

Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Batang *Lunasia amara*

*(Antioxidant and Antibacterial Activity of Ethanol Extract
of Lunasia amara Stem Bark)*

Agus Saputra*, Meity Marviana Laut, Nemay Anggadewi Ndaong

Bagian Anatomi, Fisiologi, Farmakologi dan Biokimia,
Fakultas Kedokteran dan Kedokteran Hewan, Universitas Nusa Cendana, Kupang

*Korespondensi Email : saputra.a@staf.undana.ac.id

ABSTRACT

Nowadays, there is an increasing demand for medicines to treat many types of diseases. Lunasia amara is one of the medicinal plants used by Indonesian people for a long time. This study aimed to identify the secondary metabolites of L. amara stem bark using phytochemical analysis and then assess its antioxidant and antibacterial activities. Metabolite extraction will be carried out with an ethanol solvent, and antioxidant activity will be determined using the α , α -diphenyl- β -picrylhydrazyl (DPPH) assays. Antibacterial experiments were conducted against two types of bacteria: Escherichia coli and Staphylococcus aureus. From the results of the phytochemical investigation, the predominant compound group is alkaloid. The ethanol extract metabolites have antioxidant activity and belong to the strong antioxidant group with an IC_{50} value of 77.96 ppm. Antibacterial activity was weak at concentrations as high as 20%. Based on these findings, further assays can be conducted, such as cytotoxic activity against various cancer cells.

Keywords : alkaloids; antioxidant; Escherichia coli; Lunasia amara

PENDAHULUAN

Nusa Tenggara Timur (NTT) merupakan provinsi kepulauan yang didominasi oleh lahan kering dengan corak geografis, agroklimat semi-ringkai, dan kondisi sosial yang khas. Kondisi ini menyebabkan vegetasi flora faunanya sangat beragam dan memiliki perbedaan dengan daerah atau pulau-pulau lain di Indonesia yang beriklim basah. Tanaman yang berasal dari daerah luar dan tumbuh di NTT mengalami adaptasi dengan kondisi cuaca dan tanah sehingga

menghasilkan perubahan tertentu dalam beberapa hal, seperti ukuran tumbuhan atau kandungan metabolit sekunder (senyawa bioaktif) (Ledo dan Seran 2019).

Lunasia amara Blanco merupakan salah satu spesies tanaman yang tumbuh di daerah Chibal Manggarai Barat Flores provinsi NTT. Tanaman ini oleh masyarakat setempat dikenal dengan nama Metang dan termasuk ke dalam genus *Rutaceace* (Verheijen 1982).

Menurut masyarakat setempat tanaman ini telah digunakan dalam penanganan penyakit untuk mengobati penyakit kanker (kanker payudara) sejak lama dan bukti empiris memperlihatkan pasein sembuh dari penyakit kanker yang dideritanya. Studi literatur menunjukkan bahwa tanaman metang di beberapa daerah telah digunakan untuk tujuan meningkatkan performa libido (afrodisiak) (R *et al.* 2014; Luthfi *et al.* 2017). Aktivitas lain yang telah diteliti antara lain sebagai inhibitor penyisipan DNA pada topoisomerase II, antimikroba, antimalaria, dan anti clastogenic (Prescott *et al.* 2007; Zubair *et al.* 2016; Totaan *et al.* 2018).

Komponen senyawa dalam tanaman berkaitan dengan aktivitas yang dimilikinya. Senyawa dengan gugus hidroksil atau atom nitrogen akan meningkatkan aktivitas antioksidannya. Aktivitas antioksidan telah diketahui berkaitan erat dengan perannya sebagai salah satu pencegah terjadinya penyakit kanker. Antioksidan dapat mencegah terjadinya stres oksidatif dengan cara menangkap radikal bebas seperti spesies oksigen reaktif (ROS) (Grigalius dan Petrikaite 2017). ROS diketahui bertanggung jawab sebagai salah satu faktor penyebab terbentuknya sel kanker (Flieger *et al.*

2021). Aktivitas antibakteri juga banyak ditunjukkan oleh berbagai jenis tanaman yang memiliki komponen senyawa golongan flavonoid, fenol, dan alkaloid (Kebede T, *et al.* 2021). Saat ini kasus resistensi bakteri terhadap antibiotik mengalami peningkatan di seluruh dunia. Penggunaan antibiotik yang tidak tepat diduga menjadi penyebab utama. Kebutuhan obat baru dengan mekanisme kerja berbeda sangat mendesak untuk ditemukan sebagai pengganti antibiotik.

Sumber bahan baku obat baru yang banyak diteliti dalam pencarian bahan baku obat saat ini adalah tanaman. Tanaman mensintesis dan menggunakan berbagai metabolit sekunder untuk menghadapi patogen dan predator. Hasil dari berbagai penelitian diperoleh informasi bahwa lebih dari 3.000 tumbuhan di seluruh dunia memiliki senyawa bioaktif (Menaga dan Yang 2020; Pramudya *et al.* 2022). Tanaman *L. amara* belum banyak diteliti manfaatnya dalam bidang kesehatan. Pada penelitian ini akan dilakukan penentuan aktivitas antioksidan dan antibakteri dari ekstrak etanol kulit batang *L. amara*. Hasil penelitian diharapkan dapat dijadikan dasar dalam menentukan arah pengujian selanjutnya.

MATERI DAN METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol PA, DPPH, isolat bakteri *E. coli* ATCC

25922 dan *S. aureus* ATCC 6538. Untuk peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah peralatan

gelas, rotary evaporator, microplate reader, dan mikropipet.

Kulit batang tanaman *L.amara* diperoleh dari hutan di Kabupaten Cibal Manggarai Flores Provinsi NTT dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan pada suhu 40 °C selama 1 minggu. Hasil pengeringan dihaluskan dengan bantuan blender hingga diperoleh serbuk halus. Selanjutnya sebanyak 20 gram serbuk sampel diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol sebanyak 200 mL Larutan disaring dan dilakukan pengulangan ekstraksi sebanyak 2 kali terhadap residu. Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan rotary evaporator.

Pengujian profil fitokimia ekstrak kulit batang tanaman *L. amara* dilakukan mengikuti metode Harborne 1987. Analisis ini akan menentukan komponen senyawa golongan flavonoid, alkaloid, saponin, fenol hidrokuinon, tanin, steroid, dan triterpenoid.

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode

α , α -diphenyl- β -picrylhydrazyl (DPPH). Ekstrak dibuat larutan dengan konsentrasi 1 mg/mL dan selanjutnya diencerkan bertahap dalam etanol sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi bertingkat. Larutan sampel masing-masing sebanyak 100 μ L dimasukkan ke dalam pelat 96-sumur kemudian ditambahkan 100 μ L larutan DPPH 125 μ M, dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang dan kondisi gelap. Pembacaan absorbans dilakukan pada panjang gelombang 517 nm. Nilai IC₅₀ diperoleh dari persamaan regresi grafik hubungan antara konsentrasi sampel dengan persen inhibisi.

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan terhadap jenis bakteri gram negatif (*E. coli*) dan positif (*S. aureus*). Sampel ekstrak dibuat larutan dengan konsentrasi 5%, 10%, dan 20% dan selanjutnya ditambahkan ke dalam media agar yang telah terdapat bakteri. Untuk kontrol positif digunakan kloramfenikol sedangkan kontrol negatif, DMSO steril.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Lunasia amara merupakan tanaman obat yang telah digunakan sejak lama sebagai salah satu bahan baku dalam pembuatan jamu untuk meningkatkan libido (afrodisiak). Bagian tanaman yang umum digunakan adalah kulit batang. Hasil ekstraksi dengan metode maserasi dengan pelarut etanol diperoleh rendemen sebesar 4,74%. Rendemen

ini lebih rendah dibandingkan dengan hasil yang diperoleh oleh Saputra *et al.* 2024. Pelarut etanol mampu mengekstrak sebagian besar metabolit sekunder baik senyawa yang bersifat polar, semi polar, dan non polar.

Metabolit sekunder merupakan metabolit yang dihasilkan dengan tujuan tertentu salah satunya adalah

sebagai respon kondisi lingkungan dan pertahanan terhadap insekta maupu hewan (Keita K, *et al.* 2022). Metabolit sekunder asal tanaman terdiri dari berbagai golongan senyawa. Setiap tanaman menghasilkan jenis senyawa dominan yang berbeda. Hal ini akan berkorelasi dengan penggunaan tanaman tersebut dalam kaitannya dengan bidang kesehatan. Hasil pengujian fitokimia terhadap ekstrak *L. amara* diperoleh alkaloid merupakan golongan senyawa dengan konsentrasi secara kualitatif tertinggi dan selanjutnya tanin (Tabel 1). Saponin, steroid, dan triterpenoid termasuk golongan dengan konsentrasi terendah.

Golongan alkaloid merupakan senyawa predominan yang banyak terdapat pada tanaman famili *Rutaceae*, salah satunya adalah alkaloid *quinoline* yang memiliki keragaman molekul yang luas. Hal ini terkait dengan beberapa jalur biosintesis prekursor asam amino aromatik seperti asam antranilat, lisin, akridon, dan ornitin (Macabeo

dan Aguinaldo 2008). Hasil penelitian berbagai peneliti menunjukkan terdapat 4 kelompok *quinoline* alkaloid yaitu 3-*dimethylallyl-2-quinolones*, *furoquinoline*, *furoquinolone*, 2-*arylquinoline*, dan 4-*quinolone* serta seskuiterpen. Kelompok alkaloid 3-*dimethylallyl-2-quinolones* yang telah diidentifikasi adalah *lunacridine* dan turunan hidroksi, *lunidin* dan turunan hidroksilnya, dan *lunidonine* sedangkan yang termasuk alkaloid *furoquinoline* adalah *kokusagine* (7,8-*methylenedioxydictamnine*) dan *skimmianine*. Kelompok senyawa basa *furoquinolone* adalah *lunacrine*, *hydroxylunacrine*, *lunine*, *hydroxylunine*, dan *lunacrinol*. Senyawa 4-*metoksi-2-phenylquinoline*, 4-*methoxy-2-(3',4'-methylenedioxyphenyl) quinoline* (*graveolinine*), 2-*fenil-4-quinolones*, dan *lunamarine* merupakan komponen kelompok alkaloid 2-*arylquinoline* dan 4-*quinolone* (Macabeo dan Aguinaldo 2008; Nascimento *et al.* 2022).

Tabel 1. Hasil Analisis fitokimia ekstrak etanol kulit batang *L. amara*

Golongan senyawa	Konsentrasi
Alkaloid	++++
Tanin	+++
Saponin	+
Fenol hidrokuinon	++
Flavonoid	++
Steroid	+
Triterpenoid	+

Metabolit sekunder oleh tanaman dan memiliki berbagai merupakan metabolit yang disintesis fungsi farmakologis. Fungsi

farmakologis ini antara lain aktivitas antioksidan dan antibakteri. Aktivitas antioksidan berkaitan dengan kemampuan suatu senyawa dalam menghentikan atau menangkap radikal bebas. Radikal bebas adalah spesies molekul atau ion berenergi tinggi yang memiliki elektron tidak berpasangan dan bersifat sangat reaktif serta memiliki aktivitas sebagai reduktor (agen pereduksi). Radikal bebas dihasilkan dari berbagai proses metabolisme seperti yang terlibat dalam rantai pernapasan, fagositosis, sintesis prostaglandin, dan sistem sitokrom P-450. Faktor eksternal (lingkungan) dapat berperan sebagai pemicu dalam proses terbentuknya radikal bebas, seperti paparan sinar-X, ozon, merokok, polusi udara, dan bahan kimia industri. Reaktif oksigen spesies (ROS) adalah salah satu jenis radikal bebas yang dihasilkan dari spesies oksigen di mitokondria sebagai hasil samping dari transpor elektron dalam

sistem pernapasan. ROS telah diduga berperan sebagai salah satu faktor penyebab terjadinya kanker (Flieger *et al.* 2021)

Hasil pengukuran aktivitas antioksidan kulit batang *L. amara* dengan pelarut etanol diperoleh dengan nilai IC₅₀ sebesar 77.96 ppm (Tabel 2). Satuan IC₅₀ menunjukkan konsentrasi sampel yang menghasilkan persen penghambatan radikal bebas sebesar 50%. Nilai IC₅₀ yang semakin kecil menunjukkan aktivitas antioksidan yang semakin kuat, demikian pula sebaliknya. Aktivitas antioksidan *L. amara* termasuk ke dalam golongan antioksidan kuat tetapi aktivitasnya lebih rendah dibandingkan dengan senyawa pembanding vitamin C. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan kulit batang *L. amara* memiliki berbagai metabolit sekunder yang mengandung atom N dan O yang dapat berperan sebagai penstabil radikal bebas (Saputra *et al.* 2024).

Tabel 2. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit batang *L. amara*

Sampel	Aktivitas antioksidan (IC ₅₀) (ppm)
Ekstrak <i>L. amara</i>	77.96
Vitamin C	4.85

Bakteri merupakan salah satu organisme yang telah diketahui bertanggung jawab dan dikaitkan dengan berbagai jenis penyakit pada manusia maupun hewan. Antibiotik telah digunakan dalam pengobatan penyakit yang disebabkan oleh bakteri. Saat ini efektivitas aktivitas antibiotik mengalami penurunan akibat terjadinya resistensi (Arip M,

et al. 2022; Keita K, *et al.* 2022) Resistensi antibiotik pada bakteri umumnya merupakan fenomena alami adaptasi terhadap zat antimikroba. Bakteri yang resisten akan meneruskan karakter ini kepada keturunannya melalui transfer horizontal atau vertikal. Penggunaan jenis dan dosis antibiotik yang tidak tepat telah menyebabkan evolusi

strain bakteri resisten baru yang lebih mematikan dibandingkan dengan strain induknya. Kasus-kasus terjadinya bakteri resisten yang

meluas sekarang sangat umum yang menyebabkan banyak masalah terkait kesehatan (Chandra H, *et al.* 2017)

Tabel 3. Hasil zona hambat ekstrak kulit batang *L. amara* terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli*

Sampel	Konsentrasi (%)	Zona Hambat (mm)
Ekstrak <i>L. amara</i>	20	7.15
	10	6.82
	5	6.14
Kloramfenikol K (+)	0.1	11.65
DMSO steril K (-)		6.00

Keterangan: K (+) = kontrol positif, K (-) = kontrol negatif

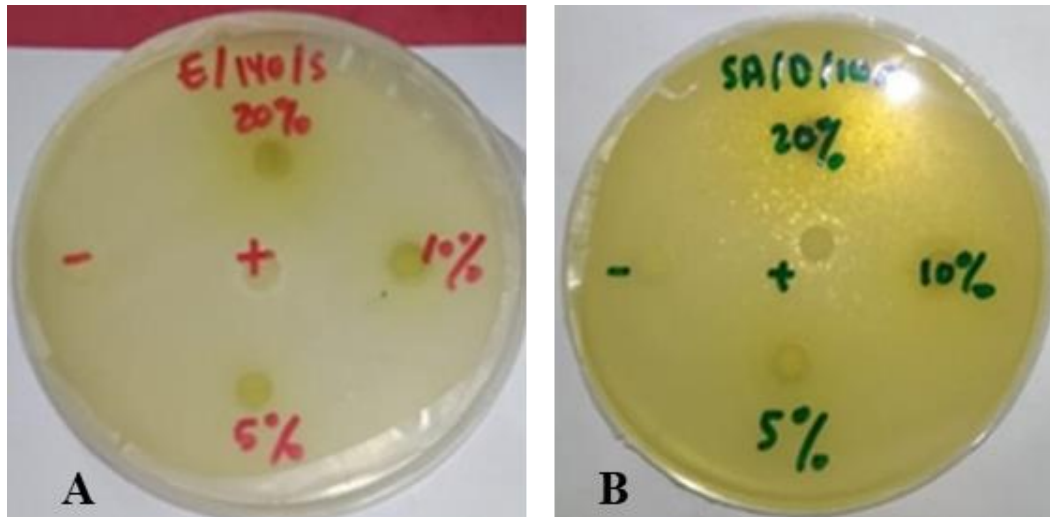
Tabel 4. Hasil zona hambat ekstrak kulit batang *L. amara* terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus*

Sampel	Konsentrasi (%)	Zona Hambat (mm)
Ekstrak <i>L. amara</i>	20	7.92
	10	6.65
	5	6.40
Kloramfenikol K (+)	0.1	12.62
DMSO steril K (-)		6.00

Keterangan: K (+) = kontrol positif, K (-) = kontrol negatif

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak *L. amara* dilakukan terhadap 2 jenis bakteri, yaitu *Escherichia coli* (bakteri gram negatif) dan *Staphylococcus aureus* (bakteri gram positif). Pertumbuhan kedua bakteri yang ditambahkan ekstrak *L. amara* secara keseluruhan tidak menunjukkan perbedaan signifikan (Tabel 3 dan 4). Ekstrak dengan konsentrasi 5 dan 10% menghasilkan zona hambat pertumbuhan kedua

bakteri pada kisaran 6.14 hingga 6.82 mm. Nilai ini tidak jauh berbeda jika dibandingkan dengan kontrol negatif yang sebesar 6.00 mm. Untuk konsentrasi ekstrak 20 %, hasil zona hambat lebih tinggi yaitu 7.15 mm untuk *E. coli* dan 7.92 mm *S. aureus* tetapi masih jauh lebih rendah jika dibandingkan dengan kontrol positif kloramfenikol yaitu sebesar 11.65 mm.



Gambar 1. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit batang *L. amara* terhadap bakteri (A) *E. coli* dan (B) *S. aureus*

Penggunaan tanaman obat sebagai pencegah atau mengobati penyakit yang disebabkan oleh mikroba telah dilakukan sejak lama. Tanaman kaya akan berbagai jenis metabolit sekunder dengan keanekaragaman struktur kimia yang sangat beragam. Golongan fenol dan turunannya telah diketahui menghambat pertumbuhan bakteri dengan menurunkan pH, meningkatkan permeabilitas membran, atau mengubah pemompaan efflux. Flavonoid telah dilaporkan juga dapat menginduksi

pembentukan kompleks protein terlarut ekstraseluler sehingga menghambat metabolisme sintesis protein dinding sel dan sintesis DNA dari bakteri (Chandra H. *et al.* 2017; Vaou N. *et al.* 2021; Yuan G. *et al.* 2021). Dari hasil analisis fitokimia, konsentrasi senyawa golongan fenol dan flavonoid lebih rendah dibandingkan alkaloid. Hal ini menunjukkan bahwa golongan senyawa alkaloid pada *L. amara* memiliki aktivitas antibakteri yang rendah.

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan ekstrak etanol kulit batang *L. amara* memiliki kandungan metabolit golongan alkaloid tertinggi dengan rendemen sebesar 4.74%. Aktivitas

antioksidan termasuk golongan kuat dengan IC_{50} sebesar 77.96 ppm sedangkan aktivitas antibakteri relatif lemah hingga konsentrasi uji tertinggi 20%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada Fakultas Kedokteran dan Kedokteran Hewan

yang telah mendanai penelitian ini melalui dana DIPA Undana 2024.

DAFTAR PUSTAKA

- Arip, M., Selvaraja, M., R, M., Tan, L. F., Leong, M. Y., Tan, P. L., Yap, V. L., Chinnapan, S., Tat, N. C., Abdullah, M., K, D., & Jubair, N. (2022). Review on Plant-Based Management in Combating Antimicrobial Resistance—Mechanistic Perspective. *Frontiers in Pharmacology*, 13, 879495. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.879495>
- Chandra, H., Bishnoi, P., Yadav, A., Patni, B., Mishra, A., & Nautiyal, A. (2017). Antimicrobial Resistance and the Alternative Resources with Special Emphasis on Plant-Based Antimicrobials—A Review. *Plants*, 6(4), 16. <https://doi.org/10.3390/plants6020016>
- Flieger J, Flieger W, Baj J, Maciejewski R. 2021. Antioxidants: Classification, Natural Sources, Activity/Capacity Measurements, and Usefulness for the Synthesis of Nanoparticles. *Materials*. 14(15):4135. doi:10.3390/ma14154135.
- Grigalius I, Petrikaite V. 2017. Relationship between Antioxidant and Anticancer Activity of Trihydroxyflavones. *Molecules*. 22(12):2169. doi:10.3390/molecules22122169
- Kebede, T., Gadisa, E., & Tufa, A. (2021). Antimicrobial activities evaluation and phytochemical screening of some selected medicinal plants: A possible alternative in the treatment of multidrug-resistant microbes. *PLOS ONE*, 16(3), e0249253. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0249253>
- Keita, K., Darkoh, C., & Okafor, F. (2022). Secondary plant metabolites as potent drug candidates against antimicrobial-resistant pathogens. *SN Applied Sciences*, 4(8), 209. <https://doi.org/10.1007/s42452-022-05084-y>
- Ledo S, Seran W. 2019. Keanekaragaman tumbuhan obat Taman Wisata Alam Baumata Kabupaten Kupang serta pemanfaatannya oleh masyarakat lokal. *Agrikan: J Agribisnis Perikanan* 12 (2): 299-310. DOI: 10.29239/j.agrikan.12.2.299-310.
- Luthfi MJ, Kamalrudin A, Noor MM. 2017. Effects of Lunasia amara Blanco (Sanrego) on Male Fertility: A Preliminary Study on Sperm Proteomic Analysis. *J. Appl. Pharm. Sci*. 7 (08): 085-091. doi:10.7324/JAPS.2017.70812.
- Macabeo APG, Aguinaldo AM. 2008. PHCOG REV.: Plant Review Chemical and Phytomedicinal Investigations in Lunasia amara. *Pharmacogn. Rev*. 2(4):10.
- Menaga S, Yang Mooi L. 2020. Chinese herbal medicine exhibits anticancer properties via eight cancer hallmarks. *J. Appl. Pharm. Sci*. 10(08): 149-163. doi:10.7324/JAPS.2020.10818.
- Nascimento LPS, Passos M de S,

- Nogueira TSR, Arantes MB de S, Monteiro NO, Boeno SI da S, Moreira ASN, Vieira MGC, de Carvalho Júnior AR, Braz-Filho R, Vieira IJC. 2021. Chemical Constituents and Biological Activities of the Genus *Flindersia* (Rutaceae). *Mini-Rev. Org. Chem.* 18:1–27. doi:10.2174/1570193X18666210218213410.
- Prescott TAK, Sadler IH, Kiapranis R, Maciver SK. 2007. Lunacridine from *Lunasia amara* is a DNA intercalating topoisomerase II inhibitor. *J. Ethnopharmacol.* 109(2):289–294. doi:10.1016/j.jep.2006.07.036.
- Pramudya M, Dewi FRP, Wong RW, Angraini DW, Winarni D, Wahyuningsih SPA. 2022. Anti-cancer activity of an ethanolic extract of red okra pods (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) in rats induced by N-methyl-N-nitrosourea. *Vet. World.*:1177–1184. doi:10.14202/vetworld.2022.1177-1184
- R. NR, N. MM, S. MSF. 2014. The potential of sanrego (*Lunasia amara*) in enhancing fertility and anti-hyperglycemic effect in diabetic induced male rats. *AIP Conference Proceedings.* 1614:579–582.
- Saputra, A., Wientarsih, I., Rafi, M., Sutardi, L. N., & Mariya, S. (2024). LC-HRMS Metabolite Profiling of *Lunasia amara* Stem Bark and In Silico Study in Breast Cancer Receptors. *Indonesian J Pharm*, 35(1), 116–125.
- Totaan IDV, D Calma Z, Angelo C Nicdao M, V Totaan E. 2018. Antioxidant, Antibacterial and Anti-Clastogenic Activities of *Lunasia amara* Blanco Leaf Extract. *Int. J. Adv. Sci. Tech. Res.* 1(8). doi:10.26808/rs.st.i8v1.13.
- Vaou, N., Stavropoulou, E., Voidarou, C., Tsigalou, C., & Bezirtzoglou, E. (2021). Towards Advances in Medicinal Plant Antimicrobial Activity: A Review Study on Challenges and Future Perspectives. *Microorganisms*, 9(10), 2041. https://doi.org/10.3390/microorganisms9102041
- Verheijen JAJ. 1982. *Dictionary of Manggarai Plant Names*. Canberra: Dept. of Linguistics, Research School of Pacific Studies, Australian National University. (Pacific linguistics).
- Yuan, G., Guan, Y., Yi, H., Lai, S., Sun, Y., & Cao, S. (2021). Antibacterial activity and mechanism of plant flavonoids to gram-positive bacteria predicted from their lipophilicities. *Scientific Reports*, 11(1), 10471. https://doi.org/10.1038/s41598-021-90035-7
- Zubair MS, Anam S, Lallo S. 2016. Cytotoxic activity and phytochemical standardization of *Lunasia amara* Blanco wood extract. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 6(11):962–966. doi:10.1016/j.apjtb.2016.04.014.