



Toksisitas dan Antioksidan Ekstrak Etilasetat dan *n*-Butanol Hipokotil Sarang Semut, *Myrmecodia pendens* Merr. & Perry



Vino Soaduon Hamonangan ^{a*}, Endah Wydiastuti ^a, Lina Marlina ^b, Partomuan Simanjuntak ^{a,b}, Rudi Kartika ^c

^a Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila, Indonesia

^a Pusat Riset Bahan Baku Obat dan Obat Tradisional (BBO OT), Badan Riset dan Inovasi Nasional, Indonesia

^a Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman, Indonesia

* Corresponding Author: vinosoaduon@rocketmail.com

ABSTRACT

The "sarang semut" *Myrmecodia pendens* Merr is an epiphytic plant from the Papua region. & Perry (Rubiaceae) has been known as a "multidrug" plant (cures several diseases). This research aims to know the toxicities and antioxidant power of ethylacetate and *n*-butanol extracts from sarang semut plants, and their chemical profiles on thin-layer chromatography (TLC) and high-performance liquid chromatography (HPLC). The toxicity assay was carried out by testing on shrimp larvae *Artemia salina*, while the antioxidant assay was carried out with a free radical scavenging method using hydrazil diphenyl picryl reagent (DPPH). The results showed that ethyl acetate extract showed higher toxicity (LC₅₀ = 101, mg/mL) and antioxidant (IC₅₀ = 18.23 mg/mL) values than *n*-BuOH extract for toxicity (LC₅₀ = 154.59 mg/mL) and antioxidant (IC₅₀ = 29.58 mg/mL). TLC analysis shows the best separation of chemical compounds in ethyl acetate extract with chloroform-methanol solvent (10:1) and *n*-butanol extract with chloroform-methanol-water solvent (5:5:1). HPLC analysis shows the best separation of chemical compounds in ethyl acetate extract with *n*-hexane-ethyl acetate solvent (10: 1) and *n*-butanol extract, namely methanol-water (10: 1).

This is an open-access article under the [CC-BY-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) license.



Article History

Received 2023-10-03

Revised 2023-11-06

Accepted 2023-11-07

Keywords

Myrmecodia pendens-
merr & perry
Rubiaceae
Antioxidant
Toxicities
HPLC
TLC

1. Pendahuluan

Keanekaragaman hayati Indonesia sangat terkenal di dunia dengan menempati urutan kedua setelah Brazilia. Tumbuhan di Indonesia diperkirakan terdapat lebih kurang dari 40.000 jenis sedangkan tumbuhan yang baru ada 3000 jenis yang telah diketahui potensinya dan telah dimanfaatkan sebagai penghasil bahan kimia karbohidrat, protein, lemak, vitamin, maupun sebagai obat. Pemanfaatan sebagai obat adalah warisan nenek moyang Indonesia yang perlu dilestarikan dan dikembangkan, disebabkan tumbuhan ini mempunyai efek farmakologi dalam penyembuhan bermacam-macam penyakit, sehingga tumbuhan obat menjadi pilihan alternatif dalam pengobatan [1].

Papua merupakan daerah di Indonesia yang memiliki beberapa tumbuhan obat. Satu di antara tumbuhan obat tersebut yaitu sarang semut, *Myrmecodia pendens* Merr. & Perry (Rubiaceae). Tumbuhan sarang semut adalah tumbuhan epifit yang ada pada tumbuhan lain dengan batang bagian bawahnya menggelembung yang diselubungi oleh duri dan berisi rongga sebagai tempat koloni semut [2,3]. Penelusuran pustaka mengenai penelitian sarang semut ini telah banyak dilakukan seperti pengujian antikanker [4], penghambat xantinosidase [5],

sitotoksik dan antioksidan pada ekstrak air sarang semut [6]. Pemanfaatan sarang semut telah terbukti dapat menyembuhkan berbagai jenis penyakit seperti mimisan, tukak lambung, wasir, migrain, gangguan jantung, gangguan fungsi ginjal dan prostat, kanker, serta tumor [3].

Berdasarkan multikhasiat tersebut, maka penelitian masih terus dilakukan untuk mengungkap dan menambah informasi mengenai sarang semut. Pada penelitian ini dilakukan analisa hayati pendahuluan seperti pengujian toksisitas dan antioksidan dan menentukan profil senyawa kimia berdasarkan analisis kromatografi lapis tipis (KLT) dan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) dari ekstrak etilasetat dan *n*-butanol tumbuhan epifit sarang semut. Tahap awal penelitian ini adalah pembuatan ekstrak metanol, kemudian ekstrak metanol dipartisi dengan air dan etilasetat, dan bagian airnya dipartisi Kembali dengan *n*-BuOH. Ekstrak etilasetat dan *n*-BuOH yang diperoleh dilakukan uji antioksidan dengan metode peredaman radikal bebas, uji toksisitas dengan menggunakan larva udang, *Artemia salina* dan analisis profil senyawa kimia dengan KLT dan KCKT.

2. Metodologi

2.1. Alat dan Bahan

Bahan penelitian : Simplisia hipokotil sarang semut yang dikoleksi tahun 2019 dan determinasi dilakukan di Herbarium Bogoriensis, Pusat Penelitian Biologi- LIPI.

Bahan kimia : 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), asam askorbat, etil asetat, *n*-butanol, telur udang *Artemia salina* L, air laut buatan, DMSO (dimetil sulfoksida), silika gel 60 (70-230 mesh), *n*-heksan.

Alat : Timbangan analitik, lempeng silika gel GF₂₅₄, sonikator, mikrokapiler, bejana kromatografi, alat penyemprot pereaksi, lampu TL 18 watt, Spektrofotometer UV-VIS (DU 650 Beckman), KCKT (UV 970 Jasco) dan perangkat alat gelas.

2.2. Metode

Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak dilakukan berdasarkan panduan teknologi ekstrak oleh Dep. Kes (2000) [7]. Serbuk hipokotil Sarang semut direfluks dengan MeOH, disaring, diuapkan dengan evaporator, dan refluks dilakukan sebanyak 3 kali. Ekstrak MeOH kemudian dipartisi dengan etilasetat sebanyak 3 kali, kemudian lapisan airnya dilanjutkan partisi dengan *n*-BuOH sebanyak 3 kali.

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etil Asetat dan *n*-Butanol dengan DPPH

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etilasetat dan *n*-butanol dilakukan berdasarkan metode Molyneux yang telah dimodifikasi [8].

Uji Toksisitas Ekstrak Etil Asetat dan *n*-Butanol dengan Larva Udang *Artemia salina* L.

Pengujian toksisitas ekstrak etilasetat dan *n*-butanol dilakukan berdasarkan metode Meyer (1984) [9] yang dimodifikasi dengan metode Hanafi *et al* (2020) [10] dengan menggunakan larva udang, *Artemia salina* L.

Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Analisis profil senyawa kimia dengan KLT untuk mengetahui pola pemisahan senyawa kimia berdasarkan kepolaran yang dikandung ekstrak etilasetat dan *n*-BuOH dengan menggunakan pelarut *n*-heksana-etil asetat (5:1), kloroform-metanol (10:1), dan kloroform-metanol-air (5:5:1).

Analisis Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

Analisis KCKT untuk ekstrak etil asetat dilakukan dengan menggunakan variasi pelarut *n*-heksan-etil asetat (1 : 1 ~ 10 : 1). Sedangkan untuk ekstrak *n*-BuOH dengan menggunakan variasi pelarut metanol dan air (1 : 1 ~ 10 : 1).

Kondisi instrumen kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) sebagai berikut :

1. Untuk pemisahan ekstrak etil asetat

Fase mobil	:	<i>n</i> -heksan-etil asetat (10 : 1 ~ 1 : 1)
Fase stasioner	:	Sperishorb S5W
Detektor	:	UV 254 nm
Kecepatan	:	1,0 ml per menit
Tekanan	:	112-115 kg/cm ²
Sistem	:	Isokratik
Volume yang diinjek	:	20 µl

2. Untuk pemisahan ekstrak *n*-butanol

Fase mobil	:	metanol pro analisis, metanol-air (10:1 ~ 1 : 1)
Fase stasioner	:	Capcel pak C ₁₈
Detektor	:	UV 254 nm
Kecepatan	:	0,6 ml per menit dan 1,0 ml per menit
Tekanan	:	112-114 kg/cm ² , 250-253 kg/cm ²
Sistem	:	Isokratik
Volume yang diinjek	:	20 µl

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etil-asetat dan *n*-BuOH

Hasil pengujian aktivitas antioksidan yang ditunjukkan dengan nilai IC₅₀ terhadap ekstrak etil asetat dan *n*-butanol dan vitamin C sebagai kontrol positif di sajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etil asetat dan *n*-Butanol

No	Sampel	IC ₅₀ (µg/mL)
1.	Ekstrak etil asetat	18,23
2.	Ekstrak <i>n</i> -butanol	29,58
3.	Vitamin C	4,08

Hasil uji aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa nilai IC₅₀ ekstrak etil asetat dan *n*-butanol memiliki aktivitas antioksidan sedang yaitu 18,23 mg/mL dan 29,58 mg/mL (Lihat Tabel 1). Aktivitas antioksidan dikelompokkan 3 golongan, yaitu antioksidan tinggi (IC₅₀=10-20 µg/mL), antioksidan sedang (LC₅₀=21-100 µg/mL), dan antioksidan rendah (IC₅₀=101-200 µg/mL).

3.2. Hasil Uji Toksisitas Ekstrak Etil asetat dan *n*-Butanol

Hasil pengujian toksisitas ekstrak etilasetat dan *n*-BuOH terhadap larva udang *Artemia salina* L dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Toksisitas ekstrak etil asetat dan *n*-butanol terhadap larva udang *A. salina*

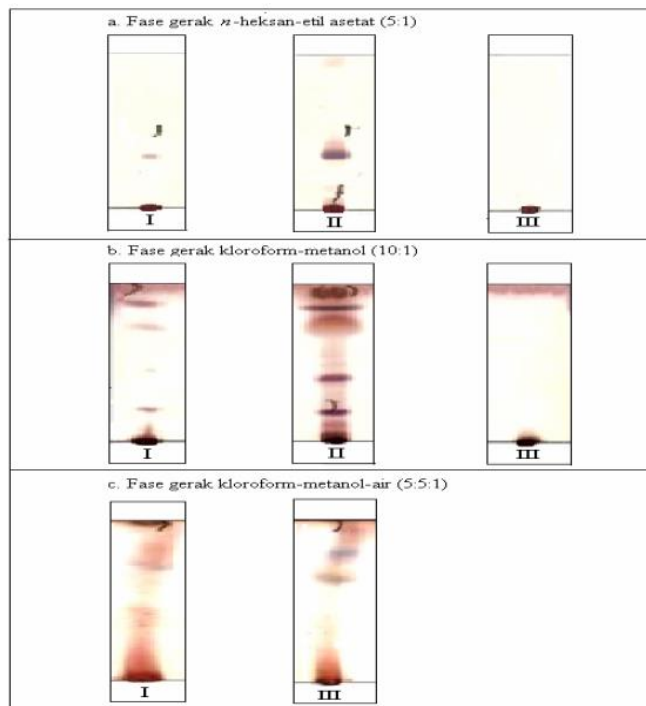
No	Sampel	LC ₅₀ (µg/ml)
1.	Ekstrak etil asetat	101,84
2.	Ekstrak <i>n</i> -butanol	154,59

Hasil uji toksisitas terhadap larva udang *Artemia salina* menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat memiliki toksisitas lebih tinggi (LC₅₀=101,84 µg/mL) dari ekstrak *n*-butanol (LC₅₀=154,59 µg/mL). Hasil ini menunjukkan bahwa senyawa nonpolar dan semipolar dalam

simplisia sarang semut mempunyai daya sitotoksik dan antioksidan lebih tinggi (medium) dibandingkan kandungan senyawa polar dalam ekstrak *n*-butanol.

3.3. Analisis KLT Ekstrak Etil asetat dan *n*-Butanol

Hasil analisis kromatografi lapis tipis (KLT) terhadap ekstrak etil asetat dan *n*-butanol serta ekstrak metanol sebagai pembanding dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Kromatogram KLT untuk ekstrak etil asetat, ekstrak *n*-butanol, dan ekstrak metanol sebagai pembanding

Keterangan :

- I : Ekstrak MeOH
- II : Ekstrak Etil asetat
- III : Ekstrak *n*-BuOH

Fase diam : Silika gel GF₂₅₄

Penyemprot : CeSO₄/ H₂SO₄

Jarak rambat : 4,5 cm

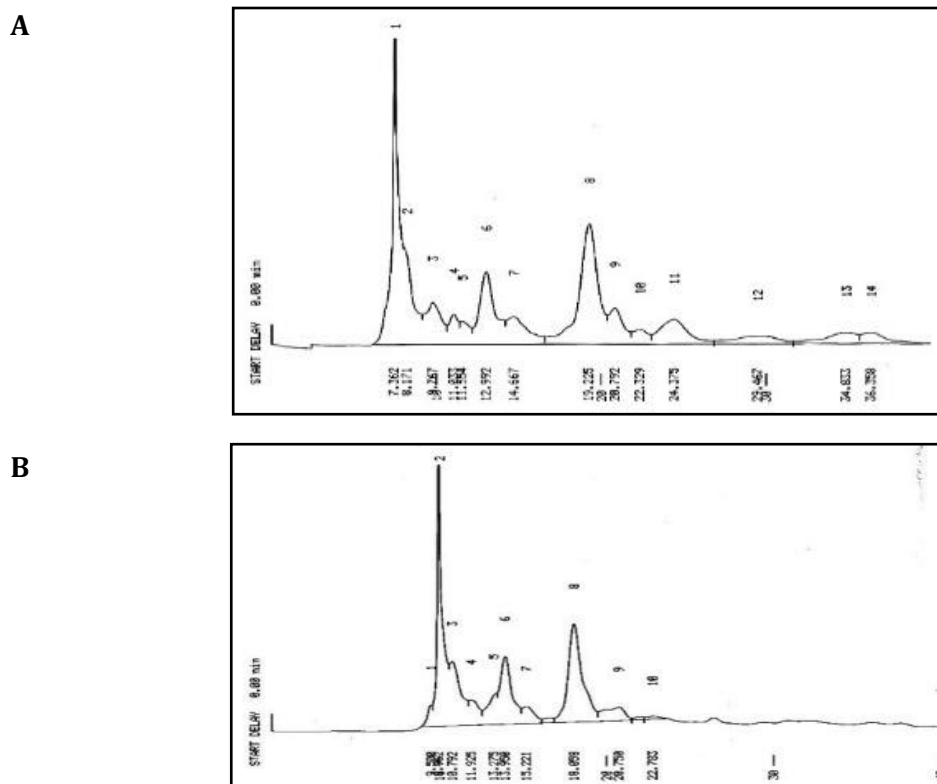
Deteksi : Sinar UV 254 nm

Setelah disemprot, kemudian dipanaskan sampai timbul bercak

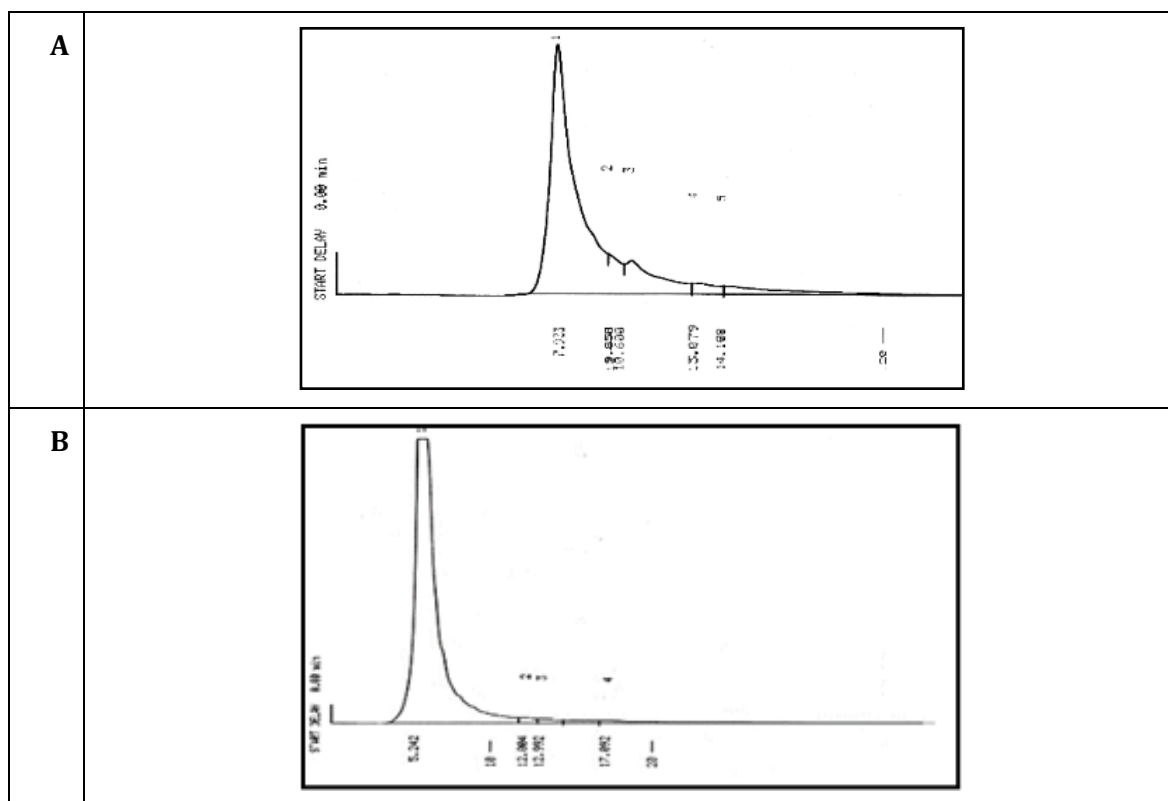
Fase gerak yang digunakan pada pemisahan senyawa kimia dalam ekstrak etil asetat memberikan profil senyawa kimia lebih baik dengan fase gerak *n*-heksan-etil asetat = 5 : 1 dan kloroform-metanol (10:1), sedangkan ekstrak *n*-butanol dengan fase gerak kloroform-metanol-air (5:5:1). Hal ini dapat diketahui berdasarkan azas *like dissolve like*, senyawa non-polar/semipolar tereluasi dengan pelarut nonpolar/semipolar (*n*-heksan-etilasetat), senyawa polar tereluasi dengan pelarut polar (kloroform-metanol-air).

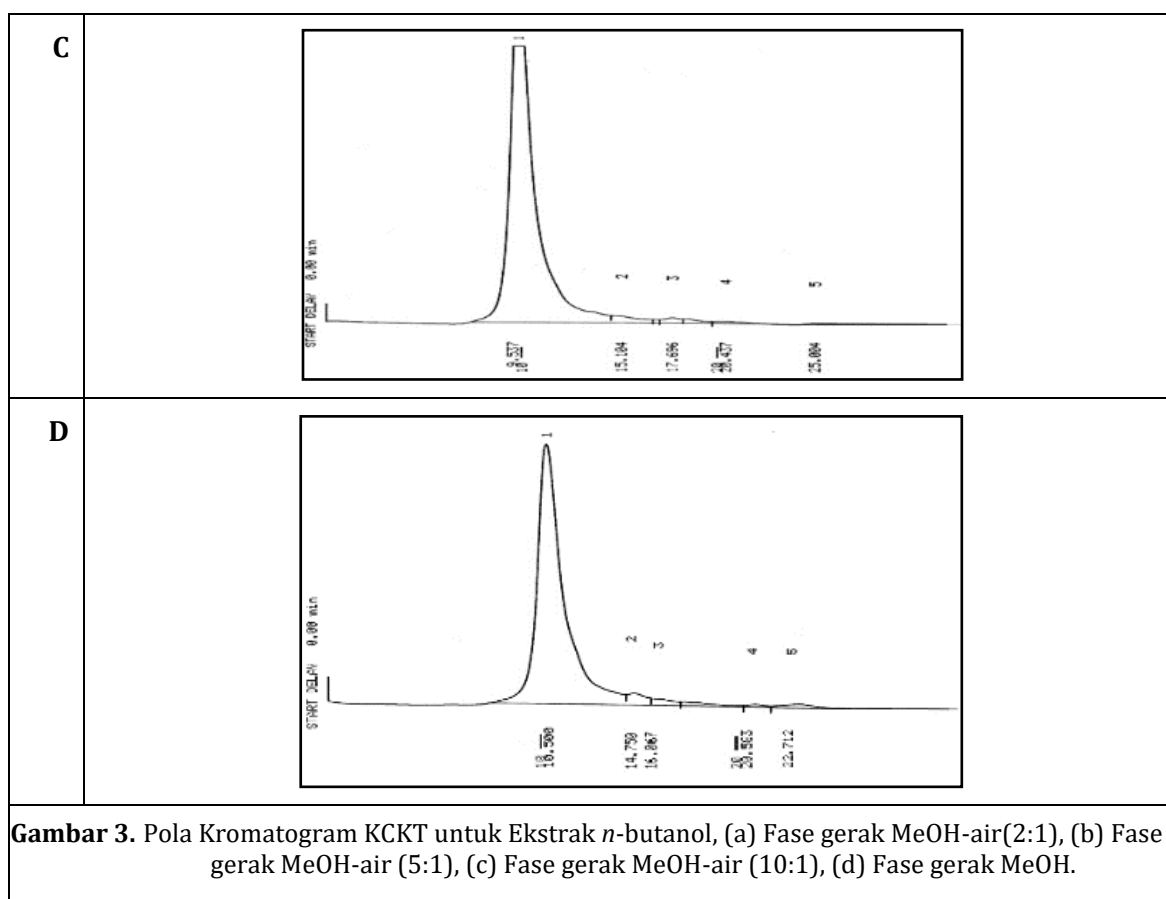
3.4. Analisis KCKT Ekstrak Etil asetat dan *n*-Butanol

Berdasarkan hasil analisis kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) dengan fase gerak yang telah dicobakan menunjukkan bahwa pemisahan senyawa kimia pada ekstrak etil asetat yang terbaik adalah fase gerak *n*-heksan-etil asetat (10:1) (Lihat Gambar 2A, 2B) sedangkan untuk ekstrak *n*-butanol adalah fase gerak metanol-air (10:1) (Lihat Gambar 3A, 3B, 3C dan 3D).



Gambar 2. Pola Kromatogram KCKT untuk Ekstrak Etil asetat , (a) Fase gerak n-heksan-etil asetat (5:1), (b) Fase gerak n-heksan etilasetat (10:1)





4. Kesimpulan

Ekstrak etil asetat memiliki aktivitas antioksidan dan toksisitas lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak *n*-butanol. Hasil analisis kromatografi lapis tipis diperoleh fase gerak untuk pemisahan senyawa kimia pada ekstrak etil asetat adalah fase gerak kloroform-metanol (10:1) sedangkan ekstrak *n*-butanol adalah fase gerak kloroform-metanol-air (5:5:1). Hasil analisis kromatografi cair kinerja tinggi diperoleh fase gerak untuk pemisahan senyawa kimia pada ekstrak etil asetat yaitu fase gerak *n*-heksan-etil asetat (10:1), sedangkan ekstrak *n*-butanol yaitu fase gerak metanol-air (10:1).

References

- [1] D. S. Fabricant and N. R. Farnsworth, "The value of plants used in traditional medicine for drug discovery.," *Environmental Health Perspectives*, vol. 109, no. suppl 1, pp. 69–75, Mar. 2001, doi: [10.1289/ehp.011109s169](https://doi.org/10.1289/ehp.011109s169).
- [2] S. Duryatmo, "Sarang semut vs peyakit maut," *Majalah trubus*, vol. 37, no. 439, pp. 12-15, 2006.
- [3] A. Subroto, and H. Saputro, "*Gempur penyakit dengan sarang semut*," Jakarta: Penebar Swadaya, hal. 26 – 28; 41-46, 2006.
- [4] A. Soeksmanto, M. A. Subroto, H. Wijaya, and P. . Simanjuntak, "Anticancer Activity Test for Extracts of Sarang Semut Plant (*Myrmecodya pendens*) to HeLa and MCM-B2 Cells," *Pakistan Journal of Biological Sciences*, vol. 13, no. 3, pp. 148–151, Jan. 2010, doi: [10.3923/pjbs.2010.148.151](https://doi.org/10.3923/pjbs.2010.148.151).
- [5] P. Simanjuntak, Fanny, M. A. Subroto, "Isolasi Senyawa Aktif dari Ekstrak Hipokotil Sarang Semut (*Myrmecodia pendens* Merr. & Perry) sebagai Penghambat Xantinoksidase," *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, vol. 8, no. 1, pp. 49-54, Apr. 30, 2010. [Online]. Available: <http://jifi.farmasi.univpancasila.ac.id/index.php/jifi/article/view/366>
- [6] Bustanussalam, M. Bintang, and P. Simanjuntak, "Molecular Structure Elucidation of the Polar Fraction "Sarang semut" plant *Myrmecodia pendens* Merry & Perry, Which has Cytotoxic and as

-
- antioxidant” in *International Conference on Biotechnology Proceeding*, in Bogor, Indonesia, 13-14 Nov 2012, pp. 401 – 409, 2013
- [7] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. “*Buku panduan teknologi ekstrak*,” Jakarta: Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, hal. 10-14, 24, 2000.
- [8] P. Molyneux, “The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant Activity,” *Songklanakar J. Sci. Technol*, vol. 26, no. 2, pp. 211-219, 2004. [Online]. Available: <https://www.researchgate.net/Philip-Molyneux-5/237620105>
- [9] B. N. Meyer, N. R. Ferrigni, J. E. Putnam, L. Jacobsen, D. E. Nichols, and J. L. McLaughlin, “Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents,” *Planta Medica*, vol. 45, no. 05, pp. 31–34, May 1982, doi: [10.1055/s-2007-971236](https://doi.org/10.1055/s-2007-971236).
- [10] Hanafi, C. Irawan, S. M. Sirait, L. Sulistiawaty, and S. R. Setyawati, “Toxicity Test with BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) Method on Methanol, Ethyl Acetate Extract, Hexane on Seeds and Rind of Matoa extract (*Pometia pinnata*),” *Oriental J. Chemistry*, vol. 36, no. 6, pp. 1143–1147, Dec. 2020, doi: [10.13005/ojc/360618](https://doi.org/10.13005/ojc/360618).