Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Herba Tespong (*Oenanthe javanica* (Blume) DC.) terhadap Larva Udang (*Artemia franciscana* Kellogg.) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Devita Gustini, Sri Peni Fitrianiingsih, Siti Hazar

Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, Bandung, Indonesia

Email: dgdevita@gmail.com, spfritrianiingsih@gmail.com, sitihazar1009@gmail.com

ABSTRACT. Cancer is a leading cause of death worldwide. Cancer treatment such as surgery, radiotherapy, and chemotherapy, there are still side effects. So that for other treatments with natural ingredients, which have potential as anticancer and scientifically proven is the Tespong plant in Korea because is effective in inhibiting growth cancer cells. In Indonesia, tespong plants thrive and are widely used by the community as lalaban. Although the plants studied are the same type, differences can affect growing places in the plant compound. This research to determine the characteristics standard parameter, phytochemical screening potential as an anticancer with BSLT method and LC_{50} value the ethanol extract the herb tespong. Characteristics standard parameters meet requirements except for requirement total ash content more than 2%, there is a phytochemical screening phenolic, flavonoids, anthraquinone, tannin katekat, monoterpenes and sesquiterpenes and steroids and LC_{50} values ethanol extracts the herb tespong 91.20 ppm categorized as toxic for LC_{50} values between 10 to 100 ppm a potential anticancer.

Keywords: tespong herb, BSLT method, anticancer

ABSTRAK. Penyakit kanker merupakan penyebab utama kematian di seluruh dunia. Penyembuhan kanker seperti operasi, radioterapi dan kemoterapi masih terdapat efek samping. Sehingga dicari pengobatan lain dengan bahan alam, yang memiliki potensi sebagai antikanker dan terbukti secara ilmiah adalah tanaman tespong di Korea karena efektif dalam menghambat pertumbuhan sel kanker. Di Indonesia, tanaman tespong tumbuh subur dan banyak dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai lalaban. Meskipun tanaman yang diteliti merupakan jenis yang sama, adanya perbedaan tempat tumbuh dapat mempengaruhi kandungan senyawa dalam tanaman. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik parameter standar, penapisan fitokimia yang berpotensi sebagai antikanker dengan metode BSLT dan mengetahui nilai LC_{50} dari ekstrak etanol herba tespong. Karakteristik parameter standar memenuhi persyaratan kecuali pada kadar abu total melebihi syarat lebih dari 2%, penapisan fitokimia terdapat fenolat, flavonoid, antrakuinon, tannin katekat, monoterpen dan seskuiterpen serta steroid dan nilai LC_{50} ekstrak etanol herba tespong didapatkan 91,20 ppm termasuk kategori toksik karena memiliki nilai LC_{50} antara 10 sampai 100 ppm yang berpotensi sebagai antikanker.

Kata kunci: herba tespong, metode BSLT, antikanker

1 PENDAHULUAN

Penyakit kanker merupakan penyebab kematian utama di seluruh dunia (Kemenkes R.I, 2015:1). Usaha penyembuhan kanker yang dilakukan seperti operasi, radioterapi dan kemoterapi pada umumnya masih mempunyai efek samping yang beragam. Banyak yang beralih menggunakan obat tradisional berupa bahan alam. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mencari pengobatan lain sebagai obat antikanker (Astuti, 2013:1).

Salah satu bahan alam yang memiliki potensi sebagai antikanker dan sudah terbukti secara ilmiah adalah tanaman tespong (*Oenanthe javanica* (Blume) DC). Penelitian terhadap tanaman tespong (*Oenanthe javanica* (Blume) DC.) telah dilakukan oleh Zhang *et al* pada tahun 2013 di Korea. Pada penelitian tersebut diujikan pada sel kanker dan menunjukkan hasil bahwa asam fenolat memiliki efek penghambatan terhadap proliferasi sel kanker hati, yang dapat mengurangi pertumbuhan sel pada fase S (Zhang *et al* (2013) dalam Chuan-li *et al* (2013:12).

Sedangkan pada penelitian yang telah dilakukan oleh Suho *et al* pada tahun 2016 di Korea, telah diujikan pada sel kanker kolorektal dan menunjukkan hasil bahwa senyawa flavonoid yang diisolasi dari tesong, memiliki efek antimetastatik yang menghambat HIF-1 dan berkontribusi terhadap penghambatan migrasi dan invasi sel kanker *in vitro*.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan tersebut, tanaman tespong yang tumbuh di daerah Korea terbukti efektif dalam menghambat pertumbuhan sel kanker. Meskipun tanaman yang diteliti merupakan jenis yang sama, namun, adanya perbedaan tempat tumbuh dapat mempengaruhi kandungan senyawa yang terdapat dalam tanaman. Di Indonesia, penelitian mengenai potensi tanaman tespong yang tumbuh di Indonesia sebagai agen antikanker belum dilakukan. Oleh karena itu, pada penelitian ini diteliti bagaimanakah potensi tanaman tespong sebagai kandidat agen antikanker melalui penelitian awal studi antikanker dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui karakteristik tanaman tespong yang tumbuh di Indonesia dari parameter standar bahan uji dan penapisan fitokimia yang memiliki potensi sebagai antikanker dengan metode BSLT dan untuk mengetahui nilai LC₅₀ ekstrak etanol tanaman tespong. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat Indonesia sehingga dapat dilakukan penelitian untuk pengembangan pengobatan antikanker dan dapat memanfaatkan obat herbal sebagai pengobatan antikanker.

2 LANDASAN TEORI

Kanker adalah penyakit yang ditandai dengan mekanisme tidak normal dan tidak terkendali yang mengatur kelangsungan hidup, proliferasi dan diferensial sel. Sel yang telah mengalami transformasi neoplastik biasanya mengekspresikan antigen permukaan sel yang dapat menunjukkan kelainan kromosom secara kualitatif dan kuantitatif (Katzung *et al*, 2009:907).

Klasifikasi tanaman tespong menurut Cronquist, A. (Xiii-Xviii) adalah sebagai berikut :

Divisi : Magnoliophyta
 Kelas : Magnoliopsida (Dicots)
 Anak Kelas : Rosidae
 Bangsa : Apiales
 Suku : Apiaceae

Marga : *Oenanthe* L.
 Jenis : *Oenanthe javanica* (Blume) DC.
 Sinonim : *Sium javanicum* Blume.,
Dasyloma javanica (Blume) Miq.,
Falcaria javanica DC., *Oenanthe laciniata* Zoll., *Oenanthe stolonifera* Wall., dan *Sium graecum* Lour (Heyne, 1987:1550).
 Nama Daerah : Bacarongi (Batam); piopo (India); bambung, tespong (Sunda); seladren, pampung, pampung alas (Jawa); batjarongi, peeopo (Malaysia) (Heyne, 1987:1550).

Penilaian fitokimia telah mengungkapkan bahwa *Oenanthe javanica* mengandung flavonoid dan glikosida flavonoid, kumarin, konstituen fenolik dan minyak volatil (Chuan-li *et al*, 2019:2-3). Berbagai aktivitas biologis *Oenanthe javanica* telah dilaporkan, termasuk hepatoprotektif, antiinflamasi, peningkatan kekebalan, eliminasi etanol atau detoksifikasi alkohol, antioksidan, antivirus, aktivitas neuroprotektif, antikanker, antikoagulan atau antitrombotik, antikelelahan, efek hipoglikemik, perlindungan kardiovaskular, analgesik dan efek insektisida (Chuan-li *et al*, 2019:2-33-13). Di Indonesia tanaman ini digunakan oleh masyarakat sebagai sayuran dan lalaban. Selain banyak digunakan sebagai lalap, *Oenanthe javanica* sering digunakan sebagai anti nyeri pinggang, demam, flu, memar, digigit ular dan kalajengking (Rostinawati, 2010:4).

Menurut Meyer *et al* (1982:31), uji bioaktivitas menggunakan larva udang *Artemia franciscana* Kellogg. dikenal dengan istilah *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). BSLT merupakan salah satu metode penelusuran awal untuk menentukan bioaktivitas suatu senyawa ataupun ekstrak terhadap larva udang. Metode ini berkembang sebagai salah satu metode bioassay dalam mengisolasi senyawa aktif yang terdapat dalam suatu ekstrak tanaman. Lebih jauh lagi bioassay ini sering dikaitkan sebagai metode identifikasi senyawa antikanker berasal dari tumbuhan. Uji bioaktivitas dengan menggunakan larva udang memiliki spektrum farmakologi yang luas.

Menurut Mudjiman (1989:15) *Artemia franciscana* Kellogg. diklasifikasikan sebagai berikut :

Filum : Arthropoda
 Kelas : Crustacea

Subkelas	: Branchipoda
Ordo	: Anostraca
Famili	: Artemiidae
Genus	: <i>Artemia</i>
Spesies	: <i>Artemia franciscana</i> Kellogg.

3 METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang bertujuan untuk melihat potensi ekstrak etanol herba tespong (*Oenanthe javanica* (Blume) DC.) sebagai antikanker menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), dengan larva udang (*Artemia franciscana* Kellogg.) sebagai hewan uji. Tahapan penelitian meliputi pengumpulan tanaman uji, pembuatan simplisia, karakterisasi tanaman uji, ekstraksi, penapisan fitokimia, pengujian potensi antikaner menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Pada larva udang dilakukan pengujian yang terdiri dari kelompok kontrol dan kelompok uji pada masing-masing ekstrak. Uji aktivitas sitotoksik dengan metode BSLT yang dilakukan pada konsentrasi 10 ppm sampai dengan 1000 ppm, dengan parameter yang diamati yaitu persen kematian larva udang pada masing-masing pelarut. Kemudian aktivitas sitotoksik suatu ekstrak dilihat dari nilai LC_{50} dengan menggunakan analisis probit.

4 HASIL DAN PEMBAHASAN

Bahan penelitian yang digunakan yaitu herba tespong (*Oenanthe javanica* (Blume) DC.) yang diperoleh dari Kebun Percobaan Manoko, Lembang dilakukan determinasi di Hebarium Bandungense Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung. Hasil determinasi menunjukkan bahwa bahan adalah Herba Tespong (*Oenanthe javanica* (Blume) DC.).

Herba tespong diolah menjadi simplisia dari bahan segar seberat 27500 g yang dikeringkan dibawah sinar matahari selama 5 hari pada jam 08.00-11.00 (Hapsari, 2016:4) menghasilkan 1898 g berupa simplisia kering. Kemudian simplisia kering sebanyak 600 g diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Hasil ekstraksi diperoleh ekstrak kental sebanyak 125,46 g dengan rendemen sebesar 20,91%.

Penetapan parameter standar bertujuan untuk mengetahui karakteristik bahan simplisia yang diteliti memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan serta mengetahui mutu dan kualitas simplisia yang digunakan. Hasil penetapan parameter standar herba tespong dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Hasil Penetapan Parameter Standar Herba Tespong (*Oenanthe javanica* (Blume) DC.)

Penetapan Parameter	Rata-rata $\pm$ SD
Kadar Sari Larut dalam Air (%b/b)	32,14 $\pm$ 0,59
Kadar Sari Larut dalam Etanol (%b/b)	15,62 $\pm$ 0,47
Susut Pengerangan (%b/b)	7,30 $\pm$ 0,28
Kadar Air (%v/b)	6,74 $\pm$ 0,36
Kadar Abu Total (%b/b)	16,62 $\pm$ 0,25
Kadar Abu tidak Larut Asam (%b/b)	1,14 $\pm$ 0,06

Penapisan fitokimia merupakan tahap awal sebagai analisis kualitatif untuk melihat kandungan metabolit sekunder dalam tumbuhan atau bagian tumbuhan (akar, batang, daun, bunga, buah dan biji). Hasil penapisan fitokimia dapat dilihat pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Hasil Penapisan Fitokimia Simplisia dan Ekstrak Herba Tespong (*Oenanthe javanica* (Blume) DC.)

Penapisan Fitokimia	Simplisia	Ekstrak
Alkaloid	-	-
Polifenolat (Fenolat)	+	+
Flavonoid	+	+
Saponin	-	-
Antrakuinon	+	+
Tannin Katekat	+	+
Monoterpen & Seskuiterpen	+	+
Steroid & Triterpenoid (Steroid)	+	+

Keterangan : (+) = Terdeteksi (-) = Tidak Terdeteksi

Uji aktivitas sitotoksik merupakan suatu senyawa yang dapat menghambat dan menghentikan pertumbuhan sel kanker (Siregar & Amalia, 2004: 336). Hasil uji aktivitas sitotoksik dapat dilihat pada **Tabel 3**. Setelah didapatkan persen kematian larva kemudian dihitung nilai LC_{50} dengan metode probit. Kemudian diperoleh persamaan garis lurus $y = 2,37x + 0,36$, dapat dilihat pada **Gambar 1**.

Tabel 3. Hasil Uji Aktivitas Sitotoksik pada Larva Udang (*Artemia franciscana* Kellogg.)

Kosentrasi (ppm)	Jumlah Larva		Akumulasi Larva		% Kematian	Log	Mortalitas
	Mati	Hidup	Mati	Hidup		Kosentrasi	Probit
0	0	30	0	0	0	0	0
10	4	26	4	97	3,96	1	3,24
30	5	25	9	67	11,84	1,48	3,82
60	12	18	21	42	33,33	1,78	4,57
100	14	16	35	24	59,32	2	5,24
300	26	4	61	8	88,40	2,48	6,20
600	27	3	88	4	95,65	2,78	6,70
1000	29	1	117	1	99,25	3	7,43

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

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 1,96. Nilai LC_{50} diperoleh dari antilog nilai log konsentrasi 1,96 yaitu sebesar 91,20 ppm. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol herba tespong memiliki aktivitas sitotoksik karena dapat menyebabkan kematian terhadap *Artemia franciscana* Kellogg. dan sifat toksiknya termasuk dalam kategori toksik ditandai dengan nilai $10 \text{ ppm} < LC_{50} < 100 \text{ ppm}$ (Soliha, 2019:568).

Senyawa yang ditargetkan sebagai antikanker pada ekstrak metanol di Korea yaitu asam fenolat dan flavonoid sedangkan pada ekstrak etanol herba tespong di Indonesia terdapat juga senyawa fenolat dan flavonoid sehingga tespong di Korea dan tespong di Indonesia memiliki aktivitas yang sama. Senyawa fenolat

memiliki efek penghambatan terhadap proliferasi sel kanker hati, yang dapat mengurangi pertumbuhan sel pada fase S (Zhang *et al* (2013) dalam Chuan-li *et al* (2013:12).

Flavonoid memiliki efek antimetastatik yang menghambat HIF-1 dan berkontribusi terhadap penghambatan migrasi dan invasi sel kanker in vitro, menunjukkan bahwa isorhamnetin (isolat dari flavonoid) dapat digunakan sebagai agen antikanker. HIF-1 (hypoxia inducible factor-1) merupakan protein paling penting yang mengatur pertumbuhan dan metastasis sel kanker. HIF-1 bertindak sebagai faktor transkripsi yang memegang peranan penting dalam menjaga keseimbangan oksigen (Suho *et al*, 2016:1832).

Antrakuinon mampu menghambat proliferasi sel, induksi apoptosis dan pencegahan metastasis. Selain itu juga dapat mempotensiasi antiproliferasi berbagai agen kemoterapi dan efektif dapat

menghambat penyerapan glukosa dalam sel tumor sehingga menyebabkan perubahan fungsi terkait membran dan menyebabkan kematian sel (Huang *et al*, 2007:609).

Tanin berperan sebagai penghambat proliferasi sel kanker yang salah satunya dengan menghambat aktivitas protein kinase sehingga menghambat jalur transduksi sinyal dari membran ke inti sel dan berfungsi mengurangi resistensi tumor terhadap agen kanker (Firdaus, 2016:6).

Steroid dapat digunakan sebagai agen antikanker karena memiliki enzim penghambat diantaranya aromatasase dan sulfatasase inhibitor untuk kanker payudara. Mekanisme kerja senyawa ini adalah merusak permeabilitas membran mitokondria pada sel atau menyebabkan sel mengalami nekrosis dan kematian (Sirait dkk, 2019:54).

5 KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol herba tespong Indonesia (*Oenanthe javanica* (Blume) DC) dilihat dari karakteristik parameter standar memenuhi persyaratan kecuali pada kadar abu total yang melebihi syarat lebih dari 2% dan dilihat dari penapisan fitokimia senyawa metabolit sekunder yang terkandung yaitu fenolat, flavonoid, antrakuinon, tannin katekat, monoterpen dan seskuiterpen serta steroid dapat berpotensi sebagai antikanker sehingga ekstrak etanol herba tespong Indonesia memiliki aktivitas sitotoksik karena dapat menyebabkan kematian terhadap larva udang dengan nilai LC₅₀ yaitu 91,20 ppm yang termasuk ke dalam kategori toksik terhadap *Artemia franciscana* Kellog.

SARAN

Dari hasil penelitian bahwa ekstrak etanol herba tespong (*Oenanthe javanica* (Blume) DC.) dapat berpotensi sebagai antikanker sehingga diharapkan penelitian lanjutan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa sitotoksik dan aktivitasnya terhadap sel kanker dengan metode yang spesifik terhadap sel kanker yang terdapat pada tespong Indonesia sehingga dapat dijadikan alternatif pengobatan kanker.

DAFTAR PUSTAKA

- Astuti, R. D. (2013). Uji Antiproliferasi Ekstrak Etil Asetat Daun Benalu Kepel (*Dendrophthoe curvata* (Blume) Miq.) Terhadap Cell Line Kanker Payudara T47d [Skripsi], Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Sunan Kaijaga, Yogyakarta. Hal 1.
- Chuan-Li Lu & Li Xiu-fen. (2019). "A Riview of *Oenanthe javanica* (Blume) DC. as Traditional Medicinal Plant and Its Therapeutic Potential", *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol.2019, pp. 1-17.
- Cronquist, Arthur. (1981). *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*. Columbia University Press. New York, pp. Xiii-Xviii.
- Firdaus I. N. (2016). *Identifikasi Tanin pada Fraksi Air Tanaman Rumput Bambu (*Lophatherum gracile* B.) dan Uji Aktivitas Antikanker Isolat Tanin terhadap Sel Kanker Payudara T47D [SKRIPSI]*, Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Hal.6.
- Hapsari, Atikah. (2016). *Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol, Fraksi Polar, Semi Polar dan Non Polar Herba Kitolod (*Isotoma longiflora* (L.) C. Presl.) terhadap Sel MCF-7 [PUBLIKASI ILMIAH]*, Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta. Hal.4.
- Heyne, K. (1987). *Tumbuhan Berguna Indonesia*, Cetakan Ke-1, jilid 3. Yayasan Saranawana Jaya, Jakarta, Hal. 1550.
- Huang Qing., Guodong Lu., Han-Ming Shen., Maxey C. M. Chung., and Choon Nam Ong. (2007). "Anti-cancer Properties of Anthraquinones from Rhubarb", *Medicinal Research Reviews*, Vol.27. No.5. pp.609.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Situasi Penyakit Kanker. (2015). (<https://www.kemkes.go.id/resources/download/pusdatin/infodatin/infodatin-kanker.pdf>) diunduh pada 4 Februari 2015. Hal.1.
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobson, L. B., Nichols, D. E., dan

- McLaughlin, J. L. (1982). Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica*, vol.45. pp.31-34.
- Mudjiman, A. (1989). *Udang Renik Air Asin (Artemia salina)*, Penerbit: Bhratara. Jakarta. Hal. 11-35.
- Sirait Putriana Sari., Iriani Setyaningsih dan Kustiariyah Tarman. (2019). "Aktivitas Antikanker Ekstrak *Spirulina* yang Dikultur pada Media Walne dan Media Organik", *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. Vol.22. No.1. Hal.54.
- Siregar, C. J. P., dan Amalia, L. (2004) *Farmasi Rumah Sakit: Teori dan Penerapan*, Buku Kedokteran EGC, Jakarta. Hal. 336.
- Soliha, R. R. (2019). Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etnaol Kulit Buah Petai (*Parkia Speciosa* Hassk.) dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*), ISSN: 2460-6472. Hal. 566-573.
- Suho Seo., Seo Kyuhwa., Sung Hwan Ki., and Sang Mi Shin. (2016) "Isorhamnetin inhibits reactive oxygen species-dependent hypoxia inducible factor (HIF)-1 accumulation," *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, vol. 39, no. 11, pp. 1830–1838.