

UJI TOKSISITAS, AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN KADAR METABOLIT SEKUNDER DAUN KEMANGI (*Ocimum × africanum Lour*)

Timotius¹, David Limanan², Frans Ferdinal³

¹Fakultas Kedokteran, Universitas Tarumanagara Jakarta

Email: Timotius.405180098@stu.untar.ac.id

²Departemen Biokimia, Universitas Tarumanagara Jakarta

Email: davidl@fk.untar.ac.id

³Departemen Biokimia, Universitas Tarumanagara Jakarta

Email: Frafrdl@fk.untar.ac.id

Masuk: 30-10-2021, revisi: 14-11-2021, diterima untuk diterbitkan: 20-11-2021

ABSTRAK

Tingkat polutan yang tinggi telah menyebabkan peningkatan penyakit yang berkorelasi dengan *Reactive Oxygen Species* melalui suatu kondisi yaitu stres oksidatif. Stres oksidatif dapat distabilkan dengan antioksidan melalui penstabilan radikal yang aktif dan tidak stabil menjadi inaktif dan stabil. Daun kemangi (*Ocimum × africanum Lour*) dikenal memiliki kandungan antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan antioksidan dan toksisitas daun kemangi. Penelitian ini dilakukan dengan desain studi eksperimental *in vitro* dan *bioassay*. Ekstraksi penelitian ini dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut *methanol*. Uji aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* dan uji toksisitas dengan metode *brine shrimp lethality test* pada ekstrak daun Kemangi. Pada ekstrak daun kemangi, uji aktivitas antioksidan didapatkan IC_{50} sebesar 174,04 $\mu\text{g/mL}$, uji kadar fenolik 1087,92 $\mu\text{g/mL}$, uji kadar alkaloid 8,15 $\mu\text{g/mL}$, uji toksisitas didapatkan LC_{50} sebesar 158,36 $\mu\text{g/mL}$. Dalam penelitian ini dapat disimpulkan bahwa daun kemangi mengandung antioksidan namun tidak sebesar dibandingkan vitamin C tetapi daun kemangi tidak memiliki efek yang memicu kenaikan asam lambung sehingga memiliki potensi sebagai antioksidan alternatif bagi pasien dengan gangguan asam lambung, selain itu, daun kemangi memiliki aktivitas sitotoksitas yang berpotensi sebagai anti karsinogen.

Kata Kunci: Antioksidan; *Ocimum × africanum Lour*; *reactive oxygen species*; stres oksidatif.

ABSTRACT

High pollutant level has caused an increase in disease that is correlated to *Reactive Oxygen Species* through a condition that is oxidative stress. Oxidative stress can be stabilized with antioxidants by stabilizing active and unstable radicals to become inactive and stable. Basil leaves (*Ocimum × africanum Lour*) are known to possess antioxidant composition. The aim of this study is to determine the antioxidant ability and toxicity level of basil leaves. The research was conducted through an *in vitro* experimental study design and *bioassays*. Extraction of this research was carried out by maceration method using *methanol* as solvent. The tests were carried out in the form of antioxidant capacity tests using the *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* method, toxicity tests using the *brine shrimp lethality test* method on Basil Leaf extract. In basil leaf extract, the antioxidant capacity test obtained IC_{50} of 174.04 $\mu\text{g/mL}$, phenolic level test was 10872,92 mg/mL , alkaloid level test was 8.15 $\mu\text{g/mL}$, toxicity test obtained LC_{50} of 158.36 $\mu\text{g/mL}$. This study concludes that basil leaves contain antioxidants not as much as vitamin C however basil leaves do not have an effect that triggers an increase in stomach acid, so it has potential as an alternative antioxidant for a patient with stomach acid disorder, in addition, basil leaves also have cytotoxicity activity that is possible to be used as anti-carcinogen.

Keywords: Antioxidant; *Ocimum × africanum Lour*; *reactive oxygen species*; oxidative stress.

1. PENDAHULUAN

Latar Belakang

Sepuluh tahun terakhir ini, perhatian besar telah diberikan untuk masalah paparan polusi udara karena lalu lintas kendaraan dan proses pembakaran lainnya (Lodovici, 2011). Setiap polutan udara dapat menyebabkan efek toksik pada sistem pernafasan dan kardiovaskuler seperti ozon, oksida nitrogen, dan partikel tersuspensi, yang semuanya memiliki sifat yang sama sebagai oksidan kuat yang merupakan sumber *reactive oxygen species* (ROS) (Møller, 2010). Sumber ROS dapat dihasilkan dari reaksi kimia logam transisi seperti besi, tembaga, dan kromium yang mengkatalisasi reaksi fenton sehingga mampu menginduksi kerusakan oksidatif pada *deoxyribonucleic acid* (DNA) (Hussain, 2021). Stres oksidatif akibat reaksi fenton yang dikatalisis oleh logam transisi ini menghasilkan radikal hidroksil yaitu sumber ROS pada sistem tubuh (Lakey, 2016). Akibatnya sistem tubuh manusia membutuhkan pertahanan terhadap ROS, yaitu antioksidan (Lobo, 2010).

Antioksidan terbagi dalam 2 kategori yaitu antioksidan endogen dan antioksidan eksogen. Antioksidan eksogen didapatkan melalui nutrisi yang digunakan untuk menunjang kebutuhan antioksidan pada tubuh manusia (Yang, 2009). Salah satu sumber antioksidan eksogen berasal dari kemangi (*Ocimum × africanum* Lour), tumbuhan ini dipilih dibandingkan tumbuhan lain karena tersedia luas di daerah tropis seperti Indonesia dengan harga terjangkau bahkan tanaman ini juga dimanfaatkan sebagai pengobatan sakit kepala, batuk, diare, sembelit, kutil, cacingan, dan gangguan fungsi ginjal (Joshi, 2014). Selain itu kandungan ekstrak metanol daun kemangi memiliki sifat antioksidan yaitu menetralkan ROS sehingga dapat bersifat hepatoprotektif, anti-karsinogenesis, dan kardioprotektif (Sunitha, 2017).

Kemangi termasuk dalam keluarga *Lamiaceae* yang digunakan sebagai bahan makanan. Selain itu, secara empiris kemangi digunakan untuk lalapan, penyakit kulit, antijamur dan antiemetik (Rajendra, 2018). Pada bagian daun, kemangi diketahui memiliki kandungan fenolik yang tinggi. Senyawa fenolik ini telah diketahui memiliki kemampuan sebagai antioksidan, sehingga dapat menjadi kandidat antioksidan alternatif dan alami dalam menjaga kesehatan tubuh manusia (Bunwijit, 2017). Adapun tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas total antioksidan ekstrak daun kemangi, kadar fenolik total dan alkaloid total ekstrak kemangi serta menilai kemampuan toksisitas daun kemangi terhadap sel yang sedang aktif membelah.

2. METODE PENELITIAN

Desain penelitian ini berupa eksperimental *in vitro* dengan menggunakan ekstrak daun kemangi sebagai subjek untuk menguji aktivitas total antioksidan, uji kadar fenolik total, uji kadar alkaloid total, dan uji toksisitas. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biokimia dan Biologi Molekular Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara, Jakarta. Studi ini telah mendapatkan surat identifikasi tanaman yaitu daun kemangi (*Ocimum × africanum* Lour) dari Lembaga ilmu pengetahuan Indonesia dengan nomor 1139/IPH.1.01/If.07/XI/2020.

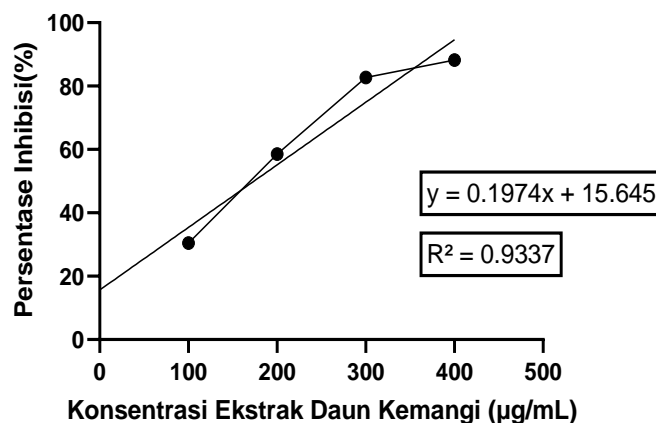
Sampel daun kemangi diambil sebanyak 770 gram yang kemudian dikeringkan dan dijadikan bubuk sehingga dihasilkan simplisia sebanyak 100 gram, kemudian di maserasi menggunakan pelarut metanol selama empat hari, dan dievaporasi menggunakan evaporator sehingga didapatkan berat ekstrak sebanyak 14,59 g. Maka pada hasil akhir didapatkan rendemen / *yield* sebesar 14.59 %. dengan perhitungan:

$$\% \text{rendemen (kering)} = \frac{14.59}{100} \times 100\% = 14,59\%$$

Hasil akhir rendemen ekstrak daun kemangi diuji dengan uji aktivitas total antioksidan menggunakan DPPH dengan rujukan Blois, uji kadar fenolik total dengan metode Singleton & Rossi, uji kadar alkaloid total dengan metode Trivedi, dan uji toksisitas (BSLT) dengan metode Meyer. Pengukuran aktivitas total antioksidan, fenolik total dan alkaloid total menggunakan spektrofotometer dengan membaca nilai absorbansi sampel dan standart. Uji toksisitas dengan pengamatan langsung terhadap jumlah larva yang mati. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan software GraphPad Prism v.9.0 La Jolla, CA, USA dengan hasil yang di tampilkan berupa angka dan gambar.

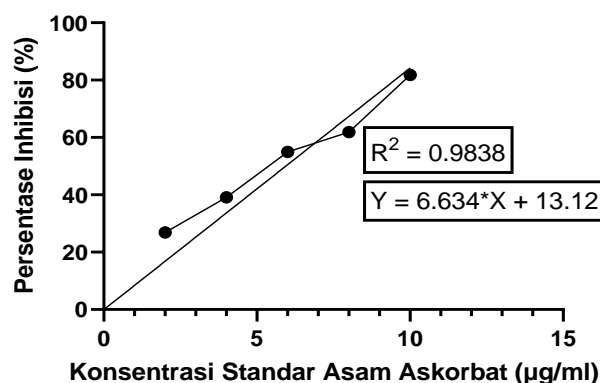
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil penelitian didapatkan panjang gelombang maksimum DPPH adalah 516 nm dengan absorbansi maksimum yang didapatkan adalah 0,620 nm. Nilai absorbansi dari tiap konsentrasi ekstrak daun kemangi(*Ocimum × africanum* Lour) dibaca menggunakan spektrofotometer Uv-vis pada panjang gelombang 516 nm dan dihitung persen (%) inhibisi dari tiap konsentrasi yang terdiri dari konsentrasi 100 µg/mL, 200 µg/mL, 300 µg/mL, dan 400 µg/mL sehingga diperoleh persentase inhibisi berturut-turut sebagai berikut 30,484 %, 58,548 %, 88,742 %, dan 88,226 %, lalu dibuat kurva dan dicari persamaan linier. Dari nilai persen inhibisi yang didapat, dibentuk grafik garis lurus sehingga terdapat persamaan linier $y = 0,1974X + 15,645$ dengan $R^2 = 0.933$ (Gambar 1). Persamaan ini digunakan untuk mencari IC_{50} yaitu aktivitas total antioksidan ekstrak daun kemangi yang dapat menghambat 50% radikal DPPH, dan didapatkan nilai IC_{50} ekstrak daun kemangi sebesar 174,04 µg/mL.



Gambar 1. Uji DPPH Ekstrak Daun Kemangi

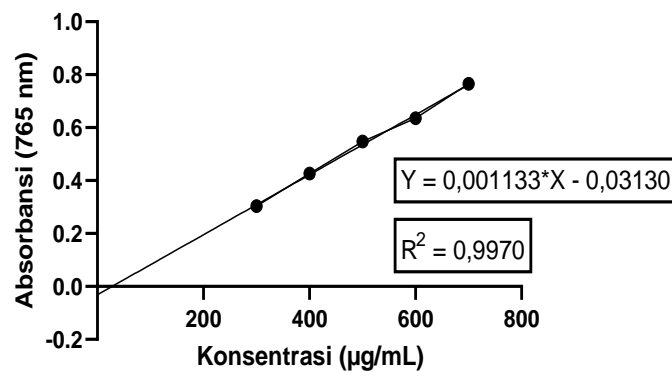
Pembanding yang digunakan terhadap ekstrak daun kemangi adalah vitamin C. Setiap konsentrasi vitamin C yang sudah dicampurkan dengan DPPH dibaca absorbansinya menggunakan spektrofotometer Uv-vis pada panjang gelombang 516 nm dan dihitung persen (%) inhibisi dari tiap konsentrasi yang terdiri dari konsentrasi 2 µg/mL, 4 µg/mL, 6 µg/mL, 8 µg/mL, dan 10 µg/mL. Nilai absorbansi berturut-turut yang diperoleh pada Panjang gelombang 516 nm yaitu 0,346; 0,288; 0,213; 0,152; dan 0,086. Setelah seluruh absorbansi diperoleh, kemudian dihitung persen (%) inhibisi dan didapatkan persentase inhibisi berturut-turut sebagai berikut 26,85 %, 39,11 %, 54,96 %, 61,86 % dan 81,81 % serta dibuatkan kurva standar untuk dicari persamaan liniernya. Dari hasil persen inhibisi yang diperoleh dibuat grafik garis lurus sehingga didapatkan persamaan linier $y = 6.934X + 12.52$ dan nilai $R^2 = 0.9988$ (Gambar 2). Persamaan ini digunakan untuk mencari nilai IC_{50} vitamin C, maka didapatkan nilai IC_{50} vitamin C sebesar 5.40 µg/mL.



Gambar 2. Kurva Standar Asam Askorbat

Dengan membandingkan nilai IC_{50} ekstrak daun kemangi sebesar 174,04 µg/mL dengan IC_{50} dari vitamin C yang memiliki nilai sebesar 5,40 µg/mL, maka dapat dikatakan bahwa vitamin C memiliki potensi lebih tinggi untuk mereduksi radikal bebas dibandingkan dengan daun kemangi. Hal ini dikarenakan semakin kecil IC_{50} maka semakin tinggi pula aktivitas total antioksidan zat tersebut. Berdasarkan kriteria Blois (Blois, 1958), nilai IC_{50} 150-200 µg/mL menandakan aktivitas total antioksidan yang aktif lemah (Herani, 2019). Pada penelitian ini terdapat sedikit perbedaan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Herani (2019) yang mendapatkan kadar antioksidan pada ekstrak daun *Ocimum basilicum* sebesar 141.59 µg/mL, perbedaan ini diakibatkan karena spesies yang berbeda dan pelarut yang digunakan berbeda pula. Walaupun daun kemangi memiliki aktivitas total antioksidan yang lebih rendah dari pada vitamin C, daun kemangi mengandung berbagai macam zat aktif yang bermanfaat seperti linalool dan citral yang merupakan golongan terpenoid sehingga memiliki aktivitas antioksidan dan antimikroba yang dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan alternatif bagi penderita pasien *gastritis* yang tidak dapat mengonsumsi vitamin C (Avetisyan, 2017).

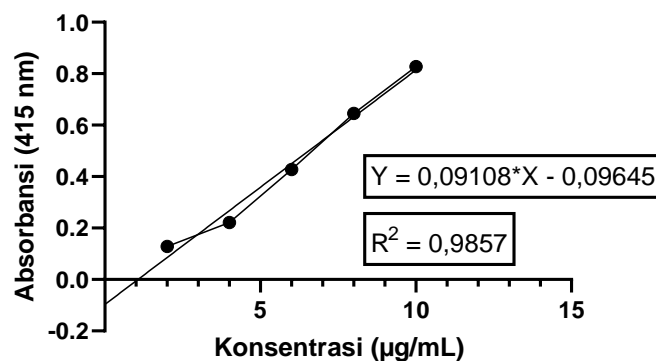
Selain mengukur aktivitas total antioksidan, penelitian ini juga mengukur kadar fenolik total ekstrak daun kemangi melalui metode Singleton & Rossi dengan pembacaan pada panjang gelombang 765 nm. Absorbansi yang diperoleh dari tiap konsentrasi larutan standar *tanin* 300 µg/mL, 400 µg/mL, 500 µg/mL, 600 µg/mL digunakan untuk membuat kurva standar sehingga dapat dicari persamaan liniernya, dan didapatkan hasil $y = 0,001133x - 0,03130$ dan $R^2 = 0.9970$ (Gambar 3). Dari kurva standar dihitung rata-rata kadar fenolik total ekstrak daun kemangi sebesar 543,96 µg/mL sehingga karena pengenceran 1:1 maka kadar fenolik 543,96 µg/mL dikali 2 maka diperoleh kadar fenolik total sebesar 1087,92 µg/mL.



Gambar 3. Kurva Standar Tanin

Berdasarkan hasil uji fenolik total yang menggunakan standar *tanin* sebagai standar, didapatkan hasil rata-rata total fenolik sebesar 1087,92 µg/mL. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Aburigal (2017), yang mendapatkan kadar fenolik sebesar 0,881 mg GAE/g pada ekstrak daun Kemangi. Fenolik ini diperlukan oleh tubuh sebagai proteksi terhadap progresivitas penyakit seperti kanker, diabetes, dan gangguan jantung (Pandey, 2009).

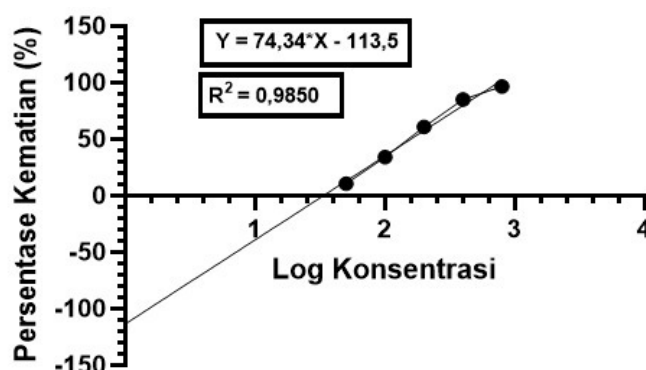
Kadar alkaloid ekstrak daun kemangi dalam penelitian dibaca pada panjang gelombang 415 nm. Absorbansi dari larutan standar *berberine chloride* dengan konsentrasi 2 µg/mL, 4 µg/mL, 6 µg/mL, 8 µg/mL, 10 µg/mL digunakan untuk membuat kurva standar yang kemudian dicari persamaan liniernya, dan diperoleh persamaan linier $y = 0,09108x - 0,09645$ dengan $R^2 = 0,9857$ (Gambar 4). Dengan menggunakan kurva standar didapatkan kadar alkaloid daun kemangi sebesar 8,15 µg/mL. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Isa (2018) yang mendapatkan kadar alkaloid sebesar 9,42g/100g ekstrak daun Kemangi spesies *Ocimum basilicum*. Alkaloid dapat berfungsi sebagai anti-aritmia, anti-hipertensi, dan anti-tumor (Robert, 1982).



Gambar 4. Kurva Standar Berberine Chloride

Uji toksisitas menggunakan metode BSLT dilakukan dengan cara menghitung jumlah larva *Artemia salina* berumur 2 hari yang mati setelah diberi ekstrak daun kemangi yang dinyatakan dalam % mortalitas dengan berurutan sebagai berikut 10,638 %, 34,146 %, 60,976 %, 85,106 %, dan 96,667%. Hasil dari uji toksisitas didapatkan berupa nilai *lethality concentration* (LC₅₀) ekstrak daun kemangi yang diperoleh melalui hasil perhitungan jumlah larva *Artemia salina* yang mati setelah diberi ekstrak daun kemangi sehingga dapat dibentuk grafik garis lurus dengan persamaan linier $y = 74,085x - 112,96$ dan $R^2 = 0,985$ (Gambar 5). Dari persamaan, dengan

variabel y adalah % mortalitas dan variabel x adalah log konsentrasi ekstrak daun kemangi maka didapatkan nilai LC₅₀ daun kemangi sebesar 158,36 µg/mL.



Gambar 5. Kurva Uji Toksisitas Ekstrak Daun Kemangi

Hasil LC₅₀ daun kemangi tersebut menunjukkan bahwa ekstrak daun kemangi memiliki efek toksisitas terhadap sel yang sedang membelah, hal ini sesuai dengan kriteria Meyer (1982) dimana Hasil LC₅₀ dengan < 1000 µg/mL menandakan toksik dan LC₅₀ dengan > 1000 µg/mL menandakan tidak toksik (Meyer, 1982). Hasil LC₅₀ peneliti memiliki perbedaan sedikit dengan penelitian yang dilakukan oleh Fattimatzarah (2013) yang mendapatkan hasil LC₅₀ sebesar 70,7946 µg/mL Perbedaan ini diakibatkan spesies dari penelitian yang dilakukan Fattimatzarah ini menggunakan *Ocimum canum* Sims dan pelarut etanol sedangkan dalam penelitian ini menggunakan *Ocimum × africanum* Lour dan *methanol* sebagai pelarut.

4. KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian aktivitas total antioksidan dan uji toksisitas serta kadar metabolit sekunder dari ekstrak daun kemangi (*Ocimum × africanum* Lour), maka dapat disimpulkan bahwa daun kemangi memiliki aktivitas total antioksidan berupa *inhibitory concentration* 50 (IC₅₀) sebesar 174,04 µg/mL dan memiliki kadar toksisitas berupa *lethal concentration* 50 (LC₅₀) sebesar 158,36 µg/mL. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun kemangi dapat dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan dan anti-mitosis yang berpotensi sebagai anti-kanker. Peneliti berharap penelitian lebih lanjut dapat dilakukan dengan menggunakan bagian lain selain daun seperti batang dan akar serta dilakukan penelitian lebih lanjut secara *in-vivo*.

REFERENSI

- Aburigal, YAA. Mirghani, MES. Elmogtaba, EY. Sirible, AAM. Hamza, NB. & Hussein, IH. (2017). Total phenolic content and antioxidant capacity of basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves from different locations. *International Food Research Journal twenty-four*,1(1), 378-381.
- Avetisyan, A. Markosian, A. Petrosyan, M. *et al.* (2017). Chemical composition and some biological activities of the essential oils from basil *Ocimum* different cultivars. *BMC Complement Altern Med.*, 17(1), 60-62.
- Blois, MS. (1958). Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. *Nature.*, 181(1), 1199-1200.

- Bunwijit, J. Sripanidkulchai, B. Pannangrong, W. Junlatat, J. & Sripanidkulchai, K. Gastroprotective effect of hydroalcoholic extract of *Ocimum × africanum* Lour leaves. (2017). *Songklanakarin Journal of Science & Technology*., 39(4), 93-105.
- Fatimatuzzahra, F. (2013). Uji toksisitas akut ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum canum Sims*) Terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan metode *Brine Shrimp Lethality test* (BSLT). *universitas islam Indonesia*., 1(1), 1-36.
- Herani, A. Chaerunnisa, Y A. & Subarnas, A. (2019). Antioxidant Activities of *Muntingia calabura*, *Syzygium cumini*, *Ocimum basilicum*, and *Eleutherine bulbosa* using DPPH Method. *Indonesian Journal Of Pharmaceutics*., 1(1), 57-61.
- Hussain, S. Aneggi, E. & Goi, D. (2021) Catalytic activity of metals in heterogenous Fenton like oxidation of wastewater contaminants: a review. *Environmental chemistry Letters*., 19(1), 2405-2424.
- Isa, A. Ositadinma, T. & Benjamin, B. (2018). Evaluation of phytochemical constituents, in vitro antioxidant activity and antimicrobial activity of the leaf extracts of *Ocimum basilicum* (L). *Nigerian Defence academy*., 1(1), 813-821.
- Joshi R. K. (2014). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Ocimum basilicum* L. (sweet basil) from Western Ghats of North West Karnataka, India. *Ancient science of life*, 33(3), 151–156.
- Lakey, PS. Berkemeier, T. Tong, H. Arangio, AM. Lucas, K. Pöschl, U. & Shiraiwa, M. (2016). Chemical exposure-response relationship between air pollutants and reactive oxygen species in the human respiratory tract. *Sci Rep*., 6(1), 1-4.
- Lobo, V. Patil, A. Phatak, A. & Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn Rev*., 4(8), 118-126.
- Lodovici, M & Bigagli, E. (2011). Oxidative stress and air pollution exposure. *Journal of toxicology*., 120(1), 1-6.
- Meyer, BN. Ferrigni, NR. Putnam, JE. Jacobsen, LB. Nichols, DE. & McLaughlin, JL. (1982). Brine Shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica*., 45(1), 31-40.
- Møller, P., & Loft, S. (2010). Oxidative damage to DNA and lipids as biomarkers of exposure to air pollution. *Environmental health perspectives*, 118(8), 1126–1136.
- Pandey, KB. & Rizvi, SI. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxid Med Cell Longev*., 1(1), 1-5.
- Rajendra, CP. Ved, RS. Gunjan, Bhatt. Amit, CRK. Upadhyay, Ram S. & Verma. (2018). Optimization of harvesting and postharvest drying methods of *Ocimum × africanum* Lour for production of quality essential oil. *Journal of Essential Oil Research*., 30(6), 437-443.
- Robert, AM. (1982). *Encyclopedia of Physical Science and Technology Alkaloids* 3rd edition. Academic Press, San Diego.
- Sunitha, K. & Rani, CN. (2017). Evaluation of antioxidant properties of *ocimum americanum* l. seeds. *J. Pharm Sci. Innov*. 6(6), 128-130.
- Yang, W. Omaye, ST. (2009). Air pollutants, oxidative stress and human health. *Mutat Res*., 1(1), 45-54.

Halaman ini sengaja dikosongkan