

UJI TOKSISITAS DAN KAPASITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK BUAH PARE (*MOMORDICA CHARANTIA*) DENGAN METODE ABTS

Debbie Violine¹, Eny Yulianti², F. Ferdinal³

¹ Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara

^{2,3} Bagian Biokimia dan Biologi Molekuler Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara

Korespondensi: debbie.405220036@stu.untar.ac.id

ABSTRAK

Reactive oxygen species (ROS) dalam jumlah yang normal berfungsi dalam transduksi sinyal, pertahanan imunitas tubuh, mekanisme apoptosis, pertumbuhan, perkembangan, dan diferensiasi sel, serta mempertahankan homeostasis tubuh. Apabila ROS diproduksi melebihi kapasitas antioksidan dalam tubuh, maka dapat menyebabkan stres oksidatif yang merusak sel dan memicu berbagai penyakit kronis. Antioksidan merupakan suatu zat yang dapat menetralkan ROS dalam tubuh. Buah pare (*Momordica charantia*) memiliki ciri khas rasa yang sangat pahit dan dikenal kaya akan nutrisi yang memberikan berbagai manfaat bagi kesehatan. Penelitian ini bertujuan untuk menilai kapasitas antioksidan secara *in vitro* dengan metode ABTS serta mengetahui tingkat toksisitas pada ekstrak buah pare dengan metode BSLT menggunakan larva *Artemia salina* sebagai organisme uji. Pengujian kapasitas antioksidan dinyatakan dalam nilai IC_{50} yaitu sebesar 22,356 $\mu\text{g/mL}$ dan uji toksisitas pada ekstrak buah pare didapatkan nilai LC_{50} sebesar 259,786 $\mu\text{g/mL}$. Kapasitas antioksidan dalam ekstrak buah pare tergolong dalam kategori sangat kuat ($IC_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$). Selain itu, tingkat toksisitas yang diperoleh termasuk dalam kategori tingkat toksisitas sedang (LC_{50} 100 – 500 $\mu\text{g/mL}$).

Kata-kata kunci : ABTS, *Artemia salina*, BSLT, *Momordica charantia*

ABSTRACT

Reactive oxygen species (ROS) in normal amounts function in signal transduction, immune system defense, apoptosis mechanisms, cell growth, development, as well as differentiation, and help to maintain the body's homeostasis. However, when ROS production exceeds the body's antioxidant capacity, it can lead to oxidative stress that damages the cells and triggers various chronic diseases. Antioxidants are substance that can neutralize ROS in the body. Bitter melon (*Momordica charantia*) has a distinctive bitter taste and is known to be nutritious that provide a variety of health benefits. This study aims to assess antioxidant capacity *in vitro* using ABTS method and to determine the toxicity level of bitter melon fruit extract using BSLT method with *Artemia salina* as test subject. Antioxidant capacity test was expressed in IC_{50} values of 22,356 $\mu\text{g/mL}$, while toxicity test on bitter melon fruit extract resulted in LC_{50} values of 259,786 $\mu\text{g/mL}$. The antioxidant capacity of bitter melon fruit extract is classified as very strong ($IC_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$). Additionally, the toxicity level is categorized into moderate toxicity (LC_{50} 100 – 500 $\mu\text{g/mL}$).

Keywords : ABTS, *Artemia salina*, BSLT, *Momordica charantia*

PENDAHULUAN

Momordica charantia merupakan tanaman merambat yang termasuk dalam famili *Cucurbitaceae* dan tumbuh terutama di India, Cina, dan Asia Tenggara.¹ Buah pare berbentuk lonjong dengan bintil-bintil di permukaannya serta memiliki daging yang berair dan renyah menyerupai mentimun. Saat proses pematangan, buah pare akan berubah dari warna hijau zamrud menjadi warna jingga, sedangkan dagingnya yang berwarna putih akan berubah menjadi merah muda.² Meskipun memiliki rasa pahit yang khas, *Momordica charantia* cukup populer di berbagai kalangan di seluruh dunia. Hal ini disebabkan oleh kemampuan buah pare dalam menurunkan kadar gula dalam darah maupun urin.¹ Selain itu, telah dibuktikan bahwa *Momordica charantia* memiliki sifat antidiabetes,³ antiaging,⁴ antikolestrol,⁵ antikanker,⁶ antibakteri dan anti jamur,⁷ anti-inflamasi serta antioksidan.⁸

Antioksidan dapat dibagi menjadi dua, yaitu endogen dan eksogen. Antioksidan endogen diproduksi oleh tubuh manusia sendiri, sedangkan antioksidan eksogen berasal dari makanan yang dikonsumsi sehari-hari seperti, buah-buahan, sayuran, daging, dan ikan yang alami maupun disintesis.⁹ Antioksidan berperan dalam menekan ROS yang dapat memicu reaksi oksidasi, menghasilkan radikal bebas dan merusak komponen seluler seperti DNA, protein, karbohidrat, serta lipid apabila tidak terkontrol. Namun, ROS juga memiliki fungsi penting dalam aktivitas seluler tertentu, termasuk sinyal redoks, regulasi ekspresi gen, dan perlindungan terhadap patogen. Oleh karena itu, peran dari sistem antioksidan adalah untuk menjaga keseimbangan kadar oksidan dalam tingkat optimal bukan untuk menghilangkan oksidan sepenuhnya.¹⁰

Keefektifan suatu antioksidan umumnya dipengaruhi oleh beberapa faktor, termasuk karakteristik strukturnya, konsentrasi yang digunakan, suhu, jenis substrat, serta keberadaan pro-oksidan dan sinergis. Reaksi kinetik memainkan peran penting dalam jangka pendek maupun jangka panjang dalam perlindungan terhadap oksidasi, termasuk kecepatan reaksi antioksidan dengan oksidan tertentu, reaksi termodinamika, dan tingkat reaktivitas antioksidan.¹¹

Penelitian ini bertujuan untuk menilai aktivitas antioksidan dengan metode 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) dari ekstrak buah pare. Penilai aktivitas antioksidan dilakukan untuk mengetahui kemampuan suatu ekstrak dalam menetralkan radikal bebas yang diketahui dapat memicu stres oksidatif dan berbagai penyakit degeneratif. Selain itu, penelitian ini juga mengkaji mengenai tingkat toksisitas dalam ekstrak metanol buah pare dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) untuk mengetahui keamanan biologis ekstrak sebelum dikembangkan lebih lanjut dalam keperluan terapeutik maupun sebagai komponen fungsional dalam produk pangan. Kedua studi ini bertujuan untuk memberikan gambaran komprehensif yang mencakup manfaatnya sebagai antioksidan sekaligus risiko toksisitasnya.

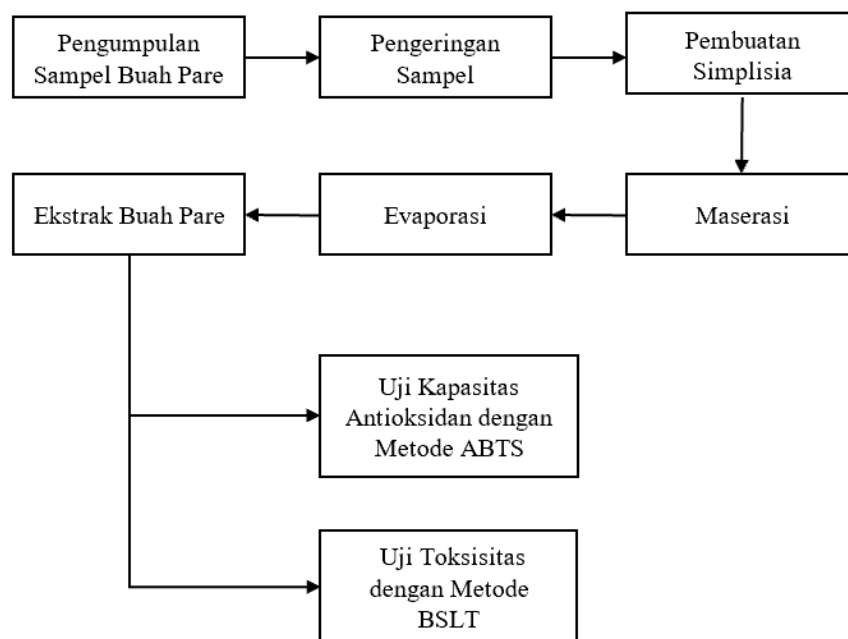
METODE PENELITIAN

Penelitian ini berfokus pada pendekatan *in vitro* dan *bioassay*. Pengujian secara *in vitro* meliputi analisis kapasitas antioksidan dengan menggunakan metode 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS). Sedangkan pendekatan berbasis *bioassay* diterapkan dalam uji toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) untuk mengevaluasi tingkat toksistas dalam ekstrak buah pare. Data yang diperoleh akan dianalisis dengan menggunakan program dari aplikasi GraphPad prism v.10.0 La Jolla, California, USA dan akan ditampilkan dalam bentuk tabel dan grafik.

Pembuatan Ekstrak Buah Pare

Buah pare dikeringkan di suhu ruang tanpa terpapar sinar matahari selama kurang lebih 5 hari. Setelah buah pare kering, dihaluskan dengan menggunakan blender sampai berbentuk bubuk yang disebut simplisia. Simplisia buah pare sebanyak 75 gram dicampurkan dengan metanol secukupnya lalu diaduk secara merata sampai menggumpal. Kemudian, dimasukkan ke dalam corong perkolator sedikit demi sedikit, ditambahkan metanol dan diinkubasi selama 24 jam. Setelah 24 jam, ekstrak diteteskan dengan kecepatan 1-3 mL/menit lalu ditampung sampai tetesan yang dikeluarkan sudah berwarna bening. Jika mengering, tambahkan metanol secara berulang. Ekstrak yang didapatkan kemudian dipisahkan dari ampasnya dan

dievaporasi dengan rotary evaporator hingga mendapatkan hasil ekstraksi yang kental sebanyak 10,4 gram (**Gambar 1**).



Gambar 1. Alur Pembuatan Ekstrak Buah Pare

Uji Kapasitas Antioksidan

Penentuan kapasitas antioksidan dengan metode 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) dilakukan dengan membuat larutan kontrol. Sebanyak 7,1 mg serbuk ABTS dan 3,5 mg serbuk kalium persulfat ditimbang dan masing-masing diletakkan di tabung dan dilarutkan dengan 5 mL aquades. Kemudian, dihomogenkan dan diinkubasi selama 12 jam di ruangan yang gelap. Kemudian, Larutan ABTS diambil sebanyak 1 mL lalu ditambahkan dengan aquades hingga didapatkan volume sebanyak 10 mL. Kemudian, larutan dibaca pada panjang gelombang 734 nm menggunakan spektrofotometer genesys 30-Vis untuk memperoleh absorbansi kontrol.

Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan mengencerkan ekstrak buah pare dan aquades dengan konsentrasi 10, 15, 20, 25, 30 µg/mL. Selain itu, dibuat larutan Trolox sebagai standar pembandingan dengan konsentrasi 5, 10, 15, 20, 25 µg/mL. Kemudian, larutan sampel serta larutan trolox masing-masing dicampurkan dengan larutan ABTS (perbandingan 1:1) dan dibaca pada panjang gelombang 734

nm. Persentase inhibisi dapat dihitung menggunakan hasil absorbansi dengan rumus:

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{\text{Abs Kontrol} - \text{Abs Sampel}}{\text{Abs Kontrol}} \times 100\%$$

Hasil persentase inhibisi digunakan untuk membuat kurva persamaan linear dengan konsentrasi sampel sehingga dapat diperoleh nilai IC₅₀ yang merupakan konsentrasi antioksidan dalam menghambat 50% aktivitas radikal ABTS. Dalam penelitian ini, IC₅₀ dinyatakan dalam µg/mL.

Uji Toksisitas

Pengujian sitoksisitas ekstrak buah pare dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dilakukan dengan menggunakan larva *Artemia salina*. Ekstrak buah pare dicampurkan dengan air laut yang disaring dan satu tetes air ragi dengan konsentrasi 62,5, 125, 250, 500, 1000 µg/ML. Kemudian, dimasukkan 10 ekor larva ke masing-masing tabung dan didiamkan selama 24 jam, disinari dengan lampu. Persentase mortalitas larva udang dapat dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ Mortalitas} = \frac{\text{Akumulasi larva mati}}{\text{Akumulasi larva hidup} + \text{akumulasi larva mati}} \times 100\%$$

Hasil persentase mortalitas digunakan untuk membuat kurva persamaan linear dengan log konsentrasi sampel sehingga dapat diperoleh nilai LC₅₀. Dalam penelitian ini, LC₅₀ dinyatakan dalam µg/mL.

HASIL PENELITIAN

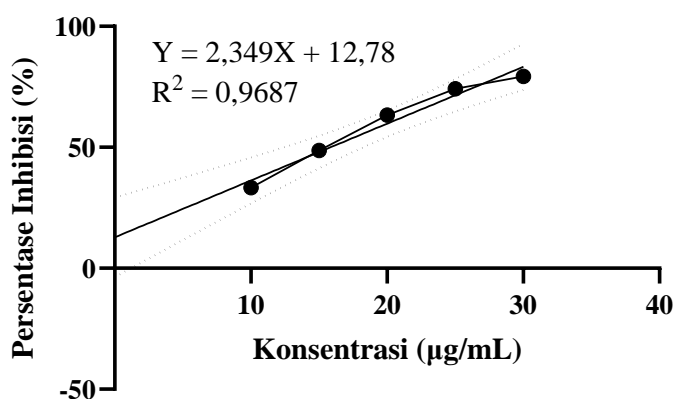
Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Pare

Nilai absorbansi dari berbagai konsentrasi ekstrak 72anjang72 buah pare dan standar pembanding Trolox yang telah direaksikan dengan larutan ABTS, dibaca pada panjang gelombang 734 nm menggunakan spektrofotometer genesys 30-vis. Absorbansi yang diperoleh digunakan untuk menghitung persentase inhibisi. Kemudian, dibuat kurva persamaan garis linear dan diperoleh persamaan $Y = 3,251X - 22,68$ dengan $R^2 = 0,9759$ untuk uji terhadap ekstrak metanol buah pare (**Gambar 2**) dan $Y = 1,542X + 29,54$ dengan $R^2 = 0,9987$ untuk uji terhadap Trolox

(Gambar 3). Dari persamaan garis linear, didapatkan nilai IC₅₀ pada ekstrak metanol buah pare dan standar pembanding Trolox sebesar 22,356 µg/mL dan 13,268 µg/mL yang disajikan pada **Tabel 1** dan **Tabel 2**.

Tabel 1. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Pare

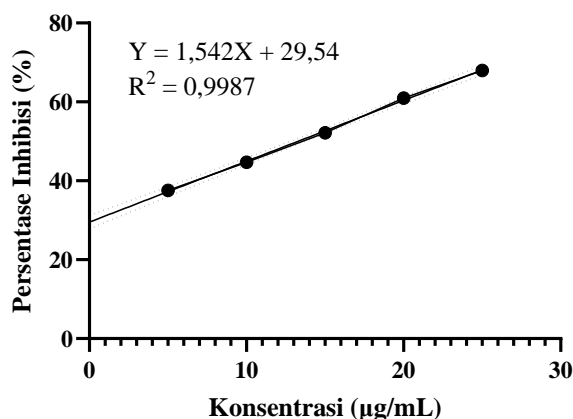
Konsentrasi (µg/mL)	Absorbansi Rata-Rata	Persentase Inhibisi (%)	IC50 (µg/mL)
10	0,384 ± 0,004	6,569 ± 0,877	
15	0,278 ± 0,003	32,360 ± 0,730	
20	0,242 ± 0,004	41,119 ± 0,877	22,356
25	0,184 ± 0,004	55,231 ± 1,061	
30	0,097 ± 0,004	76,399 ± 0,973	



Gambar 2. Kurva Hasil Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Pare

Tabel 2. Aktivitas Antioksidan Standar Pembanding Trolox

Konsentrasi (µg/mL)	Absorbansi Rata-Rata	Persentase Inhibisi (%)	IC50 (µg/mL)
5	0,341 ± 0,001	37,546 ± 0,243	
10	0,302 ± 0,003	44,689 ± 0,644	
15	0,261 ± 0,004	52,198 ± 0,877	13,268
20	0,213 ± 0,004	60,989 ± 0,973	
25	0,175 ± 0,003	67,949 ± 0,644	



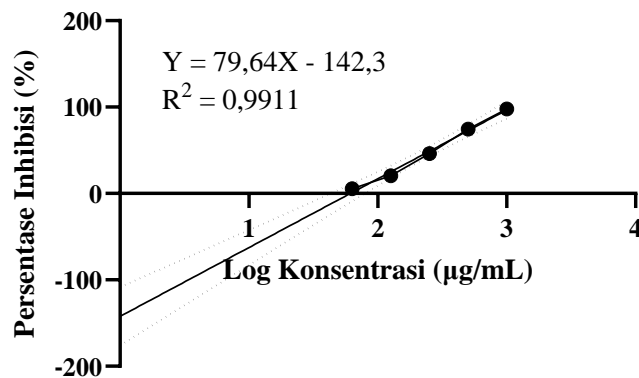
Gambar 3. Kurva Hasil Aktivitas Antioksidan Standar Pembanding Trolox

Toksisitas Ekstrak Buah Pare

Uji toksisitas dengan metode BSLT dilakukan untuk mengetahui tingkat toksisitas ekstrak metanol buah pare terhadap larva *Artemia salina*. Hasil persentase mortalitas diperoleh dengan menghitung total larva yang mati dan hidup dari setiap konsentrasi ekstrak buah pare. Kemudian, dibuat kurva dengan sumbu X sebagai log konsentrasi dan sumbu Y sebagai persentase mortalitas dan didapatkan persamaan garis linear $Y = 79,64X - 142,3$ dan $R^2 = 0,9911$ (**Gambar 4**). Dari persamaan garis linear, didapatkan nilai LC_{50} sebesar 259,786 µg/mL yang tampak pada **Tabel 3**.

Tabel 3. Toksisitas Ekstrak Buah Pare

Konsentrasi (µg/mL)	Log Konsentrasi (µg/mL)	Mortalitas (%)	LC50 (µg/mL)
62,5	1,80	5,455	
125	2,10	20,455	
250	2,40	46,154	259,786
500	2,70	74,359	
1000	3,00	97,959	



Gambar 4. Kurva Hasil Toksisitas Ekstrak Buah Pare

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, dilakukan pengujian aktivitas antioksidan untuk menilai kemampuan ekstrak metanol buah pare dan standar pembanding Trolox dalam menghambat radikal bebas ABTS dengan menghitung nilai IC_{50} . Menurut penelitian Jumina, et al,¹² kekuatan antioksidan dibagi menjadi empat, yaitu sangat kuat jika nilai $IC_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$, kuat apabila IC_{50} berkisaran $50 - 100 \mu\text{g/mL}$, sedang jika IC_{50} berada antara $101 - 150 \mu\text{g/mL}$, dan lemah bila nilai $IC_{50} > 150 \mu\text{g/mL}$. Semakin rendah nilai IC_{50} , maka kekuatan antioksidan akan semakin meningkat. Pada kurva ekstrak buah pare dan standar pembanding Trolox, diperoleh nilai $R^2 = 0,9759$ dan $R^2 = 0,9987$ yang menunjukkan bahwa persamaan garis linear yang dibuat dapat dipercaya. Nilai IC_{50} pada ekstrak buah pare dan standar pembanding Trolox adalah $22,356 \mu\text{g/mL}$ dan $13,268 \mu\text{g/mL}$. Hasil nilai IC_{50} yang diperoleh dalam penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Lagarto, et al,¹³ yang memperoleh nilai IC_{50} sebesar $20,20 \mu\text{g/mL}$. Penelitian Lagarto, et al,¹³ juga menggunakan metode 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS), akan tetapi nilai IC_{50} yang diperoleh tidak sepenuhnya sama, dengan perbedaan sebesar $2,156 \mu\text{g/mL}$. Hal ini dapat disebabkan oleh penggunaan sampel yang berbeda. Pada penelitian Hwang,¹⁴ dibuktikan bahwa aktivitas antioksidan pada ekstrak daun pare lebih tinggi dibandingkan ekstrak buah pare. Lagarto, et al¹³ menggunakan bagian daun tumbuhan pare sebagai sampel penelitian, sedangkan penelitian ini menggunakan buah pare sebagai ekstrak untuk diuji. Kekuatan antioksidan dalam penelitian ini tergolong dalam kategori sangat kuat ($IC_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$)

Pengujian toksisitas dalam penelitian ini dilakukan dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) yang menggunakan larva *Artemia salina* sebagai organisme uji. Penelitian ini mengukur persentase kematian larva setelah diberi paparan ekstrak metanol buah pare sehingga dapat diperoleh nilai LC_{50} untuk mengetahui potensi toksisitasnya. Menurut indeks toksisitas Clarkson dalam penelitian Ungcharoenwivat, et al,¹⁵ tingkat toksisitas dibagi menjadi empat, yaitu tidak toksik apabila $LC_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$, tergolong toksisitas rendah jika LC_{50} dalam rentang $500 - 1000 \mu\text{g/mL}$, toksisitas sedang pada $LC_{50} 100 - 500 \mu\text{g/mL}$, dan apabila $LC_{50} 0 - 100 \mu\text{g/mL}$, maka senyawa yang diuji termasuk dalam kategori sangat toksik.

Dalam penelitian ini, diperoleh nilai LC_{50} sebesar $259,786 \mu\text{g/mL}$ dan R^2 sebesar $0,9911$. Hasil yang diperoleh sejalan dengan penelitian Mangirang, et al,¹⁶ yang memperoleh nilai $LC_{50} 200,2 \mu\text{g/mL}$. Hasil dari kedua penelitian termasuk dalam kategori yang sama yaitu tingkat toksisitas sedang dan memiliki sifat antimitosis. Namun, terdapat perbedaan kecil antara nilai yang diperoleh yang dapat disebabkan oleh penggunaan berat sampel, larutan dan bagian tanaman yang berbeda.

KESIMPULAN

Analisis kapasitas antioksidan dengan metode ABTS menunjukkan bahwa buah pare (*Momordica charantia*) memiliki potensi antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC_{50} sebesar $22,356 \mu\text{g/mL}$. Selain itu, pengujian tingkat toksisitas dengan metode BSLT menunjukkan hasil LC_{50} sebesar $259,786 \mu\text{g/mL}$ yang tergolong dalam kategori toksisitas sedang dan memiliki potensi sebagai antimitosis. Meskipun hasil studi ini membuktikan bahwa buah pare memiliki potensi antioksidan dan risiko toksisitas sedang, namun penelitian lebih lanjut masih diperlukan, seperti uji *in vivo* terhadap hewan coba untuk menilai sifat antioksidan lebih dalam dan untuk memastikan keamanannya terhadap makhluk hidup.

SARAN

Ekstrak buah pare perlu diteliti lebih lanjut dengan cara uji *in vivo* terhadap hewan uji coba untuk mengetahui lebih lanjut mengenai dampak antioksidan dari ekstrak buah pare. Selain itu, penelitian lanjutan juga perlu difokuskan pada bagian lain dari tanaman buah pare.

DAFTAR PUSTAKA

1. Gayathry KS, John JA. A comprehensive review on bitter gourd (*Momordica charantia* L.) as a gold mine of functional bioactive components for therapeutic foods. *Food Prod Process Nutr.* 2022;4:10. DOI: 10.1186/s43014-022-00089-x.
2. Jia S, Shen M, Zhang F, Xie J. Recent advances in *Momordica charantia*: functional components and biological activities. *Int J Mol Sci.* 2017;18(12):2555. DOI: 10.3390/ijms18122555
3. Mahomoodally MF, Ramalingum N. An investigation into the consumption patterns, attitude, and perception of Mauritian towards common medicinal food plants. *J Herb Med.* 2015;5(2):99–112. DOI: 10.1016/j.hermed.2015.04.006.
4. Cao X, Sun Y, Lin Y, Pan Y, Farooq U, Xiang L, Qi J. Antiaging of cucurbitane glycosides from fruits of *Momordica charantia* L. *Oxid Med Cell Longev.* 2018;2018:1538632. DOI: 10.1155/2018/1538632.
5. Saeed F, Afzaal M, Niaz B, Arshad MU, Tufail T, Hussain MB, Javed A. Bitter melon (*Momordica charantia*): A natural healthy vegetable. *Int J Food Prop.* 2018;21(1):1270–90. DOI: 10.1080/10942912.2018.1446023
6. Bai LY, Chiu CF, Chu PC, Lin WY, Chiu SJ, Weng JR. A triterpenoid from wild bitter gourd inhibits breast cancer cells. *Sci Rep.* 2016;6:22419.
7. Mahmood MS, Rafique A, Younas W, Aslam B. *Momordica charantia* L. (bitter gourd) as a candidate for the control of bacterial and fungal growth. *Pak J Agric Sci.* 2019;56(4):1031–6. DOI: 10.21162/PAKJAS/19.7684
8. Bortolotti M, Mercatelli D, Polito L. *Momordica charantia*, a nutraceutical approach for inflammatory related diseases. *Front Pharmacol.* 2019;10:486. DOI: 10.3389/fphar.2019.00486
9. Panova IG, Tatikolov AS. Endogenous and exogenous antioxidants as agents preventing the negative effects of contrast media (contrast-induced nephropathy). *Pharmaceuticals (Basel).* 2023;16(8):1077. DOI: 10.3390/ph16081077
10. Moussa Z, Judeh ZMA, Ahmed SA. Nonenzymatic exogenous and endogenous antioxidants. In: Das K, Das S, Shivanagouda M, Bobbarala V, Tata SS, editors. *Free Radical Medicine and Biology.* London: IntechOpen; 2019. DOI: 10.5772/intechopen.87778
11. Shahidi F, Zhong Y. Measurement of antioxidant activity. *J Funct Foods.* 2015;18:757–81. DOI: 10.1016/j.jff.2015.01.047.
12. Jumina, Siswanta D, Zulkarnain AK, Triono S, Priatmoko, Yuanita E, et al. Development of C-Arylcalix[4]resorcinarenes and C-Arylcalix[4]pyrogallolarenes as antioxidant and UV-B protector. *Indones J Chem.* 2019;19(2):273–284. DOI: 10.22146/ijc.26868.
13. Lagarto A, Menéndez R, Piloto J, Thi P, Thi N, Bellma A, et al. Antidiabetic, hypolipidemic, antioxidant and anti-inflammatory effects of *Momordica charantia* L. foliage extract. *J Pharm Pharmacogn Res.* 2021;9(4):537–548.
14. Hwang ES. Comparison of antioxidant capacity and α -glucosidase inhibitory activity between bitter melon (*Momordica charantia*) fruit and leaf extract. *Asian Pac J Trop Biomed.* 2018;8(4):189–193. DOI: 10.4103/2221-1691.231280
15. Ungcharoenwivat P, Thaweesuwanasaak M, Kanzaki H, Nitoda T. Antibacterial and antioxidant activities, lethality assay and chemical profile in crude extract of *Biancaea sappan* (L.) Tod. for anti-*Vibrio* agent. *J King Saud Univ Sci.* 2023;35:102594. DOI: 10.1016/j.jksus.2023.102594.
16. Mangirang F, Maarisit W, Mongi J, Lengkey YK, Tulandi S. Uji toksisitas ekstrak daun pare *Momordica charantia* Linn terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test.* *J Biofarmasetikal Tropis.* 2019;2(1):22–27