

Artikel

UJI SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL DAUN KEMUMU (*Colacasia gigantea* Hook.f) DENGAN METODE BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BSLT)

Hesti Marliza ^{1*}, Dita Oktaviani ²

¹Institut Kesehatan Mitra Bunda; email: hesti79id@gmail.com

²Akademi Analisis Kesehatan Putra Jaya Batam; dita961026okta@gmail.com

Didaftarkan: 15 Oktober 2020; Direvisi: 24 Maret 2021; Terima: 29 April 2021

Abstrak: Tanaman Talas famili *Araceae* merupakan salah satu tanaman yang dipercayai memiliki senyawa sitotoksik terhadap sel kanker. Kemumu disebut juga talas padang (*Colacasia gigantea* Hook.f.) merupakan tanaman yang termasuk famili *Araceae*, namun belum ada laporan penelitian tentang aktivitas toksisitasnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh toksisitas ekstrak dan nilai efektifitas toksik ekstrak daun Kemumu/Talas Padang (*Colacasia gigantea* Hook.f.) terhadap larva udang (*Artemia salina* Leach) dengan menggunakan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Ekstrak etanol yang digunakan konsentrasi 500 ppm, 250 ppm, 125 ppm, 25 ppm, 12,5 ppm dan 0 ppm (control), kemudian diamati dalam 24 jam. Hasil penelitian aktivitas sitotoksitas dari ekstrak etanol daun kemumu terhadap *Artemia salina* Leach dengan nilai LC_{50} 75,093 ppm. Hal ini menunjukkan ekstrak etanol daun kemumu bersifat sitotoksik dan berpotensi sebagai antikanker.

Kata Kunci: Kemumu (*Colacasia gigantea* Hook.f); Sitotoksik; Larva Udang (*Artemia salina* Leach); Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

1. Pendahuluan

Indonesia kaya akan tumbuh-tumbuhan bermanfaat. Baik pemanfaatan dalam hal sandang maupun pangan. Pemanfaatan pangan pada tumbuh-tumbuhan salah satunya adalah sebagai obat tradisional dalam mengatasi masalah kesehatan. Penggunaan obat tradisional disukai masyarakat karena dipercayai tidak mempunyai efek samping yang berbahaya seperti obat-obatan dari bahan kimia. Salah satu pemanfaatan obat tradisional adalah untuk terapi kanker. Kanker dikenal sebagai penyakit yang berbahaya dan sukar untuk disembuhkan. Pada stadium lanjut dapat mengakibatkan kematian.

Suatu senyawa atau zat yang dapat merusak sel normal dan sel kanker atau dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan sel tumor malignan disebut senyawa sitotoksik [1]. Tanaman Talas diduga memiliki kandungan yang diantaranya yaitu flavonoid dan saponin [2]. Tanaman Talas famili *Araceae* merupakan salah satu tanaman obat yang digunakan untuk pengobatan kanker secara alami [11]. Salah satunya adalah Keladi Tikus (*Typhonium divaricatum* (L.) Decne) yang memiliki senyawa toksik berkhasiat

membunuh atau menghambat pertumbuhan sel kanker [3,4]. Kemumu juga disebut Talas Padang (*Colacasia gigantea* Hook.f.) juga merupakan talas yang termasuk famili *Araceae*. Untuk mengetahui potensi Kemumu (*Colacasia gigantea* Hook.f.) sebagai anti tumor dan antikanker maka perlu dilakukan pengujian toksisitas ekstrak menggunakan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). BSLT merupakan salah satu metode uji toksisitas yang banyak digunakan dalam penelusuran senyawa bioaktif yang bersifat toksik dari bahan alam [5]. Suatu senyawa dikatakan toksik berdasarkan metode BSLT jika harga *Lethal Concentration* (LC) $50 < 1000 \mu\text{g/ml}$ [2]. Metode ini memiliki keuntungan diantaranya waktu pelaksanaan yang cepat, biayanya lebih murah, praktis, tidak memerlukan teknis yang aseptis, sampel yang relatif sedikit dan hasil ujinya berkorelasi baik dengan beberapa metode uji sitotoksik

2. Material dan Metode

2.1 Penyiapan sampel

2.1.1 Pengolahan Sampel

Daun kemumu yang sudah diambil kemudian dibersihkan dan dicuci dengan air bersih. Daun kemumu kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan terlindung dari sinar matahari. Daun kemumu yang sudah kering lalu dipotong-potong kecil dengan gunting dan diblender agar halus.

2.1.2 Ekstraksi Sampel dengan Metode Maserasi

Serbuk daun kemumu (*Colacasia gigantea* Hook. f) ditimbang 170 gr untuk diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 80%. Sampel dimasukkan ke dalam bejana maserasi kemudian direndam dengan etanol 80% sebanyak 1200 ml. Wadah maserasi ditutup dan disimpan selama 3 x 24 jam di tempat yang terlindung sinar matahari langsung, selanjutnya disaring, dipisahkan antara ampas dan filtrat. Ampas diekstraksi kembali dengan etanol 80% yang baru dengan jumlah yang sama, dilakukan berulang kali sampai hasil rendaman tidak terlalu pekat. Ekstrak etanol yang diperoleh kemudian diuapkan pelarut etanolnya menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental.

2.2.1 Uji Toksisitas dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* [1]

2.2.2 Penetasan Larva Udang

Penetasan larva *Artemia salina* Leach dilakukan dengan menyiapkan bejana untuk penetasan telur udang lalu di satu ruang dalam bejana tersebut diletakkan lampu untuk menghangatkan suhu dalam penetasan, sedangkan di ruang sebelahnya diberi air laut. Kedalam air laut dimasukkan 100 mg telur udang untuk ditetaskan. Pada bagian telur ditutup dengan aluminium foil, dan lampu dinyalakan selama 48 jam untuk menetas telur. Diambil larva udang yang akan diuji dengan pipet.

2.2.3 Pembuatan Konsentrasi Larutan Uji dan Kontrol

Buat larutan induk dari 200 mg ekstrak kental lalu dilarutkan dengan aquades hingga volumenya mencapai 100 ml, sehingga diperoleh konsentrasi larutan induk 2000 ppm. Kemudian dibuat seri konsentrasi uji dengan pengenceran dari larutan induk yang telah dibuat.

2.2.4 Prosedur Uji Sitotoksik dengan Metode BSLT

Dibuat seri konsentrasi uji 500 ppm, 250 ppm, 125 ppm, 25 ppm, 12,5 ppm sebanyak 10 ml (triplo). Dimasukkan larva *Artemia salina* Leach yang berumur 48 jam sebanyak 10 ekor kedalam masing-masing tabung. Tabung reaksi dibiarkan di tempat terbuka selama 24 jam, setelah 24 jam maka dihitung jumlah larva yang mati. Kriteria standar mengukur kematian larva adalah apabila larva tidak menunjukkan pergerakan selama pengamatan. Dihitung persentase kematian dan dianalisa menggunakan analisis probit.

Persen kematian larva dihitung dengan menggunakan rumus [7]

$$\% \text{Kematian} = \frac{\Sigma \text{larva uji yang mati} - \Sigma \text{larva kontrol yang mati}}{\text{jumlah larva uji}} \times 100\%$$

2.2 Analisis Kandungan Fitokimia [2]

2.3.1 Uji Alkaloid

Sebanyak 1 gr ekstrak daun kemumu dimasukan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 2 mL kloroform dan 2,5 mL ammonia 10%, lalu ditambahkan 10 tetes asam sulfat 2 M untuk memperjelas pemisahan terbentuknya 2 fase yang berbeda. Bagian atas dari fase yang terbentuk diambil, kemudian ditambahkan reagen Mayer. Keberadaan alkaloid dalam sampel ditandai dengan terbentuknya endapan putih atau kabut putih

2.3.2 Uji Flavonoid

Sebanyak 1 gr ekstrak daun kemumu dimasukan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan serbuk magnesium secukupnya dan 10 tetes asam klorida pekat. Keberadaan flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna merah atau merah kecoklatan pada larutan.

2.3.3 Uji Tanin

Sebanyak 1 gr ekstrak daun kemumu ditambahkan dengan air panas, kemudian di tetesi menggunakan besi (III) klorida, keberadaan tanin dalam sampel ditandai dengan timbulnya warna hijau kehitaman.

2.3.4 Uji Saponin

Sebanyak 1 gr ekstrak daun kemumu ditambahkan dengan akuades kemudian dikocok kuat selama kurang lebih 1 menit. Selanjutnya didiamkan selama 10 menit dan diamati buih atau busa yang terbentuk. Keberadaan senyawa saponin dalam sampel ditandai dengan terbentuknya buih yang stabil selama 10 menit dengan tinggi 3 cm.

2.3.5 Uji Steroid dan Terpenoid

Sebanyak 1 gr ekstrak daun kemumu ditambahkan kloroform sebanyak 20 tetes, setelah itu dikocok. Masing-masing asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat sebanyak 2 tetes ditambahkan pada filtrat. Steroid memberikan warna biru atau hijau, sedangkan terpenoid memberikan warna merah atau ungu.

2.3 Analisis Data

Data hasil Penelitian akan diolah dan disajikan dalam bentuk tabel, grafik dan penentuan LC₅₀ menggunakan table probit.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Hasil

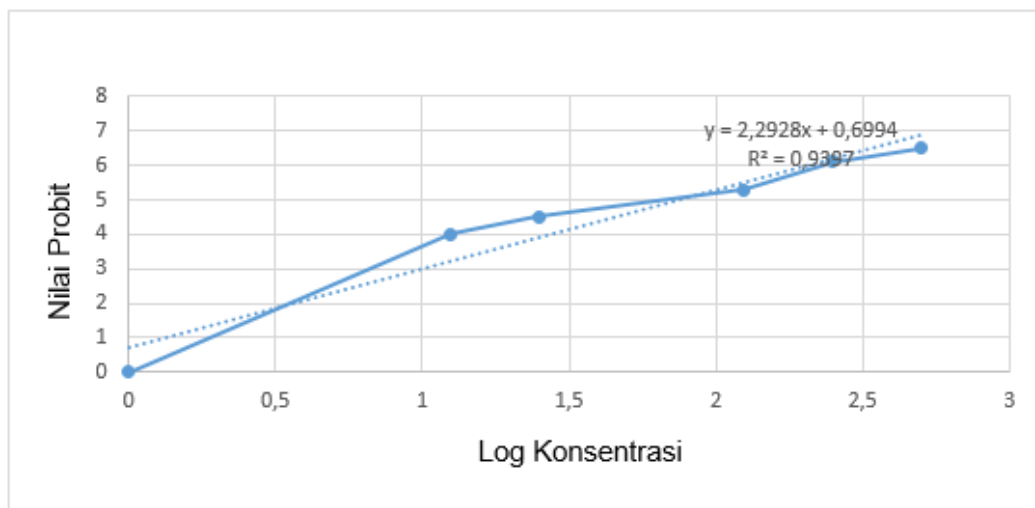
Berdasarkan Tabel 1 dapat dilihat persentase kematian larva *Arthemia salina* Leach tertinggi pada konsentrasi 500 ppm dan terendah pada konsentrasi 12,5 ppm. Persentase kematian semakin meningkat dengan peningkatan konsentrasi larutan uji, untuk kelompok kontrol tidak terdapat larva *Arthemia salina* Leach yang mati sehingga dapat disimpulkan bahwa kematian pada larva *Arthemia salina* Leach murni disebabkan oleh ekstrak etanol daun kemumu (*Colacasia gigantea* Hook.f).

Tabel 1. Pengaruh konsentrasi ekstrak etanol daun kemumu terhadap *Artemia salina* Leach

Konsentrasi (ppm)	Perlakuan			Total Kematian	Rerata Kematian	Persen Kematian
	T1	T2	T3			
0	0	0	0	0	0	0
12,5	2	2	1	5	1,6	16,6
25	4	2	3	9	3	30
125	6	6	7	19	6,3	63,3
250	9	9	8	26	8,6	86,6
500	9	10	9	28	9,3	93,3

Tabel 2. Perhitungan nilai LC₅₀ dengan metode probit

Konsentrasi (ppm)	Log Konsentrasi (X)	% Kematian	Probit (Y)	X ²	Y ²	XY
12,5	1,096	16,6	4	1,2	16	4,38
25	1,397	30	4,5	1,95	20,25	6,28
125	2,096	63,3	5,3	4,39	28,09	11,1
250	2,397	86,6	6,1	5,75	37,21	14,62
500	2,698	93,3	6,5	7,28	42,25	17,53
Jumlah Σ	9,684	289,8	26,4	20,57	143,8	53,91



Gambar 1. Persamaan regresi linier ekstrak etanol daun talas padang (*Colacasia gigantea* Hook.f.)

Dari Tabel 2. diperoleh data untuk perhitungan persamaan regresi linier hubungan antara Y (nilai probit dari persentase kematian) dan X (log konsentrasi). Persamaan regresi linier dapat dilihat pada Gambar 1. Dari Gambar 1 diperoleh nilai $Y=2,2928x + 0,6994$ sehingga diperoleh nilai LC_{50} yaitu 75,093 ppm.

Tabel 3. Hasil Skринning Fitokimia Ekstrak etanol daun Kemumu

Uji	Hasil	Hasil fitokimia
Alkaloid	Pereaksi Meyer membentuk endapan putih atau krem	+
Flavonoid	Terbentuk larutan warna merah	+
Tanin	Terbentuk larutan hitam kebiruan atau hijau	+
Saponin	Terdapat busa yang bertahan selama 10 menit	-
Terpenoid	Larutan kecoklatan atau violet	+
Steroid	Larutan biru kehijauan	+

Keterangan: + (Ekstrak mengandung senyawa metabolit sekunder), - (Ekstrak tidak mengandung senyawa metabolit sekunder)

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun talas padang (*Colacasia gigantea* Hook.f). Sampel yang telah diperoleh dibersihkan dengan cara dicuci bersih dengan air mengalir, lalu sampel dipotong-potong kecil untuk memudahkan dalam proses pengeringan. Setelah itu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dengan tidak disinari matahari langsung. Pengeringan bertujuan untuk menghindari pertumbuhan mikroba sebagaimana telah diketahui bahwa medium berair dan lembab akan lebih mudah ditumbuhi mikroba atau jamur. Setelah cukup kering sampel

diblender agar lebih halus, hal ini dilakukan untuk memperbesar luas permukaan sampel sehingga kontak antara pelarut dan sampel lebih besar sehingga memudahkan melarutkan komponen kimia yang terdapat dalam sampel. Selanjutnya sampel diekstraksi dengan menggunakan metode yang sesuai.

Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini menggunakan metode maserasi. Metode tersebut dipilih karena merupakan metode yang paling sederhana dengan peralatan yang relatif mudah untuk didapatkan. Selain itu maserasi dilakukan tanpa adanya tahap pemanasan sehingga dapat menghindari terjadinya kerusakan komponen senyawa-senyawa yang tidak tahan panas pada daun kemumu. Sampel diekstraksi dengan pelarut etanol 80 % selama 3 hari. Sampel yang diperoleh berwarna hijau pekat. Menurut Widianti (2012) [8], etanol dapat melarutkan secara keseluruhan zat aktif yang terkandung di dalam sampel, baik yang bersifat polar, semi polar, maupun kurang polar.

Ekstrak daun kemumu dianalisis golongan senyawanya menggunakan pereaksi uji warna untuk golongan alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, terpenoid dan steroid. Skrining fitokimia yang dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa flavonoid dalam sampel daun kemumu dengan penambahan HCl dan serbuk Mg untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat dalam senyawa flavonoid sehingga terbentuk warna merah tua jingga pada senyawa tersebut.

Identifikasi senyawa alkaloid, pereaksi Mayer mengandung merkuri klorida dan kalium iodide. Prinsip dari reaksi pengendapan yang terjadi karena adanya peran atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas pada alkaloid dapat mengganti ion iodo dalam pereaksi-pereaksi tersebut sehingga membentuk ikatan kovalen koordinasi dengan ion logam. Identifikasi senyawa saponin diperoleh bahwa ekstrak daun kemumu tidak mengandung senyawa saponin ditandai dengan tidak adanya busa yang dihasilkan. Busa yang dihasilkan pada uji saponin biasanya disebabkan karena adanya glikosida yang dapat membentuk busa dalam air dan terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya [9].

Kandungan terpenoid /steroid dalam ekstrak diuji dengan menggunakan metode Liebermann-Buchard yang nantinya akan memberikan warna merah jingga atau ungu untuk terpenoid dan biru untuk steroid. Penambahan asam asetat dan asam sulfat berikatan dengan senyawa terpenoid/steroid sehingga menghasilkan reaksi perubahan warna. Hasil dari skrining fitokimia dapat dilihat pada Tabel 3.

Selanjutnya ekstrak yang diperoleh diuji efek toksiknya terhadap *Artemia salina* Leach. *Artemia* sebagai hewan coba karena memiliki sensitifitas yang tinggi terhadap perubahan kondisi lingkungan dan kontaminasi bahan kimia yang ada di lingkungan sehingga dapat digunakan sebagai parameter awal suatu perubahan kondisi lingkungan [10].

Konsentrasi ekstrak yang digunakan dalam pengujian antara lain 500 ppm, 250 ppm, 125 ppm, 25 ppm, 12,5 ppm dan 0 ppm (kontrol). Daya toksisitas suatu senyawa dapat

diketahui dengan menghitung jumlah kematian larva udang dengan parameter *Lethal Concentration* 50 (LC₅₀). Suatu ekstrak dinyatakan toksik bila LC₅₀ dibawah 1000 µg/ml. Kontrol negatif dilakukan untuk melihat apakah respon kematian hewan uji benar – benar berasal dari sampel dan bukan disebabkan oleh pelarut yang digunakan. Metode BSLT dilakukan untuk mendeteksi keberadaan senyawa toksik yang dipakai untuk memonitor dalam isolasi senyawa dari tumbuhan yang berefek toksik dengan menentukan LC₅₀ dari senyawa aktif. Larva diuji pada saat berumur 48 jam karena pada umur tersebut *Artemia salina* Leach mengalami pertumbuhan yang sangat cepat sehingga diasumsikan sebagai pertumbuhan sel yang abnormal seperti sel kanker. Menurut Meyer et al. (1982) [6] melaporkan bahwa suatu ekstrak menunjukkan aktivitas ketoksikan dalam uji toksisitas jika ekstrak dapat menyebabkan kematian 50% hewan uji pada konsentrasi < 1000 ppm. Nilai LC₅₀ yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kemumu (*Colocasia gigantea* Hook.f) bersifat toksik dan berpotensi sebagai antikanker karena LC₅₀ yang diperoleh kurang dari 1000 ppm. Hal ini ditunjukkan dari nilai LC₅₀ yang diperoleh yaitu pada konsentrasi 75,093 ppm.

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan ekstrak etanol daun kemumu (*Colocasia gigantea* Hook.f) berpotensi toksik terhadap larva udang (*Artemia salina* Leach). Nilai LC₅₀ ekstrak daun kemumu adalah 75,093 ppm.

Daftar Pustaka

1. Tianandari, F., Rasidah. 2017. "Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol Buah Ketumbar (*Coriandrum sativum* Linn) Terhadap *Artemia salina* Leach dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)". Jurnal AcTion: Aceh Nutrition Journal (Online). 2(2):86-90.
2. Wijaya, B.A., Citraningtyas, G., Wehantouw, F. 2014. "Potensi Ekstrak Etanol Tangkai Daun Talas (*Colocasia esculenta* (L)) sebagai Alternatif Obat Luka pada Kulit Kelinci (*Oryetolagus cuniculus*)". Jurnal Ilmiah Farmasi. 3(3): 212,213
3. Katrin, E., Novagusda, F.N., Susanto dan Winarno, H. 2012. "Karakteristika dan Khasiat Daun Keladi Tikus (*Typhonium divaricatum* (L.) Decne) Iradiasi. Jurnal Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi. 8(1); 32.
4. Fachraniah, Kurniasih, E., Novilasi, D., T. 2012. "Ekstraksi Antioksidan Dari Daun Kari". Jurnal Reaksi (Journal of Science and Technology).10(1):38-39.
5. Putra, B., Assagaf, S.A.A. 2015. "Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Umbi Talas (*Colocasia esculenta* L. Schoot) Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* Terhadap *Artemia Salina* Leach". As-Syifaa, 07(1):20.
6. 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 Constiatuents*. *Plant Medica* 45: 31-34.

7. Arwan, B. 2017. Uji Toksisitas Fraksi Ekstrak Etanol 70% Akar Parang Romang (*Boehmeria virgata* (Forst) Guill.) Terhadap Larva Udang (*Artemia salina* Leach) dengan Menggunakan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Skripsi. Gowa: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar. Hal: 21, 23,35.
8. Widianti, W. 2012. Potensi Antioksidan dan Sitotoksisitas Ekstrak Buah Ceremai (*Phyllanthus acidus* L.). Skripsi. Bogor: Departemen Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan , Institut Pertanian Bogor.Hal: 4.
9. Ningsih. D.R., Zusfahair, Dwi Kartika. 2016. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder_Serta Uji Aktivitas Ekstrak Daun Sirsak_Sebagai Antibakteri, Molekul.: 11(1):101-111
10. Dahlan, M.Y. 2018. Uji Toksisitas Fraksi Methanol Hydroid *Aglaophenia cupressina* Lamoreoux Terhadap *Artemia salina* Leach. Skripsi. Makassar: Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin. Hal: 17,22.
11. Kurniawan, A., Asih, N.P.S.2012. *Araceae* di Pulau Bali. Jakarta: LIPI Press. Hal: 2,56.