

TOKSISITAS, AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI EKSTRAK AIR KULIT KAYU MASSOI (*Cryptocarya massoy* (Lauraceae))

Bina Lohita Sari¹, Wandesta Rurianti², Partomuan Simanjuntak³

^{1,2)} Program Studi Farmasi, FMIPA-UNPAK

³⁾ Puslit Bioteknologi-LIPI

Email : binalohitasari@yahoo.co.id

ABSTRAK

Massoi (*Cryptocarya massoy*) merupakan tanaman yang digunakan masyarakat Papua sebagai obat tradisional. Kulit batang tanaman ini memperlihatkan beberapa aktivitas biologis. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan toksisitas, aktivitas antioksidan dan antibakteri ekstrak air kulit batang Massoi (EAKM). Uji toksisitas menggunakan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT), aktivitas antioksidan diuji dengan metode Peredaman Radikal Bebas menggunakan DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), dan uji antibakteri menggunakan metode cakram difus terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Penapisan fitokimia menunjukkan adanya steroid, flavonoid, saponin, tannin, kumarin dan minyak atsiri. Hasil LC₅₀ sebesar 493,00 µg/mL menunjukkan bahwa EAKM adalah toksik. Nilai IC₅₀ sebesar 14,06 µg/mL (vitamin C sebagai control positif 7,78 µg/mL) menunjukkan potensi EAKM sebagai antioksidan. Sementara EAKM tidak menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli*. Kromatografi kolom menggunakan silika gel dengan fasa gerak kloroform:metanol (1:1) dan kloroform:metanol:air (5:5:1) pada EAKM menghasilkan empat fraksi. Semua fraksi diidentifikasi dengan KCKT menggunakan fasa gerak metanol : air (1:1). Profil KCKT keempat fraksi menunjukkan profil kromatogram yang hampir sama, yaitu pada waktu menit ke 10,0.

Kata kunci : Toksisitas, antioksidan, antibakteri, *Cryptocarya massoy*

ABSTRACT

TOXICITY, ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF WATER EXTRACT OF *CRYPTOCARYA MASSOY* (LAURACEAE) BARK

Cryptocaryamassoy (CM) is a well-known plant in Papua as traditional medicine. The bark of this plant has indicated that exhibit biological activity. The aims of this study were to examine toxicity, antioxidant and antibacterial activities of water extract of *C.massoy* (WECM) bark. Toxicity assay was done by Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method using brine shrimp, antioxidant activity was tested by Free Radical Scavenging method using DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), and the antibacterial activity was tested by diffuse disc method against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Phytochemical screening of WECM showed the presence of steroid, flavonoid, saponin, tannin, coumarine and essential oil. The results with LC₅₀ value 493.00 µg/mL showed that WECM is considered to be toxic. The IC₅₀ value obtained from the test as 14.06 µg/mL (vitamin C as positive control was 7.78 µg/mL) showed its potency as antioxidant, while WECM showed no antibacterial activity against *S. aureus* and *E. coli*. Column chromatography for WECM using silica gel as stationary phase and chloroform:methanol (1:1) and chloroform:methanol:water (5:5:1) as mobile phase resulting four fractions. The fractions were then characterized by HPLC with methanol:water (1:1) as mobile phase. The HPLC profiles of all fractions showed almost the same characteristic peaks at retention times 10.0 min.

Key words : Toxicity, antioxidant, antibacterial, *Cryptocarya massoi*

PENDAHULUAN

Indonesia kaya akan tumbuhan yang mengandung metabolit sekunder yang sangat berguna dalam dunia kesehatan dan salah satunya adalah Massoi (*Cryptocarpa massoy*) familia Lauraceae. Massoi merupakan jenis tumbuhan yang selama ini sudah digunakan oleh masyarakat lokal Papua sebagai obat tradisional (Lemmens *et al.*, 1995). Umumnya tumbuh pada ketinggian ± 1000 m diatas permukaan laut (dpl), dengan jenis tanah lempung berliat (Tangguni dkk, 2000). Bagian yang dimanfaatkan dari tumbuhan ini adalah kulit yang diekstraksi untuk menghasilkan minyak. Kulit Masoi sendiri diambil minyaknya dan digunakan sebagai bahan jamu, obat cacing dan kejang perut namun sejauh ini informasi kandungan bahan aktif berpotensi obat yang terkandung di dalam Massoi sangat kurang (Triamtoro dan Susanti, 2007).

Kulit kayu Massoi diduga mempunyai senyawa sitotoksik terhadap larva udang *Artemia salina* Leach, dan juga mengandung senyawa antioksidan dan antimikroba karena memiliki kesamaan genus dengan kayu manis (*Cinnamomum burmanni*). Dari literatur diketahui bahwa kayu manis dapat berfungsi sebagai antioksidan, pengawet makanan, antibakteri, antifungi dan antiparasit (Kunarto, 2006).

Berdasarkan pada permasalahan di atas maka dalam penelitian ini telah dilakukan uji toksisitas dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) terhadap larva udang *Artemia salina* Leach, uji antioksidan dengan metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil), dan juga uji antibakteri terhadap bakteri gram negatif *Echerichia coli* dan juga bakteri gram positif *Staphylococcus aureus* untuk ekstrak air kulit kayu Massoi (*Cryptocarpa massoy*).

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan penelitian yang digunakan antara lain: kulit kayu Massoi, bakteri *Escherichia coli*, bakteri *Staphylococcus aureus*, telur *Artemia salina* Leach, DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), vitamin C,

kloramfenikol, *Nutrient Agar* (NA), *Nutrient Broth* (NB), kertas cakram, kapas, *Serium Sulfat*, berbagai pereaksi (*Dragendorff*, *Mayer* dan *Lieberman-Buchardat*) air laut, metanol, aquades dan etil asetat.

Alat

Alat penelitian yang digunakan antara lain: vakum rotapavor, timbangan analitik, corong pisah, cawan Petri, ose bulat, kertas cakram, kulkas, grinder, corong pisah, mikropipet, Spektrofotometer UV-VIS, *Laminar Air Flow* (LAF), autoklaf, pengocok (*shaker*), lempeng KLT alumunium silika gel 60 F254, bejana kromatografi, lampu ultraviolet, KCKT, alat-alat umum dan alat-alat gelas yang lazim digunakan di laboratorium kimia.

Cara Kerja

Pembuatan Ekstrak

Kulit kayu massoi diekstrak dengan menggunakan metode maserasi, dengan metanol sehingga didapat ekstrak metanol. Ekstrak kental metanol dipartisi sebanyak 3 sampai 4 kali dengan menggunakan pelarut etil asetat: air (1:1). Fase air yang didapat dikeringkan di penangas air sampai didapat ekstrak kental.

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$$

Analisis Fitokimia

Senyawa metabolit sekunder alkaloid, steroid/triterpenoid, flavonoid, saponin, tanin, kuinon, dan kumarin dianalisis menggunakan metode dari Harborne (1998).

1. Identifikasi Alkaloid

Serbuk simplisia dan ekstrak air dilembabkan dengan ammonia 30%, kemudian ditambah 20 ml kloroform, campuran tersebut disaring dengan kertas saring, filtrat berupa larutan organik diambil kemudian ditambahkan masing-masing pereaksi *Dragendorff* dan *Mayer*, terbentuk endapan merah bata dengan pereaksi *Dragendorff* dan endapan putih dengan pereaksi *Mayer* menunjukkan adanya golongan alkaloid.

2. Analisis steroid dan triterpenoid
Serbuk simplisia dan ekstrak air dimaserasi dengan eter. Disaring dan diambil filtratnya, diuapkan dalam cawan penguap hingga diperoleh residu, kedalam residu ditambahkan pereaksi Lieberman-Burchard, terbentuknya warna hijau atau merah menunjukkan adanya senyawa golongan steroid dan triterpenoid.
3. Analisis flavonoid
Serbuk simplisia dan ekstrak air ditambahkan air panas, dididihkan, disaring dengan kertas saring, diperoleh filtrat yang digunakan sebagai larutan percobaan. Kemudian ditambahkan serbuk magnesium secukupnya dan ditambah asam klorida pekat dan amil alkohol, dikocok kuat dan dibiarkan memisah. Terbentuk warna merah pada lapisan amil alkohol menunjukkan adanya senyawa flavonoid.
4. Analisis saponin
Larutan percobaan yang diperoleh dari percobaan 3, dimasukkan kedalam masing-masing tabung reaksi dan dikocok secara vertikal selama 10 detik, kemudian dibiarkan selama 10 menit. Terbentuk busa yang stabil dalam tabung reaksi menunjukkan adanya senyawa golongan saponin, yang bila ditambahkan 1 tetes asam klorida 1% (encer) busa tetap stabil.
5. Analisis tanin
Serbuk simplisia dan ekstrak air dididihkan, didinginkan dan disaring dengan kertas saring sehingga didapat filtrat. Kedalam filtrat ditambahkan larutan Ferri (III) klorida 1%. Terbentuk warna biru tua atau hijau kehitaman menunjukkan adanya senyawa golongan tanin.
6. Analisis kuinon
Larutan percobaan yang diperoleh dari percobaan 3, dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan beberapa tetes larutan NaOH 1N, terbentuk warna merah menunjukkan adanya senyawa golongan kuinon.
7. Analisis kumarin
Serbuk simplisia dan ekstrak air dimasukkan kedalam masing-masing tabung reaksi, ditambahkan kloroform

dipanaskan diatas penangas air dan didinginkan, disaring dengan kertas saring, filtrat diuapkan dengan cawan penguap sampai kering, sisa ditambahkan air panas dan didinginkan kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi, tambahkan larutan ammonia 10%, diamati dibawah sinar ultra violet pada panjang gelombang 365 nm. Terjadi fluoresensi hijau atau biru menunjukkan adanya golongan kumarin.

8. Analisis Minyak Atsiri
Serbuk simplisia dilarutkan dalam metanol dan ekstrak air, masing-masing diteteskan pada kertas saring lalu didiamkan. Pengamatan dilakukan terhadap ada atau tidaknya noda yang transparan pada kertas saring. Hasil positif minyak atsiri ditunjukkan dengan tidak adanya noda yang transparan pada kertas saring (Gunawan dan Mulyani, 2004).

Uji Bioaktivitas Larva Udang *Artemia salina* Leach

1. Penetasan telur udang
Larva udang disiapkan dengan cara menetasakan telur *Artemia salina* Leach dua hari sebelum pengujian.
2. Persiapan sampel ekstrak air
Larutan ekstrak air kulit kayu massoi ditimbang sebanyak 100 mg dan dilarutkan dengan 50 ml air laut untuk dijadikan sebagai larutan induk dengan konsentrasi 2000 ppm, kemudian dari larutan induk 2000 ppm tersebut dibuat lagi larutan induk dengan konsentrasi 1000 ppm dalam 20 ml air laut. Selanjutnya dibuat variasi konsentrasi dari larutan induk tersebut masing-masing sebesar 100 ppm dan 10 ppm.
3. Uji bioassay BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)
Sebanyak 10 ekor larva udang *Artemia salina* Leach dimasukkan untuk tiap-tiap perlakuan ke dalam botol vial yang telah berisi air laut salinitas 12% dan larutan uji. Setelah 24 jam, dilakukan pengamatan dengan menghitung jumlah larva udang yang mati. Data yang diperoleh, dihitung LC50 nya dengan analisis probit. Nilai

LC50 < 1000 ppm menunjukkan adanya senyawa yang memiliki bioaktivitas yang aktif (Meyer, 1982).

Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode Peredaman Radikal Bebas

Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode perendaman terhadap radikal bebas 1,1 difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) dengan vitamin C sebagai kontrol positif.

1. Pembuatan larutan 1 mM DPPH
Lebih kurang 19,716 mg DPPH (BM = 394,32) ditimbang seksama, kemudian dilarutkan dalam 50,0 ml metanol proanalisis.
2. Pembuatan larutan blangko
Sejumlah 1 ml larutan DPPH 1 mM dipipet ke dalam labu ukur 5 ml, dilarutkan dalam metanol proanalisis hingga tanda, kocok homogen.
3. Pembuatan larutan uji
Lebih kurang 10 mg ekstrak air kulit kayu massoi ditimbang seksama, lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml, dilarutkan dalam metanol hingga tanda (larutan induk 1000 µg/ml). Dibuat berbagai konsentrasi yaitu 5, 10, 25, 50, 100 µg/ml dalam masing-masing tabung reaksi dan ditambahkan 1,0 ml larutan DPPH 1 mM dan dilarutkan dalam metanol p.a hingga tanda.
4. Lebih kurang 10 mg vitamin C ditimbang seksama, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml, dilarutkan dalam metanol proanalisis hingga tanda (larutan induk 1000 µg/ml). Dibuat berbagai konsentrasi yaitu 3, 6, 9, 12, 15 µg/ml dalam masing-masing tabung reaksi dan ditambahkan 1,0 ml larutan DPPH 1 mM dan dilarutkan dalam metanol p.a hingga tanda.
5. Uji aktivitas antioksidan
Didalam setiap tabung larutan uji dan kontrol positif ditambahkan 1,0 ml larutan DPPH 1 mmol, kemudian ditambahkan metanol proanalisis hingga 5 ml dan dihomogenkan. Larutan blangko, larutan uji dan larutan kontrol positif segera diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C, kemudian ke-3 larutan diukur

serapannya pada panjang gelombang serapan maksimum 515 nm.

Persen inhibisi atau hambatan dihitung dengan rumus berikut:

$$\text{Hambatan (inhibisi)} = \frac{\text{SerapanBlangko} - \text{SerapanSampel}}{\text{SerapanBlangko}} \times 100\%$$

Dihitung nilai IC50 dengan memasukkan nilai dari konsentrasi larutan uji sebagai sumbu x dan persen hambatan terhadap DPPH sebagai sumbu y kedalam persamaan garis regresi.

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi agar dengan kertas cakram. Mikroba uji yang digunakan adalah *Staphlococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Sebagai kontrol positif digunakan antibiotik kloramfenikol. Sedangkan sebagai kontrol negatif digunakan air.

1. Sterilisasi alat dan bahan
Alat dan bahan yang digunakan dalam percobaan disterilkan menurut cara yang sesuai.
2. Pembuatan media
 - a. Media NA (*Nutrient Agar*)
Bahan sebanyak 23 g dilarutkan dalam 1 liter air suling lalu dipanaskan sambil diaduk selama 1 menit hingga larut sempurna, kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Pembuatan agar miring dilakukan dengan cara menuangkan 5 ml media yang masih cair ke dalam tabung reaksi steril secara aseptis, tabung di letakkan pada posisi miring dengan sudut kemiringan ± 150 (*Nutrien agar* miring untuk stok kultur) dan dituangkan ke dalam cawan petri sebanyak 15 ml lalu dibiarkan sampai padat (*Nutrien agar* plat untuk pengujian).
 - b. Media NB (*Nutrien Broth*)
Bahan sebanyak 8 g dilarutkan dalam 1 liter air suling lalu dipanaskan sambil diaduk selama 1 menit hingga larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.
3. Pengujian

- a. Kurang lebih 15 mg ekstrak kental air ditimbang, lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml, dilarutkan dalam aquadest steril hingga tanda (Larutan induk 1500 ppm). dibuat berbagai konsentrasi sampel 500, 1000 ppm.
- b. Kloramfenikol (antibakteri) sebagai kontrol positif dibuat 3 konsentrasi, yaitu 500 ppm, 1000 ppm dan 1500 ppm
- c. *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* diremajakan dalam media *Nutrient Agar* (NA) dan diinkubasi selama 1 hari pada suhu 25°C.
- d. *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* masing-masing diinokulasikan dalam media *Nutrient Broth* (NB) dan diinkubasi selama 1 hari pada suhu 25°C.
- e. Setelah bakteri uji tumbuh, kemudian diambil 1 ml untuk ditanamkan ke dalam 300 ml media NA yang masih dalam keadaan cair, dikocok homogen, kemudian dipindahkan sebanyak 15-20 ml ke dalam setiap cawan petri dan didiamkan hingga memadat.
- f. Kertas cakram dicelupkan kedalam kontrol negatif dan kontrol positif serta kedalam ekstrak air yang masing-masing terdiri dari 3 konsentrasi (500, 1000, 1500 ppm)
- g. Kertas cakram diletakkan diatas media inokulum.
- h. Pengamatan dilakukan selama 2 hari dengan menghitung diameter daerah hambat (mm).

Analisis Kromatografi

1. Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT)
Ditolkan ekstrak yang berpotensi di atas plat tersebut dengan menggunakan pipa kapiler 3-5 kali, lalu dikeringkan. Dimasukkan ke dalam bejana dengan eluen tertentu. Eluen yang digunakan adalah kombinasi (kloroform : metanol, kloroform : metanol : air) dengan perbandingan tertentu. Setelah itu plat dikeringkan dan diamati di bawah sinar UV 254 nm dan 366 nm dan ditandai, kemudian plat disemprot dengan penampak bercak serium sulfat dan dipanaskan diatas *hot plate*. Eluen yang

menghasilkan pemisahan terbaik, digunakan untuk eluen pada kromatografi kolom.

2. Pemisahan ekstrak
Pemisahan ekstrak air kulit kayu Massoi difraksinasi dengan kromatografi kolom. Dilakukan dengan cara ekstrak air lebih kurang 2 g dicampurkan dengan celite, kemudian dimasukkan ke dalam kolom kaca yang telah berisi silika gel. Cairan eluasi digunakan 2 campuran yaitu kloroform : metanol dan kloroform : metanol : air. Cairan ini ditambahkan hingga dibiarkan mengalir melalui kolom. Setelah itu digabungkan menjadi satu sehingga diperoleh fraksi yang lebih sederhana dan dianalisis dengan KLT dengan eluen yang sesuai. Noda pada KLT divisualisasi dengan lampu UV 254 nm dan 366 nm, serta disemprot dengan pereaksi warna serium sulfat.

3. Analisis fraksi dengan KCKT

Bahan hasil pemisahan kromatografi kolom dilarutkan dengan eluen metanol : air (1:1). Eluen gas N₂ terlebih dahulu. Fase gerak dipompa dengan kecepatan dan tekanan tetap sehingga antara fase gerak dan kolom keadaanya seimbang. Pada fraksi air, kolom yang digunakan C₁₈ (Lichorcart[®]250-4 HPLC-cartridge, Cat.1.50983 Lichrospher[®] 100 RP-18 (5µM) Lot.L.448017). Masing-masing sampel melalui *syringe* diinjeksikan sebanyak 10µl ke dalam kolom dan terjadi pemanasan, biasanya pada temperatur kamar. Kromatografi dilakukan dengan kecepatan eluen 1 ml/menit dan pemantauan dilakukan pada panjang gelombang 230 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen Ekstrak

Rendemen hasil ekstraksi cair-cair (partisi) kulit kayu Massoi sebesar 4,11%.

Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia terhadap ekstrak air dan juga serbuk simplisia dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam kulit kayu Massoi sebagai

parameter mutu ekstrak. Hasil uji fitokimia untuk ekstrak air dan serbuk simplisia dapat dilihat pada Tabel 1.

Hasil toksisitas yang tinggi ditunjukkan dengan nilai konsentrasi yang menyebabkan kematian 50 % larva udang, semakin kecil nilai LC_{50} yang dimiliki ekstrak tanaman maka akan semakin toksik, tingkat toksisitas suatu ekstrak yang telah dikategorikan oleh Meyer, *et al.* (1982), yaitu: $LC_{50} \geq 30$ ppm sangat toksik, $31 \text{ ppm} < LC_{50} < 1000$ ppm toksik dan $LC_{50} > 1000$ ppm tidak toksik..

Nilai LC_{50} dari ekstrak kulit kayu Massoi adalah sebesar 493,00217 ppm dengan nilai LC_{50} yang kecil ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak air kulit kayu Massoi masuk kedalam kategori toksik dan berpotensi sebagai senyawa sitotoksik.

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Air dan Serbuk Simplisia Kulit Kayu Massoi

No	Uji Fitokimia	Serbuk simplisia	Ekstrak air
1	Alkaloid	-	-
2	Steroid/	++	++
3	Triterpenoid	-	-
4	Flavonoid	++	+++
5	Saponin	++	+
6	Taninn	-	++
7	Kuinon	-	-
8	Kumarin	+	+
9	Minyak atsiri	++	+

Berdasarkan uji fitokimia ekstrak air kulit Massoi berpotensi mengandung senyawa bioaktif antikanker yakni senyawa flavonoid dan steroid.

Tabel 2. Hasil Uji Toksisitas Ekstrak Air Kulit Kayu Massoi

No	Ekstrak	Kadar larutan uji	Rata-rata % kematian	LC_{50} ppm
1.		Larutan A (1000 ppm)	866,67 %	
2.	Ekstrak air	Larutan B (100 ppm)	300 %	493,00 ppm
		Larutan C (10 ppm)	133,33 %	
3.		Pembanding (air laut)	33,33 %	

Uji Aktivitas Antioksidan

Pada penetapan kurva larutan vitamin C sebagai kontrol positif didapatkan persamaan $y = 6,6263x - 1,5634$ dari persamaan tersebut diperoleh harga $IC_{50} = 7,78 \mu\text{g/ml}$. Sedangkan Nilai IC_{50} ekstrak air kulit kayu Massoi sebesar $14,06 \mu\text{g/ml}$, sehingga dapat dinyatakan bahwa ekstrak air kulit kayu Massoi memiliki nilai IC_{50} yang mampu menghambat radikal bebas DPPH sebagai senyawa yang mampu menghambat aktivitas antioksidan yakni senyawa flavonoid dan kumarin.

Uji Aktivitas Antibakteri

Diameter daerah hambat pada *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* pada Tabel 5.

Ekstrak air kulit kayu Massoi diuji aktivitas antioksidannya untuk menentukan

nilai IC_{50} (*Inhibitor Concentration*) menggunakan DPPH sebagai pereaksi kimia dan vitamin C sebagai kontrol positif. Tabel 5. menunjukkan bahwa ekstrak air tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan juga dengan baik. Berdasarkan uji fitokimia ekstrak air kulit kayu Massoi yang berpotensi terhadap *Escherichia coli* dengan konsentrasi 500 ppm, 1000 ppm dan 1500 ppm. Menurut Siswandono dan Soekarjo (1995) menyatakan bahwa senyawa yang mampu menghambat antibakteri adalah saponin, tannin, flavonoid dan juga triterpenoid, akan tetapi hasil uji fitokimia dari ekstrak air kulit kayu Massoi positif mengandung senyawa saponin, tannin dan flavonoid. Sedangkan hasil uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan juga *Escherichia coli* memiliki hasil yang sama yaitu negatif,

sehingga untuk menghasilkan uji aktivitas antibakteri yang positif perlu dilakukan pemurnian senyawa untuk mengetahui senyawa yang dapat berperan sebagai penghambat antibakteri dalam ekstrak air kulit kayu Massoi.

Tabel 3. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan DPPH pada Vitamin C

Konsentrasi (µg/ml)	Serapan blangko	Serapan sampel	Hambatan (%)	IC ₅₀ (µg/ml)
0	2,3377	2,3377	0	14,06
5		1,2553	46,3019	
10		1,0521	54,9942	
25		0,3165	86,4610	
50		0,1625	93,0487	
100		0,1392	94,0454	

Tabel 4. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan dengan DPPH pada Ekstrak Air Kulit Kayu Massoi

Konsentrasi (µg/ml)	Serapan blangko	Serapan sampel	Hambatan (%)	IC ₅₀ (µg/ml)
0	2,3377	2,3377	0	7,7816
3		1,9215	17,8038	
6		1,5135	35,2569	
9		0,9770	58,2068	
12		0,4506	80,7246	
15		0,0746	96,8088	

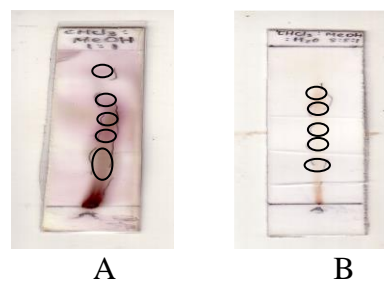
Tabel 5. Diameter Daerah Hambat pada *Staphylococcus aureus* dan *E.coli*.

Mikroba uji	Larutan uji	Diameter Daerah Hambat		
		500 ppm	1000 ppm	1500 ppm
<i>Staphylococcus aureus</i>	Kloramfenikol	14 mm	19 mm	24 mm
	Ekstrak air	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	Kloramfenikol	16 mm	18 mm	20 mm
	Ekstrak air	-	-	-

Keterangan : - = Tidak mempunyai daya hambat
Diameter kertas cakram = 6 mm

Analisis Kromatografi

Ekstrak air kulit kayu Massoi (*Cryptocarpa massoy*) di KLT dengan eluen kloroform-metanol (1:1) dan kloroform-metanol-air (5:5:1). Pada eluen kloroform-metanol (1:1) memberikan pola pemisahan yang jelas dengan jarak bercak satu sama lain cukup terpisah (gambar A). Sedangkan dengan eluen kloroform-metanol-air (5:5:1) memiliki pola pemisahan yang kurang baik jika dibandingkan dengan eluen kloroform-metanol (1:1) dikarenakan jarak bercak satu dengan yang lainnya masih menumpuk di satu tempat dan menghasilkan 5 pola bercak (gambar B). Hasil kromatogram KLT dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil Kromatogram KLT

Keterangan:

Fase diam : silika gel GF₂₅₄

Fase gerak :

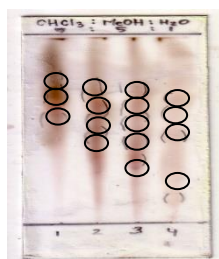
A: kloroform:metanol (1:1)

B: kloroform-metanol-air (5:5:1)

Kromatografi Kolom

Hasil fraksinasi dari ekstrak air diperoleh 7 fraksi dengan volume masing-masing 25

ml, masing-masing fraksi dianalisis dengan KLT, fraksi-fraksi dengan polabercak yang sama atau memiliki Rf yang sama digabungkan. Setelah digabungkan maka diperoleh empat fraksi yang lebih sederhana. Profil kromatografi KLT dari keempat fraksi dengan menggunakan eluen kloroform-metanol air (5:5:1) dapat dilihat pada gambar berikut:



Gambar 2. Hasil Fraksinasi Ekstrak Air Kulit Kayu Massoi Menggunakan Kromatografi Kolom

Keterangan :

No.1=Fraksi F1, vial 1;

No.2=Fraksi F2, vial 2;

No.3=Fraksi F3, vial 3;

No.4=Fraksi F4, vial 4-7

Analisis KCKT

Pola kromatogram KCKT pada ke-empat fraksi memiliki bentuk yang hampir sama hal ini dapat dilihat pada pola kromatogram KLT yang pola ke-empat fraksinya sama. Hasil analisis KCKT dari ke-empat fraksi menunjukkan bahwa rata-rata pemunculan akhir senyawa terdapat pada waktu retensi yang sama yaitu pada menit ke 10, dikarenakan bentuk *peak* yang muncul dari ke-empat fraksi mempunyai bentuk yang sama (Gambar 1, 2, 3 dan 4). Dari hasil analisis KCKT masih banyak senyawa yang menumpuk dalam satu *peak* hal ini dapat disebabkan sistem serta kondisi yang digunakan dalam percobaan tidak cocok sehingga senyawa kimia tidak terpisah sempurna dengan eluen metanol-air (1:1) melainkan dengan perbandingan campuran eluen yang lebih bersifat non polar ataupun dengan campuran pelarut-pelarut yang lainnya.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

1. Ekstrak air kulit kayu Massoi (*Cryptocarpa massoi*) mengandung senyawa steroid, flavonoid, saponin, tanin dan kumarin.
2. Senyawa pada ekstrak air kulit kayu Massoi termasuk kedalam senyawa toksik dengan LC₅₀ 493,00217 ppm.
3. Ekstrak air kulit kayu Massoi memiliki nilai IC₅₀ yang mampu menghambat radikal bebas DPPH dengan baik yaitu sebesar 14,075 µg/ml.
4. Ekstrak air kulit kayu Massoi tidak mempunyai daya aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan juga *Escherichia coli*.
5. Hasil uji KLT dan KCKT Ekstrak air memberikan pola kromatogram yang hampir sama pada keempat fraksinya yaitu pemunculan akhir senyawa pada waktu retensi menit ke 10 dengan bentuk *peak* dari keempat fraksi yang hampir sama.

Saran

1. Perlu dilakukan isolasi dan elusidasi senyawa yang berkhasiat sebagai antioksidan dan juga antibakteri serta senyawa sitotoksiknya dari ekstrak air kulit kayu Massoi untuk mengetahui struktur kimianya.
2. Perlu dilakukan pengujian toksisitas serta aktivitas antioksidan dan antibakteri dari hasil kromatografi kolom.

DAFTAR PUSTAKA

- Gunawan, D., dan S. Mulyani. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi) Jilid I*. Jakarta: Penerbit Penebar Swadaya.
- Harborne, J.B. 1998. *Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis*. Chapman and Hall, London. 40-137.
- Kunarto, B. 2006. *Evaluasi Sifat Antioksidatif Mikrokapsul Minyak Atsiri Kulit Kayu Manis (Cinnamomum burmanii) yang diaplikasikan pada Cookies*. *Jurnal Pertanian dan Kimia Makanan*. Jakarta.14(2). 85-94.

- Lemmens, R. H. M. J., I, Soerianegara. & W, Wong. 1995. *Plant Resources of South-East Asia No 5(2)*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Biologi- LIPI. Bogor. 158-159.
- Meyer, B.N. N.R. Ferrigni, J.E. Putnam , L.B. Jacobson , D.E. Nichols & J.L. Mc Laughin JL. 1982. *Brine Shrimp: A Covenant Gerieral Bioassay for Active Plant Constituent. Planta Medica. Medicinal Plant Research.* 45. 31-34.
- Siswandono dan Soekardjo, B. 1995. *Kimia Medisinal*. Airlangga Press, Surabaya.
- Tangguni N., P, Lalenoh., Y. H. Hematang, A. YJS. Arobaya. *Eksplorasi Beberapa Jenis Massoi Cryptocaryaspp. Pada Areal HPH PT Dharma Mukti Pemsada di Kecamatan Wasior Kabupaten Manokwari.* 2007. [6 Tayangan]. Diambil dari: [http://papuaweb:Beccarina](http://papuaweb.beccarina.com). Diakses 19 Januari, 2009.
- Triamtoro, R.G.N., Cisilia, M.E.S. 2007. Kandungan Bahan Aktif Kayu Kulilawang (*Cinnamomum culilawan*) dan Masoi (*Cryptocarya massoia*). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kayu Tropis.* 5(2)