

KAPASITAS TOTAL ANTIOKSIDAN DAN SITOTOKSISITAS EKSTRAK METANOL DAUN ARA (*FICUS AURICULATA LOUR*)

David Limanan¹, Frans Ferdinal¹, Melanie Salim¹ dan Eny Yulianti¹

¹Departement Biokimia dan Biologi Molekuler, Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara
Email: davidl@fk.untar.ac.id

Indonesia merupakan negara megabiodiversitas paling tinggi di dunia. Keragaman flora Indonesia menduduki peringkat ketujuh dunia Hal ini membuat Indonesia memiliki kandidat tanaman obat yang luas, akan tetapi hanya sebagian kecil yang telah dimanfaatkan sebagai bahan baku industri obat. Salah satu tanaman yang memiliki khasiat obat dan telah digunakan secara empirik adalah tanaman ara (*Ficus auriculata Lour*). Tanaman ara diketahui memiliki senyawa bioaktif yang dapat berfungsi sebagai antioksidan dan dapat digunakan untuk mengatasi stres oksidatif yang merupakan dasar dari berbagai macam penyakit, salah satunya adalah kanker. Selain itu obat-obatan kanker menimbulkan efek samping yang besar terhadap sel-sel normal, sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut dalam mencari kandidat antikanker yang cukup efektif dengan efek samping kecil. Bahan bioaktif dari tanaman banyak yang cukup menjanjikan sebagai kandidat obat anti kanker. Karena itu, penelitian ini dilakukan untuk melihat kapasitas total antioksidan dan sifat sitotoksitas dari ekstrak daun ara. Metode pada penelitian ini berupa penelitian eksperimental, dengan daun ara yang telah didapatkan dibuat simplisia dan diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol. Hasil ekstraksi dilakukan pengujian kapasitas total antioksidan dengan menggunakan DPPH (Blois) dan uji sitotoksitas menggunakan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Hasil penelitian didapatkan bahwa kapasitas total antioksidan ekstrak metanol daun ara diperoleh sebesar 213,2564 µg/mL, sedangkan IC-50 asam askorbat sebagai kontrol sebesar 5,9382 µg/mL. Uji sitotoksitas ekstrak metanol daun ara didapatkan LC₅₀ sebesar 448,895 ppm. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol daun ara memiliki kapasitas antioksidan yang lebih kecil dibanding vitamin c tetapi memiliki bersifat sitotoksik sehingga dapat dijadikan kandidat antikanker.

Kata Kunci : Ara, sitotoksitas, kapasitas antioksidan

1. PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang terletak diantar dua samudera dan dua benua, dengan lebih dari 17.000 pulau Kondisi geografis Indonesia yang unik menjadikan negara ini sebagai salah satu negara megabiodiversitas di dunia. Jenis flora di Indonesia merupakan bagian dari flora Malesiana, dan membuat Indonesia menempati urutan ketujuh di dunia untuk keragaman jenis tanaman dengan jumlah 20.000 spesies (Kusmana, 2015). Keragaman flora di Indonesia membuat negara ini memiliki potensi yang sangat luas untuk pengembangan tanaman obat. Akan tetapi pemanfaatan tanaman sebagai obat di Indonesia jauh dari optimal. Sebagai ilustrasi, hingga saat ini diperkirakan terdapat 9600 spesies tanaman yang diketahui mempunyai khasiat obat, hanya sekitar 200 spesies saja yang digunakan sebagai bahan baku obat tradisional (Nugroho, 2017). Salah satu tanaman obat yang telah banyak digunakan selama berabad-abad untuk mengatasi berbagai penyakit adalah tanaman ara (*Ficus auriculata*). Kulit batang tanaman ara secara tradisional digunakan untuk mengobati diare, disentri, luka terbuka, gondongan, dan kolera. Pemeriksaan fitokimia tanaman ara menunjukkan bahwa tanaman ini memiliki berbagai metabolit sekunder seperti sterol/terpen, fenolik, flavonoid, kumarin, alkaloid, saponin dan tanin. Senyawa fenolik dan flavonoid, diketahui memiliki kemampuan sebagai antioksidan (Gaire, 2011). Penelitian terdahulu yang membandingkan kandungan fenolik dan flavonoid beberapa macam tanaman *Ficus* (*F. virens* var. *sublanceolata*, *F. auriculata*, *F. vasculosa*, *F. callosa*, *F. virens* var. *verins*, *F. racemosa* and *F. Oligodon*) di *Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Science (Yunnan, China)*, menunjukkan hasil bahwa *Ficus auriculata* memiliki kandungan fenolik dan flavonoid yang cukup baik begitu pula dengan kapasitas antioksidannya menunjukkan IC₅₀ sebesar 0,25 mg/mL untuk dengan ABTS dan 0,29 mg/mL dengan DPPH (Shi, 2011). Penelitian lain menunjukkan EC₅₀ *Ficus auriculata* yang berasal dari desa Phayeng, Manipur, India sebesar 251,33 mg/mL (Thingbaijam, 2012).

Antioksidan (endogen dan eksogen) di dalam tubuh berperan untuk mengatasi radikal bebas yang terbentuk. Pada keadaan normal terjadi keseimbangan antara mekanisme pertahanan antioksidan dan pembentukan *radical oxygen spesies* (ROS). Bila terjadi peningkatan produksi ROS atau berkurangnya pertahanan antioksidan dapat menyebabkan timbulnya berbagai penyakit dan terjadinya kerusakan jaringan (Knuppel, 2012). ROS dapat berasal dari substansi endogen (mitokondria, metabolisme sitokrom P450, peroksisom dan mikrosom, aktivasi sel-sel inflamasi, dan xantine oksidase) dan eksogen (*non-genotoxic carcinogen*, xenobiotik, ion metal, radiasi, dan barbiturat (Halliwell, 2007). Kadar ROS tinggi bersifat racun terhadap sel melalui induksi stres oksidatif. Stres oksidatif dapat memicu kerusakan pada molekul-molekul yang terdapat pada sel seperti lipid, protein maupun DNA. Kerusakan DNA akibat ROS dapat disebabkan karena adanya modifikasi basa-basa DNA, pembentukan area bebas basa nitrogen, delesi, *frame shifts*, putusannya rantai DNA, DNA-protein *cross link* dan *chromosomal rearrangements*. Perubahan-perubahan pada DNA dapat mengarah pada terjadinya kanker (Valko, 2004). Terapi kanker yang ada saat ini menimbulkan banyak sekali efek samping yang dirasakan oleh pasien, selain itu terapi kanker memerlukan biaya yang sangat besar (Perrino, 2014). Melihat metabolit sekunder tanaman ara yang dapat berperan sebagai antioksidan, tidak menutup kemungkinan untuk penggunaan tanaman ini dalam mencegah atau mengobati kanker. Penelitian Chiang (2005) menunjukkan adanya potensi sitotoksik dari *Ficus microcarpa* dan penelitian Khan (2005) menunjukkan adanya sifat anti kanker *Ficus racemosa* terhadap karsinogenesis ginjal yang diinduksi bahan kimia (El-Fishawy, 2011). Tapi belum ada informasi mengenai potensi sitotoksitas dari *Ficus auriculata Lour* terutama yang berada di Indonesia, mendorong peneliti untuk menggali lebih jauh mengenai kapasitas antioksidan total daun ara dan kemampuannya sebagai antikanker.

2. METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental *in vitro* terhadap ekstrak daun ara yang dilakukan di laboratorium Biokimia dan Biologi Molekuler Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara, dengan sampel daun ara (*Ficus auriculata Lour*) yang didapatkan Kuntum Farm Field, Jalan Raya Tajur No. 291, Sindangrasa, Bogor Timur, Kota Bogor, Jawa Barat yang diambil pada bulan Agustus. Daun Ara yang telah didapatkan kemudian dikeringkan dan dihancurkan hingga menjadi bubuk simplisia. Simplisia yang terbentuk diekstraksi dengan metoda maserasi menggunakan pelarut metanol selama 3 hari. Hasil maserasi kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring Whatman no. 1. Hasil saringan kemudian dievaporasi dengan menggunakan *Heidolph Rotary Evaporator (Hei-VAP)* untuk menyingkirkan pelarut. Hasil ekstrak dilakukan pengujian kapasitas antioksidan (Blois, 1958) menggunakan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) dengan larutan pembanding menggunakan asam askorbat, dan pemeriksaan sitotoksitas menggunakan metoda *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

Uji kapasitas total antioksidan

Untuk pengujian kapasitas antioksidan digunakan larutan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) dengan konsentrasi 50 μ M, kemudian dicari panjang gelombang maksimum dan absorbansi maksimumnya yang akan digunakan sebagai absorbansi kontrol. Ekstrak metanol daun ara dibuat dengan konsentrasi 10 μ g/mL, 30 μ g/mL, 50 μ g/mL, 70 μ g/mL, dan 90 μ g/mL. Sebagai pembanding menggunakan larutan standart asam askorbat dengan konsentrasi 2 μ g/mL, 3 μ g/mL, 4 μ g/mL, 5 μ g/mL, dan 6 μ g/mL. Masing-masing sampel diambil sebanyak 0,2 mL dan direaksikan dengan 3,8 mL DPPH kemudian dicatat hasil absorbansinya.

Setelah mendapatkan data absorbansi dan konsentrasi dilanjutkan mencari % inhibisi dari ekstrak metanol daun ara maupun asam askorbat dengan rumus:

$$\%inhibisi = \frac{"Abs.Kontrol" - "Abs.Sampel"}{"Abs.Kontrol"} \times 100\% \quad (1)$$

Dengan Abs. kontrol : serapan DPPH pada panjang gelombang optimum, Abs. sampel : serapan sampel pada panjang gelombang optimum.

Setelah didapatkan persentase inhibisi, dibuat kurva standar untuk ekstrak metanol daun ara maupun asam askorbat pada sumbu x dan absorbansi pada sumbu Y. Kemudian dicari persamaan garisnya yang digunakan untuk perhitungan nilai *Inhibition concentration 50%* (IC-50) dari ekstrak metanol daun ara dan asam askorbat.

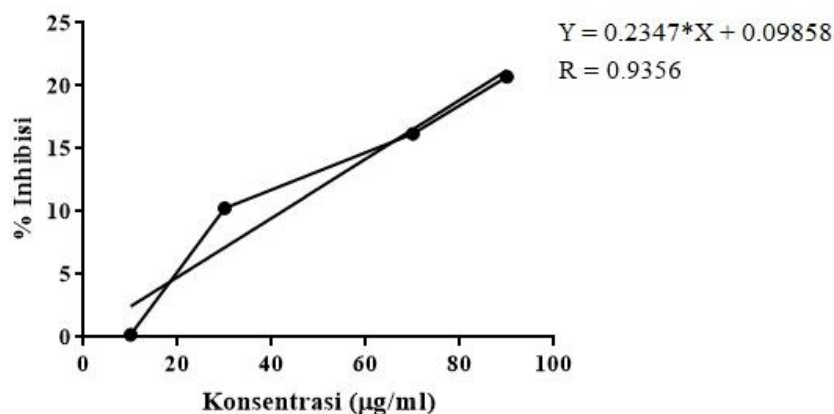
Uji sitotoksitas

Uji sitotoksitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) menggunakan larva udang *Artemia salina*. Larutan ekstrak metanol daun ara yang digunakan dengan konsentrasi 10 ppm, 100 ppm, 500 ppm, dan 1.000 ppm. Masing-masing ekstrak dimasukan larva udang *Artemia salina* dan dibiarkan selama 24 jam. Setelah 24 jam dihitung berapa banyak larva udang *Artemia salina* yang mati. Kemudian dihitung nilai *Lethal Concentration 50* (LC₅₀) dengan menggunakan grafik dimana konsentrasi zat sebagai x dan persentase kematian larva sebagai y, dari grafik tersebut akan diperoleh persamaan linier.

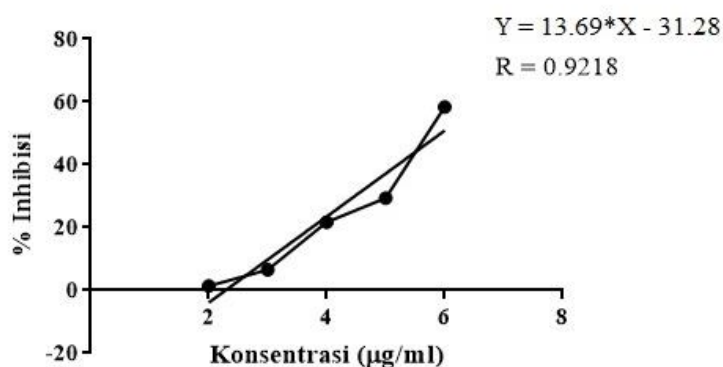
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji kapasitas total antioksidan

Hasil pemeriksaan kapasitas total antioksidan dengan menggunakan DPPH terhadap ekstrak metanol daun ara didapatkan persamaan linear $Y=0.2347X+0.09858$ seperti terlihat pada Gambar 1. Sedangkan hasil pemeriksaan kapasitas total antioksidan terhadap asam askorbat didapatkan persamaan linear $Y=13.69X-31.28$ seperti terlihat pada Gambar 2.



Gambar 1. Grafik % Inhibisi terhadap Konsentrasi Ekstrak Metanol Daun Ara

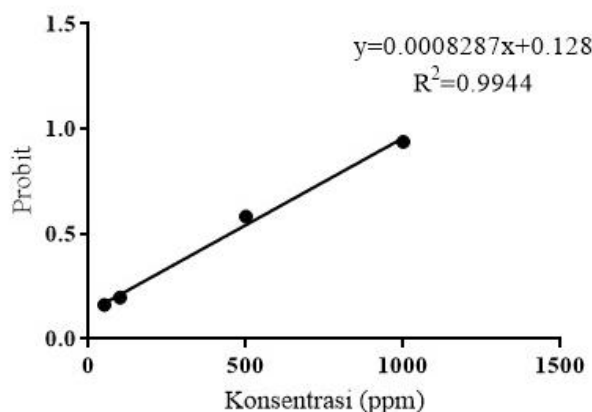


Gambar 2. Grafik % Inhibisi terhadap Konsentrasi Asam Askorbat

Dari hasil persamaan linear yang telah didapatkan, dilakukan perhitungan IC_{50} ekstrak metanol daun ara sebesar 213,2564 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan IC_{50} asam askorbat sebesar 5,9382 $\mu\text{g/mL}$. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun ara memiliki kemampuan antioksidan akan tetapi, kemampuannya untuk menghambat radikal bebas lebih kecil dibandingkan asam askorbat yang merupakan antioksidan kuat. Hasil ini sejalan dengan penelitian Tingbajam (2012) yang mendapatkan bahwa ekstrak *Ficus auriculata* memiliki kemampuan scavenging yang lebih kecil dibanding vitamin c, tapi mungkin dapat membantu mencegah atau memperlambat penyakit yang berkaitan dengan stres oksidatif (Tingbajam, 2012). Walaupun hasil uji kapasitas total antioksidan ekstrak metanol daun ara lebih kecil, perlu diperhatikan bahwa hasil ekstrak tersebut tidak murni hanya metabolit yang mempunyai kemampuan antioksidan (terutama fenolik dan flavonoid).

Uji sitotoksisitas

Hasil uji sitotoksisitas ekstrak metanol daun ara menggunakan metode BSLT pada berbagai konsentrasi didapatkan persamaan linier linier $y = 0,0008287x + 0,128$ seperti pada Gambar 3.



Gambar 3. Grafik Hasil Uji Toksisitas Sampel Ekstrak Daun Ara.

Berdasarkan Meyer (1982) suatu ekstrak dikatakan bersifat sitotoksisitas apabila $LC_{50} < 1.000$ ppm. Dari persamaan linear yang didapatkan maka dilakukan perhitungan LC_{50} , dan didapatkan hasil sebesar 448,895 ppm. Hasil uji BSLT menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun ara memiliki kemampuan sitotoksisitas dan dapat dipertimbangkan sebagai kandidat anti kanker.

4. KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Ekstrak metanol daun ara memiliki kapasitas total antioksidan sebesar 213,2564 ug/mL dan lebih rendah dari vitamin c, **serta** ekstrak metanol daun ara berpotensi sebagai kandidat anti kanker.

Saran

1. Dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap hewan coba untuk melihat pengaruh pemberian ekstrak daun ara terhadap antioksidan endogen dan stres oksidatif
2. Dilakukan uji anti kanker terhadap sel kanker

5. REFERENSI

- Blois, MS. (1958). Antioxidant determination by the use of stable free radical. *Nature*, 181, 1199-1200.
- El-Fishawy, A.; Zayed R.; Afifi, S. (2011). Phytochemical and pharmacological studies of *Ficus auriculata* Lour. *Journal of Natural Products*, 4, 184-195.
- Gaire, BP.; Lamichhane, R.; Sunar, CB.; Shilpakar, A.; Neupane, S.; Panta, S. (2011) Phytochemical screening and analysis of antibacterial and antioxidant activity of ficus auriculata (lour) stem bark. *Pharmacognosy Journal*, 3(21), 49-55.
- Halliwell, B.; Gutteridge, JMC. (2007). Free radicals in biology and medicine. Oxford University Press, New York.
- Knuppel, R.; Hassan, M.; McDermott, J. (2012). Preterm birth - mother and child. Intech, Croasia.
- Kusmana, C.; Hikmat, A. (2015). Keanekaragaman hayati flora di Indonesia. *Jurnal Pengelolaan Sumberdaya Alam dan Lingkungan*, 5(2), 187-198.
- Meyer, BN. (1982). Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Journal of Medicinal Plant Research Planta Medica*, 45, 31-34.
- Nugroho, AW. (2017). Review: Konservasi keanekaragaman hayati melalui tanaman obat dalam hutan di Indonesia dengan teknologi farmasi: potensi dan tantangan. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 1(7), 377-383.
- Perino, C. (2014). Cardiac side effects of chemotherapy: state of art and strategies for a correct management. *Current Vascular Pharmacology*, 12, 106-116.
- Shi, Y. (2011). Preliminary assessment of antioxidant activity of young edible leaves of seven *Ficus* species in the ethnic diet in Xishuangbanna, Southwest China. *J.Foodchem*, 3(113), 1-6.
- Thingbaijam, R.; (2012). In vitro antioxidant capacity, estimation of total phenolic and flavonoid content of ficus auriculata lour. *Int J Pharm Pharm Sci*, 4(4), 518-521.
- Valko, M.; Izakovic, M.; Mazur, M.; Rhodes, CJ.; Telser, J. (2004). Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular And Cellular Biochemistry*, 266, 37-56.