

Uji Sitotoksik Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Daun Pepaya (*Carica papaya* .L) Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Cytotoxic Test of Papaya Leaf (*Carica papaya* .L) Extracts and Fractions in *Artemia salina* Leach Larvae with Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) Method

¹Annisa Devitasari, ²Sri Peni Fitrianiingsih, ³Suwendar

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

email: annisadevita93@gmail.com, spfitrianiingsih@gmail.com, suwendarronie@yahoo.com

Abstract. Research cytotoxic test extracts and fractions of leaves of papaya (*Carica papaya* .L) against *Artemia salina* with a method of brine shrimp lethality test (BSLT) has been performed. Papaya leaves were extracted with 95% ethanol and fractionated extracts obtained by solvent n-hexane, ethyl acetate, and water. Testing cytotoxic extracts and fractions obtained is done with a concentration of 25, 50, 100, 150, 200, and 300 µg / mL. Cytotoxic test extracts and fractions using BSLT with probit analysis. LC₅₀ value of the ethanol extract of 66.61 µg / mL, n-hexane fraction of 92.93 µg / mL, ethyl acetate fraction 97,25µg / mL, and the fraction of water 134.02 µg / mL. From the test results to larva *Artemia salina* of extracts and fractions of papaya leaves can be said to provide a cytotoxic effect because it has LC₅₀ values of less than 1000 mg / mL (ppm).

Keywords: Cytotoxic test, papaya leaf, brine shrimp lethality test.

Abstrak. Penelitian uji sitotoksik ekstrak dan fraksi-fraksi daun pepaya (*Carica papaya* .L) terhadap *Artemia salina* dengan metode *brine shrimp lethality test* (BSLT) telah dilakukan. Daun pepaya diekstraksi dengan pelarut etanol 95% dan ekstrak yang diperoleh difraksinasi dengan pelarut n-heksan, etil asetat, dan air. Pengujian sitotoksik ekstrak dan fraksi yang diperoleh dilakukan dengan konsentrasi 25, 50, 100, 150, 200, dan 300 µg/mL. Uji sitotoksik ekstrak dan fraksi-fraksi menggunakan metode BSLT dengan analisis probit. Nilai LC₅₀ ekstrak etanol 66,61 µg/mL, fraksi N-heksan 92,93 µg/mL, fraksi etil asetat 97,25µg/mL, dan fraksi air 134,02 µg/mL. Dari hasil uji terhadap larva *Artemia salina* dari ekstrak dan fraksi-fraksi daun pepaya dapat dikatakan memberikan efek sitotoksik karena mempunyai nilai LC₅₀ kurang dari 1000 µg/mL (ppm).

Kata Kunci: Uji sitotoksik, daun pepaya, *brine shrimp lethality test*.

A. Pendahuluan

Kanker merupakan satu penyebab kematian utama di seluruh dunia. Sekitar 8,2 juta kematian pada tahun 2012 disebabkan oleh kanker (Kemenkes, 2015). Hanya beberapa yang dapat diobati, terutama saat masih stadium awal. Jenis kanker, stadium kanker, keadaan umum penderita, dan usaha penderita untuk sembuh sangat menentukan keberhasilan pengobatan.

Penanganan kanker yang digunakan ada beberapa metode yaitu kemoterapi, radiasi, dan operasi. Tujuan dari metode-metode tersebut adalah mematikan sel kanker dan atau mengangkat jaringan kanker. Namun metode-metode tersebut memberikan efek samping terhadap sel normal disekitarnya. Penanganan dengan jalan operasi menunjukkan keberhasilan pada tumor yang telah berkembang, namun pada awal metastasis sulit untuk diobati. Pada penanganan secara radiasi juga sel normal disekitarnya akan mati meskipun radiasi juga mampu membunuh tumor lokal. Sedangkan kemoterapi, dapat menimbulkan resistensi sel kanker, sehingga senyawa antikanker tidak sensitif (Jong, 2005; Lockhsin et al., 2007). Sehingga metode pengobatan kanker harus dikembangkan agar lebih aman.

Penggunaan obat bahan alam kini kian berkembang. Baik dari segi keamanan dan efek samping yang diberikan juga kecil. Pada penggunaan yang tepat tidak akan memberikan efek samping karena bersifat alami dan mudah dicerna oleh tubuh. Tanaman obat mempunyai prospek yang sangat menjanjikan sebagai terapi kanker (Mangan, 2009). Daun pepaya sering digunakan dalam pengobatan tradisional (Depkes, 2000). *Carica papaya L.* termasuk ke dalam suku Caricaceae. Beberapa tahun ini sebagian masyarakat mulai menggunakan pepaya sebagai obat secara tradisional. Dalam beberapa dekade terakhir, ekstrak pepaya digunakan untuk memerangi penyakit kanker (Sukardiman, 2006). Selain itu, daun pepaya tidak bersifat toksik (meracuni) terhadap sel tubuh yang normal. Oleh karena itu, daun pepaya dianggap lebih aman bagi tubuh (Mardiana, 2012).

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui efek sitotoksik ekstrak daun pepaya dan fraksi-fraksinya terhadap larva udang (*Artemia salina* Leach) dan menentukan nilai LC_{50} ekstrak daun pepaya dan fraksi-fraksinya terhadap larva udang (*Artemia salina* Leach).

B. Landasan Teori

Pepaya (*Carica papaya L.*) merupakan tanaman yang berasal dari Meksiko bagian selatan dan bagian utara dari Amerika Selatan. Di Indonesia tanaman pepaya memiliki beberapa nama lokal, antara lain kates (Jawa) dan gedang (Sunda) (Mardiana, 2012). Pepaya (*Carica papaya L.*) termasuk famili Caricaceae. Pepaya disebut juga gedang (Sunda), kates (Jawa), peute, betik, ralempaya, putri kayu (Sumatera), pisang malaka, bandan, kalujawa (Kalimantan), serta kapalay kaliki dan unti jawa (Sulawesi) (Mangan, 2007). Daun *C. papaya L.* mengandung banyak konstituen biologis aktif, yaitu alkaloid karpain, karikaksantin, violaksantin, saponin, dihidrokodein, flavonoid, tanin, nikotin, glikosida cyanogenic, dan papain (Duke, 2007; Milind dan Gurdita, 2011).

Menurut hasil penelitian Bouchut yang dikutip oleh Journal Society of Biology, daun pepaya memiliki sifat antitumor dan antikanker. Senyawa aktif yang berpeluang sebagai zat antikanker yaitu karpain yang merupakan golongan alkaloid dan terdapat pada getah putih pepaya. Secara kimia dijelaskan bahwa karpain adalah alkaloid bercincin laktonat dengan tujuh klompok rantai maetulen (Rizki, 2013). Tidak hanya itu, dalam daun pepaya juga mengandung sitokinin yang bermanfaat memperkuat

sistem kekebalan tubuh manusia untuk melawan sel kanker (Mardiana, 2012).

Kanker merupakan hasil interaksi multigenetik, multifaktoral yang berakibat sel normal berubah menjadi ganas. Sehingga kanker berbeda dengan penyakit infeksi pada umumnya. Timbulnya kanker berdasarkan asal, sifat, dan pola kerjanya terkait pada dua faktor yaitu faktor endogenik dan faktor eksogenik. Faktor endogenik berasal dari tubuh meliputi kondisi imunitas tubuh, konstitusi genetik, kadar hormon, kemampuan reparasi kerusakan DNA dan lain-lain. Sedangkan faktor eksogenik berasal dari lingkungan atau luar tubuh, yaitu faktor kimiawi, fisika dan biologis (Desen, 2013).

Berdasarkan karakteristik dan pengaruh serta ancaman terhadap tubuh, kanker merupakan tumor ganas (malignan). Kanker atau tumor malignan dapat menyebar ke organ-organ dan jaringan-jaringan didekatnya dengan ekstensi langsung dan dengan invasi. Pada proses ekstensi, tumor menelusuri celah jaringan, saluran limfe, pembuluh darah dan menginfiltrasi jaringan sekitarnya. Kemungkinan lainnya, penyebaran dapat terjadi pada nodus limfatikus yang menerima darah darinya dengan embolisasi atau permeasi saluran-saluran limfa kedalam rongga-rongga tubuh dengan melepaskan sel-sel kanker yang bebas atau ke organ-organ yang jauh lewat aliran darah yang mengikuti penetrasi vena. Semua ekstensi tumor demikian ini yang di luar lokasi primer asalnya dikenal sebagai '*metastasis*' atau pertumbuhan sekunder, dan umumnya membawa prognosis jelek. Terjadi atau tidaknya metastasis merupakan faktor utama dalam penentuan dapat disembuhkan atau tidaknya penyakit malignan. Pertumbuhan metastasis dapat terjadi pada stadium dini pertumbuhan kanker. Pada kanker terjadi proses rekurensi dimana tumor/kanker menghilang setelah dilakukannya terapi, namun dalam jangka waktu tertentu dapat timbul lagi dengan morfologi histologis yang sama pada lokasi yang sama (Desen, 2013; Jong, 2005).

C. Hasil Penelitian dan Pembahasan

Pengujian Sitotoksik terhadap Larva *Artemia salina* Leach

Uji aktivitas sitotoksik dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) merupakan uji pendahuluan untuk menentukan toksisitas akut suatu senyawa atau ekstrak dengan menggunakan larva udang (*Artemia salina* Leach) sebagai hewan coba. Parameter yang ditunjukkan adalah jumlah kematian larva udang karena dipengaruhi oleh pemberian ekstrak atau fraksi dengan konsentrasi atau dosis yang telah ditentukan. Suatu senyawa atau ekstrak dinyatakan memiliki aktivitas sitotoksik jika mortalitas terhadap larva *Artemia salina* Leach memiliki harga $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/ml}$ (ppm) (Meyer *et al.*, 1982).

Hasil uji sitotoksik dilihat dari jumlah larva yang mati. Jumlah kematian larva berbeda-beda dan terlihat dari perbedaan konsentrasi masing-masing baik ekstrak atau pun fraksi. Pada kontrol tidak terlihat adanya kematian. Berdasarkan hasil uji diperoleh nilai rata-rata kematian dari ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air terhadap larva udang *Artemia salina*. Analisis yang digunakan adalah analisis probit dimana nilai probit diperoleh dari tabel probit. Rata-rata kematian, % mortalitas dan nilai probit dari ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air dapat dilihat pada (Tabel 1, 2, 3, dan 4).

Tabel 1. Tabel Uji Ekstrak Etanol Daun *Carica papaya* L.

Konsentrasi µg/ml	Log Konsentrasi	Rata-Rata Kematian	% Mortalitas	Nilai Probit
Kontrol	0	0	0	0
25	1,39794	1,33	13,3	3,8877
50	1,69897	3	30	4,4756
100	2	5,33	53,3	5,0828
150	2,17609	8,33	83,3	5,9661
200	2,3010	9,66	96,6	6,8260
300	2,4771	10	100	8,1214

Tabel 2. Tabel Uji Fraksi N-Heksan Daun *Carica papaya* L.

Konsentrasi µg/ml	Log Konsentrasi	Rata-Rata Kematian	% Mortalitas	Nilai Probit
Kontrol	0	0	0	0
25	1,39794	1,33	13,3	3,8877
50	1,69897	3,33	33,3	4,5684
100	2	4,33	43,3	4,8313
150	2,17609	5,66	56,6	5,1662
200	2,3010	6	60	5,2533
300	2,4771	9,66	96,6	6,8260

Tabel 3. Tabel Uji Fraksi Etil Asetat Daun *Carica papaya* L.

Konsentrasi µg/ml	Log Konsentrasi	Rata-Rata Kematian	% Mortalitas	Nilai Probit
Kontrol	0	0	0	0
25	1,39794	2	20	4,1684
50	1,69897	3,33	33,3	4,5684
100	2	4,33	43,3	5,0753
150	2,17609	5,33	53,3	5,9542
200	2,3010	7,33	73,3	6,7507
300	2,4771	8	80	8,1214

Tabel 4. Tabel Uji Fraksi Air Daun *Carica papaya* L.

Konsentrasi µg/ml	Log Konsentrasi	Rata-Rata Kematian	% Mortalitas	Nilai Probit
Kontrol	0	0	0	0
25	1,39794	1	10	3,7184
50	1,69897	2	20	4,1684
100	2	3,33	33,3	4,5684
150	2,17609	4	40	4,7467
200	2,3010	6,66	66,6	5,4289
300	2,4771	8,33	83,3	5,9661

Berdasarkan tabel diatas dibuat grafik antara log konsentrasi sebagai sumbu (x) dan nilai probit sebagai sumbu (y). Berdasarkan persamaan garis lurus dari grafik $y = a + bx$, selanjutnya dilakukan penentuan nilai LC_{50} dari ekstrak etanol, fraksi n-

heksan, fraksi etilasetat, dan fraksi air terhadap *Artemia salina* Leach dengan nilai $y = 5$ sehingga log konsentrasi yang menyebabkan 50% kematian dapat diperoleh. Nilai $y = 5$ diperoleh dari 50% kematian larva *Artemia*, dimana pada tabel probit nilai 50 memberikan nilai 5 sehingga $y = 5$. Berikut hasil perhitungan nilai LC_{50} dari ekstrak dan fraksi-fraksi daun pepaya pada **Tabel 5**.

Tabel 5. Perhitungan Nilai LC_{50} dari ekstrak dan fraksi-fraksi daun pepaya (*Carica papaya* L.)

Ekstrak	Persamaan Regresi Linear	LC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Etanol	$y = 3,7404x - 1,786$ $R^2 = 0,9075$	66,61
Fraksi N-heksan	$y = 2,2095x + 0,6511$ $R^2 = 0,8104$	92,93
Fraksi Etilasetat	$y = 1,5675x + 1,8839$ $R^2 = 0,9312$	97,25
Fraksi Air	$y = 1,9695x + 0,8104$ $R^2 = 0,922$	134,02

Dari tabel diatas diketahui bahwa ekstrak etanol daun *Carica papaya* L. memiliki nilai LC_{50} dibawah 1000 $\mu\text{g/mL}$ yaitu 66,61 $\mu\text{g/mL}$. Hal ini menunjukkan daun *Carica papaya* L. bersifat sitotoksik atau memiliki potensi toksisitas terhadap larva *Artemia salina* Leach. Sedangkan pada fraksi N-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air menunjukkan toksisitas yang relatif lebih rendah dari ekstrak etanol karena masing-masing fraksi memiliki nilai LC_{50} untuk fraksi N-heksan 92,93 $\mu\text{g/mL}$, fraksi etil asetat sebesar 97,25 $\mu\text{g/mL}$, dan fraksi air 134,02 $\mu\text{g/mL}$. Hal ini menunjukkan bahwa potensi toksisitas yang diperoleh lebih besar pada ekstrak etanol sebelum dilakukannya pemisahan dengan cara fraksinasi. Namun secara keseluruhan uji terhadap larva *Artemia salina* dari ekstrak dan fraksi-fraksi daun pepaya (*Carica papaya* L.) dapat dikatakan memberikan efek sitotoksik karena menurut Meyer *et al.*, (1982) suatu senyawa dikatakan mempunyai potensi toksisitas akut bila mempunyai nilai LC_{50} kurang dari 1000 $\mu\text{g/mL}$ (ppm). Semakin besar nilai LC_{50} menunjukkan senyawa tersebut semakin tidak memberikan efek toksik. Nilai LC_{50} (*Lethal Concentration 50*) adalah konsentrasi senyawa atau zat yang dapat menyebabkan 50% kematian pada hewan percobaan.

Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun pepaya memiliki potensi toksisitas akut berkaitan dengan senyawa yang terkandung yaitu alkaloid dan flavonoid. Pada konsentrasi tertentu alkaloid dan flavonoid yang terdapat pada daun pepaya berpotensi toksisitas akut serta menyebabkan kematian larva udang *Artemia salina* Leach. Berdasarkan fungsi senyawa alkaloid dan flavonoid dari daun pepaya diperkirakan berhubungan dengan kematian larva, dimana senyawa alkaloid daun pepaya berpotensi sebagai antikanker berdasarkan penelitian Sukardiman dkk (2006). Hasil uji BSLT menunjukkan ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun pepaya bersifat toksik, sehingga dapat dilakukan pengembangan lebih lanjut sebagai obat alternatif antikanker.

D. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan yaitu Uji Sitotoksik Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) dapat disimpulkan bahwa, ekstrak etanol dan fraksi-fraksi daun pepaya (*Carica papaya* L.) memberikan efek sitotoksik terhadap larva udang *Artemia salina* Leach dilihat dari nilai LC₅₀ yang diperoleh < 1000 µg/mL dan nilai LC₅₀ yang diperoleh dari pengujian ekstrak etanol daun pepaya (*Carica papaya* L.) adalah 66,61 µg/mL. Untuk nilai LC₅₀ fraksi N-heksan 92,93 µg/mL, fraksi etilasetat 97,25µg/mL, dan fraksi air 134,02 µg/mL.

E. Saran

1. Penelitian lanjutan perlu dilakukan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa sitotoksik yang terdapat pada daun pepaya hingga ditentukan senyawa aktif dan dilakukan pengujian aktivitas

Daftar Pustaka

- Departemen Kesehatan dan Kesejahteraan Sosial RI. 2000. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia* (I). Jakarta.
- Duke, J. 2007. *Carica papaya* L. *Caricaceae*. <http://sun.ars-grin.gov:8080/npgspub/xsql/dukeplantdisp.zsqltaxon=209>. Diakses 20 Januari, 2016.
- Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. 2013. *Onkologi Klinis*. Edisi 3. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Jong, W. 2002. *Kanker, apakah itu? Pengobatan, Harapan Hidup, dan Dukungan Keluarga*. Jakarta : Arcan. Halaman 2 dan 23.
- Kementrian Kesehatan RI. 2015. *Situasi Penyakit Kanker edisi Buletin Jendela Data dan Informasi Kesehatan*. Semester 1. Jakarta : Redaksi.
- Lockshin, R.A., and Zakeri, Z., 2007. Cell Death in Health and Disease, J. *Cell.Mol,Med.*, 11 (6). Pp. 1214-1224.
- Mangan, Y. 2007. *Cara Bijak Menaklukan Kanker*. Jakarta : Agromedia Pustaka. Halaman 81-82.
- Mangan, Y. 2009. *Solusi Sehat Mencegah dan Mengatasi Kanker Cetakan Pertama*. Jakarta : Agromedia Pustaka. Halaman viii dan 1.
- Mardiana, L. 2012. *Daun Ajaib Tumpas Penyakit*. Cetakan Pertama. Jakarta : Penebar Swadaya. Halaman 127-129.
- Meyer B.N, Ferrigni N.R, Putnam J.E, Nichols D.E, and McLaughlin J.L. 1982. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Journal of Medicinal Plant Research*. Vol. 4.
- Milind, P., & Gurditta. (2011). Basketful Benefits of Papaya. *International Research Journal of Pharmacy*, 2 (7), 6-12.
- Sukardiman & Ekasari W. 2006. *Uji Anti Kanker dan Induksi Apoptosis Fraksi Kloroform dari Daun Pepaya (Carica papaya) Terhadap Kultur Sel Kanker*. Penelitian Kesehatan no 24. Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.