

UJI SITOTOKSISITAS EKSTRAK KULIT BATANG KALISO SEBAGAI ANTIKANKER TERHADAP LARVA UDANG (*Artemia salina*, Leach)

Jumiati I. Ndamalero*, Lukas Seran, Florentina Y. Sepe

Program Studi Pendidikan Biologi
Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan
Universitas Katolik Widya Mandira, Jln. San Juan-Penfui Kupang, 85225
*email: indalndamalero20@gmail.com

ABSTRACT

Cancer is a word that gives the impression to mind everyone will be a terrible pain. In fact, among patients and their families, the diagnosis of cancer is a death sentence, even though not always the case. Until now it is not certain single factor that causes cancer. But some experts agree that cancer is caused by many factors (multifactorial). Based on data from the Ministry of Health (Risksdas) in 2008, the prevalence of cancer in Indonesia is 4.3 per 1,000 inhabitants. An estimated 12 million people per year affected by cancer. To reduce the cancer patients, the treatment. One alternative, namely the use of natural resources, especially herbs. Kaliso plant (*Macaranga tanarius*,L) is one of the plants used as traditional medicines. Previous research kaliso bark extract (*Macaranga tanarius*,L)-capable as an antibacterial, because they contain tannin compounds that act as antioxidants and have effect as a drug. Is kaliso bark extract (*Macaranga tanarius*, L) has as an anticancer effect against larvae shrimp (*Artemia salina*,Leach) in vivo? and whether to use a different solvent (ethylacetate, hexane, methanol) extracts of the bark kaliso (*Macaranga tanarius*,L) gives a different? For that need to be investigated by an early stage cytotoxicity test or preliminary tests on shrimp larvae (*Artemia salin* Leah) in vivo. This study purpose to determine the ability of the stem bark extract kaliso (*Macaranga tanarius*, L) as an anticancer against shrimp larvae (*Artemia salina*, Leach) in vivo, and to determine the ability of the stem bark extract kaliso (*Macaranga tanarius*,L) using three solvents (ethylacetate, hexane, methanol) is different.

Keywords: Cytotoxicity, Skin Extract Stem Kaliso (Macaranga tanarius,L), Shrimp Larvae (Artemia salina,Leach).

Pendahuluan

Tumbuhan kaliso (*Macaranga tanarius*, L) adalah tumbuhan yang tumbuh di daerah tropis. Ciri-cirinya antara lain : pohon semak-semak, tinggi hingga 19 m, cabang stabil, spitules tegak sekitar 14 mm, daun alternatif, kelenjar nektar sederhana, berbentuk perisai, palmately berurat, jarang basal pada permukaan daun bagian atas,

daun berbulu halus, bunga sekitar 0,5 mm, hijau kekuningan masuk ke dalam bracts, yang merupakan bagian dari malai besar. Buah sekitar 10 mm, abu-abu kuning, bilobed, dengan sedikit kapsul ledakan yang panjang, duri lunak, biji hitam di kulit biji. Jenis ini juga mengandung tanin yang cukup untuk menyamak jala dan kulit (Rusyana, Y. 2011). Tumbuhan kaliso (*Macaranga tanarius*,L) ini merupakan salah satu tumbuhan pengobatan alternatif, yang dikenal oleh masyarakat Sumba khususnya di Kabupaten Sumba Barat Daya, Kecamatan Wewewa Timur, Desa Wee Limbu.

Ekstrak dari kulit batang kaliso (*Macaranga tanarius*,L) ini telah dilakukan penelitian di Laboratorium Mikrobiologi UNWIRA Kupang sebelumnya dan benar-benar berkemampuan sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara in vitro. Selain itu, ekstrak kulit batang kaliso (*Macaranga tanarius*,L) mengandung senyawa tannin yang berperan sebagai antioksidan dan memiliki efek sebagai obat. Ekstraksi adalah pemisahan suatu zat dari campurannya dengan pembagian sebuah zat terlarut antara dua pelarut yang tidak dapat tercampur untuk mengambil zat terlarut tersebut dari satu pelarut ke pelarut yang lain (Rahayu, S. 2009).

Kanker adalah 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. Pengobatan kanker untuk masing-masing individu sangat spesifik tergantung kondisi masing-masing individu. Salah satu jenis metode atau pendekatan untuk memerangi kanker, yakni metode pengobatan holistik. Metode ini lebih menitikberatkan pada keseimbangan tubuh, pikiran, dan jiwa dalam memerangi kanker. Contohnya, penggunaan herbal, akupunktur, diet sehat, senam dan yoga, terapi musik, dan hipnoterapi (Tim Cancer Helps, 2010).

Metode

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi UNWIRA Kupang pada bulan Juni - Juli. Alat yang digunakan, antara lain : erlenmeyer, gelas aqua, wadah, neraca analitik, rotavapor, pisau, saringan, lumpang, kertas saring, corong, colony counter. Bahan yang digunakan, antara lain : Bahan, antara lain : ekstrak kulit batang kaliso (*Macaranga tanarius*,L) 90 %, larva udang (*Artemia salina*,Leach) 0,1 g, etil setat 500 ml, heksana 500 ml, metanol 500 ml, air laut 5 liter.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen laboratoriu. Metode yang digunakan adalah metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Metode ini merupakan salah satu metode untuk menguji bahan-bahan yang bersifat toksik dan digunakan sebagai suatu bioassay yang pertama untuk penelitian bahan alam. Metode ini menggunakan larva udang (*Artemia salina*, Leach) sebagai hewan uji. Uji sitotoksisitas dengan metode BSLT ini merupakan uji sitotoksisitas akut dimana efek toksik dari

suatu senyawa ditentukan dalam waktu singkat, yaitu rentang waktu selama 24 jam setelah pemberian dosis uji. Sitotoksitas adalah efek berbahaya dari suatu bahan obat pada organ target. Sitotoksitas diukur dengan mengamati kematian hewan percobaan. Kematian pada hewan percobaan dianggap sebagai respon dari pengaruh senyawa yang diuji, sehingga hubungan dari suatu respon dengan menggunakan kematian sebagai jawaban toksik adalah titik awal untuk memperjelas sitotoksitas. Angka kematian dari hewan percobaan dihitung sebagai Medial Letal Dose (LD50) atau Median Letal Concentration (LC50). Prosedurnya dengan menentukan nilai LC50 dari aktivitas komponen aktif tumbuhan terhadap larva udang (*Artemia salina*, Leach). Suatu ekstrak dikatakan toksik berdasarkan metode BSLT jika harga LC < 1000 µg/ml (Munirah, W. 2011).

Artemia salina, Leach merupakan komponen dari invertebrata dari fauna pada ekosistem perairan laut. Udang renik ini mempunyai peranan yang penting dalam aliran energi dan rantai makanan. Spesies invertebrata ini umumnya digunakan sebagai organisme sentinel sejati berdasarkan pada penyebaran, fasilitas sampling, dan luasnya karakteristik ekologi dan sensitifitasnya terhadap bahan kimia (Calleja M.C, Persoone G, 1992 dalam Sirait, C. dkk, 2010). Etil asetat (semi polar) adalah pelarut polar menengah yang volatil (mudah menguap), tidak beracun, dan tidak higroskopis (Nurhari, O. 2010). Metanol (polar) adalah salah satu senyawa hidrokarbon dari golongan alkohol ($C_nH_{2n+2}O$) dengan gugus alkil hidroksil (-OH). Heksana (non polar) adalah sebuah senyawa hidrokarbon alkana dengan rumus kimia C_6H_{14} (isomer utama *n*-heksana memiliki rumus $CH_3(CH_2)_4CH_3$ (Maulida, D. dan Zulkarnaen, N. 2010).

Tahap-tahap dalam melakukan penelitian, yaitu :

1. Persiapan alat dan bahan
2. Pembuatan Ekstrak kulit batang kaliso (*Macaranga tanarius*,L)

Bagian kaliso (*Macaranga tanarius*,L) yang akan digunakan adalah kulit batangnya yang berwarna abu kecoklatan. Tinggi pohon yang diambil kulit batangnya, adalah kurang lebih 7 m dan bagian batang yang dikupas kulitnya itu 3 m dari permukaan tanah. Dengan menggunakan pisau diambil kulit batangnya sesuai kebutuhan yang akan dipakai dalam penelitian. Lalu kulit batang tersebut dibersihkan, dipotong kecil-kecil, dijemur selama 1 minggu, dan dihaluskan dengan menggunakan lumpang. Setelah itu dengan menggunakan saringan kulit batang yang sudah dihaluskan itu disaring. Serbuk kulit batang yang akan digunakan dalam pembuatan konsentrasi ekstrak sebanyak 90 g. Maka timbang serbuk kulit batang sebanyak 90 g lalu dilarutkan dengan larutan etil asetat, heksana, metanol, lalu dishaker selama 2 jam agar larutan alkohol dan serbuk kulit batang kaliso dapat tercampur merata, kemudian dimaserasi selama semalam. Setelah semalam larutan tersebut disaring dengan menggunakan corong yang di atas corong diletakan kertas saring pada erlenmeyer, lalu larutan tersebut dituang. Larutan kulit batang kaliso (*Macaranga tanarius*,L) yang

sudah disaring akan dirotav dengan menggunakan rotavapor untuk diperoleh ekstrak murni. Kemudian ekstrak murni kulit batang kaliso (*Macaranga tanarius*,L) yang diperoleh, lalu dibuat konsentrasi sesuai dengan kebutuhan penelitian yang akan dipakai dalam pengujian.

3. Uji sitotoksisitas

- Pemeliharaan larva udang (*Artemia salina*,Leach).

Medium untuk larva udang (*Artemia salina*,Leach) adalah air laut. Lalu air laut dimasukkan dalam wadah yang memiliki permukaan datar dan luas agar memiliki cukup oksigen. Kemudian telur larva udang (*Artemia salina*,Leach) sebanyak 1 g dimasukkan dalam wadah yang sudah terisi air laut, dan dibiarkan selama 24 jam untuk digunakan sebagai hewan uji.

- Uji sitotoksisitas ekstrak kulit batang kaliso (*Macaranga tanarius*,L) terhadap larva udang (*Artemia salina*,Leach).

Uji sitotoksisitas ini dilakukan berdasarkan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Metode ini merupakan salah satu metode skrining untuk menentukan ketoksikan suatu ekstrak ataupun senyawa. Disiapkan 18 gelas aqua yang berisi Larva udang ke dalam 15 gelas aqua dimasukkan air laut yang telah bercampur dengan ekstrak dari berbagai konsentrasi yakni 1000 ppm, 500 ppm, 250 ppm, 125 ppm dan 62,5 ppm, dan 3 gelas aqua dijadikan kontrol (0 ppm) setelah itu dibiarkan selama 24 jam dan di hitung jumlah larva yang mati pada setiap perlakuan dan ulangan.

Persen kematian larva di hitung dengan rumus (Cetin et al., 2006, dalam Taek, M. dkk. 2003) :

$$M = \frac{Lp - Lk}{jL} \times 100$$

Keterangan :

M: persen mortalitas (kematian larva)

Lp: jumlah larva yang
mati pada kelompok
perlakuan

Lk: jumlah larva yang mati pada kelompok kontrol

jL: jumlah larva dalam masing-masing beker

Sitotoksisitas ekstrak kulit batang kaliso dinyatakan dengan nilai LD₅₀ yang di hitung data persen kematian larva pada semua konsentrasi, dengan analisis varians.

Hasil dan Pembahasan

Hasil pengujian sitotoksisitas ekstrak kulit batang kaliso terhadap larva udang yang mati pada setiap gelas aqua (perlakuan dan kontrol) pada setiap pelarut adalah seperti terlihat pada tabel di bawah. Berdasarkan data tersebut kemudian di hitung persen kematian larva untuk 24 jam pengujian menggunakan rumus perhitungan M (mortalitas) yang di tampilkan di atas. Dari data yang diperoleh terlihat bahwa ekstrak

kulit batang kaliso (*Macaranga tanarius*,L) yang dilarutkan dengan pelarut berbeda mempunyai kemampuan yang berbeda pula. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak kulit batang kaliso (*Macaranga tanarius*,L) berkemampuan sebagai sitotoksisitas, ini dibuktikan dengan adanya kematian pada setiap perlakuan yang diberikan ekstrak, sedangkan perlakuan kontrol tidak menunjukkan daya toksisitas dimana tidak ada larva udang yang mati pada perlakuan ini. Dengan adanya kematian larva udang ini menunjukkan bahwa dapat berkorelasi untuk mencegah pertumbuhan sel-sel yang tidak normal dalam tubuh. Ekstrak tumbuhan ini di duga mengandung zat-zat anti radikal yang dapat menekan senyawa-senyawa yang menstimulasi adanya penyebaran sel-sel yang abnormal dalam tubuh.

Tabel 1. Persen kematian larva udang setelah 24 jam pada etil asetat

Kons. (ppm)	Jml larva udang	Jml larva udang yg mati setelah 24 jam			Tot.	Rt2	%
		1	2	3			
1000	10	10	10	10	30	10	100
500	10	10	9	10	29	9,7	97
250	10	5	4	4	13	4,3	43
125	10	2	2	1	5	1,7	17
62.5	10	0	0	0	0	0	0
0	10	0	0	0	0	0	0

Tabel 2. Persen kematian larva udang setelah 24 jam pada metanol

Kons. (ppm)	Jml larva udang	Jml larva udang yg mati setelah 24 jam			Tot.	Rt2	%
		1	2	3			
1000	10	4	7	6	17	5,7	57
500	10	4	4	3	11	3,7	37
250	10	2	2	1	5	1,7	17
125	10	1	1	0	2	0,7	7
62.5	10	0	0	0	0	0	0
0	10	0	0	0	0	0	0

Tabel 3. Persen kematian larva udang setelah 24 jam pada heksana

Kons. (ppm)	Jml Larva udang	Jml larva udang yg mati setelah 24 jam			Tot.	Rt2	%
		1	2	3			
1000	10	6	5	5	16	5,3	53
500	10	5	5	5	15	5	50
250	10	4	3	3	10	3,3	33
125	10	2	1	2	5	1,7	17
62.5	10	0	0	0	0	0	0
0	10	0	0	0	0	0	0

Berdasarkan data pada ketiga tabel di atas, menunjukkan bahwa dari ketiga pelarut yang digunakan ternyata etil asetat yang memberikan kemampuan sitotoksitasnya paling tinggi, dan juga bahwa semakin tinggi konsentrasi semakin tinggi pula sifat toksisitasnya.

Kanker adalah sel yang telah kehilangan pengendalian dan mekanisme normal, sehingga pertumbuhan tidak teratur. Kanker bisa terjadi dari berbagai jaringan dalam berbagai organ. Sejalan dengan pertumbuhan dan pembiakan, sel-sel kanker membentuk suatu massa dari jaringan ganas menyusup ke jaringan di dekatnya dan bisa menyebar (metastasis) ke seluruh tubuh. Sel-sel kanker dibentuk dari sel-sel normal dalam suatu proses rumit yang disebut transformasi, yang terdiri dari tahap inisiasi dan promosi. Pada tahap inisiasi terjadi suatu perubahan dalam bahan genetik sel ke sel ganas memancing. Perubahan dalam bahan genetik sel ini disebabkan oleh suatu agen yang disebut karsinogen, yang bisa bahan kimia, virus, radiasi (penyinaran) atau matahari. Tetapi tidak semua sel memiliki kepekaan yang sama untuk suatu karsinogen. Kelainan genetik dalam sel atau bahan lainnya, yang disebut promotor, menyebabkan sel lebih rentan terhadap suatu karsinogen. Bahkan gangguan fisik dapat membuat menahunpun sel menjadi lebih peka untuk memiliki keganasan.

Pada tahap awal, suatu sel yang telah mengalami inisiasi akan menjadi ganas. Sel yang belum melewati tahap inisiasi tidak akan terpengaruh oleh kampanye. Karena itu diperlukan beberapa faktor untuk terjadinya keganasan (gabungan dari sel yang peka dan suatu karsinogen). Dalam sebuah proses di mana sel normal menjadi sel ganas, pada akhirnya DNA dari sel-sel ini akan mengalami perubahan. Perubahan dalam bahan genetik sel sering sulit ditemukan, tetapi kadang-kadang kanker dapat diketahui dari adanya suatu perubahan dalam ukuran atau bentuk kromosom tertentu. Misalnya kromosom abnormal yang disebut kromosom Philadelphia ditemukan pada sekitar 80% dari pasien dengan leukemia mielositik kronis. Perubahan genetik juga telah ditemukan dalam tumor otak dan kanker usus besar, payudara, paru-paru dan tulang. Mungkin diperlukan serangkaian perubahan kromosom terjadinya kanker. Penelitian tentang poliposis keluarga usus besar (kelainan usus hereditas berupa pertumbuhan polip yang berubah menjadi ganas), telah membawa kita ke sebuah kecurigaan tentang bagaimana hal ini terjadi pada kanker usus besar. Lapisan usus besar yang normal mulai tumbuh secara aktif (hiperproliferasi), karena sel-sel mereka tidak lagi memiliki gen penekan pada kromosom 5 yang dalam keadaan normal mengendalikan pertumbuhan lapisan tersebut. Perubahan selanjutnya dalam DNA kecil memfasilitasi terbentuknya adenoma (tumor jinak). Gen lain (onkogen RAS) menyebabkan adenoma tumbuh lebih aktif. Hilangnya gen penekan pada kromosom 18 selanjutnya akan merangsang adenoma dan pada akhirnya hilangnya gen pada kromosom 17 akan merubah adenoma yang jinak menjadi kanker. Perubahan tambahan lainnya dapat menyebabkan kanker untuk menyebar ke seluruh tubuh (metastase). Pada saat sebuah sel menjadi ganas, sistem kekebalan sering dapat menghancurkan sel-sel ganas

sebelum berlipat ganda dan menjadi kanker. Kanker cenderung terjadi jika sistem kekebalan tubuh tidak berfungsi secara normal, seperti yang terjadi pada manusia. AIDS, orang-orang yang menggunakan obat penekan kekebalan dan pada penyakit autoimun tertentu (Lase, W. 2011).

Tetapi sistem kekebalan tidak selalu efektif, kanker dapat menembus perlindungan ini meskipun sistem kekebalan berfungsi secara normal. Dengan adanya penelitian terhadap bahan alam, maka diharapkan mampu menekan pertumbuhan sel-sel yang tidak normal tersebut, salah satu bahan alam yang ada yakni kaliso, tumbuhan ini setelah dilakukan pengujian ternyata dapat berkamampuan dalam menekan pertumbuhan sel-sel tersebut.

Uji toksisitas yang dilakukan dimaksudkan untuk memaparkan adanya efek toksik dan atau menilai batas keamanan dalam kaitannya dengan penggunaan suatu senyawa. Pengukuran toksisitas dapat ditentukan secara kuantitatif yang menyatakan tingkat keamanan dan tingkat berbahaya zat tersebut (Cassaret dan Doull's, 1975). *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) merupakan salah satu metode skrining untuk menentukan ketoksikan suatu ekstrak ataupun senyawa. Kematian *Artemia salina* Leach digunakan sebagai parameter untuk menunjukkan adanya kandungan zat aktif tanaman yang bersifat sitotoksik. Apabila harga LC50 \leq 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ekstrak tersebut dapat dikatakan toksik. Bila kematian sebagai responnya, maka dosis penimbul kematian pada 50% populasi dengan spesies yang sama dalam waktu spesifik dan kondisi percobaan sesuai diistilahkan sebagai median lethal dose atau LD50. Obat yang diberikan sebagai konsentrasi diistilahkan sebagai *Median Lethal Concentration* atau LC50 (Cassaret dan Doull's, 1975). Menurut Meyer dkk. (1982) tingkat toksisitas dari ekstrak tanaman dapat ditentukan dengan melihat harga LC50-nya. Apabila harga LC50 lebih kecil dari 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dikatakan toksik, sebaliknya apabila harga LC50 lebih besar dari 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dikatakan tidak toksik. Tingkat toksisitas tersebut akan memberi makna terhadap potensi aktivitasnya sebagai antitumor. Semakin kecil harga LC50 semakin toksik suatu senyawa (Sirait, 2010).

Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa ekstrak kulit batang kaliso (*Macaranga tanarius, L*) dapat dimanfaatkan sebagai bahan antioksidan untuk menekan pertumbuhan kanker.

Daftar Pustaka

- Calleja M.C, Persoone G, 1992. *Praktikum Teknologi Bahan Alam (BSLT)*. chandrafernandosirait.blogspot.com/2010/08/praktikum-teknologi-bahan-alam-uji-bslt.html. Blogger. Diakses 29 Juni 2012.
- Maulida, D. Zulkarnaen, N. 2010. *Ekstraksi Antioksidan (Likopen) Dari Buah Tomat Dengan Menggunakan Solven Campuran, n-Heksana, Aseton, Dan Etanol*. Jurusan Teknik Kimia Fakultas teknik Universitas Diponegoro. Semarang. Diakses 28 Juni 2012.
- Munirah, W. 2011. *Uji BST (Brine Shrimp Lethality Test) Dan Uji Antimitosis*. Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin. Makasar. Diakses 29 Juni 2012.
- Nurhari, O. 2010. *Kimia Organik Esterifikasi Etil Asetat*. Users/user/Documents/Kimia-Organik-Esterifikasi-Etil-Asetat.htm. Sekolah Tinggi Farmasi. Bandung. Diakses 28 Juni 2012.
- Rahayu, S. 2009. *Ekstraksi*. Users/user/Documents/EKSTRAKSI.htm. Situs Kimia Indonesia. Diakses 29 Juni 2012.
- Rusyana, Y. 2011. *Flora Indonesia (Botanical Survival)*. floraneeriku.blogspot.com/mara-macaranga-tanarius-l-mullarg-di-dc.html. Blogger. Diakses 28 Juni 2012.
- Sirait, C. 2010. *Praktikum Teknologi Bahan Alam-Uji BSLT*. http://chandrafernandosirait.blogspot.com/2010/08/praktikum-teknologi-bahan-alam-uji-bslt.html. Blogger. Diakses 28 Juni 2012.
- Taek, M. 2003. *Komposisi Kimia dan Aktivitas Minyak Kemangi sebagai Repellent dan Larvisida Nyamuk dan Larva Anopheles*. FMIPA UNWIRA Kupang. Jurnal Natural Sains.
- Tim CancerHelps, 2010. *Stop Kanker*. AgroMedia Pustaka. Jakarta.