

SENYAWA BIOAKTIF, AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN TOKSISITAS EKSTRAK BENALU BATU (*Paraboea Sp*)

Fujiati^{1,2}, Isnaini^{2,3}, Anisa Feby Insan Nirmala⁴, Adinda Maulidya Safira⁴, Putri⁴

¹Departemen Biokimia dan Biomolekuler Fakultas Kedokteran,
Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru, Indonesia

²Program Studi Ilmu Kedokteran Program Doktor Fakultas Kedokteran,
Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru, Indonesia

³Departemen Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru,
Indonesia

⁴Program Studi Kedokteran Program Sarjana Fakultas Kedokteran Universitas Lambung
Mangkurat, Banjarbaru, Indonesia

Email korespondensi: dr.fujiati@ulm.ac.id

ABSTRAK

Latar Belakang: Komponen antioksidan dalam tumbuhan penting untuk pencegahan beberapa penyakit dan peningkatan kualitas kesehatan. Salah satu tanaman yang belum banyak dieksplorasi kandungan senyawa bioaktif bersifat antioksidan adalah tumbuhan Benalu batu (*Paraboea sp*). *Paraboea sp* adalah salah satu tumbuhan yang tumbuh di bebatuan kapur yang ada di Kalimantan Selatan yang secara empirik sudah lama digunakan masyarakat sebagai obat.

Tujuan: Analisis senyawa bioaktif yang ada di dalam ekstrak etanol daun *Paraboea sp*, aktivitas antioksidan, dan uji toksisitas.

Metode: Senyawa bioaktif ekstrak benalu batu dianalisis secara kuantitatif, aktivitas antioksidan dianalisis dengan aktivitas khelasi logam dan radikal hidroksil. Toksisitas ekstrak dianalisis dengan dosis LC50 terhadap kelangsungan hidup Artemia.

Hasil: Kandungan flavonoid ($463 \pm 0,250$ mg/mlQE), triterpenoid ($182,467 \pm 0,577$ mg/ml), steroid ($86,654 \pm 0,163$ mg/ml), fenolik ($10,533 \pm 0,176$ mg/ml). Aktivitas khelasi logam ($51,055 \pm 0,365$ %), aktivitas khelasi radikal hidroksil ($15,477 \pm 0,152$ %). Toksisitas ekstrak daun benalu batu terhadap artemia adalah LC50 983 (95% CI 882,773 -1122,011).

Pembahasan: Ekstrak mengandung senyawa bioaktif flavonoid, triterpenoid, steroid dan fenolik yang berpotensi mempunyai aktivitas antioksidan. Aktivitas tinggi khelasi logam dan khelasi radikal hidroksil berhubungan dengan kandungan senyawa bioaktif dari ekstrak, yang dapat mengurangi efek merugikan kerusakan sel karena kelebihan logam dan radikal hidroksil. Meskipun toksisitas ekstrak yang diperiksa tidak bersifat toksik.

Simpulan: tanaman *paraboea sp* kaya akan senyawa bioaktif yang dapat berkontribusi terhadap tingginya aktivitas antioksidan dan mencegah kerusakan sel sebagai khelator yang dapat digunakan sebagai suplemen antioksidan.

Kata-Kata kunci: antioksidan, benalu batu, *Paraboea sp*, senyawa bioaktif, toksisitas

Pendahuluan

Tanaman telah diakui sebagai hal yang penting dalam kesehatan manusia dikaitkan dengan penurunan kejadian berbagai penyakit kronis, aterosklerosis, inflamasi, diabetes, dan jenis kanker tertentu. Efek menguntungkan ini sebagian disebabkan oleh senyawa dengan kapasitas antioksidan. Antioksidan eksogen diperlukan untuk menyeimbangkan antioksidan endogen yang tidak mencukupi. Berbagai penyakit memerlukan asupan antioksidan eksogen untuk mencegah kerusakan sel yang disebabkan peningkatan radikal bebas.^{1,2,3}

Pembentukan radikal bebas dikaitkan dengan metabolisme alami normal sel aerobik. Konsumsi oksigen yang melekat pada pertumbuhan sel menyebabkan pembentukan serangkaian radikal bebas oksigen. Interaksi spesies ini dengan molekul yang bersifat lipid menghasilkan radikal baru, hidroperoksida, dan peroksida berbeda, yang dapat berinteraksi dengan sistem biologis dengan cara yang bersifat sitotoksik.⁴ Banyak senyawa antioksidan yang diketahui, seperti flavonoid, triterpenoid, fenolik, steroid, dan alkaloid.^{5,6} Salah satu tanaman yang mengandung triterpenoid adalah ekstrak *paraboea sp.*⁷

Flavonoid, triterpenoid, fenolik, steroid, dan alkaloid memiliki aktivitas antioksidan yang signifikan terhadap radikal superoksida, hidroksil, dan peroksida, yang terutama disebabkan oleh sifat redoks gugus hidroksil fenoliknya.^{8,9}

Secara tradisional, ekstrak daun *Paraboea sp* telah digunakan dalam pengobatan tradisional untuk mengobati penyakit kanker.¹⁰ Ekstrak seringkali dikonsumsi tanpa kontrol. Namun,

keamanannya tidaklah sama, dan beberapa metabolit sekunder diketahui menunjukkan toksisitas pada tanaman selama ekstraksi. Oleh karena itu penting untuk memperkirakan dan memahami potensi tanaman tersebut. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisis senyawa bioaktif utama dan menilai aktivitas antioksidan sertatoksitas dalam ekstrak daun *paraboea sp.*

Metode Penelitian Ekstraksi.

Simplisia daun kering *Paraboea sp* sebanyak 20 gram dimaserasi dengan pelarut etanol 70%, selanjutnya ditutup dan direndam selama 6 jam pertama lalu diaduk, dilanjutkan tutup kembali dan diamkan selama 8 jam. simplisia di peras dan filtrat diambil, sekurangnya 2x pengulangan dengan jenis dan jumlah pelarut yg sama. Filtrat dikumpulkan kemudian uapkan pelarutnya dengan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak kental.¹¹

Analisis kuantitatif senyawa bioaktif

Analisis kuantitatif senyawa bioaktif/ skrining fitokimia menggunakan cara Abbas *et al.*⁵ Senyawa yang diidentifikasi adalah flavonoid, fenolik, steroid, alkaloid, triterpenoid dan tannin

Pengukuran Aktivitas antioksidan

Aktivitas scavenging radikal hidroksil dan aktivitas chelating logam diukur dengan metode dinis.⁵

Uji Toksisitas

Penyiapan hewan larva udang

(*Artemia salina* Leach). Beaker glass tempat penetasan udang disiapkan dan dimasukkan air laut dengan salinitas 35% (diukur dengan menggunakan refractometer salt). Sebanyak 50-100 mg telur udang dimasukkan ke dalam beaker glass yang terdapat air laut dan ditutup sebagian. Diamkan selama 2x24 jam. Setelah 2 hari. Hewan uji yang diambil adalah hewan uji yang berumur 24 jam.

Uji toksisitas. Tabung uji disiapkan sebanyak 30 buah. Air laut sebanyak 20 ml dimasukkan ke semua tabung uji. Semua tabung diberi label. Larutan ekstrak disiapkan dengan konsentrasi 10 µg/mL, 100 µg/mL, 250 µg/mL, 500 µg/mL dan 1000µg/ml .Sebanyak 10 ml larutn ekstrak dimasukkan ke dalam tabung uji. Sebagai kontrol negatif digunakan air laut dan DMSO 1%. Selanjutnya setiap tabung uji ditambahkan larva udang sebanyak 20 ekor. Kemudian didiamkan 1x24 jam. Setelah 24 jam dihitung jumlah larva yang masih bergerak aktif.¹² Prosentasi kematian dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ Kematian} = (\text{kontrol-sampel}) / \text{kontrol} \times 100$$

Hasil Senyawa Bioaktif

Senyawa bioaktif hasil skrining kuantitatif fitokimia ekstrak benalu batu (*Paraboea sp*) seperti pada tabel 1 berikut:

Tabel 1. Senyawa bioaktif ekstrak daunbenalu batu (*Paraboea sp*)

No	Senyawa	Kadar
1.	Flavonoid	463±0,250 mg/mlQE
2.	Fenolik	10,533±0,176 mg/ml
3.	Triterpenoid	182,467 ± 0,577 mg/ml
4.	Steroid	86,654 ± 0,163 mg/ml
5.	Alkaloid	20,757±0,153 %
6.	Saponin	35,367±0,401 %
7.	Tannin	1,259±0,074 mg/ml GAE

Pada Tabel 1 menggambarkan kandungan senyawa bioaktif dari ekstrak dengan kadar paling tinggi ada 3 senyawa yaitu flavonoid, triterpenoid dan steroid. Senyawa metabolit sekunder yang dapat larut dalam pelarut non polar yaitu steroid dan terpenoid. Dalam penelitian ini terpenoid ditemukan di fraksi etanol. Diduga karena adanya ikatan hidrogen antara terpenoid yang memiliki gugus hidroksil dengan etanol mengakibatkan senyawa tersebut tertarik oleh etanol. Senyawa yang bersifat semi polar yaitu senyawa golongan fenolik termasuk flavonoid.

Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan ditentukan dengan metode Dinnis dan diekspresikan sebagai potensi (%) (tabel 2). Ekstrak daun *paraboea sp* mempunyai potensi antioksidan tinggi sebagai khelating logam.

Tabel 2. Rerata Aktivitas antioksidan ekstrakdaun *paraboea sp*

No	Aktivitas Antioksidan	Potensi (%)
1	Chelating logam	51,055±0,365
2	Scavenging •OH	15,477±0,152

Toksisitas

Estimasi nilai toksisitas diekspresikan sebagai LC50. Kemampuan ekstrak dalam mematikan larva udang sebanyak 50%. Nilai probit menunjukkan LC50 ekstrak adalah 983 ppm.

Menurut Tanamatayarat (2016), nilai LC50: 100-1000 ppm digolongkan sebagai kurang toksik. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak daun benalu batu mempunyai nilai LC50 983 (95% CI 882,773 -1122,011).

Berdasarkan dari nilai tersebut ekstrak daun benalu batu dapat dikonsumsi oleh masyarakat.

Pembahasan

Senyawa bioaktif

Hasil analisis senyawa bioaktif pada Tabel 1 menunjukkan bahwa tanaman ini kaya akan flavonoid, triterpenoid dan steroid dengan jumlah tannin yang rendah. Jumlah total flavonoid adalah 463 mg/mlQE dan merupakan senyawa bioaktif tertinggi. Flavonoid sebagai metabolit sekunder relatif paling tinggi pada tanaman dengan aktivitas antioksidan mungkin berguna dalam peran terapeutik. Senyawa ini mampu mencegah pembentukan radikal bebas dengan mengkhelat logam.⁹ Kandungan senyawa bioaktif triterpenoid mempengaruhi kapasitas antioksidan. Kolniak-Ostek *et al.*, menemukan aktivitas antioksidan senyawa triterpenoid tinggi dalam tanaman.¹³ Triterpenoid dan steroid dapat mengurangi pembentukan radikal bebas dengan memutus reaksi berantai dan mengubahnya menjadi produk stabil.¹⁴

Aktivitas Antioksidan

Radikal bebas dan spesies oksigen reaktif (ROS) yang mencakup hidroksil, superoksida anion, dan hidrogen peroksida adalah produk alami dalam reaksi oksidatif di metabolisme. Pada konsentrasi seluler yang rendah, ROS memiliki efek menguntungkan dalam peran fisiologis seperti respon seluler, misalnya dalam pertahanan terhadap agen infeksi. Sebaliknya, konsentrasi sel yang tinggi mempunyai efek berbahaya. Mereka dihasilkan sebagai respons terhadap sinyal stres yang diinduksi sitokin. Radikal bebas yang dihasilkan dapat bereaksi dengan berbagai substrat biologis, misalnya lipid, DNA, dan protein menciptakan stres oksidatif pada sel normal yang terkait erat dengan berbagai gangguan kesehatan seperti kanker.¹⁵

Radikal hidroksil adalah radikal bebas yang sangat reaktif yang terbentuk dalam sistem biologis. Radikal ini terbentuk dari reaksi berbagai hidrogen peroksida dengan ion logam transisi, yaitu mampu merusak hampir setiap molekul yang ditemukan pada sistem makhluk hidup menyebabkan peroksidasi lipid dan kerusakan biologis. Ekstrak etanol daun *Paraboea sp* menunjukkan kemampuan untuk meredam radikal hidroksil (Tabel 2) sebesar 15,477%, yang dapat meredam kecepatan reaksi berantai pembentukan radikal bebas. Kemampuan ekstrak mengikat logam sebesar 51,055% menunjukkan ekstrak dapat sebagai sumber antioksidan alami. Komponen biaktif ekstrak etanol daun *Paraboea sp*

adalah senyawa flavonoid. Sifat antioksidan dari flavonoid berasal dari kemampuan untuk mentransfer sebuah elektron ke senyawa radikal bebas dan juga membentuk kompleks dengan logam. Mekanisme kerja flavonoid dalam melindungi tubuh terhadap efek radikal bebas adalah dengan mengurai oksigen radikal, melindungi sel dari peroksidasi lipid, memutuskan rantai reaksi radikal, mengikat ion logam dari kompleks inert sehingga ion logam tersebut tidak dapat berperan dalam proses konversi superoxide radicals dan hidrogen peroksida menjadi radikal hidroksil, mengurangi peningkatan permeabilitas vaskuler pada saat peradangan, memblokir jalur sorbitol, menginhibisi aldose reduktase.¹⁶

Flavonoid berperan sebagai antioksidan terutama dengan mengkelat ion logam. Ion logam membantu menghasilkan radikal bebas melalui reaksi biokimia. Hal ini disebabkan flavonoid memiliki gugus hidroksil dan karbonil, sehingga mudah mengkelat ion logam untuk membentuk kompleks. Pembentukan khelat mencegah pembentukan radikal bebas yang dimediasi logam. Oleh karena itu, kerja antioksidan flavonoid adalah dengan mengkelat dan mengasingkan ion logam yang bertanggung jawab untuk produksi spesies oksigen reaktif (ROS).⁹

Penelitian ini menjelaskan bahwa antioksidan alami dari tanaman berperan pada pengaturan jalur seluler yang berbeda yang dapat mempromosikan kesehatan manusia. Kemampuan ekstrak daun *paraboea sp* mengikat logam dan

mempunyai aktivitas antioksidan sedang dimungkinkan karena kandungan senyawa yang bersifat antioksidan seperti saponarin.¹⁷

Toksitas

Berdasarkan hasil pengamatan yang telah dilakukan, maka diperoleh LC50=983 ppm. Menurut Tanamatayarat (2016), LC50 sekitar 100-1000 ppm dianggap kurang toksik, maka ekstrak daun benalu batu mempunyai efek kurang toksik karena berdasarkan penelitian toksisitas ekstrak daun benalu batu diperoleh hasil LC50 983 (95% CI 882,773 - 1122,011).

Mekanisme ketahanan hidup larva atau kematian larva berhubungan dengan fungsi senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak kurang bersifat toksik bagi larva.

Penutup

Hasil penelitian ini menunjukkan kemampuan ekstrak daun *Paraboea sp* sebagai antioksidan. Senyawa bioaktif yang dominan dalam ekstrak adalah flavonoid, triterpenoid dan steroid. Uji toksisitas juga menegaskan keamanan praktis dari tanaman ini karena LC50 ekstrak masih dalam range golongan kurang toksik.

Daun *paraboea sp* memiliki kemampuan antioksidan, serta kemampuan untuk menjadi sumber obat etnomedisin alami baru yang menjanjikan tanpa efek samping. Sesuai dengan penggunaan di masyarakat sebagai anti-kanker maka diperlukan penelitian lebih lanjut untuk pengembangan strategi efektif untuk memahami mekanisme dan jalur sinyal

antioksidan yang berperan dalam aktivitas anti-kanker.

Daftar Pustaka

1. Liu, J., Gao, L. D., Fu, B., Yang, H. T., Zhang, L., Che, S. Q., ... & Yuan, X. H. (2022). Efficacy and safety of Zicuiyin decoction on diabetic kidney disease: a multicenter, randomized controlled trial. *Phytomedicine*, *100*, 154079.
2. Zhong, Z., Vong, C. T., Chen, F., Tan, H., Zhang, C., Wang, N., ... & Feng, Y. (2022). Immunomodulatory potential of natural products from herbal medicines as immune checkpoints inhibitors: Helping to fight against cancer via multiple targets. *Medicinal Research Reviews*, *42*(3), 1246-1279.
3. Wang, S., Yuan, R., Liu, M., Zhang, Y., Jia, B., Ruan, J., ... & Wang, T. (2022). Targeting autophagy in atherosclerosis: Advances and therapeutic potential of natural bioactive compounds from herbal medicines and natural products. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *155*, 113712.
4. Badiani, E., Pasqualini, ... (2022). Nitric Oxide and ROS Interaction for Stress Signaling. *Nitric Oxide in Plants. A Molecule with Dual Roles*, 118-147
5. Abbas, M. W., Hussain, M., Akhtar, S., Ismail, T., Qamar, M., Shafiq, Z., & Esatbeyoglu, T. (2022). Bioactive compounds, antioxidant, anti-inflammatory, anti-cancer, and toxicity assessment of *Tribulus terrestris*-in vitro and in vivo studies. *Antioxidants*, *11*(6), 1160.
6. Alshehri, A., Ahmad, A., Tiwari, R. K., Ahmad, I., Alkhatami, A. G., Alshahrani, M. Y., ... & Ansari, I. A. (2022). In Vitro Evaluation of Antioxidant, Anticancer, and Anti-Inflammatory Activities of Ethanolic Leaf Extract of *Adenium obesum*. *Frontiers in Pharmacology*, *13*, 847534.
7. Fujiati, F., & Joharman, J. Etnomedicine Anti Kanker Infusa Benalu Batu (*Paraboea Sp*) Dari Profil Kromatografi Gas-Spektrometri Massa (Gc-Ms) (2022, September). In *Proceeding of Lambung Mangkurat Medical Seminar* (LUMMENS) (Vol.3 No.1 Pp. 68-74).
8. Mota, J.C., Almeida, P.P., Freitas et al... (2023). Far from being a simple question:..... *Food Chemistry*, *402*, 134351
9. Tanui, H. K., Nkabyo, H. A., Pearce, B. H., Hussein, A. A., Lopis, A. S., & Luckay, R. C. (2022). Iron (III) and copper (II) complexes derived from the flavonoids morin and quercetin: Chelation, crystal structure and DFT studies. *Journal of Molecular Structure*, *1257*, 132591.
10. Radam, R., Soendjoto, M. A., & Prihatiningtyas, E. (2017). Pemanfaatan tumbuhan yang berkhasiat obat oleh masyarakat di Kabupaten Tanah Bumbu, Kalimantan Selatan. In *Prosiding Seminar Nasional Lahan Basah* (Vol. 2016, No. 2, pp. 486-492). Lambung Mangkurat University Press.
11. Fujiati, F., Haryati, H., Joharman, J., & Utami, S. W. (2022). In Vitro Metabolite Profiling and Anti-Inflammatory Activities of *Rhodomyrtus Tomentosa* with Red Blood Cell Membrane Stabilization Methods. *Reports of Biochemistry & Molecular Biology*, *11*(3), 502.
12. Zamzami, A. D. R. A., Isnaini, I., & Yasmina, A. (2021). Uji Toksisitas

- Ekstrak Metanol Kulit Kayu dan Daun Galam dengan Metode BSLT. *Homeostasis*, 4(1), 43-48.)
13. Kolniak-Ostek, J., Oszmiański, J., Szyjka, A., Moreira, H., & Barg, E. (2022). Anticancer and antioxidant activities in *Ganoderma lucidum* wild mushrooms in Poland, as well as their phenolic and triterpenoid compounds. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(16), 9359.
 14. Maulida, W., Fadraersada, J., & Rijai, L. (2016, November). Isolasi Senyawa Antioksidan Dari Daun Pila-Pila (*Mallotus paniculatus*). In *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences* (Vol. 4, pp. 384-390).
 15. Chavda, V., Chaurasia, B., Garg, K., Deora, H., Umana, G. E., Palmisciano, P., & Lu, B. (2022). Molecular mechanisms of oxidative stress in stroke and cancer. *Brain Disorders*, 5, 100029
 16. Erenler, R., Yaman, C., & Hakki Alma, M. (2023). Phytochemical Investigation of *Hypericum heterophyllum* Flowers: LC-ESI-MS/MS Analysis, Total Phenolic and Flavonoid Contents, Antioxidant Activity. *The Natural Products Journal*, 13(7), 37-45.
 17. Mosii, L. T. J., Pheko-Ofithile, T., Kobue-Lekalake, R., & Mazimba, O. (2023). *Terminalia Prunioides* pods herbal tea: Antioxidant activity, proximate, and metal content analysis. *Food Chemistry Advances*, 2, 100280.

*Prosiding KONGRES XV & HUT KE – 52 PAAI 2023 - 4th LUMMENS:
“The Role of Gut-Brain Axis in Indonesian Human Development”*