

Aktivitas Antioksidan dan Antikanker dari Ekstrak Etanol, *n*-Heksana, Etil Asetat, dan Etanol Air *Kalanchoe marmorata* (Crassulaceae)***Antioxidant and Anticancer Activities of Ethanol, n-Hexane, Ethyl Acetate, and Hydroethanolic Extracts of Kalanchoe marmorata (Crassulaceae)***

Nur Mala, Yenny Febriani Yun*, dan Lilis Siti Aisyah
Departemen Kimia, Fakultas Sains dan Informatika, Universitas Jenderal Achmad Yani,
Jl. Terusan Jenderal Sudirman, PO BOX 148, Cimahi, Indonesia
*E-mail: yenny.febriani@lecture.unjani.ac.id

DOI: <https://doi.org/10.26874/jkk.v7i2.853>

Received: 18 Oct 2024, Revised: 24 Januari 2025, Accepted: 25 Januari 2025, Online: 25 Januari 2025

Abstrak

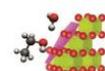
Kalanchoe marmorata salah satu spesies dari famili Crassulaceae yang biasa dikenal dengan cocor bebek, mengandung senyawa bioaktif seperti alkaloid, flavonoid, tannin, dan steroid, yang berpotensi memiliki sifat antioksidan dan antikanker. Daun *K. marmorata* diekstraksi secara berurutan menggunakan pelarut etanol, *n*-heksana, etil asetat, dan etanol air. Aktivitas antioksidan dan antikanker dievaluasi dalam keempat ekstrak ini. Aktivitas antioksidan dinilai menggunakan metode 1,1-difenil-2-pikrihidrazil (DPPH), menghasilkan nilai IC_{50} 122,1 ppm untuk ekstrak etanol, 180 ppm untuk ekstrak *n*-heksana, 121 ppm untuk ekstrak etil asetat, dan 191,9 ppm untuk ekstrak etanol air. Di antara ekstrak tersebut, ekstrak etanol dan etil asetat menunjukkan aktivitas antioksidan paling kuat. Aktivitas antikanker dievaluasi menggunakan uji reduksi resazurin, dengan nilai IC_{50} sebesar 159,90 $\mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak etanol, 563,40 $\mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak *n*-heksana, 480,50 $\mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak etil asetat, dan >1000 $\mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak etanol air. Demikian pula, ekstrak etanol dan etil asetat menunjukkan aktivitas antikanker tertinggi di antara empat ekstrak yang diuji.

Kata kunci: Antikanker, Antioksidan, Bioaktivitas, Ekstrak, *K. marmorata*

Abstract

Kalanchoe marmorata a species of the Crassulaceae family commonly known as cocor bebek, contains bioactive compounds such as alkaloids, flavonoids, tannins, and steroids, which exhibit potential antioxidant and anticancer properties. The leaves of *K. marmorata* were sequentially extracted using ethanol, *n*-hexane, ethyl acetate, and hydroethanolic solvents. Antioxidant and anticancer activities were evaluated in these four extracts. The antioxidant activity was assessed using the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) method, yielding IC_{50} values of 122.1 ppm for the ethanol extract, 180 ppm for the *n*-hexane extract, 121 ppm for the ethyl acetate extract, and 191.9 ppm for the hydroethanolic extract. Among the extracts, the ethanol and ethyl acetate extracts demonstrated the most potent antioxidant activity. Anticancer activity was evaluated using the resazurin reduction assay, with IC_{50} values of 159.90 $\mu\text{g/mL}$ for the ethanol extract, 563.40 $\mu\text{g/mL}$ for the *n*-hexane extract, 480.50 $\mu\text{g/mL}$ for the ethyl acetate extract, and >1000 $\mu\text{g/mL}$ for the hydroethanolic extract. Similarly, the ethanol and ethyl acetate extracts exhibited the highest anticancer activity among the four tested extracts.

Keywords: Anticancer, Antioxidant, Bioactivity, Extract, *K. Marmorata*



1 Pendahuluan

Penyakit degeneratif merupakan penyakit tidak menular dan bersifat kronis seperti penyakit jantung, hipertensi, kanker, dan stroke. Salah satu penyakit degeneratif yaitu kanker, dimana kanker disebabkan oleh jaringan sel-sel yang tidak normal. Pada tahun 2018, World Health Organization (WHO) melaporkan bahwa ada lebih dari 14 juta pasien kanker dengan korban jiwa \pm 9,6 juta kematian di seluruh dunia hal ini yang menyebabkan kanker berada pada urutan kedua, salah satu jenis kanker yaitu kanker kulit B16-F10 yang disebabkan oleh paparan sinar UV yang merusak kode DNA dalam sel kulit [1]. Kanker kulit dapat dicegah dengan pengobatan sintesis salah satunya kemoterapi dimana kemoterapi memiliki efek samping seperti rambut rontok dan mudah lelah. Sehingga diperlukannya obat herbal dari tumbuhan salah satunya cocor bebek (*K.marmorata*) yang memiliki aktivitas sitotoksik sebagai obat pencegah sel kanker [2].

Tanaman cocor bebek (*Kalanchoe*) adalah tanaman yang melakukan reproduksi secara vegetatif melalui tunas daunnya serta dikenal sebagai tanaman sukulen yang berasal dari Madagaskar. Cocor bebek tumbuh liar di semak, tepi jalan, dan tempat lain namun bisa dimanfaatkan sebagai tanaman hias [3]. *Kalanchoe* telah dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat tradisional atau obat alternatif. Pada pengobatan tradisional genus *Kalanchoe* biasanya digunakan untuk mengobati penyakit seperti demam, peradangan, rematik, infeksi hingga kanker [4]. Genus *Kalanchoe* terdiri dari 463 spesies [5] dan baru 37 spesies yang telah dikaji [6]. Genus ini memiliki beberapa kandungan metabolit sekunder seperti alkaloid, fenolik, saponin, flavonoid, steroid, triterpen, glikosida, lipid, antosianin, kumarin, bufadienolida, fenantren, dan asam organik [7]. Selain itu, memiliki berbagai bioaktivitas seperti antidiabetes, antifungal, antimikroba, antiinflamasi, analgesik, antiulser, antiasma, aktivitas sedatif dari sistem saraf, antioksidan serta antikanker [8].

Antioksidan mampu menghambat atau mencegah oksidasi pada substrat yang disebabkan oleh radikal bebas [9]. Untuk mencegah penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas, perlu adanya antioksidan, dimana antioksidan merupakan zat yang berperan mengatasi pengaruh bahaya dari radikal bebas yang terbentuk sebagai hasil metabolisme oksidatif, yaitu hasil dari proses metabolit dan reaksi kimia yang terjadi didalam

tubuh selain itu juga, antioksidan memiliki manfaat sebagai pencegah stress oksidatif [10].

Singab *et al.*, 2023 menemukan bahwa ekstrak diklorometana daun *K.marmorata* mengandung senyawa dari kelompok steroid yaitu senyawa β -sitosterol dengan nilai IC_{50} 17,6 μ g/mL yang memiliki aktivitas antikanker kuat [11].

2 Metode

2.1 Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya daun cocor bebek (*K. marmorata*), etanol, *n*-heksana, etil asetat, plat KLT (Silika gel merk) 1,1-difenil-2-pikrihidrazil (DPPH), vitamin C, akuades, Cisplatin (EDQM C2210000), *Dimethyl sulfoxide* (DMSO) (merk D1435), *PrestoBlue™ Cell Viability Reagent* (*Thermofisher* A13262).

Alat-alat yang digunakan adalah botol coklat, corong gelas, alat-alat gelas laboratorium, pipet tetes, pinset, *chamber*, *rotary evaporator* Buchi R-100, spatula, tabung reaksi dan raknya, botol semprot, botol vial, botol jar 250 mL, *aluminium foil*, kertas saring, kassa, *biosafety cabinet* (BSC) (*Thermo scientific* 1300), *centrifuge* (*Thermo scientific microCL17*), CO_2 *Incubator* (*Thermo scientific series* 8000DH), *microscope* (*Thermo scientific EVOS XL Core*), *multimode reader*.

2.2 Cara Kerja

2.2.1 Pengambilan Sampel

Sampel tanaman *Kalanchoe marmorata* (cocor bebek) diambil dari daerah Cikole, Kecamatan Lembang, Kabupaten Bandung Barat. Sampel yang digunakan adalah daun karena bagian ini kaya akan klorofil dan metabolit sekunder. Sebanyak 6,0 kg daun dipisahkan dari batangnya, dipotong-potong kecil dan dihaluskan menggunakan blender. Tujuan dari proses ini adalah untuk meningkatkan luas permukaan sampel, sehingga interaksi antara sampel dan pelarut lebih efektif, serta untuk memperkecil ukuran partikelnya.

2.2.2 Ekstraksi

Sebanyak 6,0 kg sampel cocor bebek (*K.marmorata*) diekstraksi menggunakan metode maserasi. Ekstraksi dilakukan menggunakan pelarut etanol. Hasil maserat diambil setiap 1 \times 24 jam sambil diaduk kemudian disaring. Filtrat ditampung dan residunya dimaserasi ulang dengan cara yang sama sebanyak lima kali pengulangan, dan di monitor dengan KLT. Filtrat yang diperoleh



dipekatkan dengan cara evaporasi pada suhu 41-65°C menggunakan *rotary evaporator* sehingga dihasilkan ekstrak pekat berwarna kecoklatan [7].

Ekstrak etanol selanjutnya dilakukan partisi. Sebelum dipartisi ekstrak pekat etanol dilarutkan dalam 500 mL akuades. Larutan etanol-air selanjutnya dipartisi dengan 3 pelarut yang berbeda yang pertama yaitu dengan menambahkan 100 mL *n*-heksana, dikocok dalam corong pisah dan didiamkan hingga terdapat dua fasa. Fasa *n*-heksana yang terbentuk kemudian dipisahkan, lalu fasa ekstrak etanol-air dipartisi kembali dengan cara yang sama menggunakan pelarut etil asetat sebanyak 100 mL, sehingga diperoleh ekstrak etil asetat, fasa ekstrak etanol-air dipartisi kembali menggunakan pelarut etanol sebanyak 100 mL sehingga diperoleh ekstrak etanol-air.

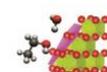
2.2.3 Uji skrining fitokimia

Dilakukan uji fitokimia terhadap empat ekstrak yaitu ekstrak etanol, *n*-heksana, etil asetat, dan etanol air dengan masing-masing ekstrak melarutkan 500 mg ke dalam 50 mL etanol. Identifikasi Alkaloid; keempat ekstrak cocor bebek sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 5 mL HCl 2 N dan beberapa tetes reagen Mayer lalu dipanaskan pada penangas air. Hasil positif mengandung alkaloid jika membentuk endapan putih, dan apabila ditambahkan reagen *Dragendroff* akan terbentuk endapan jingga. Identifikasi flavonoid; ekstrak cocor bebek sebanyak 5 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan sedikit serbuk Mg. Ditambahkan 2 mL larutan alkohol-HCl (1:1) dan 5 mL amil alkohol lalu diamati perubahan warnanya. Hasil positif mengandung flavonoid jika adanya perubahan warna menjadi merah/kuning/jingga pada lapisan amil alkohol menunjukkan adanya flavonoid. Identifikasi tannin; ekstrak sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan beberapa tetes FeCl₃ 1%. Jika warna yang dihasilkan biru kehitaman/hijau kehitaman, biru, hijau, dan biru tua menunjukkan positif mengandung tannin. Identifikasi saponin; ekstrak sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu dikocok secara vertikal selama 10 detik. Terbentuknya buih yang stabil selama tidak kurang dari 10 menit menunjukkan hasil positif adanya senyawa saponin. Identifikasi steroid; ekstrak pekat etanol *K. marmorata* dilarutkan dengan 20 mL dietil eter, kemudian larutan

didekantasi hingga dihasilkan filtrat dan residu. Setelah itu, filtrat dipipet sebanyak 1 mL lalu ditambah dengan 5 tetes larutan anhidrida asetat dan 3 tetes H₂SO₄ pekat. Reaksi positif adanya senyawa terpenoid ditandai dengan terbentuknya warna merah-jingga atau ungu, sementara reaksi senyawa steroid ditandai dengan terbentuknya warna hijau/biru.

2.2.4 Uji Aktivitas Antioksidan

Pembuatan larutan DPPH: Sebanyak 2 mg ekstrak, dilarutkan dengan metanol dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL kemudian ditempatkan dalam botol gelap. Pembuatan larutan blanko 1000 ppm; pipet sebanyak 2 mL larutan DPPH, ditambahkan metanol sampai 2 mL, kemudian divorteks. Larutan blanko diinkubasi selama 30 menit. Serapan diukur menggunakan spektrofotometri UV Vis pada panjang gelombang maksimum. Pembuatan larutan standar induk untuk vitamin C (500 ppm). Timbang 10 mg vitamin C, dimasukkan ke dalam labu ukur 20 mL dan dilarutkan dengan metanol sampai tanda batas. Penentuan panjang gelombang maksimum DPPH Sebanyak 2 mL larutan DPPH ditambahkan metanol 2 mL dan diinkubasi selama 30 menit. Diukur serapannya pada panjang gelombang 515-520 nm. Pengukuran aktivitas pengukuran radikal bebas DPPH dengan vitamin C. Pengujian dilakukan dengan memipet masing-masing 0,2 mL, 0,4 mL, 0,6 mL, 0,8 mL, dan 1 mL dari larutan induk vitamin C 100 ppm, campuran ditambah 1 mL DPPH lalu dicukupkan volumenya sampai 10 mL dengan etil asetat sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 2; 4 ;6 ;8 ; dan 10 ppm, kemudian dihomogenkan dan dibiarkan selama 30 menit. Serapan diukur dengan spektrofotometri UV Vis pada λ_{maks} (750 nm). Pengukuran aktivitas pengikat radikal bebas DPPH dengan sampel larutan isolat ekstrak etanol *K. marmorata* dilakukan dengan dipipet masing-masing 0,5 mL ; 1 mL ; 1,5 mL ; 2 mL ; 2,5 mL dan 3 mL dari larutan uji 1000 ppm. Ditambahkan 1 mL DPPH dan dicukupkan volumenya sampai 10 mL dengan etil asetat sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 6,25; 12,5; 25; 50; 100 dan 200 ppm. Selanjutnya dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit, lalu diukur serapan dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 750 nm.



Kemudian dihitung % inhibisi (**Pers. 1**), dengan dibuat kurva standar antara konsentrasi (ppm) dengan % inhibisi, sehingga didapatkan persamaan regresi linier.

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{abs sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100$$

(Persamaan 1)

Hasil perhitungan dimasukkan ke dalam persamaan regresi untuk mengetahui nilai *inhibitory concentration* (IC_{50}) sehingga diperoleh $Y = ax + b$. Kemudian disubstitusikan nilai Y dengan 50 pada persamaan tersebut, dan nilai X yang akan diperoleh sebagai nilai IC_{50} . [12].

2.2.5 Uji Aktivitas Antikanker

Preparasi media/kontrol positif/sampel; disiapkan media kultur cair *Roswell Park Memorial Institute Medium* (RPMI) komplet (yang mengandung *Fetal Bovine Serum* (FBS) 10% dan 50 μL /50mL antibiotik). Disiapkan kontrol positif yang akan digunakan. Kontrol positif yang digunakan dalam uji ini adalah Cisplatin. Dilarutkan sampel dengan konsentrasi akhir tertentu sebagai *stock*. Digunakan pelarut yang tidak bersifat *toxic* terhadap sel. Disiapkan larutan kerja antiproliferasi assay. Larutan kerja yang akan digunakan adalah *PrestoBlue™ Cell Viability Reagent*. Preparasi sel; sel yang akan digunakan telah konfluen min 70% (sel-sel harus sudah mencapai tingkat kepadatan minimum 70% pada permukaan kultur sel dengan kata lain bahwa 70% permukaan kultur sel tertutup oleh sel). Dibuang media pada *dish*, lalu bilas sel sebanyak 2x dengan 1 mL *Phosphate buffered saline* (PBS). Ditambahkan 1 mL larutan *Trypsin-EDTA* lalu diinkubasi selama 5 menit agar lapisan sel terdispersi (di bawah mikroskop *inverted* sel akan tampak melayang). Dipindahkan sel kedalam *tube* yang telah berisi media. *Disentrifuge* sel dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit. Dibuang supernatan, lalu pelet dilarutkan kedalam *tube* berisi media. *Seeding* sel ke dalam 96 *well plate*; Ditentukan jumlah dan viabilitas sel (dengan *trypan blue exclusion*), dan *resuspend* sel dengan kepadatan sel akhir 170.000 sel / mL dalam media. (17.000 sel/*well*), disiapkan 10 μL *trypan blue* dalam *microtube steril*. ditambahkan 10 μL suspensi sel ke dalam larutan *trypan blue* lalu dihomogenkan. Dibersihkan *hemacytometer* dan tutup slip menggunakan etanol 70% kemudian dikeringkan. Dengan menggunakan pipet, perlahan-lahan dimasukkan 10 μL larutan sel-

trypan blue ke salah satu sisi bilik/*chamber*. Dihitung jumlah sel yang sehat dan tentukan jumlah sel (viabel) per mL. *Seeding*/kultur sel kedalam 96 *wellplate*, kemudian diinkubasi selama 24 jam (atau sampai sel konfluen min. 70%) pada suhu 37°C dan 5% gas CO_2 . Perlakuan sel dengan sampel/kontrol positif/kontrol negatif; disiapkan delapan buah *microtube* 1,5 mL, lalu masing-masing *microtube* diberi label konsentrasi pengenceran yang sesuai, kemudian *stock* sampel diencerkan menjadi delapan varian konsentrasi menggunakan pelarut media. Dikeluarkan 96 *well plate* yang telah berisi sel dari inkubator. Diberi label pada *plate* sepanjang margin kiri untuk baris mana yang akan diberi perlakuan oleh standar dan baris mana yang akan diberi sampel. Lalu dibuang media dari setiap *well*. Dengan menggunakan mikropipet dipindahkan 100 μL masing-masing sampel dan kontrol positif dari *microtube* ke dalam masing-masing *well* yang sesuai pada 96 *well plate* yang telah berisi sel. Kemudian di inkubasi kembali selama 48 jam.

Pemberian reagen *Presto Blue* dan pengukuran absorbansi; disiapkan media pada setiap *well*. Disiapkan 9 mL media pada *tube* yang ditambahkan 1 mL "*PrestoBlue™ Cell Viability Reagent*" (10 μL reagen untuk 90 μL media), lalu dimasukkan 100 μL campuran larutan tersebut kedalam tiap *well microplate* kemudian diinkubasi selama 1-2 jam sampai terlihat perubahan warna (Saat memasuki sel hidup, reagen *PrestoBlue®* akan direduksi dari senyawa biru resazurin tanpa nilai *fluorescent* intrinsik, menjadi senyawa resorufin yang berwarna merah dan sangat berpendar. Konversi nilai sebanding dengan jumlah sel yang aktif secara metabolik dan oleh karena itu dapat diukur secara kuantitatif. Untuk mengukur absorbansi, digunakan spektrum absorbansi untuk resazurin dan resorufin). Selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang 570 nm (*reference*:600 nm) menggunakan *multimode reader*.

3 Hasil dan Pembahasan

3.1 Ekstraksi

Hasil yang diperoleh dari ekstrak etanol pekat berwarna kecoklatan dengan berat 97,1 gram dapat dilihat pada **Gambar 1**. Ekstrak pekat *n*-heksana sebesar 0,22 gram, ekstrak pekat etil asetat sebesar 0,36 gram, dan ekstrak etanol-air sebesar 1,93 gram dapat dilihat pada **Gambar 2**.





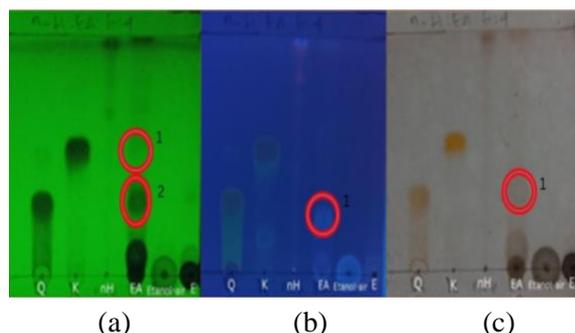
Gambar 1. Ekstrak etanol daun *K. marmorata*



Gambar 2. Ekstrak etil asetat, *n*-heksana, dan etanol air daun *K. marmorata*

3.2 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Masing-masing ekstrak dilakukan uji KLT, menggunakan pelarut *n*-heksana dan etil asetat dengan perbandingan 6:4. *n*-Heksana merupakan pelarut non polar, senyawa yang terbentuk akibat adanya suatu ikatan antar elektron pada unsur-unsur yang membentuknya, sedangkan etil asetat termasuk ke dalam pelarut yang bersifat semi polar yang artinya dapat melarutkan senyawa polar maupun non polar. Hasil uji KLT pada ekstrak etanol, *n*-heksana, etil asetat, dan etanol air dibandingkan dengan senyawa target yaitu kaempferol (1) dan quersetin (2), hasil KLT dari beberapa ekstrak dan senyawa perbandingan dapat dilihat pada **Gambar 3**.



Gambar 3. Hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) ekstrak etil asetat dengan R_f 0,375

Hasil KLT dari ekstrak etil asetat pada **Gambar 3 (a)** UV λ 254 nm menunjukkan adanya 2 noda, yang pertama kaempferol dan yang kedua quersetin berpotensi sebagai senyawa metabolit sekunder, pada **(b)** UV λ 365 nm menunjukkan adanya 1 noda yaitu quersetin dengan nilai R_f 0,375 sedangkan **(c)** menggunakan penampak

noda H_2SO_4 10% dalam etanol berfungsi untuk memperjelas atau menampakkan noda-noda senyawa organik yang tidak berwarna pada lempeng KLT saat proses pembakaran.

3.3 Uji skrining fitokimia

Uji skrining fitokimia ini merupakan uji kualitatif dengan tujuan untuk mengetahui senyawa yang terkandung dalam sampel ekstrak sehingga dapat mengetahui metabolit sekunder yang berpotensi sebagai aktivitas antioksidan dan antikanker. **Tabel 1** menunjukkan hasil uji fitokimia dari keempat ekstrak daun *K.marmorata*.

Tabel 1. Hasil uji fitokimia keempat ekstrak daun *K.marmorata*

Ekstrak	Metabolit Sekunder	Hasil*
Etanol	Alkaloid	
	-Mayer	(-)
	-Dragendroff	(+)
	Flavonoid	(+)
	Tannin	(+)
	Saponin	(-)
<i>n</i> -Heksana	Steroid	(+)
	Alkaloid	
	-Mayer	(-)
	-Dragendroff	(+)
	Flavonoid	(-)
	Tannin	(-)
Etil Asetat	Saponin	(-)
	Steroid	(+)
	Alkaloid	
	-Mayer	(-)
	-Dragendroff	(-)
	Flavonoid	(+)
Etanol Air	Tannin	(+)
	Saponin	(-)
	Steroid	(-)
	Alkaloid	
	-Mayer	(-)
	-Dragendroff	(-)

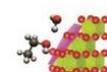
*Keterangan:

(+) = Mengandung senyawa

(-) = Tak mengandung senyawa

3.4 Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode 1,1-difenil-2-pikrihidrazil (DPPH). Diuji keempat ekstrak yaitu



etanol, *n*-heksana, etil asetat, dan etanol air ditunjukkan pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Hasil uji antioksidan terhadap ekstrak *K.marmorata*

Larutan Uji	IC ₅₀ (ppm)
Vitamin C (<i>control</i>)	3,111
Ekstrak Etanol	122,1
Ekstrak <i>n</i> -Heksana	180
Ekstrak Etil Asetat	121
Ekstrak Etanol Air	191,9

Metode 1,1-difenil-2-pikrihidazil (DPPH) ini didasarkan pada kemampuan suatu senyawa antioksidan untuk mengurangi radikal DPPH dengan adanya pemberian atom hidrogen. Larutan uji dilakukan inkubasi dengan suhu 37°C yang bertujuan untuk mereaksikan antara senyawa antioksidan dengan DPPH agar semua elektron pada radikal bebas DPPH menjadi berpasangan. Pada suhu tersebut merupakan suhu yang optimum terhadap aktivasi radikal DPPH dengan adanya perubahan warna dari ungu menjadi kuning menandakan absorbansi DPPH yang menandakan bereaksinya DPPH radikal terhadap sampel. Kontrol positif yang digunakan pada uji antioksidan ini adalah vitamin C. Dimana vitamin C sering digunakan sebagai pembanding karena berfungsi sebagai antioksidan sekunder yaitu menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai. Hal itu dikarenakan vitamin C mempunyai gugus hidroksi bebas yang bertindak sebagai penangkap radikal bebas dan jika mempunyai gugus polihidroksi akan meningkatkan aktivitas antioksidan [13].

Nilai IC₅₀ adalah suatu bilangan yang menunjukkan konsentrasi sampel uji (ppm) yang mampu menghambat radikal DPPH sebesar 50%. Semakin besar nilai IC₅₀ maka akan semakin kecil aktivitas antioksidannya dan sebaliknya pula semakin kecil nilai IC₅₀ maka akan semakin besar pula aktivitas antioksidannya. Nilai antioksidan berdasarkan kategori IC₅₀ jika < 50 menunjukkan aktivitas sangat kuat, 50-100 aktivitas kuat, 100-200 aktivitas dengan, dan 250-500 aktivitas antioksidan lemah.

Hasil pengujian antioksidan diperoleh dari keempat ekstrak yaitu ekstrak etanol daun *K.marmorata* dengan nilai IC₅₀ 122,1 ppm, ekstrak *n*-heksana daun *K. marmorata* dengan nilai IC₅₀ 180 ppm, ekstrak etil asetat daun *K.marmorata* dengan nilai IC₅₀ 121 ppm, dan ekstrak etanol air daun *K. marmorata* dengan nilai IC₅₀ 191,9 ppm menunjukkan bahwa hasil antioksidan dengan kategori sedang. Jika

dibandingkan dengan aktivitas antioksidan pada vitamin C menunjukkan nilai IC₅₀ 2,78 ppm yang termasuk ke dalam kategori kuat. Hal ini dikarenakan pada tumbuhan *K.marmorata* terdapat kandungan metabolit sekunder salah satunya flavonoid mempunyai potensi aktivitas antioksidan dikarenakan terdapat rangkaian afinitas hipotesis antara flavonoid dengan residu asam amino dimana sebagian besar memberikan penerapan yang signifikan mengenai prediksi interaksi antara flavonoid dan protein untuk memahami aktivitas biologis dari flavonoid.

3.5 Uji Aktivitas Antikanker

Hasil uji antikanker pada kontrol positif (Cisplatin) dan kontrol negatif (DMSO) terhadap keempat ekstrak daun *K.marmorata* yaitu ekstrak etanol, ekstrak *n*-heksana, ekstrak etil asetat, dan ekstrak etanol air ditunjukkan pada **Tabel 3**.

Tabel 3. Hasil uji antikanker terhadap ekstrak *K.marmorata*

Larutan Uji	IC ₅₀ (ppm)
Cisplatin (<i>control</i>)	16,24 µM
Ekstrak Etanol	159,90
Ekstrak <i>n</i> -heksana	563,40
Ekstrak Etil Asetat	480,50
Ekstrak Etanol air	>1000

Berdasarkan hasil pengukuran semakin kecil konsentrasi maka akan semakin besar pula absorbansi yang didapat begitupun sebaliknya semakin besar konsentrasi maka akan semakin kecil pula absorbansinya. Kontrol positif yang digunakan dalam uji ini adalah Cisplatin dengan konsentrasi 16,24 µM, dimana Cisplatin ini berfungsi sebagai obat kemoterapi yang biasanya digunakan untuk mengobati berbagai jenis kanker. Cara kerjanya dengan merusak DNA sel kanker sehingga tidak dapat bereplikasi kembali. Sedangkan kontrol negatifnya yaitu pelarut *dimethyl sulfoxide* (DMSO) karena DMSO merupakan pelarut yang dapat melarutkan hampir semua senyawa polar maupun non polar [14].

Parameter yang digunakan pada uji antikanker ini adalah nilai IC₅₀ (*Inhibition Concentration* 50%). Nilai IC₅₀ menunjukkan nilai konsentrasi untuk membunuh 50% sel kanker. Nilai IC₅₀ yang lebih rendah menunjukkan potensi aktivitas yang lebih kuat, dengan identifikasi uji fitokimia yang dilakukan sehingga memberikan informasi yang lebih akurat terhadap senyawa-senyawa kimia aktif dalam tanaman tersebut [15]. Nilai antikanker berdasarkan



kategori IC_{50} jika < 100 menunjukkan aktivitas kuat, < 1000 aktivitas sedang, >1000 aktivitas lemah [2].

Uji aktivitas antikanker ini menggunakan reagen *PrestoBlue* yang berbahan dasar resazurin dimana metode ini sebagai indikator pewarnaan senyawa kimia yang berwarna biru dan *fluoresen* yang dapat diukur secara kuantitatif untuk menentukan viabilitas dan proliferasi sel (pembelahan sel). Selain itu resazurin merupakan larutan membran permeabel dapat direduksi menjadi resorufin oleh enzim dehidrogenase dalam sel yang hidup dan aktif secara metabolisme.

Pengujian antikanker terhadap sel kanker kulit B16-F10 bertujuan untuk mengetahui dan mengukur suatu zat yang dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan sel kanker. Pada penelitian antikanker ini memakai kultur cair *Roswell Park Memorial Institute Medium* (RPMI) dimana media ini merupakan salah satu jenis media kultur sel yang banyak digunakan untuk menumbuhkan sel jaringan.

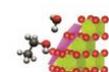
4 Kesimpulan

Pada penelitian yang telah dilakukan menghasilkan rendemen ekstrak etanol dengan berat 97,1 gram, ekstrak *n*-heksana 0,22 gram, ekstrak etil asetat 0,36 gram, dan ekstrak etanol-air 1,93 gram. Hasil uji fitokimia pada ekstrak daun *K. marmorata* mengandung golongan alkaloid, flavonoid, tannin, dan steroid. Sedangkan hasil uji antioksidan berada dalam rentang nilai IC_{50} 191,9 ppm sampai nilai IC_{50} 121 ppm menunjukkan bahwa hasil antioksidan yang sedang, berdasarkan literatur nilai yang optimal nilai $IC_{50} < 50$ ppm. Uji antikanker dengan nilai IC_{50} 159,90 $\mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak etanol, 563,40 $\mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak *n*-heksana, 480,50 $\mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak etil asetat, dan >1000 $\mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak etanol air. Demikian pula, ekstrak etanol dan etil asetat menunjukkan aktivitas antikanker tertinggi di antara empat ekstrak yang diuji, berdasarkan literatur nilai yang optimal dengan nilai $IC_{50} < 100$ ppm.

Daftar Pustaka

[1] Yohannes, R., Al Rivan, M.E., 2022, Klasifikasi Jenis Kanker Kulit Menggunakan CNN-SVM, *Jurnal Algoritme*, 2(2), 133-144.
 [2] Maningkas, P., Pandiangan, D. and Kandou, F., 2019. Uji Antikanker dan Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Pasote (*Dysphania*

ambrosioides L.) Anticancer and Antioxidant Test of Methanol Extract of Epazote leaves (*Dysphania ambrosioides* L.). *Jurnal Bios Logos*, 9(2), pp.102-110.
 [3] Smith, G.F., Figueiredo, E. dan Oberlander, K., 2022. A review and update of the conservation status of *Kalanchoe* species (Crassulaceae subfam. Kalanchooideae) in the Flora of Southern Africa region. *Bradleya*, 2022(sp40), pp.181-193.
 [4] Richwagen, N., Lyles, J.T., Dale, B.L. and Quave, C.L., 2019. Antibacterial activity of *Kalanchoe mortagei* and *K. fedtschenkoi* against ESKAPE pathogens. *Frontiers in pharmacology*, 10, p.67.
 [5] World Flora Online, 2024, *Taxon: WFO-4000019783-2024-06*, Retrieved January 26, 2025, from <https://wfoplantlist.org/taxon/wfo-4000019783-2024-06?page=1>
 [6] Assis de Andrade, E., Machinski, I., Terso Ventura, A.C., Barr, S.A., Pereira, A.V., Beltrame, F.L., Strangman, W.K. and Williamson, R.T., 2023. A Review of the Popular Uses, Anatomical, Chemical, and Biological Aspects of *Kalanchoe* (Crassulaceae): A Genus of Plants Known as "Miracle Leaf". *Molecules*, 28(14), p.5574.
 [7] Aisyah, L.S., Purbaya, S., Yun, Y.F., Supratman, U., Saputra, T.R., Hakim, A.R., Herlina, T., Julaeha, E. and Zainuddin, A., 2017. Senyawa Fenolik dari Daun Tanaman *Kalanchoe prolifera* (Crassulaceae).
 [8] Milad, R., El-Ahmady, S. and Singab, A.N., 2013. Genus *Kalanchoe* (Crassulaceae): A review of its ethnomedicinal, botanical, chemical and pharmacological properties. *European Journal of Medicinal Plants*, 4(1), pp.86-104.
 [9] Sylvia, D. and Fatimah, D.P., 2020. Comparison Of antioxidant activity of some cocor bebek leaf extract (*Kalanchoe Pinnata*) using the DPPH method. *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*, 11(1):21-31.
 [10] Febrianto, Y.F. and Septiyani, K., 2019. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Selada Merah (*Lactuca sativa* var. *acephala*) dengan Menggunakan 1, 1-Difenyl-2-Picrylhydrazyl (DPPH). *Jurnal Farmasi & Sains Indonesia*, 2(2), pp.36-41.
 [11] Singab, A.N., El-Ahmady, S., Milad, R. and Saad, S., 2012. *Kalanchoe thrysiflora* Harv. and *Kalanchoe marmorata* Baker, DNA Profiling, biological guided fractionation of different extracts, isolation and identification of cytotoxic compounds. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2(8), pp.215-220.



- [12] Andriani, D. and Murtisiwi, L., 2020. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% bunga telang (*Clitoria ternatea* L) dari daerah sleman dengan metode DPPH. *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia*, 17(1), pp.70-76.
- [13] Abriyani, E., Fikayuniar, L. and Safitri, F., 2021. Skrining Fitokimia dan Bioaktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga Kangkung Pagar (*Ipomoea carnea* Jack.) dengan Metode DPPH (2, 2-Difenil-1-Pikrilhidrazil). *Pharma Xplore: Jurnal Sains dan Ilmu Farmasi*, 6(1), pp.32-42.
- [14] Huda, C., Putri, A.E. and Sari, D.W., 2019. Uji aktivitas antibakteri fraksi dari maserat *Zibethinus folium* terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal SainHealth*, 3(1), pp.40-45.
- [15] Bafadal M, Mutiara WO, Malaka MH, Fristiohady A, Yodha AWM, Sadarun B, Sahidin, 2022, Cytotoxic Activity Of Ethanol Extract *Petrosia* sp. In Vitro Against Cancer Cells HeLa. *Jurnal Farmasi Sains dan Praktis*, 7(3):282–8.

