

UJI TOKSISITAS PARTISI n-HEKSAN DAN METANOL EKSTRAK DAUN PANDAN WANGI (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) SEBAGAI SKRINING AWAL ANTIKANKER DENGAN METODE *BRINE SHRIMP LETHALITY TEST* (BSLT)

Mundasih¹⁾, Dwi Bagus Pambudi²⁾, Lia Dwi Prafitri³⁾, Slamet⁴⁾

^{1, 2, 4} Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan UMPP

³ Program Studi Sarjana Fisioterapi Fakultas Ilmu Kesehatan UMPP

mundasihkyusung@gmail.com

Abstrak

Daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) merupakan salah satu tanaman Indonesia yang mempunyai khasiat obat atau menyembuhkan penyakit. Prinsip suatu tanaman dapat digunakan sebagai antikanker yaitu apabila tanaman tersebut mengandung senyawa toksik. Tujuan penelitian ini adalah menentukan toksisitas partisi n-heksan dan metanol ekstrak daun pandan wangi terhadap larva *Artemia salina* Leach. dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Penelitian ini menggunakan pendekatan *Post Test-Only-Control Group Design*. Data didapatkan dari banyaknya kematian larva udang selama 24 jam. Analisis data menggunakan metode probit untuk memperoleh nilai LC_{50} dan uji statistik *One Way ANOVA*. Pada penelitian ini uji toksisitas partisi n-heksan dan metanol ekstrak daun pandan wangi menunjukkan toksisitas terhadap larva *Artemia salina* Leach. dengan nilai $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$. Dari hasil yang diperoleh diharapkan daun pandan wangi dapat dijadikan sebagai salah satu obat antikanker.

Kata kunci : Daun Pandan Wangi, Ekstrak, Larva *Artemia salina* Leach., *Lethal Concentration* (LC_{50}), Partisi

Abstract

Pandan (Pandanus amaryllifolius Roxb.) is an Indonesian plant that has medicinal properties. A plant can be used as an anticancer if the plant contains toxic compounds. The purpose of this study was to determine the toxicity of n-hexane and methanol partition extracts of pandan against Artemia salina Leach. larvae with the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method. This study used a Post Test-Only-Control Group Design. The data were obtained from the number of shrimp larvae deaths for 24 hours. The obtained data were analysed by using probit analysis method to get the LC_{50} value and One way ANOVA to test the normality and homogeneity of the data. In this study the n-hexane and methanol partition extracts of pandan toxicity tests showed the toxicity of the Artemia salina Leach. larvae was low (LC_{50} value $< 1000 \mu\text{g / mL}$). Therefore, pandan is recommended to be used as an anticancer drug.

Keywords : Extract, *Artemia salina* Leach. Larvae, *Lethal Concentration* (LC_{50}), Pandan, Partition

PENDAHULUAN

Kanker merupakan salah satu penyakit yang berbahaya dan banyak membunuh manusia, baik di Negara industri ataupun Negara berkembang mempunyai angka kematian yang tinggi (Al Dimassi, dkk., 2014). Hal ini menyebabkan kanker merupakan masalah utama baik di dunia maupun di Indonesia dalam masalah kesehatan. Banyak ditemukan obat-obat yang digunakan untuk mengobati kanker. Biasanya kanker diobati dengan metode kemoterapi. Metode kemoterapi banyak memakai obat-obat sintetis, namun dengan kekurangan metode kemoterapi yang memiliki efek samping yang berbahaya, telah banyak dilakukan penelitian untuk menemukan obat antikanker yang bersumber dari tanaman (Pratama & Nurwanda, 2018).

Salah satu tanaman yang banyak digunakan sebagai obat tradisional adalah pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.), termasuk genus *Pandanus* dari suku Pandanaceae. Kandungan kimia pandan wangi diantaranya flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, polifenol, minyak atsiri dan zat warna. Pandan wangi terbukti memiliki berbagai aktivitas

farmakologi yaitu sebagai antibakteri, antidiabetes, antikanker dan antioksidan. Hal itu dapat dibedakan berdasarkan ekstrak pelarutnya (Nadya, 2015).

Salah satu metode awal untuk uji toksisitas adalah *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Prinsip suatu tanaman dapat digunakan sebagai antikanker yaitu apabila tanaman tersebut mengandung senyawa yang bersifat toksik. BSLT merupakan uji pendahuluan yang sederhana untuk menentukan tingkat toksisitas akut suatu senyawa atau ekstrak dengan menggunakan *Artemia salina* Leach. sebagai hewan uji karena pada tahap naupli sering dimanfaatkan sebagai hewan uji aktivitas biologi terhadap ekstrak tanaman, hal ini karena kemiripannya pada tahap naupli dengan sel kanker manusia (Aqila, 2017).

Dari uraian diatas maka perlu dilakukan penelitian efek toksik daun pandan wangi pada senyawa larut polar dan nonpolar, sehingga penelitian ini diambil judul uji toksisitas partisi n-heksan dan metanol ekstrak daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) sebagai skrining awal antikanker dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Penelitian ini merupakan penelitian pendahuluan dalam rangka mengetahui

golongan senyawa toksik yang diharapkan dalam perkembangan selanjutnya dapat digunakan sebagai obat antikanker.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah ayakan 40 mesh, *waterbath*, corong pisah, gelas ukur, beaker glass, labu takar, tabung reaksi, pisau, neraca analitik (OHAUS), pipet mikro, kertas saring *whatmann*, *vacum rotary evaporator*, cawan porselen, oven, pipa kecil, aerator, lampu, blender dan bejana penetasan telur larva. Bahan yang digunakan adalah ekstrak daun pandan wangi, etanol 96%, n-heksan p.a, metanol p.a, aquadest, larva udang, ragi, garam, DMSO (Dimetil Sulfoksida), kloroform-amoniak, serbuk magnesium, asam klorida, FeCl_3 1%, lempeng silika gel GF₂₅₄, kloroform-metanol, asam galat, kuersetin, piperin.

Ekstraksi

Sebanyak 1 kg serbuk daun pandan wangi yang dimaserasi dengan 5 L pelarut etanol 96% (5x24 jam). Larutan disaring untuk memisahkan residu dan filtratnya. Filtrat yang didapat kemudian diuapkan menggunakan

rotary evaporator pada suhu 40-60°C hingga menghasilkan ekstrak kental (Sukandar, 2007).

Pembuatan Partisi

Sebanyak 10 g ekstrak daun pandan wangi dipartisi dengan 50 mL pelarut n-heksan dan 50 mL metanol kemudian dikocok dan didiamkan selama 24 jam hingga terpisah menjadi 2 lapisan (fase). Pisahkan antara lapisan n-heksan dan metanol dan diuapkan dengan *waterbath* hingga diperoleh ekstrak pekat (Ulfah, 2016).

Skrining Fitokimia

Uji Fenol

Sebanyak 0,1 g sampel (partisi dan ekstrak) ditambah dengan 1 mL metanol. Kemudian ditambahkan 5 tetes larutan Folin Ciocalteu. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau, merah, ungu, biru tua, biru kehitaman atau hijau kehitaman (Hanani, 2016).

Uji Flavonoid

Sebanyak 0,1 g sampel (partisi dan ekstrak) dilarutkan dalam 2-3 mL metanol dan dipanaskan diatas penangas air, kemudian ditambahkan 0,1 g serbuk Mg dan ditambahkan

2 mL HCl pekat. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga (Hanani, 2016).

Uji Alkaloid

Sebanyak 0,1 g sampel (partisi dan ekstrak) ditambahkan 2 mL asam klorida pekat dan disaring. Diambil 3 tabung reaksi, lalu masing-masing dimasukkan 0,5 mL filtrat. Pada masing-masing tabung reaksi ditambahkan 3 tetes pereaksi Meyer, Dragendorff dan Wagner. Positif alkaloid ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih pada pereaksi Meyer, endapan jingga untuk pereaksi Dragendorff dan endapan merah jingga untuk pereaksi Wagner (Hanani, 2016).

Uji Saponin

Sebanyak 0,1 g sampel (partisi dan ekstrak) dimasukkan kedalam tabung reaksi ditambah 10 mL air panas, dinginkan kemudian kocok kuat-kuat selama 10 detik. Pembentukan busa setinggi 1-10 cm selama ± 10 menit menunjukkan adanya saponin kemudian ditetesi dengan 1 tetes HCl 2N, busa tidak hilang (Hanani, 2016).

Uji Steroid dan Terpenoid

Sebanyak 0,1 g sampel (partisi dan ekstrak) ditambahkan dengan 2 mL kloroform, kemudian ditambahkan 10 tetes asam asetat anhidrat dan 3 tetes asam sulfat pekat. Hasil positif untuk steroid terbentuk warna hijau dan terpenoid terbentuk warna merah (Hanani, 2016).

Uji Tanin

Sebanyak 0,1 g sampel (partisi dan ekstrak) dilarutkan dalam 5 mL air panas. Kemudian ditetaskan 2-3 tetes larutan FeCl_3 5%, jika terbentuk warna biru tua atau hitam kehijauan menunjukkan adanya tanin (Hanani, 2016).

Pola Kromatogram

Plat KLT silika gel 60 F₂₅₄ dengan ukuran 10 x 10 cm, plat di aktivasi dalam oven pada suhu 105°C selama 15 menit untuk menghindari beberapa cemaran yang dapat menimbulkan masalah. Dari hasil percobaan pemilihan eluen telah diperoleh perbandingan eluen kloroform : metanol (8 : 2) v/v dan dilakukan penjenjuran eluen untuk mengoptimalkan proses pengembangan fase gerak. Plat di eluasi pada jarak 1 cm dari batas bawah sampai jarak 0,5 cm dari batas atas plat. Plat KLT diangin-anginkan

sampai kering untuk menguapkan fase gerak pada plat yang masih tersisa (Dewi, dkk., 2018).

Uji Toksisitas

Pelaksanaan uji dilakukan dengan memasukkan larva *Artemia salina* Leach. yang telah berumur 48 jam ke dalam sub-kelompok perlakuan berisi larutan uji (partisi dan ekstrak) dengan konsentrasi 15 µg/mL, 20 µg/mL, 25 µg/mL, 35 µg/mL dan larutan kontrol. Masing-masing tabung telah berisi 10 ekor larva dan dilakukan replikasi perlakuan sebanyak 3 kali. Dalam penelitian ini didapatkan volume akhir dari setiap tabung sebesar 10 mL. Tabung uji diletakkan di bawah penerangan selama 24 jam dan dihitung larva yang mati. Nilai LC_{50} ditentukan menggunakan analisis probit.

ANALISIS DATA

Data dari uji toksisitas dianalisis dengan analisis probit menggunakan aplikasi komputer SPSS untuk mengetahui nilai LC_{50} . Efektivitas partisi n-heksan dan metanol daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) dianalisis uji statistik parametrik *One Way* ANOVA dengan tingkat kepercayaan 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Skrining fitokimia adalah suatu tahap dalam penelitian fitokimia yang bertujuan untuk mengetahui tentang golongan senyawa aktif dalam tanaman yang sedang diteliti. Metode skrining fitokimia dilakukan dengan melihat reaksi pengujian warna dengan menggunakan suatu pereaksi warna (Habibi., dkk, 2018).

Tabel I. Hasil identifikasi skrining fitokimia

Metabolit Sekunder	Ekstrak	Partisi n-Heksan	Partisi Metanol
Fenol	+	+	+
Flavonoid	+	-	+
Alkaloid	+	-	+
- Meyer	+	+	+
- Dragendorf	+	+	+
- Wagner	-	-	-
Tanin	+	+	-
Steroid	-	-	+
Terpenoid	+	+	-
Saponin	-	-	-

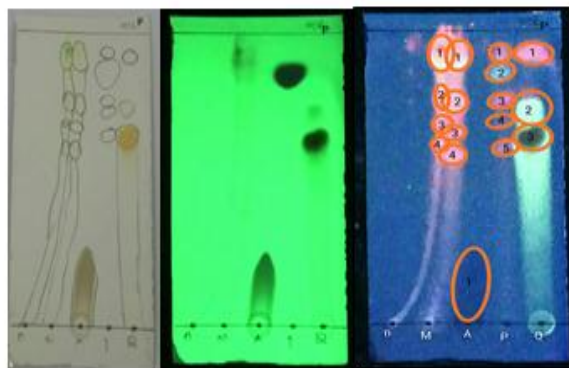
Keterangan:

(+) = mengandung senyawa metabolit sekunder

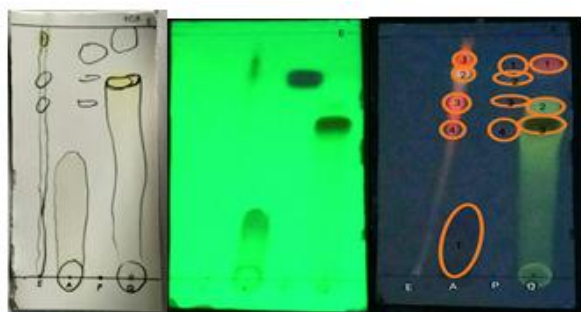
(-) = tidak mengandung senyawa metabolit sekunder

Berdasarkan hasil skrining fitokimia yang telah dilakukan menunjukkan bahwa senyawa aktif yang terkandung dalam daun pandan wangi lebih banyak larut dalam larutan uji yang bersifat polar. Hal ini ditunjukkan dengan ekstrak lebih banyak mengandung senyawa metabolit sekunder dibandingkan dengan partisi metanol (polar) dan n-heksan (nonpolar).

Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan pemisahan komponen kimia berdasarkan prinsip adsorpsi dan partisi yang ditentukan oleh fase diam (adsorben) dan fase gerak (eluen). Komponen kimia bergerak naik mengikuti fase gerak karena adanya daya serap adsorben terhadap komponen-komponen kimia yang tidak sama sehingga komponen kimia dapat bergerak dengan jarak berbeda berdasarkan tingkat kepolarannya (Alen., dkk, 2017).



Gambar I. Hasil bercak KLT partisi
(n = partisi n-Heksan; M = partisi Metanol; A = Asam galat; P = Piperin; Q = Quersetin)



Gambar II. Hasil bercak KLT Ekstrak
(E = Ekstrak; A = Asam galat; P = Piperin; Q = Quersetin)

Tabel II. Nilai Rf metode kromatografi lapis tipis

Sampel	Nilai Rf	Perpendaran warna	Hasil metabolit sekunder
Ekstrak	a. $Rf_1 = 0,9$ b. $Rf_2 = 0,8$ c. $Rf_3 = 0,7$ d. $Rf_4 = 0,8$	a. Jingga b. Jingga c. Jingga d. Jingga	Flavonoid dan Alkaloid
Partisi n-Heksan	a. $Rf_1 = 0,9$ b. $Rf_2 = 0,7$ c. $Rf_3 = 0,6$ d. $Rf_4 = 0,6$	a. Jingga muda b. Jingga muda c. Jingga d. Jingga	Flavonoid dan Alkaloid
Partisi Metanol	a. $Rf_1 = 0,9$ b. $Rf_2 = 0,7$ c. $Rf_3 = 0,6$ d. $Rf_4 = 0,6$	a. Jingga muda b. Jingga muda c. Jingga d. Jingga	Flavonoid dan Alkaloid
Asam galat	a. $Rf_1 = 0,2$	a. Abu-abu	Fenol
Piperin	a. $Rf_1 = 0,9$ b. $Rf_2 = 0,8$ c. $Rf_3 = 0,8$ d. $Rf_4 = 0,7$ e. $Rf_5 = 0,6$	a. Jingga kemerahan b. Biru muda c. Jingga kemerahan d. Jingga kemerahan e. Jingga kemerahan	Alkaloid
Quersetin	a. $Rf_1 = 0,9$ b. $Rf_2 = 0,7$ c. $Rf_3 = 0,6$	a. Jingga kemerahan b. Hijau tua c. Hijau kehitaman	Flavonoid

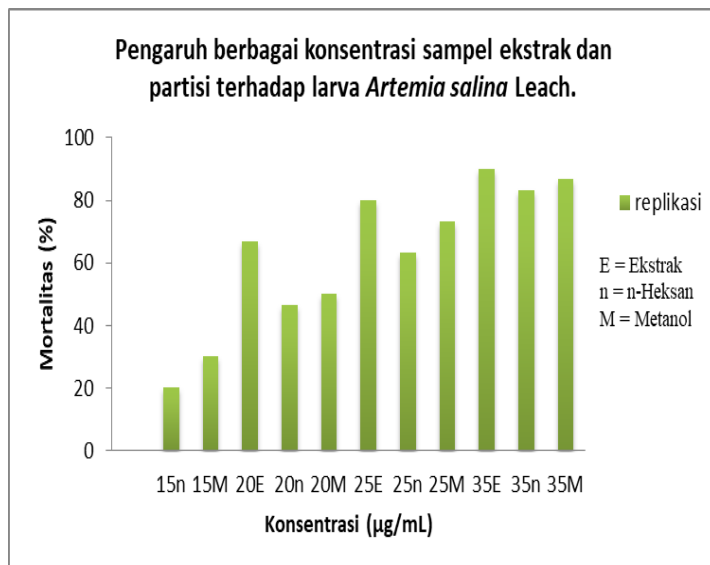
Berdasarkan (Tabel II) sampel partisi daun pandan wangi memiliki kesamaan nilai Rf dan perpendaran warna dengan pembanding piperin dan quersetin sehingga dapat dinyatakan positif mengandung senyawa aktif flavonoid dan alkaloid. Sedangkan untuk uji fenol dinyatakan negatif. Ketika lempeng KLT diamati dibawah sinar UV 366 nm menghasilkan beberapa bercak sehingga diperoleh nilai Rf yang lebih dari satu, hal ini karena pembanding yang digunakan diduga mengandung bahan eksipien dan bahan asing lain sedangkan untuk sampel partisi dan ekstrak terdapat kombinasi fraksi.

Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) adalah metode penapisan farmakologi awal yang telah

teruji hasilnya dengan tingkat kepercayaan 95% untuk mengamati toksisitas suatu senyawa dalam ekstrak kasar tanaman (Lisdawati., dkk, 2009). Pengujian toksisitas dengan metode BSLT menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach. sebagai hewan uji. *Artemia salina* Leach. telah digunakan oleh Pusat Kanker Purdue, Universitas Purdue di Lafayette untuk tanaman yang memiliki kandungan senyawa aktif toksik (Vitalia, dkk., 2016). Air laut buatan dikendalikan dengan menggunakan lampu pijar yang diletakkan di dekat wadah tempat penetasan larva dengan salinitas air laut buatan 35‰. Menurut Bahari (2014), apabila kadar garam kurang dari 35‰ telur *Artemia salina* Leach. akan tenggelam karena nilai salinitas tidak sesuai dengan penetasan telur sehingga telur sulit menetas, sedangkan apabila kadar garam 35‰ telur larva akan menetas dalam kondisi terapan dan menetas dengan optimal.

Larutan uji (partisi dan ekstrak) daun pandan wangi masing-masing dibuat 4 konsentrasi dengan 3 kali replikasi yaitu 15 µg/mL, 20 µg/mL, 25 µg/mL, 35 µg/mL dan kontrol negatif konsentrasi 0 µg/mL yang berisi air laut buatan dan larva tanpa penambahan sampel (partisi dan ekstrak). Kontrol negatif digunakan untuk menguji

faktor lain di luar uji partisi seperti air laut buatan, salinitas garam, suhu ruangan, larva, tempat penetasan dan pH air laut buatan (Aqila, 2017).



Gambar II. Pengaruh konsentrasi partisi dan ekstrak daun pandan wangi terhadap kematian larva

Berdasarkan grafik % mortalitas larva menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi sampel maka tingkat kematian larva akan semakin tinggi pula. Pada penelitian ini % mortalitas tertinggi berada pada ekstrak konsentrasi 35 µg/mL sedangkan terendah pada partisi n-heksan konsentrasi 15 µg/mL. Hal ini menunjukkan bahwa tingkat toksisitas yang dimiliki ekstrak lebih kuat dan efektif dibandingkan dengan partisi n-heksan dan metanol. Berdasarkan nilai % mortalitas diperoleh regresi linier dari sampel (partisi dan ekstrak) kemudian dilakukan perhitungan nilai LC_{50} dengan analisis probit.

LC₅₀ adalah konsentrasi senyawa atau ekstrak yang dapat mematikan larva udang *Artemia salina* Leach. hingga 50% dibandingkan terhadap kontrol negatif (Dewijanti, 2014). Rata-rata nilai LC₅₀ dari ekstrak, partisi n-heksan dan metanol berturut-turut yaitu 15,67 µg/mL, 21,33 µg/mL dan 20 µg/mL menunjukkan nilai LC₅₀ tertinggi terdapat pada partisi n-heksan dan terendah pada ekstrak daun pandan wangi. Rendahnya nilai LC₅₀ pada ekstrak membuktikan bahwa ekstrak tersebut memiliki sifat toksik yang lebih kuat dibandingkan dengan partisi metanol dan n-heksan. Hasil ini sesuai dengan pernyataan Meyer., dkk (1982) apabila nilai LC₅₀ < 1000 µg/mL maka dinyatakan toksik (Puspitasari., dkk, 2018).

Data yang diperoleh kemudian di uji statistik *One Way ANOVA* menggunakan aplikasi komputer SPSS dengan tingkat kepercayaan 95% dan uji normalitas *Shapiro-Wilk* untuk mengetahui kebermaknaan perbandingan antara masing-masing konsentrasi sampel (partisi dan ekstrak) terhadap mortalitas larva *Artemia salina* Leach. Hasil dari uji normalitas diperoleh data berdistribusi normal karena nilai $p > 0,05$ ($0,463 > 0,05$).

KESIMPULAN

Hasil uji toksisitas partisi n-heksan, dan metanol ekstrak daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) menunjukkan toksisitas terhadap larva *Artemia salina* Leach. dengan nilai LC₅₀ < 1000 µg/mL. Ekstrak etanol daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) memiliki toksisitas tertinggi terhadap larva *Artemia salina* Leach. dengan nilai LC₅₀ sebesar 15,67 µg/mL, diikuti dengan partisi metanol dan partisi n-heksan dengan nilai LC₅₀ sebesar 20 µg/mL dan 21,33 µg/mL.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap toksisitas dari partisi n-heksan dan metanol ekstrak daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) disertai sosialisasi yang dibantu oleh Dinas kesehatan, Puskesmas dan instansi lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Alen, Y., Agresa, F.L., Yuliandra, Yori. 2017. Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak Rebung *Schizostachyum brachycladum*

- Kurz (Kurz) pada Mencit Putih Jantan. *Jurnal Sains Farmasi dan Klinis*. Vol. 2 No. 3.
- Aqiila, G.R., Taufiqurrahman, I., Wydiamaka, E. 2017. Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Ramanian (*Bouea macrophylla* Griffith) terhadap Mortalitas Larva *Artemia salina* Leach. Banjarmasin: Fakultas Kesehatan Gigi Universitas Lambung Mangkurat. Dentino. *Jurnal Kedokteran Gigi*, Vol II: 170-176.
- Dewi, N.L.A., Andyani, L.P.S, Pratama, R.B.R., Yanti, N.N.D. 2018. Pemisahan, Isolasi dan Identifikasi Senyawa Saponin dari Herba Pegagan (*Centella asiatica* L. Urban). *Jurnal Farmasi Udayana*. Vol. 7 No. 2.
- Dewijanti, I.D., Angelina, M., Hartati, S., Dewi, B.E., Meilawati, L. 2014. Nilai LD50 dan LC50 Ekstrak Etanol Herba Ketumpangan Air (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth)). *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. Vol. 12 No. 2.
- Habibi, A.I, Firmansyah, R.A., setyawati, S.M. 2018. Skrining Fitokimia Ekstrak n-Heksan korteks Batang Salam (*Syzygium polyanthum*). *Journal of Chemical Science*. Vol. 2 No. 6.
- Hanani, E. 2016. *Analisis Fitokimia*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Lisdawati, V., Wiryowidagdo, S., Kardono, I.B.S. 2009. *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dari berbagai Fraksi Ekstrak Daging Buah dan Kulit Biji Mahkota Dewa. *Buletin penelitian kesehatan*. Vol. 34 No. 3.
- Nadya, I. 2015. Aktivitas Farmakologi Ekstrak Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.). *Jurnal Farmaka*. Vol 15 No. 2.
- Puspitasari, E., Rozirwan., Hendi, M. 2018. Uji Toksisitas dengan menggunakan metode Brine Shrim Lethality Test (BSLT) pada Ekstrak Mangrove (*Avicennia marina*, *Rhizophora mucronata*, *Sonneratia alba* dan *xylocarpus granatum*) yang berasal dari Banyuasin, Sumatera Selatan. *Jurnal FMIPA*. Universitas Sriwijaya, Inderalaya.
- Sukandar, D., Hermanto, S., Lestari, E. 2007. Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) dengan

metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Jakarta: Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.

Vitalia, N., Najib, A., Ahmad, A.R. 2016. Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pletekan (*Ruellia tuberosa* L.) dengan

menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*.Vol. 3 No. 1.