

**UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL AKAR KB
(*Coptosapelta tomentosa* Valetton ex K. Heyne) DENGAN METODE
Brine Shrimp Lethality Test (BSLT))**

Submitted : 17 Oktober 2016

Edited : 18 November 2016

Accepted : 30 November 2016

Risa Supriningrum, Sapri, Vici Ali Pranamala

Akademi Farmasi Samarinda
Email : risa_akfar@yahoo.com

ABSTRACT

The roots of KB plants (Coptosapelta tomentosa) is used empirically by Dayak Kenyah community as a drug leukorrhea. Leukorrhea is one of the early symptoms of cervical cancer. Early methods to determine the LC₅₀ value or toxicity of anticancer KB roots have not been reported. The aim of research is to determine the value of the toxicity of KB root. Research was conducted by an experimental study. Research stages include sample processing, extraction and acute toxicity test by Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). BSLT testing to determine LC₅₀ values with a concentration of 250 ppm, 300 ppm, 400 ppm, 450 ppm and a negative control. Analysis of the data used are probit analysis method. The results showed the presence of flavonoids, alkaloids and saponins in of the ethanol extract of KB root . The test results obtained acute toxicity LC₅₀ value is 299.226 mg / ml, so that the ethanol extract of roots KB potentially toxic to the larvae of Artemia salina Leach.

Keywords : KB root, Toxicity, Brine Shrimp Lethality Test, LC₅₀, Probit Analysis

PENDAHULUAN

Kanker merupakan suatu penyakit yang menempati peringkat tertinggi sebagai penyebab kematian di negara-negara berkembang. Penyakit ini ditandai dengan pertumbuhan sel yang tidak terkendali dan menyerang jaringan biologis lainnya⁽¹⁾. Kanker serviks merupakan salah satu jenis kanker yang tumbuh di dalam leher rahim (suatu daerah pada organ reproduksi wanita yang merupakan pintu masuk ke arah rahim yang letaknya antara rahim dan vagina). *Human Papiloma Virus* (HPV) merupakan penyebab utama kanker serviks. Kanker ini dapat menyerang siapa saja, mulai dari perempuan berusia 20 tahun hingga perempuan yang tidak dalam usia produktif⁽²⁾. Salah satu gejala awal dari kanker serviks adalah keputihan. Keputihan

yang berbau dan bercampur darah merupakan gejala klinis yang timbul ketika kanker berkembang⁽³⁾.

Setiap tahun terdapat kurang lebih 400.000 kasus baru kanker serviks di dunia dan sebanyak 80% terjadi pada wanita di negara berkembang. Kasus kanker serviks yang ditemukan di Asia Pasifik sekitar 266.000 kasus setiap tahunnya. Kasus baru kanker serviks di Indonesia terdapat 40-45 kasus setiap hari dan menyebabkan kira-kira 20-25 kematian per hari⁽⁴⁾.

Obat-obat sintetik biasanya digunakan dalam terapi pengobatan kanker serviks. Penggunaan obat-obat sintetik yang sering menimbulkan efek samping yang merugikan bagi penderita, menyebabkan masyarakat mencari alternatif lain yaitu dengan memanfaatkan bahan alam yang dipercaya

lebih aman dan tidak menimbulkan efek samping. Salah satu bahan alam yang telah lama digunakan masyarakat Dayak Kenyah untuk pengobatan adalah akar KB. Akar KB secara empiris digunakan dengan cara direbus dan air hasil rebusan diminum sebagai obat keputihan dan kontrasepsi. Akar KB merupakan tumbuhan baru yang penelitian mengenai toksisitasnya belum pernah dilaporkan. Sehingga dilakukan penelitian awal mengenai sifat toksisitasnya untuk mengetahui potensinya sebagai antikanker. Penelitian yang pernah dilakukan adalah aktivitas antioksidan beberapa tumbuhan obat Kalimantan Timur oleh Herman (2013)⁽⁵⁾, menyatakan bahwa ekstrak methanol tumbuhan merung (*Captosapelta tomentosa*) memiliki nilai IC_{50} 69,02 ppm.

Penelitian tentang uji toksisitas akut tumbuhan Akar KB menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) terhadap larva *Artemia salina* Leach. Metode ini merupakan uji pendahuluan aktivitas biologis yang sederhana untuk menentukan toksisitas senyawa atau ekstrak secara akut⁽⁶⁾. Metode ini telah terbukti memiliki korelasi dengan aktivitas antikanker. Metode ini juga mudah dikerjakan, murah, cepat dan cukup akurat⁽⁷⁾. Metode BSLT merupakan metode awal uji toksisitas untuk mengetahui nilai LC_{50} dari tumbuhan baru yang berpotensi sebagai antikanker.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat

Bohlam lampu 40 watt, toples kaca, vial, cawan porselin, cawan petri, pipet tetes, tangas air, corong *Buchner*, maserator, blender, pengayak mesh 60, mikropipet (*Vitlab*), neraca analitik (*Ohaus*), botol plastik, aerator, kaca pembesar (*Joy Art MF-60*), alat-alat gelas sinar UV, chamber, *hair dryer*.

Bahan

Air suling, telur larva *Artemia salina* Leach, garam, etanol 95%, etanol 70%, aluminium foil, kertas pH *universal*, soda kue, akar KB, kertas saring, lempeng silika gel 60 F_{254} , pereaksi Mayer, pereaksi Bouchardat, pereaksi Dragendorf, amil alkohol, asam klorida 2 N, asam klorida pekat, asam asetat anhidrat, pereaksi besi (III) klorida, serbuk magnesium, asam sulfat pekat, n-heksan, etil asetat dan asam asetat anhidrat.

Prosedur Kerja

Pengumpulan dan Pengolahan sampel

Sampel diperoleh dari daerah Bengalon, Kutai Timur, Kalimantan Timur. Sampel dipanen pagi hari, disortasi untuk memisahkan akar dari batang dan pengotor, kemudian dicuci, ditiriskan. Sampel dikeringkan dengan sinar matahari, selanjutnya dihaluskan dan diayak dengan pengayak mesh 60⁽⁸⁾.

Pembuatan ekstrak

Sampel yang telah ditimbang, dimaserasi dengan pelarut etanol selama 24 jam. Maserat disaring dan ampas dimaserasi kembali menggunakan jenis dan jumlah pelarut yang sama. Ekstrak yang diperoleh dipekatkan menggunakan rotary evaporator hingga kental⁽⁸⁾.

Skrining Fitokimia

Dilakukan uji alkaloid, tanin, saponin, steroid dan triterpenoid terhadap ekstrak etanol akar kb. Uji alkaloid dilakukan dengan menggunakan pereaksi Meyer, Bouchardat, Dragendorf. Sampel dinyatakan mengandung alkaloid, apabila minimal dua dari tiga uji yang dilakukan memberikan hasil positif⁽⁹⁾.

Uji Aktivitas dengan Metode BSLT

Menurut Meyer et al (1982)⁽¹⁰⁾, metode BSLT digunakan untuk mengetahui toksisitas sampel secara umum dengan

menggunakan telur udang *Artemia salina* Leach.

Pembuatan Air laut Buatan

Dilartukan 15 g garam dalam 1 liter air suling, kemudian ditambahkan soda kue sambil diukur pH air hingga mencapai pH 8. Air laut buatan yang sudah siap disaring menggunakan kertas saring⁽¹¹⁾.

Penetasan Larva Udang

Penetasan dilakukan dengan cara merendam 100 mg telur udang ke dalam 500 ml air laut buatan dengan diberi penerangan cahaya lampu 40 watt agar suhu penetasan tetap terjaga 25°C-31°C. Telur larva dibiarkan selama 24 jam sampai menetas menjadi nauplii yang matang dan siap digunakan. Larva diambil dengan pipet dan dimasukkan ke dalam cawan petri yang berisi air laut buatan.

Penyiapan Kontrol

Kontrol negatif dibuat dengan tanpa menambahkan ekstrak, kemudian ditambahkan 10 ml air laut buatan dan 10 ekor larva udang *Artemia salina* Leach ke dalam vial.

Persiapan Larutan sampel

Ekstrak yang akan diuji dibuat dalam konsentrasi 250 ppm, 300 ppm, 400 ppm dan 450 ppm.

Prosedur Uji Toksisitas dengan Metode BSLT

Disiapkan vial untuk tiap kelompok sesuai tingkat konsentrasi, masing-masing disediakan 5 vial dan dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Vial diisi dengan sampel dan ditambahkan air laut buatan sebanyak 10 ml. Sepuluh ekor larva *Artemia salina* dipindahkan ke dalam masing-masing vial yang telah berisi senyawa uji⁽¹¹⁾.

Kontrol negatif (blanko) diberi perlakuan yang sama seperti larutan uji

tetapi tidak ditambahkan dengan ekstrak. Vial-vial tersebut diletakkan di bawah penerangan. Jumlah larva udang yang mati dalam tiap vial dihitung selama 24 jam dengan cara manual. Tingkat toksisitas ditentukan dengan menghitung jumlah larva yang mati. Kriteria standar untuk menilai kematian larva udang adalah bila larva udang tidak menunjukkan pergerakan selama beberapa detik observasi⁽¹¹⁾.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Akar KB

Golongan	Hasil
Alkaloid	(+)
Flavonoid	(+)
Tanin	(-)
Saponin	(+)
Steroid/Triterpenoid	(-)

Keterangan:

(+) = Mengandung golongan senyawa metabolit sekunder

(-) = Tidak mengandung golongan senyawa metabolit sekunder

Dari tabel 1 dapat dilihat, bahwa ekstrak etanol akar KB mengandung senyawa alkaloid, flavonoid dan saponin. Perubahan warna yang terjadi pada uji alkaloid menggunakan pereaksi Bouchardat dan pereaksi Dragendorff menunjukkan hasil yang positif, sedangkan dengan pereaksi Mayer hasilnya negatif. Uji flavonoid yang dihasilkan positif dengan adanya warna jingga yang terdapat pada lapisan amil alkohol atau cincin amil alkohol di bagian atas. Hasil positif ditunjukkan pada identifikasi saponin dengan terbentuknya buih yang mantap setinggi 1 cm selama kurang lebih 10 menit, buih tidak hilang setelah penambahan asam klorida.

Hasil Uji Toksisitas Larva *Artemia salina* Leach

Uji toksisitas dilakukan untuk mengetahui aktivitas yang terdapat pada ekstrak akar KB (*Coptosapelta tomentosa*) dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Tujuan dari uji ini untuk menentukan efek toksik dari ekstrak setelah pemberian dosis pada hewan uji. Ekstrak akar KB dilarutkan menggunakan air laut buatan yang merupakan media hidup larva *Artemia salina* Leach, sehingga pada saat pengujian larva dipastikan mati dikarenakan oleh ekstrak. Hal penting yang harus diperhatikan dalam pembuatan air laut buatan yaitu pH air laut buatan tersebut. Hal ini berguna pada enzim-enzim untuk metamorfosis artemia yang bekerja secara optimum pada pH 8,0-9,0⁽¹²⁾. Hasil yang diperoleh dari uji toksisitas dapat dilihat pada table 2.

Berdasarkan konsentrasi larutan uji yang digunakan, diperoleh hasil bahwa konsentrasi 450 ppm menyebabkan rata-rata kematian larva tertinggi, sedangkan pada konsentrasi 250 ppm menyebabkan kematian larva terendah. Kelompok kontrol tanpa penambahan ekstrak tidak ditemukan adanya kematian pada larva. Konsentrasi yang bervariasi pada setiap vial uji memiliki jumlah kematian *A. salina* yang berbeda. Hal tersebut menunjukkan bahwa setiap konsentrasi memiliki pengaruh yang berbeda pada kematian larva *A. salina*.

Semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin tinggi pula jumlah kematian larva. Hal ini sesuai dengan Harborne (1994)⁽⁹⁾, yang menyebutkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka sifat toksiknya akan semakin tinggi.

Flavonoid berperan sebagai *stomach poisoning* (racun perut) pada larva. Flavonoid memiliki aktivitas sebagai antioksidan dan antikanker sehingga mempunyai sifat toksik yang kuat. Mekanisme kerja flavonoid dalam

menghambat pertumbuhan larva diduga dengan cara menghambat transduksi sinyal ke inti melalui inhibisi protein kinase sehingga menghambat proliferasi sel kanker dan menghambat pertumbuhan suatu keganasan dengan menginhibisi reseptor tirosin kinase yang berperan dalam meningkatkan pertumbuhan keganasan⁽¹²⁾.

Tabel 2. Hasil Uji Toksisitas LC₅₀ terhadap kematian larva *Artemia salina*

Konsentrasi (ppm)	Persen Kematian (%)	Probit	Nilai LC ₅₀ (µg/ml)
0 (kontrol negatif)	0	-	
250	43	4,82	299,23
300	50	5,00	
400	60	5,25	
450	63	5,33	

Sumber: Hasil pengolahan data

Alkaloid juga berperan sebagai *stomach poisoning* (racun perut). Proses ini menyebabkan larva mengalami gangguan pada saluran cerna. Senyawa alkaloid juga menghambat reseptor rasa yang berada di permukaan mulut larva sehingga larva tidak bisa mendeteksi makanan dan akhirnya larva mati karena kelaparan¹². Kandungan saponin juga berpotensi sebagai antikanker yang bekerja dengan menginduksi *cell cycle arrest* dan apoptosis sel.

SIMPULAN

Hasil pengujian toksisitas ekstrak akar KB dengan metode BSLT menunjukkan nilai LC₅₀ yang diperoleh sebesar 299,23 µg/ml dengan kategori toksik terhadap larva

DAFTAR PUSTAKA

1. Ramdhini, N.R. 2010. Uji Toksisitas Terhadap *Artemia salina* Leach. dan Toksisitas Akut Komponen Bioaktif

- Pandanus conoideus* var. *conoideus* Lam. sebagai Kandidat Antikanker. *Skripsi*. Surakarta: Universitas Sebelas Maret. Hal: 17-22
2. Rachmani, B., Shaluhayah Z., dan Cahyo K. 2012. Sikap Remaja Perempuan Terhadap Pencegahan Kanker Serviks Melalui Vaksinasi HPV di kota Semarang. *Jurnal Kesehatan*. Semarang: Universitas Diponegoro. Hal: 35
 3. Indriyani, R., Indriyawati, Y., dan Pratiwi, I.G.D. 2012. Hubungan Personal Hygiene dengan Kejadian Keputihan pada Siswi Al-Hikmah Aeng Deke Bluto. *Jurnal Kesehatan*. Sumenep: Universitas Wiraraja. Hal: 69-70
 4. Fitrianiingsih, H.R. 2012. Hubungan Tingkat Pengetahuan, Sikap dan Perilaku Pemeliharaan Organ Reproduksi dengan Risiko Kejadian Keputihan pada Siswi Kelas X SMA Negeri 1 Wonosari Kabupaten Klaten. *Skripsi*. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta. Hal: 4
 5. Herman, 2013. Aktivitas Antioksidan Beberapa Tumbuhan Obat Kalimantan Timur., *Journal Tropical Pharmacy and Chemistry* vol.2 No.2 . Samarinda: Universitas Mulawarman. Hal: 100 - 104
 6. Ajrina, A. 2013. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Daun *Garcinia benthami* Pierre Terhadap Larva *Artemia salina* Leach Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Laporan Penelitian*. Jakarta: Universitas Islam Negeri Dan Ilmu Kesehatan. Hal: 20-21
 7. Muaja D, Arter., Koleangan S.J, Harry., dan Runtuwene R.J, Max. 2013. Uji Toksisitas dengan Metode BSLT dan Analisis Kandungan Fitokimia Ekstrak Daun Soyogik (*Saurauia bracteosa* DC) dengan Metode Soxhletasi. *Jurnal Mipa Unsrat Online*. 2. (2). Manado: Universitas Sam Ratulangi. Hal: 116
 8. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi I*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
 9. Harborne. 1987. *Metode Fitokimia*. Diterjemahkan oleh Radmawinata, K dan Soediso, I. Bandung: ITB Press. Hal: 102-235
 10. Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putman, J. E., Jacobsen, L. B., Nicols, D. E., and McLaughlin, J. L. 1982. Brine Shrimp : A Convenient general Bioassay For Active Plant Constituents. *Plant Medica*
 11. Harmita dan Radji, M. 2008. *Analisis Hayati*. Jakarta: Buku Kedokteran. Hal: 42-78
 12. Reskianingsih, A. 2014. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Buah *Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl Terhadap Larva *Artemia salina* Leach Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Laporan Penelitian*. Jakarta: Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Hal: 14-21