

Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol Kulit Buah Petai (*Parkia Speciosa* Hassk.) dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)
Cytotoxic Activity Test of Petai Fruit Peel (*Parkia Speciosa* Hassk.) Ethanolic Extract
Using BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) Method

¹Rahayu Rahmadini Soliha, ²Sri Peni Fitrianiingsih, ³Siti Hazar

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

email: ¹rahayurahmadinis@gmail.com, ²spffitrianiingsih@gmail.com, ³sitihazar1009@gmail.com

Abstract. Cancer is the third leading cause of global death globally, which continue to increase each year. Petai fruit peel (*Parkia speciosa* Hassk.) contains secondary metabolites that can be used as anticancer. This research was conducted to determine the secondary metabolites contents of petai fruit peel and to determine its cytotoxic activity as well as to calculate lethal concentration (LC₅₀) of petai fruit peel ethanolic extract on shrimp larvae *Artemia franciscana* Kellogg. using Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method. LC₅₀ value was calculated using probit analysis method. Extract concentrations that used in this cytotoxic test were 1, 10, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, and 1000 ppm. Phytochemical screening showed positive results of flavonoids, saponins, tannins, polyphenolates, alkaloids, steroids, triterpenoids, monoterpenes and sesquiterpenes. From cytotoxicity test, it was found that LC₅₀ of the extract against shrimp larvae *Artemia franciscana* Kellogg was 202.4417 ppm, which ranged in moderate category with the value between 100 to 1000 ppm.

Keywords: Cytotoxic test, Petai Fruit peel, *Artemia franciscana* Kellogg., Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) metode

Abstrak. Penyakit Kanker merupakan penyebab kematian ketiga di dunia yang terus meningkat setiap tahun. Kulit buah petai (*Parkia speciosa* Hassk.) diduga mengandung senyawa metabolit sekunder yang dapat digunakan sebagai antikanker. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder dari kulit buah petai (*Parkia speciosa* Hassk.) dan mengetahui aktivitas sitotoksik serta nilai *Lethal Concentration* (LC₅₀) dari ekstrak etanol kulit buah petai (*Parkia speciosa* Hassk.) terhadap larva udang *Artemia franciscana* Kellogg. dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Nilai LC₅₀ dihitung menggunakan metode analisis probit. Konsentrasi ekstrak etanol yang digunakan pada pengujian sitotoksik ini adalah 1; 10; 100; 200; 300; 400; 500; 600; 700; 800; 900 dan 1000 ppm. Pada penapisan fitokimia yang terdeteksi adalah flavonoid, saponin, tanin, polifenolat, alkaloid, steroid, triterpenoid serta monoterpen dan seskuiterpen. Pada pengujian sitotoksik diperoleh nilai LC₅₀ ekstrak etanol kulit buah petai adalah 202,4417 ppm. Berdasarkan data tersebut, ekstrak etanol 96% dari kulit buah petai menyebabkan sitotoksik terhadap larva udang *Artemia franciscana* Kellogg. yang termasuk kedalam kategori moderat karena memiliki nilai LC₅₀ antara 100 sampai 1000 ppm.

Kata kunci: Uji sitotoksik, kulit buah petai, *Artemia franciscana*, metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

A. Pendahuluan

Penyakit kanker merupakan suatu penyakit yang disebabkan oleh pertumbuhan sel-sel jaringan tubuh tidak normal, ditandai dengan pembelahan sel tidak terkendali dan kemampuan sel-sel tersebut menyerang jaringan biologis (Katzung, 2012:907) Penyakit kanker dikenal sebagai

penyakit yang sukar disembuhkan dan dapat menyebabkan kematian, sehingga hal ini merupakan masalah yang sulit dalam bidang pengobatan (Yudistira, 2017:46).

Pemanfaatan tumbuhan alam sebagai alternatif terapi kanker saat ini sudah mulai berkembang karena terapi kanker menggunakan obat kimia

umumnya belum mampu memberikan hasil yang memuaskan dan mempunyai biaya yang mahal, selain itu ditemukan efek samping yang cukup besar, salah satunya adalah kulit buah petai (*Parkia speciosa* Hassk.). Chanu *et al.*, (2018) mengemukakan bahwa biji tanaman (*Parkia javanica*) dapat menghambat proliferasi sel kanker hati manusia HepG2. Berdasarkan kesamaan genus, maka diduga petai dari spesies *Parkia speciosa* Hassk juga memiliki potensi sebagai antikanker. Selain itu kulit buah petai juga mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid, saponin, tannin dan triterpenoid yang diketahui berpotensi sebagai antikanker.

Untuk mengetahui aktivitas kulit buah petai (*Parkia speciosa* Hassk.) sebagai agen antikanker dilakukan uji sitotoksik dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) menggunakan larva udang (*Artemia*) dengan parameter nilai LC₅₀ (Meyer *et al.*, 1982:32).

Berdasarkan penjelasan tersebut, dapat dirumuskan masalah yaitu, apa saja senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol kulit buah petai (*Parkia speciosa* Hassk.) sehingga memiliki aktivitas sitotoksik terhadap *Artemia franciscana* Kellogg. dan berapakah nilai LC₅₀ ekstrak etanol kulit buah petai

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder ekstrak etanol kulit buah petai (*Parkia speciosa* Hassk.) serta aktivitas sitotoksik terhadap larva udang (*Artemia franciscana* Kellogg.) sehingga dapat dilihat potensinya sebagai antikanker dan untuk mengetahui nilai LC₅₀ ekstrak etanol kulit buah petai.

B. Landasan Teori

Klasifikasi tanaman petai menurut Cronquist (1981) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
 Divisi : Magnoliophyta
 Kelas : Magnoliopsida
 Ordo : Fabales
 Famili : Fabaceae
 Genus : Parkia
 Spesies : *Parkia speciosa* Hassk

Petai (*Parkia speciosa* Hassk.), merupakan tanaman bermanfaat yang tumbuh di daerah tropis dan umum dikonsumsi di Indonesia yang banyak digunakan oleh masyarakat sebagai bahan pangan dan industri, serta berpotensi dimanfaatkan sebagai obat-obatan seperti obat hati, ginjal, sembelit, depresi, dan anemia (Zulhendra *et al.*, 2016:102).

Kulit buah petai (*Parkia speciosa* Hassk.) mengandung berbagai macam senyawa metabolit sekunder. Pada penelitian Jebarus (2015) ekstrak etanol kulit buah petai dapat berpotensi sebagai antibakteri dengan kandungan senyawa saponin, flavonoid, alkaloid, tanin, polifenolat, triterpenoid, steriud, monoterpen dan seskuiterpen.

Uji sitotoksik merupakan uji invitro dengan menggunakan kultur sel untuk mendeteksi adanya aktivitas antikanker dari suatu senyawa. Salah satu uji sitotoksik adalah metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dengan menggunakan larva udang (*Artemia franciscana* Kellogg.). Metode ini merupakan penapisan awal dalam upaya pencarian senyawa antikanker karena hasil dari uji tersebut memiliki korelasi positif dengan aktivitas sitotoksik antikanker. Keuntungan metode ini adalah cepat, tidak mahal, tidak membutuhkan peralatan yang rumit, mudah dilakukan, selain itu metode BSLT sering digunakan dalam tahap awal isolasi senyawa toksik yang terkandung didalam suatu ekstrak dengan tingkat kepercayaan 95% sehingga hasilnya dapat dipercaya Data yang diperoleh diolah untuk

mendapatkan nilai LC_{50} (*Lethal Concentration 50*) yang merupakan konsentrasi zat yang menyebabkan terjadinya kematian pada 50 % hewan percobaan yaitu larva udang (*Artemia franciscana*) (Meyer *et al.*, 1982).

Tabel 1. Klasifikasi sitotoksik untuk bahan alam menurut Balantyne dalam Mardja (2016)

LC50	Kategori
$10\mu\text{g/mL} < LC_{50}$	Sangat toksik
$10\mu\text{g/mL} < LC_{50} < 100\mu\text{g/mL}$	Toksik
$100\mu\text{g/mL} < LC_{50} < 1000\mu\text{g/mL}$	Moderat
$LC_{50} > 1000\mu\text{g/mL}$	Tidak toksik

Artemia atau *brine shrimp* merupakan golongan zooplankton yang hidup sebagai planktonic, yaitu melayang dalam air. *Artemia* termasuk jenis udang-udangan yang mempunyai ukuran relatif kecil dengan sistem osmoregulasi yang efisien sehingga mampu beradaptasi pada kisaran salinitas yang luas (5-150 ppt). Faktor lingkungan yang optimal untuk kehidupan *artemia* adalah pada suhu 25-40°C; pH berkisar 7,3-8,3; serta oksigen terlarut lebih dari 2 mg/L (Wibowo, 2013: 3).

C. Metodologi Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas sitotoksik ekstrak etanol kulit buah petai (*Parkia speciosa* Hassk.) terhadap larva udang *Artemia franciscana* Kellogg, yang dilakukan melalui pengujian eksperimental di laboratorium. Penelitian diawali dengan pengumpulan bahan uji kulit buah petai yang diperoleh dari Majalengka, Jawa Barat dan larva udang (*Artemia franciscana* Kellogg.) sebagai objek uji yang diperoleh dari Karapitan, Bandung. Kemudian dilakukan determinasi kulit buah petai di Herbarium Bandungense, Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati,

Institut Teknologi Bandung dan larva udang di Museum Zoologi, Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung

Tahap selanjutnya pembuatan simplisia yaitu sortasi basah, pencucian dan pengeringan. Simplisia kemudian dikarakterisasi dengan menguji parameter standar spesifik dan parameter standar nonspesifik. Untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder, simplisia dan ekstrak diuji penapisan fitokimia. Selanjutnya simplisia diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% dan dipekatkan dengan cara evaporasi.

Pengujian sitotoksik ekstrak etanol kulit buah petai menggunakan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) terhadap larva udang dilakukan dengan beberapa variasi konsentrasi, dimana tiap konsentrasi dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali (*triplo*) dengan parameter yang diuji adalah persen kematian untuk menghitung nilai LC_{50} . Nilai LC_{50} yang diperoleh menunjukkan tingkat aktivitas sampel yang diuji.

D. Hasil Penelitian dan Pembahasan

Hasil determinasi menunjukkan bahwa tanaman petai yang digunakan adalah petai jenis *Parkia speciosa* Hassk. Sedangkan larva udang yang digunakan adalah *Artemia franciscana* Kellogg.

Pembuatan simplisia kulit buah petai dari bahan basah seberat 1,5 kg menghasilkan 500 g berupa simplisia kering. Kemudian simplisia tersebut diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% sebanyak 7,5 liter. Hasil ekstraksi diperoleh ekstrak kental sebanyak 99,425g dengan rendemen 19,885%. Pada penelitian ini digunakan metode maserasi karena merupakan metode

ekstraksi cara dingin dengan tujuan untuk mencegah terurainya senyawa-senyawa yang tidak tahan terhadap pemanasan (termolabil) selain itu pengerjaan dan peralatan yang digunakan pada metode ini sederhana (Najib, 2018:40).

Penapisan fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan

senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam simplisia maupun ekstrak etanol kulit buah petai dan melihat ada atau tidaknya kandungan senyawa yang memiliki aktivitas sitotoksik.

Tabel 2. Hasil Penapisan Fitokimia Simplisia dan Ekstrak Kulit Buah Petai (*Parkia speciosa* Hassk.)

Golongan senyawa	Simplisia	Ekstrak
Flavonoid	+	+
Saponin	+	+
Tanin	+	+
Polifenolat	+	+
Alkaloid	-	+
Steroid dan Triterpenoid	+	+
Monoterpen dan Seskuiterpen	+	+
Kuinon	-	-

Keterangan : (+) = terdeteksi (-) = tidak terdeteksi

Berdasarkan **Tabel 2** diperoleh informasi bahwa senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam simplisia adalah flavonoid, saponin, tannin, polifenolat, steroid, triterpenoid serta monoterpen dan seskuiterpen. Sedangkan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak adalah flavonoid, saponin, tannin, polifenolat, alkaloid, steroid, terpenoid serta monoterpen dan seskuiterpen.

Senyawa alkaloid ditemukan pada ekstrak namun tidak ditemukan pada simplisia. Hal ini diduga karena kandungan alkaloid pada kulit buah petai hanya sedikit sehingga keberadaannya baru terdeteksi setelah proses ekstraksi, penelitian Murtadlo (2013) membuktikan bahwa proses ekstraksi menggunakan pelarut etanol 96% mampu menarik senyawa alkaloid

dari simplisia. Menurut Jebarus (2015:42) kulit buah petai (*Parkia speciosa* Hassk.) mengandung senyawa metabolit sekunder saponin, flavonoid, alkaloid, tanin, polifenolat, terpenoid, steriud, monoterpen dan seskuiterpen.

Uji sitotoksik dilakukan menggunakan metode BSLT dengan *Artemia franciscana* Kellogg. sebagai hewan uji. Konsentrasi uji yang digunakan yaitu 1; 10; 100; 200; 300; 400; 500; 600; 700; 800; 900 dan 1000 ppm, dengan pengujian selama 24 jam terhadap larva udang yang berumur 48 jam. Pengamatan dilakukan terhadap jumlah kematian larva udang. Angka kematian dan persen mortalitas larva udang pada tiap konsentrasi dapat dilihat pada **Tabel 2**.

Tabel 2 . Angka kematian dan persen mortalitas *Artemia franciscana* pada setiap konsentrasi uji

Konsentrasi (ppm)	Angka kematian <i>Artemia salina</i> Leach.			Jumlah	Rata- rata	% Mortalitas
	Vial 1	Vial 2	Vial 3			
0	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0
10	1	1	1	3	1 ± 0	10
100	3	2	2	7	2.33 ± 0.577	23.3
200	5	3	4	12	4 ± 1	40
300	5	5	5	15	5 ± 0	50
400	7	6	6	19	6.33 ± 0.577	63.3
500	7	7	7	21	7 ± 0	70
600	7	9	6	22	7.33 ± 1.528	73.3
700	9	8	8	25	8.33 ± 0.577	83.3
800	9	9	9	27	9 ± 0	90
900	9	9	10	28	9.33 ± 0.577	93.3
1000	10	9	10	29	9.67 ± 0.577	96.7

Berdasarkan **Tabel 2** menunjukkan bahwa larva udang mulai mengalami kematian pada konsentrasi 10 sampai 1000 ppm, sedangkan pada konsentrasi 0 (kontrol) tidak terdapat kematian larva udang. Hal ini menunjukkan bahwa larva udang mengalami kematian diduga karena pengaruh pemberian ekstrak uji. Berdasarkan tabel tersebut dapat diketahui bahwa rata-rata kematian larva udang mengalami peningkatan seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak uji. Selain itu,

Tabel 2 menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi uji maka persen mortalitas juga akan semakin tinggi. Persen mortalitas tertinggi Hal ini menunjukkan bahwa adanya aktivitas sitotoksik dari ekstrak uji.

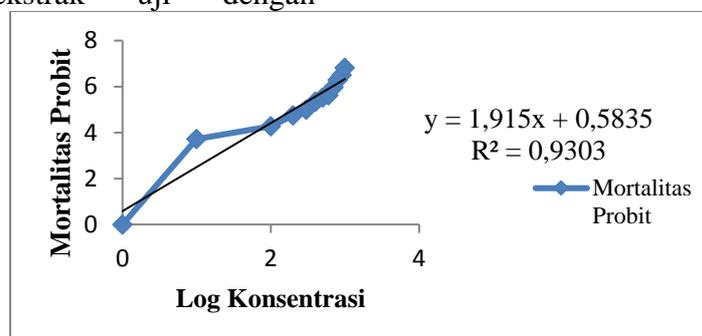
Selanjutnya dilakukan perhitungan *Lethal Concentration 50* (LC₅₀) dengan menggunakan metode probit. Nilai LC₅₀ <1000 ppm menunjukkan aktivitas sitotoksik suatu senyawa terhadap sel yang berpotensi sebagai antikanker. Nilai mortalitas probit dapat dilihat pada **Tabel 3**.

Tabel 3. Data Log konsentrasi dan nilai Mortalitas probit pada setiap konsentrasi uji

Konsentrasi (ppm)	Log Konsentrasi (X)	% Mortalitas	Mortalitas Probit
0	0	0	0
1	0	0	0
10	1	10	3.7184
100	2	23.33	4.271
200	2.301	40	4.7467
300	2.477	50	5
400	2.602	63.33	5.3398
500	2.699	70	5.5244
600	2.778	73.33	5.6219
700	2.845	83.33	5.9661
800	2.903	90	6.2816
900	2.954	93.33	6.4985
1000	3	96.67	6.8084

Berdasarkan **Tabel 3** tersebut kemudian dibuat grafik regresi linier dengan membandingkan antara log konsentrasi ekstrak uji dengan

mortalitas probit untuk mendapatkan nilai LC_{50} . Grafik tersebut dapat dilihat pada **Gambar 1**.



Gambar 1. Grafik Regresi Linier antara Log Konsentrasi dan Mortalitas Probit

Berdasarkan **Gambar 1** regresi linier antara log konsentrasi dan mortalitas probit menghasilkan persamaan garis lurus $y = 1.915x + 0.5835$. Dari persamaan tersebut selanjutnya dihitung nilai LC_{50} dengan memasukan nilai 5 (nilai probit dari mortalitas 50%) sebagai y sehingga dihasilkan x sebagai nilai log konsentrasi yaitu 2,3063. Nilai LC_{50} diperoleh dari antilog nilai log konsentrasi 2,3063 yaitu sebesar 202,4417 ppm. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol kulit buah petai memiliki aktivitas sitotoksi karena dapat menyebabkan kematian terhadap *Artemia franciscana* Kellogg. dan sifat toksiknya termasuk dalam kategori moderat ditandai dengan nilai LC_{50} antara 100 -1000 ppm.

Ekstrak etanol kulit buah petai (*Parkia speciosa* Hassk.) bersifat toksik terhadap *Artemia franciscana* Kellogg. diduga karena mengandung senyawa flavonoid, tannin, saponin dan triterpenoid. Senyawa flavonoid memiliki mekanisme penghambatan proliferasi tumor/ kanker dengan

menginhibisi aktivitas reseptor tirosin kinase yang berperan dalam pertumbuhan keganasan sel kanker (Muaja *et al.*, 2013:118). Saponin memiliki mekanisme pengaktifan jalur apoptosis dan menurunkan turgor permukaan selaput saluran pencernaan sehingga dinding saluran pencernaan menjadi rusak (Mardany *et al.*, 2016:17). Tannin berperan sebagai antiproliferasi karena menghambat enzim *nitric oxide synthase* (NOS) (Miranti, 2014). Sedangkan triterpenoid memiliki potensi penghambatan proliferasi sel yang memacu apoptosis sel dengan mekanisme pemblokiran siklus sel pada fase mitosis sehingga menyebabkan proses mitosis terhambat (Miranti, 2014).

E. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol kulit buah petai (*Parkia speciosa* Hassk.) memiliki aktivitas sitotoksik terhadap *Artemia franciscana* Kellogg. dengan nilai LC_{50} yaitu 202,4417 ppm yang termasuk kedalam

kategori moderat. Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol kulit buah petai adalah flavonoid, saponin, tannin, polifenolat, alkaloid, steroid, terpenoid serta monoterpen dan seskuiterpen sehingga dapat berpotensi sebagai antikanker.

F. Saran

Dari hasil penelitian diketahui bahwa ekstrak etanol kulit buah petai (*Parkia speciosa* Hassk.) dapat berpotensi sebagai antikanker, maka diharapkan penelitian dapat berlanjut mengenai pencarian senyawa spesifik yang berpotensi sebagai antikanker dan aktivitasnya terhadap sel kanker dengan metode yang lebih spesifik terhadap sel kanker.

Daftar Pustaka

- Chanu, K.V., Devi, L. G., Srivastava, S. K., Thakuria, D., (2018). Phytochemical analysis and evaluation of anticancer activity of *Parkia javanica* seeds. *The Pharma Innovation Journal*, Vol. 7, No. 5, India.
- Cronquist, A. (1981). *An Intergrated System of Classification of Flowering Plants*, Columbia University Press, New York.
- Jebarus, A. R. (2015). *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Buah Petai (Parkia speciosa Hassk.) Terhadap Staphylococcus aureus dan Escherichia coli* [Skripsi]. Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta.
- Katzung, B.G., (2012). *Farmakologi Dasar dan Klinik ed 10*. EGC, Jarkarta.
- Mardany, M. P., chrystomo, L. Y., Karim, A. K. (2016) . Skringing Fitokimia dan Uji Aktivitas Sitotoksik dari Tumbuhan Sarang Semut (*Myrmecodia beccarii* Hook. F.) Asal Kabupaten Merauke, *Jurnal Biologi Papua*, Vol. 8, No. 1, Jayapura.
- Mardja, T. E.(2016). Riset Sitotoksik Campuran Ekstrak Daun Sirsak (*Annona Muricata* L) Dan Kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana* L) Pada Sel Vero Dan AML12, *Journal of Tropical Pharmacy and Chemistry*, Vol. 3, No. 4, Jakarta.
- Meyer, B. N., Ferrigini, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L.B., (1982). Brine Shrimp: Convenient General Bioassay for Active Constituent. *Journal Of Medicinal Plant Research*, Vol. 45, No. 31, West Lafayette.
- Miranti. (2014). *Uji Potensi Anti Kanker Ekstrak Biji Pinang Merah Dan Implementasinya Dalam Pembelajaran Mitosis* [Skripsi] , Fakultas Keguruan Dan Ilmu Pendidikan, Universitas Tanjungpura, Pontianak.
- Muaja, A. D., Runtuwene, M. R. J. (2013). Uji Toksisitas dengan Metode BSLT dan Analisis Kandungan Fitokimia Ekstrak Daun Soyogik (*Saurauia bracteosa* DC) dengan Metode Soxhletasi, *Jurnal MIPA Unsrat Online*, Vol. 2, No. 2, Manado.
- Murtadlo, Y., Kusrini, D., (2013). Isolasi, Identifikasi Senyawa Alkaloid Total Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* Linn) dan Uji Sitotoksik Dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). *Cheminfo Journal*, Vol. 1, No. 1, Semarang.
- Najib, Ahmad. (2018). *Ekstraksi*

Senyawa Bahan Alam,

- Wibowo, S. (2013). *Artemia Untuk Pakan Ikan dan Udang*. Penebar Swadaya. Bogor.
- Yudistira, A. (2017). Uji Aktivitas Anti Kanker Payudara Ekstrak Daun Sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl.) Terhadap Sel Kanker Payudara T47D. *PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi*, vol. 6, no. 2, Manado.
- Zulhendra., Fitmawati. (2016). Keanekaragaman Infraspesifik Petai (*Parkia speciosa* Hassk.) Di Kabupaten Indragiri hulu dan Kabupaten Kuantan Singingi Berdasarkan Karakter Morfologi. *Jurnal Riau Biologia*, Vol. 1, No. 2, Pekanbaru.