

Vera Ladeska-Potensi Antioksidan, Kadar Fenolat dan Flavonoid Total Ranting Tetracera indica serta Uji Toksistas terhadap sel RAW

by Vera Ladeska Uploded By Wieda Rahma

Submission date: 05-Dec-2022 01:56PM (UTC+0700)

Submission ID: 1971780762

File name: REVISI_RANTING_INDIKA_2022OK_-_Ladeska_Vera_2.docx (3.05M)

Word count: 3816

Character count: 23710

Potensi Antioksidan, Kadar Fenolat dan Flavonoid Total Ranting *Tetracera indica* serta Uji Toksisitas terhadap sel RAW 264,7

ABSTRAK

Tanaman *Tetracera indica* secara etnomedisina memiliki banyak khasiat farmakologi antara lain digunakan untuk pengobatan diabetes, hiperkolesterol, mengatasi demam, asam urat dll. Gejala penyakit bisa disebabkan oleh paparan radikal bebas yang perlu diantisipasi dengan antioksidan. Tujuan penelitian ini adalah pencarian ekstrak aktif antioksidan dengan metode FRAP dan uji toksisitas terhadap sel RAW 264,7. Ekstraksi dilakukan secara *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) dengan pelarut n-heksan, etil asetat dan etanol 96%. Pengukuran kadar fenol total dengan pereaksi *Folin-ciocalteu*, dan kadar flavonoid dengan metode kolorimetri. Uji Toksisitas dengan *MTT assay* terhadap sel makrofag RAW 264,7. Ekstrak etanol 96% memiliki kadar fenol yang paling tinggi yaitu 233,751 mg GAE/g. Kadar total flavonoid tertinggi pada ekstrak etil asetat dengan nilai sebesar 63,138 mgQE/g. Aktivitas antioksidan kuersetin didapatkan 13600 FeEAC (mol/g), sedangkan pada sampel uji aktivitas antioksidan potensial pada ekstrak etanol 96% dengan nilai 2227,926 FeEAC (mol/g). Sementara nilai IC_{50} untuk ekstrak etil asetat ranting *Tetracera indica* adalah 23.877 $\mu\text{g/mL}$. Berdasarkan hasil yang diperoleh tanaman *Tetracera indica* bisa dikembangkan sebagai agen antioksidan dan antikanker.

Kata kunci: *Tetracera indica*; antioksidan; TPC; TFC; MTT assay

ABSTRACT

In ethnomedicine, *Tetracera indica* has many pharmacological properties, including for the treatment of diabetes, hypercholesterolemia, fever, gout, etc. Diseases can be caused by free radicals so need antioxidants to counteract them. The aims of this research is the antioxidant active extract using the FRAP method and toxicity test on 264.7 RAW cells. Extraction was carried out by Ultrasonic Assisted Extraction (UAE) with n-hexane, ethyl acetate and 96% ethanol as solvents. Measurement of total phenol content using Folin-Ciocalteu reagent, and flavonoid content using colorimetric method. Toxicity test with MTT on RAW 264.7 macrophage cells. The highest total phenol content was in the 96% ethanol extract of 233,751 mg GAE/g. The highest total flavonoid content was in the ethyl acetate extract with a value of 63,138 mgQE/g. The antioxidant activity of quercetin was found to be 13600 FeEAC (mol/g), while in the test sample the potential antioxidant activity of the ethanol extract with a value of 2227,926 FeEAC (mol/g). Meanwhile, the IC₅₀ value for the ethyl acetate extract of *Tetracera indica* was 23,877 g/mL. Based on the results obtained, the *Tetracera indica* plant can be developed as an antioxidant and anticancer agent.

Keywords: *Tetracera indica*; antioxidant; TPC; TFC; MTT assay

PENDAHULUAN

Pola hidup yang tidak sehat akibat peningkatan konsumsi makanan instan, merokok dan polusi dapat menyebabkan munculnya radikal bebas. Ketidakseimbangan jumlah radikal bebas dengan antioksidan endogen bisa menimbulkan stress oksidatif yang mengakibatkan kerusakan sel. Kerusakan sel yang dibiarkan terus menerus menimbulkan penyakit degeneratif. Elektron ini mengikat atom dari molekul lain, menghasilkan senyawa yang tidak stabil. Efek negatif radikal bebas pada jaringan tubuh dapat diatasi dengan pemberian antioksidan. Jika radikal bebas tidak segera diatasi akan dapat melukai sel atau jaringan dan menstimulasi kerusakan organ. Kerusakan organ berpotensi memicu munculnya penyakit kronis. Antioksidan alami yang terkandung dalam tanaman antara lain senyawa polifenol dan vitamin. Flavonoid merupakan senyawa fenol yang bisa menangkap radikal bebas turunan oksigen, membentuk khelat dengan logam dan menghambat kerja enzim penghasil radikal. Tanaman yang mengandung flavonoid memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri, antivirus, anti radang, anti alergi, dan anti kanker [1].

Tanaman yang mengandung senyawa fenol dan flavonoid adalah tumbuhan mempelas (*Tetracera indica* (Christm. & Panz.) Merr) Tumbuhan ini mengandung senyawa flavonoid seperti kuersetin, kaemferol, apigenin, ramnetin an azaleatin [2]. Ekstrak etanol batang *T. indica* mengandung 4 mono flavonoid: wogonin, norwogonin, kuersetin dan tektokrisin [3]. Sedangkan ekstrak etanol daun *T. indica* dilaporkan mengandung 5,7-dihidroksiflavon-O-8-sulfat, tektokrisin, wogonin, norwogonin, kaemferol, dan kuersetin [4]. Isolasi dari ekstrak etil asetat batang *T. indica* dihasilkan asam betulinat dan 5,7-dihidroksil-8-metoksiflavon [5]. Ekstrak heksana dari kulit batang *T. indica* mengandung β -sitosterol dan asam betulinat [6]. Senyawa kimia lain yang dilaporkan dari daun *T. indica* mengandung 4 senyawa terpenoid yaitu betulina, asam betulinat, lupeol dan β -sitosterol [7]. Menurut riset yang dilakukan Dogarai tahun 2011 menemukan 6 senyawa flavonoid dari daun *T. indica* yaitu 5,7-dihidroksi 8- metoksiflavon (wogonin), 5,7,8-trihidroksi flavon, isocutellarein metil eter, kaempferol, kuersetin, tektokrisin dan 4 senyawa terpenoid yaitu β -sitosterol, lupeol, betulina dan asam betulinat [8]. Banyaknya senyawa turunan fenol dan flavonoid yang terkandung dalam *T. indica* menjadi target pengembangan

senyawa antioksidan yang berasal dari bahan alam. Dan ini tentunya sebagai langkah awal dalam mengatasi penyakit kronis. Inilah yang menjadi pentingnya riset ini dilakukan.

Tanaman *T. indica* memiliki banyak khasiat dan sering digunakan oleh herbalis lokal untuk pencegahan dan pengobatan penyakit. Diantaranya untuk menurunkan tekanan darah tinggi, antidiabetes dan antihiperurisemia [4]. Dilihat dari perkembangan pemakaian secara tradisional dan kandungan kimia tanaman ini kedepannya berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai antioksidan. Belum banyak riset yang meneliti bioaktivitas ini, dan ini menjadi awal untuk mengatasi gejala penyakit kronis. Penelitian ini juga bertujuan menguji toksisitas ekstrak aktif dengan menggunakan sel makrofag RAW 264.7 secara in vitro.

METODE PENELITIAN

Bahan

Tumbuhan *Tetracera indica* (Christm. & Panz.) Merr. diperoleh dari Kebun Pendidikan Cikabayan, Institut Pertanian Bogor, Jawa Barat Tripsin EDTA, sel RAW 264.7 (ATCC), Fetal Bovine Serum (FBS) (Biosera), DMSO, SDS, Penisillin-Streptomisin (Sigma, Jerman), 3-(4,5-dimethylthiazol-2)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) (Bio Basic), Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) (Sigma, Jerman), metanol pro analisis (Merck, Jerman), asam asetat anhidrat, asam sulfat pekat, asam klorida, natrium asetat Merck (Darmstadt, Germany), $AlCl_3$, $FeCl_3$, TPTZ (Sigma, Jerman), kuersetin (Mark Herb), besi (II) sulfat heptahidrat (Sigma, Jerman), *folin-Ciocalteu* (Sigma Aldrich, Jerman), asam galat standar (Sigma Aldrich, Jerman), silika gel GF 254 (Merck, Jerman).

Alat

Peralatan yang digunakan terdiri dari *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE), *Universal Microplate Reader* (Bio-Tek® ELX 800™), Moisture Balance (Mettler Toledo HB43-S), *haemocytometer*, UV box (Camag), chamber (Camag), kromatografi kolom, hot plate, *vacuum rotary evaporator* (Eyela N-1100), bejana KLT 10x20, bejana KLT 20x20 (Camag).

Pembuatan Ekstrak

Ekstrak etanol 96 % ranting *Tetracera indica* diekstraksi secara bertingkat dengan metode *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) dimana satu bagian serbuk simplisia dengan 10 bagian etanol 96%. Ekstraksi dilakukan secara bertingkat dengan pelarut berturut-turut *n*-heksan, etil asetat, dan etanol 96%. Waktu ekstraksi 50 menit pada suhu ruang dengan frekuensi 42 kHz. Ekstrak difiltrasi, dan filtrat dipekatkan dengan rotary vacuum evaporator pada suhu 50-60°C dan penangas air sampai didapatkan ekstrak kental. Pergantian pelarut dilakukan setelah ampas kering pada suhu ruang. Proses ekstraksi ini menghasilkan 3 ekstrak terpurifikasi yaitu ekstrak *n*-heksana (EH), ekstrak etil asetat (EA) dan ekstrak etanol 96% (ET). Ekstraksi dilakukan sebanyak tiga kali (triplo) [9].

Identifikasi Fenolik, Flavonoid, dan Triterpenoid/Steroid

Identifikasi kualitatif fenol, flavonoid dan triterpenoid/steroid dilakukan terhadap ekstrak *n*-Heksana, etil asetat dan etanol 96% dengan metode KLT menggunakan Silika Gel GF 254. Identifikasi dilakukan dengan prosedur berikut:

a. Uji Fenolik dengan pereaksi FeCl_3

Fase gerak yang digunakan adalah Heksana : etil asetat: (7:3) dengan penampak noda FeCl_3 5%. Positif fenolik bila menghasilkan spot berwarna hijau, merah ungu, biru atau hitam yang kuat [9].

b. Uji Flavonoid menggunakan pereaksi AlCl_3

Fase gerak yang digunakan kombinasi pelarut Heksan : etil asetat : metanol (5:2:1) dengan pereaksi semprot AlCl_3 10%. Kuersetin digunakan sebagai pembanding dengan kadar 1%. Plat yang sudah kering disemprot dengan AlCl_3 , dipanaskan diatas hotplate, jika muncul warna kuning pada bercak, positif mengandung flavonoid [9].

c. Uji Triterpenoid/Steroid dengan *Liebermann Burchard*

Fase gerak yang digunakan kombinasi pelarut heksan-etil asetat (8:2). Pereaksi semprot menggunakan *Liebermann Burchard*, hasil positif triterpenoid apabila berwarna merah bata dan steroid berwarna hijau[9].

Penetapan Kadar Fenolik Total

Penetapan kadar fenol diukur menggunakan *microplate reader 96 well*[10]. EH sebanyak 20 mg dilarutkan dengan metanol 10 mL sehingga konsentrasi 2000 ppm. Dibuat pengenceran menjadi 1500 ppm. Sebanyak 10 mg EA/ET dilarutkan dengan

metanol 10 mL hingga didapatkan konsentrasi 1000 ppm. Dibuat pengenceran menjadi 500 ppm. Dari konsentrasi sampel dipipet sebanyak 20 μ L ditambahkan pereaksi 100 μ L Folin-Ciocalteu (1:10) dan dishaker. Kemudian didiamkan selama 4 menit, ditambahkan 80 μ L larutan Na_2CO_3 7,5%, dishaker dan diinkubasi selama 2 jam ditempat gelap. Pengukuran absorbansi pada panjang gelombang maksimum 750 nm, dengan 3 kali replikasi. Larutan kontrol dibuat dengan cara yang sama, dimana sampel digantikan dengan metanol pro analisa dengan volume yang sama. Kurva baku asam galat dibuat dengan konsentrasi 40, 60, 120, 140 dan 160 μ g/mL. Hasil dinyatakan sebagai GAE (*Gallic Acid Equivalent*)/g ekstrak.

Penetapan Kadar Flavonoid Total

Penetapan kadar flavonoid total dengan metode kolorimetri yang mengacu pada prosedur Farasat, et al 2014[11] dengan kuersetin sebagai standar. Dibuat larutan sampel 1000 ppm dengan memipet 10 mg sampel dilarutkan dengan 10 mL metanol. Larutan stok dipipet 20 μ L ditambahkan berturut-turut 20 μ L AlCl_3 , 20 μ L kalium asetat 1 M dan 180 μ L aquadest. Campuran larutan dishaker 60 detik, diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang. Intensitas warna larutan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 415 nm. Sebagai larutan kontrol AlCl_3 digantikan aquadest dengan volume yang sama. Larutan baku induk kuersetin dibuat dengan 5 seri konsentrasi yaitu 20, 40, 60, 100 dan 160 μ g/mL. Kadar flavonoid total dihitung berdasarkan kesetaraan terhadap kuersetin.

Pengukuran Aktivitas Antioksidan Dengan Metode FRAP

Timbang seksama 10 mg ekstrak/kuersetin dilarutkan dengan metanol pro analisa 10 mL sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm. Kemudian dilakukan pengenceran menjadi 700 ppm. Sedangkan pengenceran untuk EA/ET/kuersetin yaitu konsentrasi 500 ppm. Konsentrasi EH yang diuji 700 ppm, EA/ET yang diuji 150 ppm, dan kuersetin sebagai kontrol positif dengan konsentrasi 10 ppm. Pipet 30 μ L larutan ekstrak/kuersetin dan ditambahkan 270 μ L reagen FRAP. Dihomogenkan \pm 60 detik dan inkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C pada tempat gelap. Absorbansi dibaca pada panjang gelombang 595 nm. Lakukan sebanyak 3 kali penimbangan pada ekstrak dengan setiap penimbangan dilakukan 3 replikasi. Larutan kontrol dibuat dengan cara yang sama dimana Ammonium Ferrous Sulfat (AFS) digantikan dengan metanol pro analisa dengan volume yang sama. *Plate blank* berisi metanol pro analisa

300 μ L. Kurva kalibrasi AFS dibuat dengan 5 seri konsentrasi 75, 150, 300, 600, dan 1200 mM yang dilarutkan dengan aquadest[12][13]. Hitung aktivitas antioksidan dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{FeEAC} = \frac{\Delta A}{\text{GRAD}} \times \frac{A_v}{S_{pv}} \times D \times \frac{1}{C_{ext}} \times 10^5$$

Keterangan:

FeEAC : kesetaraan antara aktivitas antioksidan (μ mol/g) dengan ion ferri

ΔA : abs sampel sesudah pengurangan dengan larutan kontrol

GRAD : gradien grafik kurva kalibrasi AFS

A_v : total volume pengujian

S_{pv} : total volume sampel pada pengujian

D : factor pengenceran sampel

C_{ext} : konsentrasi stok sampel (g/L)

Uji Toksisitas Ekstrak Aktif

Uji toksisitas sel dilakukan dengan metode MTT assay terhadap sel RAW 264.7 (Zheng et al, 2017 dengan sedikit modifikasi) [14]. Diamati kondisi sel, sel dipanen saat telah mencapai konfluensi 80%. Media kultur dibuang secara perlahan, kemudian sel dicuci dengan PBS, tambahkan tripsin EDTA. Inkubasi dalam inkubator CO₂ 5% 37° C selama 3 menit. Ditambahkan media DMEM sebanyak 5 ml untuk inaktivasi tripsin. Sel diresuspensi menggunakan pipet, dan dipindahkan ke conical tube steril baru. Sel disentrifugasi dengan kecepatan 1200 rpm selama 5 menit. Supernatan dibuang dan ditambahkan 1 mL media kultur pada pellet yang tersisa. Sel dihitung menggunakan haemocytometer dan tripkan blue untuk mengetahui jumlah sel yang tersedia dalam 1 mL media. Sel diencerkan dengan media kultur hingga mencapai jumlah sel yang diinginkan. Pindahkan sel pada 96 well plate dengan volume 100 μ L tiap sumuran. Sel diinkubasi pada inkubator CO₂ 5% 37° C selama semalam (overnight).

Persiapan sampel uji dengan menimbang sampel 10 mg, ditambahkan DMSO sehingga konsentrasi stok sampel menjadi 50.000 μ g/mL. Dibuat seri konsentrasi sampel menjadi 1000 μ g/mL, 250 μ g/mL, 125 μ g/mL, 62,5 μ g/mL, 31,25 μ g/mL, dan 15,625 μ g/mL. Setelah 24 jam, medium kultur pada sumuran dibuang. Dimasukkan

sampel yang telah diencerkan dengan media kultur pada sumuran, masing-masing 100 μ L (masing-masing konsentrasi dibuat triplo), dimasukkan medium kultur saja pada well untuk kontrol sel. Sel kemudian diinkubasi kembali selama 24 jam dan didokumentasikan. Setelah 24 jam, media kembali dibuang, dan sel dicuci dengan menggunakan PBS. Ditambahkan reagen MTT yang sudah diencerkan medium sebanyak 100 μ L pada sumuran, kemudian sel diinkubasi kembali pada inkubator selama 4 jam. Setelah 4 jam, ditambahkan SDS 10% sebanyak 100 μ L, bungkus plate dengan aluminium foil, dan inkubasi sambil *dishake* pada inkubator pada suhu ruang semalaman (*overnight*). Setelah *overnight*, plate dibaca serapannya dengan ELISA Reader pada panjang gelombang maksimum 573 nm [14,15,16,17].

HASIL DAN DISKUSI

Tetracera indica dideterminasi di Organisasi Riset Ilmu Pengetahuan Hayati, Pusat Riset Biologi, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) dengan no koleksi: B-689/V/DI.05.07/11/2021. Hasil deteminasi menyimpulkan tanaman yang diteliti adalah *Tetracera indica* (Christm.& Panz) Merr dengan nama daerah mempelas dan suku *Dilleniaceae*.

Bagian tanaman yang digunakan adalah rantingnya. Sortasi basah digunakan untuk memisahkan ranting dari pengotor organik dan anorganik. Ranting dicuci bersih, ditiriskan, dikeringkan dengan sinar matahari hingga ranting mudah dipatahkan. Pengeringan bertujuan untuk menguapkan air, mengurangi aktivitas enzim pengurai, mencegah perubahan fitokimia dan mempertahankan mutu simpleksia selama penyimpanan [21]. Metode ekstraksi yang digunakan adalah *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) secara bertingkat dengan urutan pelarut n-heksan, etil asetat dan etanol 96%. Perbedaan pelarut dan metode ekstraksi mempengaruhi rendemen ekstraksi, pelarut etanol 96% yang bersifat polar didapatkan rendemen ekstrak tertinggi yaitu 1,834%. Ekstraksi ultrasonik merupakan proses perambatan gelombang ultrasonik dalam medium pelarut dari sumber getaran sonikator.

Hasil skrining fitokimia metabolit sekunder *Tetracera indica* mengandung senyawa terpenoid, steroid, fenol dan flavonoid. Pengamatan dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm dengan penampak bercak yang sesuai. Pada ekstrak heksan positif mengandung senyawa triterpenoid, sementara fenolik dan flavonoid terdapat pada ekstrak etil asetat dan etanol. Pola kromatogram terdapat pada gambar 1.

1 Penetapan kadar fenolik total (TPC) dengan pereaksi *Folin Ciocalteu*. Kompleks molibdenum-tungsten yang berwarna biru terbentuk melalui reaksi oksidasi senyawa fenol dengan pereaksi folin. Konsentrasi warna biru menentukan besarnya konsentrasi senyawa fenol dalam sampel. Reaksi ini terjadi dengan penambahan Na_2CO_3 dimana terjadi disosiasi proton pada senyawa fenolik menjadi ion fenolat [18].

Hasil penetapan kadar fenol total diperoleh persamaan regresi linier dari asam galat $y = 0,0067x - 0,0394$ dengan $R^2 = 0,9996$. Pada ekstrak heksan diperoleh data sebesar 27,595 mg GAE/g. Sementara ekstrak etil asetat nilai kadar fenol total adalah 88,777 mg GAE/g dan ekstrak etanol 233,751 mg GAE/g. Hasil penetapan kadar fenol total terdapat pada Tabel 1.

32 Penetapan kadar flavonoid total ditentukan dengan metode Farasat et al (2014) dengan kuersetin sebagai standar [11]. Flavonoid yang mempunyai gugus hidroksi membentuk kompleks dengan logam aluminium. Kompleks ini menghasilkan pergeseran kearah panjang gelombang yang lebih panjang (batokromik). Penambahan natrium asetat untuk menstabilkan struktur tetap pada daerah visible [19]. Gugus OH yang terdapat pada kuersetin bereaksi dengan Al^{3+} dan natrium asetat (Gambar 2). Hasil penelitian diperoleh kadar flavonoid total pada ekstrak heksan 46,409 mg QE/g, ekstrak etil asetat 63,138 mg QE/g dan ekstrak etanol 39,742 mg QE/g (Tabel 2).

Penetapan antioksidan dengan metode FRAP, aktivitas antioksidan dihitung berdasarkan kesetaraan terhadap *Ferric Iron Equivalent Antioxidant Activity* (FeEAC). Standar yang dipakai adalah Ammonium Ferro Sulfat dan diperoleh kurva kalibrasi AFS dengan persamaan $y = 0,0015x + 0,0710$ dengan $R^2 = 0,9999$. Ekstrak yang memberikan aktivitas antioksidan yang paling aktif adalah ekstrak etanol dengan nilai FeEAC 2227,926 mol/g, diikuti oleh ekstrak etil asetat (937,684 mol/g), ekstrak n-heksan (228,322 mol/g) dan kontrol positif kuersetin dengan nilai FeEAC 13600 mol/g (Tabel 3). Prinsip reaksi FRAP adalah terjadinya reduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} karena pereaksi TPTZ membentuk kompleks Fe^{2+} -TPTZ yang berwarna biru. Reaksi diukur pada panjang gelombang 593 nm (Gambar 3) [22].

Aktivitas antioksidan tidak hanya dipengaruhi oleh struktur kimia tetapi juga kadar senyawa, pelarut, pH dan waktu inkubasi. Gambar 6 memperlihatkan aktivitas antioksidan untuk ekstrak yang dibandingkan dengan kontrol positif kuersetin. Hasil ini sejalan dengan kandungan fenol dan flavonoid yang tinggi pada ekstrak etil asetat dan etanol 96% (Gambar 4 dan 5).

Untuk mengukur efek toksik suatu bahan alam diperlukan toksisitas untuk mengetahui tingkat keamanannya. Pada penelitian ini uji toksisitas dilakukan dengan metode Methyl Thiazolydiphenyl Tetrabromide (MTT) menggunakan sel makrofag RAW 264.7. Uji ini digunakan untuk mengukur kemampuan sel hidup berdasarkan aktivitas mitokondria sel [20]. Sel yang hidup dengan metabolisme aktif akan mengkonversi MTT menjadi senyawa formazan berwarna ungu, sedangkan sel mati tidak dapat mengkonversi MTT. Intensitas warna ungu yang terbentuk meningkat seiring jumlah sel yang hidup yang lebih banyak [25]. Kristal formazan yang terbentuk dilarutkan dengan penambahan DMSO. Uji toksisitas dengan metode *MTT assay* dari ekstrak etil asetat diperoleh data IC_{50} adalah 23.877 $\mu\text{g/mL}$ dengan viabilitas terlihat pada tabel 4. Ini menunjukkan ekstrak etil asetat *T. indica* tidak biokompatibel karena persentase sel hidup berada dibawah letal konsentrasi yaitu 50% dan berpotensi sebagai antikanker. Pengamatan mikroskopis sel RAW 264.7 sebelum uji MTT dan sesudah uji MTT terdapat pada Gambar 7.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol dan etil asetat ranting *Tetracera indica* sangat potensial memberikan efek antioksidan. Hal ini sejalan dengan tingginya kandungan fenol dan flavonoid pada kedua ekstrak yang bertanggung jawab dalam memberikan efek farmakologi. Ekstrak etil asetat ranting *Tetracera indica* juga menghambat proliferasi sel dengan IC_{50} 23.877 $\mu\text{g/mL}$.

REFERENSI

- [1] Roskiana Ahmad A, Afrianty Daniya Ratulangi S, Malik A. Penetapan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Metanol Buah dan Daun Patikala (*Etilingera elatior* (Jack) R.M.SM). Vol. 2. 2015.
- [2] Adesanwo J, Ekundayo O, Oluwole F, Olajide O, van den Berge A, Findlay J. The Effect Of *Tetracera potatoria* And Its Constituent Betulinic Acid On Gastric Acid Secretion And Experimentally- Induced Gastric Ulceration. Nigerian Journal of Physiological Sciences. 2005 Apr 14;18(1).
- [3] Hasan MdM, Ahmed QU, Soad SZM, Latip J, Taher M, Syafiq TMF, et al. Flavonoids from *Tetracera indica* Merr. induce adipogenesis and exert glucose uptake activities

in 3T3-L1 adipocyte cells. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2017 Dec 30;17(1):431.

- [4] Alhassan AM, Ahmed QU, Latip J, Shah SAA. A new sulphated flavone and other phytoconstituents from the leaves of *Tetracera indica* Merr. and their alpha-glucosidase inhibitory activity. *Natural Product Research*. 2019 Jan 2;33(1):1–8.
- [5] Abdullah F, Ismail NH, Jamaludin F, Hashim SNAM. Xanthine Oxidase Inhibitory Activity of *Tetracera Indica*. *The Open Conference Proceedings Journal*. 2014 Jan 24;4(1):93–4.
- [6] Muharni M, Elfita E, Julunar J, Yohandini H, Oktaviani M. β - Sitosterol and Betulonic Acid from n-Hexane Extract the Stem Bark of *Tetracera indica*. *Molekul*. 2019 Nov 30;14(2):103.
- [7] Lima CC, Lemos RPL, Conserva LM. Dilleniaceae family: an overview of its ethnomedicinal uses, biological and phytochemical profile. ~ 181 ~ *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2014;3(2):181–204.
- [8] Bello B, Dogarai S. PHYTOCHEMICAL AND ANTIDIABETIC ACTIVITY INVESTIGATIONS OF TETRACERA INDICA MERR. 2011.
- [9] Surya Utami T, Arbianti R, Hermansyah H, Reza A, Kunci K, antioksidan A. Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Simpurn (*Dillenia indica*) dari Berbagai Metode Ekstraksi dengan Uji ANOVA. *Seminar Nasional Teknik Kimia Indonesia-SNTKI*. 2009.
- [10] Bobo-García G, Davidov-Pardo G, Arroqui C, Vírseda P, Marín-Arroyo MR, Navarro M. Intra-laboratory validation of microplate methods for total phenolic content and antioxidant activity on polyphenolic extracts, and comparison with conventional spectrophotometric methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2015 Jan;95(1):204–9.
- [11] Farasat M, Khavari-Nejad RA, Mohammad S, Nabavi B, Namjooyan F. Antioxidant Activity, Total Phenolics and Flavonoid Contents of some Edible Green Seaweeds from Northern Coasts of the Persian Gulf [Internet]. Vol. 13, Shaheed Beheshti University of Medical Sciences and Health Services Iranian Journal of Pharmaceutical Research. 2014. Available from: www.iranhydrography.org
- [12] Prastiwi R, Elya B, Hanafi M, Desmiaty Y, Sauriasari R. The Antioxidant Activity of *Sterculia stipulata* Korth Woods and Leaves by FRAP Method. *Pharmacognosy Journal*. 2020 Mar 11;12(2):236–9.
- [13] Pereira, A. C. H., Lenz, D., Nogueira, B. V., Scherer, R., Andrade, T. U., Costa, H. B. da, Romão, W., Pereira, T. M. C., & Endringer, D. C. (2017). Gastroprotective activity of the resin from *Virola oleifera*. *Pharmaceutical Biology*, 55(1), 472–480. <https://doi.org/10.1080/13880209.2016.1251467>

- [14] Zheng L, Wang M, Peng Y, Li X. Physicochemical Characterization of Polysaccharides with Macrophage Immunomodulatory Activities Isolated from Red Ginseng (*Panax ginseng* C. A. Meyer). *Journal of Chemistry*. 2017;2017:1–8.
- [15] Muniandy K, Gothai S, Badran KMH, Suresh Kumar S, Esa NM, Arulselvan P. Suppression of Proinflammatory Cytokines and Mediators in LPS-Induced RAW 264.7 Macrophages by Stem Extract of *Alternanthera sessilis* via the Inhibition of the NF- κ B Pathway. *Journal of Immunology Research*. 2018 Aug 1;2018:1–12.
- [16] Wu J, Liu K, Shi X. The anti-inflammatory activity of several flavonoids isolated from *Murraya paniculata* on murine macrophage cell line and gastric epithelial cell (GES-1). *Pharmaceutical Biology*. 2016 May 3;54(5):868–81.
- [17] Soonthornsit N, Pitaksutheepong C, Hemstapat W, Utaisincharoen P, Pitaksuteepong T. In Vitro Anti-Inflammatory Activity of *Morus alba* L. Stem Extract in LPS-Stimulated RAW 264.7 Cells. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2017;2017:1–8.
- [18] Chen, L.Y., Cheng,C.W.& Liang,J.Y.,Effect of esterification condensation on the Folin_Ciocalteu method for the quantitative measurement of total phenols.*Food Chem.*,2015; 170:10-15
- [19] Cornard,J.P.& Merlin,J.C., Complexes of aluminium (III) with isoquercitrin: spectroscopic characterization and quantum chemical calculations. *Polyhedron*,2002;21:2801-2810
- [20] Freshney,R, Animal cell culture, A practical approach, 6 th edition, IRI, Press: Washington DC, 2011;pp113-114
- [21] Thamkaew, G., Sjöholm, I., & Galindo, F. G. (2020). A review of drying methods for improving the quality of dried herbs. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 0(0), 1–24. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1765309>
- [22] Xiao, F., Xu, T., Lu, B., & Liu, R. (2020). Guidelines for antioxidant assays for food components. *Food Frontiers*, 1(1), 60–69. <https://doi.org/10.1002/fft2.10>
- [23] Nikolovska-Č sk , Ž., D vski, K., K is v , L. & Štu k v -Mi š vić, L.,Identification of phenolic constituents isolated from Macedonian propolis. *Bull. Chem. Technol. Maced.*, 14(1): 13–17 (1995)
- [24] Sjahid, LR., Aqshari A., Sediario., Penetapan Kadar Fenolik dan Flavonoid Hasil Ultrasonic Assisted Extraction Daun Binahong (*Anredera cordifolia* [Ten] Steenis). *Jurnal Riset Kimia*, 16- 23. <https://doi.org/10.25077/jrk.v11i1.348>
- [25] Riss TL, Moravec RA, Niles AL, Benink HA, Worzella TJ. *Cell Viability Assays*. 2016;1–31.

Tabel 1. Hasil Kadar Fenol Total Ekstrak Ranting *Tetracera indica* (Christm. & Panz) Merr.

Sampel	Kadar Fenolik Total (mgGAE/gram) ± SD
Ekstrak <i>n</i> -Heksan	27,595 ± 0,081
Ekstrak Etil Asetat	88,777 ± 1,062
Ekstrak Etanol 96%	233,751 ± 1,202

Tabel 2. Hasil Kadar Flavonoid Total Ekstrak Ranting *Tetracera indica* (Christm. & Panz) Merr.

Sampel	Kadar Flavonoid Total (mgGAE/gram) ± SD
Ekstrak <i>n</i> -Heksan	46,409 ± 1,156
Ekstrak Etil Asetat	63,138 ± 0,388
Ekstrak Etanol 96%	39,742 ± 0,541

Tabel 3. Hasil Pengujian Antioksidan Metode FRAP Ekstrak Ranting *Tetracera indica* (Christm. & Panz) Merr.

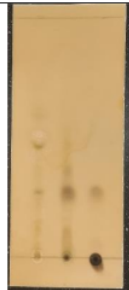
Sampel	FeEAC (mol/gram) ± SD
Ekstrak <i>n</i> -Heksan	228,322 ± 0,899
Ekstrak Etil Asetat	937,684 ± 26,165
Ekstrak Etanol 96%	2227,926 ± 2,096
Kuersetin	13600

Tabel 4. Uji Toksisitas dan Persen Viabilitas Ekstrak Etil Asetat Ranting *Tetracera indica*

Konsentrasi (µg/mL)	Log Konsentrasi	% Penghambatan Proliferasi (PP)			% PP rata-rata	SD	% viabilitas sel
		1	2	3			
15,625	1,194	42,105	40,822	39,153	40,693	1,480	59,307
31,25	1,495	52,846	57,381	54,771	54,999	2,276	45,001
62,5	1,796	69,919	67,950	70,004	69,291	1,162	30,709

125	2,097	85,623	84,510	83,911	84,681	0,869	15,319
250	2,398	91,228	90,287	93,239	91,585	1,508	8,415
1000	3000	95,892	94,908	95,208	95,336	0,504	4,664

Identifikasi Fenol



A B C

Sinar Tampak



A B C

UV 254



A B C

UV 366

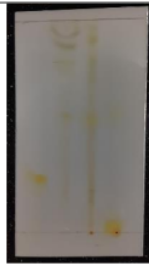
Keterangan:

A: ekstrak *n*-heksan

B: ekstrak etil asetat

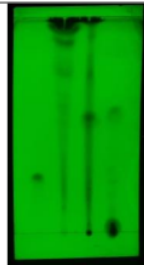
C: ekstrak etanol 96%

Identifikasi Flavonoid



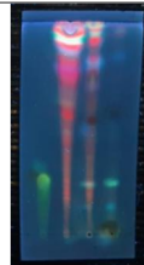
A B C D

Sinar Tampak



A B C D

UV 254



A B C D

UV 366

Keterangan:

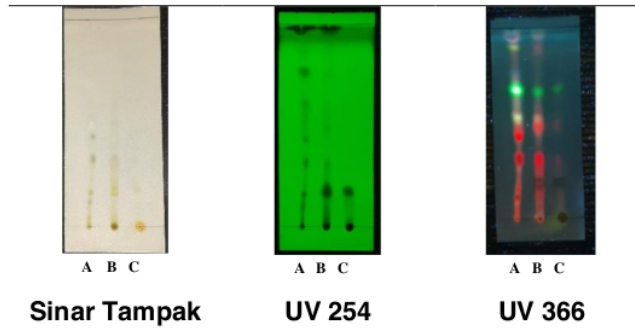
A: Kuersetin

B: ekstrak *n*-heksan

C: ekstrak etil asetat

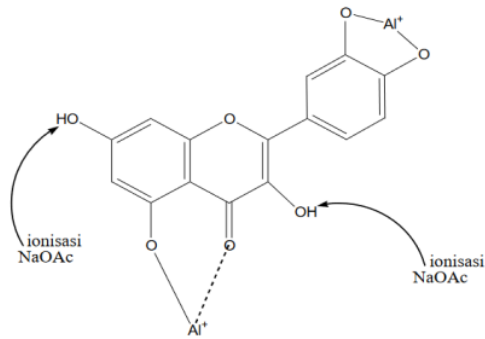
D: ekstrak etanol 96%

Identifikasi Triterpenoid/Steroid

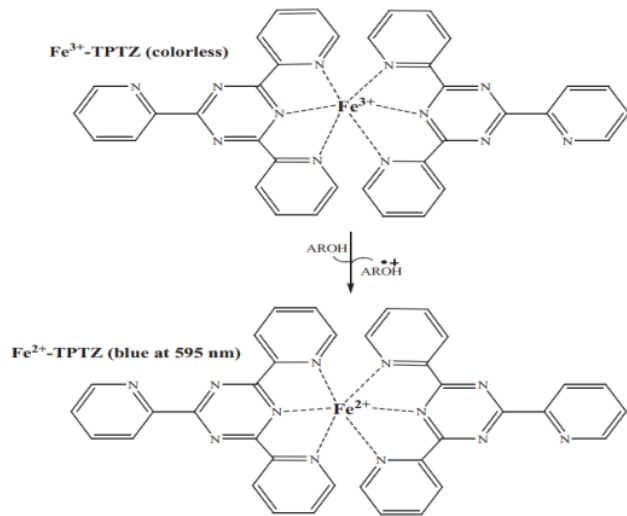


Keterangan
A: ekstrak *n*-heksan
B: ekstrak etil asetat
C: ekstrak etanol 96%

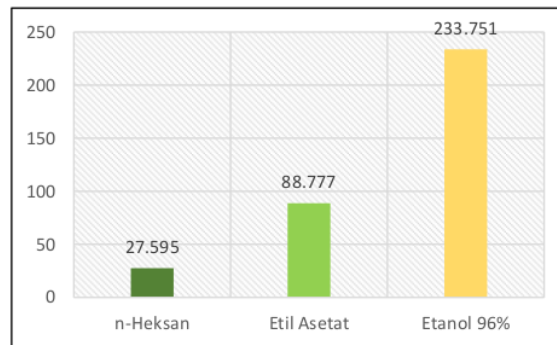
Gambar 1. Pola Kromatogram Ekstrak *N*-Heksan: Ekstrak Etil Asetat: Ekstrak Etanol 96%



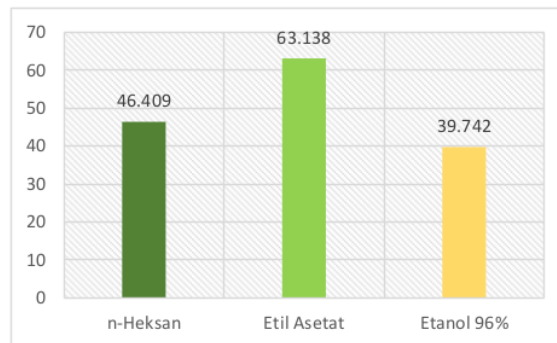
Gambar 2. Ilustrasi Kompleks Kuersetin-Aluminium Dan Ionisasi Natrium Asetat Terhadap Struktur, Modifikasi Dari Nikolovska-Coleska (23,24)



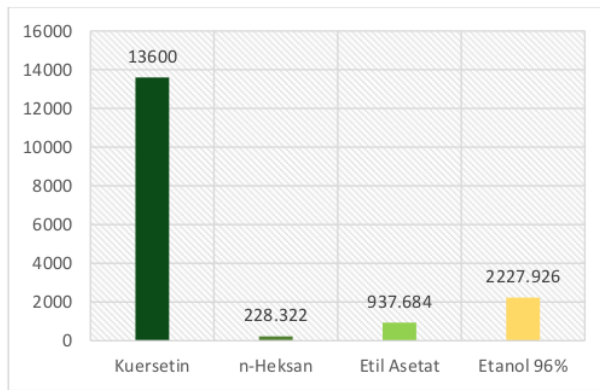
Gambar 3. Mekanisme Pembentukan Warna Pada FRAP (22)



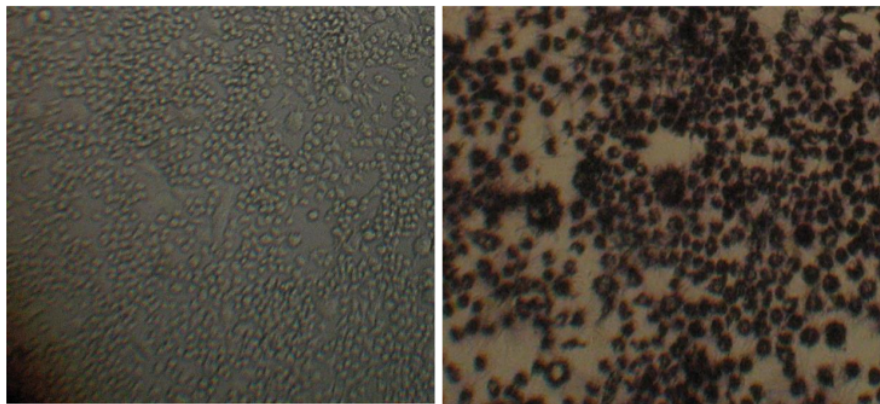
Gambar 4. Diagram Batang Penetapan Kadar Fenol Total



Gambar 5. Diagram Batang Penetapan Kadar Flavonoid Total



Gambar 6. Hasil Diagram Batang Aktivitas Antioksidan Dengan Metode FRAP



A

B

Gambar 7. Penampakan sel RAW 264,7 sebelum pemberian MTT (A) dan sesudah pemberian MTT (B)

Vera Ladeska-Potensi Antioksidan, Kadar Fenolat dan Flavonoid Total Ranting Tetracera indica serta Uji Toksisitas terhadap sel RAW

ORIGINALITY REPORT

20%

SIMILARITY INDEX

18%

INTERNET SOURCES

11%

PUBLICATIONS

4%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	123dok.com Internet Source	2%
2	repositori.uin-alauddin.ac.id Internet Source	2%
3	docplayer.info Internet Source	1%
4	ejournal.unsrat.ac.id Internet Source	1%
5	e-journal.unair.ac.id Internet Source	1%
6	idoc.pub Internet Source	1%
7	repo.stikesborneolestari.ac.id Internet Source	1%
8	jrk.fmipa.unand.ac.id Internet Source	1%

[pt.scribd.com](#)

9	Internet Source	1 %
10	id.scribd.com Internet Source	1 %
11	repository.usd.ac.id Internet Source	<1 %
12	Submitted to Universitas Pelita Harapan Student Paper	<1 %
13	eprints.ums.ac.id Internet Source	<1 %
14	nanopdf.com Internet Source	<1 %
15	Muladi Putra Mahardika, Azis Saifudin. "Pemisahan dan Pemurnian Senyawa Sulforaphane pada Brokoli (<i>Brassica oleracea</i> L.) dan Aktivitas Sitotoksik terhadap Sel Kanker T47D", PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia (Pharmaceutical Journal of Indonesia), 2021 Publication	<1 %
16	Nuraziza Nuraziza, Seniwati Dali, Risdha Waris. "UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN ARBENAN (<i>Duchesnea indica</i> (Jacks.) Focke) DENGAN METODE DPPH", Jurnal Ilmiah As-Syifaa, 2017 Publication	<1 %

17	Submitted to Universitas Indonesia Student Paper	<1 %
18	Submitted to Universitas Esa Unggul Student Paper	<1 %
19	download.garuda.ristekdikti.go.id Internet Source	<1 %
20	Submitted to University of Huddersfield Student Paper	<1 %
21	adoc.pub Internet Source	<1 %
22	www.researchgate.net Internet Source	<1 %
23	Ratna Yuliani, Broto Santoso, Bella Permatasani, Diah Mukti Sari. "Hasil Skrining Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol Daun Kelengkeng (<i>Dimocarpus longan</i>), Daun Kersen (<i>Muntingia calabura</i>), dan Daun Alpukat (<i>Persea americana</i>) terhadap Sel T47D Dan WiDr", <i>Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia</i> , 2019 Publication	<1 %
24	Selpida Handayani, Ahmad Najib, Nurul Purnama Wati. "UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN DARUJU (<i>Acanthus ilicifolius</i> L.) DENGAN METODE PEREDAMAN RADIKAL	<1 %

BEBAS 1,1-DIPHENYIL-2-PICRYLHIDRAZIL (DPPH)", Jurnal Fitofarmaka Indonesia, 2018

Publication

25	core.ac.uk Internet Source	<1 %
26	docobook.com Internet Source	<1 %
27	edoc.uui.ac.id Internet Source	<1 %
28	eprints.unpak.ac.id Internet Source	<1 %
29	jurnal.unw.ac.id Internet Source	<1 %
30	lppm.unjani.ac.id Internet Source	<1 %
31	psr.ui.ac.id Internet Source	<1 %
32	repository2.unw.ac.id Internet Source	<1 %
33	www.tandfonline.com Internet Source	<1 %
34	José Coelho, Jerson Veiga, Amin Karmali, Marisa Nicolai, Catarina Pinto Reis, Beatriz Nobre, António Palavra. "Supercritical CO ₂ Extracts and Volatile Oil of Basil (<i>Ocimum</i>	<1 %

basilicum L.) Comparison with Conventional Methods", Separations, 2018

Publication

35

Radipta - Lailatussifa, Maria Madalena Pereira. "ANALISIS KANDUNGAN SENYAWA FENOLIK EKSTRAK ALGA Sargassum polycystum DARI PANTAI SELATAN, GUNUNG KIDUL, YOGYAKARTA", Chanos Chanos, 2022

Publication

<1 %

36

id.123dok.com

Internet Source

<1 %

37

repository.unfari.ac.id

Internet Source

<1 %

38

sepuluhjarisuka.blogspot.com

Internet Source

<1 %

39

uit.e-journal.id

Internet Source

<1 %

40

Lalu Aang Robby Dewantara, Agus Dwi Ananto, Yayuk Andayani. "Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Kacang Panjang (Vigna unguiculata) dengan Metode Spektrofotometri UV-Visible", Lumbung Farmasi: Jurnal Ilmu Kefarmasian, 2021

Publication

<1 %

41

innovareacademics.in

Internet Source

<1 %

Exclude quotes Off
Exclude bibliography On

Exclude matches Off