

JURNAL METAMORFOSA
Journal of Biological Sciences
ISSN: 2302-5697
<http://ojs.unud.ac.id/index.php/metamorfosa>

**Analisis Toksisitas Dan Aktivitas Antioksidan
Pada Ekstrak Gagang Cengkeh (*Syzygium aromaticum*)**

**Toxicity Analysis And Antioxidant Activity
In Clove Stem Extract (*Syzygium aromaticum*)**

Yunita Diyah Safitri^{1*}, Fatimah²

^{1,2}Program Studi Analisis Kesehatan, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Karya Putra Bangsa Tulungagung

*Email: ydsafitri@stikes-kartrasa.ac.id

INTISARI

Bahan alam saat ini banyak digunakan sebagai alternatif obat kimia dalam mengatasi permasalahan kesehatan pada masyarakat. Salah satu jenis tanaman herbal yang sering dimanfaatkan khasiatnya di Indonesia adalah tanaman cengkeh. Penggunaan tanaman cengkeh dalam pembuatan obat herbal sudah banyak ditemui di Indonesia. Selain itu, tanaman cengkeh juga digunakan sebagai campuran beberapa minuman herbal yang diakui kaya akan antioksidan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui tingkat toksisitas gagang cengkeh, serta mengidentifikasi aktivitas antioksidan yang terkandung pada gagang cengkeh. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah Brine Shrimp Test (BST) untuk menguji toksisitas ekstrak gagang cengkeh dengan menentukan nilai LC₅₀. Pada pengujian antioksidan digunakan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), serta dilihat absorbansinya pada spektrofotometri pada panjang gelombang 517 nm untuk menentukan nilai IC₅₀ gagang cengkeh. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak gagang cengkeh memiliki tingkat toksisitas yang kuat dengan nilai LC₅₀ sebesar 56,3 ppm, serta memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 63,5 µg/mL.

Kata kunci: antioksidan, *brine shrimp test*, cengkeh, , DPPH, toksisitas

ABSTRACT

Natural ingredients are widely used as an alternative to chemical drugs to resolve health problems currently. One herbal plant that is often used for its benefits is the clove plant. The use of clove plants as herbal medicines has been known in Indonesia. In addition, the clove plant is also used as a mixture of several herbal drinks that are claimed to be rich in antioxidants. The purpose of this study was to determine the level of toxicity of the clove stem, and to identify the antioxidant activity contained in the clove stem. The method used in this study was the Brine Shrimp Test (BST) to test the toxicity of clove stem extract by determining the LC₅₀ value. In the antioxidant test, the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method was used, and the absorbance was measured by spectrophotometry at a wavelength of 517 nm to determine the IC₅₀ value of the clove stem. The results of this study indicate that the clove stem extract has a strong level of toxicity with an LC₅₀ value of 56.3 ppm, and a strong antioxidant activity with an IC₅₀ value of 63.5 µg/mL.

Keyword: antioxidant, brine shrimp test, clove, , DPPH, toxicity

PENDAHULUAN

Pemanfaatan bahan alam saat ini banyak digunakan sebagai alternatif obat kimia dalam mengatasi permasalahan kesehatan pada masyarakat (Sambara *et al.*, 2016). Penggunaan obat herbal dipercaya dapat menjadi solusi pengobatan alami untuk mengurangi adanya efek samping yang sering ditimbulkan akibat penggunaan obat kimia (Sumayyah & Salsabila, 2017). Salah satu jenis tanaman herbal yang ada di Indonesia adalah tanaman cengkeh. Penggunaan tanaman cengkeh dalam produksi obat herbal sudah banyak ditemui di Indonesia, salah satunya yakni pada pembuatan obat batuk (Andries *et al.*, 2014). Selain sebagai obat herbal, cengkeh juga dimanfaatkan sebagai campuran dalam pembuatan minuman herbal seperti wedang uwuh (Sari & Cahyaningrum, 2017).

Berdasarkan penggunaannya, sebagian besar pemanfaatan tanaman cengkeh saat ini masih terbatas pada bunganya saja. Faktanya, gagang cengkeh juga memiliki kandungan minyak cengkeh yang cukup tinggi yakni antara 5 – 10%, tetapi penggunaannya dalam bidang farmasi dan obat – obatan masih belum banyak (Nurdjannah, 2004; Safitri & Purnamawati, 2021). Gagang cengkeh merupakan bagian tanaman cengkeh yang menempel dan menyokong bagian bunga cengkeh. Minyak cengkeh, salah satu kandungan utama dari gagang cengkeh diketahui bersifat antibakteri, antifungi, antivirus, antikanker, antiinflamasi, dan memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi (Gülçin *et al.*, 2012; Liu *et al.*, 2014).

Di Indonesia, penggunaan obat herbal belum ada batasan secara pasti untuk jumlah yang aman dikonsumsi. Berdasarkan hal tersebut, peneliti ingin menguji tingkat toksisitas gagang cengkeh untuk mendapatkan nilai LC₅₀ agar dapat diketahui nilai aman untuk penggunaan gagang cengkeh. Selain itu peneliti juga menguji aktivitas antioksidan untuk mendapatkan nilai IC₅₀ gagang cengkeh agar manfaatnya dapat diketahui oleh masyarakat luas.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah gagang cengkeh kering yang diperoleh dari petani cengkeh daerah Trenggalek, Jawa Timur.

Metode

Ekstraksi gagang cengkeh

Sebanyak masing-masing 40 gram bubuk gagang cengkeh direndam ke dalam 300 ml metanol 80% selama 2 x 24 jam pada suhu ruang, terhindar dari cahaya dan ditutup rapat. Kemudian campuran disaring dan ekstrak diproses menggunakan rotary evaporator untuk memastikan tidak ada sisa metanol pada ekstrak. Ekstrak yang diperoleh setelah proses rotary evaporator berupa ekstrak pekat yang siap digunakan untuk penelitian.

Uji toksisitas ekstrak gagang cengkeh terhadap *Artemia salina* Leach.

Sebanyak 0,1 g telur larva *Artemia salina* ditambahkan dengan 1 L akuades dan 50 gram garam laut ke dalam botol plastik bening untuk proses penetasan telur *Artemia salina* menjadi larva. Larva dipanen setelah 48 jam dan siap untuk digunakan untuk uji toksisitas (Haryati *et al.*, 2015). Variasi konsentrasi ekstrak yang digunakan adalah 100 ppm, 750 ppm, 500 ppm, 250 ppm dan 100 ppm pada larutan garam. Kontrol negatif pada penelitian ini adalah air garam tanpa ada tambahan ekstrak.

Selanjutnya mempersiapkan sebanyak 5 ml ekstrak pada botol vial dengan berbagai konsentrasi, kemudian ditambahkan sebanyak 15 ekor *Artemia salina* dan disimpan pada suhu ruang selama 24 jam. Setelah 24 jam, diamati dan dihitung jumlah *Artemia salina* yang mati, kemudian ditentukan persentase kematian dari beberapa dosis untuk menentukan LC₅₀. Rumus penentuan persentase kematian larva didasarkan pada penelitian Temarwut *et al.* (2022).

$$\% \text{ Kematian} = \frac{\text{Jumlah kematian}}{\text{Total larva}} \times 100\%$$

Hasil persentase kematian larva dianalisis menggunakan uji probit dan uji regresi untuk

diketahui persamaan $y = ax+b$, serta nilai LC_{50} ekstrak gagang cengkeh.

Uji aktivitas antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode DPPH. Beberapa variasi konsentrasi ekstrak gagang cengkeh yang digunakan yaitu kontrol positif (asam askorbat), ekstrak 5 ppm, 10 ppm, 25 ppm, 50 ppm dan 100 ppm.

Metode pengukuran antioksidan dirujuk dari penelitian Kiromah *et al.* (2021) yang diawali dengan pembuatan larutan DPPH 0,4 mM dengan cara mencampurkan 7,88 mg serbuk DPPH ke dalam 50 ml methanol Pro Analisis (PA). Selanjutnya pembuatan blanko dilakukan dengan mencampurkan 1 ml larutan DPPH yang sudah dibuat ke dalam 4 ml methanol. Tahap selanjutnya yakni pembuatan larutan ekstrak menggunakan pelarut methanol dengan berbagai variasi konsentrasi. Pada penelitian ini menggunakan vitamin C (asam askorbat) sebagai kontrol pembanding dengan variasi konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm.

Pengukuran absorbansi yakni dengan cara mencampurkan 4 ml larutan ekstrak dengan 1 ml DPPH, kemudian diukur pada panjang gelombang 517 nm. Nilai absorbansi kemudian digunakan untuk memperoleh persentase inhibisi untuk menentukan nilai IC_{50} ekstrak gagang cengkeh. Suatu senyawa dikategorikan sebagai antioksidan yang sangat kuat apabila memiliki nilai $IC_{50} < 10 \mu\text{g/mL}$, sedangkan senyawa apabila memiliki nilai $IC_{50} 100 - 250 \mu\text{g/mL}$ dikategorikan sebagai antioksidan yang lemah. Semakin rendah nilai IC_{50} , maka semakin tinggi aktivitas antioksidan suatu bahan alam (Handayani *et al.*, 2014).

HASIL

Toksisitas ekstrak gagang cengkeh

Berdasarkan hasil penelitian uji toksisitas ekstrak gagang cengkeh terhadap larva *Artemia salina* dengan berbagai konsentrasi, ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji toksisitas ekstrak gagang cengkeh terhadap larva *Artemia salina*.

ppm	Log(ppm)	Probit	Mortalitas	% Kematian
0	0	0	0	0%
100	2,00	6,13	13	87%
250	2,40	6,48	14	93%
500	2,70	8,09	15	100%
750	2,88	8,09	15	100%
1000	3,00	8,09	15	100%

Pada kelompok kontrol diketahui tidak ada kematian pada larva *Artemia salina*, hal tersebut menunjukkan media bersifat netral dan tidak terdapat campuran bahan toksik di dalamnya. Pada konsentrasi 100 ppm dan 250 ppm didapatkan kematian larva artemia mencapai 87% dan 93% secara berurutan. Selanjutnya pada konsentrasi 500 ppm, 750 ppm dan 1000 ppm didapatkan keseluruhan larva artemia mati. Hasil analisis probit didapatkan persamaan yakni $y = 2,7861x + 0,1229$. Berdasarkan persamaan tersebut, maka diperoleh nilai LC_{50} ekstrak gagang cengkeh adalah 56,3 ppm.

Aktivitas antioksidan ekstrak gagang cengkeh

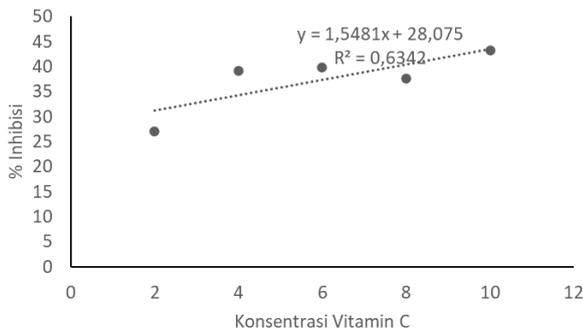
Hasil uji aktivitas antioksidan vitamin C sebagai kontrol positif ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil aktivitas antioksidan ekstrak gagang cengkeh

ppm	Rata - Rata			%	IC_{50}
	Nilai absorbansi				
	1	2	3		
	0,51	0,51	0,51	27,027	
2	3	3	3	0,513	0
	0,42	0,42	0,42		39,118
4	8	8	8	0,428	1 14,2
	0,42	0,42	0,42		39,829
6	3	3	3	0,423	3
	0,43	0,43	0,43		37,553
8	9	9	9	0,439	3
	0,39	0,39	0,39		43,290
10	8	9	9	0,399	7

Berdasarkan Tabel 2, diketahui semakin tinggi konsentrasi vitamin C maka semakin tinggi pula

persentase inhibisi vitamin C. Nilai IC₅₀ vitamin C sebagai kontrol positif yakni sebesar 14,2 µg/mL. Grafik linier hubungan antara konsentrasi dan persentase inhibisi vitamin C menunjukkan garis lurus naik dengan persamaan yang diperoleh adalah $y = 1,5481x + 28,075$ (Gambar 1).



Gambar 1. Grafik hubungan konsentrasi vitamin C dengan persentase inhibisi

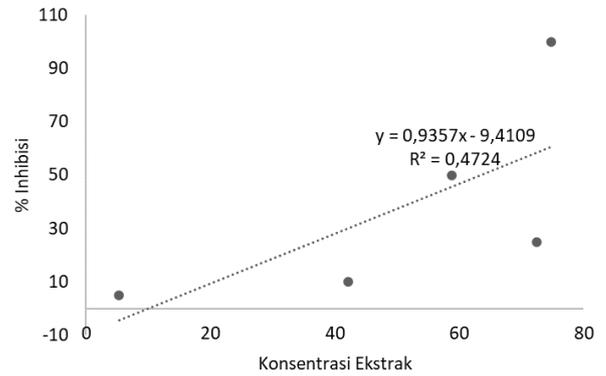
Selanjutnya, hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak gagang cengkeh dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Aktivitas antioksidan ekstrak gagang cengkeh

ppm	Nilai absorbansi			Rata - Rata	% Inhibisi	IC ₅₀
	1	2	3			
5	0,665	0,665	0,664	0,665	5,273	
10	0,407	0,406	0,406	0,406	42,090	
25	0,194	0,193	0,193	0,193	72,447	63,5
50	0,289	0,289	0,289	0,289	58,812	
100	0,177	0,177	0,178	0,177	74,727	

Nilai IC₅₀ ekstrak gagang cengkeh yakni sebesar 63,5 µg/mL. Nilai tersebut lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol vitamin C. Hubungan antara konsentrasi ekstrak gagang cengkeh dengan persentase inhibisi diperoleh persamaan regresi linier naik dengan persamaan $y = 0,9357x - 9,419$.

Pada Gambar 2 menunjukkan semakin tinggi konsentrasi, maka semakin tinggi pula nilai persentase inhibisi ekstrak gagang cengkeh. Hal tersebut sesuai dengan kontrol positif pada penelitian ini yang juga menunjukkan garis linier regresi yang naik.



Gambar 2. Grafik hubungan konsentrasi ekstrak gagang cengkeh dengan persentase inhibisi

PEMBAHASAN

Toksisitas ekstrak gagang cengkeh

Menurut Puspasari *et al.* (2020), apabila nilai LC₅₀ ≤ 30 ppm maka suatu bahan alam dikatakan bersifat sangat toksik, sedangkan LC₅₀ berada diantara 31 ppm – 1000 ppm maka suatu bahan alam dikatakan bersifat toksik. Suatu bahan alam dikatakan tidak bersifat toksik ketika nilai LC₅₀ > 1000 ppm. Berdasarkan hal tersebut, maka ekstrak gagang cengkeh yang memiliki nilai LC₅₀ sebesar 56,3 ppm termasuk ke dalam kategori bersifat toksik. Suatu bahan alam apabila dikategorikan bersifat toksik, maka bahan alam tersebut dapat dikembangkan sebagai antikanker (Putri *et al.*, 2021).

Tanaman cengkeh diketahui memiliki beberapa kandungan senyawa seperti eugenol, tanin, saponin dan flavonoid (Dewi *et al.*, 2021). Senyawa tersebut yang dimiliki tanaman cengkeh diduga berperan penting dalam hal kematian larva *Artemia salina*. Flavonoid diketahui dapat menyebabkan gangguan pada pencernaan larva, serta menghambat proliferasi sel dan menginduksi terjadinya apoptosis pada larva *Artemia salina* (Putri *et al.*, 2021). Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian ini yang menunjukkan bahwa semakin tinggi nilai konsentrasi ekstrak maka semakin tinggi jumlah kematian artemia.

Aktivitas antioksidan ekstrak gagang cengkeh

Pengujian aktivitas antioksidan yang dilakukan yakni dengan metode DPPH (2,2-

diphenyl-1-picrylhydrazyl). Peneliti memilih metode ini karena pengerjaannya yang cukup sederhana, tidak memerlukan waktu yang lama, serta cukup akurat untuk pengukuran aktivitas antioksidan pada bahan alam. Kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini adalah vitamin C (asam askorbat) sebagai pembanding aktivitas antioksidan pada ekstrak gagang cengkeh.

Pengukuran nilai IC_{50} dilakukan dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang 517 nm. Selanjutnya, hasil ini digunakan untuk menentukan nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} memiliki makna konsentrasi senyawa tersebut mampu meredam sebesar 50% aktivitas radikal bebas yang dalam hal ini adalah DPPH (Amin *et al.*, 2015). Merujuk penelitian Kiromah & Rahayu (2021), klasifikasi aktivitas antioksidan berdasarkan nilai IC_{50} dapat dikategorikan menjadi 5 kategori yang ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Klasifikasi aktivitas antioksidan

Klasifikasi aktivitas antioksidan	Nilai IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Sangat kuat	< 50
Kuat	50-100
Sedang	101-150
Lemah	151-200
Tidak aktif	> 200

Aktivitas antioksidan pada gagang cengkeh berdasarkan nilai IC_{50} yang diperoleh yakni tergolong kuat. Menurut Amin *et al.*, (2015), semakin rendah nilai IC_{50} , maka semakin tinggi aktivitas antioksidan suatu bahan alam tersebut. Salah satu senyawa yang diduga memiliki aktivitas antioksidan adalah senyawa Flavonoid. Kandungan Flvonoid pada ekstrak gagang cengkeh diduga mampu menstabilkan radikal bebas dengan cara donor atom hidrogen.

Eugenol yang merupakan kandungan utama pada minyak cengkeh diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dan mampu menangkal radikal bebas (Gülçin, 2011). Selain itu, ekstrak metanol gagang cengkeh juga memiliki kandungan senyawa alpha-pinene, yang mana senyawa tersebut diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang

kuat berdasarkan uji DPPH (Bouzenna *et al.*, 2017; Safitri *et al.*, 2022).

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada penelitian ini, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol gagang cengkeh memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi, hal tersebut diduga karena kandungan gagang cengkeh yang antara lain eugenol, flavonoid dan alpha-pinene memiliki aktivitas antioksidan dan peran penting dalam menangkal radikal bebas.

KESIMPULAN

Ekstrak gagang cengkeh memiliki sifat toksik dengan nilai LD_{50} sebesar 53,6 ppm yang dapat dikembangkan sebagai antikanker, serta memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 63,5 $\mu\text{g/mL}$.

DAFTAR PUSTAKA

- Amin, A., J. Wunas, and Y.M. Anin. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Klika Faloak (*Sterculia Quadrifida* R.br) dengan Metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 2(2): 111-114.
- Andries, J.R., P.N. Gunawan, and A. Supit. 2014. Uji efek anti bakteri ekstrak bunga cengkeh terhadap bakteri *Streptococcus mutans* secara *in vitro*. *Jurnal e-GiGi*. 2(2).
- Bouzenna, H., N. Hfaiedh, M.A. Giroux-Metges, A. Elfeki, and H. Talarmin. 2017. Potential protective effects of alpha-pinene against cytotoxicity caused by aspirin in the IEC-6 cells, *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomédecine & pharmacothérapie*, 93: 961-968.
- Dewi, C.I.D.Y., D.K. Ernawati, and I.A.A. Widhiartini. 2021. Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) terhadap Pertumbuhan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* secara *In Vitro*, *Jurnal Medika Udayan.*, 10(2): 79 – 85.
- Gülçin İ. 2011. Antioxidant activity of eugenol: a structure-activity relationship study, *Journal of Medicinal Food*, 14(9): 975 – 85.
- Gülçin, İ., M. Elmastaş, and H.Y. Aboul-Enein.

2012. Antioxidant activity of clove oil – A powerful antioxidant source, *Arabian Journal of Chemistry*, 5(4): 489 – 499.
- Handayani, V., A.R Ahmad, and M. Sudir. 2014. Uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol bunga dan daun patikala (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.Sm) Menggunakan Metode DPPH, *Pharmaceutical Sciences and Research*, 86 – 93.
- Haryati, N.A., C. Saleh, and Erwin. 2015. Uji toksisitas dan aktivitas antibakteri ekstrak daun merah tanaman pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* walp.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, *Jurnal Kimia Mulawarman*, 13(1): 35 – 40.
- Kiromah, N.Z.W., S. Husein, and T.P. Rahayu. 2021. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Ganitri (*Elaeocarpus Ganitrus* Roxb.) dengan Metode DPPH (2,2 Difenil-1-Pikrilhidazil,. *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia*, 18(1): 60 – 67.
- Liu, H., J.C. Schmitz, J. Wei, S. Cao, J.H. Beumer, S. Strychor, L. Cheng, M. Liu, C. Wang, N. Wu, X. Zhao, Y. Zhang, J. Liao, E. Chu, and X. Lin. 2014. Clove extract inhibits tumor growth and promotes cell cycle arrest and apoptosis, *Oncology Research*, 21(5): 247–259.
- Puspasari, S., Nurhamidah, H. Amir. 2020. Uji sitotoksik dan aktivitas antibakteri ekstrak daun pandan laut (*Pandanus odorifer*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Jurnal Pendidikan dan Ilmu Kimia*, 4(1): 42 – 50.
- Putri, R.B., W.H. Nugrahaningsih, and N.K. Dewi. 2021. Uji Toksisitas Ekstrak Daun Cassava Terhadap Larva *Artemia salina* Leach dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test, *Indonesian Journal of Mathematics and Natural Sciences*, 44(2): 86 – 91.
- Sambara, J., N.N.Yuliani, and M.Y. Emerensiana. 2016. Pemanfaatan tanaman obat tradisional oleh masyarakat kelurahan merdeka Kecamatan Kupang Timur 2016, *Jurnal Info Kesehatan*, 14(1): 1112 – 1125.
- Safitri, Y.D., A. Amalia, Fatimah, and A. Muadifah. 2022. The Identification of Antibacterial Compounds in Clove Stem Extract (*Syzygium aromaticum*) and its Effectiveness in Inhibiting the Growth of *Escherichia coli*, *Jurnal Biosains (The Journal of Biosciences)*, 8(1): 24 – 29.
- Safitri, Y.D., and N.E.D. Purnamawati. 2021. Perbandingan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Methanol Gagang dan Bunga Cengkeh (*Syzygium Aromaticum*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 3(3): 410 – 416.
- Sari, F., and D.W. Cahyaningrum. 2017. Pembuatan minuman kesehatan wedang uwuh di Desa Gambyok Kecamatan Grogol. Prosiding Seminar Pengabdian Masyarakat 2017, Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri.
- Sumayyah, S., N. Salsabila. 2017. Obat tradisional : antara khasiat dan efek sampingnya, *Majalah Farmasetika*, 2(5): 1 – 4.
- Temarwut, F.F., M. Saharuddin, P. Ishak, and Rusnah. 2022. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Air Buah Pare (*Momordica Charantia* L.) Terhadap Larva Udang (*Artemia salina* Leach.) dengan Metode *Brine Shrimp Lethally Test* (BSLT), *Fito Medicine*, 12(2): 77-83.