

Aktivitas Sitotoksik Daun Ceremai

Lili Andriani¹, Yulianis², Hestia Ningra³
^{1,2,3} Program Studi Farmasi, STIKES Harapan Ibu, Jambi, Indonesia
Email : liliandriani116@gmail.com

Abstrak

Latar Belakang : Daun ceremai (*Phyllanthus acidus*) mengandung flavonoid, saponin, tanin, dan steroid. Kandungan senyawa tersebut diduga memiliki aktivitas sitotoksik pada pengobatan kanker. Tujuan penelitian ini untuk menguji aktivitas sitotoksik daun ceremai.

Metode : Untuk skrining awal antikanker dilakukan uji aktivitas sitotoksik dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Penelitian ini dilakukan dengan menguji aktivitas sitotoksik dari ekstrak etanol dan fraksi daun ceremai dengan menentukan besarnya nilai LC_{50} selama 24 jam.

Hasil : Nilai LC_{50} tertinggi pada ekstrak etanol adalah sebesar 6,83 ppm, dan fraksi etil asetat adalah sebesar 8,27 ppm.

Kesimpulan : Ekstrak etanol dan fraksi etil asetat memiliki aktivitas sitotoksik yang tinggi dibandingkan fraksi lainnya sehingga sangat aktif berpotensi sebagai antikanker.

Kata Kunci: *Phyllanthus acidus*, *Brine Shrimp Lethality Test*, LC_{50}

Abstract

Background : The secondary metabolites from ceremai leaves are flavonoids, saponins, tannins, and steroids. At certain levels these leaves have cytotoxic activity, where cytotoxic is used in the treatment of cancer. The aim of this research is determining of cytotoxic activity of ceremai leaves

Method : For the first screening of anticancer can be with the cytotoxic activity test by *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) method. The cytotoxic activity of ethanol extract and fractions of leaves ceremai with determining LC_{50} values for 24 hours.

Results: The testing of the extract obtained the highest of LC_{50} value of ethanol is 6,839 ppm and ethyl acetate fraction is 8,279 ppm.

Conclusion : The conclusion from this research that the extracted ethanol and ethyl acetate fraction have higher cytotoxic activity compared to other fractions so that very potential as anticancer.

Keywords : *Phyllanthus acidus*, *Brine shrimp lethality test*, LC_{50}

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang kaya akan keanekaragaman hayati, memiliki berbagai jenis tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai tumbuhan obat. Saat ini upaya pencarian bahan alam sebagai bahan baku obat terus dilakukan. Salah satu tumbuhan berkhasiat obat yaitu *Phyllanthus acidus*.

Phyllanthus acidus merupakan salah satu tumbuhan yang termasuk pada famili *Phyllanthaceae*(1). Tumbuhan ini di Indonesia dikenal dengan nama ceremai. Berbagai senyawa yang dilaporkan dari spesies ini antara lain alkaloid, flavonoid, steroid, fenol, saponin, tannin, karbohidrat, minyak, resin, dan glikosida(2)(3). Ekstrak daun ceremai dilaporkan mempunyai

berbagai aktifitas fisiologis antara lain sebagai antimikroba, antioksidan, anti-inflamasi, antimalaria, dan analgesik (2)(4)(5)(6).

Saat ini pencarian senyawa aktif untuk pengobatan penyakit kanker terus dilakukan. Adanya berbagai senyawa pada tumbuhan ceremai diduga akan dapat berperan sebagai agen antikanker. Untuk itu akan dilakukan penelitian untuk menguji efek sitotoksiknya dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) menggunakan larva udang(7).

METODE

Bahan yang digunakan adalah daun ceremai segar berasal dari Kuala Tungkal, Jambi. Sebanyak 1 kg daun ceremai dibersihkan, lalu dirajang sampai halus.

Bahan kimia yang digunakan yaitu etanol 96%, n-heksan, etil asetat, n-butanol, hidrogen klorida, kloroform, amoniak, reagen Mayer, reagen Wagner, reagen Dragendorf, asam asetat, magnesium, akuades, asam sulfat pekat, dimetil sulfoksida, larva udang, dan air laut.

Alat yang digunakan ialah timbangan digital, lampu UV, chamber, wadah pembiakan larva, pipet mikro *Eppendorf*, dan alat-alat gelas.

Cara kerja

Daun ceremai segar sebanyak 1 kg dimaserasi dengan etanol 96%. Maserat kemudian difraksinasi menggunakan pelarut yang berbeda tingkat kepolarannya yaitu n-heksana (nonpolar), etil asetat (semipolar) dan n-butanol (polar).

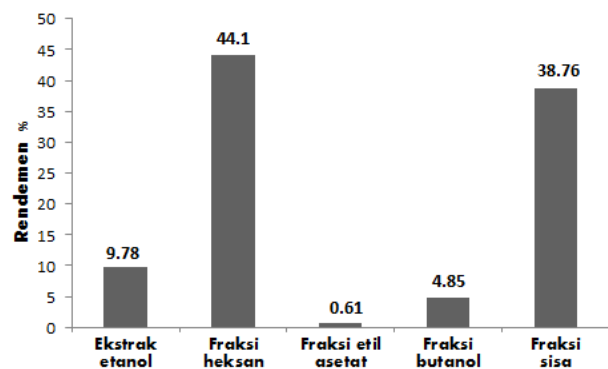
Uji fitokimia dilakukan pada ekstrak dan fraksi daun ceremai terdiri dari uji alkaloid, flavonoid, tanin, steroid dan

saponin. Uji KLT pada ekstrak dan fraksi daun ceremai dilakukan dengan eluen n-heksana:etil asetat (7:3).

Pengujian aktivitas dilakukan dengan 3 ragam konsentrasi, yaitu 100, 250, dan 500 ppm. Ekstrak kental etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air masing-masing dipipet berdasarkan konsentrasi yang telah ditentukan kemudian dimasukkan kedalam vial 5 mL. Pada masing-masing vial ditambahkan DMSO 100 μ L dan ditambahkan air laut $\frac{1}{2}$ bagian dari batas vial 5 mL. Kemudian dimasukkan 10 larva udang dan diaduk hingga homogen lalu inkubasi selama 1x24 jam. Lalu dihitung larva yang mati setiap vial, kemudian dihitung rata-rata kematian dari tiap pengenceran dan dihitung persentase kematiannya.

HASIL

Hasil maserasi 1 kg daun ceremai didapatkan rendemen ekstrak kental sebanyak 97.83 g. Kemudian dari 40 g ekstrak kental didapatkan rendemen masing-masing fraksi dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Persen rendemen ekstrak dan fraksi daun ceremai

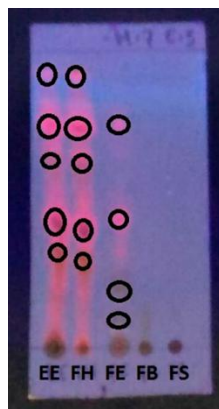
Uji fitokimia memperlihatkan adanya beragam metabolit sekunder. Pada ekstrak

etanol positif mengandung flavonoid, tanin, saponin dan steroid. Pada fraksi heksan memperlihatkan adanya senyawa steroid. Fraksi etil asetat menunjukkan adanya steroid dan tanin. Pada fraksi butanol terdapat flavonoid dan saponin. Sedangkan pada fraksi sisa terdapat flavonoid, tanin dan saponin (Tabel 1)

Tabel 1. Hasil skrining fitokimia

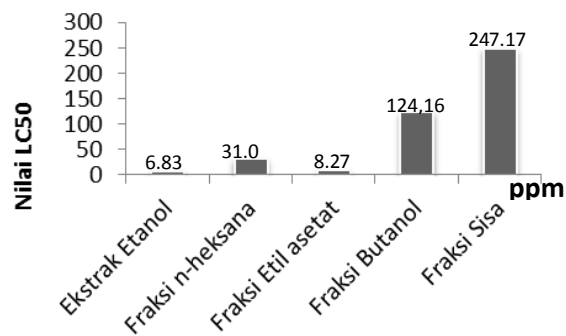
Sampel	Metabolit Sekunder				
	Alkaloid	Flavonoid	Saponin	Tanin	Steroid
Ekstrak Etanol	-	+	+	+	+
Fraksi Heksan	-	-	-	-	+
Fraksi Etil Asetat	-	-	-	+	+
Fraksi Butanol	-	+	+	-	-
Fraksi Sisa	-	+	+	+	-

Untuk memonitor metabolit sekunder dari masing-masing ekstrak dan fraksi, maka dilakukan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan eluen heksan:etil asetat (7:3). Hasil KLT dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Profil KLT ekstrak dan fraksi daun ceremei

Nilai LC_{50} dari hasil uji aktivitas sitotoksik ekstrak dan fraksi ditampilkan pada gambar 3 berikut.

Gambar 3. Nilai LC_{50} ekstrak dan fraksi daun ceremei

Pada gambar 3 di atas terlihat perbedaan nilai LC_{50} pada ekstrak dan masing-masing fraksi. Suatu ekstrak dianggap sangat toksik jika nilai LC_{50} di bawah 30 ppm, dianggap toksik jika nilai LC_{50} dalam rentang 30-1000 ppm dan dianggap tidak toksik jika nilai LC_{50} di atas 1000 ppm (7).

PEMBAHASAN

Uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) digunakan untuk memprediksi senyawa atau ekstrak yang mempunyai aktivitas antikanker (7).

Kandungan berbagai metabolit sekunder pada daun ceremei diduga dapat menyebabkan kematian pada larva udang. Berbagai penelitian mengenai uji aktivitas sitotoksik pada larva udang banyak dilaporkan. Ekstrak metanol daun saga mempunyai sitotoksik terhadap larva udang dengan nilai LC_{50} 606, 73 ppm. Sifat toksik pada daun saga diduga disebabkan oleh kandungan senyawanya yaitu abrin (8). Efek dari abrin diantaranya dapat mempertinggi aktivitas sel pembunuh alami baik pada sel normal maupun sel tumor (9).

Pada ekstrak metanol daun bongkal mempunyai sifat sitotoksik dengan nilai LC_{50} 363 ppm. Kemampuan sitotoksik ekstrak tumbuhan ini diduga karena pengaruh dari senyawa yang ada pada tumbuhan tersebut (10).

Beberapa hasil penelitian mengenai uji BSLT yang memiliki nilai LC_{50} di bawah 20 $\mu\text{g/ml}$ berkemungkinan memiliki senyawa yang bersifat antikanker (11)(12). Diantaranya dari crude ekstrak daun *Phyllanthus amarus* memiliki nilai LC_{50} 9.15 $\mu\text{g/ml}$ (13), *Phyllanthus engleri* memiliki nilai LC_{50} 0.47 $\mu\text{g/ml}$ (12), dan dari tumbuhan ini berhasil diisolasi senyawa yang bersifat antikanker dari golongan seskuiterpen, Englerin A (14).

Hasil LC_{50} menunjukkan bahwa ekstrak etanol memiliki nilai LC_{50} 6,83 ppm dan fraksi etil asetat memiliki nilai LC_{50} 8.27. Keduanya termasuk dalam kategori sangat toksik, sedangkan fraksi heksan, fraksi butanol dan fraksi sisa termasuk kedalam kategori toksik karena memiliki nilai LC_{50} direntang 30-1000 ppm.

Hasil BSLT juga bisa dijadikan indikasi untuk pencarian senyawa antikanker dari tumbuhan, semakin kecil nilai LC_{50} , semakin tinggi tingkat toksisitas senyawa tersebut dan terdapat korelasi antara sitotoksitas dengan letalitas larva udang pada ekstrak tumbuhan (15). Nilai LC_{50} yang sangat kecil menunjukkan aktivitas ekstrak uji yang berpotensi sebagai antikanker. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan fraksi etil asetat paling berpotensi sebagai antikanker karena memiliki nilai LC_{50} di bawah 30 ppm.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol dan fraksi etil asetat memiliki aktivitas sitotoksik yang lebih tinggi dalam membunuh larva udang dibandingkan fraksi lainnya, sehingga ekstrak etanol dan fraksi etil asetat sangat berpotensi sebagai antikanker.

DAFTAR PUSTAKA

1. Devi SS, Paul SB. An Over View on *Cicca acida* (*Phyllanthus acidus*). *Biol Environ Sci*. 2011;7(1):156–60.
2. A.Jagajothi1 GM, V.K. Evanjelene, A.Nirmala. Antimicrobial Activity and phytochemical analysis of *Phyllanthus acidus*. *J Today's Biological Scinces Res &Review*. 2013;2(2):55–62.
3. Rahman MM, Habib MR, Hasan SMR, Sayeed MA, Rana MS. Antibacterial, cytotoxic and antioxidant potential of methanolic extract of *phyllanthus acidus* L. *Int J Drug Dev Res*. 2011;3(2):154–61.
4. Jain, N.K and A.K S. Protective effects of *Phyllanthus acidus* (L.) Skeels leaf extracts on acetaminophen and thioacetamide induced hepatic injuries in Wistar rats. *Asian Pac J Trop Med*. 2011;4(6):470–4.
5. Raja chakraborty, Biplab De, Nayakanti Devanna S Sen. Antiinflammatory, antinonciceptive and antioxidant activities of *phyllanthus acidus* extracts. *Asian Pacific Journal Trop Biomed*. 2012;953–61.
6. A. Bagavan, A. A. Rahuman, C. Kamaraj, N. K. Kaushik, D. Mohanakrishnan and DS. Antiplasmodial activity of botanical extracts against *Plasmodium falciparum*. *Parasitol Res*. 2011;108(5):1099–109.
7. Meyer B, Ferrigni N, Putnam J, Jacobsen L, DE.Nichols, JL.McLaughlin. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Planta Med*. 1982;45(05):31–4.
8. Juniarti od, yarsi. Kandungan Senyawa Kimia , Uji Toksisitas (Brine Shrimp Lethality Test) Dan Antioksidan (1,1-Diphenyl-2-Pikrilhydrazyl) Dari Ekstrak

- Daun Saga (*Abrus precatorius* L).
Macara Sains. 2009;13(1):50–4.
9. Ramnath V, Kuttan G KR. Effect of abrin on cell-mediated immune responses in mice. *Immunopharmacol Immunotoxicol*. 2006;28(2):259–68.
10. Asmiyarti NI, Wibowo MA. Metode Bslt Pada Ekstrak Metanol Daun Bongkal (*Nuclea subdita* (Korth) Steud). *JKK*. 2014;3(4):58–62.
11. Moshi MJ, Cosam JC, Mbwambo ZH, Kapingu M, Nkunya MH. Testing beyond ethnomedical claims: brine shrimp lethality of some Tanzanian plants. *Pharm Biol*. 2004;42(7):547–51.
12. Moshi MJ, Mbwambo ZH, Nondo RSO, Masimba PJ, Kamuhabwa A, Kapingu MC, et al. Evaluation of ethnomedical claims and brine shrimp toxicity of some plants used in Tanzania as traditional medicines. *African J Tradit Complement Altern Med*. 2006;3(3):48–58.
13. Lira DN, Uddin MA, Uddin M, Rouf ASS. Assessment of cytotoxic activities of *Phyllanthus amarus* and *Monstera deliciosa*. *J Appl Pharm Sci*. 2014;4(7):110–3.
14. Wen B, Lampe JN, Roberts AG, Atkins WM, Rodrigues a D, Nelson SD. Englerin A, a Selective Inhibitor of Renal Cancer Cell Growth, from *Phyllanthus engleri*. *Org Lett*. 2007;454(1):42–54.
15. Carballo J, Hernández Z, Pérez P, García M. A comparison between two brine shrimp assays to detect in vitro cytotoxicity in marine natural products. *BMC Biotechnol*. 2002;2:17.