



JURNAL LABORATORIUM KHATULISTIWA

e-ISSN : 2597-9531
p-ISSN : 2597-9523



TOKSISITAS AKUT EKSTRAK METANOL MENTIMUN (*CUCUMIS SATIVUS L.*) TERHADAP LARVA *ARTEMIA SALINA* LEACH METODE *BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BSLT)*

✉ **Khairin Akbar Putra, Indah Purwaningsih, Kuswiyanto**

Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Pontianak

E-mail : khairinakbarputra@gmail.com

Submitted : 8 Desember 2018 ; **Revised** : 9 Februari 2019; **Accepted** : 11 Maret 2019

Published : 30 April 2019

Abstract

Cucumber (*Cucumis sativus L.*) is a plant that is widely consumed by the people. Beside due the delicious taste of it, cucumbers also contain some compounds that can be used as a drug, one of them is to prevent cancer. This plant contains Flavonoid, Saponin, and Tanin. These three compounds are the compounds which is in certain levels can be cytotoxic. Acute toxicity is an early screening test for a specific cytotoxic potential crop for the development of anti-cancer drugs. The purpose of this research is to know the acute toxicity of cucumber (*Cucumis sativus L.*) methanol extract to the *Artemia salina* Leach larvae by Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method. This research method was an experimental by using BSLT method. The test animal used was the *Artemia salina* Leach larvae. The method of extraction was maseration method. The results of the study can be seen from the percentage of larvae mortality for each concentration of extract, those are 0 µg / ml, 250 µg / ml, 500 µg / ml, 750 µg / ml, 1000 µg / ml are 0%, 48%, 62 %, 72%, 84% and 92%. Based on the result of probit analysis with microsoft Excel showed that LC_{50} value of cucumber methanol extract is 201,0165 µg / ml which means this extract have potency of acute toxicity because LC_{50} value <1000 µg / ml.

Keywords : Cancer, *Cucumis sativus L.*, Acute toxicity, *Artemia salina* Leach, LC_{50}

Mentimun (*Cucumis sativus L.*) adalah tanaman yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat. Selain rasanya yang enak, mentimun juga memiliki kandungan senyawa yang dapat bermanfaat sebagai obat, salah satunya adalah untuk mencegah terjadinya kanker. Tanaman ini mengandung Flavonoid, Saponin, dan Tanin. Ketiga senyawa ini merupakan senyawa yang dengan kadar tertentu dapat bersifat sitotoksik. Toksisitas akut merupakan skrining awal untuk menguji suatu tanaman tertentu yang memiliki potensi sitotoksik untuk pengembangan obat anti kanker. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui toksisitas akut dari ekstrak metanol mentimun (*Cucumis sativus L.*) terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Metode penelitian ini berbentuk eksperimental dengan menggunakan metode BSLT. Hewan uji yang digunakan adalah larva *Artemia salina* Leach. Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode maserasi. Hasil penelitian dapat dilihat dari persentase kematian larva untuk setiap konsentrasi ekstrak, yaitu 0 µg/ml, 250 µg/ml, 500 µg/ml, 750 µg/ml, 1000 µg/ml secara berturut-turut adalah 0%, 48%, 62%, 72%, 84% dan 92%. Berdasarkan hasil analisis probit dengan microsoft Excel menunjukkan nilai LC_{50} ekstrak metanol mentimun adalah 201, 0165 µg/ml yang berarti ekstrak ini memiliki potensi toksisitas akut karena nilai LC_{50} < 1000 µg/ml.

Kata Kunci : Kanker, *Cucumis sativus L.*, Toksisitas Akut, *Artemia salina* Leach, LC_{50}

PENDAHULUAN

Penyakit kanker merupakan salah satu penyebab kematian utama di seluruh dunia (Kemenkes R.I, 2015). Usaha penyembuhan kanker yang dilakukan seperti operasi, radioterapi dan kemoterapi pada umumnya belum mampu memberikan hasil yang efektif (Astuti, 2013). Oleh karena itu, obat tradisional pada saat ini menjadi pilihan dalam berbagai pengobatan termasuk kanker karena bahan alam relatif lebih aman dan mempunyai efek samping yang lebih kecil (Mua-ja *et al.*, 2013).

Salah satu tumbuhan yang dapat bermanfaat sebagai tanaman obat adalah mentimun (*Cucumis sativus* L.). Mentimun termasuk buah murah dan banyak dijumpai di sekeliling kita, namun buah ini bukanlah buah murahan karena mentimun kaya akan khasiat (Nugraheni, 2016).

Untuk mengetahui toksisitas senyawa tumbuhan diperlukan metode yang tepat, cepat dan sederhana. Salah satu metode yang digunakan adalah uji toksisitas dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach. Metode ini dikenal dengan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Metode BSLT dipilih karena metode ini sering digunakan untuk pra skrining terhadap senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak tumbuhan karena sederhana, cepat, murah, mudah, dapat dipercaya, dan hasilnya representative (Kurniawan, 2012).

Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) adalah metode yang biasa digunakan dalam pengujian toksisitas akut karena senyawa-senyawa yang memiliki bioaktivitas tertentu seringkali bersifat toksik terhadap larva udang. Oleh karena itu, kemampuan untuk mematikan larva udang dapat digunakan sebagai uji pendahuluan yang cepat dan sederhana untuk mengetahui bioaktivitas suatu senyawa secara *in vitro*. Telur udang *Artemia salina* Leach yang biasa digunakan untuk uji toksisitas ini tersedia sebagai makanan ikan di toko makanan binatang (Kristanti *et al.*, 2008).

Suatu ekstrak dinyatakan bersifat toksik menurut metode BSLT jika memiliki LC_{50} kurang dari 1000 $\mu\text{g/ml}$ (Priyanto, 2010). Untuk mendapatkan ekstrak tanaman yang baik, diperlukan pelarut yang sesuai. Flavonoid umumnya ditemukan dalam bentuk terikat dengan gula membentuk glikosida, sedangkan saponin merupakan bentuk glikosida. Keduanya lebih mudah larut dalam pelarut polar. Salah satu pelarut polar adalah metanol (Hanani, 2015).

METODE PENELITIAN

Desain penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Quasi Eksperiment* (Eksperimental semu) 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. Populasi dalam penelitian ini adalah buah mentimun (*Cucumis sativus* L.). Sampel dalam penelitian ini adalah variasi konsentrasi ekstrak metanol buah mentimun (*Cucumis sativus* L.) sebesar 100 $\mu\text{g/ml}$, 250 $\mu\text{g/ml}$, 500 $\mu\text{g/ml}$, 750 $\mu\text{g/ml}$ dan 1000 $\mu\text{g/ml}$. Teknik pengambilan sampel dalam penelitian ini adalah dimana subyek penelitian diambil menggunakan *Purposive Sampling* yaitu didasarkan pada kriteria tertentu yang dibuat oleh peneliti (Notoadmojo, 2012). Jumlah replikasi atau pengulangan dari tiap kelompok perlakuan dan kontrol adalah sebanyak lima kali (Sugiyono, 2016). Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tanjungpura Pontianak. Pembuatan ekstrak, skrining fitokimia dan uji toksisitas akut dilakukan di Laboratorium Farmakologi Akademi Farmasi YARSI Pontianak.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil skrining fitokimia didapat flavonoid, saponin dan tanin yang diduga sebagai senyawa yang bersifat sitotoksik positif pada ekstrak mentimun.

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia

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

Uji toksisitas akut dilakukan terhadap larva *Artemia salina* Leach yang berusia 48 jam pada media air laut buatan. Media air laut buatan tersebut dijadikan pengencer ekstrak yang akan dijadikan larutan uji. Ekstrak dibuat dengan konsentrasi 2000 $\mu\text{g/ml}$ sebagai larutan induk kemudian dibuat larutan uji dengan konsentrasi 1000 $\mu\text{g/ml}$, 750 $\mu\text{g/ml}$, 500 $\mu\text{g/ml}$, 250 $\mu\text{g/ml}$ dan 100 $\mu\text{g/ml}$. Larutan uji tersebut dimasukkan kedalam vial uji dimana didalam vial uji tersebut sudah terdapat 10 larva *Artemia salina* Leach, kemudian diberi 1 tetes ragi sebagai makanan bagi larva lalu diinkubasi selama 24 jam. Setelah diinkubasi, dilihat dan dihitung larva yang mati kemudian dihitung persentase kematiannya. Kematian larva pada uji ini disajikan dalam tabel 2.

Tabel 2. Hasil Kematian Larva Setelah 24 Jam

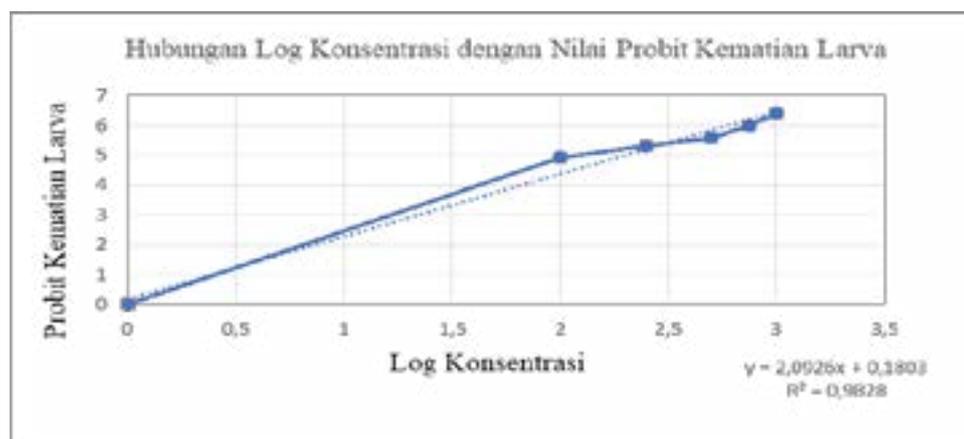
	Jumlah Kematian A	Kode Sampel					Jumlah Larva Tiap Vial	
		B	C	D	E	Kontrol (-)		
Replikasi	1	6	7	7	7	10	0	10
	2	4	6	8	8	8	0	10
	3	5	5	7	10	9	0	10
	4	4	7	6	8	9	0	10
	5	5	6	8	9	10	0	10
Rata-rata Kematian Larva		4,8	6,2	7,2	8,4	9,2	0	
% Kematian Larva		48	62	72	84	92	0	

Tabel 2. menunjukkan banyaknya kematian larva udang pada konsentrasi 100 µg/ml (A), 250 µg/ml (B), 500 µg/ml (C), 750 µg/ml (D), 1000 µg/ml (E) dan kontrol serta persentase kematiannya. Pada konsentrasi 100 µg/ml persentase kematiannya sebesar 48%, pada konsentrasi 250 µg/ml persentase kematiannya sebesar 62%, pada konsentrasi 500 µg/ml persentase kematiannya sebesar 72%, pada konsentrasi 750 µg/ml persentase kematiannya sebesar 84%, konsentrasi 1000 µg/ml persentase kematiannya sebesar 92% dan pada kontrol persentase kematiannya sebesar 0%.

Pada penelitian ini dilakukan uji Saphiro Wilk untuk mengetahui data tersebut berdistribusi normal atau tidak dan Uji F untuk mengetahui data tersebut homogen atau tidak. Setelah diketahui bahwa data tersebut berdistribusi normal dan homogen, kemudian diolah menggunakan Ms. Excel untuk mencari regresi linier berdasarkan grafik garis. Dari grafik tersebut didapatkan persamaan $y = mx + b$ dan nilai R square (R^2). Adapun grafik hubungan antara konsentrasi dan persentase kematian disajikan pada gambar 1.

tas digunakan untuk mencari nilai LC_{50} dengan memasukkan angka 5 (probit dari 50%) sebagai y, sehingga diperoleh nilai $5 = 2,0926x + 0,1803$. Nilai y menunjukkan nilai probit kematian larva dan nilai x menunjukkan log konsentrasi. Setelah angka 5 dimasukkan sebagai y dapat diketahui bahwa kemampuan ekstrak buah mentimun untuk membunuh 50% dari total larva *Artemia salina* Leach terletak pada konsentrasi 201,0165 µg/ml. Nilai tersebut menunjukkan bahwa ekstrak mentimun bersifat sitotoksik karena LC_{50} kurang dari 1000 µg/ml. Hal tersebut berkaitan dengan keempat senyawa yang terdapat dalam ekstrak mentimun yaitu alkaloid, saponin, dan flavonoid dan tanin yang berdasarkan skrining fitokimia diperoleh hasil positif. Sifat sitotoksik dari senyawa-senyawa tersebut, dengan konsentrasi tertentu dapat membunuh larva *Artemia salina* Leach.

Mekanisme flavonoid sebagai antikanker ada beberapa teori. Pertama, flavonoid sebagai oksidan yakni melalui mekanisme pengaktifan jalur apoptosis sel kanker. Mekanisme apoptosis sel pada teori



Gambar 1. Grafik Hubungan Antara Konsentrasi dan Persentase Kematian Larva

Pada gambar 1 terlihat nilai R^2 dan persamaan garis linier. Nilai R^2 adalah konstanta yang bernilai 0,9828 yang berarti pengaruh ekstrak buah mentimun dalam membunuh larva bernilai 98,28%. Persamaan regresi linier dari grafik dia-

ini merupakan akibat fragmentasi DNA. Fragmentasi ini diawali dengan dilepasnya rantai proksimal DNA oleh senyawa oksigen reaktif seperti radikal hidroksil. Senyawa ini terbentuk dari reaksi redoks Cu (II). Senyawa tembaga ini dimobilisasi oleh flavonoid baik

dari ekstra sel maupun intra sel terutama dari kromatin (Ramadhani, 2009). Apoptosis adalah mekanisme kematian sel yang terprogram yang penting dalam berbagai proses biologi. Apoptosis memiliki peranan penting dalam fenomena biologis. Proses apoptosis yang tidak sempurna dapat menyebabkan timbulnya penyakit yang sangat bervariasi. Terlalu banyak apoptosis menyebabkan sel mengalami kekacauan, sedangkan terlalu sedikit apoptosis juga menyebabkan pertumbuhan sel yang tidak terkontrol dan menjadi kanker. Proliferasi sel adalah proses fisiologis yang terjadi hampir di semua jaringan tubuh manusia pada berbagai keadaan sel untuk berkembang biak. Homeostasis antara proliferasi sel dan kematian sel yang terprogram (apoptosis) secara normal dipertahankan untuk menjaga integritas jaringan dan organ (CCRC UGM, 2012; Chrestella, 2009).

Kedua, flavonoid sebagai antioksidan. Efek antioksidan flavonoid terutama berupa proteksi terhadap sel dari *Reactive Oxygen Species* (ROS). *Reactive Oxygen Species* (ROS) merupakan oksidan yang sangat reaktif dan mempunyai aktivitas yang dapat merusak komponen sel yang sangat penting untuk mempertahankan integritas sel (Maslachah, 2008; Ramadhani, 2009).

Ketiga, flavonoid sebagai penghambat proliferasi tumor atau kanker yang salah satunya dengan menghambat aktivitas protein kinase sehingga menghambat jalur transduksi sinyal dari membran sel ke inti sel. Keempat, dengan menghambat aktivitas reseptor tirosin kinase, karena aktivitas reseptor tirosin kinase yang meningkat berperan dalam pertumbuhan keganasan. Seperti diketahui, kebanyakan sel-sel kanker (tumor ganas) manusia atau penyakit serius lainnya secara molekuler selalu dihubungkan dengan kegagalan fosforilasi protein yang disebabkan oleh aktivasi berlebih atau ekspresi berlebih dari tirosin kinase (Ramadhani, 2009)

Mekanisme senyawa saponin sebagai anti kanker yaitu dengan menghambat pembentukan berlebih Bcl-2. Bcl-2 adalah protein anti apoptosis yang apabila produksinya dihambat, proses apoptosis dapat berjalan dengan baik (Fitria et al., 2011)

Efek dari tanin yang sudah diteliti mengenai anti kanker atau tumor yaitu yang pertama dengan cara pencegahan proses mutagenesis yang dapat menimbulkan kanker. Kedua, dengan menghambat tumor promotor. Ketiga, dengan cara meningkatkan respon imun terhadap sel tumor, yaitu pengaktifan makrofag sel kanker (Okuda & Ito, 2011)

Jika suatu senyawa bersifat sitotoksik dengan metode BSLT maka senyawa tersebut dapat dikembangkan sebagai obat antikanker (Kristanti, A et al., 2008).

PENUTUP

Ekstrak buah mentimun dapat membunuh larva *Artemia salina* Leach sebesar 48% pada konsentrasi 100 µg/ml, 62% pada konsentrasi 250 µg/ml, 72% pada konsentrasi 500 µg/ml, 84% pada konsentrasi 750 µg/ml dan 92% pada konsentrasi 1000 µg/ml. Nilai LC_{50} (*lethal concentration 50*) ekstrak buah mentimun yaitu sebesar 201,0165 µg/ml. Ekstrak metanol mentimun memiliki nilai *lethal concentration 50* (LC_{50}) <1000 µg/ml, maka ekstrak buah mentimun bersifat sitotoksik terhadap larva *Artemia salina* Leach.

DAFTAR PUSTAKA

- Astuti. (2013). *Uji Antiproliferasi Ekstrak Etil Asetat Daun Benalu Kepel (Dendrophthoe curvata (Blume) Miq.) Terhadap Cell Line Kanker Payudara T47d*. UIN Sunan Kalijaga.
- CCRC UGM. (2012). *Mekanisme dan Regulasi Apoptosis, CCRC (Cancer Chemoprevention Research Center)*. Farmasi UGM File. Yogyakarta.
- Chrestella, J. (2009). *Neoplasma*. Medan.
- Fitria, M., Armandari, I., Septhea, D, B., Hermawan, A., Ikawati, M., & Meiyanto, E. (2011). Ekstrak Etanolik Herba Ciplukan (*Physalis angulata* L.) Berefek Sitotoksik dan Menginduksi Apoptosis pada Sel kanker Payudara MCF-7. *Jurnal Bionatura*.
- Hanani, E. (2015). *Analisis Fitokimia*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Kemenkes R.I. (2015). *InfoDATIN. STOP KANKER*.
- Kristanti, A, N., Nanik, S, A., Mulyadi, T., & Bambang, K. (2008). *Buku Ajar Fitokimia* (Cetakan I). Surabaya: Airlangga University Press.
- Kurniawan, H. (2012). *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Daun Kesum (Polygonum minus Huds) Terhadap Larva Artemia Salina Leach dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*. Univesitas Tanjungpura, Pontianak.
- Maslachah, L., Sugiharti, R., & Kurniasanti, R. (2008). Hambatan Produksi Reactive Oxygen Species Radikal Superoksida (O₂) oleh Antioksidan Vitamin E (α -tokoferol) pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Menerima Stressor Renjatan Listrik. *Media Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya*, 24(1).
- Muaja, A, D., Koleangan, H, S., & Runtuwene, M,

- R. (2013). Uji Toksisitas Dengan Metode BSLT Dan Analisis Kandungan Fitokimia Ekstrak Daun Soyogik (*Saurauia bracteososa DC*) Dengan Metode Soxhletasi. *Jurnal MIPA Unsrat Online*, 2(2), 115–118.
- Notoadmojo, S. (2012). *Metodologi Penelitian Kesehatan* (Revisi). Jakarta: Rineka Cipta.
- Nugraheni. (2016). *Raja Obat Alami : Mentimun Khasiat A-Z*. Yogyakarta: Rapha Publishing.
- Okuda, T., & Ito, H. (2011). Tannins of constant structure in medicinal and food plants-hydrolyzable tannins and polyphenols related to tannins. *Molecules*, 16(3), 2202–2203.
- Priyanto. (2010). *Toksikologi, Mekanisme, Terapi Antidotum, dan Penilaian Resiko* (Kedua). Depok: Leskonfi.
- Ramadhani, A, N. (2009). *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Sukun (*Artocarpus altilis*) Terhadap Larva *Artemia salina Leach* dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*. Universitas Diponegoro Semarang.
- Sugiyono. (2016). *Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif, dan R&D*. Bandung: Alfabeta.