



## Efek peredaman radikal bebas 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) dan uji toksisitas pendahuluan terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach dari ekstrak aseton daging buah Sesoot (*Garcinia picrorrhiza* MIQ.)

### *1,1-Diphenyl-2-picrilhydrazil (DPPH) free radical scavenging effect and Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) of acetone extract of sesoot fruit (Garcinia picrorrhiza MIQ.)*

Sri Utami<sup>1</sup>, Soleh Kosela<sup>2</sup>, M. Hanafi<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Chemistry, YARSI University, School of Medicine, Jakarta

<sup>2</sup>Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, University of Indonesia, Depok

<sup>3</sup>Research Center for Chemistry, Indonesian Institute of Sciences, Serpong

**KEYWORDS** *garcinia; xanthone; flavonoid; benzophenone; antioksidant; BSLT*

**ABSTRACT** *Garcinia is a plant genus known as "manggis-manggis" and has more than 180 species. It is rich in chemical compounds including derivatives of flavonoid, xanthone, benzophenone, which are among those of potential antioxidants. Intensive studies have been done on sesoot (Garcinia picrorrhiza MIQ) and some of the results have been published. In the present study antioxidative effect of the sesoot fruit (Garcinia picrorrhiza MIQ) was examined using its n-hexane extract. A particular observation was carried out on its scavenging effect on 1,1-diphenyl-2-picrilhydrazil (DPPH), a free radical that is toxic to non-toxic compounds. The fruit was obtained from Bogor, dried and made into powder. Some 717.26 g of powder was soaked several times in 2 L of n-hexane. The filtrate was then evaporated using vacuum rotary evaporator to yield 30.0 g n-hexane extract. An assay for its scavenging effect was prepared using 4.0 g of the n-hexane extract on 1,1-diphenyl-2-picrilhydrazil (DPPH). It was shown that its inhibition concentration (IC<sub>50</sub>) on DPPH was 30.88 ppm. Compared to standard synthetic antioxidant, this scavenging effect was more or less similar to that of Butylated Hydroxy Toluene (BHT) and lower than that of Butylated Hydroxy Anisol (BHA) with IC<sub>50</sub> 30.20 ppm and 12.75 ppm, respectively. Further studies are still required to explore the possibility to use this plant in clinical practice.*

Indonesia, yang merupakan negara beriklim tropis, memiliki keanekaragaman flora yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku obat atau jamu yang sudah dikenal secara luas oleh masyarakat Indonesia. Penggunaan flora untuk mengobati suatu penyakit berdasarkan pengalaman empiris yang diwariskan secara turun temurun. Salah satu dari tumbuhan tersebut adalah *Garcinia*. *Garcinia* merupakan genus tumbuhan yang dikenal sebagai manggis-manggis, termasuk dalam familia *Guttiferae* kadang-kadang disebut familia *Clusiaceae*, dan memiliki lebih dari 180 spesies. *Garcinia* termasuk tumbuhan tropis, walaupun ada beberapa spesies ditemukan di daerah sub tropis seperti Jepang, Korea, dan Cina (Heyne, 1987; Ilyas dkk., 1994). Pohon dan buahnya dapat dilihat pada Gambar 4 - 6.

*Garcinia* terkenal mengandung getah kuning. Dari spesies yang telah diteliti pada umumnya banyak mengandung prenilasi xanton, biflavonoida, dan benzofenon. Dari studi fitokimia diketahui bahwa spesies *Garcinia* kaya akan xanton terok-sigenasi dan terprenilasi. Sebagian besar xanton memiliki gugus fungsi fenolik pada cincin trisiklik linier, sehingga xanton tersebut sering menunjukkan aktivitas biologis dan farmakologis yang luas, missalnya sitotoksik *in vitro*, antitumor *in vivo* (Sordat-Diserens, dkk., 1992), anti-peradangan, antimikroba,

**Correspondence:**

Hj. Sri Utami, S.Si., M.Si, Department of Medicinal Chemistry, YARSI UNIVERSITY School of Medicine, Jl. Letjen. Suprpto Cempaka Putih, Jakarta Pusat 10510, Telephone (021) 4206674-6 Ext 1217, 4244574, Facsimile 4243171.

e-mail: [uutsuyono@yahoo.com](mailto:uutsuyono@yahoo.com) & [sriutami@dosen.fk.yarsi.ac.id](mailto:sriutami@dosen.fk.yarsi.ac.id)

antifungi, inhibisi xantin oksidase, inhibisi monoamin oksidase, antidepresan (Sordat-Diserens, dkk., 1992a), antioksidan misalnya meredam radikal bebas dan anion superoksida, dan inhibisi superoksidasi lipida (Minami, dkk., 1994). Bahkan, telah dilaporkan sebelumnya bahwa garciniaxanton A dan B dari *G. subelliptica* memiliki sifat neurotropik. Manfaat xanton yang lainnya adalah pencegah alergi, bronchodilator (pelega tenggorokan) dalam penyembuhan asma, antikanker (antileukemia) (Balasubramanian & Krishnamurthi, 1988), dan antipiretik (Likhitwitayawuid, dkk., 1997).

Ekstrak garcinia yang sudah dipasarkan antara lain ekstrak *G. cambogia* sebagai pelangsing dan makanan sehat yang mengandung [-]hidroksisitat (betterlife, 2005), dan ekstrak *G. atroviridis* GRIFF yang mengandung asam sitrat, asam tartarat, asam malat dan asam askorbat yang memiliki aktifitas antioksidan. Zat yang sama dengan yang terkandung dalam ekstrak *G. cambogia* yaitu HCA (*Hydroxycitric acid*) dapat menurunkan berat badan, dengan menurunkan lipogenesis dan meningkatkan glikogen, sehingga menurunkan selera makan (GarciniaDiet, 2005).

## BAHAN DAN CARA KERJA

### Sampel

Buah *G. picrorrhiza* yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Bogor pada bulan Februari 2002. Nama dan jenis tumbuhan ini diidentifikasi / diidentifikasi dan *voucher spesimen* disimpan di "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor. Sampel dikeringkan dengan cara dijemur dan dihaluskan.

### Cara kerja

#### Pembuatan ekstrak aseton

Sampel kering dan halus (717,269) direndam berkali-kali dengan 2 L *n*-heksana lalu disaring. Residunya diangin-anginkan hingga kering. Setelah kering, residu tersebut direndam berkali-kali dalam 2 L aseton lalu disaring. Filtratnya dievaporasi dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator* dan menghasilkan 27,09 g ekstrak aseton..

#### Uji Antioksidan dengan DPPH

##### Pembuatan larutan DPPH 1mM

Ditimbang dengan seksama 39,5 mg DPPH (BM 394,32), kemudian dilarutkan dalam 100 mL metanol p.a. Larutan disimpan dalam botol gelap. Untuk setiap pengujian larutan dibuat baru.

### Persiapan larutan uji

Ditimbang 5 mg sampel kemudian dilarutkan dalam 5 mL metanol atau air (1000 ppm). Dipipet 40  $\mu$ L, 200  $\mu$ L, dan 1000  $\mu$ L larutan induk ke dalam tabung reaksi yang telah ditera, untuk mendapatkan konsentrasi sampel 8, 40 dan 200 ppm. Ke dalam masing-masing tabung ditambahkan 1 mL larutan DPPH 1 mM dan diencerkan dengan metanol sampai 5 mL. Setelah homogen, tabung yang berisi larutan tersebut diinkubasi dalam penangas air 37°C selama 30 menit. Serapan diukur dengan spektrofotometer UV- *visible* pada panjang gelombang,  $\lambda$  515 nm.

### Perhitungan IC<sub>50</sub>

Setelah absorbansi didapat, inhibisi dihitung dengan formula berikut:

$$\text{Inhibisi} = \frac{\text{Absorban blanko} - \text{Absorban sampel}}{\text{Absorban blanko}} \times 100\%.$$

Nilai IC<sub>50</sub> diperoleh dari perpotongan garis antara 50% daya inhibisi (sumbu y) dengan sumbu konsentrasi (sumbu x).

### Uji toksisitas dengan larva udang (*Artemia salina* Leach)

#### Penetasan larva udang

Kurang lebih 50 – 100 mg telur udang ditetaskan di dalam tempat persegi panjang ( 2 x 10 cm) yang dilengkapi pembatas berlubang diameter 2 mm dan telah diisi air laut, tutup dengan kertas aluminium pada bagian telus, biarkan 48 jam maka telur akan menetas dan ambil larva – larva udang yang akan diuji dengan pipet dari sisi yang terang.

### Persiapan larutan yang akan diuji

Ekstrak atau senyawa murni yang akan diuji dilarutkan di dalam air laut dengan konsentrasi 2000, 200, 20 ppm.

### Uji toksisitas metode BSLT

Larva udang yang hidup sebanyak 10 -15 ekor dimasukkan ke dalam vial uji yang berisi 100  $\mu$ l air laut. Ditambahkan larutan sampel yang akan di uji masing-masing sebanyak 100  $\mu$ l, dengan konsentrasi 1000, 100, 10 ppm. Larutan diaduk sampai homogen, untuk setiap konsentrasi lakukan 3 kali pengulangan. Untuk kontrol dilakukan tanpa penambahan sampel, kemudian diamkan selama 24 jam. Dihitung jumlah larva yang mati dan masih hidup. Selanjutnya dihitung tingkat kematian atau

mortalitas dengan membandingkan antara jumlah larva yang mati dibagi dengan jumlah total larva.

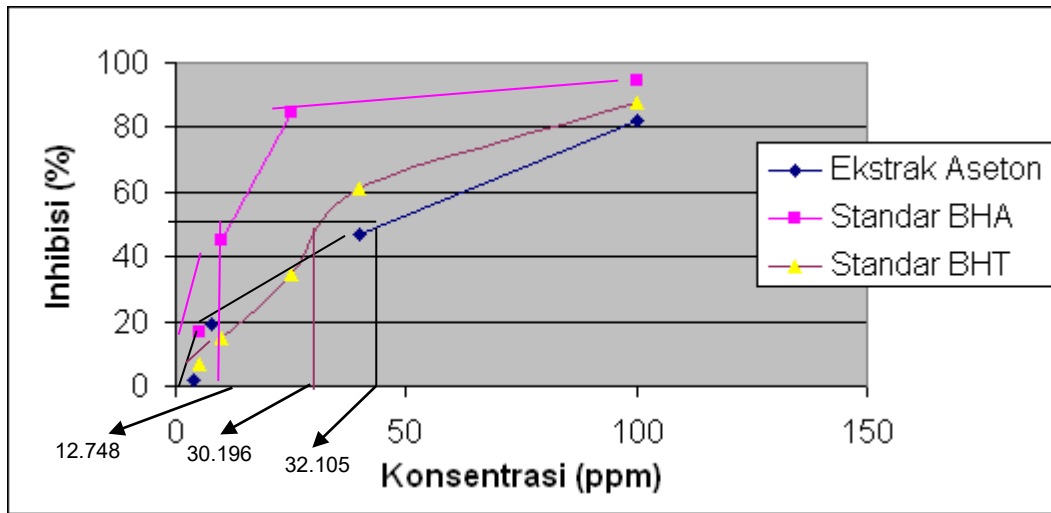
Dibuat grafik antara logaritma (log) konsentrasi terhadap mortalitas. Nilai  $LC_{50}$  diperoleh dengan cara menarik garis pada nilai 50% dari sumbu mortalitas sampai memotong sumbu grafik, perpotongan garis ditarik ke garis konsentrasi dimana zat menyebabkan kematian 50% yang disebut  $LC_{50}$ . Suatu zat dikatakan aktif atau toksik bila nilai  $LC_{50} \leq 30 \mu\text{g/ml}$  (McLaughlin, dkk., 1998).

Sedangkan toksisitas ekstrak kasar dinyatakan aktif/toksik jika  $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/ml}$  (ppm).

## HASIL

Ekstrak *aseton* yang didapat dari 717,26 g sampel kering sebanyak 27,09 g.

Hasil uji antioksidan dengan DPPH dapat dilihat pada Gambar 1.

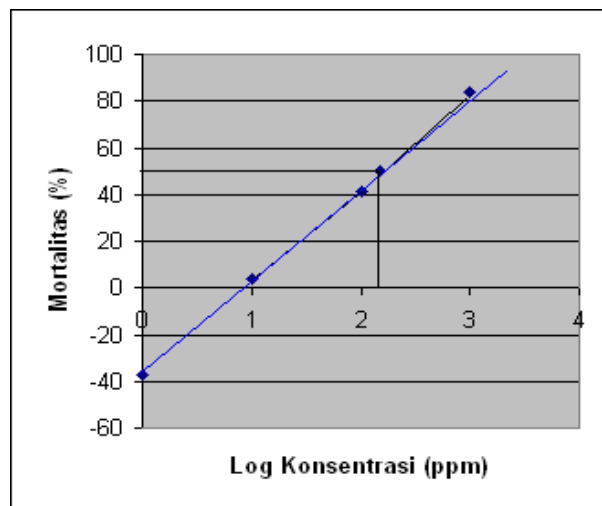


Gambar 1. Hasil uji antioksidan dengan DPPH terhadap ekstrak aseton

Hasil uji antioksidan menunjukkan konsentrasi penghambatan (*Inhibition Concentration*) Fifty ( $IC_{50}$ ) 32.11 ppm yang berarti ekstrak aseton dari buah *Sesoot* (*Garcinia picrorrhiza* MIQ.) mempunyai efek antioksidatif yang ditunjukkan dengan efek

peredaman radikal bebas DPPH, yang mirip dengan standar antioksidan sintesis BHT (*Butylated Hydroxytoluene*) dengan  $IC_{50}$  30.20 ppm.

Sedangkan hasil uji toksisitas pendahuluan dengan BSLT dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil uji toksisitas ekstrak aseton dengan BSLT

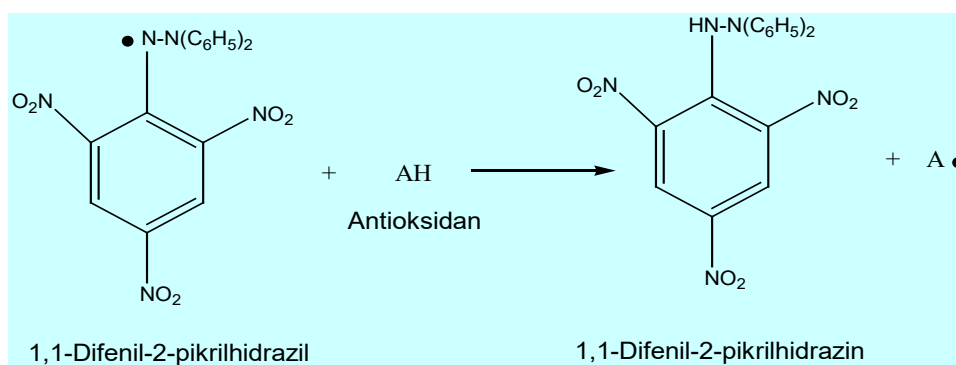
Hasil uji toksisitas pendahuluan terhadap larva udang menunjukkan  $LC_{50} = 150,33$  ppm. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak *aseton* dari daging buah *G. picrorrhiza* MIQ. memiliki daya toksisitas yang tinggi.

## PEMBAHASAN

Efek antioksidan dan sitotoksik dari ekstrak buah *G. picrorrhiza* MIQ. kemungkinan disebabkan oleh adanya senyawa yang terkandung di dalam buah *G. picrorrhiza* MIQ. yang mirip kandungan kimiawi *Garcinia* pada umumnya yaitu, benzofenon, biflavonoid, dan terutama xanton karena sebagian besar xanton memiliki gugus fungsi fenolik pada cincin trisiklik linier, maka xanton sering menun-

jukkan aktivitas biologis dan farmakologis yang luas di antaranya adalah efek antioksidan dan efek toksisitas (Minami, dkk., 1994)

Aktivitas antioksidan dapat diukur dari kemampuan meredam radikal bebas. Dalam penelitian ini, radikal bebas yang digunakan sebagai pengukur daya peredaman radikal bebas adalah DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) yang merupakan senyawa radikal bebas yang stabil sehingga jika digunakan sebagai pereaksi dalam uji peredaman radikal bebas cukup dilarutkan dan jika disimpan dalam keadaan kering dengan kondisi penyimpanan yang baik tetap stabil selama bertahun-tahun. Peredaman radikal bebas DPPH oleh suatu antioksidan sesuai reaksi pada Gambar 3.



Gambar 3. Reaksi peredaman radikal bebas DPPH oleh suatu antioksidan

Hasil dari reaksi pada Gambar 6 adalah 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin yang netral dan tidak toksik. (Utami, 2004).

## KESIMPULAN

Hasil uji efek peredaman radikal bebas DPPH ditunjukkan oleh adanya  $IC_{50} = 32,11$  ppm yang berarti ekstrak *aseton* dari daging buah *G. picrorrhiza* MIQ. memiliki daya antioksidatif yang relatif sama dengan antioksidan sintesis standar BHT dengan  $IC_{50} = 30,20$  ppm.

Hasil uji toksisitas pendahuluan terhadap larva udang menunjukkan  $LC_{50} = 150,33$  ppm. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak *aseton* dari daging buah *G. picrorrhiza* MIQ. memiliki daya toksisitas yang tinggi. Dengan demikian terhadap ekstrak tersebut dapat dilakukan uji preklinis yang lebih lanjut, misalnya antimikroba, spermisida, antifungi, antidiabetes, dan antikanker.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kami sampaikan kepada Yayasan Yarsi Jakarta dan Ditjen. Dikti Depdiknas R.I. yang telah mendanai penelitian ini, serta Pusat Penelitian Kimia LIPI Serpong yang telah memfasilitasi laboratorium untuk penelitian ini.

## KEPUSTAKAAN

- Balasubramanian K, Krishnamoorthi R 1988. Novel Xanthenes from *G. mangostana*, Structures of BR-xanthone-A and BR-xanthone-B, *Phytochemistry*, 27 (5), 1552-1554.
- Betterlife 2005. Citrimax 1000 mg, [http://www.betterlife.com/prod\\_home\\_page.asp?prod\\_id=2273](http://www.betterlife.com/prod_home_page.asp?prod_id=2273).
- Garcinia Diet 2005. *Garcinia* Dietplanen, <http://www.garciniadiet.nu/html/handla/html>.
- Heyne K 1987. Tumbuhan Berguna Indonesia III, Badan Litbang Departemen Kehutanan Jakarta.
- Ilyas M, Kamil M, Parveen M, Khan MS 1994. Isoflavones from *G. nervosa*, *Phytochemistry*, 30, 807-809.

- McLaughlin J 1998. The Use of Biological Assays to Evaluate Botanicals, *Drug Information Journal*, 32, 513-524.
- Minami H, Miho K, Yoshiyasu F, Mitsuaki K, Toyokichi Y, Minoru S, Keiji N, Harumi T 1994. Antioxidant Xanthones from *Garcinia subelliptica*, *Phytochemistry*, 36 (2), 501-506.
- Sordat-Diserens I, Colin R, Bernard S, Kurt H 1992a. Prenylated Xanthones from *G. livingstonei*, *Phytochemistry*, 31 (1), 313-316.
- Sordat-Diserens I, Mathias H, Colin R, Kurt H 1992. Dimeric Xanthones from *G. livingstonei*, *Phytochemistry*, Vol. 31, No. 10, pp. 3589-3593, Elsevier Science Ltd., Great Britain.
- Utami S 2004. Identifikasi Dan Uji Aktifitas Biologi Senyawa Turunan Benzofenon dari Ekstrak Aseton Daging Buah *Sesoot* (*Garcinia picrorrhiza* MIQ.), Tesis Magister Sains Ilmu Kimia, Program Pasca Sarjana, UI, Depok.

LAMPIRAN



Gb. 4 Pohon *G. picrorrhiza* MIQ.



Gb. 5 Buah *G. picrorrhiza* MIQ. segar beserta bijinya



Gb. 6 Buah *G. picrorrhiza*, MIQ. kering tanpa biji