

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL 80% UMBI SARANG SEMUT (*Myrmecodia erinacea* Becc) TERHADAP SEL DARAH MERAH DOMBA YANG DIINDUKSI t-BHP DENGAN PARAMETER MDA

Purwati, Devintha Balapadang

Fakultas Farmasi Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta

ABSTRAK

Radikal bebas atau sering disebut oksidan merupakan hal yang normal dan terbentuk secara terus menerus di dalam tubuh manusia. Komponen penting yang mampu menyelamatkan sel-sel tubuh manusia dari bahaya radikal bebas adalah antioksidan. Tingginya kadar oksidan dalam tubuh dapat ditunjukkan oleh rendahnya aktivitas enzim antioksidan dan tingginya kadar *malondialdehid* (MDA). Sarang semut (*Myrmecodia erinacea* Becc) diketahui memiliki kandungan flavonoid yang berkhasiat sebagai antioksidan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek antioksidan ekstrak etanol 80% umbi sarang semut (*Myrmecodia erinacea* Becc). Dengan mengukur kadar MDA (*malondialdehid*) sebagai parameter stress oksidatif. Penelitian dilakukan pada 6 kelompok perlakuan yaitu terdiri dari kontrol normal sel darah merah domba yang hanya diberikan larutan kreps ringer fosfat, kontrol negatif sel darah merah domba diberikan larutan kreps ringer fosfat dan terbutilhidroperoksida, kontrol positif diberikan larutan kreps ringer fosfat, terbutilhidroperoksida dan vitamin c. Untuk KE-1 diberikan dosis ekstrak 0.6Mg/ml, KE-2 diberikan dosis ekstrak 1.2Mg/ml dan KE-3 diberikan dosis ekstrak 2.4Mg/ml. Hasil penelitian menunjukkan terjadi penurunan kadar MDA (*Malonaldehyde*) pada pemberian umbi sarang semut.

Kata Kunci : umbi sarang semut, antioksidan, MDA, sel darah merah domba, radikal bebas

ABSTRACT

*Free radical or often called oxidant is normal and is formed continuously in the human body. Antioxidant is important components which is able to save cells in human body from the dangerous of free radical. High levels of oxidants in the human body can be regulated by low activity of antioxidant enzyme and levels of malondialdehyde (MDA). Ant plants (*Myrmecodia erinacea* Becc) is known to contain flavonoid which is efficacious as antioxidant. The aim of this study is to determine the effect of antioxidant of ethanol extract 80% of ant plants (*Myrmecodia erinacea* Becc). By measuring the level of MDA (*malondialdehyde*) as a parameter of oxidative stress, the study is conducted on 6 treatments group that consists of normal control to red blood cells of sheep is given composition of krebs ringer phosphate, negative control to red blood cells of sheep is given composition of krebs ringer phosphate and tert-Butyl hydroperoxide, positive control is given composition krebs ringer phosphate, tert-Butyl hydroperoxide, vitamin c. The first step is given a dose of extract 0.6Mg / ml, the second is given a dose of extract of 1.2Mg / ml and the third is given a dose of extract 2.4Mg / ml. The result of the study is showing to decrease the level of MDA (*Malondialdehyde*) on the supply of ant plants (*Myrmecodia*).*

Keywords: *umbi sarang semut, antioxidant, MDA, red blood cells of sheep, free radicals*

PENDAHULUAN

Kemajuan jaman dewasa ini sebagian besar masyarakat mengalami perubahan pola hidup dan salah satu diantaranya dalam hal pola makan, dimana masyarakat lebih memilih yang bersifat cepat dan instan tanpa memperhatikan efek samping di balik hal tersebut. Pola makan yang tidak tepat dapat menyebabkan munculnya beragam penyakit seperti kanker, diabetes mellitus, aterosklerosis, katarak dan penyakit jantung koroner (Rohmatussolihat, 2009). Dalam dunia kedokteran dan kesehatan sudah banyak yang membahas tentang radikal bebas. Penyebabnya di karenakan hampir sebagian penyakit di awali dan di sebabkan oleh pengaruh radikal bebas yang yang berdampak buruk bagi tubuh manusia. Radikal bebas yang secara umum diketahui sebagai senyawa yang memiliki elektron yang tidak berpasangan. (Soeatmaji, 1998).

Salah satu yang bisa untuk menangkal bahaya dari radikal bebas adalah antioksidan. Antioksidan adalah zat yang dapat melawan pengaruh bahaya dari radikal bebas yang terbentuk sebagai hasil dari reaksi-reaksi kimia dan proses metabolisme yang terjadi di dalam tubuh (Hermani dan Rahardjo, 2005). Antioksidan dapat di bedakan menjadi 2 yaitu antioksidan alami seperti tokoferol, senyawa fenolik, asam sitrat, flavonoid. Yang kedua adalah antioksidan sintetik yang banyak di gunakan dalam industry makanan seperti BHT (*butylate hyroxytoluene*), BHA (*butylated hydroxuanisole*). *Malondialdehyde* adalah senyawa dialdehyde atau berkarbon tiga yang reaktif dan merupakan produk akhir dari peroksidasi lipid di dalam membran sel. Dimana *malondialdehyde* (MDA) adalah salah satu penanda terjadinya kerusakan stress oksidatif yang di sebabkan oleh radikal bebas (Suryohudoyo, 2000).

Sarang semut (*Myrmecodia*) adalah salah satu tumbuhan yang telah digunakan untuk mengobati berbagai penyakit. Jenis sarang semut yang sering digunakan ialah *Hydnophutum fomicarum*, *Myrmecodia pendens*, dan *Myrmecodia tuberosa* (Ahkam,dkk., 2006). Sarang semut mengandung senyawa kimia dari golongan flavonoid, tanin dan senyawa fenolik. Senyawa flavonoid mempunyai efek biologis yang sangat kuat sebagai antioksidan.

BAHAN DAN METODE

Alat. Peralatan yang digunakan adalah alat-alat laboratorium (beaker glass, pipet volume, pipet tetes, labu ukur, tabung reaksi, rak tabung, gelas arloji, batang pengaduk, erlenmeyer, alat-alat destilasi, *rotary evaporator*, spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu), timbangan analitik, timbangan biasa, inkubator, alat sentrifugasi, penangas air, PH meter, lemari pendingin, lemari asam dan stopwatch.

Bahan. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sarang semut *Myrmecodia erinaceae Becc* dari hutan Kuala Kencana Timika-Papua, etanol 80 %, aquadest, sel darah merah domba (SDMD) segar dari Departemen Mikrobiologi FKUI dan vitamin C di pakai

sebagai pembanding. Bahan-bahan yang digunakan untuk analisis seperti tetra etoksipropan, Asam Triklorasetat (TCA) 20%, Asam Tiobarbiturat (TBA) 0,67%, (*Krebs Ringer Phosphate*) KRP, *tert- Butil Hidroperoksida* (t-BHP), cairan *Phosphate Buffer Saline* (PBS).

Pembuatan serbuk simplisia

Umbi sarang semut (*Myrmecodia erinaceae* Becc) dicuci dengan air mengalir, jika perlu di sikat sampai bersih dari kotoran, kemudian dibuang kulit dan duri-duri yang menempel hingga bersih. Potong menjadi ukuran yang lebih kecil dan di timbang sebagai berat basahnya. Proses pengeringan dilakukan dengan cara diangin- anginkan di udara terbuka dan terlindung dari cahaya matahari. Simplisia dibelender dan diayak dengan pengayak nomor 22 atau pengayak nomor 60 sehingga didapat serbuk agak kasar.

Pembuatan ekstrak etanol 80% umbi sarang semut (*Myrmecodia erinaceae* Becc).

Sebanyak kurang lebih 6147 gram simplisia yang telah halus di rendam dalam etanol 80% sampai simplisia terendam semua, kemudia di maserasi selama 24 jam dengan sesekali di aduk. Maserat di kumpulkam ke dalam botol berwarna coklat kemudian residu kembali di maserasi hingga residu terakhir berwarna jernih. Kemudian maserat di kumpulkan dan di pekatkan dengan menggunakan rotary evaporator (DepKes, 1986).

Pemeriksaan Kandungan Kimia

Pemeriksaan fitokimia dilakukan terhadap senyawa kimia golongan tanin, terpenoid, gula pereduksi, alkaloid, flavonoid, fenol, dan saponin.

Pengelompokan Perlakuan

Tabel 1. Pengelompokan perlakuan

Kelompok perlakuan	Keterangan
Kelompok I	KN (1 mL SDMD + 1 mL KRP)
Kelompok II	KKN (1 mL SDMD + 1 mL KRP + 1 mL t- BHP)
Kelompok III	KP (1 mL SDMD + 1 mL KRP + 4µg/mL vitamin C + 1 mL t-BHP)
Kelompok IV	KE1 (1 mL SDMD + 1 mL KRP + 1 mL t-BHP + 600 µg /mL)
Kelompok V	KE2 (1 mL SDMD + 1 mL KRP + 1 mL t- BHP + 1200µg /mL)
Kelompok VI	KE3 (1 mL SDMD + 1 mL KRP + 1 mL t-BHP + 2400 µg /mL)

Keterangan :

KN	= Kontrol Normal
KKN	= Kelompok Kontrol Negatif
KP	= Kontrol Positif
KE1	= Perlakuan Dosis Ekstrak 1
KE2	= Perlakuan Dosis Ekstrak 2
KE3	= Perlakuan Dosis Ekstrak 3
SDMD	= Sel Darah Merah Domba
KRP	= <i>Krebs RingerPhosphate</i>
t-BHP	= <i>tert-Butil Hidroperoksida</i>

Pembuatan Sel Darah Merah Domba

10 ml darah domba yang sudah disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm pada suhu 5°C selama 5 menit untuk memisahkan antara lapisan plasma yang digunakan untuk kadar MDA. Lapisan sel darah dicuci menggunakan larutan *phosphate buffer saline* (PBS) yang volumenya 5 kali volume endapan sel darah merah domba (SDMD), kemudian disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm pada suhu 5°C selama 5 menit. Setelah itu cairan PBS dibuang. Proses diulang sebanyak 3 kali (Fransworth, 1996).

Pengukuran aktivitas antioksidan

1. Pembuatan kurva standar

Larutan stok MDA sebanyak 6000 mmol, diencerkan menggunakan aquadest sehingga diperoleh konsentrasi 0,015mM. Dari larutan tersebut diambil 10 µL, 20 µL, 40 µL, 80 µL, 160 µL, masukkan ke dalam tabung reaksi. Tambahkan akuadest hingga 1 ml, kocok homogen. Kemudian tambahkan 0,5 ml TCA 20%, 1 ml larutan TBA 0,67% ke dalam masing-masing tabung tersebut, kocok sampai homogen.

Untuk blangko dimasukkan 1 ml aquadest, 0,5 ml larutan TCA 20% dan 1 ml larutan TBA 0,67%, lalu dikocok hingga homogen. Larutan standar blangko dibuat duplo. Semua tabung dimasukkan dalam penangas air 95-100°C selama 10 menit, kemudian dinginkan pada air mengalir. Absorban diukur pada panjang gelombang 530 nm. Dari data pengukuran tersebut dibuat kurva kalibrasi dengan menghubungkan nilai absorban sebagai koordinat (Y) dan konsentrasi larutan standar (nmol/ml) sebagai absis (X).

Perhitungan dengan membuat persamaan garis yang diperoleh dari kurva standar yaitu:

$$Y = a + bx$$

2. Pengukuran kadar MDA plasma

Masing-masing kelompok diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 15 menit, lalu disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit. Kemudian diambil 1 ml supernatant dan ditambahkan 0,5 ml TCA 20% kemudian disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit. 1 ml supernatant di dapat kemudian ditambahkan dengan 1 ml TBA 0,67 % kemudian dikocok hingga homogen. Setelah itu dipanaskan selama 10 menit pada suhu 100⁰C, larutan kemudian didinginkan dengan air mengalir. Warna yang terbentuk diukur serapannya pada panjang gelombang 530 nm.

Analisa Data

Data yang di peroleh kemudian di analisa terlebih dahulu dengan melakukan uji prasyarat yaitu uji normalitas Kolmogrov-Smirnov (K-S) dan uji homogenitas Levene. Dimana bila datanya berwarna homogen dan terdistribusi normal maka di lanjutkan

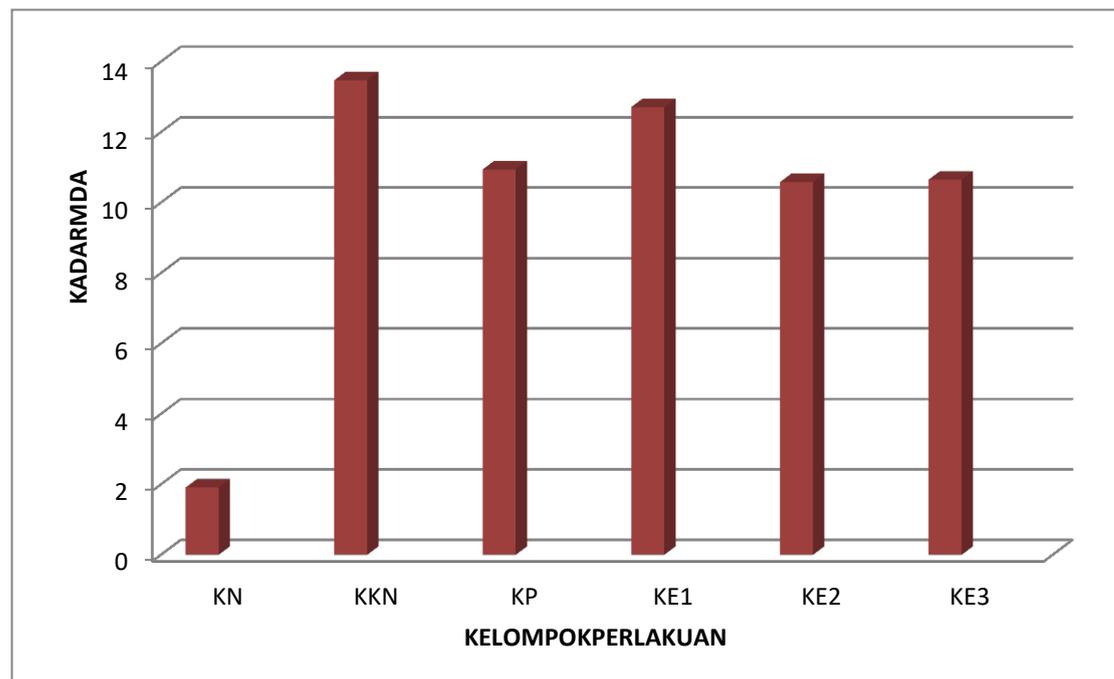
dengan uji analisa varian (ANOVA) satu arah pada taraf kepercayaan ($\alpha=0,05$). Jika nilai sig < 0,05 maka di lanjutkan dengan uji perbandingan berganda dengan metode Tukey.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Tabel 2. Kadar rata-rata MDA pada tiap kelompok

Kelompok Uji	Absorbansi	Kadar MDA (nmol/ μ l)
KN	0.0192	1.91
KKN	0.108	13.47
KKP	0.099	10.94
KE1	0.1146	12.71
KE2	0.095	10.58
KE3	0.0959	10.65



Gambar 1. Diagram Kadar MDA (Unit/L) vs Kelompok Perlakuan

Pembahasan

Pertama dilakukan determinasi terhadap tanaman yang akan digunakan. Hal ini dilakukan untuk mengetahui kebenaran jenis tanaman yang akan di gunakan, apakah

tanaman tersebut benar-benar tanaman yang diinginkan atau bukan dengan demikian kesalahan dalam pengumpulan bahan yang diteliti dapat dihindarkan. Dan berdasarkan hasil determinasi terhadap umbi sarang semut yang digunakan berasal dari Hutan Kuala Kencana Timika Papua. Hasil determinasi menyatakan bahwa tanaman tersebut adalah jenis *Myrmecodia erinacea* Becc. Adapun Nilai rendemen ekstrak etanol yang di peroleh adalah sebesar 20,196. Sedangkan susut pengeringan yang di peroleh sebesar 24%. Adapun tujuan dari susut pengeringan adalah untuk memberikan batasan maksimal (rentang) tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan. Dalam percobaan ini Sel Darah Merah Domba diinduksi oleh t-BHP yang akan menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid dan terbentuknya produksi MDA. Hal ini menyebabkan terjadinya radikal bebas sehingga terjadi *stressoxidative* dan hal ini dapat dilihat pada kelompok control negatif. Sedangkan pada kelompok kontrol positif ditambahkan vitamin C dengan maksud untuk menghambat terjadinya peroksidasi lipid. Dan dari hasil pengujian kadar MDA (tabel 3) tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari tanaman umbi sarang semut (*Myrmecodia erinacea* Becc) yang dilarutkan dengan etanol 80% dengan menggunakan parameter MDA yang diinduksi dengan t-BHP terhadap sel darah merah domba. dapat di lihat bahwa terdapat perbedaan yang tidak terlalu bermakna antara KKN dengan KE1, KE2, dan KE3. Hasil pengujian dari KE1, KE2, dan KE3 memiliki hasil lebih rendah dibandingkan dengan KKN. Dimana KKN memiliki kadar 13.47 unit/L sedangkan KE1 12.71 Unit/L, KE2 10.58 Unit/L dan KE3 10.65 Unit/L sehingga ekstrak etanol dengan dosis 0,6 mg/L, 1,2 mg/L dan 2,4mg/L dapat menurunkan kadar MDA.

Berdasarkan hasil uji statistika terhadap kadar MDA menggunakan uji normalitas-distribusi, uji ANOVA, dan uji metode Tukey, data kadar MDA memiliki distribusi yang normal dan homogen, rata-rata yang tidak sama dan tidak memiliki perbedaan perlakuan yang berarti pada tiap pengujiannya.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat di simpulkan bahwa dosis 0,6 Mg/mL, 1,2 Mg/mL dan 2,4 Mg/mL dapat menurunkan kadar MDA (*malondialdehyde*).

Saran

Penelitian ini adalah penelitian awal maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aktivitas antioksidan umbi sarang semut dengan menggunakan pelarut dan dosis yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

Agarwal S, et al. (2006) Caloric restriction augments ROS defense in *S. cerevisiae*, by

a Sir2p independent mechanism. *Free Radic Res* 39(1):55-62

- Ahkam Subroto M dan Hendro Saputro. 2006. *Gempur Penyakit Dengan Sarang Semut*. Penebar Swadaya : Bogor. 11-52, 56.
- DepKes. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Cuvelier, ME., Richards, H, and Besset, C.. 1994. *Comparrison of the Antioxide Activity of some Acid Phenols : Structure Activity Relationship*, Biosci, Biotech, Biochem, 56 (2),324-325.
- Fatimah N, Almawati S dan Muhamad F. 2013. *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Bunga Rosella (Hibiscus sabdariffa L.) Berdasarkan Aktivitas SOD(Superoxyd Dismutase) dan Kadar MDA (Malonildialdehyde) pada Sel Darah Merah Domba yang Mengalami Stres oksidatif in vitro*. Jakarta: FMIPA, UHAMKA.
- Halliwell, B dan Gutteridge, J.M.C. 2000. *Free Radical in Biologi and Medicine*. Newyork: Oxford University Press.
- Harbone, J.B.,1987 *Metode Fitokimia: penuntun Cara modern menganalisis tumbuhan*, terbitan kedua. Bandung: Penerbit ITB.
- Hertiani,T., Sasmito, E and Ulfa, M. 2010. Preliminary study on Immunomodulator Effect of Sarang Semut Tubers *Myrmecodia tuberosa* and *Myrmecodia pendens*. *Online Journal of Biological Science*, 10 (3),136-141.
- Konig,D., Berg,A. 2002. Exercise and Oxidative Stress: is there a need for additional antioxidant. *sterreichisches J Fur Sportmedizin* 3:6-15.
- Risa H, Dewi A. 2014. *Khasiat Ajaib Sarang Semut Berantas Berbagai Penyakit*. Padi : Jakarta
- Rochesti S & Yana. 2005. *Transport Zn Melalui Membran Usus Halus Tiku Wistar (Rantus norvegicus) Secara In Situ Dengan Peruntut ZnCL2*. Batan: Bandung
- Rush,J.W.E.,Denniss, S.G., Graham, D.A. 2005. Vascular Nitric Oxide and oxidative Stress: Determinants of Endothelial Adaptations to Cardiovascular Disease and to Physical Activity. *Can J Appl Physiol* 30(4): 442- 474.
- Rohmatussolihat, S.Si. 2009. *BioTrends*. Vol.4, No.1. http://file.upi.edu/Direktori/FPMIPA/JUR._PEND._MATEMATIKA/196412051990031-BAMBANG_AVIP_PRIATNA_M/VARIABEL_PENELITIAN.pdf

- Sadikin, M. 2001. Biokimia darah. Jakarta: Widya Medika.
- Septiana AT. 2001. *Aktivitas Ekstrak Jahe (Zingiberis ficcinalerosae) dalam Pencegahan Oksidasi Lipoprotein Densitasi (LDL) dan Akumulasi Kolesterol pada Makrofag secara Invitro*. Tesis Program Sarjana. IPB: Bogor.
- Septiana, A. T., D. Muchtadi, F. R. Zakaria. 2002. *Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Diklorometana dan air jahe (Zingiberis ficcinalerosae) pada Asam Linoleat*. Jurnal Teknologidan Industri pangan. Vol XIII. No.2.
- Soekmanto,A.,Subroto,M.A., Wijaya, H., Simanjuntak, P. 2010. *Anticancer activity for extracts of sarangsemut plat (Myrmecodia pendens) to HeLa and MCM-B2 cells*. Pakistan J. Biol. Sci., 13:148-151.
- Soeatmaji, D.W. "Peran Stress Oksidatif dalam Patogenesis Angiopati Mikro dan Makro DM." dalam: *Medica*.5(24):318- 325
- Subroto, M. A. dan Saputro.H.2006. Gempur Penyakit dengan Sarang Semut. Seri Agrisehat, Tangerang.
- Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur G, Kaur H. 2011. Phytochemical screening and extrac-tion: A review. *Internationale Pharmaceutica. Scientia*1(1): 98-106.
- Trilaksani.2003. *Aktivitas antioksidan dan Imunomodulator Serialia Non Beras*. Skripsi tidak diterbitkan. Bogor: Jurusan Pertanian Institut Pertanian Bogor.
- Winarsih. 2007. *Antioksidan Alami & Radikal Bebas*. Kanisius: Yogyakarta.