

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN TOKSISITAS EKSTRAK AKAR TANAMAN *Amaranthus spinosus*

M.Almurdani*, Christine Jose, Hilwan Yuda Teruna

Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau
Kampus Binawidya KM 12,5 Simpang Baru Pekanbaru, 28293, Indonesia
Email :malmurdani@yahoo.com

Abstract

The aim of this study was to determine the antioxidant and toxicity activities of *n*-hexane, ethyl acetate and methanol root extracts of *Amaranthus spinosus* (family: *Amaranthaceae*). Antioxidant activities of the crude extracts was assessed by means of DPPH free radical scavenging method used ascorbic acid as standard with IC_{50} value was 43.22 $\mu\text{g/mL}$. *A. spinosus* showed ethyl acetate extract demonstrated the good antioxidant activity with IC_{50} value of 72,08 $\mu\text{g/mL}$. The *n*-hexane and methanol extract were not active antioxidant. The Brine shrimp lethality bioassay method was used to determine the cytotoxicity activities. The LC_{50} values of *n*-hexane, ethyl acetate and methanol extracts were 10.14, 40.23, and 120.18 $\mu\text{g/mL}$, respectively.

Keywords: *Amaranthus spinosus*, antioxidant, DPPH, toxicity

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan toksisitas ekstrak *n*-heksana, etil asetat dan metanol akar *Amaranthus spinosus* (family: *Amaranthaceae*). Aktivitas antioksidan dari ekstrak total ditentukan dengan metode radikal bebas DPPH dimana asam askorbat sebagai standar dengan nilai IC_{50} adalah 43,22 $\mu\text{g/mL}$. Ekstrak etil asetat *A. spinosus* menunjukkan aktivitas antioksidan yang baik dengan nilai IC_{50} 72,08 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan ekstrak *n*-heksana dan metanol tidak aktif. Aktivitas toksisitas ditentukan dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) Nilai LC_{50} ekstrak *n*-heksana, etil asetat dan metanol masing-masing adalah 10,14; 40,23; dan 120,18 $\mu\text{g/mL}$.

Kata Kunci: *Amaranthus spinosus*, antioksidan, DPPH, toksisitas

PENDAHULUAN

Bayam berduri (*Amaranthus spinosus*) adalah salah satu tanaman obat yang tersebar di Amerika, India dan Asia Tenggara. Tanaman ini biasanya tumbuh secara liar di semak-semak, di pingir jalan, tempat pembuangan sampah, halaman rumah dengan ketinggian 50-100 cm (Kumar *et al.*, 2000). Berdasarkan hasil wawancara dengan masyarakat tradisional suku Talang Mamak Desa Durian Cacar Kabupaten Indragiri Hulu, Riau diperoleh informasi bahwa daun dan akar bayam berduri dapat dijadikan obat batuk, asma, peluruh haid, penurun panas, bisul, penghilang bengkak, kudis, meningkatkan ASI, antiracun hewan berbisa

seperti ular, lebah, kalajengking, lipan dan hewan berbisa lainnya.

Daun dan akar *A. spinosus* dapat digunakan sebagai obat tapal memar, luka bakar, luka peradangan, kencing nanah, dan eksim (Hussain *et al.*, 2009).



Gambar 1. *A. spinosus* yang ditanam di kebun KOMPPPOS-EM FMIPA UR

Uji toksisitas ekstrak kloroform, *n*-heksana dan ekstrak etil asetat daun *A.*

Spinosus terhadap larva *Artemia salina* menunjukkan nilai IC₅₀: 18,15; 29,51; dan 18,15 µg/mL untuk masing-masing ekstrak. Uji aktivitas antioksidan dari ekstrak kloroform, *n*-heksana dan etil asetat daun *A. spinosus* dengan menggunakan metode DPPH. Semua ekstrak menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat, dimana ekstrak etil asetat menunjukkan aktivitas antioksidan yang paling baik dengan IC₅₀: 53,68 µg/mL (Ishrat *et al.*, 2012).

Penelitian tersebut menunjukkan bahwa tanaman *A. spinosus* dapat digunakan sebagai sumber antioksidan. Senyawa-senyawa yang mempunyai potensi sebagai antioksidan umumnya merupakan senyawa flavonoid dan fenolik. Senyawa flavonoid dan polifenol bersifat antioksidan, antidiabetik, antikanker, antiseptik, dan antiinflamasi, sedangkan senyawa alkaloid bersifat menghambat pertumbuhan sel-sel kanker (Sudewo, 2005). *A. spinosus* digunakan sebagai obat tradisional oleh suku Talang Mamak, oleh karena itu perlu dilakukan pembuktian apakah tanaman ini mengandung senyawa yang memiliki aktivitas biologis. Pada penelitian ini akan dilakukan uji antioksidan dan toksisitas terhadap ekstrak metanol, etil asetat dan *n*-heksana dari akar tanaman *A. spinosus*.

BAHAN DAN METODA

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah akar tanaman *A. spinosus* yang ditanam di KOMPOS-EM FMIPA Universitas Riau. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah: *Freeze Dryer* (Edward®), destilator, *rotary evaporator*, *microplate reader 96 well* (Berthold) dan alat-alat gelas yang umum digunakan di laboratorium. Pelarut, *n*-heksana, etil asetat, metanol, air laut, larva udang, *2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH), dan asam askorbat.

Ekstraksi Sampel

Akar *A. spinosus* yang telah dipotong-potong kecil, dikeringkan dalam *freeze dryer* pada suhu -40°C. Akar *A. spinosus* yang sudah halus dimaserasi beberapa kali menggunakan pelarut *n*-heksana hingga maserat yang diperoleh tidak berwarna lagi. Maserat dikumpulkan dan pelarutnya diuapkan dengan alat *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental *n*-heksana. Residu dikeringkan sampai pelarut *n*-heksana menguap dan kemudian dimaserasi dengan etil asetat. Maserat dikumpulkan dan pelarutnya diuapkan dengan alat *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental etil asetat.

Hal yang sama juga dilakukan untuk memperoleh ekstrak metanol.

Uji Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan *microplate reader two fold delution* dengan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl*) (Zhang *et al.*, 2006) pada panjang gelombang 520 nm. Sampel sebanyak 2 mg dilarutkan dalam 2 mL MeOH sehingga konsentrasi sampel menjadi 1000 µg/mL. Baris A dimasukkan sampel sebanyak 100 µL (*plate* terdiri dari baris A-H masing-masing berjumlah 12 sumur). Sebanyak 50 µL MeOH dimasukkan pada masing-masing sumur pada baris B-F. Baris A dipipet sebanyak 50 µL dan dimasukkan ke baris B, baris B dipipet 50 µL dimasukkan ke baris C dan dilakukan sampai baris F, baris F dipipet 50 µL lalu dibuang, sehingga diperoleh konsentrasi 1000, 500, 250, 125, 62.5 dan 31.25 µg/mL. Sedangkan pada baris G-H diisi dengan MeOH 50 µL, khusus pada baris H diisi hanya sumur 1-6. Baris A-G ditambahkan DPPH sebanyak 80 µL dengan konsentrasi 40 µg/mL, kemudian diinkubasi selama 30 menit. Aktivitas pengkapan radikal diukur sebagai penurunan absorbansi DPPH dengan *microplate reader* dan olah data. Kontrol positif yang digunakan sebagai pembanding yaitu asam askorbat dengan konsentrasi 50 µg/mL. Nilai % inhibisi dihitung dengan rumus sebagai berikut:

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

Ket: A_{kontrol} = Absorbansi tidak mengandung sampel
A_{sampel} = Absorbansi sampel

Uji Toksisitas

Uji toksisitas dilakukan berdasarkan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) (Carballo *et al.*, 2002). Vial yang digunakan untuk uji toksisitas dikalibrasi dengan standar volume 5 mL. Ekstrak total *n*-heksana, etil asetat dan metanol masing-masing sebanyak 20 mg dan dilarutkan dengan metanol sebanyak 20 mL maka didapatkan larutan induk ekstrak uji dengan konsentrasi 10.000 µg/mL. Larutan induk dengan konsentrasi 10.000 µg/mL tersebut dipipet sebanyak 0,5 mL ke dalam vial uji hingga diperoleh konsentrasi 1.000 µg/mL setelah penambahan air laut sebanyak 5 mL. Pembuatan konsentrasi 100 µg/ml dengan cara pengenceran larutan induk 10.000 µg/mL sebanyak 0,5 mL ditambahkan metanol hingga 5 mL maka diperoleh konsentrasi ekstrak uji 1000 µg/mL kemudian dipipet

0,5 mL larutan ekstrak uji tersebut ke dalam vial uji hingga nantinya didapat konsentrasi 100 µg/mL setelah penambahan air laut hingga 5 mL, dan untuk konsentrasi 10 µg/mL dibuat dari larutan uji 100 µg/mL dengan cara yang sama. Metanol dalam masing-masing vial uji dibiarkan menguap. Senyawa uji dilarutkan kembali dengan 50 µL DMSO, selanjutnya air laut ditambahkan hampir mencapai batas kalibrasi.

Sebanyak 10 ekor larva udang dimasukkan ke dalam masing-masing vial yang telah berisi air laut dan kemudian ditambahkan lagi beberapa tetes air laut sampai batas kalibrasi. Kematian larva udang diamati setelah 24 jam. Data yang diperoleh dihitung LC₅₀ dengan metode probit.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji antioksidan metode DPPH dengan menggunakan *microplate reader* terhadap ekstrak *n*-heksana, etil asetat dan metanol dapat dilihat pada Tabel 1. Ekstrak etil asetat mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai IC₅₀: 72,0824 µg/mL.

Hasil uji toksisitas dengan metode *Brine Shrimps Lethality Test* (BSLT) dapat dilihat pada Tabel 2. Ekstrak *n*-heksana memiliki toksisitas yang lebih kuat dibanding ekstrak lainnya dengan LC₅₀: 4.67 µg/mL.

Uji aktivitas antioksidan ekstrak akar bayam berduri dengan metode DPPH menggunakan alat *Microplate reader 96 well* pada panjang gelombang 520 nm dengan metode *two fold dilution*. DPPH (*difenil pikril hidrazil*) menghasilkan radikal bebas aktif bila dilarutkan dalam alkohol. Absorbansi berkurang ketika radikal bebas DPPH dihambat oleh antioksidan melalui donor hidrogen untuk membentuk DPPH stabil. Reaksi tersebut menyebabkan terjadinya perubahan warna dari ungu menjadi kuning (Molyneux, 2004).

Pada pengujian anti radikal bebas DPPH terhadap ekstrak akar *A. spinosa* dengan asam askorbat sebagai pembanding positif menunjukkan bahwa konsentrasi penghambatan 50% terhadap radikal bebas

DPPH ekstrak etil asetat: 72,08 µg/mL sedangkan ekstrak metanol dan *n*-heksana: >1000 µg/mL. Asam askorbat digunakan sebagai pembanding positif mempunyai IC₅₀: 43,22 µg/mL. Asam askorbat berfungsi sebagai antioksidan sekunder, sama dengan cara kerja vitamin E yaitu menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai (Praptiwi *et al.*, 2006). Dari data hasil uji menunjukkan bahwa adanya senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak etil asetat mampu menangkalkan radikal bebas, karena pelarut etil asetat merupakan pelarut semi polar sehingga senyawa semi polar seperti flavonoid dan fenolik tertarik oleh pelarut etil asetat.

Ekstrak *A. spinosa* ditemukan mengandung hidroksisinamat, kuersetin dan kaempferol glikosida. Senyawa-senyawa tersebut memiliki aktivitas antioksidan (Florian *et al.*, 2004). Selain itu juga terdapat kemungkinan adanya komponen lain yang bersifat sebagai antioksidan seperti kandungan vitamin yang berfungsi sebagai antiradikal bebas DPPH.

Uji toksisitas yang dilakukan dengan metode *Brine Shrimps Lethality Test* (BSLT) menggunakan larva *Artemia salina* Leach terhadap ekstrak total *n*-heksana, etil asetat, dan metanol menghasilkan suatu data (Tabel 2) yang kemudian diolah dengan metode probit untuk menentukan nilai LC₅₀. Hasil analisis data diperoleh nilai LC₅₀ untuk ekstrak total *n*-heksana: 10,14 µg/mL, ekstrak total etil asetat 40,23 µg/mL, dan ekstrak metanol: 120,18 µg/mL. Hal ini menunjukkan bahwa semua ekstrak mempunyai sifat sangat toksik terhadap uji kematian larva udang, karena suatu sampel dianggap toksik terhadap uji kematian larva udang jika konsentrasi maksimum 1000 µg/mL dengan LC₅₀ ≤ 500 µg/mL (Meyer *et al.*, 1982). Suatu senyawa dikatakan aktif jika LC₅₀ sebesar ≤ 250 µg/mL dan maksimal konsentrasi 500 µg/mL (Meyer *et al.*, 1982). Dari hasil uji toksisitas ketiga ekstrak tersebut, ekstrak *n*-heksana mempunyai aktivitas toksisitas yang kuat. Hal ini disebabkan ekstrak *n*-heksana banyak mengandung minyak esensial yang dapat menghambat pertumbuhan sel larva *Artemia salina*.

Tabel 1. Pengukuran antioksidan dengan DPPH

Ekstrak	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Rata-rata Absorbansi	%	IC50 ($\mu\text{g/mL}$)
N-heksana	1000	0,154	46,84	> 1000
	500	0,197	15,21	
	250	0,199	14,1	
	125	0,202	11,53	
	62.5	0,214	2,698	
	31,25	0,216	1,594	
Etil Asetat	1000	0,112	77,56	72,08
	500	0,144	54,57	
	250	0,161	41,51	
	125	0,179	28,45	
	62.5	0,196	15,94	
	31,25	0,199	14,1	
Metanol	1000	0,155	45,92	> 1000
	500	0,185	24,4	
	250	0,197	15,57	
	125	0,198	15,59	
	62.5	0,204	10,06	
	31,25	0,203	10,00	
Asam Askorbat	200	0,113	60.54	43.22
	100	0,132	57.44	
	50	0,142	53.72	

Tabel 2. Uji toksisitas dengan metode BSLT

Ekstrak	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	% Kematian	Nilai Probit	LC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
N-Heksana	10	66,67	5,41	10,14
	100	86,67	6,13	
	1000	100,00	7,37	
Etil Asetat	10	33,33	4,56	40,23
	100	56,67	5,18	
	1000	90,00	6,28	
Metanol	10	33.33	4,56	120,18
	100	40.00	4,75	
	1000	76.67	5,74	

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat dilihat bahwa ekstrak etil asetat akar tanaman *A. spinosus* mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai IC₅₀: 72.08 $\mu\text{g/mL}$

sedangkan ekstrak *n-heksana* dan metanol tidak aktif terhadap DPPH. Semua ekstrak akar tanaman *A. spinosus* mempunyai aktivitas toksisitas hal ini dapat dilihat dari nilai LC₅₀ < 250 $\mu\text{g/mL}$.

DAFTAR PUSTAKA

- Carballo, J., Hernández-Inda, Z., Pérez, P., & García-Grávalos, M. 2002. A comparison between two brine shrimp assays to detect in vitro cytotoxicity in marine natural products. *BMC Biotechnology* **2(1)**: 1-7.
- Florian., CS, Dietmar Kammmerer, Shiebera., A, Adamab., H, Odile., & G, Carlea. R. 2004. Betacyanins and phenolic compound from *amaranthus spinosus*. and *boerhavia erecta*. *Journal of Natural Product Research* **59**: 1-8.
- Hussain. Z, Amresh., G, Rao., & CV, Satyawati Singh. 2009. Antinociceptive activity of *amaranthus spinosus* in experimental animals. *Journal of Ethnopharmacology* **8**: 21-26.
- Ishrat, J, Laizuman., Farhana., & AP, Obaydul. 2012. Antibacterial, cytotoxic and antioxidant activity of chloroform, *n*-hexane and ethyl acetate extract of plant *amaranthus spinosus*. *International Journal of PharmTech Research* **3(3)**: 1675-1680.
- Kumar, B.S.A., Lakshman, K., & Jayaveera, K.N. 2011. Comparative antipyretic activity of methanolic extract of some species of *amaranthus*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* **2**: 47-50.
- Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journals Songklanakarin Science Technology* **26**: 212-219.
- Praptiwi, Dewi., & Harapini, M. 2006. nilai peroksida dan aktivitas antiradikal bebas diphenyl picril hidrazil hydrate (DPPH) ekstrak metanol *knema laurina*. *Majalah Farmasi Indonesia*, **17(1)**: 32-36.
- Sharma, K., Kotoky, J., Kaustav, K, & Jibon K. 2012. Antifungal activity of *amaranthus spinosus* against dermatophytes. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. **2**: 1-5
- Zhang, Q., Zhang, J., Shen, J., Silva, A., Dennis, DA., & Barrow, CJ. 2006. A simple 96-well microplate method for estimation of total polyphenol content in seaweeds. *Journal of Applied Phycology* **18**: 445-450.