

**UJI TOKSISITAS DAUN BELUNTAS (*Pluchea indica* Less), DAUN KEMANGI (*Ocimum basilicum* L.) DAN KULIT DAGING BUAH JENGKOL (*Archidendron pauciflorum*) DENGAN METODE BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BSLT)**

*TEST TOXICITY OF BELUNTAS LEAF (*Pluchea indica* Less), BASIL LEAF (*Ocimum basilicum* L.) AND THE FLESH OF THE FRUIT SKIN IN CURRY (*Archidendron pauciflorum*) BY THE METHOD OF BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BSLT)*

<sup>1)</sup> Antonius Padua Ratu, <sup>2)</sup> Paskalis Pertomo Lidun Nunang, <sup>2)</sup> Patricia Jenny Suryaganda

<sup>1)</sup> Sekolah Tinggi Teknologi Industri dan Farmasi Bogor

<sup>2)</sup> Sekolah Regina Pacis Bogor

\*Email: antoniuspaduaratu@sttif.ac.id.

**ABSTRAK**

Metode BSLT merupakan salah satu cara yang cepat dan murah untuk skrining toksisitas dari ekstrak tanaman dengan menggunakan hewan laut yaitu larva udang *Artemia salina* Leach. Metode ini merupakan metode awal dan salah satu cara yang cepat serta murah untuk penapisan senyawa antikanker. Hasil penelitian sebelumnya dengan metode BSLT dari ekstrak etanol daun beluntas, kulit daging buah jengkol dan daun kemangi menunjukkan LC<sub>50</sub> masing-masing sebesar 80,33 ppm, 39,81 ppm dan 46,42 ppm. Berdasarkan alasan tersebut, maka perlu dilakukan pengujian ekstrak dengan pelarut n-heksana. Penelitian ini dilakukan untuk skrining toksisitas daun beluntas, daun kemangi dan kulit daging buah jengkol dengan pelarut n-heksana menggunakan metode BSLT. Ekstrak n-heksana dari masing-masing tanaman juga dilakukan penapisan fitokimia. Hasil penelitian dengan metode BSLT dari ekstrak n-heksana daun beluntas, daun kemangi dan kulit daging buah jengkol menunjukkan LC<sub>50</sub> masing-masing sebesar 57,45 ppm, 35,39 ppm, dan 34,09 ppm. Hasil penapisan fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak n-heksana daun beluntas hanya terdapat saponin, ekstrak n-heksana daun kemangi flavonoid dan kulit daging buah jengkol terdapat alkaloid dan saponin. Ekstrak n-heksana kulit daging buah jengkol menunjukkan aktivitas tertinggi dan potensial sebagai antikanker, maka perlu dilakukan isolasi dan identifikasi sehingga diperoleh senyawa aktif.

**Kata Kunci :** *Artemia salina* Leach, BLST, LC<sub>50</sub>, n-heksana

**ABSTRACT**

*BSLT method is one way that quickly and cheaply for toxicity screening of plant extracts using marine animals namely shrimp Artemia salina larvae Leach. This method is the initial method and one of the ways that fast and cheap to anticancer compound screening. The results of the previous research by BSLT method of ethanol extracts of leaves beluntas, the flesh of the fruit skin in curry and basil leaves shows the LC50 of each of 80.33ppm, 39.81 ppm and 46.42 ppm. Based on these reasons, then it needs to be done testing the extract with solvent n-hexane. This research was conducted for toxicity screening beluntas leaves, basil leaves and the flesh of the fruit skin in curry with solvent n-hexane use BSLT method. n-Hexane extracts from each of the plants also do filtering of phytochemicals. BSLT method with research results from n-hexane extract of beluntas leaves, basil leaves and the flesh of the fruit skin in curry shows LC50 respectively amounted to 57.45 ppm, 35.39 ppm and 34.09 ppm. The results showed that phytochemicals filtering of n-hexane extract of beluntas leaves only saponins, n-hexane extracts of basil leaves flavonoids and flesh of the fruit skin in curry contained alkaloids and saponins. n-Hexane extract the flesh of the fruit skin in curry showed the highest activity and potensial as anticancer, hence the need for isolation and identification so that the active compounds are obtained.*

**Keywords:** *Artemia salina* Leach, BLST, LC<sub>50</sub>, n-hexane

**PENDAHULUAN**

Pengobatan yang efektif untuk infeksi dan kanker dari derivat tanaman merupakan hal utama yang penting bagi ilmuan (Hemanth *et al.*, 2014). *Taxus brevifolia* L., *camptothecin* dari *Camptotheca acuminata*, alkaloid *vinca* dari *Catharanthus roseus*, dan *podophyllotoxin* dari *Podophyllum peltatum* L merupakan agen kemoterapi sudah ditemukan dari tanaman (Zare *et al*, 2013; Nirmala *et al.*, 2011).

Skrining ekstrak tumbuhan secara sistemik untuk anti kankernya dan antibakteri sudah mulai ditemukan produk baru alami dengan potensi aktivitas melawan sel ganas dan bakteri multi resistan.

*Brine Shrimp Assay Test* (BSLT) digunakan sebagai metode pengujian penapisan aktivitas antikanker (Mayer *et al.*, 1982). BSLT telah banyak digunakan untuk menguji toksisitas produk tanaman selama 30 tahun terakhir. *Artemia salina* paling banyak digunakan dari spesies *Artemia*, yang diperkirakan mewakili lebih dari 90% studi dimana *Artemia* digunakan sebagai organisme uji eksperimental Campbell *et al.*, 1994).

Metode BSLT ini merupakan salah satu cara yang cepat dan murah untuk penapisan toksisitas dari ekstrak tanaman dengan menggunakan hewan laut yaitu larva udang *Artemia salina* Leach (Mayer *et al.*, 1982). Pengujian dengan metode BSLT ini memiliki spektrum aktivitas farmakologi yang luas, prosedurnya sederhana, cepat dan tidak membutuhkan biaya yang besar, serta hasilnya dapat dipercaya. Prinsip pengujian ini didasarkan pada bahan senyawa aktif dari tumbuhan yang bersifat toksik dan mampu membunuh larva *A. salina* Leach (Mayer *et al.*, 1982).

Hasil penelitian sebelumnya dengan metode BSLT dari ekstrak dengan pelarut etanol 96% daun beluntas, kulit daging buah jengkol dan daun kemangi menunjukkan LC<sub>50</sub> masing-masing sebesar 80,33 mg/L, 39,81 mg/L, dan 46,42 mg/L. (Ratu *et al.*, 2017). Penelitian lain ekstrak dengan pelarut etil asetat dari daun ketepeng, dan kulit rimpang kencur menunjukkan LC<sub>50</sub> masing-masing sebesar 59,14 ppm, dan kurang dari 10 ppm (Ratu *et al.*, 2018). Nilai LC<sub>50</sub> lebih kecil dari 1000 ppm dianggap mempunyai komponen senyawa bioaktif (Mayer *et al.*, 1982).

Dengan alasan-alasan tersebut, maka uji ini sangat tepat digunakan dalam mengawali penelitian bahan alam (Mayer *et al.*, 1982; Alam, 2002). Penelitian ini dilakukan untuk skrining toksisitas daun beluntas, daun kemangi dan kulit daging buah jengkol menggunakan metode BSLT terhadap larva udang *Artemia salina* Leach sebagai uji awal untuk mengetahui senyawa bioaktif dari simplisia diatas.

## METODE

Penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimen dengan menggunakan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) (Mayer *et al.*, 1982).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah simplisia daun beluntas, daun kemangi dan kulit daging buah jengkol; *n*-heksana; DMSO akuades; NaCl; larva udang *Artemia salina* Leach.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik, *rotary vacuum evaporator* dan peralatan gelas.

Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi empat simplisia pelarut *n*-heksana. Filtrat yang diperoleh diuapkan dan dipekatkan untuk dihitung rendemennya. Ekstrak dengan pelarut *n*-heksana yang diperoleh, selanjutnya dilakukan *skrining* fitokimia untuk mengetahui kandungannya. *Skrining* fitokimia yang dilakukan meliputi uji alkaloid, uji flavonoid, uji saponin, dan uji terpenoid

Telur udang ditetaskan 2 hari sebelum dilakukan uji. Disiapkan bejana untuk penetasan telur udang. Penetasan telur dilakukan dengan cara merendam sebanyak 2,5 mg telur dalam wadah yang berisi air laut sebanyak 250 mL dibawah cahaya lampu 25 watt dan dilengkapi dengan aerator. Telur akan menetas dan menjadi larva setelah 24 jam. Larva *Artemia salina* Leach yang baik digunakan untuk uji BSLT yaitu yang berumur ± 48 jam dan siap digunakan sebagai target uji toksisitas. Jika lebih dari 48 jam dikhawatirkan kematian *Artemia salina* Leach bukan disebabkan toksisitas ekstrak melainkan oleh terbatasnya persediaan makanan. Larva udang dipisahkan dari telurnya dengan dipipet ke dalam beaker/vial yang berisi air laut.

Konsentrasi larutan uji untuk BSLT adalah 1000 ppm, 100 ppm, 10 ppm dan 0 ppm (sebagai kontrol). Untuk pembuatan larutan stok, ekstrak kental ditimbang sebanyak 20 mg, kemudian ditambahkan 1 mL DMSO dan dilarutkan kedalam air laut sampai 10 mL, hingga diperoleh konsentrasi larutan stok 2000 ppm. Larutan stok tersebut selanjutnya dibuat lagi konsentrasi 1000 ppm, 100 ppm, 10 ppm dan 0 ppm.

Uji toksisitas pada masing-masing ekstrak sampel. Disiapkan wadah untuk pengujian, untuk masing-masing konsentrasi ekstrak. Pengujian toksisitas dari ekstrak membutuhkan 3 wadah dan 1 wadah sebagai kontrol. Pada tiap konsentrasi larutan dimasukkan 20 ekor larva *Artemia salina* Leach. Sselama 24 jam dilakukan pengamatan terhadap kematian larva dimana setiap konsentrasi dilakukan tiga kali pengulangan dan dibandingkan dengan kontrol. Penilaian kematian larva udang berdasarkan

kriteria standar yaitu bila tidak menunjukkan pergerakan selama pengamatan. Setelah dilakukan pengamatan selama 24 jam kemudian tingkat toksisitas ditentukan dengan menghitung jumlah larva yang mati.

Nilai  $LC_{50}$  ditentukan secara statistik melalui persamaan regresi linier sederhana (sumbu x ditransformasi ke bentuk logaritma [log konsentrasi], sedangkan sumbu y adalah % mortalitas) dengan bantuan program Microsoft Excel 2010.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil maserasi simplisia ekstrak daun beluntas, daun kemangi dan kulit daging buah jengkol dengan pelarut n-heksana diperoleh rendemen sebesar 5,6%, 9,7% dan 0,6%. Pemilihan pelarut tersebut bertujuan untuk memperoleh senyawa non polar. Pemilihan maserasi bertujuan untuk memperoleh senyawa yang tidak rusak oleh pemanasan.

Hasil penapisan fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak daun beluntas memiliki kandungan komponen senyawa saponin; ekstrak daun kemangi memiliki kandungan komponen senyawa terpenoid; ekstrak kulit daging buah jengkol memiliki kandungan komponen senyawa alkaloid dan saponin. Penelitian yang dilakukan oleh Cho *et al.* (2012) yang menunjukkan adanya komponen senyawa saponin pada daun beluntas. Penelitian yang dilakukan oleh Sanni *et al.* (2008) yang menunjukkan adanya komponen senyawa terpenoid pada daun kemangi. Penelitian yang dilakukan oleh Muslim *et al.* (2012) dan Hussin *et al.* (2018) yang menunjukkan adanya komponen senyawa alkaloid dan saponin pada kulit daging buah jengkol.

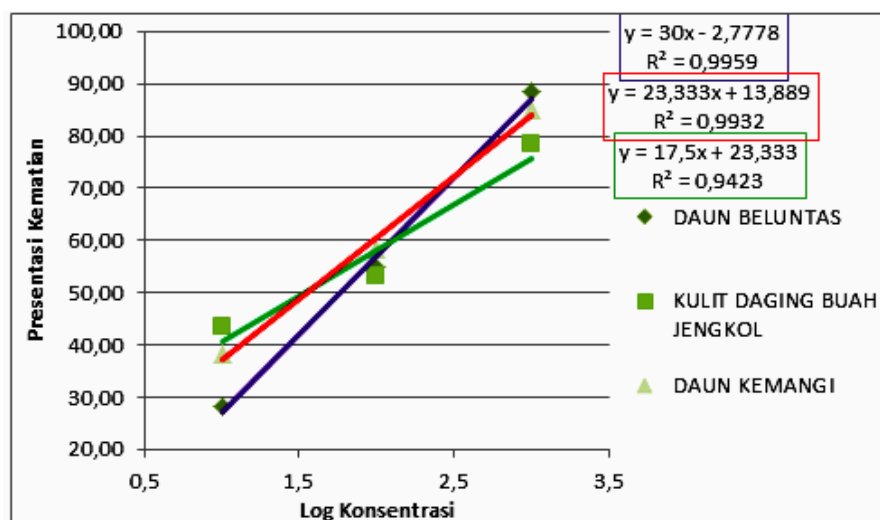
Hal ini terjadi karena pelarut n-heksana bersifat non polar yang dapat menarik komponen senyawa non polar seperti alkaloid, terpenoid dan saponin. Hasil uji skrining fitokimia ditampilkan pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil Skrining Fitokimia

Kandungan senyawa	Daun beluntas	Daun kemangi	Kulit daging buah jengkol
Alkaloida	-	-	+
Saponin	+	-	+
Flavonoid	-	-	-
Terpenoid	-	+	-

Pengujian aktivitas BSLT dengan menggunakan perhitungan *Lethal Concentration 50* ( $LC_{50}$ ). Hasil pengujian aktivitas ekstrak terhadap kematian *Artemia salina* ditunjukkan pada Gambar 1 dan Tabel 2.

Pada penelitian ini, hasil BSLT menunjukkan bahwa metabolit sekunder dalam ekstrak daun beluntas dan kemangi dan kulit daging buah jengkol terbukti secara signifikan mempengaruhi tingkat perkembangbiakan larva udang *Artemia salina* L. setelah masa inkubasi 24 jam dengan toksisitas yang sangat tinggi. Toksisitas metabolit sekunder tanaman berkaitan dengan kemampuan pertahanan diri tanaman tersebut terhadap predator seperti serangga, mikroorganisma, hewan ataupun tanaman predator lainnya. Mekanisme pertahanan diri tersebut kemungkinan dengan jalan melindungi organ target maupun dengan jalan menginhibisi proses pembelahan sel yang telah terkena mikroba patogen.



Gambar 1. Grafik Presentase Kematian *Artemia salina* L.

Hasil BSLT juga diketahui merupakan suatu metode penapisan untuk pencarian senyawa antikanker dari tanaman. Semakin tinggi tingkat toksisitas metabolit sekunder tanaman, dengan nilai  $LC_{50}$  yang semakin kecil, maka semakin potensial tanaman tersebut untuk digunakan dalam pengobatan antikanker.

Satuan standar yang digunakan adalah  $LC_{50}$  untuk menentukan kematian oleh ekstrak sebanyak 50%. Pada penelitian ini ekstrak kulit daging buah jengkol mempunyai nilai  $IC_{50}$  terkecil yaitu kurang dari 34,09 ppm.

Nilai  $LC_{50}$  dari ekstrak dengan pelarut n-heksana memiliki pola kemiripan dengan pelarut etanol 96%. Ekstrak kulit daging buah jengkol dengan pelarut n-heksana dan etanol 96% memiliki  $LC_{50}$  terkecil. Ekstrak kulit daging buah jengkol dengan etanol 96% juga memiliki  $LC_{50}$  terkecil (Ratu *et al.*, 2018).

Dengan sangat kecilnya nilai  $LC_{50}$  ekstrak uji, dibawah 100 ppm, maka aktivitas biologi ekstrak uji sebagai suatu antikanker berpotensi sangat tinggi. Nilai  $LC_{50}$  lebih rendah dari 1000 ppm dianggap mempunyai komponen senyawa bioaktif (Mayer *et al.*, 1982) (3). BSLT juga menunjukkan efek antijamur, efek pestisida, efek teratogenik, toksisitas terhadap lingkungan dan banyak lagi (Asaduzzaman *et al.*, 2015).

**Tabel 2.** Hasil uji aktivitas ekstrak terhadap kematian *Artemia salina* L.

Ekstrak	Konsentrasi (ppm)	Mati	Hidup	% Kematian	$LC_{50}$ (ppm)
Daun Beluntas	0	0,67	19,33		57,45
	10	6,33	13,67	28,33	
	100	11,67	8,33	55,00	
	1000	18,33	1,67	88,33	
Daun Kemangi	0	1,33	18,67		35,29
	10	9,00	11,00	38,33	
	100	13,00	7,00	58,33	
	1000	18,33	1,67	85,00	
Kulit Daging Buah Jengkol	0	2,67	17,33		34,09
	10	11,33	8,67	43,33	
	100	13,33	6,67	53,33	
	1000	18,33	1,67	78,33	

**Tabel 3.** Perbandingan Nilai LC 50 Pelarut n-heksana dan etanol 96%

Ekstrak	LC <sub>50</sub> Pelarut n-heksana (ppm)	LC <sub>50</sub> Pelarut etanol 96% (ppm)
Daun Beluntas	57,45	80,33
Daun Kemangi	35,29	46,42
Kulit Daging Buah Jengkol	34,09	39,81

## KESIMPULAN

Ekstrak dengan pelarut n-heksana kulit daging buah jengkol menunjukkan nilai LC<sub>50</sub> 34,09 ppm yang dianggap mempunyai potensi antikanker. Untuk perlu dilakukan studi lanjut untuk mengetahui komponen senyawa aktif dan aktivitas terhadap sel kanker payudara dan serviks.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alam, G. (2002). Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) sebagai bioassay dalam isolasi senyawa bioaktif dari bahan alam. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, 6 (2) : 432-435.
- Asaduzzaman M, Rana MS, Hasan SMR, Hossain MM, Das, N. Cytotoxic (Brine Shrimp Lethality Bioassay) and Antioxidant Investigation *Barringtonia acutangula* (L). *International Journal of Pharma Sciences and Research*, 2015; 6(8):1179-1185.
- Campbell, D.L., Lawton, L.A., Beattie, K.A., & Codd, G.A. (1994). Comparative Assessment of the Specificity of the Brine Shrimp and Microtox Assays to Hepatotoxic (Microcystin-LR-Containing) Cyanobacteria. *Environmental Toxicology and Water Quality : An International Journal*, 9 : 71-77.
- Cho, J.J., Cho, C.L., Kao, C.L., Chen, C.M., Tseng, C.N., Lee, Y.Z., Liao, L.J., & Hong, Y.R. (2012). Crude aqueous extracts of *Pluchea indica* (L.) Less. inhibit proliferation and migration of cancer cells through induction of p53-dependent cell death. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12 : 265-276.
- Hemanth, K.M., Dhiman, V., Choudhary, R.& Chikara, A. (2014). Anticancer activity of hydro alcoholic extracts from *Paris polyphylla* rhizomes against human A549 lung cancer cell lines using MTT assay. *Inter. Res. J. Pharm.*, 5: 290-294.
- Hussin. Z.M., Osman, N.A., Harun, A., & Daud, S. (2018). Phytochemical and Antimicrobial Evaluation of *Pithecellobium jiringa* Stem Barks Extracts. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 22 (1) : 123 – 127. <https://doi.org/10.17576/mjas-2018-2201-15>
- 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 Med.*, 45 (5) : 314.
- Muslim, N.S., Nassar, Z.D., Aisha, A.F.A., Shafaei, A., Idris, N., Majid, A.M.S.A., & Ismail, Z. (2012). Antiangiogenesis and antioxidant activity of ethanol extracts of *Pithecellobium jiringa*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12 : 210-220.
- Nirmala, M.J., Samundeeswari, A., & Sankar, PD. (2011). Natural plant resources in anti-cancer therapy-A review. *Res Plant Biol.*, 1: 10-14.
- Ratu, A.P., & Wirasti. (2017). Uji Toksisitas Daun Beluntas (*Pluchea indica* Less), Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.), Kulit Biji Jengkol (*Archidendron pauciflorum*) dan Kulit Rimpang Kencur (*Kaempferia galanga* Linn.) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Proceeding of The 6th University Research Colloquium 2017*.
- Ratu, A.P. & Mugiyanto, E. (2018) Uji Toksisitas Daun Ketepeng (*Cassia alata* L.), Kulit Buah Pisang Ambon (*Musa paradisiaca* L. var *Sapientum*) dan Kulit Rimpang Kencur (*Kaempferia galanga* Linn.) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Proceeding of The 7th University Research Colloquium 2018*. <http://repository.urecol.org/index.php/proceeding/article/view/112>

Sanni, S., Onyeyili, P.A., & Sanni, F.S. (2008). Phytochemical Analysis, Elemental Determination and Some in vitro Antibacterial Activity of *Ocimum basilicum* L., Leaf Extract. *Research Journal of Phytochemistry*, 2 (2) : 77-83.