

Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Kulit Batang Tumbuhan Akar Kaik-Kaik (*Uncaria Cordata*) (Lour.) Meer Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Nurbaiti^{1*}, Noveri Rahmawati²

^{1,2}Fakultas MIPA dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Riau

²email: noverirahmawati@umri.ac.id

ARTICLE INFORMATION

Received: Nov, 2022

Revised: Dec, 2022

Available online: Dec, 31, 2022

KEYWORDS/KATA KUNCI

Artemia salina Leach; (*Uncaria cordata*)(Lour.)Merr; BSLT; cytotoxic; LC₅₀.

CORRESPONDENCE

E-mail:

nurbaiti@umri.ac.id

A B S T R A C T

In this study, a cytotoxic test of the root bark extract of kaik-kaik (*Uncaria cordata*)(Lour.)Merr was carried out using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method. The root bark extract of kaik-kaik (*Uncaria cordata*) (Lour.) Merr was obtained by maceration using n-hexane, ethyl acetate, and ethanol as solvents. The effect of each extract was identified on the percentage of mortality of *Artemia salina* Leach larvae and a probit analysis was calculated. The results showed that the three extracts provided cytotoxic activity with active categories with LC₅₀ respectively, namely, 45.28 ug / ml, 55.08 ug / ml, 47.09 ug / ml which could be used as candidates for anti-cancer drugs.

INTRODUCTION

Kanker merupakan penyakit yang menyebabkan kematian di seluruh dunia. Penyakit kanker adalah pertumbuhan sel yang tidak normal, dimana pertumbuhannya yang sangat cepat, tidak terkontrol dan dapat menyusup ke jaringan yang normal. Kanker menjadi masalah kesehatan serius di negara maju dan berkembang (Dinkes, 2007). Berdasarkan data riset kesehatan dasar yang dikeluarkan Kementerian Kesehatan jumlah kasus kanker di Indonesia berjumlah 1,4% per mil. Berdasarkan data dinas kesehatan Provinsi Riau pada tahun 2020 penderita penyakit kanker serviks sebanyak 93,75% berdasarkan usia mayoritas ≥ 35 tahun

sebanyak 45 orang , paritas ≥ 3 sebanyak 39 orang (81,25%), perempuan merokok mayoritas tidak merokok 31 orang (64,58%), keturunan mayoritas tidak ada 37 orang (77,08%) dan dari segi ekonomi < UMR Rp.1.925.000- sebanyak 26 orang (54,17%).

Dalam perkembangan penanganan penyakit kanker dapat dilakukan dengan cara kemoterapi, radioterapi, dan operasi. Beberapa obat kemoterapi yang paling sering digunakan adalah antimetabolit, senyawa interaktif DNA, senyawa antitubulin, hormone dan senyawa penarget molekular (Nussbaumer *et al*, 2011).

Salah satu tumbuhan obat yang berpotensi sebagai antikanker adalah tumbuhan dari genus *Uncaria*. Beberapa

penelitian yang dilakukan terhadap genus *Uncaria* diantaranya pada fraksi etil asetat daun *Uncaria gambir* (Hunter) Roxb, dilaporkan memiliki aktivitas sitotoksik yang sangat kuat terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan LC_{50} 26,30 $\mu\text{g/mL}$. Penelitian lainnya yang dilakukan oleh Bacher (2005) dengan metode MTT (*3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid*) terhadap *Uncaria tomentosa* (Willd) DC menyatakan bahwa kandungan kimia dari *Uncaria tomentosa* (Willd) DC yaitu pteropodin dan uncarin F mampu menghambat proliferasi sel leukemia limfoblastik akut.

Penelitian ini menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach sebagai hewan uji. Hasil uji sitotoksitas dengan metode ini telah terbukti memiliki korelasi dengan daya sitotoksik senyawa antikanker (Meyer, dkk, 1982). Lebih dari itu larva udang ini juga digunakan untuk pra skrining terhadap senyawa-senyawa yang diduga berkhasiat sebagai antitumor. Dengan kata lain, uji ini mempunyai korelasi positif dengan potensinya sebagai antikanker (Sukardiman, 2004).

METHOD

Penelitian dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Laboratorium Farmakologi Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau (STIFAR).

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan untuk pengerjaan ekstraksi berupa seperangkat alat maserasi, destilasi vakum, *rotary evaporator* (Buchi, Philips®), aluminium foil, vial, tabung reaksi (Pyrex®) dan raknya, corong, timbangan analitik, pipet tetes, gelas ukur (Pyrex®), Erlenmeyer (Pyrex®), kapas, beker gelas (Pyrex®), batang pengaduk, kertas saring. Alat yang digunakan untuk uji BSLT berupa

seperangkat pembiakan telur udang *Artemia salina* Leach (wadah gelap, aerator, lampu dengan intensitas cahaya rendah), vial, pipet mikro *multichannel* (Eppendorf), pipet tetes dan kaca pembesar.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kloroform, kloroform amoniak, logam magnesium, larutan FeCl_3 , *n*-HCl p, H_2SO_4 2N, norit, pereaksi Mayer, pereaksi Dragendorf. Ekstrak kental *n*-heksana, etil asetat dan metanol kulit batang tumbuhan akar kaik-kaik (*Uncaria cordata*) (Lour.)Merr, air laut, dimetilsulfoksida (DMSO 2%), serta larva uji *Artemia salina* Leach, kertas saring, aquadest, dan asam asetat anhidrat.

Tahapan pengambilan data terdiri atas beberapa tahap, meliputi:

1. Pengambilan sampel
2. Identifikasi tumbuhan
3. Penyiapan sampel
4. Skrining fitokimia
5. Ekstraksi bertingkat
6. Pemekatan ekstrak dengan Rotary evaporator
7. Skrining fitokimia ekstrak
8. Uji sitotoksik dengan metode BSLT
9. Analisa data

Untuk melihat pengaruh pemberian ekstrak kulit batang akar kaik-kaik (*Uncaria cordata*) (Lour.) Merr terhadap larva *Artemia salina* Leach dilakukan analisis dengan metode kurva. Garis vertikal menyatakan nilai probit dan persentase respon. Garis horizontal menyatakan dosis atau konsentrasi yang digunakan. Plot antara nilai dosis atau konsentrasi terhadap nilai probit akan menghasilkan kurva berupa garis lurus. Dari kurva tersebut dapat diturunkan harga LC_{50} . Perhitungan ini dilakukan dengan membandingkan antara jumlah larva yang mati terhadap jumlah larva keseluruhan sehingga diperoleh persen kematian, kemudian dilihat dalam tabel probit. Dari

Nurbaiti et. all | Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Kulit Batang Tumbuhan Akar Kaik-Kaik (*Uncaria Cordata*) (Lour.) Meer Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

nilai tersebut akan diketahui nilai probit masukkan dalam persamaan regresi, sehingga dapat nilai LC₅₀.

Y : Nilai Probit
a : Intercept (garis potong)
b : Slope (kemiringan dari garis regresi)

$$\text{Persen kematian} = \frac{\text{Jumlah larva mati kelompok perlakuan} - \text{Jumlah larva kontrol yang mati}}{\text{Jumlah larva uji}} \times 100\%$$

Persamaan Regresi:

$$Y = a + bx$$

$$LC_{50} = \text{arc log } X$$

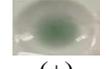
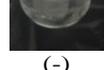
Keterangan:

X : Log Konsentrasi

RESULT AND DISCUSSION

Berdasarkan penelitian yang dilakukan yaitu uji aktivitas sitotoksik ekstrak kulit batang akar kaik- kaik (*Uncaria cordata*) (Lour.) Merr dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) diperoleh hasil sebagai berikut:

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Terhadap Sampel Segar

No	Kandungan Kimia	Pereaksi	Keterangan	Hasil
1	Alkaloid	Mayer	(+) terbentuk endapan putih	 (-)
2	Flavonoid	Logam Mg+ HCl	(+) terbentuk warna merah muda	 (+)
3	Fenolik	FeCl ₃ 1%	(+) terbentuk warna biru	 (+)
4	Saponin	Lapisan Air	(+) terbentuk busa	 (-)
5	Steroid	Liebermann Bouchard	(+) terbentuk warna hijau kehitaman	 (+)
6	Terpenoid	Liebermann Bouchard	(+) terbentuk warna merah	 (-)

Hasil uji skrining fitokimia terhadap sampel segar kulit batang akar kaik- kaik (*Uncaria cordata*) (Lour.) Merr. didapatkan hasil yaitu sampel segar mengandung flavonoid, fenolik dan steroid.

Tabel 2.. Hasil Uji Fitokimia Terhadap Sampel Segar

Nurbaiti et. all | Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Kulit Batang Tumbuhan Akar Kaik-Kaik (*Uncaria Cordata*) (Lour.) Meer Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

No	Kandungan Kimia	Pereaksi	Keterangan	<i>n</i> -Heksana	Etil Asetat	Etanol
1	Alkaloid	Mayer	(+) terbentuk endapan putih	(-)	(-)	(-)
2	Flavonoid	Logam Mg+ HCl	(+) terbentuk warna merah muda	(-)	(-)	(+)
3	Fenolik	FeCl ₃ 1%	(+) terbentuk warna biru	(-)	(+)	(+)
4	Saponin	Lapisan Air	(+) terbentuk busa	(-)	(+)	(+)
5	Steroid	Liebermann Bouchard	(+) terbentuk warna hijau kehitaman	(+)	(+)	(+)
6	Terpenoid	Liebermann Bouchard	(+) terbentuk warna merah	(-)	(-)	(-)

Hasil uji skrining fitokimia terhadap ekstrak *n*-heksana dari kulit batang akar kaik-kaik (*Uncaria cordata*) (Lour.) Merr. didapatkan hasil yaitu positif mengandung senyawa steroid. Ekstrak etil asetat dari kulit batang akar kaik-kaik (*Uncaria cordata*) (Lour.) Merr. didapat hasil yaitu positif mengandung senyawa flavonoid, saponin dan steroid. Ekstrak etanol dari kulit batang akar kaik-kaik (*Uncaria cordata*) (Lour.) Merr didapat hasil yaitu positif mengandung senyawa saponin, steroid, flavonoid dan fenolik.

Sampel segar tumbuhan kulit batang akar kaik-kaik (*Uncaria cordata*) (Lour.) Merr. sebanyak 3 kg. Ekstraksi dilakukan dengan sampel kering sebanyak 300 g dengan pelarut *n*-heksana, etil asetat dan etanol. Penyaringan dan pemekatan dengan *Rotary evaporator*, diperoleh ekstrak kental *n*-heksana sebanyak 30,418 g dengan rendemen ekstrak sebesar 10,13%, ekstrak kental etil asetat sebanyak 30,733 g dengan rendemen ekstrak sebesar 10,24% dan ekstrak kental etanol sebanyak

37,575 g dengan rendemen ekstrak sebesar 12,575%.

Pengujian aktivitas sitotoksik dari kulit batang akar kaik-kaik (*Uncaria cordata*) (Lour.) Merr. untuk ekstrak *n*-heksana dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) pada konsentrasi 1000 µg/mL (86,66%); 100 µg/mL (76,66%) dan 10 µg/mL (20,00%) memberikan efek positif terhadap kematian larva *Artemia salina* Leach. Hasil analisis probit pengujian sitotoksik ekstrak *n*-heksana kulit batang akar kaik-kaik (*Uncaria cordata*)(Lour.) Merr. diperoleh nilai LC₅₀ sebesar 45,28µg/mL.

Pengujian aktivitas sitotoksik dari kulit batang akar kaik-kaik (*Uncaria cordata*) (Lour.) Merr. untuk ekstrak etil asetat dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) pada konsentrasi 1000 µg/mL (93,33%); 100 µg/mL (66,66%) dan 10 µg/mL (16,66%) memberikan efek positif terhadap kematian larva *Artemia salina* Leach. Hasil analisis probit pengujian sitotoksik ekstrak etil asetat kulit batang akar kaik-kaik (*Uncaria cordata*) (Lour.) Merr diperoleh nilai LC₅₀ sebesar 55,08µg/mL.

Pengujian aktivitas sitotoksik dari kulit batang akar kaik-kaik (*Uncaria cordata*) (Lour.) Merr untuk ekstrak etanol dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) pada konsentrasi 1000 µg/mL (96,66%); 100 µg/mL (76,66%) dan 10 µg/mL (13,33%) memberikan efek positif terhadap kematian larva *Artemia salina* Leach. Hasil analisis probit pengujian sitotoksik ekstrak etanol kulit batang akar kaik-kaik (*Uncaria cordata*) (Lour.) Merr diperoleh nilai LC₅₀ sebesar 47,09 µg/mL.

Tumbuhan yang digunakan pada penelitian ini adalah tumbuhan akar kaik-kaik (*Uncaria cordata*)(Lour.)Merr dimana bagian tanaman yang digunakan pada

penelitian ini adalah bagian kulit batang pada tumbuhan akar kaik-kaik. Kulit batang akar kaik-kaik (*Uncaria cordata*) (Lour.) Merr diperoleh dari hutan Bukit Suligi Kabupaten Rokan Hulu, Pekanbaru, Riau.

Kulit batang akar kaik-kaik (*Uncaria cordata*)(Lour.)Merr yang telah diperoleh diidentifikasi di laboratorium botani jurusan biologi FMIPA Universitas Andalas, Padang. yang bertujuan untuk mengetahui klasifikasi dari tumbuhan akar kaik-kaik (*Uncaria cordata*)(Lour.)Merr tersebut. Setelah mendapatkan keterangan identifikasi tumbuhan tersebut kulit batang akar kaik-kaik (*Uncaria cordata*)(Lour.)Merr yang telah diperoleh sebanyak 5,0 kg dilakukan tahap pembuatan simplisia yang diawali dengan sortasi basah dilakukan untuk memisahkan hasil panen yang masih segar dari berbagai pengotor yang tidak diinginkan sebelum pengeringan. Selanjutnya tahap Pencucian dilakukan untuk menghilangkan tanah atau pengotor lain yang masih tersisa setelah pelaksanaan sortasi basah. Selanjutnya dilakukan tahap Pengeringan dilakukan untuk mengurangi kandungan air dan dapat menghentikan reaksi enzimatik yang dapat merusak senyawa aktif sehingga diperoleh simplisia yang awet, tidak rusak dan dapat digunakan atau disimpan dalam jangka relatif lama dan tahap selanjutnya dilakukan perajangan dilakukan untuk memperluas permukaan simplisia sehingga mempermudah penetrasi pelarut kedalam sel dan proses penarikan senyawa-senyawa yang terkandung dalam sampel juga semakin optimal dan dilakukan lah tahap terakhir yaitu sortasi kering dimana tahap ini merupakan tahap akhir penyiapan simplisia yang bertujuan untuk memisahkan benda-benda asing yang masih tertinggal pada simplisia kering. Simplisia kering diperoleh sebanyak 3,0 kg (Djamal,1998).

Kulit batang akar kaik-kaik (*Uncaria cordata*)(Lour.)Merr kemudian diekstraksi

dengan metode maserasi. Metode ini dipilih karena merupakan cara penyarian yang sederhana, karena pengerjaannya lebih mudah dan peralatan yang digunakan sederhana dan murah dibandingkan dengan metode penyarian lainnya, dimana cukup dengan merendam sampel dalam pelarut organik selama 5 hari dengan 3 kali pengulangan sambil sesekali dikocok yang bertujuan agar penarikan senyawa lebih optimal. Proses ekstraksi diperoleh 3 jenis ekstrak kental yang telah dipekatkan dengan *Rotary evaporator* yaitu ekstrak kental *n*-heksana, ekstrak kental etil asetat, dan ekstrak kental etanol dari kulit batang akar kaik-kaik (*Uncaria cordata*)(Lour.)Merr. Penggunaan *Rotary evaporator* yang dilakukan pada suhu rendah sekitar 40-50 °C yang dibantu dengan dengan alat vakum udara, dimana tujuan pemberian vakum adalah agar titik didih pelarut lebih rendah sehingga prosesnya berlangsung cepat dan kemungkinan terjadinya penguraian senyawa yang termolabil dapat dihindari. Setelah dipekatkan menggunakan *Rotary evaporator* diperolehlah 3 ekstrak kental yaitu ekstrak kental *n*-heksana kulit batang akar kaik-kaik (*Uncaria cordata*)(Lour.)Merr sebanyak 30,418 g dengan rendemen ekstrak sebesar 10,13%, ekstrak kental etil asetat kulit batang akar kaik-kaik (*Uncaria cordata*)(Lour.)Merr sebanyak 30,733 g dengan rendemen ekstrak sebesar 10,24%, ekstrak kental etanol kulit batang akar kaik-kaik (*Uncaria cordata*)(Lour.)Merr sebanyak 37,575 g dengan rendemen ekstrak sebesar 12,52%. Hasil ini menunjukkan bahwa senyawa yang paling banyak terdapat kulit batang akar kaik-kaik (*Uncaria cordata*)(Lour.)Merr adalah senyawa polar yang ditunjukkan dengan tingginya persen rendemen ekstrak etanol dibandingkan dengan ekstrak lainnya. Nilai rendemen yang dihasilkan dapat disebabkan oleh beberapa faktor yaitu metode ekstraksi yang digunakan

, ukuran partikel, kondisi dan waktu penyimpanan, lama waktu ekstraksi, perbandingan jumlah sampel terhadap jumlah pelarut yang digunakan dan jenis pelarut yang digunakan (Salamah *et al*, 2008).

Pengujian berikutnya dilakukan uji fitokimia yang merupakan tahap pendahuluan dalam penelitian dengan metode yang digunakan sebagian besar merupakan reaksi pengujian warna (*Spot test*) dengan suatu pereaksi warna. Uji fitokimia merupakan langkah awal yang dapat memberikan gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam tanaman. Dari hasil penelitian ini menunjukkan hasil positif flavonoid, fenolik, dan steroid. Pada sampel segar kulit batang akar kaik-kaik (*Uncaria cordata*)(Lour.)Merr dan menunjukkan hasil positif flavonoid pada ekstrak etanol, hasil positif fenolik pada ekstrak etil asetat dan etanol, hasil positif saponin pada ekstrak etil asetat dan etanol, hasil positif steroid pada ekstrak *n*-heksana, etil asetat dan etanol. Pada uji alkaloid pada sampel segar maupun ekstrak menunjukkan hasil negatif dengan menggunakan pereaksi Mayer ditanda dengan tidak terbentuknya endapan putih. Endapan tersebut diperkirakan adalah kompleks kalium-alkaloid yaitu hasil reaksi antara nitrogen pada alkaloid yang bereaksi dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodomerkurat (II) (Setyowai *et al*, 2014).

Pada pengujian senyawa flavonoid hasil yang didapatkan yaitu positif pada sampel segar kulit batang akar kaik-kaik (*Uncaria cordata*)(Lour.)Merr dan ekstrak etanol yang ditandai dengan terbentuknya warna jingga dan menunjukkan hasil negatif pada ekstrak etil asetat dan *n*-heksana. Hasil negatif flavonoid ini disebabkan karena logam magnesium tidak memberikan reaksi reduksi senyawa flavonoid sehingga larutan tidak memberikan perubahan warna. Flavonoid merupakan senyawa yang

mengandung 2 cincin aromatic dengan gugus hidroksil lebih dari satu. Senyawa fenol dengan gugus hidroksil semakin banyak maka semakin bersifat polar sehingga mudah terekstrak dalam pelarut-pelarut polar seperti methanol, etanol, butanol. Hal inilah yang menyebabkan hasil positif pada sampel segar kulit batang akar kaik-kaik (*Uncaria cordata*)(Lour.)Merr dan pada ekstrak etanol. Dimana tujuan penambah logam Mg dan HCl pekat adalah untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat pada struktur flavonoid sehingga terbentuk garam flavilium berwarna kuning-jingga hingga merah. Suatu pelarut akan menarik satu senyawa yang memiliki kepolaran yang sama.

Pengujian senyawa fenolik dilakukan dengan penambahan $FeCl_3$ yang akan menimbulkan warna biru-hijau. Perubahan warna terjadi dengan penambahan $FeCl_3$ karena adanya gugus hidroksil yang ada pada senyawa fenolik, hasil didapatkan yaitu positif pada sampel segar kulit batang akar kaik-kaik (*Uncaria cordata*)(Lour.)Merr, hasil positif pada ekstrak etil asetat dan ekstrak etanol dan hasil negatif pada ekstrak *n*-heksana. Hasil negatif pada ekstrak *n*-heksana disebabkan karena sifat ekstrak *n*-heksana adalah nonpolar dimana pada umumnya fenolik dapat diekstrak oleh pelarut organik yang bersifat semi polar jadi, senyawa yang terapat pada ekstrak *n*-heksana bersifat nonpolar yang kecil kemungkinan mengikat gugus hidroksil pada senyawa. Pengujian senyawa golongan terpenoid-steroid dilakukan dengan menggunakan pereaksi Lieberman-Burchard. Pada pengujian didasarkan pada kemampuan senyawa untuk membentuk warna dengan H_2SO_4 pekat dalam pelarut asam asetat anhidrat, adanya senyawa golongan terpenoid ditandai timbulnya warna merah sedangkan senyawa golongan steroid ditandai dengan terbentuknya warna biru. Hasil positif steroid terdapat pada sampel

segar kulit batang akar kaik-kaik (*Uncaria cordata*)(Lour.)Merr dan ekstrak *n*-heksana, etil asetat, etanol, sedangkan pada terpenoid menunjukkan hasil negatif pada kulit batang akar kaik-kaik (*Uncaria cordata*)(Lour.)Merr dan ekstrak *n*-heksana, etil asetat, etanol. Didapatkan hasil negatif pada uji terpenoid karena tidak adanya perpanjangan konjugasi pada senyawa yang diawali dengan proses aetilasi asam asetat anhidrat.

Pengujian selanjutnya dilakukan uji saponin dilakukan dengan menambahkan lapisan air didalam tabung reaksi lalu dilakukan pengocokan dan terbentuk busa yang menandakan adanya senyawa saponin dalam sampel. Hasil positif saponin pada ekstrak etil asetat dan etanol dan hasil negatif pada sampel segar kulit batang akar kaik-kaik (*Uncaria cordata*)(Lour.)Merr dan ekstrak *n*-heksana. Pada umumnya, ekstrak dengan menggunakan pelarut etil asetat dan etanol memberikan hasil positif terhadap saponin dimana saponin memiliki senyawa yang mempunyai gugus hidrofilik dan hidrofob dimana hidrofilik adalah senyawa yang suka akan air sebaliknya senyawa hidrofob adalah senyawa yang tidak suka air. Terbentuknya busa karena gugus hidrofili yang berikatan dengan air sedangkan hidrofob akan berikatan dengan udara. Pada struktur misel, gugus polar menghadap ke luar sedangkan gugus non polarnya menghadap kedalam, keadaan inilah yang tampak seperti busa dimana busa yang ditimbulkan disebabkan oleh saponin yang mengandung senyawa yang sebagian larut dalam air dan senyawa yang larut dalam pelarut non polar, surfaktan yang dapat menurunkan tegangan permukaan.

Senyawa yang bekerja sebagai antikanker adalah senyawa alkaloid, flavonoid, steroid, terpenoid. Pada pengujian ini terhadap ekstrak kulit batang akar kaik-kaik (*Uncaria cordata*)(Lour.)Merr yang telah diperoleh dilakukan uji sitotoksik

dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) terhadap larva *Artemia salina* Leach. Uji sitotoksik adalah uji yang dilakukan untuk mengukur kemampuan suatu sel untuk bertahan hidup dengan adanya pemberian senyawa yang diduga toksik. Pada pengujian ini digunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) karena menggunakan kultur sel kanker yang memiliki kolerasi positif, sehingga metode ini digunakan untuk skrining senyawa antikanker dimana keuntungan menggunakan metode ini karena lebih cepat, murah, mudah dan tidak memerlukan kondisi aseptis dan dapat dipertanggung jawabkan hasilnya. Uji ini menggunakan larva *Artemia salina* Leach karena pertumbuhannya dianggap sama dengan pertumbuhan sel pada tubuh manusia dengan persamaan tipe DNA-dependent RNA Polymerase dan organisme yang memiliki *ouabaine-sensitive* Na⁺ dan K⁺ dependent ATPase, sehingga senyawa ataupun ekstrak yang memiliki aktivitas pada sistem tersebut dapat terdeteksi. Jika suatu senyawa bekerja mengganggu kerja salah satu enzim ini pada larva *Artemia salina* Leach dan menyebabkan kematian pada larva dan dapat dikatakan suatu senyawa tersebut bersifat toksik karena kemampuannya untuk mematikan sel pada larva *Artemia salina* Leach.

Pada pengujian menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), hal pertama yang dilakukan adalah dengan mengembangbiakan larva udang dengan cara mentetaskan kista *Artemia salina* Leach yang membutuhkan waktu menetas ±48 jam. Kista artemia sudah dapat menetas pada waktu 24 jam namun belum mempunyai saluran pencernaan sehingga ekstrak yang diberikan tidak dapat di absorpsi dan menimbulkan efek, berbeda dengan larva berumur 48 jam yang sudah memiliki mulut dan saluran pencernaan sehingga ekstrak dapat diabsorpsi dan menimbulkan efek. Dalam

pengembangbiakan larva udang digunakan alat berupa kaca persegi panjang yang terdiri dari dua bagian yaitu bagian terang dan bagian gelap. Fungsi dari bagian gelap yaitu sebagai tempat penetasan kista dan bagian terang akan diberikan lampu selama penetasan (digunakan lampu bohlam 5 watt) yang bertujuan untuk mengetahui kista berhasil menetas karena larva cenderung akan bergerak mengikuti cahaya. Dalam penetasan ini digunakan air laut sebagai media pengembangbiakan, penggunaan air laut ini untuk mengkondisikan tempat tinggal larva. Selain itu aerasi harus diberikan terus sampai terjadi penetasan, selain untuk mencukupi kebutuhan akan oksigen, aerasi dapat mencegah terjadinya pengendapan kista-kista di dasar wadah. Pengendapan kista-kista dapat menimbulkan kondisi "anaerob" pada kista-kista tersebut sehingga perkembangan embryo akan terhambat hingga tidak menetas.

Uji sitotoksik dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dilakukan untuk melihat sifat sitotoksik dari ekstrak *n*-heksana, etil asetat dan etanol dari kulit batang akar kaik-kaik (*Uncaria cordata*) (Lour.) Merr terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan 3 konsentrasi yaitu 1000 µg/mL, 100 µg/mL dan 10 µg/mL yang dimaksudkan untuk mengetahui tingkat aktifitas masing-masing ekstrak yang akan diamati setelah 24 jam. Sebelum dilakukannya uji, senyawa dilarutkan dengan pelarut yang melarutkannya terlebih dahulu, dalam pengujian ini menggunakan pelarut berdasarkan tingkat kepolarannya yaitu *n*-heksana, etil asetat dan etanol. Dalam pengujian ini setiap konsentrasi yang telah dibuat harus menguapkan pelarutnya dengan tujuan agar pelarut yang digunakan tidak mengganggu aktifitas senyawa uji.

Setelah pelarut menguap masing-masing konsentrasi akan ditambahkan 50 µL DMSO sebagai surfaktan karena ekstrak

tidak dapat larut dalam air laut. Surfaktan merupakan senyawa yang memiliki ujung hidrofilik dan hidrofobik sehingga dapat melarutkan ekstrak dengan air laut dengan cara menurunkan tegangan permukaan. Dimetilsulfoksida (DMSO) merupakan cairan tak berwarna yang memiliki rumus $(CH_3)_2SO$ merupakan pelarut yang dapat melarutkan senyawa polar maupun non polar. Serta sifatnya yang kurang toksik dan termasuk pelarut universal menjadi alasan dipilihnya DMSO untuk membantu kelarutan senyawa dalam air laut (Fox, 2004). Disamping itu juga DMSO merupakan pelarut aprotik, yaitu pelarut yang dapat melarutkan senyawa non polar sampai polar. DMSO juga digunakan untuk larutan kontrol, tujuannya adalah untuk menjamin bahwa kematian pada larva *Artemia salina* Leach benar-benar disebabkan oleh pengaruh ekstrak bukan disebabkan oleh pelarut yang digunakan. Dari hasil yang diperoleh dapat dilihat tidak adanya kematian larva *Artemia salina* Leach dengan ditunjukkan seluruh larva yang hidup didalam larutan kontrol.

Setelah penambahan DMSO ditambahkan 2 mL air laut buatan untuk memudahkan dalam pelarutan ekstrak terhadap air laut, selanjutnya ditambahkan 10 ekor larva *Artemia salina* Leach pada masing-masing vial dan dicukupkan hingga batas kalibrasi vial 5 mL. Air laut yang digunakan pada pengujian adalah air laut yang sama dengan air laut saat penetasan, dikhawatirkan apabila menggunakan air laut lain akan mempengaruhi hasil pengujian karena konsentasi yang tidak sama ataupun ketidakcocokan air laut lain dengan larva *Artemia salina* Leach. Percobaan ini dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali yang dimaksudkan untuk memperjelas akurasi dari data penelitian dengan mencari rata-rata dari 3 kali pengulangan, pengamatan dilakukan setelah 24 jam dan dihitung jumlah larva

yang mati dari masing masing konsentrasi uji.

Hasil dari uji BSLT terhadap ekstrak *n*-heksana kulit batang akar kaik-kaik (*Uncaria cordata*) (Lour.)Merr. , diperoleh nilai LC_{50} 45,28 $\mu\text{g/mL}$, ekstrak etil asetat diperoleh nilai LC_{50} 55,08 $\mu\text{g/mL}$, dan ekstrak etanol diperoleh nilai LC_{50} 47,09 $\mu\text{g/mL}$. Diketahui bahwa suatu senyawa dapat dikatakan toksik apabila nilai $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$ (Meyer *et al*, 1982).

Mekanisme kematian larva *Artemia salina* Leach berhubungan erat dengan fungsi senyawa Alkaloid, flavonoid, fenolik, saponin, terpenoid, steroid yang terkandung dalam ekstrak kulit batang akar kaik-kaik (*Uncaria cordata*)(Lour.)Merr karena senyawa tersebut dapat menghambat daya makanan pada larva *Artemia salina* Leach, dimana pada senyawa yang positif adalah flavonoid, fenolik, steroid pada sampel segar kulit batang akar kaik-kaik (*Uncaria cordata*)(Lour.)Merr dan hasil positif flavonoid pada ekstrak etanol, hasil positif fenolik pada ekstrak etil asetat dan etanol, hasil positif saponin pada ekstrak etil asetat dan etanol, hasil positif steroid pada ekstrak *n*-heksana,etil asetat dan etanol. Senyawa metabolit sekunder seperti saponin bekerja dengan cara mengikat oksigen didalam air dan mengikat oksigen yang terlarut dalam air, hal ini disebabkan saponin mengandung glikosida dalam tumbuhan yang sifatnya menyerupai sabun dan larut dalam air dan dapat mengikat oksigen yang terlarut dalam air sehingga kadar oksigen didalam air menurun dan dapat mematikan larva *Artemia salina* Leach karena kekurangan oksigen. Senyawa metabolit sekunder flavonoid dapat menurunkan aktivitas enzim pencernaan dan penyerapan makanan dan bertindak sebagai *Stomach poisoning* atau racun perut sehingga larva *Artemia salina* Leach menjadi kelaparan dan mati. Senyawa metabolit sekunder alkaloid dapat membunuh larva

udang karena alkaloid merupakan komponen aktif yang dapat bertindak sebagai racun melalui mulut larva *Artemia salina* Leach. Hal ini mengakibatkan larva *Artemia salina* Leach gagal mendapatkan stimulus rasa sehingga tidak mampu mengenali makanannya dan larva *Artemia salina* Leach mati kelaparan.

Pada hasil penelitian yang dilakukan ketiga ekstrak tersebut bersifat sitotoksik terhadap larva *Artemia salina* Leach karena memiliki nilai $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$ yang dapat menyebabkan kematian 50% hewan uji. Ekstrak yang memiliki nilai LC_{50} rendah menunjukkan bahwa golongan senyawa yang terkandung didalamnya bersifat toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach. Ekstrak *n*-heksana dan etanol memiliki nilai LC_{50} yang rendah dibandingkan dengan ekstrak etil asetat. Hal ini mungkin disebabkan adanya kandungan senyawa yang lebih sedikit aktif yang terdapat pada kulit batang akar kaik-kaik (*Uncaria cordata*) (Lour.)Merr pada ekstrak *n*-heksana dan etanol. Kandungan senyawa yang aktif yang sitotoksik terhadap larva *Artemia salina* Leach dimungkinkan bersifat polar dan non polar. Ekstrak *n*-heksana memiliki golongan senyawa yang toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) yaitu steroid dan terpenoid, pada penelitian ini pada golongan non polar yang aktif adalah senyawa steroid. Selanjutnya, ekstrak etanol memiliki golongan senyawa yang toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) yaitu alkaloid dan saponin , pada penelitian ini pada golongan polar yang aktif adalah senyawa saponin. Dan pada ekstrak etil asetat termasuk dalam katagori aktif sedang, dan dapat dikatagorikan juga dalam katagori aktif karna jarak katagori yang tidak terlalu jauh dengan range 7 dimana pada ekstrak etil asetat ini adalah senyawa dengan golongan

semi polar yang aktif adalah flavonoid dan fenolik.

Jadi golongan senyawa tersebut memiliki korelasi positif dengan uji sitotoksik dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dengan larva larva *Artemia salina* Leach, jadi dapat disimpulkan bahwa ketiga ekstrak ini dapat dijadikan kandidat obat kanker dan dilakukan uji lanjutan terhadap pengujian in vivo dengan metode MTT terhadap ketiga ekstrak tersebut, dengan sel kanker yang spesifik seperti tumor usus besar adenokarsinoma diamana pada penelitian sebelumnya oleh Pilarski, 2010 dimana dilakukan uji sitotoksik dengan metode in vivo pada tikus dimana menunjukkan penghambatan pertumbuhan tumor yang signifikan selama 21 hari terhadap kanker tersebut dengan LC₅₀ 49,06 µg/mL.

CONCLUSION

Berdasarkan hasil uji sitotoksik ekstrak kulit batang akar kaik-kaik (*Uncaria cordata*) (Lour.)Merr dengan menggunakan metode BSLT didapatkan bahwa ketiga ekstrak tersebut memiliki potensi bioaktivitas dengan katagori aktif terhadap larva *Artemia salina* Leach dan dapat dijadikan kandidat obat antikanker dengan LC₅₀ berturut-turut *n*-heksana 45,28 µg/mL, etil asetat 55,08 µg/mL dan etanol 47,09 µg/mL.

REFERENCES

Bacher, N., Tiefenthaler, M., Sturm, S., Stuppner, H., Ausserlechner, M. J., Kofler, R., dan Konwalinka, G., 2005. *Oxindole alkaloids from Uncaria tomentosa Induce Apoptosis in Proliferating, G0/G1Arrested and bcl-2-Expressing Acute Lymphoblastic Leukemia Cells, British Journal of Hematology*, 123: 615622

Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2007. Pencegahan Kanker Leher Rahim dan Kanker Payudara. Jakarta

Djamal, R. (1998). Prinsip-prinsip dasar kerja dalam kimia bahan alam. Padang: FMIPA Universitas Andalas.

Fox, R. 2004. *Statistic Acute Toxicity Bioassay Laboratory Exercise. Laboratory Ecology*: 306.

Meyer, B. N., Feerigni; N. R., Putnam, J. E., Jacobson, L. B., Nicholas, D. E. dan McLaughlin, J. L. 1982. *Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. Plant Medical*. 45: 31-34.

Nussbaumer, S; Bonnabry, P; Veuthey, JL; dan Sandrine, F. 2011. *Analysis of Anticancer Drugs. A review*. 85: 2265-2289

Setyowati, W.A.E, dkk. (2014). Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio zibethinus* Murr.) Varietas Petruk. Jurnal Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia VI. ISBN (979363175-0): 271-280.