

Uji Potensi Sitotoksik Ekstrak dan Fraksi Biji Kenari (*Canarium Indicum L.*) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)
Test Of Cytotoxic Potentials Of Extract And Fractions Of Canarium Seeds (*Canarium Indicum L.*) Using Method Of Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

¹Alika Aprillia Said, ²Kiki Mulkiya, ³Esti Rachmawati Sadiyah

^{1,2,3}Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung,
Jl. Tamansari No.1 Bandung 40116

email: ¹alिकासaid25@gmail.com, ²qmulkiya@gmail.com, ³esti_sadiyah@ymail.com

Abstract: *Canarium* is a native plant of Indonesia which are widely grown in eastern Indonesia, such as Sulawesi and Maluku. *Canarium* seeds have many benefits, but their cytotoxic potential is unknown. So the purpose of this study was to examine the cytotoxic activity of extracts and fractions of *canarium* seeds using the BSLT method (*Brine Shrimp Lethality Test*). *Canarium* seeds were extracted using 95% maceration method and then fractionated by liquid-liquid extraction method. The concentration of ethanol extract and fractions of *canarium* seeds used for cytotoxic testing were 100, 150, 300, 450, 600, 750, 900 and 1000 µg/ml. The results showed that ethanol extract of *canarium* seeds (*Canarium indicum L.*) had an LC₅₀ value of 706.32 µg/ml and in the water fraction of 659.47 µg/ml. Whereas in testing the n-hexane fraction and ethyl acetate fraction from each tested concentration showed that there was no cytotoxic activity. Therefore, because the LC₅₀ value of *canarium* seed extract < 1000 µg/ml, it can be concluded that the extract and water fraction from *canarium* seeds have the potential to have cytotoxic activity.

Keywords: *Canarium* seeds, cytotoxic, BSLT

Abstrak: Kenari merupakan tanaman asli Indonesia yang banyak tumbuh di daerah Indonesia bagian Timur, seperti Sulawesi dan Maluku. Biji kenari memiliki banyak manfaat namun, belum diketahui potensi sitotoksiknya. Maka tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk menguji aktivitas sitotoksik ekstrak dan fraksi biji kenari menggunakan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). Biji kenari diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut 95% kemudian difraksinasi dengan metode ekstraksi cair-cair. Konsentrasi ekstrak etanol dan fraksi biji kenari yang digunakan untuk pengujian sitotoksik adalah 100, 150, 300, 450, 600, 750, 900 dan 1000 µg/ml. Hasil yang diperoleh menunjukkan ekstrak etanol biji kenari (*Canarium indicum L.*) memiliki nilai LC₅₀ sebesar 706,32 µg/ml dan pada fraksi air sebesar 659,47 µg/ml. Sedangkan pada pengujian fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat dari setiap konsentrasi yang diujikan tidak terlihat adanya aktivitas sitotoksik. Dengan demikian karena nilai LC₅₀ dari ekstrak biji kenari < 1000 µg/ml maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak dan fraksi air dari biji kenari berpotensi memiliki aktivitas sitotoksik.

Kata Kunci: Biji kenari, sitotoksik, BSLT

A. Pendahuluan

Kanker merupakan penyakit yang tidak diketahui penyebabnya secara pasti, tetapi dipengaruhi oleh banyak faktor seperti merokok atau terkena paparan asap rokok, radikal bebas, mengkonsumsi alkohol, paparan sinar ultraviolet pada kulit, dll. Kanker dapat dicegah dengan mengurangi faktor risiko terjadinya kanker tersebut. Dalam perkembangan di bidang kesehatan telah ditemukan obat-obat antikanker dan dilakukan kemoterapi, namun faktor biaya yang mahal menjadi

kendala. Hal ini mendorong masyarakat untuk melakukan pengobatan menggunakan bahan alam atau obat tradisional (Muaja, 2013:115).

Di antara senyawa-senyawa yang dapat meningkatkan tingkat toksisitas suatu tanaman, adalah senyawa-senyawa yang bersifat sitotoksik. Senyawa sitotoksik merupakan suatu senyawa atau zat yang dapat merusak sel normal atau sel kanker, serta digunakan untuk menghambat pertumbuhan dari sel tumor maligna (Siregar & Amalia, 2004

dalam Purwanto, 2015:616). Senyawa sitotoksik berpotensi sebagai obat antikanker dengan cara mengambat pertumbuhan sel kanker (Lindholm, 2005 dalam Ramadhan, 2016).

Senyawa sitotoksik dapat ditemukan pada beberapa jenis tumbuhan. Kenari merupakan jenis kacang-kacangan yang bijinya memiliki kandungan antioksidan dengan salah satu komponennya yaitu senyawa polifenol. Secara umum, senyawa bioaktif dalam buah atau biji adalah senyawa fenolik, karotenoid, fitosterol, dan tokoferol (Djarkasi, dkk., 2011:4). Selain itu biji kenari memiliki banyak manfaat namun, belum diketahui potensi sitotoksiknya maka dalam penelitian ini akan dilakukan pengujian aktivitas sitotoksik dari bahan tersebut.

Salah satu metode yang dapat digunakan untuk menguji aktivitas sitotoksik suatu senyawa atau ekstrak adalah *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Metode BSLT merupakan pengujian pendahuluan untuk menentukan toksisitas akut suatu senyawa atau ekstrak dengan menggunakan larva udang (*Artemia salina* Leach) sebagai hewan uji dengan parameter *Lethal Concentration 50* (LC_{50}) < 1000 µg/ml (ppm) (Meyer *et al*, 1982:32).

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka perumusan masalah dalam penelitian ini sebagai berikut: “bagaimana potensi aktivitas sitotoksik dari ekstrak dan fraksi biji kenari (*Canarium indicum* L.) dengan metode BSLT dan berapakah nilai LC_{50} dari ekstrak dan fraksi biji kenari?”. Selanjutnya, tujuan dalam penelitian ini diuraikan dalam pokok-pokok sbb.

1. Untuk menguji aktivitas sitotoksik ekstrak dan fraksi biji kenari menggunakan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)
2. Untuk menentukan nilai LC_{50}

ekstrak dan fraksi biji kenari.

B. Landasan Teori

Selama ini biji kenari dimanfaatkan untuk bahan pangan camilan. Asupan kacang kenari memiliki efek menurunkan kolesterol secara signifikan. Secara keseluruhan, menurunkan kolesterol total dan LDL selama uji coba jangka pendek. Kenari mempunyai manfaat yang cukup banyak untuk kesehatan tubuh, antara lain mampu mengurangi dampak penyakit jantung koroner, mengurangi dampak penyakit kardiovaskular, mengurangi dampak penyakit tumor prostat, menstabilkan serum lipid dan tekanan darah, mengurangi tingkat diabetes terhadap wanita, dan baik untuk dikonsumsi bagi orang-orang yang bermasalah dengan berat badan (obesitas) (Masyitah, dkk., 2018:14). Kayu kenari cocok untuk konstruksi ringan, cetakan, veneer, dan banyak tujuan interior. Kayu *C. indicum* bertekstur halus dan berwarna merah muda-cokelat (Thomson dan Evans, 2006:9).

Menurut penelitian yg telah dilakukan oleh Djarkasih, dkk., (2011:19) biji kenari mengandung lemak yang cukup tinggi dan yang paling dominan adalah asam oleat. Kemudian protein merupakan kandungan kedua paling banyak pada kenari dengan asam glutamat adalah asam amino yang paling dominan. Kenari juga mengandung asam fenolat dan flavonoid dan tokoferol. Menurut Leakey, dkk., (2008:80-84) biji kenari mengandung lemak, karbohidrat, protein, tokoferol, antioksidan dan fenolik.

Hewan uji yang digunakan dalam metode BSLT ini adalah *Artemia salina* Leach. Pada mulanya *Artemia salina* Leach ini mempunyai nama spesies *Cancer salinus* Linnaeus. Kemudian pada tahun 1819 diubah

menjadi *Artemia salina* oleh Leach. *Artemia* atau *brine shrimp* adalah sejenis udang primitif (Widyastuti, 2008:12).

Uji sitotoksik merupakan perkembangan metode untuk memprediksi keberadaan obat sitotoksik baru dari bahan alam yang berpotensi sebagai antikanker. Dasar dari uji sitotoksik adalah kemampuan sel untuk bertahan hidup karena adanya senyawa sitotoksik. Kemampuan sel untuk bertahan hidup dapat diartikan sebagai tidak hilangnya metabolik atau proliferasi dan dapat diukur dari bertambahnya jumlah sel, naiknya jumlah protein, atau DNA yang disintesis (Damayanti, 2008:7).

Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) Salah satu metode yang dapat digunakan untuk menguji aktivitas sitotoksik suatu senyawa atau ekstrak. Uji toksisitas dengan metode BSLT ini merupakan uji toksisitas akut yaitu efek toksik dari suatu senyawa ditentukan dalam waktu singkat, pada rentang waktu selama 24 jam setelah pemberian dosis uji. Prosedur pengujiannya dengan menambahkan larva *Artemia salina* kedalam sampel, yang telah dibagi menjadi beberapa konsentrasi kemudian dalam waktu 24 jam dilihat berapa persen larva udang yang mengalami kematian. Suatu ekstrak dikatakan toksik jika harga $LC_{50} < 30$ $\mu\text{g/ml}$ maka sangat toksik, jika ekstrak memiliki $LC_{50} < 1000$ $\mu\text{g/ml}$ maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak tersebut toksik dan $LC_{50} > 1000$ $\mu\text{g/ml}$ maka ekstrak tersebut tidak toksik (Meyer et al, 1982:32).

C. Metode Penelitian

Penelitian mengenai uji potensi aktivitas sitotoksik dari ekstrak dan fraksi biji kenari (*Canarium indicum* L.) dilakukan melalui beberapa tahapan yaitu pengumpulan bahan, determinasi, pengolahan bahan menjadi simplisia, penetapan parameter standar simplisia,

penapisan fitokimia, ekstraksi, fraksinasi, karakterisasi ekstrak dan pengujian aktivitas sitotoksik dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*).

Pengujian parameter standar simplisia yang terdiri dari penetapan kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, susut pengeringan, kadar air, kadar abu total dan kadar abu tidak larut asam.

Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 95%. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan *rotary vaccum evaporator* kemudian dipekatkan kembali menggunakan *waterbath* hingga diperoleh ekstrak kental dengan bobot tetap kemudian dihitung rendemennya.

Ekstrak yang diperoleh kemudian difraksinasi menggunakan metode Ekstraksi cair-cair dengan pelarut n-heksan, etilasetat dan air sehingga diperoleh tiga fraksi yang berbeda kepolaran.

Uji sitotoksik dengan metode BSLT terdiri dari beberapa tahap yang dimulai dengan penetasan larva udang terlebih dahulu. Selanjutnya dilakukan pengujian sitotoksik dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) menggunakan larva udang. Konsentrasi sampel ekstrak dan fraksi terdiri dari 100, 150, 300, 450, 600, 750, 900 dan 1000 $\mu\text{g/ml}$. Inkubasi larutan sampel uji dilakukan selama 24 jam dan dihitung larva yang mati. Aktivitas sitotoksik ditentukan melalui perhitungan LC_{50} dengan metode probit.

D. Hasil Penelitian dan Pembahasan

Pengumpulan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji kenari (*Canarium indicum* L.) yang diperoleh dari daerah Bogor, Jawa Barat. Bahan berupa ranting, daun, buah atau biji dideterminasi di Herbarium Jatinangor, Laboratorium

Taksonomi Tumbuhan, Departemen Biologi FMIPA UNPAD untuk memastikan kebenaran bahan yang akan digunakan. Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel tersebut adalah biji kenari (*Canarium indicum* L.). Selanjutnya dilakukan pembuatan simplisia bahan yang dikumpulkan disortasi terlebih dahulu kemudian dilakukan pencucian perajangan dan pengeringan.

Selanjutnya dilakukan karakterisasi simplisia yang terdiri dari penapisan fitokimia dan pengujian parameter standar simplisia. Berdasarkan hasil penapisan fitokimia simplisia dan ekstrak biji kenari menunjukkan mengandung senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid dan polifenol.

Tabel 1 Hasil penetapan parameter standar simplisia

No.	Pemeriksaan	Kadar (%)
1	Kadar sari larut air	5,265
2	Kadar sari larut etanol	8,325
3	Susut pengeringan	2,243
4	Kadar air	3,5
5	Kadar abu total	6,25
6	Kadar abu tidak larut asam	1

Rendemen dari simplisia biji kenari dalam penelitian adalah sebesar 8,15%. Pengujian sitotoksik ekstrak dan fraksi dari biji kenari dilakukan pada konsentrasi 100, 150, 300, 450, 600, 750, 900 dan 1000 µg/ml. Pengujian dilakukan 2 kali pengulangan (duplo). Inkubasi dilakukan selama 24 jam pada suhu kamar kemudian dihitung jumlah larva yang mati dan dibandingkan dengan kontrol. Hasil pengamatan dapat dilihat pada **Tabel 2** dan **Tabel 3**.

Tabel 2 Hasil Pengamatan Uji sitotoksik pada ekstrak

Konsentrasi (ppm)	Log Konsentrasi (x)	Jumlah larva yang mati		Rata-rata	% Kematian	Nilai probit (y)
		Ekstrak				
		vial 1	vial 2			
0	0	0	0	0	0	0
100	2	0	0	0	0	0
150	2,17	0	0	0	0	0
300	2,47	0	0	0	0	0
450	2,65	0	0	0	0	0
600	2,77	3	2	2,5	25	4,325
750	2,87	5	5	5	50	5,000
900	2,95	9	8	8,5	85	6,036
1000	3	9	10	9,5	95	6,644

Hasil penetapan parameter standar simplisia dapat dilihat pada **Tabel 3** :

Tabel 3 Hasil Pengamatan Uji sitotoksik pada Fraksi air

Konsentrasi (ppm)	Log Konsentrasi (x)	Jumlah larva yang mati		Rata-rata	% Kematian	Nilai probit (y)
		Fraksi air				
		vial 1	vial 2			
0	0	0	0	0	0	0
100	2	0	0	0	0	0
150	2,17	0	0	0	0	0
300	2,47	0	0	0	0	0
450	2,65	0	0	0	0	0
600	2,77	2	2	2	20	4,168
750	2,87	7	6	6,5	65	5,385
900	2,95	10	10	10	100	8,719
1000	3	10	10	10	100	8,719

Berdasarkan hasil diperoleh persamaan garis lurus yaitu $y=10,20x - 24,06$ untuk ekstrak dan $y=22,19x - 57,56$ untuk fraksi air sehingga dapat dihitung nilai LC_{50} dengan harga y menyatakan nilai probit pada tingkat kematian 50%. Nilai LC_{50} yang diperoleh dari ekstrak biji kenari adalah 706,32 $\mu\text{g/ml}$ dan pada fraksi air adalah 659,47 $\mu\text{g/ml}$. Suatu ekstrak dikatakan toksik bila mempunyai nilai $LC_{50} < 1000$ $\mu\text{g/ml}$ (ppm) (Meyer *et al.*, 1982:32). Dengan demikian ekstrak etanol biji kenari pada konsentrasi 706,32 $\mu\text{g/ml}$ dan fraksi air pada konsentrasi 659,47 $\mu\text{g/ml}$ berpotensi memiliki aktivitas sitotoksik. Pada pengujian aktivitas sitotoksik terhadap fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat pada konsentrasi yang sama tidak terlihat adanya aktivitas sitotoksik.

E. Kesimpulan

Berdasarkan pembahasan dalam penelitian ini, peneliti menyimpulkan beberapa hasil penelitian sebagai berikut:

1. Ekstrak etanol biji kenari (*Canarium indicum* L.) memiliki potensi sitotoksik dilihat dari nilai $LC_{50} < 1000$ $\mu\text{g/ml}$ (ppm) yaitu sebesar 706,32 $\mu\text{g/ml}$ dan
2. pada fraksi air sebesar 659,47 $\mu\text{g/ml}$. Sedangkan pada pengujian fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat dari setiap konsentrasi yang diujikan tidak terlihat adanya aktivitas sitotoksik.
3. Berdasarkan nilai LC_{50} dari ekstrak dan fraksi air biji kenari < 1000 $\mu\text{g/ml}$ (ppm) maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak dan fraksi air biji kenari berpotensi memiliki aktivitas sitotoksik.

F. Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai senyawa-senyawa apa saja yang terkandung dalam biji kenari (*Canarium indicum* L.). Serta mengidentifikasi senyawa aktif yang memiliki potensi sitotoksik.

Daftar Pustaka

- Damayanti, L. (2008). *Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol Kultur Akar Ceplukan (Physalis Angulata L.) Yang Ditumbuhkan Pada Media Murashige-Skoog Dengan Pengurangan Konsentrasi Nitrat Terhadap Sel Myeloma* [Skripsi] Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Djarkasi, dkk. (2011). Analisis Komponen Bioaktif Buah Kenari (*Canarium indicum* L.). Research Final Report, Universitas Sam Ratulangi.
- Leakey, R dkk.,(2008). Characterization of tree-to-tree variation in morphological, nutritional and medicinal properties of *Canarium indicum* nuts. *Agroforest syst* 73: 77-87
- Maysitah, N. (2018). Khasiat Kacang Kenari (*Canarium indicum* L.) Terhadap Berbagai Macam Penyakit. Vol.16 No.3
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobson, L. B., Nichols, D. E., dan McLaughlin, J. L. (1982). *Brine Shrimp: Aconvenient General Bioassay for Active Plant Constituents*. *Planta Medica*, 45:31-34.
- Muaja, A. D. (2013). Uji Toksisitas dengan Metode BSLT dan Analisis Kandungan Fitokimia Ekstrak Daun Soyogik (*Saurauia bracteosa* DC) dengan Metode Soxhletasi. Vol.2 (2) 115-118

- Purwanto, N. (2015). Uji sitotoksik Ekstrak biji salak (*Salacca zalacca* (Gaert) Voss) dengan menggunakan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Prosiding Penelitian SPeSIA, Program Studi Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Islam Bandung, Bandung.
- Ramadhan, R. F. (2016). Isolasi Senyawa Sitotoksik Dari Ekstrak Etil Asetat Jamur Simbion *Cladosporium bruhnei* (Wr₁₀) Asal Spon Laut *Haliclona fascigera* [Skripsi] Fakultas Farmasi Universitas Andalas, Padang.
- Thomson dan Evans. (2006). *Canarium indicum* var. *indicum* and *C. harveyi* (*canarium* nut) Burceaceae (torchwood family). Species Profiles for Pacific Island Agroforestry.
- Widyastuti, S. (2008). Uji Toksisitas Ekstrak Daun Iprih (*Ficus glabella* Blume) Terhadap *Artemia salina* Leach Dan Profil Kromatografi Lapis Tipis [Skripsi] Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.