Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Buah, Daun, Batang dan Rimpang Tanaman *Wualae* (*Etlingera elatior* (Jack) R.M. Smith)

Mesi Leorita, Sandra Aulia Mardikasari, Wahyuni, Muhammad Hajrul Malaka, Ari Sartinah, Sahidin*

Fakultas Farmasi Universitas Halu Oleo, Kampus Hijau Bumi Tridharma Anduonohu Kendari 93232

E-mail: sahidin02@uho.ac.id

Abstrak

Wualae (*Etlingera elatior* (Jack) R.M Smith) merupakan salah satu jenis tanaman dari famili *zingiberaceae* yang digunakan masyarakat Suku Tolaki di Provinsi Sulawesi Tenggara sebagai bumbu masak dan obat secara empiris. *Wualae* diduga memiliki potensi antioksidan karena mengandung flavonoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi antioksidan ekstrak etanol buah, daun, batang dan rimpang *wualae* terhadap radikal bebas 1,1-difenil-2-pikrihidrazil (DPPH) dan toksisitas akut terhadap larva *Artemia salina* Leach menggunakan metode BSLT. Ekstrak diperoleh dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% selama 3x24 jam dan dipekatkan pada suhu 60°C. Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol buah, daun, batang dan rimpang *Wualae*, diperoleh hasil bahwa semua bagian tanaman *Wualae* memiliki potensi sebagai antioksidan dengan afektifitas masuk dalam katagori kuat. Nilai IC₅₀ yang paling baik terdapat pada bagian batang (52,345 mg/L), selanjutnya pada rimpang (58,638 mg/L), pada buah 72,518 mg/L dan pada daun 99,890 mg/L. Hasil uji toksisitas akut menunjukkan bahwa buah, daun, batang dan rimpang *Wualae* bersifat sedikit toksik (*slightly toxic*) dengan nilai LC₅₀ masing-masing sebesar 1302.31 µg/mL, 1162.84 µg/mL, 1174.52 µg/mL dan 1074.72 µg/mL.

Kata kunci: *wualae*, *Etlingera*, antioksidan, toksisitas, obat tradisional, Sulawesi Tenggara

1. Pendahuluan

Peningkatan prevalensi penyakit degeneratif di Indonesia cukup pesat, yang terdiri dari jantung koroner, gagal jantung, stroke, gagal ginjal kronis, dan diabetes militus [1]. Salah satu pemicu terjadinya penyakit degeneratif adalah radikal bebas yang disebabkan oleh atom atau molekul yang bersifat reaktif. Molekul radikal dengan kereaktifan yang tinggi dapat menyebabkan sebuah reaksi sehingga membentuk senyawa abnormal dan memulai reaksi berantai yang dapat merusak sel-sel penting dalam tubuh [2].

Reaksi radikal bebas dapat diatasi dengan penggunaan antioksidan yang melindungi sel dari kerusakan dengan cara menetralkan molekul radikal bebas [3]. Saat ini perhatian terhadap antioksidan alami dan pemanfaatannya dalam menjaga kesehatan semakin tinggi. Tanaman merupakan sumber antioksidan alami yang sangat potensial. Antioksidan alami terdapat pada seluruh bagian tanaman berupa karotenoid, vitamin, flavonoid, dan fenol [4]. Tanaman *Wualae* atau dalam bahasa Indonesia disebut dengan kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R.M Smith) merupakan salah satu jenis tanaman dari famili *zingiberaceae* yang digunakan masyarakat Suku Tolaki di Provinsi Sulawesi Tenggara sebagai bumbu masak dan obat secara empiris. Hasil penelitian Maimulyanti & Prihadi (2015) diketahui bunga *wualae* (kecombrang) mengandung senyawa tanin, flavonoid, saponin dan steroid, serta hasil

uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menunjukkan bahwa ekstrak metanol dan etilasetat bunga *Wualae* memiliki nilai IC₅₀ berturut-turut 21,14 dan 68,24 µg/ml [5]. Penelitian pada semua bagian tanaman *Wualae* yang tumbuh di Sulawesi Tenggara sebagai antioksidan belum pernah dilakukan.

Bentuk pertanggungjawaban ilmiah penggunaan tanaman sebagai obat, selain dilakukan uji aktivitas perlu dilakukan juga uji toksisitas. Uji toksisitas sangat penting dilakukan sebagai langkah awal parameter keamanan obat sebelum menjadi produk obat yang dapat digunakan pada manusia. Hal ini dikarenakan setiap bahan obat memiliki potensi bersifat toksik tergantung takarannya dalam tubuh.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan terhadap radikal bebas DPPH dan toksisitas akut terhadap larva udang (*Artemia salina* Leach) menggunakan metode BSLT dari ekstrak etanol buah, daun, batang dan rimpang *Wualae* (*Etlingera elatior* (Jack) R.M Smith).

2. Metode

2.1 Preparasi dan Ekstraksi

Sampel (buah, daun, batang, dan rimpang *wualae*) masing-masing dibersihkan, dicuci setelah itu dipotong-

potong kecil secara terpisah. Tiap sampel dikeringkan kemudian dihaluskan menggunakan pencacah elektrik. Tiap serbuk sampel dimaserasi menggunakan pelarut etanol selama 3×24 jam. Filtrat dari tiap sampel yang diperoleh dipekatkan menggunakan evaporator hingga diperoleh ekstrak kental.

2.2 Identifikasi dan karakterisasi ekstrak

Identifikasi senyawa yang terkandung di dalam ekstrak daun, bunga, batang dan rimpang *Wualae* menggunakan skrining fitokimia, yang terdiri atas pemeriksaan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan steroid. Karakterisasi ekstrak meliputi penetapan kadar air, kadar abu, kadar sari larut etanol dan kadar sari larut air.

2.3 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan nilai *Inhibitor Concentration* 50 (IC₅₀) dari masing masing sampel. Sampel direaksikan dengan larutan DPPH kemudian diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm.

2.4 Uji Sitotoksik Akut

Uji sitotoksik akut dilakukan terhadap larva udang *Artemia salina* Leach yang berumur 48 jam dengan metode BSLT. Larutan ekstrak etanol buah, daun, batang dan rimpang *Wualae* masing-masing dibuat menjadi 5 konsentrasi, yaitu konsentrasi 500 ppm, 250 ppm, 125 ppm, 62,5 ppm dan 31,25 ppm. Kontrol negatif menggunakan campuran etanol, DMSO, dan air laut. Dilakukan replikasi tiga kali dengan jumlah total larva udang dalam tiap konsentrasi sebanyak 180 ekor. Pengujian dilakukan selama dua puluh empat jam, kemudian dihitung nilai LC₅₀.

3. Hasil dan Pembahasan

Gambar 1. Tanaman *wualae* (a); buah *wualae* (b); daun (c); batang (d); dan rimpang (e)

Sampel yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari Kelurahan Sambeani, Kecamatan Abuki, Kabupaten Konawe Selatan Provinsi Sulawesi Tenggara Masing masing bagian tanaman dibuat serbuk simplisia, dimaserasi lalu dipekatkan sehingga menjadi ekstrak kental. Diperoleh nilai rendemen buah sebesar 5,1%, nilai rendemen daun 4,4%, nilai rendemen rimpang 3,5% dan nilai rendemen batang 1,5%. Tujuan dari perhitungan nilai rendemen adalah untuk mengetahui persentase perolehan hasil ekstraksi sehingga nantinya dapat diketahui jumlah simplisia yang dibutuhkan untuk membuat sejumlah ekstrak kental yang dibutuhkan.

Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak kental daun, buah, rimpang dan akar tanaman *Wualae* mengandung flavonoid (Tabel 1). Flavonoid merupakan senyawa polifenol mempunyai kemampuan untuk menyumbangkan atom hidrogen kepada senyawa radikal bebas [6]. Hal ini memperkuat dugaan semua bagian tanaman *Wualae* memiliki potensi sebagai antioksidan.

Tabel 1. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol bagian tanaman *wualae*

Sampel	Metabolit sekunder				
	Alkaloid	Flavonoid	Tanin	Saponin	Triterpenoid
Buah	+	+	+	-	+
Daun	+	+	+	+	-
Batang	+	+	+	+	-
Rimpang	+	+	+	+	+

Keterangan: (+) mengandung senyawa yang diuji; (-) tidak mengandung senyawa yang diuji

Semua ekstrak kental dari bagian tanaman *Wualae* memenuhi syarat karakteristik non spesifik, yaitu memiliki kadar air <10% dan kadar abu <7% Kadar air yang rendah membuat kapang dan jamur tidak mudah tumbuh, serta kadar abu berada di bawah ambang batas berarti ekstrak tidak tercemar logam.

Tabel 1. Hasil karakterisasi ekstrak etanol bagian tanaman *wualae*

Jenis Karakterisasi	Hasil			
	Daun	Batang	Rimpang	Buah
Organoleptis				
Bentuk	Kental	Kental	Kental	Kental
Warna	Hijau	Hijau	Coklat	Merah Tua
Bau	Khas	Khas	Khas	Khas
Kadar Air	9,33 %	5,57 %	1,87 %	5,26 %
Kadar Abu	0,25 %	0,41 %	3,15 %	6,28 %
Kadar Sari Larut Etanol	47,23 %	48,78 %	40,65 %	61,07 %
Kadar Sari Larut Air	23,68 %	23,19 %	36,62 %	41,65 %

Uji aktivitas antioksidan rimpang, batang, daun, buah *Wualae* dilakukan secara in vitro dengan metode kuantitatif menggunakan DPPH sebagai radikal bebas. Vitamin C (asam askorbat) dipilih sebagai pembanding, dikarenakan vitamin C termasuk obat bebas, memiliki harga yang murah, terjangkau oleh masyarakat, dan memiliki khasiat antioksidan yang kuat.

Prinsip pengukuran aktivitas antioksidan berdasarkan adanya perubahan intensitas warna ungu larutan DPPH menjadi warna kuning. Perubahan intensitas warna ini disebabkan adanya peredaman radikal bebas, yakni

elektron tidak berpasangan pada molekul DPPH menjadi berpasangan dengan atom hidrogen yang dilepaskan oleh molekul senyawa sampel sehingga terbentuk senyawa difenil pikrilhidrazil yang menyebabkan terjadinya perubahan warna DPPH. Perubahan warna ini akan memberikan perubahan absorbansi pada panjang gelombang maksimum DPPH menggunakan spektrofotometri UV-Vis sehingga diketahui nilai aktivitas peredaman radikal bebas yang dinyatakan dengan nilai *Inhibitory Concentration* (IC₅₀) [7]. Pada penelitian ini pengukuran dilakukan dengan panjang gelombang 517 nm, karena panjang gelombang ini merupakan panjang gelombang maksimum yang memberikan serapan kuat.

Hasil uji antioksidan pada semua bagian tanaman *Wualae* menunjukkan bahwa peredaman radikal DPPH meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi larutan, yang ditandai dengan semakin besarnya nilai persen penghambatan. Nilai hasil uji antioksidan dapat dilihat pada Tabel 3. Berdasarkan katagori Blois [8], aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol setiap bagian tanaman *Wualae* termasuk katagori kuat dengan nilai IC₅₀ terbaik pada batang sebesar 52,345 mg/L, lalu rimpang dengan IC₅₀ 58,638 mg/L, selanjutnya IC₅₀ buah 72,518 mg/L, dan IC₅₀ pada daun 99,890 mg/L. Aktivitas antioksidan setiap bagian tanaman *Wualae* masih lebih rendah dibandingkan dengan vitamin C yang memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 3,787 mg/L.

Tabel 3. Aktifitas antioksidan bagian tanaman *wualae* dan vitamin C

No.	Sampel	Persamaan Grafik*	Nilai IC ₅₀ (mg/L)
1.	Buah	$y = 0,166x + 37,96$ $R^2 = 0,998$	72,518
2	Daun	$y = 0,264x + 23,57$ $R^2 = 0,981$	99,890
3	Batang	$y = 0,185x + 40,31$ $R^2 = 0,982$	52,345
4	Rimpang	$y = 0,168x + 40,09$ $R^2 = 0,995$	58,638
5	Vitamin C	$y = 3,405x + 37,10$ $R^2 = 0,986$	3,787

Tanda * adalah persamaan regresi linear yang diperoleh dari grafik konsentrasi sampel (x) dan persen penghambatan (y).

Uji toksisitas akut pada tiap bagian tanaman *Wualae* menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Larva *artemia salina* yang digunakan adalah yang berumur 48 jam. Hal ini disebabkan setelah berumur 48 jam, larva udang *artemia salina* sudah dapat mencerna makanan karena mulut dan saluran pencernaannya telah terbentuk sempurna, serta ketahanan tubuhnya telah meningkat [9]. Data penelitian sitotoksis akut dianalisis probit menggunakan aplikasi *MiniTab 17 for Windows* dan hasilnya dapat dilihat pada Tabel 4.

Setelah dilakukan uji toksisitas akut, diperoleh hasil terjadi kematian larva *Artemia salina* Leach setelah diberikan ekstrak etanol buah, daun, batang, dan rimpang *Wualae*, sedangkan pada kontrol negatif tidak terjadi kematian larva *Artemia salina* Leach, hal ini menunjukkan bahwa penggunaan DMSO sebagai pelarut tidak toksik sehingga tidak mempengaruhi nilai LC₅₀ ekstrak etanol masing masing bagian tanaman *Wualae*.

Tabel 3. Nilai LC₅₀ Bagian Tanaman *Wualae*

No	Sampel	Konsentrasi (µg/mL)	% Mortalitas	LC ₅₀ (µg/mL)
1.	Buah	500 ppm	30	1302.31
		250 ppm	26,6	
		125 ppm	23,3	
		62,5 ppm	16,6	
		31,25 ppm	6,6	
2.	Daun	500 ppm	30	1162.84
		250 ppm	26,6	
		125 ppm	23,3	
		62,5 ppm	16,6	
		31,25 ppm	6,6	
3.	Batang	500 ppm	30	1174.52
		250 ppm	26,6	
		125 ppm	23,3	
		62,5 ppm	16,6	
		31,25 ppm	6,6	
4.	Rimpang	500 ppm	36,6	1074.72
		250 ppm	26,6	
		125 ppm	23,3	
		62,5 ppm	26,6	
		31,25 ppm	13,3	
5.	Kontrol negatif	0	0	0

Nilai LC₅₀ ekstrak buah, daun, batang dan rimpang *Wualae* >1000 µg/mL, sehingga menurut katagori toksisitas *Hinwood* [10] masuk katagori sedikit toksik (*slightly toxic*). Semua bagian tanaman *Wualae* dapat dijadikan alternatif bahan baku obat herbal yang berkhasiat antioksidan karena daun, buah, batang dan rimpang *Wualae* memiliki aktivitas sebagai antioksidan kuat, serta nilai IC₅₀ lebih kecil dari nilai LC₅₀ (<10%).

4. Kesimpulan

Semua bagian tanaman *Wualae* memiliki aktivitas antioksidan yang kuat. Efektifitas antioksidan yang paling baik terdapat pada bagian batang Nilai IC₅₀ (52,345 mg/L), selanjutnya pada rimpang (58,638 mg/L), pada buah 72,518 mg/L dan pada daun 99,890 mg/L, dan semua ekstrak tergolong dalam kategori sedikit toksik (*slightly toxic*)

Ucapan Terima Kasih

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi RI melalui pendanaan Penelitian Dasar Unggulan Perguruan Tinggi 2017.

Daftar Pustaka

1. Handajani A, Roosiermiatie B, Maryani H. Faktor-Faktor yang Berhubungan Dengan Pola Kematian pada Penyakit Degeneratif di Indonesia, *Buletin Penelitian Kesehatan*, 2010, **13** (1);42-53
2. Badarinath A, Rao K, Chetty CS, Ramkanth S, Rajan T, Gnanaprakash K., 2010, A Review on In-vitro Antioxidant Methods: Comparisons, Correlations, and Considerations. *International Journal of Pharm Tech Research*, 1276-1285.
3. Ayoola GA, Folawewo AD, Adesegun SA, Abioro OO, Adepoju-Bello AA, Coker HAB. Phytochemical and antioxidant screening of some plants of Apocynaceae from South West Nigeria, *African Journal of Plant Science*, 2008, **2**(9);124-128.
4. Mandal S, Yadav S, Nema R. Antioxidants: a review. *J of Chem and Pharm Res*, 2009, **1**(1);102-104.
5. Maimulyanti A, Prihadi, AR. Chemical composition, phytochemical and antioxidant activity from extract of Etlingera elatior flower from Indonesia, *J of Pharmacog and Phytochem*, 2015, **3**(6);233-238.
6. Pietta PG. Flavonoids as Antioxidants, *J.Nat. Prod.*, 2000, **63**(7);1035-42
7. Molyneux P. The Use of The Stable Free Radical Diphenyl Picrylhydrazil (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanarin J. Sci.Techonol.*, 2004, **26**(2);211-219.
8. Blois MS. 1958. Antioxidant Determinations By The Use of a Stable Free Radical. *Nature*, 1958, **18**(1);1199-1200
9. Reskianingsih. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Buah *Paleria macrocarpa* (Scheff) Boerl terhadap Larva *Artemia salina* Leach dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), *Skripsi*, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, 2014.
10. Hinwood. Whats Is LD₅₀ and LC₅₀?, *Canadian centre for occupational Health and Safety*, diakses pada 23 Agustus 2018 <<http://www.ccohs.ca/oshanswers/chemicals/LD50.html>