

## AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK METANOL DAUN DAN BATANG KAYU GADIS (*Cinnamomum porrectum* (Roxb.) Kosterm) DENGAN *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Suryadi Jaya, Khafit Wirdimafan, Arif Juliari Kusnanda, Avidlyandi Avidlyandi, Charles Banon, dan Morina Adfa\*

Didaftarkan: [11 Juni 2024]

Direvisi: [19 Juni 2024]

Terbit: [30 Juni 2024]

**ABSTRAK:** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas sitotoksik ekstrak metanol daun dan batang kayu gadis terhadap *Artemia salina* Leach dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Uji sitotoksik menggunakan 10 ekor larva *Artemia salina* yang berumur 48 jam pada setiap konsentrasi uji dengan tiga kali ulangan. Ekstrak metanol daun kayu gadis dibuat 3 variasi konsentrasi, yaitu 10 ppm, 100 ppm, dan 1000 ppm, sedangkan ekstrak metanol batang kayu gadis dibuat 4 variasi konsentrasi, yaitu 1 ppm, 2 ppm, 4 ppm dan 6 ppm. Sebagai kontrol digunakan pelarut untuk melarutkan ekstrak. Setelah 24 jam diamati kematian *Artemia salina*, ditentukan persentase *mortality*, dan dihitung nilai  $LC_{50}$  menggunakan analisis probit. Hasil penelitian menunjukkan aktivitas sitotoksik ekstrak metanol batang kayu gadis lebih tinggi dari pada ekstrak metanol daunnya, dapat dilihat dari  $LC_{50}$  ekstrak metanol batang lebih kecil (0,79 ppm) daripada ekstrak metanol daunnya (544,81 ppm). Ke-dua ekstrak memperlihatkan kematian 50% hewan uji pada konsentrasi lebih kecil dari 1000 ppm, yang artinya aktivitas sitotoksik yang diberikan berkorelasi positif dengan aktivitas anti kanker. Berdasarkan tinjauan literatur senyawa-senyawa yang berhasil diisolasi dari daun dan batang kayu gadis adalah flavonoid, fenil propanoid, lignan, kumarin, fenolik, asam lemak, dan alkohol. Diharapkan beberapa senyawa tersebut dapat berpotensi sebagai antikanker dimasa mendatang.

### PENDAHULUAN

Obat bahan alam adalah bahan, ramuan bahan, atau produk yang berasal dari sumber daya alam berupa tumbuhan, hewan, jasad renik, mineral, atau bahan lain dari sumber daya alam, atau campuran dari bahan tersebut yang telah digunakan secara turun temurun, atau sudah dibuktikan berkhasiat, aman, dan bermutu, digunakan untuk pemeliharaan kesehatan, peningkatan kesehatan, pencegahan penyakit, pengobatan, dan/atau pemulihan kesehatan berdasarkan pembuktian secara empiris dan/atau ilmiah. Pemakaian obat bahan alam oleh masyarakat Indonesia diawasi dan diatur persyaratan keamanan dan mutu bahan alam secara komprehensif seperti yang tertuang pada peraturan badan pengawas obat dan makanan Republik Indonesia No. 29 Tahun 2023 Tentang Persyaratan keamanan dan mutu obat bahan alam [1].

Banyak tumbuhan/tanaman di Indonesia yang memiliki potensi sebagai bahan baku obat bahan alam, karena Indonesia memiliki keragaman hayati yang tinggi [2]. Salah satu tumbuhan yang berpotensi untuk menjadi obat adalah tanaman kayu gadis. Kayu gadis (*Cinnamomum porrectum*) berasal dari keluarga Lauraceae. Kayu ini tersebar luas di Asia seperti Bhutan, Myanmar, Kamboja, Cina, Indonesia, India, Myanmar, Malaysia, Nepal, Filipina, Thailand, dan Vietnam. Kulit kayu dan daun *C. porrectum* biasanya digunakan sebagai bahan rempah-rempah dan minyak atsirinya digunakan sebagai bahan penyedap dalam industri makanan dan minuman, komponen parfum dan sabun, serta dalam berbagai sediaan farmasi. Akarnya digunakan sebagai obat untuk mengatasi demam, dan dioleskan setelah melahirkan [3]. Daun, kulit batang, akar, dan kayu batang *C. porrectum* telah menunjukkan aktivitas antibakteri yang signifikan terhadap berbagai macam bakteri

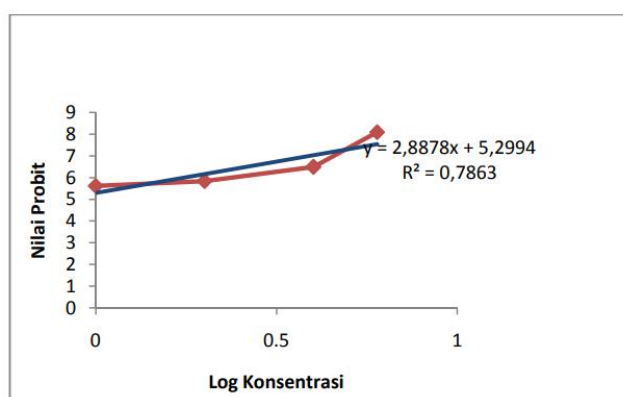
Gram positif dan Gram negatif, antioksidan, antidiabetes, dan aktivitas antijamur [4-7]. Berdasarkan penelusuran literatur, daun kayu gadis yang tumbuh di Bengkulu mengandung komponen flavonoid, fenolik, triterpenoid, steroid, dan kumarin. Fraksi n-heksana dari ekstrak metanol daun kayu gadis mengandung asam lemak,  $\beta$ -caryophyllene,  $\delta$ -guaiene, caryophyllene oxide, patchouli alcohol, dan  $\beta$ -asarone [8]. Senyawa Lignan dan fenil propanoid telah berhasil diisolasi dari batang kayu gadis yaitu dehydroxy cubebin, hinokinin, cubebin, 3-(3,4-methylenedioxyphenyl)-1,2-propanediol, dan safrole [9]. Sedangkan dari daun kayu gadis berhasil diisolasi senyawa scopoletin, isorhoifolin, epicatechin, blumenol A, rutin, 4-hydroxybenzoic acid, hexadecanoic acid methyl ester, dan 12-hexadecenoic acid methyl ester [10].

Pada penelitian lain yang dilakukan oleh Jantan dan Ali [11] terhadap minyak atsiri daun, kulit dan kayu dari tumbuhan kayu gadis (*C. porrectum*) didapatkan nilai  $LC_{50}$  dengan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) secara berurutan yaitu 26,8  $\mu\text{g/mL}$ , 52,8  $\mu\text{g/mL}$  serta 36,4  $\mu\text{g/mL}$ . Hasil penelitian tersebut memperlihatkan bahwa minyak atsiri dari 3 bagian tumbuhan *C. porrectum* bersifat sitotoksik terhadap *A. salina* dan berpotensi sebagai anti kanker. Salah satu metode awal yang sering dipakai untuk mengamati sifat sitotoksik senyawa dan juga merupakan metode awal penapisan senyawa antikanker adalah *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) menggunakan hewan uji larva *Artemia salina* Leach [12].

Berdasarkan penelusuran literatur, sejauh ini uji BSLT ekstrak metanol daun dan batang kayu gadis belum pernah dilaporkan. Pada penelitian ini akan diuji aktivitas sitotoksik ekstrak metanol daun dan batang kayu gadis (*C. porrectum*) dengan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

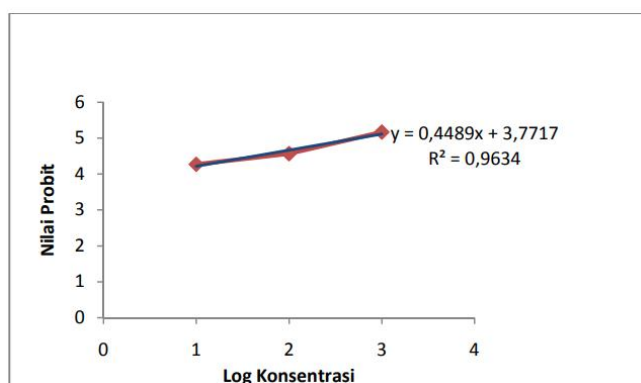
## HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak metanol daun dan batang kayu gadis diuji aktivitas sitotoksinya menggunakan metode BSLT. Hasil uji BSLT ekstrak metanol batang kayu gadis pada konsentrasi 1, 2, 4 dan 6 ppm menyebabkan kematian *A. salina* berturut-turut 73,33%, 80%, 93,33% dan 100%. Dari nilai % mortalitas kemudian dicari nilai probit berdasarkan tabel probit, log konsentrasi dan nilai probit yang didapat kemudian dicari persamaan regresi liniernya. Berdasarkan persamaan regresi linear  $y = 2,8878x + 5,2994$ , didapat  $LC_{50}$  ekstrak metanol batang kayu gadis sebesar 0,79 ppm. Grafik regresi linear uji BSLT ekstrak metanol batang kayu gadis dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Persamaan Regresi Linear Ekstrak Metanol Batang Kayu Gadis pada uji BSLT.

Uji BSLT ekstrak metanol daun kayu gadis pada konsentrasi 10, 100 dan 1000 ppm menyebabkan kematian *A. salina* berturut-turut 23,33%, 33,3%, dan 56,7%. Setelah dihitung % mortalitas dan dicari nilai probit berdasarkan tabel probit, maka didapat persamaan regresi linier dengan nilai fungsi  $y = 0,4489x + 3,7717$ , kemudian didapatkan nilai x sebesar 2,74.  $LC_{50}$  merupakan konsentrasi yang menyebabkan kematian 50% hewan uji yaitu anti log x, maka  $LC_{50}$  yang didapatkan sebesar 544,81 ppm. Grafik regresi linier uji BSLT ekstrak metanol daun kayu gadis dapat dilihat pada Gambar 2.



**Gambar 2.** Persamaan Regresi Linear Ekstrak Metanol Batang Kayu Gadis pada uji BSLT.

Hasil uji aktivitas sitotoksik dengan BSLT mempunyai korelasi positif dengan uji aktivitas anti kanker. Dari hasil penelitian ini menunjukkan nilai  $LC_{50}$  pada ekstrak metanol batang kayu gadis lebih tinggi dari pada ekstrak metanol daun kayu gadis, diduga kandungan kimia batang kayu gadis lebih tinggi sifat toksisitasnya pada ekstrak metanol daun kayu gadis. Penelitian yang dilakukan oleh Adfa et al. [9] melaporkan empat komponen kimia batang kayu gadis yang aktif sebagai anti kanker darah, senyawa tersebut adalah *dehydroxycubebin*, *hinokinin*, *cubebin* dan *safrole*. Sedangkan pada daun kayu gadis dilaporkan senyawa isorhoifolin, rutin, nicotiflorin yang memberikan efek *hepatoprotective*. Sitotoksitas ekstrak terhadap *A. salina* dapat diketahui dari harga  $LC_{50}$  yang diartikan sebagai konsentrasi ekstrak yang mengakibatkan kematian sebanyak 50% populasi *A. salina* uji. Adapun nilai  $LC_{50}$  ekstrak metanol daun kayu gadis yang diuji dengan metode BSLT sebesar 544,81 ppm masuk kategori toksisitas rendah (*low toxic*) sedangkan ekstrak metanol batang kayu gadis memberikan nilai  $LC_{50}$  0,79 ppm yang dikategorikan mempunyai toksisitas sangat tinggi (*highly toxic*).

Jika dibandingkan dengan penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun kayu gadis memiliki nilai  $LC_{50}$  (544,81 ppm) yang lebih besar dibandingkan dengan minyak atsiri daun kayu gadis (26,8 ppm) [11]. Sedangkan ekstrak metanol batang kayu gadis memiliki  $LC_{50}$  yang lebih kecil (0,79 ppm) jika dibandingkan dengan minyak atsiri kayunya (36,4 ppm). Perbedaan aktivitas sitotoksik ekstrak dan minyak atsiri bagian tumbuhan kayu gadis mungkin disebabkan oleh berbedanya kandungan kimia aktif dari ekstrak metanol dan minyak atsiri. Seperti yang dilaporkan oleh Jantan dan Goh [13] minyak atsiri daun kayu gadis mengandung safrole (15,4%) sedangkan minyak atsiri kayunya mengandung safrole yang lebih rendah (3,2%).

## KESIMPULAN

Aktivitas sitotoksik dari ekstrak metanol daun dan batang kayu gadis terhadap *A. salina* dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* ditunjukkan dengan nilai  $LC_{50}$  secara berturut-turut yaitu 544,81 ppm dan 0,79 ppm, dimana aktivitas sitotoksik ekstrak metanol batang kayu gadis lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak metanol daun kayu gadis. Kedua ekstrak tersebut berpotensi untuk dikembangkan sebagai kandidat obat antikanker.

## PROSEDUR PENELITIAN

### Persiapan Hewan Uji

Hewan percobaan yang digunakan adalah larva udang laut *A. salina*. Telur *A. salina* ditetaskan dalam wadah pembiakan yang berisi air laut selama 48 jam. Setelah 48 jam larva udang digunakan sebagai hewan uji.

### Pembuatan Ekstrak Metanol Daun dan Batang Kayu Gadis

Epembuatan ekstrak metanol daun kayu gadis merujuk penelitian sebelumnya [10], sedangkan pembuatan ekstrak metanol batang kayu gadis adalah ditimbang sebanyak 0,3 Kg potongan kecil batang kayu gadis lalu dimaserasi dengan metanol sebanyak 1,2 L selama kurun waktu  $\pm$  3-4 hari. Hasil maserasi yang diperoleh disaring dan diuapkan pelarutnya menggunakan rotary evaporator pada suhu 45°C untuk mendapatkan ekstrak pekat metanol batang kayu gadis.

### Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Metanol Daun Kayu Gadis

Dibuat larutan induk dengan cara sebanyak 0,1 gram ekstrak metanol daun kayu gadis ditambahkan DMSO sebanyak 50  $\mu$ L serta dilarutkan dengan air laut 5 mL sambil diaduk dan dipanaskan pada suhu 45°C, setelah itu dicukupkan dengan air laut 10 mL sehingga diperoleh konsentrasi 10.000 ppm. Dari larutan induk inilah kemudian dibuat larutan uji dengan konsentrasi 1000 ppm, 100 ppm dan 10 ppm (perlakuan triplo), serta satu vial sebagai kontrol (perlakuan yang sama dengan ekstrak).

### Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Metanol Batang Kayu Gadis

Larutan induk ekstrak metanol batang kayu gadis dibuat dengan cara ditimbang 0,02 gram ekstrak metanol batang kayu gadis lalu dilarutkan dengan metanol hingga 1 mL sehingga diperoleh larutan induk 20.000 ppm. Dari larutan ini kemudian dipipet sebanyak 50  $\mu$ L dan didiamkan selama 1 malam agar metanol menguap. Setelah metanol mengering larutan ditambahkan DMSO sebanyak 50  $\mu$ L serta dilarutkan dengan menggunakan air laut hingga 10 mL sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm, dari larutan induk inilah kemudian dibuat larutan uji dengan konsentrasi 1 ppm, 2 ppm, 4 ppm dan 6 ppm (perlakuan triplo), serta satu vial sebagai kontrol (perlakuan yang sama dengan ekstrak).

### Uji aktivitas Sitotoksik

Kedalam setiap larutan uji yang telah dibuat dan kontrol dimasukkan 10 ekor *A. salina* yang telah berumur 48 jam, setelah itu baru dicukupkan volumenya menjadi 10 mL, lalu

disimpan selama 24 jam. Setelah 24 jam dihitung jumlah *A. salina* yang mati. Dari data yang diperoleh dihitung nilai  $LC_{50}$  nya dengan menggunakan analisis probit dan persamaan regresi linear menggunakan excel, setelah diketahui harga  $LC_{50}$  maka dideskripsikan aktivitas sitotoksik ekstrak.

### Analisa Data

Data pengujian *Brine Shrimp Lethality Test* dianalisis berdasarkan perhitungan (%) mortalitas. Dengan mengetahui persentase mortalitas dari larva uji, selanjutnya dicari angka probit melalui tabel probit dan dibuat grafik dengan log konsentrasi sebagai sumbu x terhadap persentase mortalitas dalam satuan probit sebagai sumbu y. Nilai  $LC_{50}$  merupakan konsentrasi dimana ekstrak uji menyebabkan kematian 50% *A. salina* yang diperoleh dari persamaan regresi linier  $y = a + bx$ . Suatu sampel uji dikatakan toksik bila nilai  $LC_{50} \leq 1000$  ppm untuk ekstrak dan  $\leq 30$  ppm untuk senyawa murni [14]. Selanjutnya tingkat sitotoksitas suatu ekstrak diklasifikasikan berdasarkan nilai  $LC_{50}$ , yaitu kategori sangat tinggi (*highly toxic*) apabila mampu membunuh 50% larva pada konsentrasi 1–10 ppm, sedang (*medium toxic*) pada konsentrasi 10–100 ppm, dan rendah (*low toxic*) pada konsentrasi 100–1000  $\mu\text{g/ml}$  [12].

### DEKLARASI

Para Penulis tidak memiliki konflik dalam hal penulisan dan pendanaan.

### PERSANTUNAN

S.J. berterima kasih kepada rekan rekan tim penelitian dibawah bimbingan Ibu M.A yang telah banyak memberikan semangat dan membantu dalam melaksanakan penelitian ini.

### INFORMASI TENTANG PENULIS

Penulis Rujukan:

Suryadi Jaya, Khafit Wiradimafan, Avidlyandi Avidlyandi, Charles Banon, dan Morina Adfa Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Bengkulu

Jalan W.R. Supratman, Kandang Limun, Kota Bengkulu

Arif Juliari Kusnanda

Departemen Kimia, Universitas Negeri Padang. Jalan Prof. Dr. Hamka, Air Tawar Padang, Sumatera Barat.

### PUSTAKA

- [1] Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia, peraturan badan pengawas obat dan makanan No.29 tahun 2023, tentang persyaratan keamanan dan mutu obat bahan alam.
- [2] Nugroho, A.W. Konservasi keanekaragaman hayati melalui tanaman obat dalam hutan di Indonesia dengan teknologi farmasi: potensi dan tantangan. *Jurnal Sains dan Kesehatan* 2017, 1(7), 377-383.
- [3] Wu-Kuang, S., Taxonomic revision of *Cinnamomum* (Lauraceae) in Borneo. *Blumea* 2011, 56, 241-264.
- [4] Buru, A. S.; Pichika, M. R.; Neela, V.; Mohandas, K. In vitro antibacterial effects of *Cinnamomum* extracts on common bacteria found in wound infections with emphasis

- on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Ethnopharmacology* **2014**. 153(3), 587-595.
- [5] Kawamura, F.; Ramle, S.F.M.; Sulaiman, O.; Hashim, R.; Ohara, S.. Antioxidant and antifungal activities of extracts from 15 selected hardwood species of Malaysian timber. *European Journal of Wood and Wood Products* **2011**, 69(2), 207-212.
- [6] Phongpaichit, S.; Kummee, S.; Nilrat, L.; Itarat, A. Antimicrobial activity of oil from the root of *Cinnamomum porrectum*. *Songklanakarinn Journal of Science and Technology* **2007**, 29(Suppl 1), 11-16.
- [7] Jia, Q.; Liu, X.; Wu, X.; Wang, R.; Hu, X.; Li, Y.; Huang, C. Hypoglycemic activity of a polyphenolic oligomer-rich extract of *Cinnamomum parthenoxylon* bark in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine* **2009**. 16(8), 744-750.
- [8] Adfa, M.; Sanusi, A.; Manaf, S.; Gustian, I.; Banon, C. Antitermitic activity of *Cinnamomum parthenoxylon* leaves against *Coptotermes curvignathus*. *Oriental Journal of Chemistry* **2017**, 33(6), 3063-3068.
- [9] Adfa, M.; Rahmad, R.; Ninomiya, M.; Yudha, S.; Tanaka, K.; Koketsu, M. Antileukemic activity of lignans and phenylpropanoids of *Cinnamomum parthenoxylon*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2016**. 26, 761-764.
- [10] Pardede A.; Adfa M.; Kusnanda A.J.; Ninomiya M.; Koketsu M. Flavonoid rutosides from *Cinnamomum parthenoxylon* leaves and their hepatoprotective and antioxidant activity. *Medical Chemistry Research* **2017**. 26. 2074-2079.
- [11] Jantan, I.B.; Ali R.M. Toxic and antifungal properties of the essential oils of *Cinnamomum* species from peninsular Malaysia. *Journal of Tropical Forest Science* **1992**. 6(3), 286-292.
- [12] Meyer B.N.; Ferrigni N.R.; Putnam J.E.; Jacobsen L.B.; Nicholas D.E.; Mc Laughlin J.L. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica* **1982**. 45, 31-34.
- [13] Jantan, I.B.; Goh, H.S. Essential oils of *Cinnamomum* species from Peninsular Malaysia. *Malaysia Journal of Essential Oil Research* **1992**. 4(2), 161-171.
- [14] Juniarti.; Osmeli, D.; Yuhermita. Kandungan senyawa kimia, uji sitotoksik (brine shrimp lethality test) dan anti oksidan (*1,1-diphenyl-2-pikrilhidrazyl*) dari ekstrak daun saga (*Abrus precatorius* L.). *Makara Sains* **2009**, 13(1), 50-54.