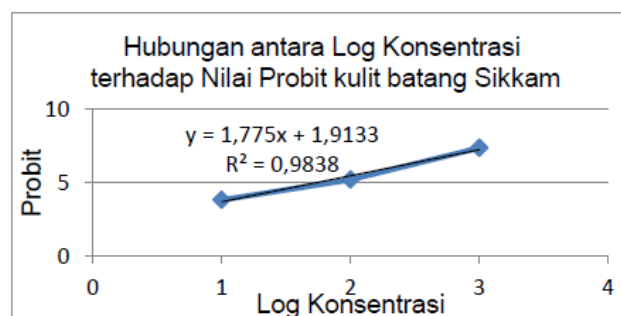
Hasil uji menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak dalam media dapat membunuh larva. Tabung uji 1000 ppm mulai menunjukkan mortalitas pada jam ke-4 dan di jam ke-6 semua larva pada setiap pengulangan mengalami kematian. Tabung 100 ppm mulai menunjukkan mortalitas pada jam ke-13 dan pada tabung 10 ppm tidak diketahui pada jam ke berapa mulai menunjukkan mortalitas. Kematian larva pada setiap jam tidak menunjukkan suatu nilai yang tetap. Dari tabel diatas diketahui bahwa variasi konsentrasi ekstrak kulit batang sikkam memperlihatkan pengaruh yang berbeda terhadap kematian larva *Artemia*. Respon kematian lebih cepat terjadi pada konsentrasi 1000 ppm dan memberikan nilai kematian yang paling besar yaitu 100%. Hasil ini menunjukkan bahwa semakin besar nilai konsentrasi ekstrak, maka mortalitas pada *Artemia salina* Leach semakin besar. Pada larutan kontrol, tidak terdapat kematian larva karena larutan ini

hanya mengandung DMSO dan air laut yang merupakan habitat *Artemia salina* Leach.



Pada Gambar 8. sampel kulit batang Sikkam yang sangat toksik terdapat pada konsentrasi 1000 ppm dengan persentase kematian 100% dibandingkan dengan 100 ppm dan 10 ppm yang hanya memiliki persentase kematian sebesar 58.33% dan 11.67%. Hasil ini sesuai dengan teori, bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin banyak jumlah larva yang mati, dikarenakan metabolit sekunder yang ada pada konsentrasi 1000 ppm lebih banyak dibandingkan dengan 100 ppm dan 10 ppm.

Aktivitas sititoksik ekstrak kulit batang Sikkam terhadap larva *Artemia salina* Leach ditentukan dari harga LC50 yang artinya konsentrasi ekstrak yang mengakibatkan kematian sebanyak 50% dari populasi *Artemia salina* Leach. Metode untuk menentukan harga LC50 dengan menggunakan analisis probit terhadap log konsentrasi yang kemudian diplotkan dengan menggunakan persamaan regresi linear menggunakan analisis Ms. Excel seperti Gambar 9.

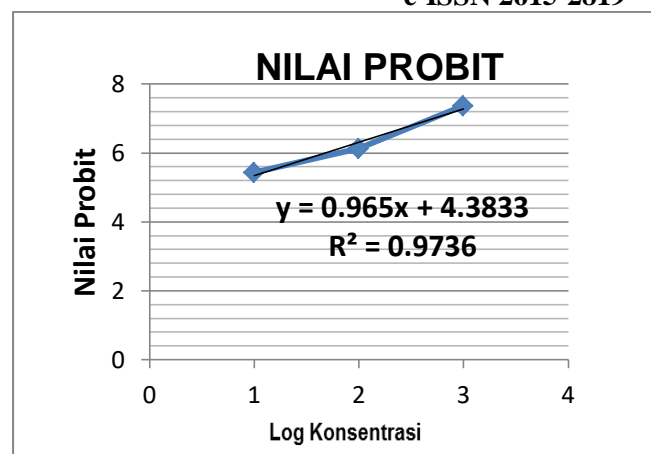


Hasil dari grafik regresi linear pada Gambar 9 akan mendapatkan persamaan garis lurus $y = mx + C$ dengan y adalah 5. Persamaan garis yang didapatkan yaitu $y = 1.775x + 1.9133$, sehingga $m = 1.775$ dan $C = 1.913$. Setelah dimasukkan kedalam persamaan $y = mx + C$ dengan y bernilai 5 maka didapatkan nilai x sebesar $x = 1.739$.

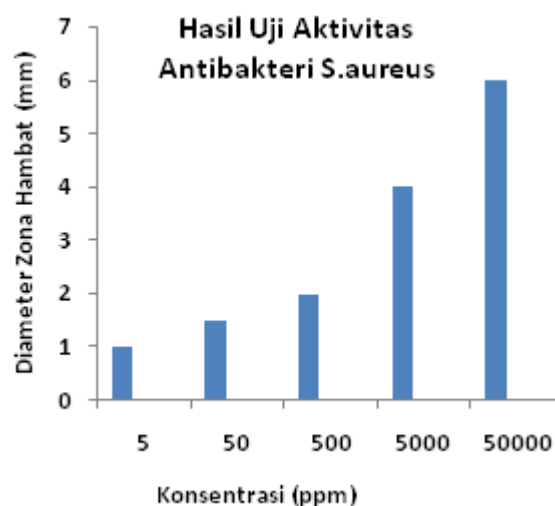
Untuk mendapatkan nilai LC₅₀ maka nilai x yang telah didapatkan di anti log kan sehingga nilai LC₅₀ dari ekstrak kulit batang Sikkam sebesar 54.827 ppm. Suatu ekstrak menunjukkan aktivitas ketoksikan dalam uji toksisitas jika dapat menyebabkan kematian 50% hewan uji pada konsentrasi <1000 ppm [12]. Berdasarkan pernyataan tersebut maka ekstrak kasar dari kulit batang sikkam bersifat toksik.

Pada penelitian ini didapatkan bahwa ekstrak kulit batang sikkam mempunyai potensi toksisitas. Hasil tersebut berkaitan dengan senyawa yang terdapat dalam kulit batang sikkam yaitu alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan terpenoid, dimana pada kadar tertentu memiliki potensi toksisitas serta dapat menyebabkan kematian pada larva. Berdasarkan hasil skrining fitokimia dan fraksinasi yang telah dilakukan, ekstrak kulit batang sikkam paling banyak mengandung flavonoid, tanin dan saponin yang bersifat polar. Mekanisme kematian larva berhubungan dengan fungsi senyawa fenolik, flavonoid dan tanin yang dapat menghambat daya makan larva (antifedant) [20]. Cara kerja senyawa-senyawa tersebut adalah dengan bertindak sebagai *stomach poisoning* atau racun perut. Oleh karena itu, bila senyawa-senyawa ini masuk ke dalam tubuh larva, alat pencernaannya akan terganggu. Selain itu, senyawa ini menghambat reseptor senyawa pada daerah mulut larva. Hal ini mengakibatkan larva gagal mendapatkan stimulus rasa sehingga tidak mampu mengenali makanannya yang menyebabkan larva memakan semua zat yang ada pada botol uji [21].

Tabung vial	Angka Kematian Larva Udang <i>Artemia salina</i> Leach dari 10 larva			Kontrol
	Konsentrasi Ekstrak Uji Daun <i>Pandanus odorifer</i> (ppm)			
	10	100	1000	
P1	7	9	10	0
P2	7	8	10	0
P3	6	9	10	0
Jumlah total mati	20	26	30	0
Rata-rata kematian	6,667	8,667	10	0
% Kematian ± SD	66,67 ± 0,5773	86,67 ± 0,5773	100 ± 0	0
Probit	5,44	6,13	7,37	-



Gambar 1. Grafik Nilai Probit *Artemia salina*. Leach terhadap Log konsentrasi ekstrak etanol *Pandanus odorifer*



Gambar 2. Hasil Diameter Zona Hambat Antibakteri VS Konsentrasi (ppm) selama 2x24 jam

SIMPULAN

Hasil uji fitokimia terhadap kulit batang Sikkam memperoleh adanya kandungan alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan terpenoid dengan hasil terbanyak pada senyawa tanin.

Hasil uji aktivitas antioksidan memperoleh nilai IC₅₀ pada ekstrak kasar sebesar 20.94 ppm, fraksi etanol 36.29 ppm, fraksi etil asetat 83.28 ppm dan fraksi n-Heksana 39.13 ppm yang menunjukkan bahwa ekstrak kasar, fraksi etanol, fraksi n-Heksana dikategorikan sebagai antioksidan sangat kuat dan fraksi etil asetat dikategorikan sebagai antioksidan kuat.

Hasil uji sitotoksik dengan menggunakan ekstrak kasar kulit batang Sikkam memperoleh nilai LC₅₀ sebesar 54.827 ppm yang menunjukkan bahwa ekstrak kulit batang Sikkam bersifat toksik sehingga berpotensi sebagai agen antikanker.

SARAN

Uji profil fitokimia sebaiknya dilakukan pada ekstrak kasar agar kadar dari kandungan tiap senyawa metabolit sekunder dalam sampel dapat diketahui dengan pasti. Untuk mendapatkan hasil fraksinasi yang lebih akurat sebaiknya menggunakan metode yang lain seperti Kromatografi Vakum Cair.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Parthasarathy,S., R. Jayaraman., N. Palani and P.Kuppusami. Botanicals Ineco-Friendly Post Harvest Diseasemanagement. *Innovative Farming*, 2016 : 1(3): 67-71
- [2] Sukandar, D.,N. Radiastuti., I. Jayanegara, dan A. Hudaya. Karakterisasi Senyawa Aktif Antibakteri Ekstrak Air Bunga Kecombrang (*Etlingera Elatior*) Sebagai Bahan Pangan Fungsional. *Jurnal valensi*. 2010: 2(1) : 333-339
- [3] Andriani, Y, N. M. Ramli, D.Syamsumira. M. Kassima, J.Jaafara, N. Aziza, L.Marlinaa, N.S Musaa, H.Mohamad. Phytochemical analysis, antioxidant, antibacterial and cytotoxicity properties of keys and cores part of Pandanus tectorius fruits. *Arabian Journal of Chemistry*.2015:11(3):1-10
- [4] Sangi, M., M. R. J. Runtuwene., H. E. I. Simbala dan V. M. A. Makang. Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat Di Kabupaten Minahasa Utara. *Chemistry Progress*. 2008:1(1):47-53
- [5] Ratnawati, D. Preliminary Test of Determination of Alkaloid and Steroid Compounds and Bioassay on Some Vegetable Plant Extract. *Jurnal Gradien*. 2011 : 7 (2) : 692-696
- [6] Alen, Y., Fitria L. A., Yori Y. Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak Rebung *Schizostachyum brachycladum Kurz (Kurz)* pada Mencit Putih Jantan (Thin layer chromatography (TLC)). *Jurnal Sains Farmasi dan Klinis*. 2017 : 3(2) : 146-152
- [7] Fahrnunida dan Rarastoeti, P. Kandungan Saponin Buah, Daun dan Tangkai Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*).*Jurnal Ilmiah Sains*. 2015 : 1(1) : 220-224
- [8] Marlinda, M., M.S. Sangi, A.D Wuntu. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Biji Buah Alpukat (*Persea americana Mill.*)*Jurnal Mipa Unsrat Online*. 2012 : 1 (1) : 24-28
- [9] Yulia, Mega., D.V Rosi. Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol dari Variasi Teh Daun Sirsak (*Annora muricata linn*) Terhadap Larva Udang (*Artemia salina* Leach). *Jurnal Permata Indonesia*, 2014 : 5(2):1-7
- [10] Yusriana, C.S., Budi, dan T, Dewi. Uji Daya Hambat Infusa Daun Nangka (*Artocarpus Heterophyllus*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal pertama Indonesia*, 2014 : 5(2):1-7
- [11] Angelina, M., M.Turnip., S. Khotimah. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocinum sanctum L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakter *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Protobiont*. 2015 : 4(1):184-189
- [12] Sarfina, J., Nurhamidah., D, Handayani. Uji Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Daun *Ricinus Communis L*(Jarak Kepyar). *Jurnal Pendidikan Ilmu Kimia*. 2017 : 1(1):66-70
- [13] Vitalia, N., Ahmad Najib, A.R. Ahmad. Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pletekan (*Ruellia tuberosa L.*) Dengan Menggunakan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 2016 : 1 (3) : 124-129
- [14] Asmiyarti, N.I., Muhamad A.W. Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH dan Uji *Steud*). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 2014 : 3 (4) :48-62
- [15] Afriani, N., Nora, I., Dan Andi, H.I. Uji Toksisitas Ekstrak Akar Mentawa (*Artocarpus anisophyllus*) Terhadap Larva *Artemia salina* Leach. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. 2016 : 5(1) : 58-64
- [16] Haryati,N.A., Chairul,S., Erwin. Uji Toksisitas Dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Merah Tanaman Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium Walp.*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia Mulawarman* .2015 :13 (1) : 35-40