



PAPER – OPEN ACCESS

Aktivitas Antioksidan Dan Toksisitas Fraksi Etil Asetat Dari Daun Halban (*Vitex Pinnata* Linn) Asal Aceh

Author : Mastura dkk.,
DOI : 10.32734/st.v2i1.310
Electronic ISSN : 2654-7082
Print ISSN : 2654-7074

Volume 2 Issue 1 – 2018 TALENTA Conference Series: Science & Technology (ST)



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-NoDerivatives 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-nd/4.0/).

Published under licence by TALENTA Publisher, Universitas Sumatera Utara



Aktivitas Antioksidan Dan Toksisitas Fraksi Etil Asetat Dari Daun Halban (*Vitex Pinnata* Linn) Asal Aceh

Mastura^{a,b,*}, Tonel Barus^b, Lamek Marpaung^b, Partomuan Simanjuntak^c

^a Universitas Samudra, Meurandeh, Kota Langsa 24416, Aceh,

^b Universitas Sumatera Utara, Medan,

^c Puslit Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Jl.Raya Bogor Km 46, Cibinong 16911

mastura@unsam.ac.id, partomsimanjuntak@gmail.com

Abstrak

Propinsi Aceh khususnya Kota Langsa memiliki banyak tanaman yang dapat berkhasiat sebagai obat, diantaranya adalah tanaman halban (*Vitex pinnata* Linn). Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui aktivitas antioksidan dari empat jenis fraksi yaitu fraksi metanol, etil asetat, air dan fraksi n- heksan dari daun halban (*Vitex pinnata* Linn) asal Aceh. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode peredaman radikal bebas dengan DPPH ((2,2-diphenil-1-picrylhydrazyl). Uji toksisitas dilakukan dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari keempat fraksi yang diuji aktivitas antioksidannya, fraksi metanol memiliki aktivitas antioksidan tertinggi yang diikuti dengan fraksi etil asetat, fraksi air dan yang terakhir fraksi n-heksan yang memiliki aktivitas antioksidan lemah dengan nilai IC50 (*inhibitor concentration* 50) masing-masing berturut-turut adalah 19,09, 24,75, 31,72 dan 152,80. Untuk toksisitas dari sepuluh fraksi etil asetat yang diuji menunjukkan bahwa fraksi 8 memiliki nilai LC50 (*Lethal concentration* 50) sebesar 59,41

Kata kunci : *Vitex pinnata* Linn, daun halban, antioksidan, DPPH

1. Pendahuluan

Propinsi Aceh khususnya Kota Langsa memiliki banyak tanaman yang dapat berkhasiat sebagai obat, diantaranya adalah tanaman halban (*Vitex pinnata* Linn). Halban/lababan (*Vitex pinnata* Linn) atau sinonimnya *Vitex pubescens*. Vahl yang dalam bahasa Acehnya dikenal dengan “Mane” adalah tumbuhan tropis Asia yang sangat berpotensi sebagai tanaman obat. Hampir semua bagian tumbuhan dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Daunnya digunakan sebagai obat demam, patah selera, dan luka. Kulit batang dilaporkan dapat menyembuhkan sakit perut, luka, dan juga digunakan sebagai bahan pewarna sedangkan akar digunakan sebagai obat sakit perut [8]. [1] melaporkan bahwa air rebusan kulit *Vitex pinnata* Linn dapat menghilangkan sakit perut, dan daunnya digunakan sebagai obat demam dan luka. Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (elektron donor) atau reduktan/reduktor. Antioksidan mampu menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga kerusakan sel dapat dicegah. Senyawa ini mempunyai berat molekul kecil tapi mampu menginaktivasi reaksi oksidasi dengan mencegah terbentuknya radikal [11]. Penentuan dapat atau tidaknya suatu zat dari tanaman dapat digunakan dan dikembangkan sebagai obat seperti obat anti kanker didasarkan pada sifat toksisitasnya. Metode sederhana dan mudah dilakukan untuk menguji toksisitas dari senyawa bioaktif dari bahan alam adalah metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach. Metode ini baik digunakan untuk uji toksisitas, insektisida dan uji awal senyawa sitotoksitas atau anti tumor dan metode ini sudah dilakukan sejak tahun 1956 dan banyak digunakan untuk studi lingkungan, penapisan senyawa bioaktif di dalam ekstrak tanaman. Uji aktivitas menggunakan larva udang *Artemia Salina* Leach memiliki spektrum aktivitas farmakologi, mudah dilakukan, cepat dan tidak memerlukan biaya besar dengan tingkat kepercayaan 95% [7]. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari empat jenis fraksi yaitu fraksi metanol, etil asetat, air dan fraksi n- heksan dan toksisitas fraksi etil asetat dari daun halban (*Vitex pinnata* Linn) asal Aceh

2. Metode

2.1. Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun tanaman tanaman halban (*Vitex pinnata*. L) yang diperoleh dari Kota Kuala Simpang yaitu di desa Manangini. Daun tanaman tersebut kemudian dikeringkan/ diangin-anginkan sampai beratnya relatif tidak berubah, kemudian dihaluskan hingga berupa serbuk selanjutnya dilakukan pengujian awal terhadap sampel yaitu uji skrining fitokimia untuk mengetahui zat aktif yang terkandung di dalam daun tanaman halban. Untuk diterminasi tanaman halban dibawa ke pusat herbarium “Herbarium Bogoriense” bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor untuk ditentukan taksonomi dari tanaman halban tersebut.

2.2. Ekstraksi Daun Halban

Serbuk daun *Vitex pinnata* Linn yang sudah halus sebanyak 5 Kg dimaserasi dengan metanol selama 48 jam, kemudian dilakukan penyaringan. Ekstrak metanol yang diperoleh kemudian dikeringkan sebagian dengan *rotary evaporator* lalu diuji aktivitas antioksidannya.

Ekstrak metanol hasil evaporasi kemudian ditambah air dengan volume yang sama dan kemudian disimpan di tempat gelap selama 24 jam untuk mengendapkan klorofil yang terdapat di daun. Setelah terbentuk endapan klorofil di dasar tabung, ekstrak kemudian disaring dan dikeringkan. Fraksi air yang sudah kental diuji aktivitas antioksidannya. Fraksi air yang dihasilkan kemudian dilanjutkan dengan proses partisi dengan n-heksan untuk memisahkan klorofil yang masih tersisa pada ekstrak metanol-air tersebut, fraksi n-heksan yang diperoleh diuji aktivitas antioksidannya. Selanjutnya ekstrak metanol-air kemudian dipartisi dengan pelarut etil asetat sebanyak 3 kali dan fraksi etil asetat yang diperoleh dikeringkan sehingga diperoleh ekstrak etil asetat yang berwarna hijau kehitaman pekat, lalu diuji aktivitas antioksidannya

2.3. Pengujian Aktivitas Antioksidan

2.3.1. Penangkapan radikal dengan DPPH (2,2-diphenil-1-picrylhydrazyl)

Masing-masing fraksi yang diperoleh ditimbang dan dibuat menjadi konsentrasi 25 ppm, kemudian ditambahkan dengan 1 mL larutan DPPH 0.4 mM, lalu diencerkan lalu diencerkan dengan metanol 5 mL dalam tabung reaksi (yang ditutup dengan aluminium foil), kemudian dihomogenkan dengan menggunakan vortex mixer dan diinkubasi selama 30 menit pada $T = 37^{\circ}\text{C}$. Kemudian diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (517 nm). Pada tiap konsentrasi dilakukan 3 kali pengulangan. Asam askorbat (Vitamin C) digunakan sebagai pembanding (kontrol positif). Kemampuan untuk menangkap radikal bebas oleh DPPH (inhibisi) dihitung dengan menggunakan persamaan 1. berikut.

$$\text{Penangkapan (peredaman)} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100 \quad (1)$$

2.4. Pengujian Toksisitas dengan BSLT

2.4.1. Penetasan Kista *Artemia Salina* Leach

Kista A. Salina Leach ditimbang kurang lebih 50 mg dan dimasukkan ke dalam enlenmeyer yang berisi 500 mL air laut yang sudah disaring kemudian dipasang aerator. Biarkan selama 48 jam dengan pencahayaan lampu TL agar menetas sempurna. Larva yang sudah menetas dipipet ke dalam botol percobaan dan diberi ekstrak sesuai perlakuan.

2.5. Persiapan Sampel

Pembuatan larutan ekstrak 2000 ppm sebanyak 40 mg ekstrak ditimbang dengan teliti kemudian dilarutkan dalam 20 ml air laut. Untuk ekstrak yang sukar larut, dapat ditambahkan DMSO 1% (5 tetes) untuk meningkatkan kelarutan. Konsentrasi 200 ppm dibuat dengan memipet 2 ml larutan ekstrak 2000 ppm dan ditambahkan air laut sampai 20 ml. Konsentrasi 20 ppm dibuat dengan memipet 2 ml larutan konsentrasi 200 ppm dan ditambahkan air laut sampai 20 ml.

Larutan sampel 1000 ppm dibuat dengan cara memipet 5 ml larutan ekstrak 2000 ppm dan ditambahkan air laut 5 ml. Konsentrasi 100 ppm dibuat dengan cara memipet larutan ekstrak 200 ppm sebanyak 5 ml dan ditambahkan air laut 5 ml. Larutan sampel 10 ppm dibuat dengan cara memasukkan larutan ekstrak 20 ppm dan ditambahkan 5 ml air laut.

2.6. Uji Bioaktivitas

Uji bioaktivitas dilakukan dengan memasukkan 15 ekor larva udang *A. Salina Leach* yang berumur 48 jam kedalam botol yang telah berisi larutan ekstrak dan air laut. Untuk setiap konsentrasi dilakukan 3 kali ulangan (triplo). Sebagai kontrol adalah air laut yang tidak diberi ekstrak sampel. Botol percobaan disimpan dibawah pencahayaan lampu TL. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam. Jumlah larva udang yang mati dicatat kemudian dihitung persentase kematiannya. Nilai LC50 diperoleh menggunakan program statistik SPSS 11.5. Dimana nilai LC50 yaitu konsentrasi zat uji yang dapat membunuh larva udang sebanyak 50%. Suatu sampel dikatakan sangat toksik terhadap larva udang *Artemia salina* Leach apabila mempunyai LC50 < 30 µg/mL, toksik apabila mempunyai LC50 30-1000 µg/mL dan tidak toksik apabila mempunyai LC50 > 1000 µg/mL [6].

3. Hasil

3.1. Skrining Fitokimia dan Ekstraksi Daun Halban

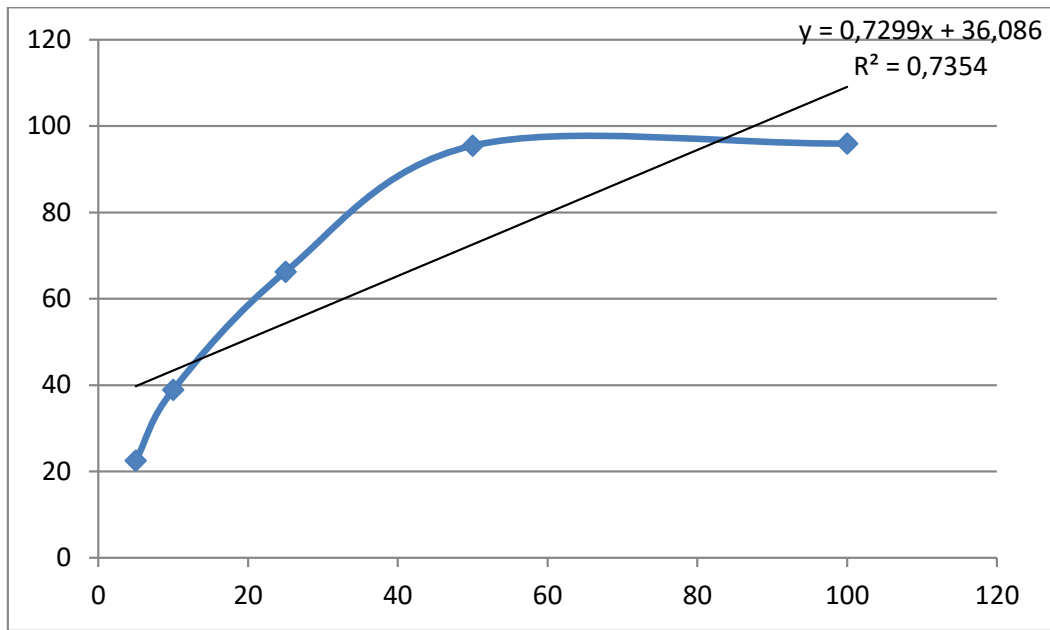
Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa daun halban mengandung sejumlah bioaktif seperti yang terlihat pada tabel 1. di bawah ini.

Tabel 1. Hasil uji skrining fitokimia pada daun tanaman halban (*Vitex Pinnata* L)

Jenis Sampel	Sampel dalam fraksi metanol metabolit Sekunder						Sampel dalam	
	Fenolik	Terpen/ Steroid	Alkaloid		Saponin		Etil asetat	
	Pereaksi	Pereaksi	Pereaksi	Pereaksi	Pereaksi	Pereaksi	Pereaksi	Flavonoid
	Hasil FeCl ₃	Hasil Cerisulfat TLC	Hasil Bouchardat	Hasil Wagner	Hasil Meyer	Hasil Dragend orf	Hasil Aqua	Pereaksi FeCl ₃ Hasil
Daun Halban	++++	+++	-	-	-	-	++++	++++

Keterangan :
 (+) mengandung senyawa metabolit sekunder
 (-) Tidak mengandung senyawa metabolit sekunder

Dari tabel 1 di atas menunjukkan bahwa daun halban mengandung senyawa bioaktif tannin, terpen/steroid, saponin dan flavonoid. Daun halban tidak mengandung senyawa bioaktif alkaloid [5]. Hasil maserasi sampel dengan metanol diperoleh ekstrak kental, ekstrak kental tersebut diangin-anginkan sampai diperoleh ekstrak metanol padat. Ekstraks metanol padat yang diperoleh sebanyak 480 gram. Hasil pengujian aktivitas antioksidan untuk ekstrak metanol dengan metode DPPH dapat dilihat pada gambar 1 berikut.



Gambar 1 Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol dengan IC50 19,09

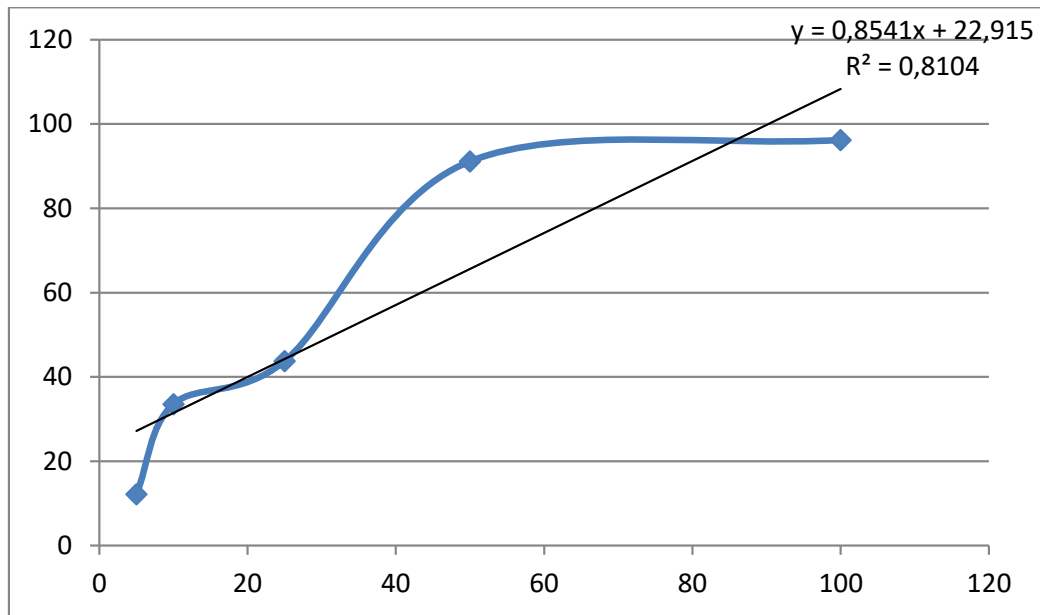
Hasil uji aktivitas antioksidan pada daun halban fraksi metanol menunjukkan bahwa nilai *inhibitor concentration 50* (IC50) yang diperoleh adalah sebesar 19,09.

Dari 480 gram yang diperoleh diambil sebanyak 60 gram kemudian ditambahkan dengan air lalu disaring. Ekstrak air yang diperoleh selanjutnya dipartisi dengan etil asetat sebanyak empat kali ulangan, diperoleh ekstrak etil asetat dan air. Ekstraks etil asetat diuapkan menggunakan rotary evaporator sampai diperoleh ekstrak kental. Ekstrak air diberi perlakuan lebih lanjut yaitu dipartisi dengan n-heksan sebanyak empat kali ulangan, diperoleh ekstrak air dengan ekstrak n-heksan. Ekstraks n-heksan diuapkan kembali dengan rotary evaporator sampai diperoleh ekstrak kental. Dari 60 gram ekstrak metanol yang diekstrak lebih lanjut diperoleh fraksi etil asetat, fraksi air dan fraksi n-heksan yang beratnya dapat dilihat pada tabel 2 berikut ini.

Tabel 2 Berat ekstrak hasil maserasi dan fraksinasi

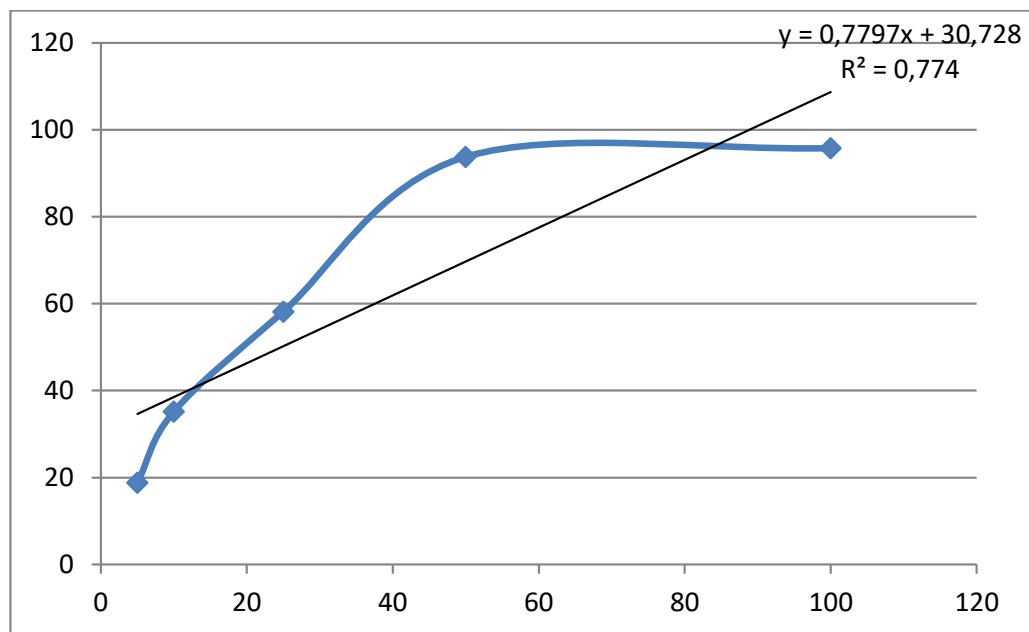
No	Ekstrak	Berat dalam gram)
1	Metanol	60
2	Etil asetat	9,98
3	Air	32,91
4	n-heksan	4,01

Ekstrak yang diperoleh dari tabel 2 di atas selanjutnya dilakukan pengujian antioksidan untuk melihat fraksi yang terbaik antioksidannya. Hasil pengujian antioksidan dan nilai *inhibitor concentration 50* (IC50) terhadap ekstrak air, etil asetat dan n-heksan, dapat dilihat pada gambar 2, 3 dan 4 berikut ini.



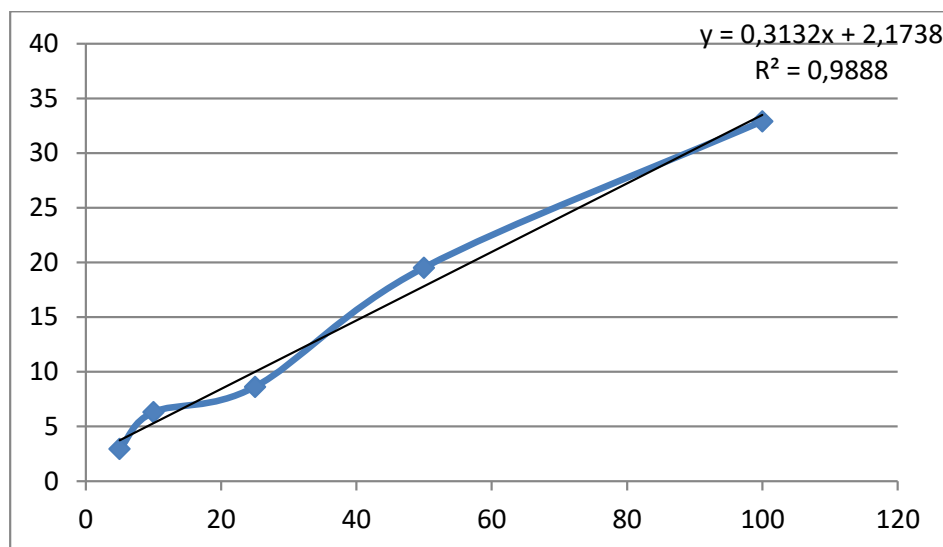
Gambar 2 Hasil uji aktivitas antioksidan ekstraks air dengan IC50 31,72

Di bawah ini adalah gambar grafik hasil pengujian antioksidan untuk fraksi etil asetat.



Gambar 3. Hasil uji aktivitas antioksidan ekstraks etil asetat dengan IC 50 24,75

Hasil pengujian aktivitas antioksidan untuk fraksi n-heksan dapat dilihat pada gambar berikut ini



Gambar 4. Hasil uji antioksidan ekstrak n-heksan dengan IC50 152,80

Nilai IC50 merupakan konsentrasi larutan substrat atau sampel yang mampu mereduksi aktivitas DPPH sebesar 50% atau konsentrasi antioksidan ($\mu\text{g/mL}$) yang mampu menghambat 50% radikal bebas. Nilai IC50 diperoleh dari perpotongan garis antara 50% daya hambatan dengan sumbu konsentrasi [2]. Semakin kecil nilai IC50 berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan. Secara spesifik suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC50 kurang dari 50 ppm ($\text{IC}_{50} < 50 \text{ ppm}$), kuat ($50 \text{ ppm} < \text{IC}_{50} < 100 \text{ ppm}$), sedang ($100 \text{ ppm} < \text{IC}_{50} < 150 \text{ ppm}$), lemah ($150 \text{ ppm} < \text{IC}_{50} < 200 \text{ ppm}$), dan sangat lemah ($\text{IC}_{50} > 200 \text{ ppm}$) (Molyneux, 2004). Berdasarkan gambar di atas nilai IC50 yang lebih kecil dari 50ppm yang berarti memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat. Nilai IC50 yang paling kuat terdapat pada ekstrak metanol yaitu 19,09. Hal ini dapat terjadi karena ekstrak metanol adalah ekstrak kasar (*crude extract*) yang pertama kali diperoleh dari hasil maserasi yang mengandung semua zat bioaktif yang terdapat di dalam daun halban tersebut.

Ekstrak yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi kedua adalah ekstrak etil asetat dengan nilai IC50 24,75. Hal ini dikarenakan ekstrak etil asetat telah mengalami beberapa pemisahan (fraksinasi dengan pelarut) zat bioaktif yang terdapat di dalam fraksi etil asetat semakin berkurang dibandingkan dengan ekstrak metanol. Hasil skrining fitokimia pada ekstrak etil asetat menunjukkan bahwa fraksi etil asetat hanya mengandung senyawa fenolik.

Untuk ekstrak air, memiliki urutan aktivitas antioksidan tertinggi yang ketiga dengan nilai IC50 sebesar 31,72 hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak air mengandung senyawa bioaktif triterpenoid. Sedangkan ekstrak n-heksan memiliki aktivitas antioksidan yang lemah dengan nilai IC50 sebesar 152,80.

Untuk uji toksisitas yang dilakukan terhadap sampel fraksi etil asetat dengan metode BSLT menunjukkan bahwa dari sepuluh sampel yang diuji, hanya sampel fraksi ke delapan yang memiliki toksisitas yang paling baik seperti yang terlihat pada tabel 3 berikut ini.

Tabel 3. Nilai LC50 untuk fraksi etil asetat

No Fraksi	Fraksi	LC50
1	VDH1	1630
2	VDH2	1253
3	VDH3	9230
4	VDH4	1242
5	VDH5	1123
6	VDH6	-2570
7	VDH7	1040
8	VDH8	59,41
9	VDH9	-2310
10	VDH10	-2410

Dari tabel 3 di atas terlihat bahwa nilai *Lethal Concentration 50* (LC50) untuk fraksi etil asetat yang paling baik adalah fraksi ke delapan dengan nilai LC50 sebesar 59.41. Menurut [6] jika konsentrasi LC 50 adalah 0-30 ppm maka zat tersebut bersifat anti kanker, 30-200ppm sebagai anti bakteri dan 200-1000ppm sebagai pestisida. Jadi tidak semua tanaman bersifat sebagai anti kanker, anti bakteri ataupun pestisida. Uji toksisitas dilakukan untuk mengetahui apakah tanaman tersebut berpotensi untuk dikembangkan sebagai obat anti kanker, anti bakteri atau sebagai pestisida alami.

4. Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan terhadap empat jenis fraksi dari daun halban (*Vitex pinnata* Linn), maka diperoleh kesimpulan antara lain yaitu dari 4 jenis fraksi yang di uji maka aktivitas antioksidan yang diperoleh masing-masing mulai yang tertinggi sampai yang terendah adalah fraksi metanol, fraksi etil asetat, fraksi air dan fraksi n-heksan. Nilai IC50 masing-masing secara berurutan yaitu 19,09, 24,75, 31,72 dan 152,80. Nilai LC50 untuk fraksi etil asetat adalah 59.41.

Referensi

- [1] Burkill, I. H. (1966) *A Dictionary of The Economic Products of The Malay Peninsula*, Vol. II, Ministry of Agriculture and Cooperative, Kuala Lumpur
- [2] Chakraborty, K., N. K. Praveen, K. K. Vijayan and G. S. Rao. (2013). *Evaluation of Phenolic Content and Antioxidant Activities of Brown Seaweed Belonging to Turbinaria spp. (Phaeophyta, Sargassaceae) Collected from Gulf of Mannar*. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 3(1) : 8-16.
- [3] Mahmoudi, Souhila *et al* (2015) *Phenolic and flavonoid contents, antioxidant and antimicrobial activities of leaf extracts from ten Algerian Ficus carica L. Varieties*. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine
- [4] Mastura dan Sarjani (2016) *Kajian Etnobotani dan Skrining Fitokimia tanaman antidabetes yang populer di Langsa Aceh*. Prosiding Seminar Nasional Universitas Sumatera Utara
- [5] Mastura, dkk (2017) *Senyawa Fenolik Dari Daun Halban (Vitex pinnata Linn) Sebagai Antioksidan*. Prosiding Seminar Nasional Universitas Mulawarman
- [6] Meyer *at al* (1982) *Brine Shrimp : A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents*, Journal Medical Plant Research, Hippokrates Verlag GmbH, Vol 45, pp 31-34
- [7] Molyneux, P. (2004). *The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazil (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity*. Songklanakarin J. Science Technology, 26 (2) : 211-219.
- [8] Ogata, Y., Kasahara, Y., and Iwasaki, T. (1995) *Medicine Herb Index Indonesia*, Second edition, Eisai Indonesia.
- [9] Suksamrarn, A., and Sommechai, C. (1993) *Ecdysteroids from Vitex pinnata*, *Phytochemistry*, 32 (2), 303-306
- [10] Suksamrarn, A., Sommechai, C., Charulpong, P., and Chitkul, B. (1995) *Ecdysteroids from Vitex canescens*, *Phytochemistry*, 38 (2), 473-476
- [11] Winarsi, H, 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Kanisius, Yogyakarta.