

Potensi Antioksidan, Antibakteri, Sitotoksik, dan Antikanker dari Rumput Belulang (*Eleusine indica*)

Vanda Selvana Kamu^{1*}, Max Revolva John Runtuwene², Jetlee Merentek³,
Harry Steven Julius Koleangan⁴, Maureen Kumaunang⁵

^{1,2,3,4,5}Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi, Jalan Kampus Kleak, Manado 95115, Indonesia

^{*}Corresponding author:

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian untuk menentukan aktivitas antioksidan, antibakteri, sitotoksik, dan antikanker dari tanaman rumput belulang (*Eleusine indica*). Aktivitas antioksidan ditentukan dengan menggunakan metode aktivitas penangkap radikal bebas 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Aktivitas antibakteri ditentukan menggunakan metode difusi cakram, sitotoksitas ditentukan menggunakan Brine Shrimp Lethality Test (BSLT), dan aktivitas antikanker dievaluasi menggunakan uji MTS. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi pelarut Rumput belulang memiliki nilai rata-rata tertinggi untuk fraksi n-heksana (FNH) sebesar 35,0%, fraksi etil asetat (FEA) sebesar 56,4%, fraksi air (FA) sebesar 30,3%, dan ekstrak metanol (EM) sebesar 32,5%. Di antara semuanya, nilai tertinggi diperoleh pada FEA, sedangkan terendah diperoleh pada FA. Berdasarkan uji sitotoksitas dengan metode BSLT, fraksi etil asetat memiliki nilai LC50 sebesar 7,384 ppm, sehingga tergolong sangat toksik. Namun, pada pengujian sitotoksitas dengan sel HeLa, nilai IC50 fraksi etil asetat sebesar 223,70 ppm, yang menunjukkan bahwa fraksi etil asetat kurang aktif terhadap sel kanker serviks HeLa.

Kata kunci: *Eleusine indica*; rumput belulang; sitotoksik; sel HeLa

Antioxidant, Antibacterial, Cytotoxic, and Anticancer Potential of Belulang Grass (*Eleusine indica*)

ABSTRACT

A study was conducted to determine the antioxidant, antibacterial, cytotoxic, and anticancer activities of the belulang grass plant (*Eleusine indica*). Antioxidant activity was assessed using the 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging activity method. Antibacterial activity was determined using the disk diffusion method, cytotoxicity was determined using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT), and anticancer activity was evaluated using the MTS assay. The results showed that the antioxidant activity of the extracts and solvent fractions of *Eleusine indica* had the highest average value for the n-hexane fraction (FNH) at 35.0%, ethyl acetate fraction (FEA) at 56.4%, aqueous fraction (FA) at 30.3%, and methanol extract (EM) at 32.5%. Among these, the highest value was obtained in FEA, while the lowest was obtained in FA. Based on the cytotoxicity test with the BSLT method, the ethyl acetate fraction had an LC50 value of 7.384 ppm, categorizing it as highly toxic. However, in cytotoxicity testing with HeLa cells, the IC50 value for the ethyl acetate fraction was 223.70 ppm, indicating that the ethyl acetate fraction was less active against HeLa cervical cancer cells.

Keywords: *Eleusine indica*; belulang grass; cytotoxic; HeLa cells

(Article History: Received 01-10-2024; Accepted 15-02-2025; Published 15-02-2025)

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara tropis dengan keanekaragaman sumber daya alam nabati yang sangat luas. Keanekaragaman tumbuhan ini menawarkan potensi tanaman obat yang melimpah. Sekitar 35.000 jenis tanaman obat terdapat di Indonesia, namun baru sekitar 1.000 spesies yang telah terdokumentasikan, dan sekitar 300 spesies digunakan oleh masyarakat sebagai obat tradisional (Elfahmi *et al.*, 2014).

Metabolit sekunder merupakan komponen bioaktif utama yang terdapat pada tanaman obat. Metabolit sekunder, seperti flavonoid, alkaloid, steroid, saponin, terpenoid, dan lain-lain, memiliki sifat antioksidan alami. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat mereduksi radikal bebas reaktif dengan cara mendonorkan elektron, sehingga terbentuk radikal bebas stabil yang dapat menghambat reaksi oksidasi (Suryanto, 2018). Hal ini menjadikan antioksidan efektif dalam mencegah penyakit yang berhubungan dengan radikal bebas (Birben *et al.*, 2012).

Rumput belulang (*Eleusine indica*) merupakan tanaman yang banyak tumbuh di daratan Indonesia dari daerah pantai sampai daerah pegunungan. Habitatnya adalah seluruh daratan yang kosong baik di rawa, gunung, maupun di halaman rumah (Hambali *et al.*, 2015). Rumput belulang memiliki kandungan kimia, meskipun dianggap sebagai gulma oleh para petani (Setiani *et al.*, 2019), namun di sisi lain rumput belulang dimanfaatkan sebagai obat tradisional oleh masyarakat. Menurut informasi dari masyarakat yang ada di Desa Picuan Kecamatan Motoling Timur rumput belulang ini digunakan sebagai obat tradisional obat kanker, ginjal dan lain-lain.

Penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh (Pradana & Batubara, 2015) di mana dalam tanaman rumput belulang telah dilakukan uji aktivitas antibakteri menunjukkan tidak adanya zona hambat pada ekstrak infusa rumput belulang dan daun mengkudu. Namun identifikasi senyawa bioaktif terhadap ekstrak infusa rumput belulang dan daun mengkudu menunjukkan hasil positif adanya kandungan antrakuinon dengan menunjukkan warna kuning. Sehingga peneliti tertarik untuk menguji kandungan fitokimia dan antioksidan dari ekstrak dan fraksi pelarut rumput belulang.

Penelitian ini dilakukan sebagai upaya untuk meningkatkan manfaat tumbuhan obat Minahasa Selatan yang perlu dikembangkan menjadi sediaan fitomarmaka. Peningkatan manfaat tanaman obat tradisional perlu dilakukan melalui pengkajian ilmiah tentang aspek-aspek ilmiah baik aktivitas biologisnya, senyawa aktifnya dan keamanan ramuan obat tradisional yang dihasilkan. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas antioksidan, antibakteri, sitotoksik, dan antikanker ekstrak metanol rumput belulang.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Lanjut FMIPA Universitas Sam Ratulangi dan Laboratorium Terpadu Universitas Padjadjaran, selama bulan April – September 2024.

Bahan Penelitian

Rumput belulang (*E. indica*) diperoleh dari masyarakat Desa Picuan, Kecamatan Motoling Timur, Kabupaten Minahasa, Provinsi Sulawesi Utara. Bahan kimia yang digunakan berkualitas pro analis.

Prosedur Kerja

Preparasi sampel

Sampel dicuci bersih dengan air mengalir kemudian dikeringanginkan selama 2 minggu. Sampel kering dihaluskan dengan menggunakan blender lalu diayak dengan ayakan 60 mesh sehingga diperoleh serbuk rumput belulang sebanyak 500 g.

Ekstraksi

Pelarut metanol sebanyak 2,5 L digunakan dalam mengekstraksi 500 g rumput belulang. Ekstraksi dilakukan selama 3 x 24 jam dengan pergantian pelarut sehari sekali sehingga total pelarut metanol yang digunakan adalah 4,5 L. Selanjutnya filtrat yang diperoleh dievaporasi. Ekstrak pekat dikeringkan dalam oven pada temperatur 40°C. Sampel ekstrak pekat disimpan untuk perlakuan selanjutnya.

Fraksinasi

Ekstrak pekat sebanyak 2 g dilarutkan dengan 100 mL akuades. Larutan selanjutnya difraksinasi berturut-turut dengan menambahkan n-heksana dan etil asetat secara bergantian. Hasil fraksinasi diuapkan menggunakan rotary evaporator sehingga diperoleh fraksi n-heksana (FNH), etil asetat (FEA), dan air (FA).

Skrining Fitokimia

Pembuatan larutan uji untuk skrining fitokimia dilakukan dengan melarutkan masing-masing sampel ekstrak dan fraksi sebanyak 0,051 g ke dalam Erlenmeyer berisikan 17 mL akuades. Skrining dilakukan untuk menguji secara kualitatif kandungan alkaloid, steroid, terpenoid, flavonoid, saponin, dan tanin.

Penentuan Aktivitas Penangkal Radikal Bebas

Penentuan aktivitas penangkal radikal bebas menggunakan metode DPPH Burda dan Oleszeck (Togolo, Suryanto, and Sangi 2013) dengan alat spektrofotometer UV-Vis. Panjang gelombang uji yang digunakan, adalah 517 nm. Aktivitas penangkal radikal bebas (APRB) dihitung sebagai persentase berkurangnya warna DPPH dengan menggunakan persamaan:

$$\text{APRB (\%)} = 1 - \frac{\text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Penentuan Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode Kirby-Bauer, yaitu metode difusi cakram. Media pertumbuhan yang digunakan adalah media kaya nutrisi (*Nutrient Agar, NA*). Larutan uji dibuat dengan variasi konsentrasi 20%, 40%, 60%, dan 80% b/v dari ekstrak. Sebagai kontrol positif digunakan ciprofloxacin dan kontrol negatif adalah akuades. Bakteri uji yang digunakan, adalah *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Aktivitas antibakteri ditentukan berdasarkan diameter zona hambat yang terbentuk, dengan penggolongan sebagai berikut: < 5 mm lemah, 5-10 mm sedang, 11-20 mm kuat, >20 mm sangat kuat.

Uji Sitotoksik

Uji sitotoksik ekstrak dan fraksi pelarut rumput belulang dilakukan dengan menggunakan uji *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)* (Meyer et al. 1982). Larutan uji ekstrak dan fraksi rumput belulang memiliki konsentrasi 1, 10, 50, 100, dan 1000 ppm. Pengujian dilakukan dengan memasukan 10 ekor udang *A. salina* yang berumur 48 jam di dalam gelas kimia berisi 25 mL larutan ekstrak pada masing-masing konsentrasi. Pengamatan dilakukan pada selang waktu 24 jam. Perhitungan kematian udang *A. salina* menggunakan rumus berikut:

$$\text{(\%)}Mortalitas = \frac{\text{jumlah larva yang mati}}{\text{jumlah larva uji}} \times 100\%$$

Apabila pada kontrol ada udang yang mati, maka persentase kematian udang *A. salina* ditentukan dengan rumus Abbot's, sebagai berikut:

$$(\%)Mortalitas = \frac{\%kematian \text{ pada uji} - \%kematian \text{ pada kontrol}}{100 - \%kematian \text{ pada kontrol}} \times 100\%$$

Uji Sel Kanker

Pengujian aktivitas antikanker dilakukan dengan menggunakan sel Hela (kanker serviks). Kultur sel yang digunakan dimasukkan ke dalam 96-well plate kemudian diinkubasi (pada suhu 37°C dan 5% gas CO₂ hingga persentase pertumbuhan sel mencapai 70%). Selanjutnya, sel diberi perlakuan seperti sampel lalu diinkubasi (selama 48 jam pada suhu 37°C dan 5% gas CO₂). Kemudian, reagen kerja presto blue ditambahkan ke dalam masing-masing sumur. Absorbansi dibaca menggunakan Multimode Reader.

Analisis Data

Pengolahan data hasil penelitian dilakukan dengan menggunakan *software* SPSS ver.22.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendamen Hasil Fraksinasi Ekstrak Metanol Rumput Belulang

Metanol dipilih sebagai pelarut pertama dalam penelitian ini. Ekstrak metanol rumput belulang masih mengandung beragam senyawa metabolit sekunder sehingga perlu fraksinasi. Fraksinasi dilakukan menggunakan 3 pelarut dengan kepolaran yang berbeda, yaitu n-heksana (non-polar), etil asetat (semi-polar) dan akuades (polar). Rendamen hasil fraksinasi disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Fraksinasi dari Ekstrak Metanol Rumput Belulang

Sampel	Rendemen (%)
FNH	22,16
FEA	10,48
FA	2,60

Keterangan: FNH (Serbuk rumput belulang yang dipartisi dengan n-heksana), FEA (Serbuk rumput belulang yang dipartisi dengan etil asetat), dan FA (Serbuk rumput belulang yang dipartisi dengan air)

Tabel 1 memperlihatkan bahwa fraksi n-heksana memiliki rendemen tertinggi (22,16%), diikuti oleh fraksi etil asetat (10,48%), dan fraksi air (2,60%). Ini menunjukkan bahwa kandungan senyawa non polar dari rumput belulang lebih banyak ditarik dibandingkan dengan senyawa semi polar dan senyawa polar. Fraksinasi dilakukan menggunakan pelarut yang berbeda berdasarkan tingkat polaritasnya yang akan mempengaruhi jenis senyawa yang terekstrak. Hal ini bertujuan agar senyawa metabolit sekunder yang terekstraksi dalam metanol bisa lebih spesifik sesuai polaritasnya (Prior *et al.*, 2005).

Hasil Skrining Fitokimia Rumput Belulang

Berdasarkan dari uji skrining fitokimia yang dilakukan pada rumput belulang fraksi n-heksana positif mengandung alkaloid, saponin dan tanin, namun negatif pada steroid, terpenoid, dan flavanoid. Pada fraksi etil asetat positif mengandung alkaloid dan flavanoid serta negatif untuk steroid, terpenoid, saponin, dan tanin. Pada fraksi air positif mengandung alkaloid dan flavanoid namun negatif untuk steroid terpenoid, saponin dan tanin. Pada ekstrak metanol positif mengandung alkaloid dan flavanoid sedangkan steroid terpenoid, saponin dan tanin negatif. Pengujian ini lebih ke arah ada tidaknya senyawa sekunder yang terkandung atau biasa disebut uji kualitatif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi pelarut dan ekstrak metanol rumput belulang positif mengandung beberapa golongan senyawa bioaktif seperti ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Kandungan Fitokimia pada Ekstrak dan Fraksi Rumput Belulang

Uji skrining fitokimia	FNH	FEA	FA	EM
1. Alkaloid				
a. Mayer	+	+	+	+
b. Warner	+	+	-	-
c. Dragendrof	+	+	+	+
2. Steroid/Terpenoid	-	-	-	-
3. Flavonoid	-	+	+	-
4. Saponin	+	-	-	-
5. Tanin	-	-	-	-

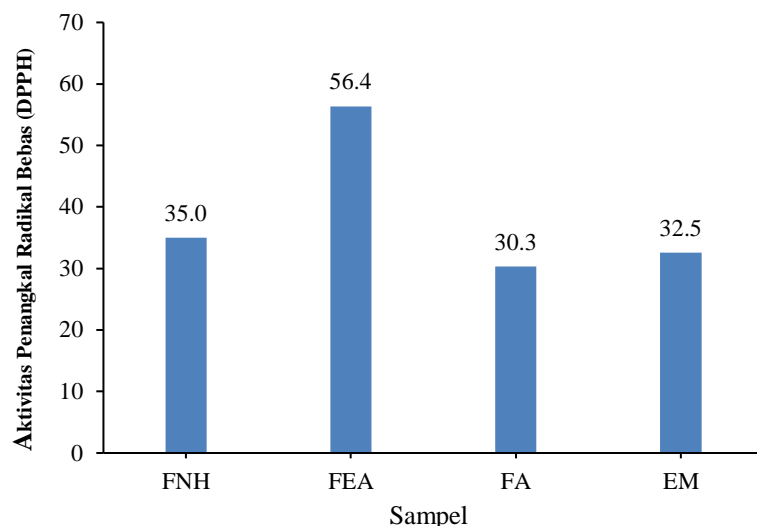
Keterangan: FNH (Fraksi n-heksana); FEA (Fraksi etil asetat); FA (Fraksi air); EM (Ekstrak metanol); + (positif mengandung senyawa metabolit sekunder); - (tidak mengandung senyawa metabolit sekunder)

Berdasarkan data hasil uji senyawa fitokimia pada Tabel 2 dapat dilihat bahwa ekstrak dan fraksi rumput belulang mengandung golongan senyawa bioaktif alkaloid, flavonoid dan saponin. Sedangkan steroid dan tanin tidak terdeteksi. Fraksi etil asetat dan fraksi air memiliki kandungan flavonoid. Secara umum flavonoid berperan sebagai pengatur tumbuhan, pengatur fotosintesis, anti mikroba, dan anti virus (Pietta, 2000). Senyawa flavonoid telah banyak diteliti dan terbukti memiliki khasiat pengobatan (Redha, 2010).

Fraksi n-heksana (FNH) menunjukkan positif adanya saponin. Saponin bersifat membentuk busa yang stabil pada larutan berair. Saat saponin dikocok menggunakan air maka akan membentuk misel karena senyawa yang memiliki gugus polar dan nonpolar bersifat aktif, di mana struktur polar akan menghadap ke luar sedangkan gugus non polar akan menghadap ke dalam (karakteristik bentuk misel). Saponin dapat mencegah terjadinya penyakit stroke dan serangan jantung sebagai akibat dari radikal bebas (Putri *et al.*, 2023).

Aktivitas Penangkal Radikal Bebas Menggunakan Metode (DPPH)

Uji yang dilakukan dalam pengujian aktivitas penangkal radikal bebas dari ekstrak dan fraksi rumput belulang menggunakan metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Metode DPPH banyak digunakan karena merupakan metode yang relatif mudah, sederhana, peka, dan memerlukan sampel dalam jumlah sedikit. Selain itu, proses pengerjaannya cukup sederhana. Pengujian ini dilakukan dengan mereaksikan ekstrak dan fraksi pelarut rumput belulang dengan larutan DPPH. DPPH digunakan untuk mengevaluasi kemampuan antioksidan dengan mengukur absorbansi warna ungu pada 515-517 nm. Jika radikal DPPH bereaksi dengan antioksidan maka akan menyebabkan perubahan warna dari ungu menjadi kuning dan turunnya absorbansi. Semakin rendah absorbansi yang diperoleh maka antioksidan tersebut dianggap sebagai antioksidan yang baik (Suryanto, 2018).



Gambar 1. Diagram Aktivitas Penangkal Radikal Bebas (DPPH) dari Fraksi Pelarut dengan Konsentrasi $1000 \mu\text{g/mL}$.

Keterangan: Fraksi n-heksana (FN-H), Fraksi Etil Asetat (FEA), Fraksi Air (FA), dan Ekstrak Metanol (EM).

Gambar 1 menunjukkan bahwa aktivitas penangkal radikal bebas tertinggi terdapat pada fraksi etil asetat (FEA) sebesar 56,4%, diikuti oleh fraksi n-heksana (FNH) sebesar 35,0%, ekstrak metanol (EM) sebesar 32,5%, dan terendah pada fraksi air (FA) sebesar 30,3%. Persentase aktivitas penangkal radikal bebas pada Gambar 1 menunjukkan bahwa FEA memiliki persentase tertinggi. Perhitungan % penghambatan menunjukkan bahwa etil asetat memiliki daya hambat tertinggi dibandingkan dengan ekstrak metanol, fraksi air, dan fraksi n-heksana. Hal ini karena sebagian besar senyawa dalam rumput belulang merupakan senyawa fenolik, polar yang larut dalam fraksi etil asetat.

Dapat disimpulkan bahwa senyawa dalam ekstrak metanol rumput belulang bersifat semipolar. Etil asetat dapat mendeteksi lebih banyak senyawa bioaktif. Dalam penelitian ini, etil asetat mendeteksi senyawa flavonoid bioaktif dalam ekstrak rumput belulang. Prinsip kelarutan yang digunakan di sini adalah "like dissolves like," yang berarti senyawa polar hanya dapat larut dalam pelarut polar, dan demikian pula, senyawa nonpolar akan larut dalam pelarut nonpolar (Khopkar, 1998).

Data aktivitas penangkal radikal bebas selaras dengan kandungan flavonoid dalam ekstrak metanol dan fraksi pelarut, yang menunjukkan hubungan yang kuat antara aktivitas penangkal radikal bebas dan kandungan flavonoid dalam rumput belulang. Metode untuk menguji aktivitas penangkal radikal bebas dan kandungan flavonoid cenderung menghasilkan hasil yang serupa dalam ekstrak tanaman. Kandungan flavonoid sangat berhubungan dengan kapasitas antioksidan suatu ekstrak (Corradini *et al.*, 2011). Hal ini menunjukkan bahwa senyawa flavonoid dalam rumput belulang berperan penting sebagai penangkap radikal bebas DPPH.

Efek antioksidan DPPH disebabkan oleh reaksinya dengan senyawa antioksidan dengan mengekstraksi atom hidrogen untuk memasang elektronnya. Pengujian aktivitas penangkap radikal bebas dilakukan dengan mereaksikan ekstrak dengan larutan DPPH. DPPH merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu kamar dan umumnya digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan berbagai senyawa atau ekstrak alami. Senyawa yang berperan sebagai penangkap radikal akan mereduksi DPPH, yang dapat diamati dari perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning karena elektron yang tidak berpasangan pada radikal DPPH berpasangan dengan hidrogen dari senyawa penangkap radikal bebas, sehingga membentuk DPPH-H tereduksi (Molyneux, 2004).

Uji Aktivitas Antibakteri Rumput Belulang

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan pada fraksi etil asetat (FEA), fraksi n-heksana (FNH), dan fraksi air (FA) terhadap bakteri Gram-positif *Staphylococcus aureus* dan Gram-negatif *Escherichia coli* menggunakan metode difusi cakram. Terbentuknya zona penghambatan menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan bakteri. Data hasil pengukuran diameter zona hambat bakteri uji karena adanya aktivitas ekstrak dan fraksi pelarut rumput belulang disajikan dalam Tabel 3.

Tabel 3. Hasil pengukuran diameter zona hambat pada bakteri *E. coli*

Konsentrasi	Rata – rata diameter zona hambat (mm)		
	FA	FEA	FNH
20%	6,30±0,00 ^a	5,98±0,11 ^a	5,60±0,35 ^a
40%	6,52±0,31 ^a	6,42±0,03 ^a	6,05±0,35 ^a
60%	8,22±0,88 ^a	7,38±0,10 ^a	6,67±0,31 ^a
80%	9,02±0,95 ^a	7,80±0,28 ^a	7,52±0,45 ^a
Kontrol +	26,87±0,17 ^b	27,20±0,07 ^b	26,15±0,21 ^b
Kontrol -	-	-	-

Keterangan:

- Fraksi Air (FA), Fraksi Etil Asetat (FEA), dan Fraksi N-Heksana (FNH)
- Perlakuan dengan superscript notasi (a, b, c, d, e) merupakan hasil dari uji Duncan dengan taraf kepercayaan 5%. Apabila notasi uji Duncan sama menunjukkan tidak beda nyata dan bila notasi tidak sama menunjukkan perbedaan nyata.

Hasil pada Tabel 3 menunjukkan aktivitas antibakteri yang bervariasi terhadap *E. coli* di seluruh perlakuan, tanpa perbedaan yang signifikan pada setiap konsentrasi fraksi. Zona penghambatan terbesar diamati pada ekstrak FA 80% dengan nilai 9,02±0,95 mm, diikuti oleh FEA dengan nilai 7,80±0,28 mm, dan FNH dengan nilai 7,52±0,45 mm. Zona penghambatan terkecil diamati pada ekstrak FNH 20% dengan nilai 5,60±0,35 mm.

Hasil pengujian Tabel 4 mengenai resistensi atau daya hambat dengan menggunakan metode difusi cakram terhadap bakteri *S. aureus* pada ekstrak FA, FEA, dan FNH menunjukkan hasil yang bervariasi pada setiap perlakuan. Diameter zona hambat terbesar diperoleh pada konsentrasi 80% ekstrak FA yaitu 9,32±0,24 mm diikuti oleh ekstrak FEA yaitu 8,17±0,03 mm dan ekstrak FNH yaitu 7,00±0,21 mm. Sedangkan, zona hambat terkecil diperoleh pada konsentrasi 20% ekstrak FNH yaitu 5,85±0,28 mm.

Seperti yang terlihat pada Tabel 4, efek antibakteri pada *S. aureus* bervariasi di seluruh perlakuan. Zona penghambatan terbesar ditemukan pada ekstrak FA 80% sebesar 9,32±0,24 mm, diikuti oleh FEA sebesar 8,17±0,03 mm, dan FNH sebesar 7,00±0,21 mm. Zona penghambatan terkecil ditemukan pada ekstrak FNH 20% sebesar 5,85±0,28 mm. Data tersebut menunjukkan bahwa ekstrak Rumput belulang lebih efektif terhadap *S. aureus* daripada *E. coli*, kemungkinan karena sensitivitas *S. aureus* yang lebih tinggi.

Menurut Davis dan Stout (1971) dalam Mpila (2012), kekuatan antibakteri dikategorikan sebagai berikut: <5 mm (lemah), 5-10 mm (sedang), 11-20 mm (kuat), dan >20 mm (sangat kuat). Berdasarkan data pada Tabel 3 dan 4, ekstrak FA, FEA, dan FNH dari rumput belulang diklasifikasikan memiliki aktivitas sedang sebagai antibakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

Tabel 4. Hasil pengukuran diameter zona hambat pada bakteri *S. aureus*

Konsentrasi	Rata – rata diameter zona hambat (mm)		
	FA	FEA	FNH
20%	7,17±0,31 ^a	6,07±0,03 ^a	5,62±0,38 ^a
40%	7,27±0,31 ^a	6,52±0,88 ^a	5,85±0,28 ^a
60%	8,20±0,42 ^a	7,60±0,00 ^a	6,47±0,60 ^a
80%	9,32±0,24 ^a	8,17±0,03 ^a	7,00±0,21 ^a
Kontrol +	24,72±5,12 ^b	23,25±1,13 ^b	27,60±0,07 ^b
Kontrol -	-	-	-

Keterangan

- Fraksi Air (FA), Fraksi Etil Asetat (FEA), dan Fraksi N-Heksana (FNH)
- Perlakuan dengan superscript notasi (a, b, c, d, e) merupakan hasil dari uji Duncan dengan taraf kepercayaan 5%, apabila notasi uji Duncan sama menunjukkan tidak beda nyata dan bila notasi tidak sama menunjukkan perbedaan nyata.

Pengujian Sitotoksik Rumput Belulang

Uji sitotoksitas BSLT dilakukan untuk menentukan nilai LC₅₀ efek suatu zat terhadap larva *A. salina* setelah 24 jam. LC₅₀ adalah konsentrasi di mana 50% hewan uji mati yang ditentukan dengan regresi linier (Hamidi *et al.*, 2014). Hasil uji BSLT untuk ekstrak rumput belulang ditunjukkan pada Tabel 5.

Tabel 5. Nilai LC₅₀ dari Ekstrak dan Fraksi Pelarut Rumput Belulang

Sampel	Nilai LC ₅₀ (ppm)
EM	10,062
FNH	44,709
FEA	7,384
FA	28,344

Tabel 5 menunjukkan bahwa ekstrak rumput belulang memiliki potensi sitotoksik terhadap larva *A. salina*, dengan potensi tertinggi pada fraksi etil asetat, diikuti oleh ekstrak metanol, fraksi air, dan fraksi n-heksana. Senyawa fenolik, flavonoid, dan tanin dapat menyebabkan pecahnya membran sel dengan mengikat gugus OH ke protein membran, mengganggu transpor aktif Na⁺ dan K⁺ (Lobiuc *et al.* 2023). Sitotoksitas rumput belulang disebabkan karena adanya kandungan metabolit sekunder flavonoid, alkaloid, dan saponin. Senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak tersebut dapat menghambat aktivitas enzimatik, mengganggu proses biologis pada larva, yang dapat menyebabkan kematian (Carballo *et al.*, 2002).

Pengujian Sel Kanker HeLa

Suatu senyawa bersifat sitotoksik sangat aktif jika IC₅₀-nya kurang dari 20 µg/mL, aktif jika IC₅₀-nya 20-200 µg/mL, agak aktif jika IC₅₀-nya 200-500 µg/mL, dan tidak aktif jika IC₅₀-nya di atas 500 µg/mL (Geran *et al.*, 1972). Kontrol positif, obat antikanker cisplatin, menunjukkan aktivitas tinggi dengan IC₅₀ sebesar 16,24 µg/mL. IC₅₀ fraksi etil asetat adalah 223,70 µg/mL, yang menunjukkan aktivitas ringan terhadap sel kanker serviks HeLa. Ekstrak tersebut relatif tidak aktif terhadap sel HeLa, kemungkinan karena variasi fenotipe dan genotipe pada sel kanker. Fenotipe sel kanker bervariasi karena mutasi pada berbagai gen terkait onkogenesis, yang mengubah konformasi protein dan mengganggu fungsinya (Naithani *et al.*, 2008).

Temuan ini memperlihatkan perlunya penelitian lebih lanjut tentang aktivitas antikanker rumput belulang terhadap lini sel kanker lainnya, yang dapat memperluas

pengetahuan ilmiah tentang penggunaannya untuk pengobatan kanker, seperti yang telah dipraktikkan oleh masyarakat pedesaan.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian skrining fitokimia yang telah dilakukan pada ekstrak dan fraksi rumput belulang dari FNH, FEA, FA, EM positif mengandung alkaloid dan negatif mengandung steroid terpenoid, pada FNH dan EM negatif mengandung flavonoid, FEA dan FA, positif mengandung flavonoid, sedangkan pada FNH positif mengandung saponin namun negatif mengandung tanin, FEA, FA, EM negatif mengandung saponin dan tannin. Aktivitas antioksidan dari ekstrak dan fraksinasi pelarut rumput belulang Fmenunjukkan nilai tertinggi terdapat pada FEA sebesar 56,4%, sedangkan nilai terendah terdapat pada FA sebesar 30,3%. Berdasarkan pengujian sitotoksik dengan metode BSLT fraksi etil asetat memiliki nilai LC_{50} sebesar 7,384 ppm dan termasuk dalam kategori yang sangat toksik, sedangkan pada sitotoksik dengan sel HeLa hasil yang didapatkan pada nilai IC_{50} fraksi etil asetat adalah 223,70 ppm sehingga fraksi etil asetat bersifat kurang aktif terhadap sel kanker serviks HeLa.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh Lembaga Penelitian dan Pengembangan Kepada Masyarakat (LPPM) Universitas Sam Ratulangi melalui skim Penelitian Riset Dasar Unggulan Unsrat Klaster 2 (RDUU K2) Tahun Anggaran 2024, dengan nomor kontrak: 656/UN12.27/LT/2024

DAFTAR PUSTAKA

- Birben, E., Sahiner, U.M., Sackesen, C., Erzurum, S. & Kalayci, O. (2012). Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *World Allergy Organization Journal*, 5(1), 9–19.
- Carballo, J.L., Hernández-inda, Z.L., Pérez, P. & García-grávalos, M.D. (2002). A Comparison between Two Brine Shrimp Assays to Detect in Vitro Cytotoxicity in Marine Natural Products. *BMC Biotechnology*, 2(17), 1–5.
- Corradini, E., Foglia, P., Giansanti, P., Gubbiotti, R., Samperi, R. & Laganà, A. (2011). Flavonoids: Chemical Properties and Analytical Methodologies of Identification and Quantitation in Foods and Plants. *Natural Product Research*, 25(5), 465–495. <https://doi.org/10.1080/14786419.2010.482054>.
- Elfahmi, H., Woerdenbag, J. & Kayser, O. (2014). Jamu: Indonesian Traditional Herbal Medicine towards Rational Phytopharmacological Use. *Perspectives in Medicine*, 4(2), 51-73. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2014.01.002>.
- Geran, R.S., Greenberg, N.H., Macdonald, A.M., Schumacher, M.M. & Abbott, B.J. (1972). Protocols for Screening Chemical Agents and Natural Products against Animal Tumors and Other Biological Systems. *Cancer Chemotherapy Reports*, 13, 1–87.
- Hambali, D., Purba, E. & Kardhinata, E.H. (2015). Dose Response Biotip Rumput Belulang (*Eleusine Indica* [L] Gaertn.) Resisten-Parakuat Terhadap Parakuat, Diuron, Dan Ametrin. *Jurnal Online Agroekoteknologi*, 3(2), 574–80.
- Hamidi, M.R., Jovanova, B. & Panovska, T.K. (2014). Toxicological Evaluation of the Plant Products Using Brine Shrimp (*Artemia salina* L.) Model. *Macedonian Pharmaceutical Bulletin*, 60(1), 9–18. <https://doi.org/10.33320/maced.pharm.bull.2014.60.01.002>.
- Khopkar, S.M. (1998). Basic Concepts of Analytical Chemistry, 2nd ed. New Age International, New Delhi.

- Lobiuc, A., Pavăl, N-E., Mangalagiu, I.I., Gheorghita, R., Teliban, G-C., Amăriucăi-Mantu, D. & Stoleru, V. (2023). Future Antimicrobials: Natural and Functionalized Phenolics. *Molecules*, 28(3), 1114.
- Meyer, B.N., Ferrigni, N.R., Putnam, J.E., Jacobsen, L.B., Nichols, D.E. & Mclaughlin, J.L. (1982). Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Planta Medica*, 45(5), 31–34.
- Molyneux, P. (2004). The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicryl- Hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarinn Journal of Science and Technology*, 26(2), 211–219.
- Naithani, R., Huma, L.C., Moriarty, R.M., McCormick, D.L. & Rajendra, G. (2008). Comprehensive Review of Cancer Chemopreventive Agents Evaluated in Experimental Carcinogenesis Models and Clinical Trials. *Current Medicinal Chemistry*, 15(11), 1044–1071.
- Pietta, P-G. (2000). Flavonoids as Antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63(7), 1035–1042. <https://doi.org/10.1021/np9904509>.
- Pradana, D.L.C. & Batubara, U.M. (2015). Identifikasi Senyawa Bioaktif Dan Uji Aktivitas Antibakteri Infusa *Eleusine Indica* Dan Daun *Morinda Citrifolia* Pada Bakteri *Staphylococcus Aureus* Secara In-Vitro. In *Prosiding SEMIRATA 2015 Bidang MIPA BKS-PTN Barat Universitas Tanjungpura*, 662–669.
- Prior, R.L., Wu, X. & Schaich, K. (2005). Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4290–4302. <https://doi.org/10.1021/jf0502698>.
- Putri, P.A., Chatri, M. & Advinda, L. (2023). Characteristics of Saponin Secondary Metabolite Compounds in Plants Karakteristik Saponin Senyawa Metabolit Sekunder Pada Tumbuhan Abstrak Pendahuluan. *Serambi Biologi*, 8(2), 251–258.
- Redha, A. (2010). Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif Dan Peranannya Dalam Sistem Biologis. *Berlian*, 9(2), 196–202.
- Setiani, D., Hastuti, E.D. & Darmanti, S. (2019). Efek Alelokimia Ekstrak Daun Babandotan (*Ageratum Conyzoides* L.) Terhadap Kandungan Pigmen Fotosintetik Dan Pertumbuhan Gulma Rumput Belulang (*Eleusine indica* (L. Gaertn.), (4), 1–7.
- Suryanto, E. (2018). Kimia Antioksidan. CV Patra Media Grafindo, Bandung.
- Togolo, E., Suryanto, E. & Sangi, M.S. (2013). Aktivitas Antioksidan Dari Tepung Pisang Goroho Yang Direndam Dengan Lemon Kalamansi. *Jurnal MIPA*, 2(2), 105–108.