

	PROFIL FITOKIMIA DAN UJI SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL TUMBUHAN <i>Zanthoxylum acanthopodium</i> DC (ANDALIMAN) MENGUNAKAN METODE BSLT Liis Panggabean¹, Nurhamidah², Dewi Handayani³ 1,2,3 Program Studi Pendidikan Kimia Jurusan PMIPA FKIP Universitas Bengkulu *E-mail : liislestaripanggabean@gmail.com	 Open Journal Systems				
						

ABSTRACT

*The purpose of this study was to determine the phytochemical profile of *Zanthoxylum acanthopodium* DC plant (Andaliman) and to know the extract part of plant ethanol *Z acanthopodium* DC as the best anticancer agent. Root basal samples, stem bark, leaves and fruit *Z acanthopodium* DC as much as 3 Kg, then dried up and smoothed. Fine samples of root, bark, leaves and fruit of *Z acanthopodium* DC were each weighed 450 gr and each sample was extracted using 5 L ethanol solvent. Root extract, bark, leaves and fruit *Z anthoxylum acanthopodium* DC obtained from extraction weighed as much as 1 g, then each of them in concentrations of 10, 100, and 1000 ppm. Cytotoxic tested using BSLT method with shrimp larvae of 10 tail, then determined LC₅₀ by using relationship between probit and log of concentration. Each sample of fine roots, bark, leaves and fruit *Z acanthopodium* DC were weighed 3 grams. Then press the phytochemical profile. Phytochemical profile test results of each sample of *acanthopodium* DC *Z* showed the presence of alkaloids, flavonoids, tannins, terpenoids and saponins. The largest alkaloid content is found on the skin of stems and roots (++) with Papaya leaf comparison, the largest flavonoid content of bark (++) skin with peach flower compound, tannin leaf and tanug (+++) seedlings with Avocado seed comparator, and the largest Kandugan saponin on bark (+++) with the comparative Starfruit Wuluh. In the cytotoxic test results, each leaf extract of stem, leaves, roots and *Z acanthopodium* DC fruit has potential as an anticancer agent because the liberating LC₅₀ in each sample is in the range 30-1000 ppm. The extract part of the stem bark has the greatest potential as an anticancer compared to fruits, leaves and roots. Because bark leaf extract has LC₅₀ so that 57,677 ppm compared to root of 65,313 ppm, leaves of 77, 983 ppm, and fruit of 191,426 ppm. Usually root samples, stem bark, leaves and fruit *Z acanthopodium* DC can be used as an anticancer because of the content of flavonoids, saponins, alkaloids, tannins, and terpenoids.*

Keywords : Andaliman, Toxicity, Phytochemicals profile, BSLT, LC₅₀

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan profil fitokimia tumbuhan *Zanthoxylum acanthopodium* DC (Andaliman) serta mengetahui bagian ekstrak etanol tumbuhan *Z acanthopodium* DC yang paling berpotensi sebagai agen antikanker. Sampel basah akar, kulit batang, daun dan buah *Z acanthopodium* DC diambil sebanyak 3 Kg, lalu dikering anginkan dan dihaluskan. Sampel halus akar, kulit batang, daun dan buah *Z acanthopodium* DC masing-masing ditimbang sebanyak 450 gr dan masing-masing sampel diekstraksi menggunakan pelarut etanol sebanyak 5 L. Ekstrak akar, kulit batang, daun dan buah *Z anthoxylum acanthopodium* DC yang diperoleh dari ekstraksi ditimbang sebanyak 1 gr, lalu dibuat masing-masing dalam konsentrasi 10, 100, dan 1000 ppm. Diuji sitotoksik menggunakan metode BSLT dengan larva udang sebanyak 10 ekor, kemudian ditentukan LC₅₀ menggunakan grafik hubungan antara probit dan log konsentrasi. Masing-masing sampel halus akar, kulit batang, daun dan buah *Z acanthopodium* DC ditimbang sebanyak 3 gram. Kemudian diuji profil fitokimia. Hasil uji profil fitokimia masing-masing sampel *Z acanthopodium* DC menunjukkan adanya kandugan alkaloid, flavonoid, tanin, terpenoid dan saponin. Kandungan alkaloid terbesar terdapat pada bagian kulit batang dan akar (++) dengan pembanding daun Pepaya, kandungan flavonoid terbesar kulit batang (++) dengan pembanding bunga Merak, kandugan tanin terbesar daun dan kulit batang (+++) dengan pemanding biji Alpokat, dan kandugan saponin terbesar terdapat pada kulit batang (+++) dengan pembanding Belimbing Wuluh. Pada hasil uji sitotoksik, masing-masing ekstrak kulit batang, daun, akar dan buah *Z acanthopodium* DC memiliki potensi sebagai agen antikanker karena LC₅₀ yang diperoleh pada masing-masing sampel berada pada rentang 30-1000 ppm. Bagian ekstrak kulit batang memiliki potensi terbesar sebagai antikanker dibandingkan buah, daun dan akar Karena ekstrak kulit batang memiliki LC₅₀ terkecil yaitu sebesar 57,677 ppm dibandingkan akar 65,313 ppm, daun sebesar 77, 983 ppm, dan buah sebesar 191,426 ppm. Secara umum Masing-masing sampel akar, kulit batang, daun dan buah *Z acanthopodium* DC dapat berpotensi sebagai agen antikanker dikarenakan adanya kandungan flavonoid, saponin, alkaloid, tanin, dan terpenoid.

Kata Kunci : Andaliman, Toksisitas, Profil Fitokimia, BSLT, LC₅₀

PENDAHULUAN

Berdasarkan data dari *World Health Organization* (WHO), penderita kanker di dunia setiap tahunnya mengalami peningkatan. Angka kematian yang disebabkan oleh kanker meningkat dari 7,6 juta jiwa menjadi 8,2 juta jiwa tahun 2015 dan jumlah penderita kanker terbesar berada di negara berkembang[1].

Badan kesehatan dunia WHO menyatakan bahwa 80% dari populasi masyarakat di negara berkembang masih percaya pada obat-obatan tradisional, terutama pada obat herbal. Obat herbal tersebut dapat berasal dari hewan, mineral, biota laut maupun tumbuhan-tumbuhan. Kebanyakan masyarakat berkembang lebih banyak menggunakan tumbuhan sebagai obat tradisional. Tumbuhan yang telah berhasil diidentifikasi sebagai obat tradisional sebanyak 1.845 spesies dan 1.300 diantaranya tersebar di hutan tropis di seluruh wilayah Indonesia. Obat tradisional yang berasal dari tumbuhan tersebut biasanya digunakan untuk mengobati penyakit malaria, DBD, Kanker, batuk, sakit perut dan berbagai macam penyakit lainnya[2].

Penyakit Kanker adalah suatu penyakit akibat pertumbuhan tidak normal dari sel-sel pada jaringan tubuh yang mengalami mutasi dan perubahan struktur biokimia. Salah satu penyebab terjadinya kanker adalah mutasi gen. Mutasi gen adalah suatu keadaan ketika sel mengalami perubahan sebagai akibat adanya paparan sinar ultraviolet, bahan kimia ataupun bahan-bahan yang berasal dari alam [3].

Pada era globalisasi sekarang, pengobatan penyakit kanker sudah banyak, salah satunya adalah pengobatan secara kemoterapi dan obat-obatan, namun pengobatan tersebut memiliki efek samping yang beragam diantaranya, peradangan atau ulserasi pada lapisan mulut yang menyebabkan nyeri (mukositis), diare, kulit terkelupas, pembengkakan pada tubuh, sakit pada bagian oral, dan kurangnya jumlah platelet atau trombosit sel darah yang berperan penting pada proses pembekuan darah (trombositopenia). Oleh karena itu, tidak sedikit masyarakat Indonesia beralih menggunakan obat-obatan tradisional yang berbahan dasar alami[4]

Salah satu tumbuhan di Indonesia yang memiliki potensi sebagai obat tradisional adalah *Zanthoxylum acanthopodium* DC (Andaliman). *Z. acanthopodium* DC adalah salah satu tumbuhan khas masyarakat Batak, tergolong tumbuhan liar yang belum banyak dimanfaatkan dan jarang dikenal oleh masyarakat Indonesia. Hal ini disebabkan, karena buah Andaliman hanya tumbuh di daerah Sumatera Utara dan tidak ditemukan didaerah lain di Indonesia[5].

Tumbuhan *Z. acanthopodium* DC termasuk salah satu rempah yang pemanfaatannya hingga sekarang masih sebatas komoditas primer. Di Indonesia, tumbuhan rempah ini hanya terdapat di Kabupaten Toba Samosir dan Tapanuli Utara pada daerah berketinggian

1.500 m dpl. Selain di Sumatera Utara, *Z. acanthopodium* DC juga ditemukan di India, RRC, dan Tibet. Tumbuhan ini mempunyai biji yang sering dimanfaatkan sebagai bumbu masak terutama untuk masakan tradisional Batak[6].

Z. acanthopodium DC mempunyai potensi sebagai tumbuhan obat karena mengandung berbagai senyawa flavonoid, terpen, alkaloid, pyranoguinoline alkaloid, quaternary isoquinoline alkaloid, apophyrine alkaloid yang diduga sebagai antioksidan. Senyawa tersebut adalah agen yang dapat menghambat proliferasi dari sel-sel kanker[7]. Pada negara maju seperti Amerika dan juga China buah jenis *Zanthoxylum acanthopodium* DC ini telah dimanfaatkan tidak hanya sebagai bahan bumbu akan tetapi juga untuk industri. Andaliman juga digunakan untuk mengobati inflamasi dan rematik. Buah Andaliman mengandung banyak senyawa yang bersifat antioksidan[8].

Suatu tanaman dapat diketahui berpotensi atau tidak terhadap sel kanker maka perlu dilakukan penelitian awal, salah satunya melalui uji sitotoksik. Metode yang biasanya digunakan untuk uji sitotoksik adalah BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). BSLT adalah metode uji sitotoksik akut yang sederhana, mudah pengerjaannya, cepat mendapatkan hasil dan murah dalam pelaksanaannya. Metode BSLT menggunakan larva udang (*Artemia Salina* Leach) sebagai hewan uji. *Artemia salina* Leach merupakan organisme yang mempunyai kepekaan cukup tinggi terhadap toksik. Hasil uji toksisitas dengan metode ini telah terbukti memiliki korelasi positif dengan daya sitotoksik senyawa antikanker. Jika pada uji toksisitas menunjukkan LC_{50} dibawah 1000 ppm berarti bahan tersebut memiliki potesi sebagai antikanker[9].

Berdasarkan latar belakang diatas, maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang “ Profil Fitokimia dan Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol Tumbuhan *Zanthoxylum acanthopodium* DC (Andaliman) Menggunakan Metode BSLT” sebagai uji penahuluan obat antikanker.

METODE PENELITIAN

Daun, kulit batang, akar, dan buah Andaliman dibersihkan, dipotong-potong dan dikeringkan. Kemudian daun, kulit batang, akar, dan buah Andaliman dihaluskan dengan blender sehingga diperoleh sampel berupa serbuk daun, kulit batang, akar, dan buah Andaliman. Penelitian ini diawali dengan profil fitokimia untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang ada didalam kulit batang, daun, buah dan akar Andaliman.

Identifikasi senyawa Alkaloid dilakukan dengan pereaksi mayer's sehingga terbentuk endapan putih atau krem sebagai uji positif adanya alkaloid dan untuk pembanding digunakan tanaman daun pepaya[10]. Uji

Flavonoid dilakukan dengan cara sampel ditambah etanol dan dididihkan dengan menggunakan penangas air selama 5 menit. Kemudian disaring dalam keadaan panas. ditambahkan beberapa tetes HCl pekat dan pita magnesium 2 cm dan ditunggu 3 menit. Jika terbentuk warna merah jingga menunjukkan adanya flavonoid [11]. Sebagai pembanding digunakan tanaman daun bunga Merak[12]. Identifikasi senyawa Tanin dilakukan dengan pereaksi Besi (III) klorida 1%. Jika terjadi perubahan warna biru tua atau hitam kehijauan menunjukkan adanya tanin. Sebagai pembanding digunakan tumbuhan biji Alpokat[13].

Uji Saponin dilakukan dengan mereaksikan sampel dengan aquades mendidih, kemudian disaring. Filtrat dikocok selama 15 menit. Terbetuk lapisan busa stabil setinggi 2 cm mengidentifikasi adanya saponin [14]. Sebagai pembanding digunakan tanaman belimbing wuluh[15]. Uji steroid dan terpenoid menggunakan reagen liberman burchard. Terjadinya perubahan warna merah jingga/ungu sebagai uji positif untuk terpenoid dan warna biru uji positif steroid dan uji steroid dan terpenoid menggunakan plat KLT dilakukan dengan cara plat KLT diaktivasi, kemudian diberi tanda batas atas dan batas bawah sepanjang 1 cm. Ditotolkan sampel akar, kulit batang, daun dan buah hasil evaporator dengan jarak 1 cm antar sampel dibagian batas bawah dan dielus dengan pelarut n-heksana : etil asetat. Setelah dihasilkan noda-noda elusi kemudian plat KLT di beri H₂SO₄. Kemudian dipanaskan kembali dengan oven. Terbentuk warna ungu menunjukkan uji positif steroid. Warna pink menunjukkan uji positif terpenoid[16].

Ekstraksi daun, kulit batang, buah, dan akar Andaliman dilakukan dengan menimbang sebanyak 400 gram serbuk kering dari masing-masing bagian tumbuhan Andaliman dan ditambahkan 3 liter pelarut etanol 96% [17] sampai semua sampel terendam dengan pelarut dan dibiarkan selama 3 X 24 jam, sambil sesekali diaduk atau dikocok. Selanjutnya dilakukan penyaringan dan hasil residu kembali dimaserasi dengan 2 liter etanol selama 3 hari. Filtrat yang diperoleh digabung menjadi satu, lalu dipisahkan dengan menggunakan rotari evaporator[18].

Pembuatan larutan uji dilakukan dengan orientasi konsentrasi ekstrak sebesar 1000 ppm, 100 ppm, 10 ppm, 0 ppm (kontrol). Ekstrak kental etanol daun, kulit batang, akar, dan buah ditimbang sebanyak 1 gr dari setiap masing-masing bagian, kemudian dilarutkan dengan 100 mL etanol 96% sehingga diperoleh konsentrasi larutan induk 10.000 ppm dari setiap bagian tumbuhan Andaliman yang terdiri dari daun, kulit batang, buah dan akar. Kemudian dilakukan pengenceran larutan induk dengan konsentrasi 1000 ppm, 100 ppm, dan 10 ppm[19].

Penetasan larva udang dilakukan dalam wadah aquarium berbentuk kotak dengan ukuran panjang 40 cm dan lebar 20 cm dan tinggi 20 cm dibagi menjadi dua bagian yaitu ruang terang dan ruang gelap yang dibatasi dengan kaca, pembatas dilubangi dengan diameter 3 cm. Dimasukkan air laut ke dalam wadah aquarium hingga lubang pada kaca terendam. Kemudian ruang terang dalam wadah tersebut diberi penerangan dengan cahaya lampu pijar 5 W. Penerangan lampu dinyalakan selama 48 jam untuk menetas telur. Ruangan yang gelap diisi 1 gram telur udang kemudian ditutup sampai tidak terkena cahaya. Setelah 48 jam, telur akan menetas menjadi larva dan akan bergerak secara alamiah menuju ruang terang. Larva yang digunakan untuk hewan uji pada metode BSLT adalah larva yang sudah berumur 48 jam, aktif bergerak dan bersifat fototropik[20].

Uji toksisitas menggunakan metode BSLT dilakukan dengan menyiapkan tabung vial untuk tiap kelompok uji sesuai dengan orientasi konsentrasi dan direplikasi sebanyak 6 kali. Larutan uji dengan berbagai konsentrasi 10 ppm, 100 ppm dan 1000 ppm diambil 5 mL dan dimasukkan kedalam tabung vial, Lalu larutan uji yang ada dalam tabung vial dibiarkan mengering, setelah mengering ditambahkan DMSO 1% sebanyak 3 tetes dan air laut 1 mL. Untuk konsentrasi 0 ppm (Kontrol) dibuat dengan cara penambahan DMSO 3 tetes dan air laut 1 mL tanpa penambahan ekstrak daun, akar, kulit batang dan buah andaliman. Masukkan sebanyak 10 ekor larva *Artemia salina* kedalam tabung vial uji dan kontrol, lalu ditambahkan air laut hingga volumenya 5 mL kemudian diletakkan dibawah penerangan selama 24 jam diamati dan dihitung jumlah larva udang yang mati. Dilakukan pengulangan sebanyak 6 kali. Kriteria standar untuk menilai kematian larva udang adalah bila larva udang tidak menunjukkan pergerakan selama beberapa detik observasi. Cara manual yaitu dengan mengamati larva udang didalam vial dengan bantuan kaca lup dan bantuan cahaya matahari[21].

Pengolahan dan analisis data dengan menghitung persentase kematian (mortalitas) larva *Artemia salina* L pada tiap konsentrasi. Hasil perhitungan kematian diperoleh dari hasil perkalian rasio dengan 100% untuk tiap konsentrasi. Setelah itu, dibandingkan dengan kontrol dan dilakukan analisis sehingga didapatkan nilai LC₅₀. Dengan menggunakan metode analisis probit manual, maka dapat diketahui nilai probit dengan mengkonversi nilai persen kematian larva pada tiap konsentrasi ke nilai probit.

$$\text{Presentase kematian} = \frac{\text{Jumlah larva yang mati}}{\text{Jumlah larva hidup}} \times 100\%$$

Setelah mendapatkan persentase kematian, nilai probit dari tiap kelompok hewan uji ditentukan melalui

tabel probit. Kemudian menentukan log konsentrasi dan dibuat grafik dengan persamaan garis lurus hubungan antara nilai probit dengan log konsentrasi dengan rumus $y = mX + b$.

Nilai slope (m) dihitung dengan rumus :

$$m = \frac{\sum(X) \cdot \sum(Y) - n \sum(X \cdot Y)}{(\sum(X))^2 - n \sum(X)^2}$$

Nilai Intersep (b) dihitung dengan rumus :

$$b = \frac{\sum(X) \cdot \sum(X \cdot Y) - \sum(X)^2 \sum(Y)}{(\sum(X))^2 - n \sum(X)^2}$$

Metode analisis dapat pula menggunakan Microsoft Office Excel dengan membuat grafik persamaan garis lurus hubungan antara nilai probit dengan log konsentrasi. Nilai LC_{50} dapat dihitung dengan persamaan garis lurus tersebut dengan memasukkan nilai 5 (probit 50% kematian hewan uji) sebagai y sehingga dihasilkan x sebagai nilai log konsentrasi. Antilog nilai x tersebut merupakan nilai LC_{50} [22].

Setelah itu dicari standar deviasi dengan menggunakan rumus :

$$SD = \sqrt{\frac{n \sum_{i=1}^n X_i^2 - (\sum_{i=1}^n X_i)^2}{n(n-1)}}$$

Keterangan :

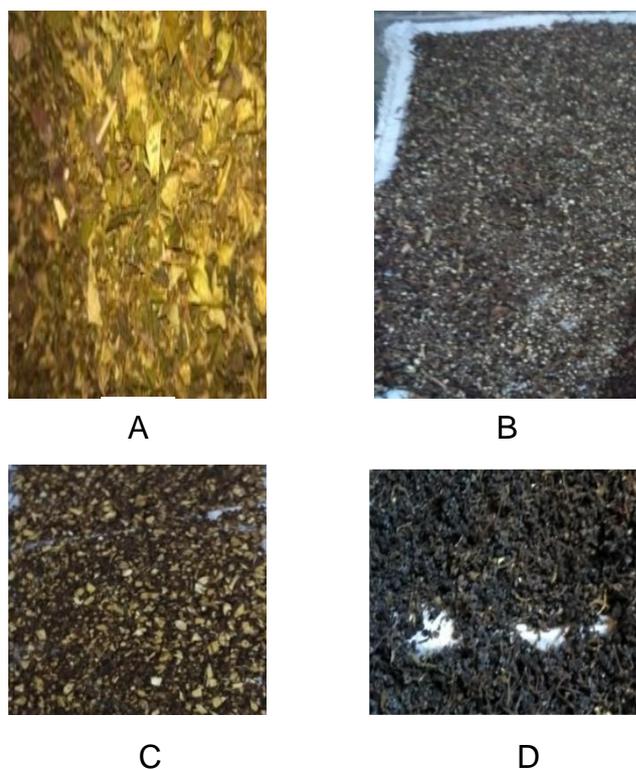
X_i = larva udang yang mati
s = Standar deviasi [23]

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada tahapan preparasi sampel. Dimana sampel akar, kulit batang, daun, dan buah Andaliman yang digunakan diambil di pegunungan di daerah Simarpinggian kecamatan Sipholon, Sumatera Utara. Akar, kulit batang, daun dan buah Andaliman dibersihkan bertujuan untuk menghilangkan kotoran, setelah itu setiap sampel ditimbang berat basahanya kemudian dipotong kecil-kecil dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dengan tujuan agar kadar air yang terdapat dalam daun, kulit batang, akar, dan buah Andaliman berkurang, sehingga memudahkan pada saat ekstraksi. Untuk mengetahui sampel sudah kering atau tidak dapat dilakukan dengan meremukkan ataupun mematahkan sampel, jika sampel mudah patah atau hancur maka dapat dikatakan sampel sudah kering. Kemudian sampel kering dihaluskan dengan menggunakan blender.

Berat sampel basah akar Andaliman sebanyak 3,1 kg, setelah dikeringkan didapat sampel kering sebanyak 1,2 kg sehingga diperoleh kadar air sampel

akar sebesar 61.290%. Selain itu, diperoleh juga berat sampel basah kulit batang Andaliman sebanyak 3,5 kg, setelah dikeringkan didapat sampel kering sebanyak 1,8 kg sehingga diperoleh kadar air sampel kulit batang sebesar 48,571%. Sedangkan untuk sampel basah daun sebanyak 3,2 kg setelah dikeringkan diperoleh sampel kering sebanyak 0,9 kg sehingga diperoleh kadar air sampel daun sebesar 71,875%. Serta berat sampel basah untuk buah Andaliman sebanyak 3 kg, setelah dikeringkan didapat sampel kering sebanyak 0,65 kg sehingga diperoleh kadar air sampel buah sebesar 78,33 %.



Gambar 1. A. Daun Andaliman, B. Kulit batang Andaliman, C. Akar andaliman, D. Buah Andaliman yang sudah kering

Profil fitokimia merupakan analisis kualitatif terhadap senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tumbuh-tumbuhan dan hewan. Senyawa-senyawa tersebut dapat diidentifikasi dengan pereaksi-pereaksi yang mampu memberikan ciri khas dari setiap golongan dari metabolit sekunder[25]. Berdasarkan hasil profil fitokimia yang diperoleh daun, akar, kulit batang, buah Andaliman dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Profil Fitokimia Akar, Kulit Batang, Daun dan Buah Andaliman

Profil Fitokimia	Pereaksi	Uji Positif	Tumbuhan pembanding	Hasil			
				Akar	Kulit Batang	Daun	Buah
Uji Alkaloid	Mayer	Endapan Putih	Daun Pepaya (++++) (Ratnawati, 2011)	++	++	+	+
Uji Flavonoid	Etanol + HCl + Mg	Merah magenta	Bunga Merak (+++) (Adfa, 2005)	+	++	+	+
Uji Terpenoid	Libermann-burchard	Merah muda	-	√	√	√	√
Uji Steroid	Libermann-burchard	Biru	-	-	-	-	-
Uji Tanin	FeCl ₃ 1%	Hitam Kehijauan	Biji Alpokat (++++) (Marlina, 2012)	-	+++	+++	++
Uji Saponin	Aquadess mendidih	Berbuih/berbusa	Belimbing Wuluh (++++) (fahrunida, 2015)	+	+++	+	++

Keterangan : sangat sedikit (+), sedikit (++), agak banyak(+++), banyak (++++), sangat banyak (++++), tidak ada (-), ada (√)

Ekstraksi adalah suatu metode umum yang digunakan untuk mengambil atau menarikan suatu produk atau senyawa dari bahan alam seperti dari jaringan tumbuhan, hewan, dan mikroorganisme. Hasil maserat yang diperoleh dari evaporator adalah akar 40 gram, daun 95 gram, kulit batang 60 gram, buah 51,39 gram. Sehingga diperoleh rendemen akar sebesar 10%, daun 23,75%, kulit batang 15%, dan buah 12,8475%.

Berdasarkan hasil penelitian uji sitotoksik daun Andaliman diperoleh hasil seperti tabel 2 Jumlah total kematian dihitung dengan menjumlahkan larva yang mati pada setiap konsentrasi. Rata-rata kematian larva diperoleh dengan cara (membagi jumlah total kematian larva dengan banyaknya pengulangan pada tiap konsentrasi) dibagi dengan jumlah total larva awal. pada konsentrasi yang sama. Perhitungan persentase kematian larva pada setiap konsentrasi diperoleh dengan cara rata-rata kematian pada tiap konsentrasi dikali 100%.

Berdasarkan hasil pada tabel 2 dapat dibuat grafik pengaruh konsentrasi ekstrak daun Andaliman terhadap kematian larva *Artemia salina* Leach.

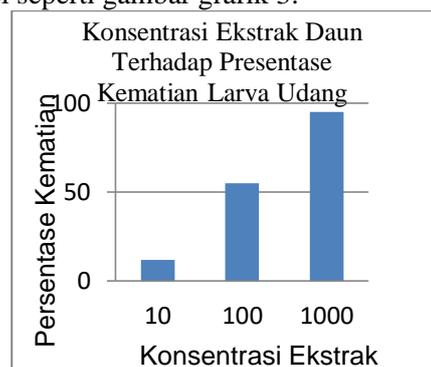
Pada gambar 2 dapat dilihat sampel daun Andaliman yang sangat toksik terdapat pada konsentrasi 1000 ppm dengan presentasi kematian 93% dibandingkan dengan 100 ppm dan 10 ppm yang hanya memiliki persentase kematian sebesar 55% dan 11,67%.

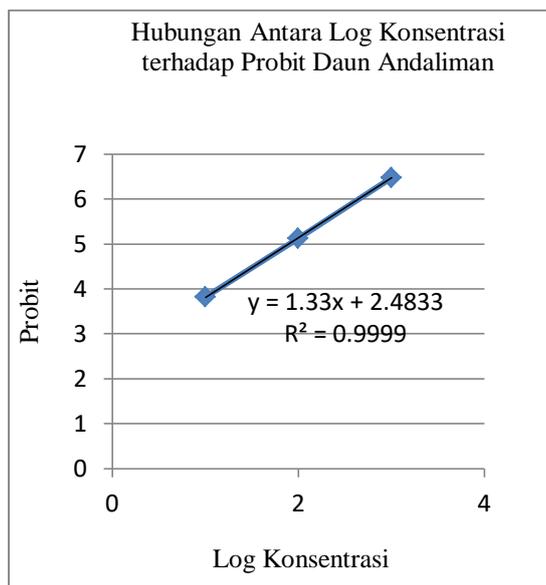
Tabel 2. Pengaruh Berbagai Konsentrasi Ekstrak Daun Andaliman Terhadap Angka Kematian Larva *Artemia salina* Leach.

Tabung Vial	Angka Kematian Larva <i>Artemia salina</i> Leach dari 10 Larva			Kontrol Negatif
	Konsentrasi ekstrak uji daun Andaliman (ppm)			
	1000	100	10	
P1	10	5	1	0
P2	9	6	1	0
P3	9	6	1	0
P4	10	6	1	0
P5	9	5	2	0
P6	9	5	1	0
Jumlah total Kematian	56	33	7	0
% Kematian	93	55	11,7	0
% kematian ± SD	93 ± 0,516	55 ± 0,548	11,67 ± ,408	0 ± 0
Probit	6,64	5,13	3,82	0,00

Hal ini sesuai dengan teori, bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak semakin banyak jumlah larva yang mati. Dikarenakan jumlah metabolit sekunder yang ada pada konsentrasi 1000 ppm lebih banyak dibandingkan dengan 100 atau 10 ppm. Selain itu dari persentase kematian larva tersebut dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak menghasilkan jumlah kematian larva yang semakin tinggi pula.

Ekstrak daun Andaliman memiliki aktivitas sitotoksik terhadap larva uji *Artemia salina* Leach ditentukan dari harga LC₅₀ yang artinya sebagian konsentrasi ekstrak yang mengakibatkan kematian sebanyak 50% dari populasi *artemia salina* Leach. Metode untuk menentukan harga LC₅₀ dengan menggunakan analisis probit terhadap log konsentrasi yang kemudian diplotkan dengan menggunakan persamaan regresi linier baik menggunakan analisis excel seperti gambar grafik 3.

Gambar 2. Grafik pengaruh konsentrasi ekstrak daun Andaliman terhadap kematian Larva *Artemia salina* Leach



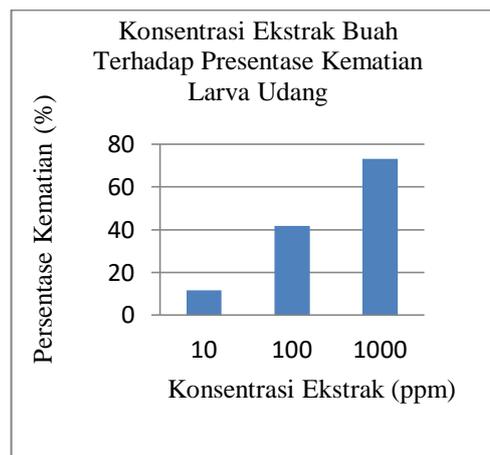
Gambar 3. Grafik hubungan antara probit dengan Log konsentrasi

Berdasarkan grafik regresi linear gambar 3 dapat ditarik persamaan garis lurus $Y = mx + c$ dengan Y adalah 5, nilai x sebesar $x = 1,892$. Sehingga nilai LC_{50} dari ekstrak daun Andaliman sebesar 77, 983 ppm. Berdasarkan katagori toksisitas menurut Meyer (1982) mengatakan bahwa daun Andaliman bersifat toksik karena memiliki nilai LC_{50} sebesar 77, 983 ppm.

Berdasarkan hasil pengamatan uji sitotoksik buah Andaliman diperoleh data seperti tabel 3. Berdasarkan hasil pada tabel 3 dapat dibuat grafik pengaruh konsentrasi ekstrak buah Andaliman terhadap kematian Larva *Artemia salina* Leach pada gambar 4.

Tabel 3. Pengaruh Berbagai Konsentrasi Ekstrak buah Andaliman terhadap Larva *Artemia salina* Leach.

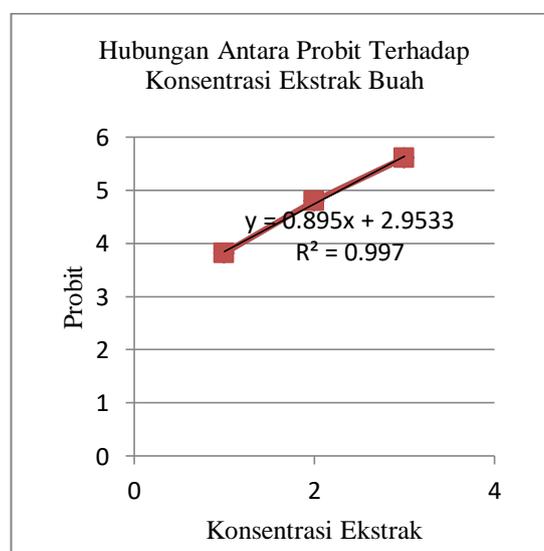
Tabung Vial	Angka Kematian Larva <i>Artemia salina</i> Leach dari 10 Larva			Kontrol Negatif
	Konsentrasi ekstrak uji buah Andaliman (ppm)			
	1000	100	10	
P1	7	4	1	0
P2	7	4	2	0
P3	7	4	1	0
P4	8	5	1	0
P5	8	4	1	0
P6	7	4	1	0
Jumlah larva mati	44	25	7	0
% Kematian	73	41,7	11,7	0
% kematian ± SD	73± 0,516	41,7± 0,408	11,67± 0,408	0±0
Probit	5,61	4,80	3,82	0,00



Gambar 4. Grafik pengaruh konsentrasi ekstrak buah Andaliman terhadap kematian Larva *Artemia salina* Leach.

Jika dilihat pada gambar 4 sampel buah Andaliman yang sangat toksik terdapat pada konsentrasi 1000 ppm dengan presentasi kematian 73% dibandingkan dengan 100 ppm dan 10 ppm yang hanya memiliki persentase kematian sebesar 41,6% dan 11,67%.

Aktivitas sitotoksik dari ekstrak pekat terhadap larva uji *Artemia salina* Leach dapat diketahui dari harga LC_{50} yang artinya sebagian konsentrasi ekstrak yang mengakibatkan kematian sebanyak 50% dari populasi *artemia salina* Leach. metode ini dilakukan dengan menentukan harga LC_{50} dengan analisis probit terhadap log konsentrasi yang kemudian diplotkan dengan menggunakan persamaan regresi linier baik menggunakan analisis excel seperti gambar grafik berikut :



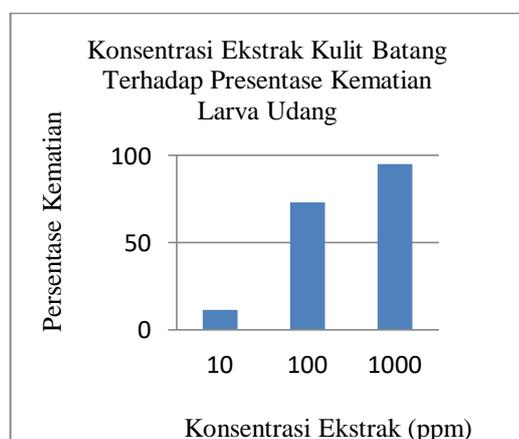
Gambar 5. Grafik hubungan antara Probit terhadap Konsentrasi Ekstrak

Grafik regresi linear Gambar 5 dapat ditarik persamaan garis lurus $Y = mx + c$ dengan Y adalah 5. Dari grafik diatas didapat x sebesar $x = 2,282$. Sehingga nilai LC_{50} dari ekstrak buah Andaliman sebesar 191.426 ppm. Jika dilihat dari nilai LC_{50} yang dihasilkan buah Andaliman dikatakan tergolong dalam katagori toksik (Meyer, 1982). Berdasarkan hasil pengamatan uji sitotoksik kulit batang Andaliman diperoleh data seperti tabel 4.

Tabel 4. Pengaruh Berbagai Konsentrasi Ekstrak kulit batang Andaliman terhadap Larva *Artemia salina* Leach.

Tabung Vial	Angka Kematian Larva <i>Artemia salina</i> Leach dari 10 Larva			Kontrol Negatif
	Konsentrasi ekstrak uji kulit batang Andaliman (ppm)			
	1000	100	10	
P1	10	7	1	0
P2	9	7	2	0
P3	9	8	1	0
P4	10	8	2	0
P5	10	7	1	0
P6	9	7	1	0
Jumlah larva mati	57	44	8	0
% Kematian	95	73	11,33	0
% kematian \pm SD	95 \pm 0,5 47	73 \pm 0,516	11,33 \pm 0, 516	0 \pm 0
Probit	6,64	5,61	3,77	0,00

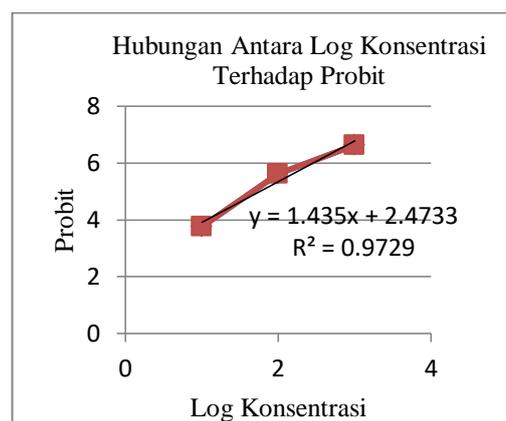
Berdasarkan hasil pada tabel 4. dapat dibuat grafik pengaruh konsentrasi ekstrak kulit batang Andaliman terhadap kematian Larva *Artemia salina* Leach.



Gambar 6. Grafik pengaruh konsentrasi ekstrak kulit batang Andaliman terhadap kematian Larva *Artemia salina* Leach.

Pada Gambar 6 sampel kulit batang Andaliman yang sangat toksik terdapat pada konsentrasi 1000 ppm dengan presentasi kematian 95% dibandingkan dengan 100 ppm dan 10 ppm yang hanya memiliki persentase kematian sebesar 73% dan 11,33% karena semakin tinggi konsentrasi ekstrak menghasilkan jumlah kematian larva yang semakin tinggi pula. Hal ini dikarenakan jumlah metabolit sekunder yang ada pada konsentrasi 1000 ppm lebih banyak dibandingkan dengan 100 atau 10 ppm.

Menentukan harga LC_{50} dengan analisis probit terhadap log konsentrasi yang kemudian diplotkan dengan menggunakan persamaan regresi linier



Gambar 7. Grafik pengaruh log konsentrasi ekstrak kulit batang Andaliman terhadap probit.

Berdasarkan grafik regresi linear gambar 7 dapat ditarik persamaan garis lurus $Y = mx + c$ dengan Y adalah 5. Dari grafik diatas didapatkan x sebesar $x = 1,167$. Sehingga nilai LC_{50} dari ekstrak kulit batang Andaliman sebesar 57,677 ppm. Berdasarkan tingkat kategori sifat sitotoksik menurut mayer, dapat dikatakan bahwa kulit batang Andaliman berada dalam tingkatan yang bersifat toksik jika dilihat dari nilai LC_{50} sebesar 57,677 ppm.

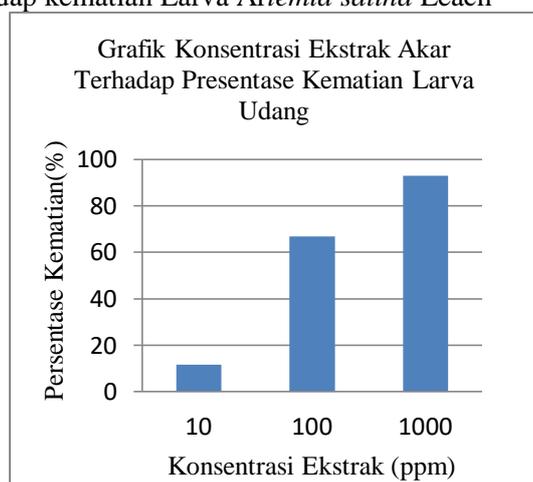
Berdasarkan hasil pengamatan uji sitotoksik menggunakan akar Andaliman diperoleh data seperti tabel 5

Tabel 5. Pengaruh Berbagai Konsentrasi Ekstrak akar Andaliman terhadap Larva *Artemia salina* Leach.

Tabung Vial	Angka Kematian Larva <i>Artemia salina</i> Leach dari 10 Larva			Kontrol Negatif
	Konsentrasi ekstrak uji akar Andaliman (ppm)			
	1000	100	10	
P1	9	7	1	0
P2	9	7	1	0

P3	10	6	2	0
P4	9	6	1	0
P5	9	7	1	0
P6	10	7	1	0
Jumlah larva mati	56	40	7	0
% Kematian	93	66,7	11,67	0
% kematian±SD	93±0,5 16	66,7± 0,516	11,67±0, 408	0±0
Probit	6,48	5,44	3,82	0,00

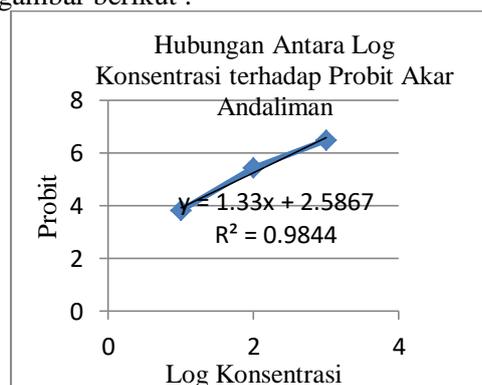
Berdasarkan hasil pada tabel 5. dapat dibuat grafik pengaruh konsentrasi ekstrak akar Andaliman terhadap kematian Larva *Artemia salina* Leach



Gambar 8 grafik pengaruh konsentrasi ekstrak akar Andaliman terhadap kematian Larva *Artemia salina* Leach.

Pada gambar 8 Sampel akar Andaliman yang sangat toksik terdapat pada konsentrasi 1000 ppm dengan presentasi kematian 95% dibandingkan dengan 100 ppm dan 10 ppm yang hanya memiliki persentase kematian sebesar 73% dan 11,33%.

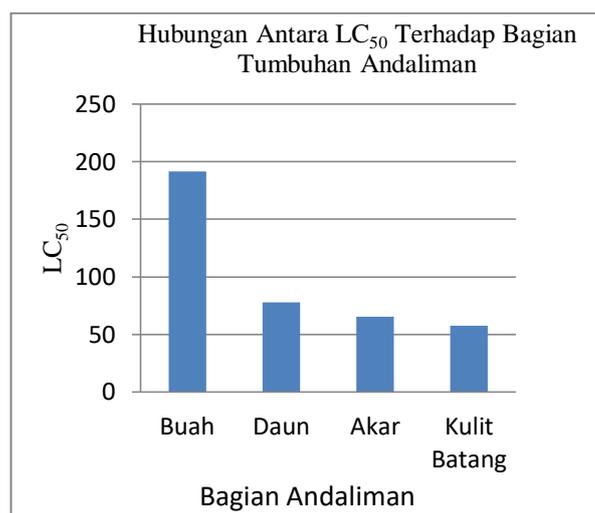
Menentukan harga LC_{50} digunakan analisis persamaan regresi linier antara probit sebagai sumbu Y terhadap log konsentrasi sebagai sumbu x yang kemudian diplotkan dengan menggunakan analisis excel seperti gambar berikut :



Gambar 9. Grafik pengaruh log konsentrasi ekstrak akar Andaliman terhadap probit.

Berdasarkan grafik regresi linear Pada gambar 9 dapat ditarik persamaan garis lurus $Y = mx + c$ dengan Y adalah 5. Dari grafik diatas didapatkan x, sebesar $x = 1,815$. Sehingga nilai LC_{50} dari ekstrak akar Andaliman sebesar 65,313 ppm. Berdasarkan tingkat sitotoksik menurut Mayer 1982, dapat disimpulkan bahwa Akar Andaliman berdasarkan nilai LC_{50} berada dalam tingkatan yang bersifat toksik.

Sampel akar, kulit batang, daun dan buah yang paling bersifat toksik terhadap larva udang. Berdasarkan hasil perhitungan LC_{50} yang diperoleh dari akar, kulit batang, daun dan buah Andaliman dapat dibuat grafik perbandingan LC_{50} terhadap bagian tumbuhan Andaliman pada gambar 5.1.



Gambar 10. Grafik hubungan antara LC_{50} terhadap Bagian Tumbuhan Andaliman

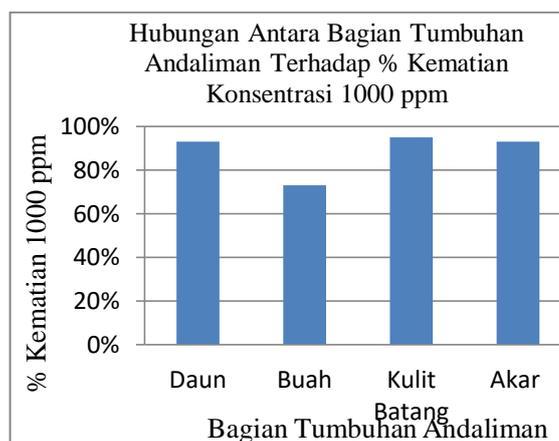
Pada gambar 10 dapat terlihat bahwa LC_{50} yang paling tertinggi dimiliki oleh buah Andaliman, hal ini menyatakan bahwa sampel buah Andaliman Kurang toksik terhadap larva udang *Artemia salina* Leach jika dibandingkan dengan sampel akar, kulit batang dan daun. karena sampel buah Andaliman memiliki LC_{50} sebesar 191,426 ppm, daun sebesar 77,983 ppm, kulit batang sebesar 57,677 ppm dan sampel akar sebesar 65,313 ppm. Menurut Mayer (1982) mengatakan bahwa suatu sampel dikatakan sangat toksik jika $LC_{50} < 30$ ppm, bersifat toksik saja jika $LC_{50} 30-1000$ ppm dan bersifat tidak toksik jika $LC_{50} > 1000$ ppm. Jika dilihat dari LC_{50} yang diperoleh dari setiap bagian tumbuhan Andaliman, bagian tumbuhan Andaliman yang bersifat lebih toksik terhadap larva udang adalah yang pertama kulit batang dan yang kedua akar, karena kulit batang dan akar mempunyai LC_{50} yang paling tekecil dari keempat bagian tumbuhan yakni sebesar sebesar 57,677 ppm untuk kulit batang dan sampel akar sebesar 65,313 ppm. Kulit batang dapat bersifat lebih toksik jika dibandingkan dengan akar, buah dan daun Andaliman karena kandungan metabolit sekunder yang terdapat

pada kulit andaliman lebih banyak dibandingkan akar, buah dan daun.

Zat aktif yang terkandung di dalam daun, akar, kulit batang dan buah Andaliman dapat membunuh *Artemia salina* Leach adalah saponin, alkaloid, tanin, flavonoid dan terpenoid. Menurut Simajuntak (2001) mengatakan bahwa metabolit sekunder saponin dapat menurunkan tegangan permukaan selaput saluran pencernaan sehingga dinding saluran pencernaan menjadi rusak. Metabolit sekunder alkaloid dapat membunuh *Artemia salina* Leach karena alkaloid merupakan komponen aktif yang bekerja di saraf yang juga dapat menyebabkan gangguan pencernaan karena alkaloid dapat bertindak sebagai racun melalui mulut larva. Hal ini mengakibatkan larva gagal mendapatkan stimulus rasa sehingga tidak mampu mengenali makanannya sehingga larva mati kelaparan. Kandungan metabolit sekunder flavonoid dan tanin dapat membunuh larva udang yang dianggap seperti sel kanker karena komponen aktif pada flavonoid dan tanin dapat mengaktifkan mekanisme jalur apoptosis sel kanker, selain itu flavonoid juga dapat menghambat proliferasi sel kanker (Robinson, 1991).

Persentase kematian larva udang pada larutan uji 1000 ppm akar, kulit batang, daun dan buah andaliman. Pada konsentrasi 10 ppm, 100 ppm, dan 1000 ppm, yang menghasilkan persen kematian larva udang terbesar terletak pada konsentrasi 1000 ppm, karena konsentrasi 1000 ppm mempunyai kandungan metabolit sekunder yang terbesar dibandingkan dengan konsentrasi 10 ppm dan 100 ppm. Berikut ini hasil persentase kematian larva udang *Artemia salina* Leach terhadap bagian tumbuhan Andaliman.

Dari gambar 11 diperoleh data dimana % kematian tertinggi dimiliki oleh tumbuhan Andaliman bagian kulit batang sebesar 95%. Sampel akar memiliki % kematian sebesar 93%, daun sebesar 93% dan buah sebesar 73%. Kulit batang memiliki % kematian tertinggi karena pada bagian kulit batang banyak mengandung metabolit sekunder (dalam tabel 1) yang jumlahnya kadarnya lebih banyak dibandingkan pada sampel akar, buah dan daun Andaliman. Banyaknya jumlah kadar metabolit sekunder pada kulit batang disebabkan adanya jaringan xilem dan floem yang merupakan jaringan yang mengangkut hasil fotosintesis berupa glukosa dan unsur-unsur hara, sehingga kandungan metabolit sekunder banyak terdapat pada kulit batang.



Gambar 11. Grafik Batang hubungan antara % kematian terhadap Bagian Tumbuhan Andaliman

KESIMPULAN

Hasil uji profil fitokimia daun, kulit batang, buah dan akar Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, fenolik, saponin, dan tanin serta ekstrak yang paling berpotensi sebagai obat antikanker adalah kulit batang dan akar karena memiliki LC_{50} yang kecil diantara ke empat bagian sampel Andaliman, hasil LC_{50} akar, kulit batang, daun dan buah Andaliman secara berturut-turut adalah 65,313 ppm, 57,677 ppm, 77,983 ppm, serta 191,426 ppm.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui senyawa aktif yang terdapat didalam akar, kulit batang, daun dan buah Andaliman yang berpotensi sebagai obat antikanker.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Kementerian Kesehatan RI. 2015. *Stop Kanker*. Jakarta : Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI. ISBN. 978-602-288-145-2
- [2] Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia. 2007. *Mengenai Kebijakan Obat Tradisional Nasional*. Nomor 381/MENKES/ SK/III/2007
- [3] Wijaya, Cindy A., Muchtaridi M. 2014. Pengobatan kanker melalui metode gen terapi. *Jurnal Farmaka*. 2014 : 15 (1) : 53-58
- [4] Adelina, R., Rahmi F., Intan S. O., Putri Reno Intan. Ekstrak daun *Annona muricata* Linn Sebagai Antiproliferasi Terhadap Sel Hepar Tikus 7,12 Dimetilbenz (a) antracene (DMBA). *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. 2013 : 4 (1) : 1-4
- [5] Media Unika, 2012. *Andaliman (Zanthoxylum Acanthopodium DC) Dan Pemanfaatannya*, No. 84/ TH. XXV April – Juni 2012 : 123-125
- [6] Chou, T.Su., Hsiu-Hui C., Hsin-Yi P., Meei-jen L., Tian S. W. Isolation Of Substance With

- Antiploriferative And Apoptosis-Inducing Activities Against Leukimia Cell From The Leaves Of *Zanthoxylum ailanthoides* Sieb. & Zucc. *Jurnal Phytomedicine*. 2011 : 18 : 344-348
- [7] Tensiska., Hanny W., Nuri A. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) dalam Beberapa Siste Pangan dan Kesetabilan Aktivitas Terhadap Kondisi Suhu dan pH. *Jurnal teknol dan industri pangan*. 2003 : 14(1) : 29-39
- [8] Wijaya, C.H. Telaah Ringkas Rempah-rempah Tradisional. Andaliman, Rempah Tradisional Sumatera Utara dengan Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba. Buletin Teknologi dan Industri Pangan. *Jurnal Bul.teknol dan industri pangan*. 1999: 10 (2) : 51-69
- [9] Vivi L., Sumali W., Broto S.K. Brine Shrimp Lethality Test (Bslt) Dari Berbagai Fraksi Ekstrak Daging Buah Dan Kulit Biji Mahkota D E-A (*Phaleria Macrocarpa*). *Jurnal Bul. Panel. Kesehatan*. 2006 : 34 (3) : 111-117
- [10] Ratnawati, D. Preliminary Test of Determination of Alkaloid and Steroid Compounds and BioassaYon Some Vegetable Plant Extract. *Jurnal Gradien* 2011 : 7 (2) : 692-6
- [11] Agustina, W., Nurhamidah., Dewi, H. Skrining Fitokimia dan aktivitas antioksidan beberapa fraksi dari kulit batang jarak (*Ricinnus communis* L). *Alotrop* 2017:1(2):117-122
- [12] Adfa, M. Survey Etnobotani, Studi Senyawa Flavonoid Dan Uji Brine Shrimp Beberapa Tumbuhan Obat Tradisional Suku Serawai Di Provinsi Bengkulu. *Jurnal Gradien*. 2005 : 1 (1) : 43-50
- [13] Marlina., Meiske S., Audy D. Analisa Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol Biji Buah Alpokat (*Parcea americana* Mill). *Jurnal Unstrat Online* 1 (1) : 24-28
- [14] Ikalinus, R., Sri K.Y., Ni L.E.S. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera*). *Jurnal Indonesia Medicus Veterinus*. 2015 4(1) : 71-79
- [15] Fahruida., Rarasteoti. P. Kandungan Saponin, Buah, Daun Dan Tangkai Daun (*Averrhoa balimbi* L). *Jurnal ilmiah sains* 2015 : 1 (1) :220-204
- [16] Arundina, M ., Theresia I. B., Muhamma L., Retno I. Identifikasi Kromatografi Lapis Tipis Sudamala (*Ertemisia vulgaris* L) Maj Ked Gi Ind 1 (2) : 167-171
- [17] Pangestu N.S., Nurhamida., Elvinawati. Aktivitas antioksidan dan antibakteri ekstrak daun *Jatropha gossypifolia* L. *Jurnal Alotrop*. 2017: 1(1) : 15-19
- [18] Zuhra, C. F., J. Br. Tarigan., H. Sitohang. Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dan Daun katuk (*Saouropus androgunus* (L) Merr). *Jurnal Biologi Sumatera*. 2008 : 3(1) : 7-10
- [19] Yulia , Mega., Devahimer H.R. Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol dari Variasi Teh Daun Sirsak (*Annona muricata* linn) Terhadap Larva Udang (*Artemia salina* leach). *Jurnal scientia*. 2016 : 6 (1) : 13-16
- [20] Simanjuntak, P., Samsuedin R., Parwati T., Widayanti. Uji Toksisitas Ekstrak Tumbuhan Sukun Anno naceae. *Jurnal Biologi Indonesia*. 2001 : 3(1) : 5-6
- [21] Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnarn, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. E. and Mc Laughlin, J. L. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Planta Medica. Jurnal Of Medical Plant Research*. 1982 : 45 (1) : 31-34
- [22] Priyanto, B., Lilian. Farmokoterapi & Terminologi Medis. Jawa Barat : Lembaga Studi dan Konsultasi Farmokologi. ISBN : 979-172-022-9
- [23] Siregar, Syofian. 2011. *Statistik Deskriptif untuk Penelitian*. Rajawali Pers. Jakarta. ISBN 978-979-769-310-7