



JURNAL LABORATORIUM KHATULISTIWA

e-ISSN : 2597-9531

p-ISSN : 2597-9523



TOKSISITAS AKUT EKTRAK N-HEKSAN DAN METHANOL RIMPANG JERINGAU MERAH TERHADAP KEMATIAN ARTEMIA SALINA LEACH DENGAN METODE BRINE SHRIMP LETHALITY TEST

✉ **Edy Suwandi dan Supriyanto**

Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Pontianak

E-mail : suwandi_edy@yahoo.co.id

Submitted : 6 Februari 2018; **Revised** : 9 Maret 2018; **Accepted** : 31 Maret 2018

Published : 30 April 2018

Abstract

Acorus sp (red sweet flag) is an endemic plant from West Borneo which contains chemical substances such as flavonoids that have bioactivity as antioxidants so it is recommended one to prevent cancer. The study aimed to determine toxicity of n-Hexan extract and methanol red sweet flag rhizomes against *Artemia salina* Leach with Brine Shrimp Lethality Test method. This study was a type of quasi experimental design, sampling technique obtained by using purposive sampling. According to the study results, it can be seen than methanol extract from red sweet flag rhizomes give impact on the mortality average of *Artemia salina* Leach : concentration 100 $\mu\text{g/ml}$ (51%), 250 $\mu\text{g/ml}$ (75%), 500 $\mu\text{g/ml}$ (92%), 750 $\mu\text{g/ml}$ (96%) and 1000 $\mu\text{g/ml}$ (99%). In addition, n-Hexan extract of red sweet flag rhizomes in 100 $\mu\text{g/ml}$ (45%), 250 $\mu\text{g/ml}$ (60%), 500 $\mu\text{g/ml}$ (92%), 750 $\mu\text{g/ml}$ (84%) and 1000 $\mu\text{g/ml}$ (96%). It is reported based on probit analysis that LC50 of n-Hexan extract from red sweet flag rhizomes was 128.2921 $\mu\text{g/ml}$ meanwhile methanol extract was 242.7169 $\mu\text{g/ml}$, thus in conclusion n-Hexan and methanol extract of red sweet flag rhizomes potentially cytotoxic to *Artemia salina* Leach larvae.

Kata kunci : Red Sweet Flag Rhizome, Acute Toxicity

Jeringau merah (*Acorus sp*) merupakan satu jenis tanaman endemik Kalimantan Barat memiliki kandungan kimia diantaranya flavonoid yang mempunyai bioaktivitas sebagai antioksidan sehingga sangat baik untuk pencegahan kanker. Penelitian ini bertujuan mengetahui dan menentukan toksisitas ekstrak n-Heksan dan Methanol Rimpang Jeringau Merah terhadap *Artemia salina* Leach dengan metode Brine Shrimp Lethality Test. Desain penelitian ini adalah eksperimental semu, teknik pengambilan sampel dengan cara purposive sampling. Berdasarkan hasil penelitian diketahui ekstrak Methanol Rimpang Jeringau Merah rerata kematian *Artemia salina* Leach konsentrasi 100 $\mu\text{g/ml}$ (51%), 250 $\mu\text{g/ml}$ (75%), 500 $\mu\text{g/ml}$ (92%), 750 $\mu\text{g/ml}$ (96%) dan 1000 $\mu\text{g/ml}$ (99%) pada ekstrak n-Heksan Rimpang Jeringau Merah konsentrasi 100 $\mu\text{g/ml}$ (45%), 250 $\mu\text{g/ml}$ (60%), 500 $\mu\text{g/ml}$ (92%), 750 $\mu\text{g/ml}$ (84%) dan 1000 $\mu\text{g/ml}$ (96%). Dari analisis probit diketahui nilai LC50 ekstrak n-Heksan Rimpang Jeringau Merah yaitu 128.2921 $\mu\text{g/ml}$ dan ekstrak Methanol Rimpang Jeringau Merah yaitu 242.7169 $\mu\text{g/ml}$, maka disimpulkan ekstrak n-Heksan dan Methanol Rimpang Jeringau Merah bersifat sitotoksik terhadap larva *Artemia salina* Leach.

Kata kunci : Rimpang Jeringau Merah, Toksistas akut

PENDAHULUAN

Jeringau merah (*Acorus sp.*) merupakan satu jenis tanaman endemik Kalimantan Barat yang terdapat di wilayah Sanggau, Ngabang dan Kapuas Hulu dengan karakteristik memiliki pangkal daun berwarna merah serta rimpang yang berwarna coklat kemerahan. Jeringau merah memiliki kandungan kimia diantaranya flavonoid. Flavonoid termasuk senyawa fenolik alam yang potensial sebagai antioksidan dan mempunyai bioaktivitas sebagai obat. Flavonoid dalam tubuh manusia berfungsi sebagai antioksidan sehingga sangat baik untuk pencegahan kanker. Antioksidan adalah senyawa atau bahan yang digunakan pada konsentrasi lebih rendah dari substratnya secara signifikan dapat menunda atau mencegah oksidasi. Aktivitas antioksidan merupakan suatu aktivitas senyawa yang bersifat untuk menghambat terjadinya pembentukan radikal bebas di dalam tubuh. Antioksidan substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal. Senyawa antioksidan alami tumbuhan umumnya adalah senyawa fenolik atau polifenolik yang dapat berupa golongan flavonoid. (Waji, dkk, 2009)

Penelitian ini menerapkan metode BSLT dengan menggunakan larva udang *Artemia salina leach* sebagai hewan uji. Brine Shrimp Lethality Test merupakan suatu pengujian dan suatu preskrining awal untuk menentukan apakah suatu senyawa mempunyai kandungan bioaktif. Nauplii *Artemia sp* yang baru menetas identik dengan sel kanker sehingga apabila mortalitas senyawa tersebut tinggi, maka senyawa bioaktif tersebut mempunyai potensi sebagai kandidat obat di masa datang. Suatu zat dikatakan aktif atau toksik bila nilai $LC_{50} < 1000$ ppm untuk ekstrak. Uji toksisitas digunakan untuk mengetahui pengaruh racun yang dihasilkan oleh dosis tunggal dari suatu campuran zat kimia pada hewan coba sebagai uji pra skrining senyawa bioaktif antikanker.

METODE

Penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimen semu (Quasi Experiment) yaitu eksperimen yang belum atau tidak memiliki

ciri-ciri rancangan eksperimen sebenarnya, karena variabel-variabel yang seharusnya dikontrol atau dimanipulasi tidak dapat atau sulit dilakukan. Sampel penelitian adalah objek yang diteliti dan dianggap mewakili seluruh populasi. Sampel yang digunakan pada penelitian ini terbagi atas 5 kelompok perlakuan ditambah 1 kontrol negatif. Jumlah replikasi atau pengulangan pada masing-masing kelompok yaitu 4 kali. Teknik pengambilan sampel dalam penelitian ini menggunakan purposive sampling yaitu didasarkan pada suatu pertimbangan tertentu yang dibuat oleh peneliti.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Uji Toksisitas Ekstrak n-Heksan dan Methanol Rimpang Jeringau Merah terhadap Kematian Larva *Artemia Salina Leach* Metode BSLT

No	Metabolit Sekunder	Hasil n-Heksan	Hasil Methanol
1	Alkaloid	(-) negatif	(-) negatif
2	Flavonoid	(+) positif	(+) positif
3	Steroid	(-) negatif	(-) negatif
4	Terpenoid	(-) negatif	(-) negatif
5	Fenol	(-) negatif	(+) positif
6	Saponin	(-) negatif	(-) negatif
7	Tanin	(+) positif	(+) positif
8	Glikosida	(-) negatif	(+) positif

Dari hasil skrining fitokimia tersebut didapat flavonoid dan tanin yang diduga sebagai senyawa yang bersifat sitotoksik positif pada Ekstrak n-Heksan dan Metanol Rimpang Jeringau Merah.

Uji toksisitas akut ekstrak n-Heksan dan Methanol Rimpang Jeringau Merah dilakukan terhadap larva *Artemia salina Leach* yang berusia 24 hingga 48 jam pada media air laut buatan dengan konsentrasi 100 µg/ml = 51%, 250 µg/ml = 75%, 500 µg/ml = 92%, 750 µg/ml = 96% dan 1000 µg/ml = 99% dan pada ekstrak n-Heksan Rimpang Jeringau Merah dapat menyebabkan rerata kematian larva *Artemia salina Leach* pada konsentrasi 100 µg/ml = 45%, 250 µg/ml = 60%, 500 µg/ml = 92%, 750 µg/ml = 84% dan 1000

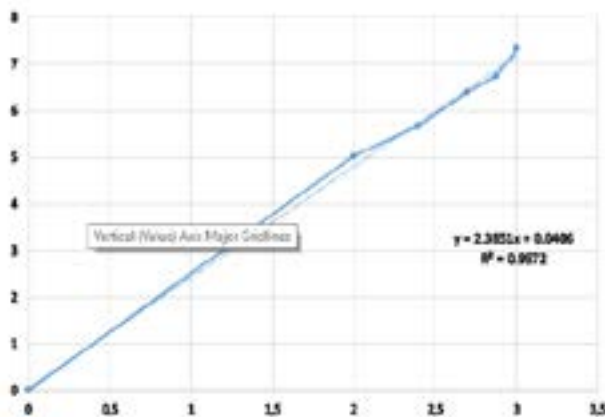
µg/ml = 96%.

Data Hasil Pengamatan kematian larva *Artemia Salina Leach* dilanjutkan dengan analisis probit menggunakan program Excel untuk mengetahui nilai Lc50 ekstrak n-Heksan dan Methanol didapatkan hasil sbb :

$$m = \frac{\sum(x)\sum(y) - n\sum(xy)}{(\sum x)^2 - n\sum(x^2)} \quad b = \frac{\sum(x)\sum(xy) - \sum(x^2)\sum(y)}{(\sum x)^2 - n\sum(x^2)}$$

$$m = \frac{-89.517}{-37.5312} = 2.3851 \quad b = \frac{-1.5237}{-37.5312} = 0.0406$$

Grafik Hubungan Log Konsentrasi Methanol dengan Nilai Probit Kematian Larva *Artemia Salina Leach*



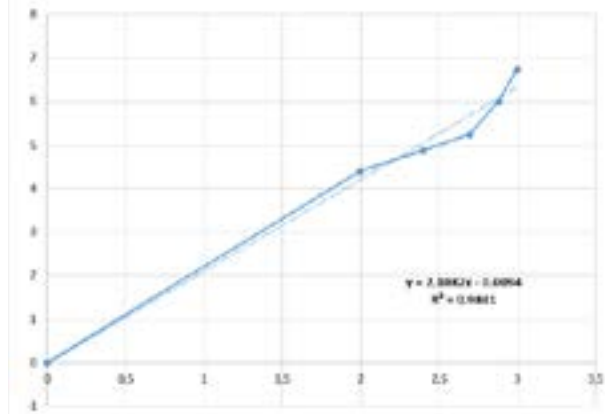
Pada grafik di atas terlihat nilai R2 dan persamaan garis linier. Nilai R2 adalah konstanta yang bernilai 0.9972 yang berarti pengaruh ekstrak metanol Rimpang Jeringau Merah dalam membunuh larva bernilai 99.72%. Persamaan regresi linier dari grafik diatas digunakan untuk mencari nilai LC50 dengan memasukkan angka 5 (probit dari 50%) sebagai y, sehingga diperoleh nilai $5 = 2.3851x + 0.0406$. Nilai y menunjukkan nilai probit kematian larva dan nilai x menunjukkan log konsentrasi. Setelah angka 5 dimasukkan sebagai y dapat diketahui bahwa kemampuan ekstrak metanol Rimpang Jeringau Merah untuk membunuh 50% dari total larva *Artemia salina Leach* terletak pada konsentrasi 242.7169 µg/ml. Dengan kata lain Ekstrak metanol Rimpang Jeringau Merah bersifat sitotoksik terhadap larva *Artemia salina Leach*.

$$m = \frac{\sum(x)\sum(y) - n\sum(xy)}{(\sum x)^2 - n\sum(x^2)} \quad b = \frac{\sum(x)\sum(xy) - \sum(x^2)\sum(y)}{(\sum x)^2 - n\sum(x^2)}$$

$$m = -79.1234 \quad b = -0.3538$$

$$\frac{-37.5312}{-37.5312} = 2.1082 \quad \frac{-37.5312}{-37.5312} = 0.0094$$

Grafik Hubungan Log Konsentrasi n-Heksan dengan Nilai Probit Kematian Larva *Artemia Salina Leach*



Pada grafik di atas terlihat nilai R2 dan persamaan garis linier. Nilai R2 adalah konstanta yang bernilai 0.9841 yang berarti pengaruh ekstrak n-Heksan Rimpang Jeringau Merah dalam membunuh larva bernilai 98.41%. Persamaan regresi linier dari grafik diatas digunakan untuk mencari nilai LC50 dengan memasukkan angka 5 (probit dari 50%) sebagai y, sehingga diperoleh nilai $5 = 2.1082x + 0.0094$. Nilai y menunjukkan nilai probit kematian larva dan nilai x menunjukkan log konsentrasi. Setelah angka 5 dimasukkan sebagai y dapat diketahui bahwa kemampuan ekstrak n-Heksan Rimpang Jeringau Merah untuk membunuh 50% dari total larva *Artemia salina Leach* terletak pada konsentrasi 128.2921 µg/ml. Dengan kata lain Ekstrak n-Heksan Rimpang Jeringau Merah bersifat sitotoksik terhadap larva *Artemia salina Leach*. Adanya flavonoid yang terkandung dalam Rimpang Jeringau Merah berfungsi sebagai antioksidan dapat menetralkan radikal bebas sehingga mencegah terjadinya kanker di dalam tubuh. Sebagaimana yang dinyatakan Moein et al. 2007, flavonoid adalah senyawa atau bahan yang digunakan pada konsentrasi lebih rendah dari substratnya secara signifikan dapat menunda atau mencegah oksidasi. Aktivitas antioksidan merupakan suatu aktivitas senyawa yang bersifat untuk menghambat terjadinya pembentukan radikal bebas di dalam tubuh. Antioksidan substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal.

Ekstrak n-Heksan dan Methanol Rimpang Jeringau Merah memiliki senyawa-senyawa yang bersifat sitotoksik yang memiliki mekanisme sebagai antikanker. Pada senyawa flavonoid, mekanisme sebagai antikanker ada beberapa teori sebagai berikut :Pertama, flavonoid sebagai oksidan yakni melalui mekanisme pengaktifan jalur apoptosis sel kanker atau kematian sel kanker dengan cara bunuh diri (kematian sel terprogram). Mekanisme apoptosis sel pada teori ini merupakan akibat fragmentasi DNA. Fragmentasi ini diawali dengan dilepasnya rantai proksimal DNA oleh senyawa oksigen reaktif seperti radikal hidroksil. Senyawa radikal hidroksil ini terbentuk dari reaksi redoks Cu (II). Senyawa tembaga ini dimobilisasi oleh flavonoid baik dari ekstra sel maupun intra sel terutama dari kromatin. Secara biokimia terjadi aktivasi berbagai enzim endonuklease dan protease, sehingga DNA dipecah menjadi fragmen-fragmen dengan panjang yang berbeda. Proses ini berakhir dengan dimakannya sel-sel tersebut oleh sel-sel yang berada di sekitarnya misalnya makrofag, tanpa merangsang respons inflamasi. Hal ini terjadi karena dalam apoptosis tidak terjadi pecahnya membran sel, sehingga senyawa-senyawa kimia yang berada di dalam sel tidak akan memicu terbentuknya inflamasi. Kedua, flavonoid sebagai antioksidan. Efek antioksidan flavonoid terutama berupa proteksi terhadap Reactive Oxygen Species (ROS). Reactive Oxygen Species adalah oksidan yang sangat reaktif dan mempunyai aktivitas yang dapat merusak komponen sel yang sangat penting untuk mempertahankan integritas sel. Ketiga, flavonoid sebagai penghambat proliferasi (pembelahan sel dengan cepat) tumor atau kanker yang salah satunya dengan menginhibisi atau menghambat aktivitas protein kinase yang memiliki fungsi mentransfer gugus fosfat dari ATP ke protein sehingga memfosforilasi protein sehingga menghambat jalur transduksi sinyal dari membran sel ke inti sel. Siklus sel-sel kanker lebih cepat dalam menjalani tahapan G1, S, dan G2 dibandingkan sel-sel normal. Keempat, dengan menghambat aktivitas reseptor tirosin kinase. Karena aktivitas reseptor tirosin kinase yang meningkat berperan dalam pertumbuhan keganasan. Efek dari tanin yang sudah diteliti mengenai antikanker atau tumor yaitu yang pertama dengan cara menghambat efek mutagenik dari karsinogen. Kedua, dengan menghambat tu-

mor promotor. Ketiga, dengan cara meningkatkan respon imun terhadap sel tumor.

Hasil uji toksisitas akut metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) ekstrak n-Heksan dan Methanol Rimpang Jeringau Merah terhadap hewan coba larva udang *Artemia salina* Leach menunjukkan bahwa ekstrak n-Heksan Rimpang Jeringau Merah dianggap memiliki potensi toksik atau bersifat sitotoksik dengan nilai lethal concentration 50 (LC50) pada konsentrasi 128.2921 µg/ml dimana konsentrasi tersebut kurang dari 1000 µg/ml sehingga dapat dinyatakan konsentrasi 128.2921 µg/ml adalah konsentrasi yang dapat membunuh setengah dari total hewan uji (50%). Demikian pula hasil uji toksisitas akut metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) ekstrak Methanol Rimpang Jeringau Merah terhadap hewan coba larva udang *Artemia salina* Leach menunjukkan bahwa ekstrak Methanol Rimpang Jeringau Merah dianggap memiliki potensi toksik atau bersifat sitotoksik dengan nilai lethal concentration 50 (LC50) pada konsentrasi 242.7169 µg/ml dimana konsentrasi tersebut kurang dari 1000 µg/ml sehingga dapat dinyatakan konsentrasi 242.7169 µg/ml adalah konsentrasi yang dapat membunuh setengah dari total hewan uji (50%). (Frengki, R., & Pertiwi, D. 2014)

Berdasarkan pengujian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak n-Heksan dan Metanol Rimpang Jeringau Merah bersifat sitotoksik karena mengandung senyawa aktif yaitu flavonoid, glikosida dan fenol. Sifat sitotoksik dari senyawa-senyawa tersebut pada konsentrasi tertentu dapat membunuh larva *Artemia salina* Leach. Mekanisme kematian larva berhubungan dengan fungsi senyawa-senyawa yang terdapat pada Rimpang Jeringau Merah dengan menghambat daya makan larva (antifeedant). Mekanisme senyawa-senyawa tersebut adalah dengan bertindak sebagai stomach poisoning atau racun perut. Oleh karena itu, bila senyawa-senyawa sitotoksik ini masuk ke dalam tubuh larva, alat pencernaannya akan terganggu. Selain itu, senyawa ini menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva yang mengakibatkan larva gagal mendapatkan stimulus rasa sehingga tidak mampu mengenali makanannya akibatnya larva mati kelaparan.

Sejalan dengan hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Aulia Ajrina (2015) tentang

uji toksisitas daun kesum terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan metode BSLT yang berfokus pada senyawa flavonoid pada ekstrak daun kesum yang bersifat sitotoksik, flavonoid pada ekstrak n-Heksan dan Methanol Rimpang Jeringau Merah juga bersifat sitotoksik. Kemudian sesuai penelitian lainnya, bahwa jika suatu senyawa bersifat sitotoksik dengan metode BSLT maka senyawa tersebut dapat dikembangkan sebagai obat antikanker, maka Rimpang Jeringau Merah dapat dilakukan penelitian lebih lanjut sebagai obat antikanker dan isolasi senyawa yang bersifat sitotoksik.

PENUTUP

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan tentang uji toksisitas akut ekstrak n-Heksan dan Methanol Rimpang Jeringau Merah terhadap larva *Artemia salina* Leach dapat disimpulkan bahwa dengan nilai LC50 (lethal concentration 50) ekstrak n-Heksan Rimpang Jeringau Merah yaitu sebesar 128.2921 µg/ml, maka ekstrak Rimpang Jeringau Merah bersifat sitotoksik terhadap larva *Artemia salina* Leach. Sedangkan nilai LC50 (lethal concentration 50) ekstrak Methanol Rimpang Jeringau Merah yaitu sebesar 242.7169 µg/ml µg/ml, maka ekstrak Rimpang Jeringau Merah bersifat sitotoksik terhadap larva *Artemia salina* Leach. Disarankan untuk penelitian selanjutnya peneliti menggunakan sampel yang sama menggunakan metode yang berbeda yaitu metode yang menggunakan tikus atau mencit sebagai hewan uji. Dalam penelitian ini Rimpang Jeringau Merah dapat digunakan sebagai bahan baku obat atau obat herbal dengan potensi sebagai antikanker.

DAFTAR PUSTAKA

- Ajrina, A. (2015). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Daun *Garcinia benthami* Pierre Terhadap Larva *Artemia salina* Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT).
- Frengki, R., & Pertiwi, D. (2014). Uji toksisitas ekstrak etanol sarang semut lokal Aceh (*Myrmecodia* sp.) dengan metode BSLT terhadap larva udang *Artemia salina* Leach. *J. Medika Veterinaria*, 8(1), 60-

62.

- Waji, S. Agestia dan Andis Sugrani. (2009). Flavonoid (Quercetin). Makasar: Program S2 Kimia FMIPA Universitas Hassnuddin
- Heidarnia, M. A., Entezari, A. B. A. S., Moein, M., Mehrabi, Y., & Pourpak, Z. (2007). Prevalence of asthma symptom in Iran: a meta-analysis. *Research in Medicine*, 31(3), 217-225.