

**Uji Sitotoksik Ekstrak dan Fraksi Buah Cabai Jawa (*Piper retrofractum* Vahl) terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)**

Cytotoxic Testing of The Extract and Fraction of Javanese Long Pepper (*Piper retrofractum* Vahl) on Shrimp Larva *Artemia salina* Leach Using Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) Method

<sup>1</sup>Marsha Budi Clarasati, <sup>2</sup>Sri Peni Fitrianingsih, <sup>3</sup>Suwendar

<sup>1,2,3</sup>Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, Jl. Tamansari No.1 Bandung 40116

email: <sup>1</sup>marsha.clarasati@yahoo.com, <sup>2</sup>spftrianingsih@gmail.com, <sup>3</sup>suwendarronnie@yahoo.com

**Abstract.** The research had been conducted to find out the characteristics as well as secondary metabolite contents of Javanese long pepper (*Piper retrofractum* Vahl) and to find out the cytotoxic effect as well as LC<sub>50</sub> value of the ethanolic extract and fraction of Javanese long pepper on shrimp larva *Artemia salina* Leach using *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). BSLT test on ethanolic extract, n-hexane fraction, ethyl acetate fraction, and water fraction was conducted with test concentration series of 0; 5; 10; 25; 50; 75; 100; 125; 150; 175; 200; 250; and 300 ppm. The medicinal plant specific and non-specific parameter tests showed the results of ethanol insoluble extract content of 17.22%, water soluble extract content of 11.72%, water content of 8.940%, total ash content of 6.501%, and acid-insoluble ash content of 1.556%. In the phytochemical screening, alkaloid, flavonoid, polyphenol, monoterpene, and sesquiterpene were detected. From the cytotoxic test, it was found that the LC<sub>50</sub> in the ethanolic extract was 44.05 ppm, n-hexane fraction was 70.79 ppm, ethyl acetate fraction was 79.43, and water fraction was 112.2 ppm. Based on the data, the extract and fraction of Javanese long pepper cause cytotoxic on *Artemia salina* for having LC<sub>50</sub> value lower than 1000 ppm.

**Keywords:** Javanese long pepper, *Piper retrofractum* Vahl, cytotoxic, *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

**Abstrak.** Telah dilakukan penelitian untuk mengetahui karakteristik serta kandungan metabolit sekunder dari buah cabai jawa (*Piper retrofractum* Vahl) dan mengetahui efek sitotoksik serta nilai LC<sub>50</sub> dari ekstrak etanol dan fraksi cabai jawa terhadap larva udang *Artemia salina* Leach dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Pengujian BSLT pada ekstrak etanol dan fraksi n-heksan, etil asetat dan air dilakukan dengan seri konsentrasi uji 0; 5; 10; 25; 50; 75; 100; 125; 150; 175; 200; 250 dan 300 ppm. Pengujian parameter spesifik dan non spesifik simplisia menunjukkan kadar sari larut etanol 17,22 %, dan kadar sari larut air 11,72%, kadar air 8,940 %, kadar abu total 6,501%, kadar abu tidak larut asam 1,556 %. Pada penapisan fitokimia yang terdeteksi adalah alkaloid, flavonoid, polifenol, monoterpen dan sesquiterpen. Pada pengujian sitotoksik diperoleh LC<sub>50</sub> pada ekstrak etanol adalah 44,05 ppm, fraksi n-heksan 70,79 ppm, fraksi etil asetat 79,43 ppm dan fraksi air 112,2 ppm. Berdasarkan data tersebut ekstrak dan fraksi dari buah cabai jawa menyebabkan sitotoksik terhadap *Artemia salina* karena memiliki nilai LC<sub>50</sub> lebih rendah dari 1000 ppm.

**Kata Kunci:** Buah cabai jawa, *Piper retrofractum* Vahl, sitotoksik, *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

## A. Pendahuluan

Kanker merupakan penyebab kematian tertinggi ke dua didunia. Menurut WHO (2011) bahwa jumlah kasus baru kanker di dunia mencapai hampir 12,7 juta dan akan meningkat mencapai 21,4 juta pada tahun 2030. Dari 12,7 juta kasus baru, 5,6 juta terdapat pada negara maju dan 7,1 juta pada negara berkembang. Berbagai usaha telah dilakukan untuk menanggulangi berbagai penyakit kanker seperti pembedahan, radioterapi, dan kemoterapi sitostatik yang dapat menimbulkan efek samping yang berat. Maka diperlukan cara alternatif yang aman untuk pengobatan penyakit kanker dengan menggunakan bahan alami.

Salah satu tumbuhan yang banyak dipakai sebagai obat tradisional adalah cabai jawa (*Piper retrofractum* Vahl) dari suku piperaceae. Menurut penelitian Bidarisugma (2011), cabai jawa dapat dijadikan sebagai pengobatan kanker karena mengandung senyawa kimia piperin, piplartin yang dapat menghambat laju proliferasi sel melalui peningkatan sel imun (immunomodulator).

Berdasarkan latar belakang di atas dapat dirumuskan beberapa permasalahan yaitu, bagaimana karakteristik dan kandungan metabolit sekunder cabai jawa (*Piper retrofractum* Vahl), apakah ekstrak etanol dan fraksi cabai jawa mempunyai potensi sitotoksik yang dilihat dari nilai  $LC_{50}$  terhadap larva udang *Artemia salina* Leach. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik, kandungan metabolit sekunder dan mengetahui efek sitotoksik yang dilihat dari nilai  $LC_{50}$  ekstrak etanol dan fraksi cabai jawa terhadap larva udang *Artemia salina* Leach. Manfaat dari penelitian ini adalah dapat memberikan informasi kepada masyarakat mengenai pengaruh penggunaan buah cabai jawa sebagai langkah awal menentukan efek sitotoksik sehingga dapat dilakukan penelitian untuk pengembangan pengobatan antikanker dan diharapkan dapat memanfaatkan obat herbal sebagai pengobatan antikanker.

## B. Landasan Teori

Kanker merupakan suatu penyakit yang disebabkan oleh pertumbuhan sel-sel jaringan tubuh yang tidak normal. Sel-sel kanker akan berkembang dengan cepat, tidak terkendali, dan akan terus membelah diri, selanjutnya masuk ke jaringan sekitarnya (invasive) dan terus menyebar melalui jaringan ikat, darah, dan menyerang organ-organ penting serta syaraf tulang belakang (King, 2000).

Senyawa kimia yang terkandung dalam buah cabai jawa antara lain Senyawa kimia yang terkandung dalam cabai jawa adalah piperine, piperidine, piplartine, piperlonguminae, chaviciae,  $\beta$ -sitosterol, palmitic acid, minyak atsiri, sesamin, tetrahydropiperic acid, 1-undecylenyl-3,4-methylenedioxybenzene, polifenol. Sebagai obat tradisional, buah cabai jawa memiliki efek farmakologi antara lain aktivitas antidiabetes (Coman *et al.*, 2012), antikanker (Bidarisugma, 2011), menurunkan kolesterol (Kim *et al.*, 2011), dan radang mulut (Evizal, 2013).

*Brine Shrimp Lethality Test* adalah salah satu metode awal yang sering dipakai untuk mengamati toksisitas senyawa dan merupakan metode penapisan untuk aktivitas antikanker senyawa kimia dalam ekstrak tanaman. Metode ini ditunjukkan terhadap tingkat mortalitas larva udang *Artemia salina* L, yang disebabkan oleh ekstrak uji. Hasil yang diperoleh dihitung sebagai nilai  $LC_{50}$  ekstrak uji yang dapat menyebabkan kematian larva udang sejumlah 50% setelah masa inkubasi 24 jam (Colegate dan Russel, 1993).

## C. Hasil Penelitian dan Pembahasan

### Penetapan Karakteristik Pendahuluan Simplisia

Tahapan awal pada penelitian ini adalah pembuatan simplisia cabai jawa yang telah dikumpulkan disortasi basah, pencucian dan perajangan. Kemudian dilanjutkan dengan proses pengeringan bahan uji pada suhu 40°C.

Penetapan karakteristik pendahuluan simplisia dilakukan dengan dua pengujian yaitu penetapan parameter standar spesifik dan non spesifik. Pada penetapan parameter spesifik lebih terkait langsung dengan kandungan senyawa dalam simplisia, sedangkan parameter non spesifik terkait dengan faktor lingkungan dalam pembuatan simplisia.

Penetapan parameter spesifik meliputi penetapan kadar sari larut air dan kadar sari larut etanol. Penetapan parameter non spesifik ini meliputi penetapan kadar air, kadar abu total dan kadar abu tidak larut asam. Hasil Penetapan karakteristik pendahuluan simplisia ditunjukkan pada **Tabel 1**.

**Tabel 1.** Penetapan karakteristik pendahuluan simplisia

No	Parameter	Simplisia	Farmakope Herbal Indonesia 2009
1	Kadar sari larut etanol	17,22 %	Tidak kurang dari 8,3 %
2	Kadar sari larut air	11,72%	Tidak kurang dari 5,2 %
3	Kadar air	8,940 %	Tidak lebih dari 10 %
4	Kadar abu total	6,501%	Tidak lebih dari 6,7 %
5	Kadar abu tidak larut asam	1,556 %	Tidak lebih dari 1,9 %

Hasil Penetapan karakteristik pendahuluan simplisia yang diuji memenuhi persyaratan Farmakope Herbal Indonesia (2009:23-24).

### Ekstraksi dan Fraksinasi

Metode ekstraksi yang digunakan yaitu ekstraksi maserasi dengan pelarut etanol 95%. Pemilihan maserasi ini bertujuan untuk melindungi kandungan senyawa zat kimia yang belum diketahui kemungkinannya bersifat tidak tahan panas. Maserat yang didapat kemudian di filtrasi untuk memisahkan filtrat dan ampas. Filtrat yang didapat dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator* dengan suhu 40°C. Ekstrak kental yang diperoleh, dapat dihitung rendemen ekstrak etanol 13,77% dari 1kg bahan uji. Selanjutnya dilakukan proses fraksinasi dengan metode ekstraksi cair-cair (ECC) yaitu proses pemisahan senyawa-senyawa berdasarkan tingkat kepolaran yang berbeda yaitu pelarut non polar n-heksan, semi polar etil asetat dan air yang bersifat polar.

### Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia merupakan tahap awal untuk mengetahui secara kualitatif kandungan kimia yang terdapat dalam buah cabai jawa, baik dalam bentuk simplisia maupun bentuk ekstrak. Penapisan fitokimia dilakukan dengan mendeteksi adanya kandungan kimia alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, kuinon, steroid dan triterpenoid, polifenol, monoterpen dan sesquiterpen. Hasil penapisan fitokimia buah cabai jawa bisa dilihat pada **Tabel 2**.

**Tabel 2.** Hasil penapisan fitokimia

Golongan Senyawa	Identifikasi	
	Simplisia	Ekstrak
Alkaloid	✓	✓
Flavonoid	✓	✓
Saponin	-	-
Tanin	-	-
Kuinon	-	-
Steroid dan Triterpen	-	-
Polifenol	✓	✓
Monoterpen dan Sesquiterpen	✓	✓

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

### Pengujian Sitotoksik dengan Metode BSLT

1. Penyiapan penetasan telur udang *Artemia salina* Leach  
 Penetasan dilakukan di dalam air laut buatan (15 gram garam tiap 1 L) dengan dilengkapi aerator untuk memperoleh oksigen yang cukup melalui proses sirkulasi air. Penggunaan air laut buatan ini untuk mengkondisikan bahwa air laut yang digunakan tidak terkontaminasi. Air laut buatan dibuat dengan melarutkan.  
 Larva *A. salina* yang baik digunakan untuk uji BSLT adalah yang berumur 48 jam yang berubah menjadi *nauplius* yang telah mencapai instar II. Pada saat mencapai instar II *nauplius* dapat mengambil makanannya berupa ragi *Saccharomices cereviciae*. Jika lebih dari 48 jam dikhawatirkan kematian *Artemia salina* bukan disebabkan toksisitas ekstrak melainkan oleh terbatasnya persediaan makanan (Meyer et al., 1982).
2. Uji sitotoksik terhadap larva udang *Artemia salina* Leach  
 Pada pengujian ini digunakan beberapa variasi konsentrasi yang berbeda yaitu 5; 10; 25; 50; 75; 100; 125; 150; 175; 200; 250 dan 300 ppm untuk ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air. Untuk kontrol yang digunakan hanya air laut tanpa penambahan ekstrak.  
*Artemia salina* Leach yang digunakan setiap konsentrasi 10 ekor ditambahkan 1 tetes ragi (3mg dalam 5 ml air laut) kemudian diletakan dibawah penerangan selama 24 jam jumlah larva yang mati diamati. Pada hasil pengujian BSLT ekstrak etanol persentase mortalitas probit yang didapat 3,8877- 6,4758, fraksi n-heksan mortalitas probitnya 3,4452-6,8084, fraksi etil asetat 3,1616 - 6,8084 dan fraksi air 3,1192 - 5,7200. Untuk memperoleh nilai LC<sub>50</sub> dibuat grafik antara mortalitas probit dengan log konsentrasi.  
 LC<sub>50</sub> yang diperoleh pada ekstrak etanol 95% adalah 44,05 ppm, fraksi n-heksan 70,79 ppm, fraksi etil asetat 79,43 ppm dan fraksi air 112,2 ppm. Berdasarkan data tersebut ekstrak dan fraksi dari buah cabai jawa menyebabkan sitotoksik terhadap *Artemia salina* karena memiliki nilai LC<sub>50</sub> lebih rendah dari 1000 ppm.

#### D. Kesimpulan

1. Berdasarkan hasil penelitian penetapan karakteristik pendahuluan simplisia buah cabai jawa (*Piper retrofractum* Vahl) memiliki kadar air 8,940 %, kadar abu total 6,501%, kadar abu tidak larut asam 1,556 %, kadar sari larut etanol 17,22 %, dan kadar sari larut air 11,72%. Pada penapisan fitokimia buah cabai jawa yang terdeteksi adalah alkaloid, flavonoid, polifenol, monoterpen dan sesquiterpen.
2. Pada pengujian sitotoksik ekstrak dan fraksi buah cabai jawa (*Piper retrofractum* Vahl) terhadap larva udang *Artemia salina* Leach dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) diperoleh LC<sub>50</sub> pada ekstrak etanol 95% adalah 44,05 ppm, fraksi n-heksan 70,79 ppm, fraksi etil asetat 79,43 ppm dan fraksi air 112,2 ppm. Berdasarkan data tersebut ekstrak dan fraksi dari buah cabai jawa menyebabkan sitotoksik terhadap *Artemia salina* karena memiliki nilai LC<sub>50</sub> lebih rendah dari 1000 ppm.

#### E. Saran

Sebaiknya penelitian ini dikembangkan pengujiannya ke sel kanker sehingga buah cabai jawa (*Piper retrofractum* Vahl) dapat dijadikan obat kanker.

#### Daftar Pustaka

- Bidarisugma, B. (2011). Piperin and Piplartin as Natural Oral Anticancer Drug. *Majalah Kedokteran Gigi*, Universitas Airlangga Surabaya, vol.44. no.4
- Colegate, S.M., dan J.M Russel. (1993). *Biocitive Natural Product, Detection, Isolation, and Structural Determination*. Boca Raton USA, CRC Press.
- Coman, C., Rugina, O.D. and Socaciu, C. (2012). Plants And Natural Compounds With Antidiabetic Action. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 40(1): 314-325.
- Departemen Kesehatan RI. (2009). *Farmakope Herbal Indonesia*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Evizal, R. (2013). *Tanaman Rempah dan Fitofarmaka*. Fakultas Pertanian Unila. Bandar Lampung.
- Farnsworth NR. (1996). *Biological and Phytochemical Screening Of Plants. Journal Of Pharmaceutical Sciences, Volume 55 Number 3*. American Pharmaceutical Association. America
- Ganiswara, S.G. (1995). *Pharmacology and Therapy*. 4th ed. Faculty of Medicine of Universitas Indonesia, jakarta.
- Harborne, B.J. (1897) *Metode Fitokimia. Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Penerbit ITB.
- Kim, K.J.,M.S. Lee, K. Jo, J.K Hwang. (2011). Piperidine Alkaloids From *Piper retrofractum* Vahl. Protect Againts High Fat Diet Induced Obesity By Regulating Lipid Metabolism And Activating AMP Activated Protein Kinase. *Biochem.Biophys.Res.Commun.* 411(1):219-225.
- King, S.B. (2000). *Cancer Biology*. Pearson Education: London.
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putman, J. E., Jacobsen, L. B., Nicols, D. E., and McLaughlin, J. L. (1982). *Brine Shrimp : A Comvenient general Bioassay For Active Plant Constituents*. Plant Medica.