

UJI SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL RIMPANG TEMU HITAM (*Curcuma aeruginosa* Roxb.) TERHADAP LARVA UDANG (*Artemiasalina* Leach)

Vina Hidayana¹⁾

¹Akademi Farmasi Imam Bonjol
email : vinahidayana@yahoo.co.id

Abstrak

Telah dilakukan penelitian tentang uji sitotoksik ekstrak etanol rimpang temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb.) terhadap larva udang (*Artemia salina* Leach). Ekstrak rimpang temu hitam diperoleh dari proses maserasi menggunakan etanol 96%. Dari uji skrining fitokimia yang memperlihatkan adanya senyawa flavonoid, saponin dan terpenoid. Uji sitotoksik dilakukan dengan metoda *Brine Shrimp Lethality Test* dengan konsentrasi ekstrak 10.000 ppm, 1.000 ppm dan 100 ppm. Dari uji sitotoksik ekstrak etanol rimpang temu hitam diperoleh nilai LC_{50} sebesar 316,23 ppm.

Keywords : *Temu hitam, Sitotoksik, BSLT*

Abstract

Has conducted research on the cytotoxic test of the ethanol extract of temu hitam rhizome (Curcuma aeruginosa Roxb.) Against larval shrimp (Artemia salina Leach). Temu hitam rhizome extract obtained from the maceration process using 96% ethanol. Of phytochemical screening test that showed flavonoids, saponins and terpenoids. Cytotoxic test conducted by the method of Brine Shrimp Lethality Test with konsentrasi ekstrak 10,000 ppm, 1,000 ppm and 100 ppm. Cytotoxic test of the ethanol extract of the rhizome of black meeting obtained value LC_{50} sebesar 316.23 ppm.

Keywords : *Temu hitam, Cytotoxic, BSLT*

1. PENDAHULUAN

Sejak zaman dahulu masyarakat Indonesia mengenal dan menggunakan tanaman berkhasiat obat sebagai salah satu upaya menanggulangi berbagai masalah kesehatan. Penggunaan tanaman obat untuk penyembuhan suatu penyakit didasarkan pada pengalaman yang secara turun-temurun dari suatu generasi ke generasi berikutnya (Anonim, 2008). Saat ini, tumbuhan secara fungsional tidak lagi dipandang sebagai bahan konsumsi maupun tanaman hias tetapi juga sebagai tanaman obat. Mengingat biaya pengobatan yang tidak bisa terjangkau oleh semua orang, pengobatan alamiah dengan tanaman obat tradisional dipandang sebagai pengobatan alternatif (Widyaningrum, 2011).

Salah satu tanaman obat yang dijadikan sebagai obat tradisional adalah temu hitam

(*Curcuma aeruginosa* Roxb.). Tanaman temu hitam biasanya digunakan untuk menambah nafsu makan, membersihkan darah setelah melahirkan, batuk berdarah, menyembuhkan sesak nafas, mengatasi penyakit kulit, mengatasi perut mulas, menyembuhkan luka, sariawan dan mengatasi penyakit cacangan (Suparni, 2012). Tumbuhan ini mengandung minyak atsiri, saponin, polifenol dan flavonoid (Anonim, 2008). Temu hitam diduga memiliki aktivitas sitotoksik karena mengandung senyawa flavonoid yang dikenal memiliki aktivitas antikanker (Srisadono, 2008).

Kanker adalah suatu penyakit yang disebabkan oleh pertumbuhan sel-sel jaringan tubuh yang tidak normal. Sel-sel kanker akan berkembang dengan cepat dan tidak terkendali kemudian menyerang organ-organ penting serta

saraf tulang belakang. Di Indonesia, jumlah penderita kanker belum diketahui secara pasti tetapi peningkatannya dari tahun ke tahun dapat dibuktikan sebagai salah satu penyebab utama kematian (Mangan, 2010).

Berdasarkan uraian diatas, penulis tertarik untuk mengetahui aktivitas sitotoksik ekstrak etanol rimpang temu hitam berdasarkan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menemukan manfaat lain dari temu hitam dengan melihat aktivitas sitotoksik dari tanaman temu hitam. Adapun manfaat dari penelitian ini adalah untuk melihat dan memberikan informasi ada atau tidaknya efek sitotoksik dan mengaplikasikan ilmu yang telah diperoleh.

II. METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan adalah pisau, timbangan, botol kaca gelap, corong, , satu set alat *rotary evaporator*, pipet tetes, tabung reaksi, gelas ukur, rak tabung reaksi, spatula, timbangan analitik, oven, vial, desikator, aquarium, aerator dan lampu 5 watt.

Bahan

Bahan yang digunakan antara lain rimpang temu hitam yang diambil di daerah Gadut, etanol 96%, kloroform, amoniak, $H_2SO_4 2N$, pereaksi mayer, serbuk Mg atau HCl pekat, $FeCl_3$, asam asetat anhidrat, aluminium foil, kapas, DMSO (*Dimethyl Sulfokside*), air laut. Hewan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah larva udang (*Artemia salina* Leach).

Cara Kerja

Pengambilan Sampel dan Proses Ekstraksi

Sampel yang digunakan adalah rimpang temu hitam yang diambil di daerah Gadut, Bukittinggi sebanyak 3,5 kg. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dimana rimpang temu hitam dicuci bersih kemudian dirajang kecil-kecil kemudian ditimbang dan dimasukkan kedalam botol gelap, tambahkan pelarut sampai rimpang temu hitam terendam. Perendaman dilakukan selama 5 hari sebanyak 3 kali. Hasil rendaman disaring dengan kertas saring dan kapas untuk mendapatkan maserat yang murni tanpa

pengotor. Maseratnya dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator*.

Pemeriksaan Kandungan Kimia

Ekstrak etanol rimpang temu hitam diperiksa kandungan kimianya, untuk uji alkaloid dilakukan dengan metoda *Culvenol-Firzgerald*. Ekstrak dilarutkan dalam 10 ml kloroform dan 10 ml kloroform amoniak 0,05 N kemudian dikocok, ditambahkan 10 tetes $H_2SO_4 2 N$ kocok selama 2 menit, ambil lapisan asam tambahkan pereaksi mayer, bila terbentuk endapan putih berarti positif alkaloid.

Untuk senyawa terpenoid, steroid, flavonoid, fenol, dan saponin menggunakan metode simmes, ekstrak ditambahkan 5 ml kloroform dan 5 ml air kemudian dikocok, diamkan beberapa menit sampai terbentuk dua lapisan dan pisahkan. Lapisan kloroform digunakan untuk pemeriksaan terpenoid dan steroid dengan penambahan asam asetat anhidrat, warna merah menandakan adanya terpenoid, warna biru menandakan adanya steroid. Lapisan air untuk pengujian flavonoid dengan penambahan logam Mg/HCl pekat, warna merah menandakan adanya flavonoid, senyawa fenol menggunakan $FeCl_3$ reaksi positif jika timbul warna biru kehitaman dan saponin dengan menggunakan tes busa.

Pemeriksaan Susut Pengerinan

Penetapan susut pengeringan dilakukan dengan cara 1-2 gram sampel ditimbang dan dimasukan kedalam scall yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu $105^{\circ}C$ selama 30 menit yang telah ditara. Simplisia ditarakan dalam scall dengan menggoyangkan scall hingga merata. Masukkan kedalam oven, panaskan pada temperatur $105^{\circ}C$, timbang dan ulangi pemanasan sampai didapat berat konstan (Anonim, 1974).

Uji Sitotoksik

Uji toksisitas dilakukan seperti berikut :

1. Persiapan hewan uji: terlebih dahulu siapkan bejana atau aquarium untuk penetasan telur udang. Wadah yang digunakan dibagi menjadi 2 bagian yaitu bagian gelap dan bagian terang kemudian masukkan air laut. Satu ruangan dalam aquarium diberi penerangan dan ruangan sebaliknya ditutup dengan aluminium atau lakban hitam. Lalu telur *Artemia Salina* direndam pada bagian yang gelap dan dibiarkan selama 1x24 jam.

2. Pembuatan larutan uji:
 - a. Semua vial yang digunakan dibersihkan dan dikalibrasi 10 ml.
 - b. Buat larutan induk 100.000 ppm sebanyak 10 ml dengan cara menimbang ekstrak sebanyak 1 gram kemudian larutkan dengan etanol 96% ad 10 ml.
 - c. Untuk membuat konsentrasi 10.000 ppm dipipet dari larutan induk untuk 4 vial sebanyak 1 ml tiap vialnya. 3 vial pertama diberi label larutan uji 10.000 ppm kemudian masukkan dalam oven selama \pm 2 jam dengan suhu 60°C. 1 vial berikutnya ditambahkan etanol 96% ad 10 ml, lalu beri label konsentrasi 10.000 ppm.
 - d. Untuk larutan uji 1.000 ppm, dipipet dari larutan konsentrasi 10.000 ppm 1 ml tiap vial sebanyak 4 vial. 3 vial beri label larutan uji 1.000 ppm dan masukkan kedalam oven selama \pm 2 jam pada suhu 60°C.
 - e. Untuk 1 vial berikutnya ditambahkan etanol 96% ad 10 ml dan beri label konsentrasi 1.000 ppm.
 - f. Untuk larutan uji 100 ppm dipipet dari konsentrasi 1.000 ppm 1 ml tiap vial sebanyak 3 vial. Kemudian masukkan ke dalam oven selama \pm 2 jam pada suhu 60°C.
 - g. Keluarkan larutan uji setelah mengental atau \pm 2 jam di oven. Lalu tambahkan 2 tetes DMSO ke dalam masing-masing vial untuk menambah kelarutan ekstrak dan aduk sampai homogen.
 - h. Tambahkan tiap-tiap vial air laut sebanyak \pm 4 ml.
 - i. Tambahkan 10 ekor larva udang *Artemia Salina* Leach yang berumur 24 jam dimasukkan ke dalam masing-masing vial. Lalu tambahkan air laut sampai 10 ml.
 - j. Sediakan 1 vial untuk kontrol, lalu masukkan 4 ml air laut dan 2 tetes DMSO dan 10 ekor larva udang *Artemia Salina* Leach. Kemudian tambahkan air laut sampai 10 ml. selanjutnya vial-vial tersebut disimpan dibawah penerangan selama 24 jam.
 - k. Amati jumlah larva udang *Artemia Salina* Leach yang mati tiap vial. Dengan kriteria standar untuk menilai kematian larva udang *Artemia Salina* Leach bila tidak

terjadi pergerakan selama beberapa detik observasi.

1. Hitung nilai LC₅₀.

Pengolahan Data

Pengolahan data dihitung dengan membandingkan jumlah hewan yang mati dengan jumlah total larva uji. Rumus yang digunakan adalah rumus perhitungan LC₅₀ Farmakope Indonesia III, yaitu

$$M = a - b (\sum \pi_i - 0,5)$$

Dimana : M = log dosis LC₅₀
 a = logaritma dosis terendah masih menyebabkan kematian 100%
 b = beda log dosis
 pi = (jumlah kematian/ jumlah larva awal) x 100%

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini sampel yang digunakan adalah rimpang temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb.) yang diambil di daerah Gadut, Bukittinggi seberat 3,5 kg. Bentuk rimpang temu hitam dapat (Dilihat pada Gambar 1) Rimpang temu hitam dicuci bersih dengan tujuan supaya zat-zat pengotor tidak terbawa. Kemudian rajang kecil-kecil untuk meningkatkan kehalusan sampel sehingga permukaannya semakin besar dan memudahkan dalam pengambilan kandungan kimia oleh bahan pelarut (Djamal, 2010). Tujuan pemilihan botol gelap karena cahaya yang menembus botol dikhawatirkan akan mengoksidasi senyawa yang terkandung didalamnya.



Gambar 1. Temu Hitam (*Curcuma Aeruginosa* Roxb.)

Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode maserasi dengan menggunakan etanol 96%. Metode maserasi dipilih karena cara pengerjaan mudah, alat-alat yang digunakan sederhana dan dapat menarik zat-zat berkhasiat dari simplisia, baik simplisia yang tidak tahan pemanasan dan yang tahan pemanasan (Djamal, 2010). Pelarut etanol digunakan karena merupakan pelarut universal, menyebabkan enzim-enzim tidak bekerja, menghalangi pertumbuhan jamur dan sebagian besar bakteri sehingga juga digunakan sebagai pengawet (Syamsuni, 2006). Proses maserasi dilakukan selama 5 hari dengan sesekali diaduk, kemudian disaring dengan kapas agar maserat terbebas dari partikel-partikel. Penyarian dilakukan sebanyak 3 kali dan setiap penambahan pelarut harus terukur. Proses pemisahan pelarut dengan ekstrak, menggunakan *rotary evaporator*. Proses ini dilakukan sampai tidak ada lagi pelarut yang menetes pada labu *rotary evaporator*. Ekstrak kental yang diperoleh sebanyak 75,04 gram.

Penetapan susut pengeringan dilakukan untuk mengetahui batasan maksimal (rentang) tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan. Prinsip dari susut pengeringan adalah pengukuran sisa zat setelah pengeringan pada temperatur 105°C selama 30 menit atau sampai berat konstan, yang dinyatakan sebagai nilai porsen. Hasil susut pengeringan ekstrak etanol rimpang temu hitam sebesar 15,31%. Pada uji skrining fitokimia,

ekstrak etanol temu hitam positif mengandung flavonoid, saponin dan terpenoid.

Untuk pengujian sitotoksik digunakan metoda *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Metoda ini digunakan karena mudah, cepat, murah dan merupakan salah satu metoda uji toksisitas yang banyak digunakan dalam penelusuran senyawa bioaktif yang bersifat toksik dari bahan alam. Metoda ini menggunakan hewan uji *Artemia salina* Leach atau *Brine Shrimp* karena pertumbuhannya cepat seperti sel kanker (Radji, 2008). Terlebih dahulu, telur *Artemia salina* Leach ditetaskan di dalam aquarium tertutup yang berisi air laut dan disertai dengan aerator dan lampu 5 watt.

Tabel 1. Hasil Uji Sitotoksik

Tujuan penggunaan aerator adalah untuk menyuplai oksigen dan penggunaan lampu sebagai sumber cahaya. Dimana saat larva udang sudah menetas, larva tersebut akan mencari cahaya dari lampu tersebut. Larva yang siap digunakan adalah larva yang telah berumur 24 jam karena biasanya telur-telur sudah menetas menjadi larva dalam waktu 24-36 jam

Pada pengujian LC_{50} menggunakan larutan DMSO pada masing-masing larutan uji. Tujuan dari penggunaan DMSO adalah untuk meningkatkan kelarutan dari ekstrak. Kemudian dibuat larutan kontrol sebagai pembanding yang bertujuan untuk memastikan bahwa air laut tidak bersifat toksik.

Dari pengujian tersebut, dapat diketahui bahwa ekstrak etanol rimpang temu hitam memberikan aktifitas sitotoksik dengan LC_{50} sebesar 316,23 ppm. Nilai tersebut menunjukkan aktifitas sitotoksik karena ekstrak dinyatakan aktif apabila nilai LC_{50} lebih kecil dari 1.000 ppm (Radji, 2008). Temu hitam diduga memiliki aktivitas antikanker karena memiliki senyawa flavonoid (Kardinan, 2003). Dan menurut penelitian Samalewa (2010) terhadap temu putih (*Curcuma Zedoaria*) senyawa yang memiliki aktivitas antikanker adalah flavonoid.

| Konsentrasi Ekstrak | Log dosis | Jumlah hewan awal | Jumlah hewan mati | Total kematian hewan uji | Rata-rata |
|---------------------|-----------|-------------------|-------------------|--------------------------|-----------|
| Kontrol | - | 10 | 0 | 0 | 0 |
| 10.000 ppm | 4 | 10 10 10 | 10 10 10 | 30 | 10 |
| 1.000 ppm | 3 | 10 10 10 | 8 9 10 | 27 | 9 |
| 100 ppm | 2 | 10 10 10 | 3 0 0 | 3 | 1 |

IV. KESIMPULAN DAN SARAN

Dari pengujian aktifitas sitotoksik dengan menggunakan metoda *Brine Shrimp Lethality Test* diketahui bahwa ekstrak etanol rimpang temu hitam (*Curcuma Aeruginosa* Roxb) menunjukkan adanya aktifitas sitotoksik dengan LC₅₀ sebesar 316,23 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

Anonim, 1995, *Farmakope Indonesia*, Edisi III, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.

Anonim, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Cetakan 1, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.

Anonim, 2009, *Buku Saku Pencegahan Kanker Leher Rahim dan Kanker Payudara*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.

Anonim, R, 2008, *Sehat dengan Tanaman Obat*, Agromedia Pustaka, Tangerang.

Anonim, 2012, *Penuntun Farmakologi dan Toksikologi III*, UMI, Makasar.

Anonim, 1985, *Tanaman Obat Nasional*, jilid 2, hal 49, Direktorat Jenderal Pengawas obat dan Makanan, Jakarta.

Djamil, R., 2010, *Kimia Bahan Alam Prinsip-Prinsip Dasar Isolasi dan Identifikasi*, Penerbit Universitas Baiturrahmah, Padang.

Handa, S.S., et al, 2008, *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*, International Centre for Science and High Technology, Trieste.

Handayani, L & Maryani, H., 2002, *Mengatasi Penyakit Anak dengan Ramuan Tradisional*, Agromedia, Tangerang.

Hofstetter, L & Sheldon, C., 2012, *Standard Operating Procedure*, Departement Chemistry, Ucdavis Safety Services Environmental Health and Safety, University of California, United Stated of Amerika.

Kardinan, A & Taryono, 2003, *Tanaman Obat Penggempur Kanker*, Agromedia Pustaka, Tangerang.

Mahyuddin, K., 2010, *Panduan Lengkap Agribisnis Patin*, Penebar Swadaya, Bogor.

Mangan, Y., 2010, *Solusi Sehat Mencegah dan Mengatasi Kanker*, Agromedia Pustaka, Jakarta.

Mangan, Y., 2003, *Cara Bijak Menaklukkan Kanker*, Agromedia Pustaka, Jakarta.

- Meilani, S., W., 2006, Uji Bioaktivitas Zat Ekstraktif Kayu Suren (*Toona sureni Meer*) dan Ki Bonteng (*Plantea Latifolia BL.*) Menggunakan Brine Shrimp Lethality Test (BSLT), *Skripsi* Fakultas Kehutanan, IPB, Bogor.
- Nurrohmad, A., 2004, *Paradigma Baru Kurkumin dan Aktivitasnya sebagai Antikanker*, *Skripsi* Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta.
- Radji, M., 2008, *Analisis Hayati*, Edisi 3, Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Sukmono, R., J., 2009, *Mengatasi Aneka Penyakit dengan Terapi Herba*, Agromedia Pustaka, Tangerang..
- Syamsuni, H., A., 2007, *Ilmu Resep*, Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Widyaningrum, H., 2011, *Kitab Tanaman Obat Nusantara*, MedPress, Yogyakarta.
- Wijoyo, P., M., 2008, *Sehat dengan Tanaman Obat*, Bee Media Indonesia, Jakarta.