

AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK HEKSANA, DIKLOROMETANA DAN METANOL DAUN KEJI BELING (*Sericocalyx crispus*. L) TERHADAP *Artemia salina* Leach

Musyirna rahmah Nst, Sri Hardianti, Emma Susanti
Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau

ABSTRAK

Tumbuhan kejobeling (*Sericocalyx crispus* L.) merupakan salah satu tanaman yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai agen kemopreventif kanker. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui efek ekstrak *n*-heksana, diklorometana dan metanol daun keji beling terhadap *Artemia Salina* Leach. Uji sitotoksik dilakukan dengan metoda *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Hasil uji sitotoksik menunjukkan bahwa ekstrak *n*-heksana, diklorometana dan metanol daun Keji beling mempunyai efek sitotoksik dengan LC₅₀ 33,49 µg/ml, 244,34 µg/ml, 143,88 µg/ml.

Kata kunci: Sitotoksik, Keji beling, *Brine Shrimp Lethality Test*, LC₅₀

PENDAHULUAN

Kanker merupakan pertumbuhan dan perkembangan sel yang tidak terkontrol yang terjadi di dalam tubuh. Usaha terapi kanker hingga saat ini belum mencapai hasil yang memuaskan. Hal ini disebabkan oleh rendahnya selektivitas obat antikanker yang digunakan ataupun karena patogenesis kanker itu sendiri belum jelas (Meiyanto dan Sugiyanto, 1997). Pengobatan kanker dapat dilakukan dengan pembedahan, kemoterapi, maupun dengan radiasi. Pengobatan dengan kemoterapi dan radiasi seringkali kurang selektif dan tidak dapat menghilangkan sel kanker tersebut. Sedangkan pembedahan tidak efektif untuk kanker yang telah metastasis (Maat, 1999).

Salah satu usaha yang dapat ditempuh untuk menemukan obat kanker adalah menggali sumber obat nabati (Anonim, 2003). Banyak penelitian dilakukan untuk mencari senyawa antikanker baru dengan harapan sifat yang lebih baik. Salah satu tumbuhan yang dapat dikembangkan sebagai obat antikanker adalah kejobeling (*Sericocalyx crispus* L.) mengandung saponin, flavonoid, terpenoid dan fenolik (Nasution dkk, 2010). Tumbuhan ini merupakan tumbuhan yang telah banyak digunakan masyarakat sebagai obat tradisional. Penggunaannya sangat beragam, di antaranya sebagai menurunkan kadar kolesterol, peluruh air seni (diuretik), anti diabetes, wasir, tumor, lever, maag, menghancurkan batu dalam empedu, batu ginjal, dan batu pada kandung kemih (Dalimartha, 2006).

Dari beberapa kandungan tersebut kemungkinan ada senyawa yang memiliki efek antiproliferatif terhadap sel kanker, seperti flavonoid (Ren, dkk., 2003). Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui toksisitas ekstrak *n*-heksana, diklorometana dan metanol daun keji beling terhadap *Artemia Salina* Leach dengan metoda BSLT.

METODOLOGI

Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan untuk ekstraksi daun keji beling adalah lanjutan ekstraksi dari penelitian Gushelmawita tahun 2008, sedangkan bahan yang digunakan untuk

pengujian BSLT adalah air laut, *n*-heksana, diklorometana, metanol, dimetilsulfoksida (DMSO), larva uji yang digunakan untuk pengujian BSLT adalah *A. salina*.

Alat Penelitian

Alat yang digunakan untuk pengerjaan ekstraksi berupa seperangkat alat maserasi, seperangkat alat destilasi vakum, seperangkat alat *rotary evaporator*, dan timbangan. Alat-alat yang digunakan untuk uji BSLT berupa seperangkat alat pembiakan telur udang *A. salina* (wadah gelap, aerasi, lampu dengan intensitas cahaya rendah), vial, pipet mikro, timbangan analitik, pipet tetes, dan kaca pembesar.

Jalannya Penelitian

1. Pembuatan Ekstrak Daun Keji Beling

Daun keji beling lebih kurang 1,5 kg dicuci bersih, kemudian dikering anginkan, dirajang/dipotong-potong ± 1 cm, setelah itu diserbuk dan ditimbang. Dilakukan maserasi dengan pelarut *n*-heksana dengan cara perendaman serbuk dalam wadah maserasi hingga terendam dengan sempurna. Wadah ditutup rapat dan campuran disimpan di tempat terlindung dari cahaya selama 3 hari sambil diaduk berulang. Selanjutnya filtrat diambil melalui penyaringan dan ditambahkan kembali cairan pengeksrak ke dalam wadah sampel. Maserat yang didapat dipekatkan secara *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental *n*-heksana. Setelah serbuk direndam dengan *n*-heksana, serbuk direndam lagi dengan pelarut diklorometana dan metanol dengan cara yang sama pada perendaman serbuk menggunakan pelarut *n*-heksana. Sehingga didapat ekstrak kental diklorometana dan metanol daun keji beling (*Sericocalyx crispus* L.)

2. Persiapan sampel dari uji sitotoksik dengan metoda *Brine Shrimp Lethality test* (BSLT)

Kista udang *A. salina* ditetaskan dalam wadah pembiakan yang berisi air laut dan telah dilengkapi dengan aerasi dan lampu, digunakan setelah 48 jam setelah membentuk larva. Vial uji dikalibrasi sebanyak 5 ml. Pengujian dilakukan dengan konsentrasi 1000, 100, 10 $\mu\text{g/ml}$. Sebanyak 40 mg ekstrak uji dilarutkan dalam 4 ml metanol maka didapat larutan induk ekstrak uji dengan konsentrasi 10.000 $\mu\text{g/ml}$, kemudian larutan induk dengan konsentrasi 10.000 $\mu\text{g/ml}$ tersebut dipipet sebanyak 0,5 ml kedalam vial hingga nantinya didapat larutan induk konsentrasi 1000 $\mu\text{g/ml}$ setelah penambahan metanol 5 ml kemudian larutan dipipet lagi 0,5 ml kedalam vial setelah penambahan air laut hingga 5 ml untuk mendapatkan larutan uji dengan konsentrasi 1000 ppm. Pembuatan konsentrasi 100 $\mu\text{g/ml}$ dengan cara pengenceran larutan induk 1000 $\mu\text{g/ml}$ sebanyak 0,5 ml ditambahkan metanol hingga 5 ml maka diperoleh konsentrasi larutan induk 100 $\mu\text{g/ml}$ kemudian dipipet sebanyak 0,5 ml larutan induk tersebut kedalam vial uji hingga nantinya didapat konsentrasi 100 $\mu\text{g/ml}$ setelah penambahan air laut hingga 5 ml. Dan untuk konsentrasi 10 $\mu\text{g/ml}$ dibuat dari larutan induk 100 $\mu\text{g/ml}$ dengan cara yang sama (masing-masing dibuat dalam 3 vial) (Meyer dkk., 1982).

3. Media perkembangbiakan hewan percobaan *Artemia salina* Leach

Diperlukan media yang khusus dalam pembiakan udang *A. salina* untuk uji *brine shrimp lethality test* tersebut, tetapi media yang digunakan dapat dibuat dalam bentuk sederhana dan murah. Media dibuat dalam bentuk kaca yang terdiri dari dua bagian yaitu bagian yang gelap dan bagian yang terang. Kista udang diletakan pada bagian yang gelap dan akan bergerak ke arah yang terang setelah menetas menjadi larva. Larva yang digunakan untuk uji dapat dipakai setelah 48 jam dari saat kista udang dimasukkan dalam wadah.

4. Uji Sitotoksitas Terhadap Hasil Ekstraksi dengan BSLT

Masing-masing vial uji 1000, 100, 10 µg/ml diambil sebanyak 0,5ml dibiarkan pelarutnya menguap, kemudian larutkan kembali senyawa uji dengan 50 µg/ml DMSO, selanjutnya tambahkan air laut 5 ml. Dimasukkan larva udang ke dalam masing-masing vial sebanyak 10 ekor. Ditambahkan lagi air laut beberapa tetes hingga batas kalibrasi, kematian larva udang diamati setelah 24 jam. Dari data yang dihasilkan dihitung LC₅₀ dengan metode kurva menggunakan tabel probit (Meyer dkk., 1982).

Sebagai kontrol, 50 µl DMSO di pipet dengan pipet mikro ke dalam vial uji, kemudian ditambahkan air laut 5 ml. Dimasukkan larva *A. salina* 10 ekor. Tambahkan lagi air laut beberapa tetes hingga batas kalibrasi (Meyer dkk., 1982).

5. Analisa Data

Untuk melihat pengaruh pemberian ekstrak *n*-heksana, diklorometana, metanol tumbuhan keji beling terhadap kematian larva *A. salina* dilakukan perhitungan statistik dengan Analisa Probit. Perhitungan ini dilakukan dengan membandingkan antara larva yang mati terhadap jumlah larva keseluruhan, sehingga diperoleh persen kematian. Kemudian dilihat dalam tabel nilai probit. Nilai Probit versus log konsentrasi yang diketahui kemudian dimasukkan dalam persamaan regresi. Nilai LC₅₀. Dihitung berdasarkan persamaan regresi linier yang diperoleh. Persamaan Regresi Linier adalah:

$$y = a + bx$$
$$LC_{50} = \text{arc log } x$$

Keterangan: x : Log Konsentrasi, y : Nilai Probit, a : Intercept (garis potong)

b : Slope (kemiringan dari garis regresi linear)

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Ekstrak metanol, diklorometan dan heksan daun keji beling (*Sericocalyc crispus* L.) diujikan sitotoksitasnya dengan metoda BSLT. BSLT sebagai uji awal skrining perolehan senyawa bioaktif (Carballo dkk, 2002). Uji ini bertujuan untuk mengetahui adanya sifat toksik dari ketiga ekstrak terhadap larva *Artemia salina* Leach. Parameter ketoksikan yang digunakan dalam uji ini adalah nilai IC₅₀.

Hasil uji sitotoksitas ekstrak metanol, diklorometan dan heksan daun keji beling menghasilkan nilai LC₅₀ 143,88 µg/ml, 244,34 µg/ml, dan 33,496 µg/ml (Tabel 1).

Tabel I. Data Hasil Uji BSLT hasil ekstrak metanol daun keji beling

Konsentrasi (µg/ml)	Log konsentrasi	Persen kematian	Nilai probit	LC50 ug/ml
A. Ekstrak Metanol				
10.000	3	63,3	5,332	Y=0,386X+4,167
1.000	2	46,6	4,925	143,88 µg/ml
100	1	33,3	4,560	
B. Ekstrak Diklorometan				
10.000	3	63,3	5,332	Y=0,487X+3,837
1.000	2	40,0	4,747	244,34 µg/ml
100	1	26,6	4,357	
C. Ekstrak Heksan				
10.000	3	70,0	5,524	Y=0,35X+4,666
1.000	2	56,6	5,151	33,49 µg/ml
100	1	43,3	4,824	

Ekstrak n-heksan daun keji beling relatif lebih toksik dibandingkan ekstrak metanol dan ekstrak diklorometan. Dari hasil uji tersebut kemungkinan senyawa flavonoid yang bertanggung jawab terhadap efek toksik dari ekstrak tersebut. Menurut Ren dkk (2003), flavonoid mempunyai efek penting pada pencegahan kanker dan kemoterapi kanker. Sedangkan Vrana (2001) mengatakan senyawa golongan alkaloid dan terpenoid merupakan senyawa yang juga bertanggungjawab pada aktivitas sitotoksitas.

Suatu senyawa dikatakan berpotensi untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai antikanker apabila diketahui senyawa tersebut mempunyai $LC_{50} \leq 30 \mu\text{g/ml}$ (Meyer, dkk., 1982). Sampel yang diujikan masih dalam bentuk ekstrak atau masih terkandung banyak senyawa maka kemungkinan aktivitas sitotoksik senyawa pada ketiga ekstrak akan meningkat dengan teknik fraksinasi dengan tujuan mengeliminasi senyawa-senyawa yang bersifat menurunkan daya toksisitas senyawa aktif.

KESIMPULAN

Ekstrak *n*-heksana, diklorometana dan metanol daun keji beling mempunyai efek sitotoksik dengan LC_{50} berturut-turut 33,49 $\mu\text{g/ml}$, 244,34 $\mu\text{g/ml}$, 143,88 $\mu\text{g/ml}$.

DAFTAR PUSTAKA

- Carballo, J., Hernandez-Inda, Z.L., Perez, P., and Garcia-Gravalos, M.D., 2002, A comparison between two brine shrimp assays to detect in vitro cytotoxicity in marine natural products, *BMC Biochnol*, Sep 23:2 (1)7
- Dalimartha, S., 2006, *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia jilid 4*, Puspa Swara, Jakarta
- Ma'at, S., 1999. Pengujian Bioaktivitas Tanaman Obat sebagai Antikanker, Program Pasca Sarjana Universitas Indonesia Airlangga, Surabaya.
- Meiyanto, E, dan Sugiyanto, 1997. Uji Toksisitas Beberapa Fraksi Etanol Daun *Gynura Procumbens* (Lour) Merr Terhadap Larva Udang (*Artemia Salina* Leach). *Majalah Farmasi Indonesia*, 8(1): 42-49
- Meyer, Ferrigni, Putnam, Jacobsen, Nichols, Mc. Laughlin, 1982, *Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Lant Constituents, Plant Medica, Vol 45*
- Nasution, M.R, Utami, R dan Gushelmawita. 2010. Penentuan Total Fenol Dan Uji Aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Heksana, Diklorometana Dan Metanol Daun Keji Beling (*Sericocalyx Crispus*. L). *Prosiding Seminar dan Rapat Tahunan BKS-PTN Wilayah Barat ke-23.Pekanbaru 10-11 Mei 2010*.ISBN 978-979-1222-92-1 (Jilid 1).Pekanbaru.
- Ren, W., Qiao, Z., Wang, H., Zhu, L., and Zhang, L. 2003, Flavonoid: Promising Anticancer agents, *med res Review*, 2(4): 519-534,
- Vrana, J.A and Grant, S., 2001. Synergistic induction of Apoptosis in Human Leukemia cells (U937) exposed to Bryostatin 1 and the Proteasome Inhibitor Lactacystin Involves Dysregulation of the PKC/MAP Cascade, *Blood*, 97 (7)