



UJI POTENSI ANTI KANKER EKTRAK ETANOL BIJI KEBIUL (*Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb) DENGAN METODE *BRINE SHRIMP LETHALITY TEST* (BSLT)

Densi Selpia Sopiati^{1*}, Aina Fathkil¹, Yesa Christine Sanuki¹

Akademi Farmasi Yayasan Al-Fathah Bengkulu.

Jl. Indragiri Gang 3 Serangkai, Padang Harapan, Bengkulu

*Corresponding author: dselpias@gmail.com

ABSTRACT

Cancer becomes a global health problem which is estimated to continue to increase in number. The prevalence of cancer in Indonesia is 1.4% or around 347,792 people. Cancer treatment is currently carried out with chemotherapy, radiotherapy, and surgery. At present many active compounds from herbal plants are believed to be one of the alternatives used by the community as an anticancer, shown by several studies and the availability of active compounds from a single herbal plant isolated from plants as anticancer easily found by the community and have minimal side effects. One of the potential plants in Bengkulu is Kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb) which, according to the Bengkulu community, is used for various diseases. The purpose of this study is that the researchers wanted to test the potential of the active compound of whistle seeds (*Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb) with the Brine Shrimp Lethality Test method. The stages of this research were by making dried simplicia from whistle seeds then extracted with 96% ethanol and evaporated on a rotary evaporator until thick ethanol extract was obtained. The extract was tested using the BSLT Method, calculated the number of larval deaths and measured LD₅₀. The results of the probit value equation analysis showed the LC₅₀ value of the ethanol extract of whistle seeds was 11,1943 µg/mL, this shows that the ethanol extract of the whistle seeds was very toxic which was indicated by LC₅₀ values <30 µg / mL.

Keywords : Kebiul Seed, Anti-cancer, BSLT, LC₅₀.

ABSTRAK

Penyakit kanker menjadi masalah kesehatan dunia yang diperkirakan jumlahnya akan terus meningkat. Prevalensi penyakit kanker di Indonesia sebesar 1,4% atau sekitar 347.792 orang. Penanganan penyakit kanker saat ini yang dilakukan dengan kemoterapi, radioterapi, dan operasi. Saat ini banyak senyawa aktif dari tanaman herbal yang dipercaya sebagai salah satu alternative yang digunakan masyarakat sebagai antikanker, ditunjukan dengan beberapa penelitian dan ketersediaan senyawa aktif dari tanaman herbal tunggal yang diisolasi dari tanaman sebagai antikanker mudah ditemukan oleh masyarakat dan memiliki efek samping yang minimal. Salah satu tanaman yang berpotensi di Bengkulu yaitu kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb) yang mana menurut masyarakat Bengkulu bijinya digunakan untuk berbagai penyakit. Tujuan penelitian ini peneliti ingin menguji potensi senyawa aktif biji kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb) dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test*. Tahapan penelitian ini dengan membuat simplisia kering dari biji kebiul lalu diekstraksi dengan etanol 96% dan diuapkan diatas *rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak kental etanol. Ekstrak diuji menggunakan Metode BSLT, dihitung jumlah kematian larva dan diukur LD₅₀. Hasil dari analisis regresi linier menunjukkan nilai LC₅₀ dari ekstrak etanol biji kebiul adalah 11,1943 µg/mL hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji kebiul bersifat sangat toksik yang mana ditandai dengan nilai LC₅₀ < 30 µg/mL.

Kata Kunci : Biji Kebiul, Anti kanker, BSLT, LC₅₀



PENDAHULUAN

Era globalisasi saat ini penyakit kanker menjadi masalah kesehatan dunia yang diperkirakan jumlahnya akan terus meningkat. Pada tahun 2012, sekitar 8,2 juta kematian disebabkan oleh kanker (WHO. 2014). Dari hasil data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) pada tahun 2013, diketahui bahwa prevalensi penyakit kanker di Indonesia sebesar 1,4% atau sekitar 347.792 orang (KEMENKES 2015). Penanganan penyakit kanker saat ini yang dilakukan dengan kemoterapi, radioterapi, dan operasi. Beberapa obat kemoterapi yang paling sering digunakan adalah antimetabolit, senyawa interaktif DNA, senyawa antitubulin, hormon dan senyawa penarget molekuler (Nussbaumer S, et.al, 2011). Namun, penggunaan obat-obat kemoterapi tersebut dapat menimbulkan efek samping seperti rambut rontok, supresi sumsum tulang, resistensi obat, lesi gastrointestinal, disfungsi neurologi, dan toksisitas jantung Hosseini A dan Ghorbani A. 2015. Saat ini banyak senyawa aktif dari tanaman herbal yang dipercaya sebagai salah satu alternative yang digunakan masyarakat sebagai antikanker, ditunjukkan dengan beberapa penelitian dan ketersediaan senyawa aktif dari tanaman herbal tunggal yang diisolasi dari tanaman sebagai antikanker mudah ditemukan oleh masyarakat dan memiliki efek samping yang minimal (Hosseini A dan Ghorbani A. 2015). Salah satu tanaman yang berpotensi di Bengkulu yaitu kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb). Dimana menurut masyarakat Bengkulu bijinya digunakan sebagai obat. Namun hanya sedikit sekali data yang membuktikan bahwa biji kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb) bisa mengobati berbagai penyakit-penyakit tersebut melainkan hanya wawancara secara langsung dengan masyarakat yang menggunakan tanaman ini.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Sopianti, dkk, 2016, bahwa ekstrak biji kebiul mengandung senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, saponin, dan steroid. Beberapa senyawa tanaman yang memiliki potensi sebagai antikanker yang telah diteliti yaitu : Alkaloid, flavonoid, saponin dan triterpenoid berkhasiat sebagai antioksidan yang mampu menangkal radikal bebas (Reynertson,



K. A., 2007). Adapun beberapa tanaman yang memiliki potensi sebagai anti kanker yang telah diteliti yaitu teh hijau (*camellia sinensis* L.(kuntze). Senyawa polifenol, flavonoid dan tanin yang terdapat teh hijau merupakan konstituen aktif yang memberikan efek antikanker (Tabaga dkk, 2015) dan analisis melaporkan flavonoid dari lengkuas (*alfnia galanga*) juga memiliki aktivitas antikanker (Imran. M, et. al, 2007). Berdasarkan penelitian tanaman obat sebagai antikanker, ekstrak *brucea javanica* mempunyai senyawa alkaloid (brucamarine, yatanine) juga memiliki aktivitas antikanker payudara dengan mempunyai nilai LC50 = $2,69\mu/mL$ terhadap sel kanker payudara.

Salah satu metode awal untuk uji sitotoksik adalah Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). BSLT merupakan salah satu metode yang banyak digunakan untuk pencarian senyawa antikanker baru yang berasal dari tanaman (Mayer, et. al, 1982). Metode BSLT merupakan salah satu metode untuk skrining tanaman obat yang berpotensi, telah terbukti memiliki korelasi dengan aktivitas antikanker. Selain itu, metode ini juga mudah dikerjakan, murah, singkat, mudah dikembangkan serta tidak ada aturan etika dalam penggunaan bahan uji, cepat, dan cukup akurat (Anderson, C. M. Goetz and J. L. McLaughlin. 1991). Nilai mortalitas ditentukan dengan menggunakan analisa probit untuk menentukan nilai toksisitas menggunakan Lethal Concentration (LC50). Dari latar belakang diatas, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian uji potensi antikanker dari ekstrak biji kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb) dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) yang akan dihitung LC50 dari nilai mortalitas ditentukan dengan menggunakan analisa probit untuk menentukan nilai toksisitas.

METODE PENELITIAN

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu,seperangkat blender (*sharp*), oven , alat-alat gelas (cawan penguap, gelas ukur, beker glass, erlemeyer, pipet volume, corong), rotary evaporator, kertas saring, waterbath, Sendok tandu, Timbangan digital, mikropipet, aquarium, saringan, lampu pijar (40 watt), vial dan alumunium foil.



Bahan yang digunakan yaitu biji kebiul, etanol 96%, Aquadestilata, air laut buatan (NaCl), larva udang, dan ragi DMSO.

Penyiapan Simplisia

Pada umumnya simplisia melewati proses pengumpulan bahan baku, sortasi basah, pencucian, pengeringan, pemecahan sortasi kering dan penyimpanan.

Proses Ekstraksi

Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Serbuk biji kebiul sebanyak 650 gr direndam dalam etanol 96%. Di dalam botol gelap selama 24 jam sesekali dilakukan pengocokan kemudian filtrate diuapkan pada rotary evaporator hingga didapatkan ekstrak kental.

Uji Toksisitas Menggunakan Metode Brine Shrimp Lethality Test

Penyiapan Larva Artemia Salina Leach

Sebanyak 100 mg telur Artemia Salina Leach, direndam dalam wadah yang berisi 500 ml air laut buatan (NaCl) diberi penerangan dengan lampu pijar (40 watt), selama 2x24 jam.

Pembuatan Larutan Uji

Siapkan vial untuk tiap kelompok perlakuan dan control negative (masing-masing replikasi 3 kali). Buat larutan stock (induk) sebesar 100 mg sampel (ekstrak etanol) dilarutkan sampai 10 mL dengan DMSO. Pengujian dilakukan dengan menggunakan larutan uji 10 ml air laut di tambahkan 10 ekor larva Artemia salina leach dan 1 tetes ragi DMSO (0,6 mg/mL) sebagai makanannya. larutan uji di buat 1, 2, 4, 6, 8 dan 10 ppm dalam air laut, maka dari larutan stok tersebut dipipet ke dalam vial masing-masing menggunakan mikropipet.



Pelaksanaan Uji

Masukkan masing-masing sampel ke dalam vial Selanjutnya vial diisi air laut 1 ml lalu dimasukkan 10 ekor *Artemia salina* Leach umur 48 jam yang sehat (bergerak aktif) dipilih secara acak lalu dimasukkan ke dalam vial yang berisi sampel yang bebas pelarut menggunakan pipet tetes kemudian dicukupkan air laut buatan sampai 10 ml. Tambahkan satu tetes suspensi ragi *DMSO* (0,6mg/10 ml air laut) ditambahkan ke dalamnya sebagai makanan *Artemia salina* Leach. Vial diletakkan dibawah lampu penerangan selama 24 jam. Setelah 24 jam jumlah larva yang mati dihitung.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil dari pembuatan Ekstrak Biji Kebiul didapatkan berat ekstrak 75,03 gram dan didapatkan hasil Rendemen ekstrak 11,54%. Menurut farmakope herbal Indonesia nilai suatu rendemen merupakan standar dalam penemuan obat yang berasal dari bahan alam maupun sintetis. Secara kuantitas ada tiga jenis metabolit sekunder yaitu sebagai senyawa utama didapatkan lebih besar dari 0,01% dari berat simplisia(>100mg/kg simplisia), senyawa minor 0,01-0,0001% (75-20mg/Kg simplisia, senyawa kulimit 0,0001% (5-0,5mg/kg simplisia. Pada penelitian ini didapatkan hasil rendemen 11,54% sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak biji kebiul mengandung senyawa meabolid sekunder utama (Saifudin, A, 2014).

Uji BSLT (Brine Shrimp Lethality Test)

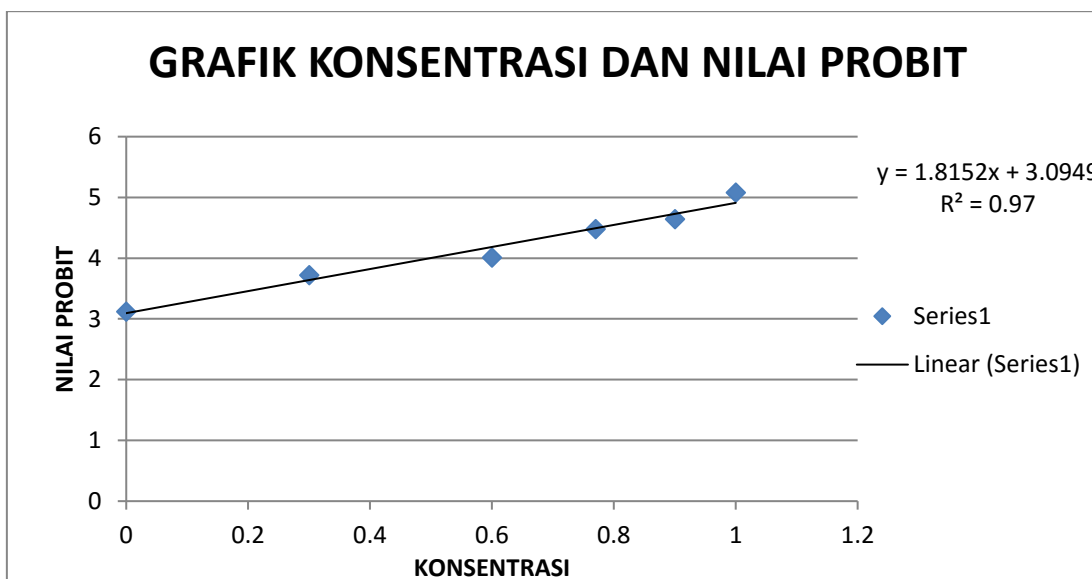
Telur larva udang yang telah berubah menjadi *Nauplii* bdimasukan dalam vial dengan masing-masing berisi 10 naupli dan konsentrasi 1, 2, 4, 6, 8, 10 ppm dan diamati jumlah kematian selama 24 jam. Adapun data pengamatan kematian Larva udang dapat dilihat pada tabel I.

Tabel 1 Data Hasil Pengamatan Kematian Larva Udang *Artemia Salina Leach* Dengan Menggunakan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) Setelah 24 Jam Perlakuan

Sampel Uji	Replikasi	Jumlah Larva Udang Yang Mati Tiap Konsentrasi ppm $\mu\text{g/ml}$ (10 Ekor)						Kontrol (-)
		1 ppm	2 ppm	4 ppm	6ppm	8 ppm	10ppm	
Ektrak	1	1	1	2	3	3	5	0
Etanol	2	0	1	1	3	4	5	0
	3	0	1	2	3	4	6	0
Total Kematian		1	3	5	9	11	16	0
% Kematian		3,3%	10%	16,6%	30%	36,6%	53,3%	0

Dari data di atas, di analisis menggunakan SPSS *one way* ANOVA. Uji shapiro-wilk dapat digunakan jika sampel kita kurang dari 50. Hasil uji normalitas didapan nilai signifikan $P > 0,05$ maka data terdistribusi normal. Dilanjutkan dengan uji homogenitas didapatkan nilai signifikan $0,074 P > 0,05$ disimpulkan data homogen. Langkah selanjutnya *Uji One Way* Anova untuk melihat apakah ada perbedaan rata-rata dari konsentrasi ppm data yang diperoleh. Dari hasil uji anova ada perbedaan yang bermakna ditunjukkan nilai signifikansi $0,023 P < 0,05$ diantara perlakuan konsentrasi. Tahap terakhir dengan uji Duncan untuk melihat konsentrasi mana yang paling baik atau berkhasiat. Uji ini menunjukkan pada setiap perlakuan konsentrasi 10 ppm menyebabkan persen kematian larva tertinggi, sedangkan pada konsentrasi 1 ppm menyebabkan persen kematian larva terendah. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin tinggi juga jumlah kematian larva.

Perhitungan persentasi dianalisis dengan menggunakan persamaan regresi linear dengan membandingkan data konsentrasi dan persen kematian ke bentuk logaritma serta mengubah nilai persen kematian larva kedalam satuan probit. Di dapatkan persamaan garis $Y = 5,2855x + 2,3416$ dengan nilai $R^2 = 0,9841$. Hubungan antara nilai konsentrasi dengan nilai % kematian dapat dilihat pada gambar grafik dibawah ini.



Gambar 8 Hubungan Antara Nilai Log Konsentrasi Dengan Nilai Probit Kematian

Nilai Y tersebut digunakan untuk mencari nilai LC₅₀. Dengan memasukkan nilai Y = 5, maka akan diperoleh nilai X = 1,0495 Untuk menghitung nilai LC₅₀ yaitu antilog X yaitu sebesar 11,1943 µg/mL.

Menurut Doyle *et al.* (2000) dalam uji BSLT suatu ekstrak dikatakan aktif jika LC₅₀ (ekstrak dapat menyebabkan kematian 50% hewan uji) bila LC₅₀ kurang dari 1000 µg/mL. Penelitian Meyer *et al.* (1982) juga melaporkan bahwa suatu ekstrak menunjukkan aktivitas ketoksikan Sangat toksik <30, Toksik 30-1000, Tidak toksik >1000. Berdasarkan nilai LC₅₀ yang diperoleh dapat dikatakan ekstrak etanol biji kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L)Roxb) pada percobaan ini bersifat toksik karena hasil yang didapatkan tidak lebih besar (>1000) dan tidak lebih kecil (<30) terhadap larva *artemia salina leach* sehingga memiliki potensi sebagai senyawa antikanker.



KESIMPULAN

Hasil dari analisis regresi linier menunjukkan nilai LC_{50} dari ekstrak etanol biji kebiul adalah 11,1943 $\mu\text{g/mL}$ hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji kebiul bersifat sangat toksik yang mana ditandai dengan nilai $LC_{50} < 30 \mu\text{g/mL}$.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi Atas Dana Penelitian Dosen Pemula Sesuai dengan DIPA Deputi Bidang Penguatan Riset dan Pengembangan Kementerian Riset, Teknologi/ Badan Riset dan Inovasi Nasional SP-DIPA-042.06.1.401516/2020 tanggal 12 November 2019, Akademi Farmasi Al-Fatah Bengkulu dan semua pihak yang membantu dalam proses penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson, C. M. Goetz and J. L. McLaughlin. 1991. A Blind Comparison of Simple Bench-top Bioassays and Human Tumour Cell Cytotoxicities as Antitumor Prescreens . *Phytochemical Analysis*. vol. 2, (107) I-II.
- Hosseini A dan Ghorbani A. 2015. Cancer therapy with phytochemicals: evidence from clinical studies. *Avicenna J Phytomed*. 5 (2): 84-97.
- Imran M, Talpur FN, Jan MS, Khan A, Khan I. Analysis of nutritional components of some wild edible plants. *J Chem Soc Pak*. 2007;29(5):500–508.
- Kementrian Kesehatan RI Pusat Data dan Informasi Kesehatan. 2015. Stop Kanker.infodatin-Kanker.
- Meyer, B.N., Ferrigni, N.R., Putnam, J.E., Jacobsen, L.B., Nichols, D.E., dan McLaughlin, J.L., 1982, Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituent, *Planta Medica*. 45:31-34.
- Nussbaumer S, Bonnabry P, Veuthey JL, Sandrine F. 2011. Analysis of anticancer drugs: A review. *Talanta*, 85: 2265-2289.
- Reynertson, K. A., 2007, *Phytochemical Analysis of Bioactive Constituents from Edible Myrtaceae Fruit*, Dissertation, The City University of New York, New York.
- Saifudin, A, 2014, *Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, Konsep dan Teknik Pemurnian*, Depublish, Yogyakarta.
- Sopianti DS, Herlina, Aulikha NP. 2017. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Etanol Biji Kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb), Prosiding Seminar Nasional Herbal Medicine November 2017, Kerjasama Antara Akademi Farmasi Al-Fatah Bengkulu dan Vokasi D3 Farmasi Universitas Bengkulu. Halaman 101-109.



- Tabaga, K. D., Durry, M. F., & Kairupan, C. (2015). Efek Seduhan Teh Hijau (*Camellia Sinensis*) Terhadap Gambaran Histopatologi Payudara Mencit Yang Diinduksi Benzo (α) pyrene. *eBiomedik*, 3(2).
- WHO. 2014. Cancer. Fact Sheet No. 2971. Geneva: Switzerland. <http://www.who.int>. [Diakses pada 28 Juli 2019].