

SKRINING ANTIOKSIDAN DAN ANTIKANKER EKSTRAK ETANOL DAUN KARAMUNTING (*RHONOMYRTUS TOMENTOSA L.*) SEBAGAI OBAT ALTERNATIF

Submitted : 26 Juni 2020

Edited : 22 Desember 2020

Accepted : 29 Desember 2020

Marwati, Mirnawati Salampe, Asril Burhan, Megawati, Khairuddin, A.Adi Al Ma'aridj Naneng,
Nova Oktaviani

Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar

Email : watimar514@gmail.com

ABSTRACT

Karamunting (Rhodomyrtus tomentosa (Aiton) is one of the plants used as a traditional medicine that is widely spread throughout Indonesia, especially from Toraja, which has the potential as antioxidants and anticancers with the content of phenolic compounds and flavanoids. This study aims to look at total flavonoids as well as antioxidant activity and toxicity of karamunting leaf extract. Simplisia karamunting leaf research method is extracted by maceration method using ethanol 70%, testing antioxidant activity with ABTS method and toxicity test with BSLT method. The results of the study obtained a total phenolic 3.496% , The acquisition of antioxidant activity of ethanol extract of caramel leaves with ic50 value of 24,451 bpj and the acquisition of toxicity test of ethanol extract of caramel leaves with a value of LC50 of 31.80 bpj against shrimp larvae. Based on the results obtained ethanol extract of caramel leaves has antioxidant activity and has a very strong toxicity effect.

Keywords : Antioksidan, *Rhodomyrtus tomentosa (Aiton) Hassk*, Toksisitas.

PENDAHULUAN

Kanker merupakan penyebab kematian utama di dunia, tercatat 7,6 juta kematian pada tahun 2016, dan diperkirakan semakin meningkat hingga mencapai 13,1 juta kematian pada tahun 2020 ⁽⁸⁾. Health Organization (WHO) melaporkan lima besar jenis kanker yang ditemukan pada laki-laki di dunia, yaitu kanker paru, prostat, kolorektum, kanker perut, dan kanker hati. Sedangkan pada perempuan yang terbanyak adalah kanker payudara, kolorektum, paru-paru, serviks, serta kanker perut dan di Indonesia penyakit kanker merupakan urutan ke 6 dari pola penyakit nasional dan setiap tahunnya 100 kasus terjadi diantara 100.000 penduduk ⁽⁹⁾

Terapi herbal sebagai alternatif penyembuhan pada segala penyakit

termasuk penyakit kanker bisa menjadi pilihan. Selain murah dan minim efek samping dalam jangka panjang, juga dapat memberikan kesembuhan secara total. Hal ini sesuai dengan konsep pengobatan terapi herbal, yaitu tidak hanya mengobati bagian yang sakit, tetapi memberikan kesembuhan total dengan cara memperbaiki sistem tubuh yang rusak secara keseluruhan sehingga sistem tersebut dapat menjalankan fungsinya dengan normal seperti sediakala ⁽⁷⁾

WHO merekomendasi penanganan obat tradisional herbal dalam pemeliharaan kesehatan masyarakat, pencegahan dan pengobatan penyakit, terutama untuk penyakit kronis, penyakit degeneratif dan kanker. WHO juga mendukung upaya-upaya dalam peningkatan keamanan dan khasiat dari obat tradisional ⁽⁹⁾. Tanaman atau

tumbuhan tradisional herbal yang dapat dimanfaatkan sebagai obat adalah tumbuhan *Melastoma malabathricum* L. yang lebih dikenal di Indonesia khususnya daerah Kalimantan Timur dengan nama Karamunting.

Berdasarkan penelusuran beberapa literatur, buah, batang dan daun karamunting mengandung senyawa, saponin, kuinon, tanin, dan steroid senyawa flavonoid dan terpenoid ⁽¹⁾. Senyawa flavonoid diketahui mampu menginduksi terjadinya apoptosis. ekstrak buah karamunting mampu menurunkan kadar kolesterol dan meningkatkan kadar High Density Lipoprotein (HDL) dan mencegah pembentukan arteriosklerosis ⁽²⁾ ekstrak daun karamunting memiliki aktivitas antioksidan yang besar ⁽²⁾.

Berdasarkan beragam uraian di atas tentang aktivitas biologi dari tanaman karamunting, Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk menentukan besarnya nilai IC₅₀ dari ekstrak tumbuhan daun karamunting melalui uji aktivitas antioksidan, uji skrining awal dan uji aktivitas antikanker dengan metode BSLT sebagai data awal untuk memberi informasi potensi daun karamunting sebagai obat herbal antikanker.

Penelitian ini bertujuan untuk melihat total flavanoid serta aktivitas antioksidan dan toksisitas ekstrak etanol daun karamunting.

METODE KERJA

Pembuatan Ekstrak Daun Karamunting.

Serbuk simplisia daun karamunting ditimbang sebanyak 1000 gram, kemudian diekstraksi menggunakan 70% sebanyak 2 liter dengan metode maserasi menggunakan perbandingan 1:10. sampel dimasukkan kedalam wadah maserasi kemudian ditambahkan masing-masing pelarut secukupnya untuk proses pembasahan, lalu didiamkan selama ± 30 menit setelah itu ditambahkan sisa pelarut hingga semua

simplisia terendam sempurna, kemudian disimpan pada suhu kamar, ditempat yang terlindung dari cahaya matahari selama 3 x 24 jam dan diaduk tiap 8 jam. Setelah 3 hari di saring didapatkan filtrate dan residu, masing masing residu yang diperoleh kemudian diremaserasi kembali dengan perlakuan yang sama seperti sebelumnya sampai pelarut menjadi bening. Filtrat yang didapatkan kemudian diuapkan menggunakan alat *rotary evaporator* sehingga didapatkan masing masing ekstrak kental.

Penetapan kadar Flavanoid Total

Sebanyak 10 mg masing-masing ekstrak ditimbang dan dilarutkan dalam 10 mL etanol p.a sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm, sebanyak 2 mL larutan ekstrak etanol ditambahkan dengan 0,1 mL AlCl₃ 10%, 0,1 mL natrium asetat 1 M dan dicukupkan volume sampai 5 mL dengan etanol p.a. Diinkubasi selama 30 menit, absorbansi dari larutan standar kuarsetin diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Flavanoid total dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linear dari kurva kalibrasi kuarsetin yang telah diukur sebelumnya.

kadarnya. dengan rumus kadar flavonoid = $\frac{X \times V \times Fp}{mg \text{ sampel}} \times 100 \%$

Pengukuran Aktivitas antioksidan dengan ABTS Ekstrak Daun Karamunting

pengujian dilakukan dengan cara memipet larutan stok 100 bpj dengan volume 10µl, 20µl, 30µl, 40µl, 50µl ditambahkan 60 µl larutan ABTS dan dicukupkan volumenya hingga 200 µl dengan etanol p.a ke dalam well plate 96. Kemudian dihomogenkan dan di inkubasi selama 30 menit pada suhu ruangan, setelah diinkubasi di ukur serapan larutan sampel dengan menggunakan mikroplate reader pada panjang gelombang 515 nm, pengujian

dilakukan sebanyak 3 replikasi. Perhitung % aktivitas antioksidan dengan rumus :

$$\text{Aktivitas antioksidan} = \frac{\text{Abs Blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs Blanko}} \times 100\%$$

Penentuan aktivitas Toksisitas ekstrak daun karamunting dengan Larva Udang *Artemia salina* Leac

Sepuluh ekor larva dimasukkan ke dalam tiap-tiap vial uji yang telah diberi sedikit air laut dan ditambahkan satu tetes larutan ragi sebagai nutrisi larva, kemudian volume air laut dicukupkan sampai 10 mL, sedangkan larutan kontrol hanya berisi air laut, satu tetes larutan ragi dan larva udang. Vial-vial uji kemudian didiamkan pada suhu kamar selama 24 jam. Setiap perlakuan diulang sebanyak tiga kali (triplo). Jumlah larva yang hidup dihitung dan ditentukan persentase kematian larva untuk mengetahui nilai LC50.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Rendamen Daun Ekstrak Karamunting

Setelah dilakukan ekstraksi daun karamunting dengan menggunakan pelarut etanol maka didapatkan rendamen seperti pada tabel 1.

Pada pengukuran senyawa flavanoid total dibuat sebanyak tiga replikasi untuk keperluan akurasi data (table 2). Berdasarkan hasil penelitian ini diperoleh kadar fenolik total ekstrak etanol Daun

Karamunting sebesar 3,496 %, yang artinya dalam setiap gram ekstrak etanol Daun Karamunting terdapat fenolik yang setara dengan 3,496 %, kuarsetin

Hasil pengukuran Antioksidan daun karamunting

Pengujian aktivitas antioksidan pada penelitian ini menggunakan metode ABTS hasil pengujian aktivitas antioksidan dari ekstrak dapat dilihat pada tabel 3.

Pada pembuatan kurva kalibrasi dengan metode AIC13 digunakan kuersetin sebagai pembanding karena kuersetin merupakan flavonoid golongan flavonol yang mempunyai gugus keto pada C-4 dan memiliki gugus hidroksi pada atom C-3 atau C-5 yang bertetangga dari flavon dan flavonol. Panjang gelombang maksimum yang dihasilkan dari pengukuran kuersetin adalah 420 nm. Dari hasil yang didapatkan total flavanoid yang terdapat pada ekstrak daun karamunting sebesar 3.496% b/b dimana semakin besar total fenolik didalam ekstrak maka semakin besar pula potensi sebagai antioksidan.

Tabel 1. Hasil Perhitungan Rendemen

Sampel	Bobot simplisia	Berat ekstrak (g)	Rendemen (%)
Ekstrak Etanol	1000 g	31,27 g	15,635 %

Tabel 2. Hasil Pengukuran Flavanoid Total Ekstrak Etanol Daun Karamunting

Ekstrak	Replikasi	Absorbansi	Flavanoid Total (%)	Rata-Rata Flavanoid Total (%)
Ekstrak Etanol 70%	I	0.325	1,186%	3.496%
	II	0.362	1,217 %	
	III	0.321	1,093 %	

Tabel 3. Hasil uji antioksidan ekstrak Etanol Daun karamunting

Konsentrasi (bpj)	Replikasi	Absorbansi	Rata-rata penghambatan	% inhibisi	Nilai IC ₅₀
Blanko	1	0.853	0.841		24,451 µg/mL
	2	0.844			
	3	0.826			
5	1	0.763	0.744	11.494	
	2	0.732			
	3	0.738			
10	1	0.625	0.636	24.296	
	2	0.618			
	3	0.667			
15	1	0.578	0.565	32.738	
	2	0.546			
	3	0.573			
20	1	0.525	0.513	39.001	
	2	0.498			
	3	0.516			
25	1	0.399	0.403	52.001	
	2	0.403			
	3	0.409			

Tabel 4. Hasil uji antioksidan pembanding kuarsetin

Konsentrasi (bpj)	Replikasi	Absorbansi	Rata-rata penghambatan	% inhibisi	Nilai IC ₅₀
Blanko	1	0.811	0.838		3,7345 µg/mL
	2	0.877			
	3	0.826			
1	1	0.664	0.723	13.763	
	2	0.707			
	3	0.797			
2	1	0.571	0.614	26.691	
	2	0.596			
	3	0.676			
3	1	0.444	0.470	43.874	
	2	0.473			
	3	0.494			
4	1	0.434	0.395	52.904	
	2	0.402			
	3	0.348			
5	1	0.153	0.298	64.439	
	2	0.356			
	3	0.385			

Tabel 5. Hasil uji Sitotoksik ekstrak etanol daun karamunting terhadap Larva Udang

Pengamatan	Replikasi	Kontrol	Ekstrak etanol 70%				
			5 ppm	10 Ppm	15 ppm	20 ppm	25 Ppm
% Mortalitas		0%	23,3%	40%	60%	70%	73,33%

Berdasarkan hasil absorbansi pada tabel 3, setelah perhitungan IC_{50} maka diperoleh nilai (IC_{50}) 24,451 $\mu\text{g/mL}$, suatu senyawa dinyatakan sebagai antiradikal bebas sangat kuat apabila nilai $IC_{50} < 10 \mu\text{g/mL}$, kuat apabila nilai IC_{50} antara 10-50 $\mu\text{g/mL}$, sedang apabila nilai IC_{50} berkisar antara 50-100 $\mu\text{g/mL}$, lemah apabila nilai IC_{50} berkisar antara 100-250 $\mu\text{g/mL}$ dan tidak aktif apabila IC_{50} diatas 250 $\mu\text{g/mL}$ ⁽⁶⁾, dari pernyataan diatas menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun karamunting tergolong dalam antioksidan dengan intensitas yang sangat kuat ($<50 \mu\text{g/mL}$) karena diperoleh nilai IC_{50} sebesar 24,451 $\mu\text{g/mL}$. Pada umumnya senyawa flavonoid mempunyai sifat antioksidan yang kuat oleh sebab itu ekstrak etanol daun karamunting mempunyai potensi sebagai antioksidan alami. Antioksidan erat kaitanya dengan antikanker dimana antioksidan mempunyai mekanisme kerja menangkap radikal bebas yang dapat menyebabkan penyakit kanker.

Berdasarkan hasil tabel 5 kematian larva udang ekstrak etanol 70% daun karamunting setelah 24 jam, terlihat jumlah larva yang mati pada konsentrasi 5 ppm, untuk replikasi 1-3 total larva yang mati adalah 7 dan persen mortalitasnya 23,3%. Pada konsentrasi 10 ppm, untuk replikasi 1-3 total larva yang mati adalah 12 dan persen mortalitasnya 40%. Pada konsentrasi 15 ppm, untuk replikasi 1-3 total larva yang mati adalah 18 dan persen mortalitasnya 60%. Pada konsentrasi 20 ppm, untuk replikasi 1-3 total larva yang mati adalah 21 dan persen mortalitasnya 70%. Pada konsentrasi 25 ppm, untuk replikasi 1-3 total larva yang mati adalah 22 dan persen

mortalitasnya 73,33%. Sedangkan untuk kontrol air laut tidak ada larva *Artemia* salina yang mati.

Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa semakin rendah nilai LC_{50} maka semakin besar tingkat toksisitasnya sehingga ekstrak etanol 70% merupakan ekstrak dengan nilai LC_{50} tertinggi. termasuk dalam kategori toksisitas kuat karena berada pada rentang 0-100 ppm.

Suatu ekstrak dapat dinyatakan aktif, poten atau positif apabila memiliki nilai IC_{50} sebagai berikut ⁽³⁾ :

Tabel 6. Kategori Nilai IC_{50}

Kategori	Nilai IC_{50}
Sangat Toksik	$IC_{50} < 20 \text{ ppm}$
Toksik	21-200 ppm
Toksik Lemah	201-500 ppm
Tidak Toksik	$IC_{50} > 500 \text{ ppm}$

Ekstrak etanol daun karamunting memiliki senyawa metabolit sekunder yang berperan sebagai antikanker yaitu Senyawa flavonoid, saponin dan tanin. Senyawa Flavanoid memiliki senyawa kuersetin yang secara signifikan mampu menghambat proliferasi sel ^(9,11). Senyawa saponin dapat berpotensi sebagai antikanker dengan menghambat pembentukan Bcl-2 yang diekspresikan terlalu tinggi, menginduksi protein *caspase-3* yang diekspresikan terlalu rendah, meningkatkan ekspresi p53, dan dapat pula memicu G1 cell cycle arrest⁽⁷⁾. Golongan senyawa Tanin yang berguna sebagai antikanker seperti mekanisme flavonoid yaitu pengaktifan jalur apoptosis sel kanker. Tanin mampu menghambat poliferasi kanker yang salah

satunya dengan menghambat aktivitas protein kinase sehingga menghambat jalur transduksi sinyal dari membran ke inti sel. Tanin juga menghambat aktivitas reseptor tirosin kinase yang mengikat berperan dalam pertumbuhan keganasan sel kanker. Dan tannin berfungsi mengurangi resistensi tumor terhadap agen kemoterapi^(3,11).

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa :

Ekstrak etanol daun karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton)) mengandung total flavanoid 3.496%, nilai IC_{50} sebesar 24,451 bpj dan memiliki efek toksisitas terhadap Larva Udang dengan nilai IC_{50} 31,80 bpj dalam kategori sangat kuat.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kusuma, I., Ainiyati, N., Suwinarti, W. 2015. *Search for Biological Activities from an Invasive Shrub Species Rose Myrtle (Rhodomyrtus tomentosa)*. *Jurnal Nusantara Bioscience*. 8(1).
2. Lavanya, G., Voravuthikunchai, S.P., Towatana, N.H. 2012. Acetone Extract from *Rhodomyrtus tomentosa*: A Potent Natural Antioxidant. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. Volume 2012. Article ID 535479.
3. Meiyanto, E., Susidarti, R.A., Handayani, S., Rahmi F. 2008. Ekstrak Etanolik Biji Buah Pinang (*Areca catechu* L.) mampu menghambat Poliferasi dan memacu Apoptosis sel MCF-7. *Majalah Farmasi Indonesia* 19 (1), 12-19.
4. Meyer, U.N., N.R., Ferigni, J.E., Putnam, L.B., Ja Cobsen, D.E., Nichols, and J.L., Melaughlin, 1982, *Brine shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituent*, *Planta Medika*, 45:31-34.
5. Mordmuang, A. dan Voravuthikunchai, S.P. 2015. *Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk. leaf extract: An alternative approach for the treatment of staphylococcal bovine mastitis. *Research in Veterinary Science* 102.
6. Phongpaichit, S., Nikom, J., Rungjindamai, N., Sakayaroj, J., Hutadilok Towatana, N., *et al.* (2007). Biological Activities of Extracts From Endophytic Fungi Isolated From *Garcinia* Plant. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 51(3), 517 – 525.
7. Raju dan Rao., 2004, Diosgenin, a Steroid Saponin of *Trigonella foenum graecum* (Fenugreek). Inhibits Azoxymethane-Induced Aberrant Crypt Foci Formation in F344 Rats and Induces Apoptosis in HT-29 Human Colon Cancer Cells. *Cancer Epidemiology, Biomarker and Prevention*, 13: 1392
8. Suryo, J. 2010. Herbal Penyembuh Gangguan Sistem Pernapasan: Pneumonia, Kanker Paru-Paru, TB, Bronkitis dan Pleurisi. Bentang Pustaka
9. Wirahadi, A. Kusuma., Nurulita, N. A., & Hartanti, D. 2010. Efek Sitotoksik dan Antiproliferasi Kuersetin pada Sel Kanker Kolon WiDr. *PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia (Pharmaceutical Journal of Indonesia)*, 7(03).
10. Widowati, L., Siswanto, S., Delima, D., dan Siswoyo, H. 2014. Evaluasi praktik dokter yang meresepkan Jamu untuk pasien penderita penyakit degenerative di 12 propinsi. *Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan*. 24(2):95-102.
11. Asril, B., Akbar, A., Zulham, Burhanuddin T., Abdul, G., 2019. Antioxidant and anticancer activities of morbei (*Morus alba* L.) stem extract on in vitro widr cancer cells. *Jurnal Farmasi Sains Dan Komunitas*. 16(2):63-67.