

Uji Aktivitas Sitotoksik Fraksi Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius*) Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test*

Dwi Dinni Aulia Bakhtra¹*, Anzharni Fajrina¹, Andre Villano Prasetiadi¹

¹ Departemen Biologi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi (STIFARM), Padang, Indonesia STIFARM, Padang, Indonesia

*E-mail: dinni.nini@gmail.com

Abstrak

Senyawa sitotoksik merupakan senyawa yang dapat membunuh dan menghambat pertumbuhan sel yang sedang berkembang. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas sitotoksik daun pandan (*Pandanus amaryllifolius*). Simplisia daun pandan amaryllifolius dimaserasi menggunakan etanol 70% dan difraksinasi menggunakan beberapa pelarut, n-heksana, etil asetat, dan air. Skrining fitokimia dilakukan pada setiap fraksi. Uji aktivitas fraksi dengan variasi konsentrasi menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test*. Dari hasil penelitian didapatkan bobot ekstrak etanol 129 g, fraksi berat heksana 6,5 g, fraksi etil asetat 8,8 g, dan fraksi air 15,5 g. Kandungan fitokimia fraksi n-heksana adalah tanin dan fenol. Fraksi etil asetat adalah flavonoid, tanin, fenol, dan steroid, dan fraksi udara adalah saponin, tanin, dan fenol. Hasil skrining aktivitas sitotoksik menunjukkan nilai LC₅₀ fraksi heksana sebesar 50,35 µg/ml, fraksi etil asetat sebesar 37,1 µg/ml, dan fraksi air sebesar 1033 µg/ml. Dari hasil penelitian didapatkan kesimpulan fraksi etil asetat merupakan fraksi yang paling poten dan berpotensi sebagai kemopreventif.

Kata kunci: *Pandanus amaryllifolius*; aktivitas sitotoksik; padan wangi

Abstract

Cytotoxic compounds are compounds that can kill and inhibit the growth of developing cells. The purpose of the research is to examine the cytotoxic activity of pandan leaves (*Pandanus amaryllifolius*). Simplicia leaves of *Pandanus amaryllifolius* macerated used ethanol 70% and fractionated used several solvents, n-hexane, ethyl acetate, and water. Phytochemical screening was carried out on each fraction. Test the activity of the fractions with varying concentrations using the *Brine Shrimp Lethality Test* method. From the study results, the weight of the ethanol extract was 129 g, the weight fraction of hexane was 6.5 g, the ethyl acetate fraction was 8.8 g, and the water fraction was 15.5 g. The phytochemical content of the hexane fraction is tannin and phenol. The ethyl acetate fraction is flavonoid, tannin, phenol, and steroid, and the air fraction is saponin, tannin, and phenol. The results of the cytotoxic activity screen showed that the LC₅₀ value of the hexane fraction was 50.35 µg/ml, the ethyl acetate fraction was 37.1 µg/ml, and the air fraction was 1033 µg/ml. From the study results, ethyl acetate fraction is the most potent and potentially a chemopreventive.

Keywords: *Pandanus amaryllifolius*; cytotoxic activity; pandan wangi

PENDAHULUAN

Penggunaan obat bersumber dari alam di Indonesia merupakan bagian dari budaya dan telah dimanfaatkan oleh masyarakat sejak berabad-abad yang lalu. Namun demikian, secara umum keamanan dan manfaat atau khasiatnya terhadap kesehatan belum sepenuhnya didukung oleh hasil penelitian yang memadai. Mengingat hal tersebut dan menyadari bahwa Indonesia sebagai *mega centre* tanaman obat, maka perlu adanya suatu standar bahan-bahan tersebut untuk

digunakan masyarakat dalam berbagai keperluan demi mencapai derajat kesehatan yang optimal (Kementrian Kesehatan Republik Indonesia 2017).

Salah satu tumbuhan yang banyak digunakan sebagai obat tradisional adalah pandan wangi, yang berkhasiat untuk lemah saraf, tidak nafsu makan, rematik, pegal linu, serta tekanan darah tinggi. Kandungan kimia daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius*) adalah alkaloida, saponin, flavonoid, tanin, polifenol, dan zat warna (Hariana, 2013).

Ekstrak etanol daun pandan wangi memiliki berbagai aktivitas farmakologi yaitu sebagai antibakteri, antidiabetes, antioksidan (Dewanti & Sofian, 2017).

Sukandar *et al.*, (2008), menyatakan bahwa ekstrak etil asetat pandan wangi lebih tinggi bersifat toksik dibandingkan ekstrak butanol dan ekstrak petroleum eter terhadap kematian larva udang *Artemia salina* Leach, dengan nilai LC_{50} sebesar 288,4 mg/L. Senyawa yang terkandung di dalam ekstrak tersebut adalah senyawa terpenoid dan steroid. Penelitian Suryani *et al.*, (2017), menyatakan bahwa fraksi etil asetat yang diperoleh dari ekstrak etanol daun pandan berpotensi sebagai sumber antioksidan alami, dengan nilai EC_{50} sebesar 0,90 mg/mL.

Kanker merupakan proses proliferasi sel tubuh yang tidak terkontrol (Arifianti *et al.*, 2014). Saat ini telah banyak pengobatan untuk penyakit kanker baik untuk kanker non metastasis dan kanker metastasis contohnya yaitu kemoterapi. Namun efek samping yang diberikan sangat berbahaya karena obat kemoterapi juga menyerang sel-sel normal tubuh. Oleh karena itu banyak dilakukan penelitian untuk mencari pengobatan yang bisa mengurangi efek samping tersebut (Pratama & Nuwarda, 2018).

Tujuan dari penelitian ini untuk melihat aktivitas sitotoksik dari beberapa fraksi simplisia *Pandanus amaryllifolius*. Skrining aktivitas sitotoksik menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) karena metode bioassay yang mudah, cepat, murah, dan dapat dipercaya.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah botol gelap, pinset, pipet tetes, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet volumetrik, cawan penguap, oven, erlenmeyer, hotplate, beaker glass, gelas ukur, labu ukur, kertas saring, kaca

arloji, *rotary evaporator* (IKA), kruss silikat, lumpang, stamper, pisau, cawan penguap, waterbath, plat KLT, tissue, corong, plat tetes, spatel, corong pisah, timbangan analitik, vial, desikator, kertas label, aluminium foil, kertas perkamen, chamber, wadah pembiakan larva, aerator (pembentuk gelembung udara), furnes dan pipet mikro (Hamilton®).

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun pandan wangi *Pandanus amaryllifolius*, aquadest (PT Brataco®), etanol 70% (PT Brataco®), etanol 95% (PT Brataco®), etil asetat (PT Brataco®), *n*-heksan (PT Brataco®), DMSO, larva udang *Artemia salina* L., air laut bersih, kloroform (Merck), asam anhidrat (Merck), bismut (III) nitrat (Merck), asam nitrat (Merck), kalium iodida (Merck), asam asetat (Merck), asam sulfat (Merck), asam sulfat encer p, asam klorida, asam klorida pekat P, Bouchardat LP, mayer LP, metanol, eter minyak tanah P, serbuk seng P, serbuk magnesium P, larutan besi (III) ammonium sulfat LP, larutan besi (III) klorida ($FeCl_3$) (Merck), dan silika gel 60 F₂₅₄.

Hewan Percobaan

Hewan percobaan yang digunakan adalah larva *Artemia salina* L. Telur *Artemia salina* L., dibiarkan terlebih dahulu di dalam wadah biak yang berisi air laut yang dilengkapi aerasi dan cahaya. Untuk penetasan sebaiknya pH larutan berada dalam kisaran 7,5-8,5, sedangkan temperatur untuk penetasan larva berkisar antara 25-30 ° C. Kemudian dibiarkan selama 48 jam sehingga berbentuk larva *Artemia salina* Leach (Harmita & Radji, 2008).

PROSEDUR PENELITIAN

Pengambilan Dan Identifikasi Sampel

Sampel diambil di daerah Pasaman Barat, Kecamatan Empat Koto, Kinali, Provinsi Sumatra Barat. Bagian tanaman yang digunakan adalah daun segar sebanyak 3 kg dan diidentifikasi di

Herbarium Universitas Andalas (UNAND), Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Andalas Padang.

Ekstraksi Dan Fraksinasi

Proses ekstraksi dengan metode maserasi dilakukan terhadap 300 g serbuk simplisia dengan pelarut etanol 70 %. Pengentalan maserat dilakukan secara *in vacuo* dengan *rotary evaporator* dan hitung rendemen berat ekstrak. Ekstrak kental yang didapat difraksinasi menggunakan corong pisah dengan pelarut n-heksan, etil asetat dan air sehingga didapatkan fraksi kental dari masing-masingnya (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2008).

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan terhadap masing-masing fraksi kental berupa pengujian kandungan alkaloid, flavonoid, fenol, saponin, tanin, steroid, dan terpenoid.

Uji Aktivitas Sitotoksik

Fraksi kental ditimbang sebanyak 30 mg, kemudian dilarutkan dalam 3 mL etanol dan ini merupakan induk sampel (10.000 µg/mL). Pengujian dilakukan dengan cara 3 variasi konsentrasi yaitu 1000, 100, dan 10 µg/mL, dan setiap konsentrasi dibuat rangkap 3. Larutan uji dibuat dengan memipet masing-masing 500, 50, 5 µL dari larutan induk sampel, setelah itu larutan uji dimasukkan dalam desikator sampai semua pelarutnya menguap. Sebagai kontrol disiapkan 3 vial yang hanya diisi 50 µL larutan DMSO, kemudian ditambahkan air laut 2 mL. Sebanyak 10 larva udang dimasukkan kedalam vial tersebut dan kemudian volumenya dicukupkan 5 mL dengan air laut. Jumlah larva yang hidup di hitung setelah 24 jam, maka dapat diketahui jumlah larva yang mati, larva yang digunakan untuk uji adalah larva setelah berumur 48 jam nilai LC_{50} dihitung dengan menggunakan metode kurva (Meyer *et al.*, 1982).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil identifikasi sampel tanaman, spesies dari sampel adalah *Pandanus amaryllifolius* Roxb. Dari hasil ekstraksi didapatkan berat ekstrak etanol *Pandanus amaryllifolius* adalah 129 g dengan nilai rendemen 42,9 %. Berat fraksi n-heksan 6,5g, fraksi etil asetat 8,8 g dan fraksi air 15,5 g. Fraksi kental n-heksan warna hijau kehitaman, sedikit berbau khas pandan dan tidak berasa, fraksi kental etil asetat warna hijau pekat sampai kehitaman, sedikit berbau khas pandan dan tidak berasa dan fraksi kental air warna kuning sampai kecoklatan, bau khas dan tidak berasa.

Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol *Pandanus amaryllifolius* adalah flavonoid, saponin, tanin, fenol dan steroid. Fraksi n-heksan mengandung tannin dan fenol. Fraksi etil asetat mengandung flavonoid, tannin, fenol dan steroid. Fraksi air mengandung saponin dan fenol. Hasil penelitian Suryani *et al.*, (2017), menyatakan bahwa fraksi n-heksan dari ekstrak etanol daun pandan wangi mengandung senyawa kimia fenolik dan steroid sedangkan fraksi etil asetat dari ekstrak etanol pandan wangi mengandung alkaloid, flavonoid, fenolik, steroid, dan saponin.

Pelarut yang digunakan untuk melarutkan fraksi adalah Dimetil Sulfoksida (DMSO). Dimetil Sulfoksida (DMSO) merupakan salah satu pelarut yang dapat melarutkan hampir semua senyawa baik polar, semipolar, dan nonpolar serta penggunaan DMSO tidak berpengaruh terhadap proliferasi sel (Ersita & Kardewi, 2016).

Dari hasil uji aktivitas sitotoksik terhadap fraksi-fraksi dengan berbagai konsentrasi uji diketahui semakin meningkat konsentrasi uji, nilai persentase dari kematian juga semakin meningkat, pada konsentrasi 1000 µg/mL terjadi 100 % kematian larva pada fraksi n-heksan dan etil asetat, tetapi pada fraksi air persentase kematian tidak hanya 46, 6% (Tabel I).

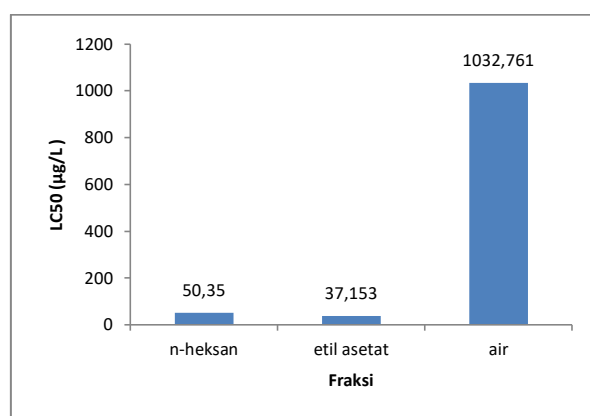
Tabel I. Persentase kematian hewan uji

Fraksi	Konsentrasi	Persentase kematian (%)
<i>n</i> -heksan	1000	100 %
	100	36,6 %
	10	16,6 %
Etil Asetat	1000	100 %
	100	66,6 %
	10	16,6 %
Air	1000	46,6 %
	100	40 %
	10	23,3 %

Hasil uji aktivitas sitotoksik dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) diperoleh nilai LC_{50} dari fraksi *n*-heksan sebesar 50,350 $\mu\text{g/L}$, fraksi etil asetat 37,153 $\mu\text{g/L}$, dan fraksi air sebesar 1032,761 $\mu\text{g/L}$. Nilai $LC_{50} < 30$ $\mu\text{g/L}$ dengan kategori sangat toksik, 30 - 1000 $\mu\text{g/L}$ dengan kategori toksik, $> 1000 \mu\text{g/L}$ tidak toksik.

Pada hasil penelitian ini didapat nilai toksik pada fraksi etil asetat dan *n*-heksan. Kandungan kimia pada kedua

fraksi diantaranya mengandung flavonoid dan fenol pada fraksi etil asetat dan senyawa fenol pada fraksi *n*-heksan, dimana senyawa kimia flavonoid dan fenol diduga kuat memiliki aktivitas sebagai antikanker. Pada fraksi air didapat nilai tidak toksik walaupun terdapat kandungan senyawa kimia fenol, diduga senyawa fenol pada fraksi air tidak mendominasi, sehingga tidak kuat aktivitas antikankernya.

Gambar 1. Nilai LC_{50} fraksi-fraksi

Golongan senyawa flavonoid memiliki mekanisme sebagai antikanker karena flavonoid sebagai antioksidan yaitu melalui mekanisme pengaktifan jalur apoptosis sel kanker. Mekanisme apoptosis sel pada teori ini akibat fragmentasi DNA. Fragmentasi ini diawali dengan dilepasnya rantai proksimal DNA oleh senyawa

oksigen reaktif seperti radikal hidroksil. Efek lainnya adalah flavonoid sebagai penghambat proliferasi tumor atau kanker yang salah satunya dengan menghambat aktivitas protein kinase sehingga menghambat jalur transduksi sinyal dari membran ke sel inti. Flavonoid menghambat aktivitas reseptor tirosin

kinase, karena aktivitas reseptor tirosin kinase meningkat berperan terhadap keganasan sel kanker (Ren *et al.*, 2003).

KESIMPULAN

Dari penelitian dapat disimpulkan bahwa fraksi dari ekstrak etanol *Pandanus amaryllifolius* memiliki aktivitas sitotoksik.

SARAN

Disarankan pada peneliti selanjutnya untuk melakukan uji aktifitas sitotoksik fraksi *Pandanus amaryllifolius* dengan menggunakan metode Microtetrazolium.

DAFTAR RUJUKAN

- Arifianti, L., Sukardiman., Studiawan, H., Rakhmawati., & Megawati, L. (2014). Uji aktivitas ekstrak biji sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap sel kanker mamalia secara *in vitro*. *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 1(2), 63-66.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2008). *Farmakope herbal Indonesia*. (Edisi I). Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dewanti, N. I., & Sofian, F. F. (2017). Aktivitas farmakologi ekstrak etil asetat daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.). *Jurnal Farmaka*, 15(2), 186-194.
- Ersita & Kardewi. (2016). Uji efektivitas antibakteri fraksi aktif daun sirsak (*Annona Muricata* Linn) terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal Kesehatan Bina Husada*, 11(4). 1-9.
- Hariana, A. (2013). *262 Tumbuhan obat dan khasiatnya*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Harmita & Radji, M. (2008). *Buku ajar analisis hayati*. (Edisi III). Jakarta: EGC.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2010). *Suplemen I Farmakope Herbal Indonesia*. Jakarta: Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. E., & Mclaughlin, J. L. (1982). Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plants constituent. *Journal Medical Plant Res*, 45(05), 31-34.
- Sukandar, D., Hermanto, S., & Lestari, E. (2008). Uji toksisitas ekstrak daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) dengan metode brine shrimp lethality test (BSLT). *Jurnal Kimia Valensi*, 2(1), 63-70.
- Suryani, L. C., Tamaroh, S., Ardiyan, A., Setyowati, A. (2017). Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun pandan (*Pandanus amaryllifolius*) dan fraksi-fraksinya. *Agritech*, 37(3), 271-279.
- Ren, W., Qiau, Z., Wang, H., Zhu, L., & Zhang, L. (2003). Flavonoids: promising anticancer agent. *Medical Research Review*, 23(4), 519-534.