

Uji Toksisitas Fraksi N-Heksan dan Etanol, Ekstrak Daun *Dendrophthoe glabrescen* (Benalu Jeruk) sebagai Skrining Awal Anti-Kanker dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Slamet Slamet¹, Laula², Milatun Khanifah³

^{1,2}Program Studi Sarjana Farmasi, ³Program Studi DIII Kebidanan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Pekajangan Pekalongan

*Email: slamet93ffua@umpp.ac.id

Abstrak

Keywords:

Daun benalu jeruk (*Dendrophthoe glabrescen*); Larva *Artemia salina* Leach; Brine Shrimp Lethality Test (BSLT); Toksisitas

Benalu jeruk (Dendrophthoe glabrescen) merupakan salah satu tanaman obat tradisional di Indonesia yang digunakan sebagai anti-kanker. Pemakaian setiap bahan memiliki potensi bersifat toksik tergantung dosisnya dalam tubuh sehingga perlu dilakukan skrining awal anti-kanker. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi toksisitas pada ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan fraksi etanol daun benalu jeruk dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Metode penelitian ini adalah eksperimental *post test-only control group design*. Digunakan 800 ekor larva *Artemia salina* Leach, yang berumur 48 jam dan dibagi dalam 6 kelompok dengan 5 kali replikasi. Data diperoleh dari menghitung jumlah larva yang mati 24 jam setelah perlakuan. Dilakukan analisis probit menggunakan program aplikasi komputer untuk memperoleh nilai LC50 (*Lethal Concentration 50%*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai LC50 ekstrak 31,67µg/mL, fraksi n-heksan 6,19µg/mL dan fraksi etanol 9,93µg/mL. Simpulan dari penelitian ini adalah dari ketiga sampel yang diuji memiliki efek toksik dengan nilai LC50 < 1000 µg/mL dan yang memiliki efek toksisitas tertinggi adalah fraksi n-heksan daun benalu jeruk (*Dendrophthoe glabrescen*). Sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut sebagai anti-kanker.

1. PENDAHULUAN

Benalu yang merupakan tumbuhan parasit yang berpotensi sebagai antikanker. Pada sebagian masyarakat biasa digunakan untuk proses penyembuhan kanker. Bagian yang sering digunakan adalah daun benalu diantaranya benalu jeruk (*Dendrophthoe glabrescen*) yaitu dengan cara direbus dengan air kemudian diminum (Maulida, 2016). Pada penelitian ini digunakan tumbuhan daun benalu jeruk (*Dendrophthoe glabrescen*). Efek klinis pada ekstrak etanol benalu jeruk diduga karena adanya kandungan senyawa bioaktif yang terkandung di dalamnya. Dimana senyawa metabolit sekunder

tersebut dapat menghambat proses mutasi dan kanker karena dapat meredam efek radikal bebas dengan menginduksi enzim yang bersifat sebagai antioksidan. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Maulidia (2016) hasil uji toksisitas ekstrak batang benalu jeruk dengan metode BSLT yang nilai toksisitasnya paling efektif adalah ekstrak n-heksan yaitu sebesar 256,455 ppm dan fraksi n-heksan sebesar 92,197 ppm. Oleh karena itu peneliti ingin menguji toksisitas dan skrining fitokimia dari ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan fraksi etanol daun benalu jeruk (*Dendrophthoe glabrescen*). Salah satu metode awal untuk uji toksisitas

adalah *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Metode pengujian ini didasarkan pada bahan senyawa aktif dari tumbuhan yang bersifat toksik dan mampu membunuh larva *Artemia salina* Leach. dengan menghitung persen kematian larva karena pengaruh ekstrak berdasarkan konsentrasi yang ditentukan serta dapat digunakan sebagai uji praskrining aktivitas antikanker.

2. METODE

Desain penelitian ini menggunakan penelitian eksperimental dengan pendekatan *Post Test-Only Control Group Design*. Perlakuan dengan pemberian ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan fraksi etanol daun benalu jeruk (*Dendrophthoe glabrescen*) terhadap kematian larva *Artemia salina* Leach. Prosedur Penelitian yang dilakukan yaitu :

2.1 Determinasi

Determinasi tanaman benalu jeruk (*Dendrophthoe glabrescen*) dilakukan untuk memastikan bahwa tumbuhan yang digunakan untuk penelitian adalah spesies benalu jeruk.

2.2 Penyiapan bahan

Bahan uji tanaman daun benalu jeruk (*Dendrophthoe glabrescen*) diperoleh dari perkebunan Jeruk Pontianak Desa Tragung Kecamatan Kandeman Kabupaten Batang. Daun yang telah dipetik, dicuci kemudian dikeringkan. Setelah kering daun dihaluskan dan dibuat serbuk dengan ayakan 40 mesh.

2.3 Pembuatan ekstrak

Ditimbang serbuk daun benalu jeruk sebanyak satu kilogram, dimaserasi, dengan pelarut etanol 96% sebanyak 3 L sambil dilakukan pengadukan, lalu diamkan selama lima hari pada suhu ruang. Saring maserat, dilakukan remaserasi sebanyak 2 kali. Lalu diuapkan dengan rotary evaporator sehingga didapatkan ekstrak yang kental.

2.4 Pembuatan fraksi n-heksan dan fraksi etanol.

Sebanyak 10 gram ekstrak yang diperoleh dipartisi dengan 50

mL pelarut nheksan, dan pelarut etanol kemudian dikocok menggunakan corong pisah dan didiamkan selama 24 jam. Hasil dari masing-masing fraksi tersebut diuapkan kemudian ditimbang.

2.5 Skrining fitokimia

Skrining fitokimia meliputi pemeriksaan kandungan kimia ekstrak termasuk diantaranya alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan fenol.

2.6 Pola Kromatogram (KLT)

Hasil fraksi yang sudah diuapkan ditotolkan pada lempeng silika gel 60 F254 yang telah diaktifkan selama 30 menit dengan oven pada suhu 60-800C. Perbandingan yang digunakan yaitu asam galat, kuersetin, dan piperin. Hasil penampakan noda dapat dilihat melalui lampu UV 254 nm dan 366 nm kemudian dihitung nilai Rf.

2.7 Pembuatan Larutan

2.7.1 Air laut buatan

Satu liter aquadest dengan garam ikan sebanyak 35 gram agar didapatkan tingkat salinitas 35‰ sebagai media penetasan telur *Artemia salina* Leach.

2.7.2 Larutan induk

Dibuat larutan induk dengan konsentrasi 1000 µg/mL kemudian ditetapkan konsentrasi untuk perlakuan dan replikasinya untuk masing-masing sampel.

2.7.3 Larutan uji

Konsentrasi 20 µg/mL, 40 µg/mL, 60 µg/mL, 80 µg/mL, dan 100 µg/mL untuk ekstrak. Konsentrasi 3 µg/mL, 5 µg/mL, 7 µg/mL, 9µg/mL, dan 11 µg/mL untuk fraksi n-heksan. Dan konsentrasi 5 µg/mL, 10 µg/mL, 15 µg/mL, 20 µg/mL, dan 25 µg/mL untuk fraksi etanol.

2.8 Penyiapan larva *Artemia salina* Leach.

2.8.1 Pemilihan telur *Artemia salina* Leach

Dilakukan dengan merendam telur dalam aquadest

selama 1 jam, telur yang memiliki kualitas baik akan mengendap, sedangkan telur yang kurang baik akan mengapung (Aqila, dkk., 2017).

2.8.2 Penetasan Telur dan Penyiapan Larva *Artemia salina* Leach

Sebanyak 1 gram telur *Artemia salina* Leach. dimasukkan ke dalam wadah yang berisi 1 L aquadest. Nyalakan aerator, letakkan dibawah pencahayaan lampu dan biarkan sampai hingga larva berumur 48 jam. Ditambahkan larutan ragi 0,006% setelah larva *Artemia salina* Leach. berumur 24 jam.

2.9 Pelaksanaan uji toksisitas

Masukkan larva *Artemia salina* Leach. yang telah berumur 48 jam kedalam sub-kelompok perlakuan yang berisi masing-masing larutan dengan lima kali replikasi. Tabung uji kemudian diletakkan di bawah penerangan selama 24 jam, dan dihitung jumlah larva *Artemia salina* Leach. yang mati.

2.10 Analisis Data

Data dari uji toksisitas akan dianalisis dengan Analisis Probit untuk mengetahui harga LC₅₀. Lalu dilakukan uji statistik parametrik *One Way ANOVA*. Sebagai syarat melakukan uji statistik maka diuji normalitas yaitu Shapiro-Wilk dan uji homogenitas.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Determinasi Tanaman

Hasil dari determinasi menunjukkan bahwa sampel yang diuji termasuk spesies *Dendrophthoe glabrescen*. Determinasi tanaman ini dilakukan untuk memastikan bahwa tumbuhan yang digunakan untuk penelitian ini adalah spesies benalu jeruk.

3.2. Pembuatan Simplisia

Serbuk simplisia yang diperoleh sebesar 1,4 kg dari 12 kg

simplisia basah. Serbuk simplisia disimpan dalam wadah tertutup baik dan disimpan pada suhu kamar (15-300C) agar mutunya tidak berubah. Rendemen simplisia yang diperoleh sebesar 11,6% .

3.3. Ekstraksi Simplisia

Simplisia daun benalu jeruk di ekstraksi menggunakan metode maserasi. Karena metode ini merupakan cara penyarian tanpa adanya tahap pemanasan untuk menghindari terjadinya kerusakan metabolit sekunder yang ada. Hasil ekstrak kental yang didapatkan dari proses maserasi 1000 gr serbuk simplisia daun benalu jeruk yaitu sebanyak 71,82 gr sehingga untuk persentase rendemen ekstrak daun benalu jeruk yang diperoleh adalah 7,182%.

3.4. Partisi Ekstrak

Hasil dari partisi ekstrak ke dalam pelarut etanol- n-heksan tertera di bawah ini :

Tabel 1. Berat, Rendemen ekstrak, fraksi

Berat ekstrak (g)	Berat f.n-heksan (g)	Berat Etanol (g)	Rendemen F. n-heksan (%)	Rendemen F. Etanol (%)
10	0,98	4,32	9,8	43,2

Hasil nilai persen rendemen fraksi etanol lebih besar dibandingkan dengan fraksi n-heksan hal ini dikarenakan banyak senyawa metabolit sekunder dalam daun benalu jeruk yang lebih bersifat polar.

3.5. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia yang telah dilakukan ah tertera pada tabel 2 di bawah ini :

Tabel 2. Skrining Fitokimia

Metabolit Sekunder	Ekstrak	F. N-heksan	F. Etanol
Fenol	+	+	+
Flavanoid	+	+	+
Alkaloid	-	-	-
- Mayer	-	-	-
- Dragendorf	-	-	-
- Wagner	-	-	-

Tannin	+	-	+
Steroid	+	+	+
Triterfenoid	-	-	-
Saponin	+	-	+

Hasil uji kualitatif melalui skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak dan fraksi etanol daun benalu jeruk (*Dendrophthoe glabrescen*) memiliki senyawa metabolit sekunder yang hampir sama, hal ini mungkin dikarenakan pada daun benalu jeruk banyak mengandung senyawa metabolit sekunder yang lebih bersifat polar.

3.6. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

KLT dalam penelitian ini berguna untuk mendukung data uji fitokimia dengan melihat pola spot yang dihasilkan pada pengamatan di sinar UV. Penggunaan KLT juga bertujuan untuk memisahkan senyawa yang terdapat dalam ekstrak atau menentukan jumlah komponen yang terpisah pada sampel berdasarkan spot.

Dari hasil penelitian dapat dilihat ekstrak positif mengandung alkaloid dengan nilai Rf 0,81 dan positif flavonoid dengan nilai Rf 0,72 dan 0,84. Untuk fraksi n-heksan positif mengandung alkaloid dengan nilai Rf 0,78 dan positif flavonoid dengan nilai Rf 0,83. Sedangkan untuk fraksi etanol positif mengandung alkaloid dengan nilai Rf 0,83 dan positif flavonoid dengan nilai Rf 0,78 dan 0,91.

3.7. Uji Toksisitas Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

Dalam penelitian ini digunakan larva *Artemia salina* Leach. yang berumur 48 jam setelah penetasan karena memiliki saluran pencernaan yang sudah terbentuk lengkap sehingga sensitif terhadap suatu zat yang diberikan. Penetasan telur *Artemia salina* Leach. dalam bentuk kista dilakukan dalam media air laut buatan dengan kadar salinitas 35‰ diukur dengan alat salinity meter dalam suhu 25-30°C dan pH 7,3-8,4.

Proses penetasan telur *Artemia salina* Leach. yang dilakukan membutuhkan waktu 24 jam dengan

bantuan aerator sebagai sumber oksigen dan lampu untuk merangsang proses penetasan sehingga larva bergerak menuju ruang terang karena bersifat fototaksis (Ajrina, 2013).

Tabel 3. Presentasi kematian larva

Sampel d. benalu jrk	Kon s. (ug/ mL)	Kematian larva artemia leach (ekor)		
		Rep. I	Rep. II	Rep. III
		ekstrak	20	3
	40	5	6	6
	60	6	6	8
	80	7	7	8
	100	8	8	9
Fraksi n- heksan	3	3	3	3
	5	4	4	5
	7	5	5	6
	9	5	6	7
	11	6	7	8
Fraksi etanol	5	3	3	4
	10	3	4	5
	15	5	6	7
	20	7	7	8
	25	8	8	9

Dari data diatas menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan maka semakin tinggi pula persentase kematian larva.

LC₅₀ merupakan indikasi ketoksikan suatu senyawa yang dapat menyebabkan kematian 50% pada populasi hewan uji. Semakin kecil nilai LC₅₀ menunjukkan toksisitas suatu senyawa semakin besar dan sebaliknya. Suatu ekstrak dinyatakan bersifat toksik menurut metode BSLT ini jika memiliki nilai LC₅₀ < 1000 µg/mL. Jika dibandingkan diantara ketiga sampel, fraksi n-heksan dari ekstrak daun benalu jeruk

Dendrophthoe glabrescen memiliki toksisitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak dan fraksi etanol, yaitu untuk fraksi n-heksan nilai LC₅₀ sebesar 6,19µg/mL. Kemudian diurutkan yang kedua fraksi etanol sebesar 9,93µg/mL, dan efek toksisitas terendah dimiliki oleh ekstrak daun

benalu jeruk dengan nilai LC₅₀ sebesar 31,67 µg/mL. Perbedaan hasil dari nilai LC₅₀ pada sampel ekstrak, fraksi n-heksan dan fraksi etanol daun benalu jeruk (*Dendrophthoe glabrescen*) di analisa secara statistika menggunakan uji one way ANOVA menggunakan program aplikasi komputer dengan tingkat signifikansi 0.05 (5%). Syarat dilakukannya uji one way ANOVA yaitu data yang didapatkan harus terdistribusi normal serta homogen. Hasil dari data yang didapatkan terdistribusi normal dan homogen karena nilai signifikan >0,05. Dari hasil analisis data menunjukkan bahwa ekstrak, fraksi n-heksan dan fraksi etanol daun benalu jeruk (*Dendrophthoe glabrescen*) memiliki efek toksisitas terhadap larva *Artemia salina* Leach. dengan pemberian fraksi n- heksan hampir tidak berbeda dengan fraksi etanol dibandingkan dengan ekstrak daun benalu jeruk (*Dendrophthoe glabrescen*).

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Hasil uji toksisitas ekstrak, fraksi n-heksan dan fraksi etanol daun benalu jeruk (*Dendrophthoe glabrescen*) ketiganya menunjukkan toksisitas terhadap larva *Artemia salina* Leach. dengan nilai LC₅₀ < 1000 µg/mL.
2. Fraksi n-heksan daun benalu jeruk (*Dendrophthoe glabrescen*) memiliki toksisitas tertinggi terhadap larva *Artemia salina* Leach. dengan nilai LC₅₀ sebesar 6,19µg/mL. Kemudian diurutan yang kedua yaitu fraksi etanol sebesar 9,93µg/mL, dan efek toksisitas terendah dimiliki oleh ekstrak daun benalu jeruk dengan nilai LC₅₀ sebesar 31,67 µg/mL.

REFERENSI

- [1] Aras T.S. 2013. Uji Toksisitas Ekstrak Teripang Holothurian Scraba Terhadap

Artemia salina. Skripsi. Universitas Hasanudin. Makasar.

- [2]. Badan POM RI. 2013. Pedoman Cara Pembuatan Simplisia yang Baik. Jakarta: badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- [3]. Cahyadi, Robby. 2009. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia* L.) Terhadap Larva *Artemia salina* Leach. dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Skripsi. Semarang: Program Pendidikan Sarjana Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- [4]. Desianti, Nur. 2014. Uji Toksisitas dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif dan Fraksi Etil Asetat, Kloroform, Petroleum Eter dan n-Heksan Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol Mikroalga *Chlorella* Sp. Skripsi. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi.
- [5]. Fikri, Ahsanal. 2018. Toksisitas Ekstrak Etanol Daun, Daging Buah dan Biji Mengkudu (*Morinda citrifolia* Linn.) dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) sebagai Skrining AntiKanker. Skripsi. Pekalongan: STIKES Muhammadiyah Pekajangan.
- [6]. Hanani, Endang. 2016. Analisis Fitokimia. Jakarta: Erlangga.
- [7]. Ilyas, Asriani. 2013. Kimia Organik Bahan Alam. Makassar: Alauddin Press.
- [8]. Muaja, D, Arter, dkk. 2013. Uji Toksisitas dengan Metode BSLT dan Analisis Kandungan Fitokimia Ekstrak Daun Soyogik (*Saurauia bracteosa* DC) dengan Metode Soxhletasi. Jurnal MIPA, Jurusan Kimia FMIPA UNSRAT. (2), 115-118.
- [9]. Ramdhini, R.N. 2010. Uji Toksisitas Terhadap *Artemia salina* Leach. dan Toksisitas Akut Komponen Bioaktif *Pandan* *conoides* var. *Conoides* Lam. Sebagai Kandidat Antikanker. Skripsi. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- [10] Syam, Aswin Khaliq. 2016. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Kayu Hitam (*Diospyros celebica* B.) Terhadap Mencit (*Mus musculus*).

- Skripsi. Makassar: Universitas Islam Negeri Alauddin Samata-Gowa.
- [11] Utami, Tya Gita Putri. 2018. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Alkaloid Ekstrak Metanol Sponge *Clathria* Sp. Skripsi. Lampung: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.
- [11]. Vardheo, Deru. 2013. Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Kimiawi Ekstrak Benalu Jeruk (*Dendrophthoe glabrescens*). Skripsi. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- [12]. Yulianti, Risda. 2013. Standarisasi Ekstrak Etanol Daun Angsana (*Pterocarpus Indicus* Willd). Skripsi. Jakarta: Fakultas Kedokteran & Ilmu Kesehatan Program Studi Farmasi UIN Syarif Hidayatullah.