

## UJI TOKSIKISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL AKAR, BIJI CEMPEDAK (*Artocarpus champeden Spreng*) TERHADAP LARVA UDANG (*Artemia salina* Leach) DENGAN METODE BRINE SHRIMP LETHALITY TEST

Riska Yuli N.<sup>1</sup>, Sitti Nur Aminah<sup>1</sup>, Netti Wulandari<sup>1</sup>, Siti Fauziah<sup>1</sup>, M. Rusdi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>) Program Studi Farmasi Fakultas MIPA, Universitas Islam Makassar

<sup>2</sup>) Program Studi Farmasi FKIK, Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar

### ABSTRAK

Indonesia merupakan Negara kepulauan yang dilalui oleh garis khatulistiwa memiliki iklim yang tropis sehingga terdapat banyak keanekaragaman ekosistem. Perkembangan zaman yang semakin maju bukan hanya memberikan kemajuan dibidang teknologi tapi juga pada bidang ilmu pengetahuan dan kesehatan. Hal inilah sehingga banyak mengeksplorasi tumbuhan sebagai obat tradisional, karena tumbuhan mengandung banyak senyawa kimia yang memiliki berbagai macam khasiat menyembuhkan. Sesuai Tradisi masyarakat masih kental terhadap keyakinan tentang penggunaan tumbuhan sebagai obat tradisional yang dapat menyembuhkan berbagai macam penyakit. Salah Satu tumbuhan yang diyakini oleh masyarakat secara empiris dapat menyembuhkan penyakit kanker adalah tumbuhan cempedak dari spesies *artocarpus*. Hal ini telah didukung dengan beberapa peneliti yang mengungkapkan bahwa spesies *artocarpus* mempunyai khasiat sebagai anti kanker. Maksud dan tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek toksikisitas akut ekstrak etanol daun, batang cempedak (*Artocarpus Champeden Spreng*) dengan konsentrasi yang sama terhadap Larva udang (*Artemia Salina Leach*) terhadap metode *Brine Shrimp lethality Test (BST)* dan Menentukan nilai LC 50 larva *Artemia salina* Leach setelah pemberian ekstrak etanol akar dan biji cempedak. Ekstrak etanol biji cempedak memiliki efek yang bersifat toksik sedang dengan nilai LC<sub>50</sub> sebesar 117,76 µg/mL pada konsentrasi LC<sub>50</sub> 100-1000 µg/mL. Pengujian terhadap Ekstrak etanol batang cempedak efek yang dihasilkan adalah bersifat sangat toksik dengan nilai LC<sub>50</sub> sebesar 2,642 µg/mL pada konsentrasi LC<sub>50</sub> 0-10 µg/mL.

**Kata kunci** : Uji toksisitas, Akar dan biji Cempedak, larva udang, BST

### PENDAHULUAN

Indonesia merupakan Negara kepulauan yang dilalui oleh garis khatulistiwa sehingga memiliki iklim yang tropis. Indonesia termasuk negara Megabiodiversitas terbesar di dunia setelah Brazilia yang memiliki keanekaragaman ekosistem yang banyak dan sangat terkenal (Dalimarta, 2003).

Perkembangan zaman yang semakin moderen memberikan kemajuan di bidang ilmu pengetahuan, teknologi dan kesehatan yang mampu mengeksplorasi tumbuhan sebagai obat tradisional, karena tumbuhan mengandung banyak senyawa kimia yang memiliki berbagai macam khasiat obat yang dapat menyembuhkan, salah satu penyakit yang dapat disembuhkan adalah penyakit kanker (Ersam, 2001).

Kanker merupakan pertumbuhan dan perkembangan sel yang tidak terkontrol yang terjadi dalam tubuh. Sampai saat ini masih sedikit sekali obat anti kanker yang bekerja secara selektif untuk pengobatan jenis kanker tertentu (Hawariah ALP, 1998).

Cara lain yang dipilih sebagian penderita penyakit ini adalah dengan memanfaatkan bahan alam yaitu dengan menggunakan tanaman obat.

Banyak tanaman yang berkhasiat sebagai obat kanker yang diyakini secara tradisional dapat membunuh sel kanker, tetapi penggunaan tanaman obat tersebut kadang hanya berdasarkan pengalaman atau secara empiris saja (Dalimarta, 2003).

Salah satu tumbuhan yang biasa digunakan masyarakat secara empiris diyakini untuk pengobatan kanker adalah cempedak (*Artocarpus champeden Spreng*). Cempedak juga diyakini dapat mengobati malaria, hipertensi, gula darah, penyakit kulit, panas/demam dan memiliki buah multi manfaat. Beberapa penelitian yang mengungkapkan bahwa genus *Artocarpus* mempunyai khasiat sebagai antikanker (Heyne, 1987).

*Artocarpus champeden* Spreng sebagai salah satu tumbuhan dari ndone Moraceae memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder dari golongan flavonoid yang diantaranya memiliki bioaktivitas yang tinggi sebagai antikanker dan antimalaria (Nomura, T., 1998).

Informasi penggunaan bagian lain dari tanaman Cempedak seperti Akar dan Biji sebagai antikanker belum ada, sehingga perlu dilakukan penelitian pendahuluan mengenai Akar dan Biji

Cempedak (*Artocarpus champeden* Spreng) dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BST). BST digunakan sebagai uji pendahuluan yang dapat mendukung adanya penemuan senyawa-senyawa antikanker. Penelitian ini menerapkan metode BST dengan menggunakan Larva Udang (*Artemia salina* Leach) sebagai hewan uji karena Larva Udang memiliki ukuran sangat kecil, pertumbuhannya cepat sehingga dapat diasumsikan sebagai pertumbuhan sel yang abnormal.

Metode BST merupakan salah satu metode yang banyak digunakan untuk pencarian senyawa antikanker baru yang berasal dari tanaman. Hasil uji toksisitas dengan metode ini telah terbukti memiliki korelasi dengan daya sitotoksik senyawa antikanker. Metode BST ini juga mudah dikerjakan, murah, cepat dan cukup akurat (Anderson, 1991).

Permasalahan yang timbul dalam penelitian ini adalah apakah kandungan zat aktif dalam ekstrak etanol Akar dan Biji cempedak mempunyai potensi toksisitas akut terhadap larva *Artemia salina* Leach?

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi toksisitas akut pada ekstrak etanol Akar dan Biji cempedak (*Artocarpus champeden* Spreng) dengan metode Brine Shrimp lethality Test (BST) dan untuk menentukan nilai  $LC_{50}$  setelah pemberian ekstrak etanol Akar dan Biji cempedak.

## METODE PENELITIAN

### A. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah Aerator, Autoklaf, Gelas Piala, Cawan Porselin, Desikator, Erlenmeyer 250 ML, Gelas ukur 100 ML, Labu Tentukur (Pirex), Kertas Saring (Whatman), Lampu Pijar, Mikropipet, Oven, Pipet Tetes, Pompa Vakum, Rotary Evaporator, Stirrer, Seperangkat Alat maserasi, Seperangkat alat uji Brine Shrimp Lethality Test (BST) yang terdiri atas wadah penetasan Telur *Artemia salina* Leach, Timbangan kasar, Timbangan analitik, dan Vial.

Bahan-bahan yang digunakan adalah Simplisia Akar dan Biji Cempedak, Etanol 96%, Aquadest, Larva *Artemia salina* Leach, Ragi (Fermipan) sebagai Pakan Larva Udang, DMSO dan Air Laut.

### B. Penyiapan Sampel

Sampel penelitian berupa Akar dan Biji Cempedak (*Artocarpus champeden* Spreng) yang diperoleh dari Desa Porodoo Kecamatan Mappadeceng Kabupaten Luwu Utara (Masamba).

Sampel penelitian berupa Akar dan Biji cempedak (*Artocarpus champeden* Spreng) dicuci bersih, ditimbang lalu dirajang, dikeringkan dengan cara diangin-anginkan tanpa terkena sinar matahari langsung sampai kering, disortasi kering

dan dimasukkan dalam wadah oven selama 45 °C ditimbang kemudian dibuat serbuk.

### C. Ekstraksi

Serbuk Akar dan Biji Cempedak sebanyak 100 gram, dimasukkan masing-masing ke dalam wadah maserasi kemudian ditambahkan etanol 96% sampai terendam (sebanyak 1900 ML untuk akar dan 1800 ML untuk biji) ditutup. Dibiarkan selama 2 hari pada temperatur kamar terlindung dari cahaya sambil sekali-kali diaduk, lalu disaring menggunakan kertas saring (Kertas Whatman). Perlakuan maserasi diulang hingga 3 kali dengan menggunakan pelarut yang sama. Ekstrak yang diperoleh dikumpulkan kemudian diuapkan dengan rotary evaporator sampai diperoleh ekstrak pekat, selanjutnya diuapkan sampai kental. Ekstrak kental etanol 96% yang diperoleh disimpan dalam desikator hingga diperoleh ekstrak kering. Ekstrak kering tersebut ditimbang untuk mengetahui rendamennya.

### D. Penetasan Larva Udang

Sebuah bejana penetas disekat sehingga memiliki dua sisi ruang, yaitu satu bagian dibuat gelap dan satu bagian dibuat terang. Telur udang dimasukkan pada tempat yang memiliki penerangan selama 48 jam yang berisi air laut 250 ML yang telah disaring terlebih dahulu dan telah disterilisasikan dalam autoklaf dengan suhu 121°C di bawah cahaya lampu pijar 60 watt. Penetasan telur udang dilengkapi aerator sehingga telur tersebut menetas dan siap digunakan untuk pengujian.

### E. Pelaksanaan pengujian Ekstrak

Dibuat larutan stok Ekstrak etanol Akar dan Biji cempedak (*Artocarpus champeden* Spreng) 10.000 ppm dengan cara ditimbang masing-masing ekstrak sebanyak 50 mg, dilarutkan dalam Etanol 96% dalam Labu Tentukur mencapai volume 5 mL. Setiap larutan stok 10.000 ppm dibuat dengan konsentrasi ekstrak berturut-turut 1000 ppm, 100 ppm, 10 ppm, 1 ppm dengan cara dipipet larutan stok masing-masing  $\mu$ L, 50  $\mu$ L, 5  $\mu$ L di masukkan kedalam vial. Untuk 1 ppm dipipet 50  $\mu$ L larutan 100 ppm lalu dimasukkan kedalam vial, setiap konsentrasi dibuat secara triplo (= 3 vial). (Larutan ekstrak konsentrasi 100 ppm diperoleh dengan dipipet 50  $\mu$ L larutan stok 10.000 ppm ditambah etanol 96% sampai 5 mL dalam labu tentukur).

Semua vial yang berisi ekstrak diuapkan selama kurang lebih 24 jam (tanpa air laut di angin-anginkan dengan kipas) hingga pelarut etanolnya habis menguap. Lalu ke dalam setiap vial di tambahkan DMSO 50  $\mu$ L dan air laut 5 mL. Dibuat Kontrol yaitu DMSO 50  $\mu$ L dalam 5 mL air laut secara triplo.

Terakhir kedalam setiap di masukkan

secara acak 10 ekor larva udang *Artemia salina* Leach yang telah ditetaskan selama 48 jam dan ditambah 3 tetes suspensi ragi (*Fermipan*), lalu vial-vial yang berisi larva di tempatkan diruang yang cukup mendapat cahaya lampu selama 24 jam. Selanjutnya dilakukan pengamatan jumlah larva yang mati.

#### F. Pengumpulan dan analisis data

Data yang dikumpulkan adalah data primer yang didapatkan dari jumlah larva udang yang mati 24 jam (% Kematian) setelah perlakuan pada tiap-tiap konsentrasi ekstrak Akar dan Biji cempedak. Setelah melewati proses tersebut, data dianalisis dengan analisis probit menggunakan nilai probit untuk mengetahui harga  $LC_{50}$ ,

$$\% \text{ kematian} = \frac{\sum \text{larva uji mati} - \sum \text{larva kontrol mati}}{\sum \text{larva total awal}} \times 100\%$$

#### HASIL DAN PEMBAHASAN

Tanaman Cempedak (*Artocarpus champeden* Spreng) diperoleh dari Desa Porodua Kec Mappadeceng Kabupaten Masamba Luwu Utara. Bagian tumbuhan yang digunakan adalah Akar dan Biji. Sampel di sortasi basah yaitu dibersihkan dari kotoran yang menempel dan dicuci dengan air mengalir, kemudian sortasi kering dan di potong kecil- kecil, di angin- anginkan tanpa terkena sinar matahari langsung. Akar dan biji cempedak di masukkan kedalam oven pada suhu 45 °C dan di serbukkan dengan menggunakan penggiling. Serbuk akar dan biji sebanyak 100 g dimaserasi dengan menggunakan etanol 96% selama 2 hari dengan sesering mungkin dilakukan pengadukan dalam bejana tertutup rapat dan terlindung dari cahaya matahari langsung. Setelah itu disaring dengan menggunakan kertas saring wathman dan ampasnya direndam lagi dengan penyari baru. Hal ini dilakukan hingga proses ekstraksi sempurna.

Hasil rendamen dari ekstrak etanol akar dan biji dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Perhitungan Rendamen Ekstrak Etanol Akar dan Biji Cempedak (*Artocarpus champeden* Spreng)

| Sampel         | Berat Sampel (g) | Berat Ekstrak (g) | % Rendamen |
|----------------|------------------|-------------------|------------|
| Simplisia akar | 100              | 2,1288            | 2,1288     |
| Cempedak       |                  |                   |            |
| Simplisia Biji | 100              | 3,6477            | 3,6477     |
| Cempedak       |                  |                   |            |

Selanjutnya dilakukan penimbangan untuk berat ekstrak etanol akar dan biji cempedak yang akan dilakukan pengujian. Hasil penimbangan berat ekstrak Akar dan Biji cempedak (*Artocarpus champeden* Spreng) dilihat pada tabel di bawah ini:

Tabel 2. Hasil Penimbangan Berat Ekstrak etanol Akar dan Biji cempedak (*Artocarpus champeden* Spreng)

| Ekstrak etanol 96 % | Berat Total (g) | Berat untuk Pengujian (mg) |
|---------------------|-----------------|----------------------------|
| Daun cempedak       | 2,1288          | 50                         |
| Batang Cempedak     | 3,6477          | 50                         |

Hasil analisis data efek toksisitas akut masing-masing ekstrak biji dan akar cempedak (*Artocarpus champeden* Spreng) terhadap larva udang (*Artemia salina* Leach) setelah 24 jam perlakuan dapat dilihat pada tabel 3 dan 4 di bawah ini :

Tabel 3. Hasil Analisis Data Efek Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Biji Cempedak (*Artocarpus champeden* Spreng) terhadap Larva Udang (*Artemia salina* Leach) Setelah 24 Jam Perlakuan

| Konsentrasi (µg/ML) | Log konsentrasi | Total Larva |      | % Kematian | Nilai Probit |
|---------------------|-----------------|-------------|------|------------|--------------|
|                     |                 | Uji         | Mati |            |              |
| 1000                | 3               | 30          | 30   | 57         | 5,18         |
| 100                 | 2               | 30          | 30   | 57         | 5,18         |
| 10                  | 1               | 30          | 23   | 34         | 4,56         |
| 1                   | 0               | 30          | 21   | 27         | 4,39         |

Per. Regresi  $y = 0,296x + 4,391$   $R^2 = 0,883$

Nilai  $LC_{50} = 117,76 \mu\text{g/ML}$

Tabel 4. Hasil Analisis Data Efek Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Akar Cempedak (*Artocarpus champeden* Spreng) terhadap Larva Udang (*Artemia salina* Leach) Setelah 24 Jam Perlakuan

| Konsentrasi<br>(µg/mL) | Log<br>konsentrasi | Total Larva |      | %<br>Kematian | Nilai<br>Probit |
|------------------------|--------------------|-------------|------|---------------|-----------------|
|                        |                    | Uji         | Mati |               |                 |
| 1000                   | 3                  | 30          | 30   | 57            | 5,18            |
| 100                    | 2                  | 30          | 29   | 97            | 6,88            |
| 10                     | 1                  | 30          | 25   | 84            | 5,99            |
| 1                      | 0                  | 30          | 24   | 80            | 5,84            |

Pers. Regresi  $y = 0,834x + 5,624$   $R^2 = 0,908$

**Nilai LC<sub>50</sub> = 2,642 µg/mL**

Efek toksisitas akut dapat diperoleh dari pengamatan dengan menghitung % kematian larva *Artemia salina* Leach setelah 24 jam pada tiap konsentrasi. Nilai probit tiap konsentrasi uji dicari melalui persen kematian, kemudian dibuat grafik dengan persamaan garis lurus hubungan antara probit dengan log konsentrasi,  $y = bx + a$ . Dimana  $y$ : angka probit dan  $x$ : log konsentrasi, kemudian ditarik garis dari harga LC<sub>50</sub>. Nilai probit juga dihitung dari persamaan garis lurus tersebut dengan memasukkan nilai 5 (probit dari 50% kematian hewan coba) sebagai  $y$  sehingga dihasilkan  $x$  sebagai nilai  $x$  tersebut (Prayatno, 2009).

Hasil analisis data menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji cempedak memiliki efek yang bersifat toksik sedang dengan nilai LC<sub>50</sub> sebesar 117,76 µg/mL pada konsentrasi LC<sub>50</sub> 100-1000 µg/mL. Pengujian terhadap Ekstrak etanol batang cempedak efek yang dihasilkan adalah bersifat sangat toksik dengan nilai LC<sub>50</sub> sebesar 2,642 µg/mL pada konsentrasi LC<sub>50</sub> 0-10 µg/mL.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian analisis data dan pembahasan yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol biji cempedak memiliki efek yang bersifat toksik sedang dengan nilai LC<sub>50</sub> sebesar 117,76 µg/mL pada konsentrasi LC<sub>50</sub> 100-1000 µg/mL. Pengujian terhadap Ekstrak etanol batang cempedak efek yang dihasilkan adalah bersifat sangat toksik dengan nilai LC<sub>50</sub> sebesar 2,642 µg/mL pada konsentrasi LC<sub>50</sub> 0-10 µg/mL.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anderson, J. E., Goetz C. M., Mc Laughlin J. L, 1991. A blind Comparison of Simple Bench-top Bioassay and Human Tumor Cell Cytotoxicities as Anti Tumor Prescreens, Natural Product Chemistry, Elsevier, Amsterdam
- Dalimartha, S., 2003. Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 3. Cetakan I. Jakarta: Puspa Swara
- Ersam, T., 2001. Senyawa Kimia Mikromolekul Beberapa Tumbuhan *Artocarpus* Hutan

- Tropika Sumatera Barat, Disertasi, PPs. ITB. Bandung.
- Hawariah ALP., 1998. Kanker payudara. Serdang: Penerbit Universit Putra Malaysia.
- Heyne, K., 1987. Tumbuhan Berguna Indonesia, Jilid II, Badan Litbang Kehutanan, Jakarta
- Nomura, T.; Hano Yuanita; Muhammad Aida, 1998. Isoprenoid-substitued Flavonoids from *Artocarpus* Plants (Moraceae), Heterocycles, Vol 47, No.2, 1170-1205

