

Skrining Pendahuluan Toksistas Beberapa Tumbuhan Benalu terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach

DANTI NUR INDIASTUTI¹, SRI PURWANINGSIH¹, YUANI SETIAWATI¹,
NOOR CHOLIES^{2*}

¹Departemen Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

²Departemen Farmakognosi-Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Airlangga

Diterima 18 Desember 2007, Disetujui 21 Agustus 2008

Abstract: The brine shrimp lethality test (BSLT) is considered as a useful tool for preliminary assessment of toxicity. It has also been suggested for screening of pharmacological activities of plant extracts. The bioactivity of eight methanol extracts of four parasite plants and two host plants were evaluated using the brine shrimp lethality assay. The results showed that all methanol extracts of the host plants did not have any indication of toxicity. The LC_{50} of methanol extract of *Moringa pterygosperma* stem was 1085.44 ± 84.32 $\mu\text{g/ml}$, and of *Ficus retusa* stem was 1240.86 ± 50.71 $\mu\text{g/ml}$. But methanol extracts of whole parts of parasite plants showed toxicity to *Artemia salina* Leach. The LC_{50} of methanol extract of *Loranthus peretandrus* herb parasite was 175.66 ± 29.24 $\mu\text{g/ml}$ while that of *Elytranthe evenia* leaf parasite was 327.15 ± 38.66 $\mu\text{g/ml}$; of *Elytranthe evenia* stem parasite was 320.39 ± 39.57 $\mu\text{g/ml}$; of *Elytranthe evenia* flower parasite was 456.79 ± 15.69 $\mu\text{g/ml}$; of *Scurulla atropurpurea* herb parasite was 176.44 ± 28.46 $\mu\text{g/ml}$; and of *Viscum articulatum* parasite was 53.79 ± 10.83 $\mu\text{g/ml}$.

Key words: Brine shrimp lethality test, *Artemia salina* Leach, tumbuhan benalu.

PENDAHULUAN

MASYARAKAT di berbagai negara sudah lama memanfaatkan benalu untuk menyembuhkan berbagai penyakit kanker termasuk *Scurulla atropurpurea* (Bl.) Danser^(1,2,3,4,5). Poliklinik Obat Tradisional Rumah Sakit Umum Dr. Soetomo Surabaya Indonesia juga telah menggunakan *Viscum articulatum* Burm. F. sebagai pengobatan antikanker. Di samping itu, berbagai macam tumbuhan benalu juga dapat digunakan sebagai antikanker^(6,7,8,9,10).

Beberapa penelitian dari tumbuhan benalu telah banyak dipublikasikan, namun masih jarang dilakukan penelitian dari bagian tumbuhan benalu yaitu batang, daun, bunga, dan herba serta menentukan skrining pendahuluan toksistas terhadap larva udang *Artemia salina* Leach dari tanaman inangnya, *Moringa pterygosperma* Gaertn. N.W. dan *Ficus retusa* L. Dalam penelitian ini akan diuji herba yang sering digunakan oleh poliklinik obat tradisional sebagai antikanker, yaitu *Scurulla atropurpurea* (Bl.) Danser dan *Viscum articulatum* Burm. F.,

sehingga diharapkan dapat diketahui bagian mana yang dapat menunjukkan toksistas terhadap larva udang *Artemia salina* Leach dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

Hasil uji toksistas dengan metode BSLT dapat diketahui dari jumlah kematian larva udang *Artemia salina* Leach karena pengaruh ekstrak atau senyawa bahan alam tumbuhan tertentu dari dosis yang telah ditentukan⁽¹¹⁾. Tingkat toksistas dari ekstrak tumbuhan dapat ditentukan dengan melihat nilai LC_{50} (*lethal concentration*). Apabila nilai LC_{50} kurang dari 1000 $\mu\text{g/ml}$, ekstrak tumbuhan tersebut dikatakan toksik. Tingkat toksistas tersebut akan memberi makna terhadap potensi aktivitasnya sebagai antikanker⁽¹²⁾.

Metode BSLT mempunyai kemampuan dalam mendeteksi 14 di antara 24 ekstrak etanol spesies Euphorbiaceae yang aktif terhadap uji 9-PS (sel leukemia *in vitro* pada tikus) pada penelitian Meyer (1982)⁽¹²⁾, dan kemampuannya mendeteksi 5 di antara 6 senyawa yang aktif terhadap uji sel karsinoma nasofaring pada penelitian Solis (1982), serta banyak penelitian lain yang membuktikan bahwa BSLT dapat memberikan korelasi yang baik terhadap uji tersebut. Selain itu, BSLT memiliki

* Penulis korespondensi, Telp. 0811370941
e-mail: noorcholies@telkom.net

beberapa keuntungan, antara lain pelaksanaannya sederhana, waktu relatif cepat, tidak memerlukan peralatan khusus, menggunakan sedikit sampel, serta tidak memerlukan serum hewan seperti pada metode sitotoksik lainnya^(8,11,12,13).

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Sampel penelitian. Tumbuhan benalu serta tanaman inang *Moringa pterygosperma* Gaertn. N.W. dan *Ficus retusa* L. diambil dari daerah Mulyorejo, Surabaya pada Juli 2007. Determinasi tumbuhan benalu dilakukan oleh Bambang Prayoga dengan kode BN 15 dan BN 16, tersimpan di Departemen Farmakognosi-Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. *Viscum articulatum* Burm. F. dan *Scutellaria atropurpurea* (Bl.) Danser diperoleh dari Poliklinik Obat Tradisional Indonesia Rumah Sakit Umum Dr. Soetomo Surabaya. Bagian tumbuhan yang telah dipisahkan dicuci bersih dengan air, dan dikeringkan dengan diangin-anginkan, tidak di bawah sinar matahari langsung, kemudian ditumbuk dan diayak hingga diperoleh serbuk halus.

Pembuatan ekstrak bahan. Ke dalam 25 gram serbuk bahan ditambahkan metanol sampai tercelup semua, diaduk dengan alat penggetar ultrasonik selama 15 menit, dan disaring. Residu yang diperoleh kemudian ditambah dengan metanol. Prosedur ini seperti di atas diulang tiga kali dengan mengganti pelarut baru. Hasil saringan dijadikan satu, kemudian diuapkan untuk memperoleh ekstrak. Kumpulan ekstrak dikeringkan di dalam oven dengan temperatur 40°C hingga didapatkan ekstrak kering yang siap uji.

Penyiapan larutan sampel (1000 ppm). Sebanyak 10,00 mg ekstrak kering dilarutkan dengan 1 ml DMSO (dimetilsulfoksida) di dalam labu tentukur 10 ml, kemudian volumenya digenapkan dengan air laut hingga 10 ml dan dikocok dengan alat penggetar ultrasonik hingga homogen selama 30 menit. Selanjutnya larutan ini disebut sebagai larutan sampel dengan konsentrasi 1000 ppm (10 mg/10 ml = 1000 µg/ml).

Penyiapan larutan kontrol. Sebanyak 1 ml DMSO dimasukkan ke dalam labu tentukur 10 ml, kemudian ditambah dengan air laut hingga 10 ml dan dikocok dengan alat penggetar ultrasonik selama 30 menit. Larutan kontrol berfungsi untuk menghilangkan pengaruh lain di luar ekstrak uji yang dapat menyebabkan kematian *nauplii*, seperti: salinitas air laut, suhu percobaan, pengotor toksik dari air laut, dan sebagainya. Sebelum digunakan, air laut disaring terlebih dahulu untuk mengurangi

pengotor. Selain itu, perhitungan jumlah larva udang yang mati pada plat uji sampel dari tiap konsentrasi dikurangkan jumlah benur yang mati dari plat uji kontrol.

Penyemaian benur udang. Benur udang ± 30 mg disemaikan dalam 200 ml air laut pada suhu kamar dan di bawah sinar lampu selama 48 jam. Setelah benur udang menetas, larva udang (*nauplii*) siap digunakan.

Uji toksisitas menggunakan metode Meyer. Disiapkan plat mikro standar yang memiliki sumur kecil (volume 400 µl), terdiri dari 12 kolom (kolom ke-1 sampai ke-9 setiap 3 kolom untuk plat uji sampel I, II, III, dan kolom ke-10 sampai ke-12 untuk plat kontrol) dan 8 baris (baris A-H). Ke dalam baris A dan B dimasukkan masing-masing 200 µl larutan sampel pada plat uji, dan masing-masing 200 µl larutan kontrol pada plat kontrol. Larutan pada baris B diencerkan dengan masing-masing 200 µl air laut dan diaduk 3 kali, kemudian dipipet kembali 200 µl dimasukkan ke baris C, demikian seterusnya sampai dengan baris H. Konsentrasi larutan akhir untuk baris A = 1000 ppm, baris B = 500 ppm, baris C = 50% baris B, dan baris D = 50% baris C, dan seterusnya. Sebanyak masing-masing 200 µl air laut yang mengandung 10 larva udang ditambahkan pada tiap sumur.

Inkubasi dilakukan pada suhu kamar selama 24 jam di bawah sinar lampu. Setelah itu dihitung jumlah benur udang yang mati untuk setiap baris dari plat uji sampel. Pada tiap konsentrasi/baris dikurangkan jumlah benur yang mati dari plat uji kontrol. Data hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan program SPSS for Windows XP dengan analisis probit. Ekstrak dikatakan aktif menurut metode BSLT, jika memiliki nilai LC_{50} kurang dari 1000 µg/ml⁽¹²⁾.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi dari kedua benalu menunjukkan bahwa masing-masing benalu adalah dari spesies yang berbeda walau masih dalam satu familia yang sama, yaitu Loranthaceae. Dari hasil determinasi yang diperoleh, benalu tersebut adalah benalu kelor (*Loranthus peretendrus* L.), dan benalu beringin (*Elytranthe evenia* Bl. Ergl.).

Metode BSLT merupakan suatu metode dengan menghitung respons kematian 50% larva udang (LC_{50}), dan mengkorelasikan jumlah kematian larva udang dengan konsentrasi uji. Tingkat toksisitas dari ekstrak tumbuhan dapat ditentukan dengan melihat nilai LC_{50} . Apabila nilai LC_{50} kurang dari 1000 µg/ml, maka ekstrak tumbuhan yang diuji dikatakan toksik.

Tingkat toksisitas tersebut akan memberi makna terhadap potensi aktivitasnya sebagai antikanker⁽¹²⁾.

Hasil penelitian dari 8 ekstrak metanol menunjukkan bahwa ekstrak metanol dari tanaman inang tidak mengindikasikan adanya toksisitas terhadap *Artemia salina* Leach, dengan LC₅₀ ekstrak metanol batang *Moringa pterygosperma* 1085,44±84,32 µg/ml, dan ekstrak metanol batang *Ficus retusa* 1240,86±50,71 µg/ml. Namun ekstrak metanol dari semua bagian benalu menunjukkan toksisitas terhadap *Artemia salina* Leach. LC₅₀ ekstrak metanol herba benalu *Loranthus peretandrus* 175,66±29,24 µg/ml; LC₅₀ ekstrak metanol daun benalu *Elytranthe evenia* 327,15±38,66 µg/ml; LC₅₀ ekstrak metanol batang benalu *Elytranthe evenia* 320,39±39,57 µg/ml; LC₅₀ ekstrak metanol bunga benalu *Elytranthe evenia* 456,79±15,69 µg/ml; LC₅₀ ekstrak metanol herba benalu *Scurulla atropurpurea* 176,44±28,46 µg/ml; dan LC₅₀ ekstrak metanol herba benalu *Viscum articulatum* 53,79±10,83 µg/ml.

Aktivitas tertinggi diperoleh dari ekstrak metanol herba benalu *Loranthus peretandrus* dengan nilai LC₅₀ sebesar 175,66±29,24 µg/ml. Ekstrak ini jika dibandingkan dengan ekstrak metanol *Scurulla atropurpurea* mempunyai kekuatan yang sama (176,44±28,46 µg/ml), dan jika dibandingkan dengan ekstrak metanol *Viscum articulatum* (53,79±10,83 µg/ml) kekuatannya sebesar 0,3 kali. Sementara itu, ekstrak batang tanaman inang *Loranthus peretandrus* tidak menunjukkan toksisitas terhadap larva udang *Artemia salina* Leach, yang berarti kemungkinan besar komponen tanaman inang berbeda dari benalu *Loranthus peretandrus* L. Dari penulisan literatur belum dilaporkan penelitian tumbuhan benalu *Loranthus peretandrus* L. dalam skrining pendahuluan toksisitas, maupun aktivitas antikanker.

Dari data di atas dapat disarankan untuk dilakukan penelitian lanjutan dari benalu *Loranthus peretandrus* L., baik terkait profil metabolisme sekunder dibandingkan dengan tanaman inang maupun struktur senyawa

Tabel 1. Hasil uji dan penentuan LC₅₀ dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dari 8 ekstrak metanol benalu dan tanaman inang (n=3).

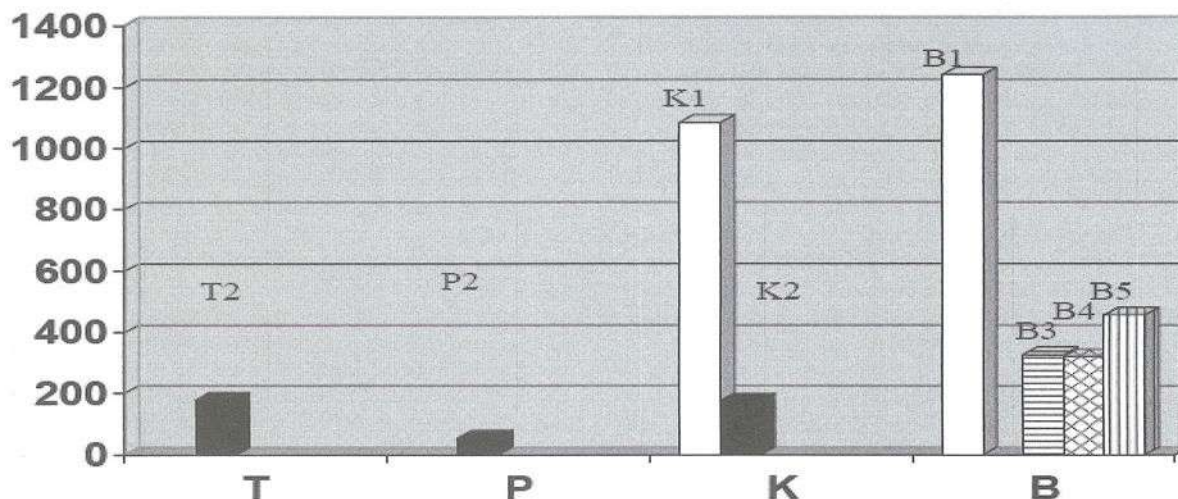
No.	Ekstrak metanol (10 mg)	Angka kematian <i>Artemia salina</i> Leach dari 10 larva udang								LC ₅₀ (µg/ml)
		Konsentrasi (ppm)								
		1000	500	250	125	62,5	31,25	16,63	7,82	
1.	Batang tanaman	3	1	0	0	0	0	0	0	1085,44±84,32
	<i>Moringa pterygosperma</i>	4	2	1	0	0	0	0	0	
		5	1	0	0	1	0	0	0	
2.	Herba benalu	10	9	6	6	5	3	3	2	175,66±29,24
	<i>Loranthus peretandrus</i>	10	9	5	5	4	2	3	1	
		10	8	7	3	5	4	2	1	
3.	Batang tanaman	3	1	0	0	0	0	0	0	1240,86±50,71
	<i>Ficus retusa</i>	3	1	0	1	0	0	0	0	
		10	6	4	4	3	2	1	1	
4.	Daun benalu	10	7	5	3	3	2	2	1	327,15±38,66
	<i>Elytranthe evenia</i>	9	7	4	4	2	3	1	1	
		9	9	3	1	3	3	3	1	
5.	Batang benalu	10	7	3	3	2	2	0	1	320,15±39,57
	<i>Elytranthe evenia</i>	10	9	1	4	2	2	2	4	
		8	5	4	5	2	2	2	2	
6.	Bunga benalu	9	6	3	3	2	2	1	0	456,79±15,69
	<i>Elytranthe evenia</i>	8	6	4	3	3	1	2	0	
		10	9	8	5	4	2	2	1	
7.	Herba benalu	10	7	7	6	4	3	2	0	176,44 ± 28,46
	<i>Scurulla atropurpurea</i>	10	8	9	7	4	2	1	1	
		10	10	9	9	8	6	3	1	
8.	Herba benalu	10	10	9	8	7	6	2	0	53,79±10,83
	<i>Viscum articulatum</i>	10	10	9	9	7	6	3	0	
		10	10	9	9	7	6	3	0	

Catatan:

Perhitungan jumlah larva udang yang mati untuk setiap baris dari plat uji sampel pada tiap konsentrasi dikurangkan jumlah benur yang mati dari plat uji kontrol. Data hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan program *SPSS for Windows XP* dengan analisis probit.

aktif hasil isolasi, kemudian dilakukan uji aktivitas antikanker dengan menggunakan kultur sel kanker, sel P 388, atau secara *in vivo* menggunakan hewan coba.

Pada akhirnya perlu dilakukan standarisasi untuk dikembangkan menjadi fitofarmaka.



Gambar 1. Harga LC₅₀ dari 8 ekstrak metanol dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT).

Keterangan:

- T2: Ekstrak metanol herba benalu *Scurulla atropurpurea*
 P2: Ekstrak metanol herba benalu *Viscum articulatum*
 K1: Ekstrak metanol batang tanaman *Moringa pterygosperma*
 K2: Ekstrak metanol herba benalu *Loranthus peretendrus*
 B1: Ekstrak metanol batang tanaman *Ficus retusa*
 B3: Ekstrak metanol daun benalu *Elytranthe evenia*
 B4: Ekstrak metanol batang benalu *Elytranthe evenia*
 B5: Ekstrak metanol bunga benalu *Elytranthe evenia*

SIMPULAN

Ekstrak metanol dari tanaman inang tidak menunjukkan toksisitas terhadap larva *Artemia salina* Leach seperti yang ditunjukkan oleh LC₅₀ ekstrak metanol batang *Moringa pterygosperma* (1085,44±84,32 µg/ml) dan ekstrak metanol batang *Ficus retusa* (1240,86±50,71 µg/ml).

Ekstrak metanol semua bagian benalu menunjukkan toksisitas terhadap larva *Artemia salina* Leach karena LC₅₀ ekstrak metanol herba benalu *Loranthus peretandrus* 175,66±29,24 µg/ml, LC₅₀ ekstrak metanol daun benalu *Elytranthe evenia* 327,15±38,66 µg/ml; LC₅₀ ekstrak metanol batang benalu *Elytranthe evenia* 320,39±39,57 µg/ml; LC₅₀ ekstrak metanol bunga benalu *Elytranthe evenia* 456,79±15,69 µg/ml; LC₅₀ ekstrak metanol herba benalu *Scurulla atropurpurea* 176,44±28,46 µg/ml; dan LC₅₀ ekstrak metanol herba benalu *Viscum articulatum* 53,79±10,83 µg/ml.

Aktivitas tertinggi diperoleh dari ekstrak metanol herba benalu *Loranthus peretandrus* yang memiliki kekuatan yang sama dengan ekstrak metanol *Scurulla atropurpurea*, dan jika dibandingkan dengan ekstrak

metanol *Viscum articulatum* kekuatan toksisitasnya sebesar 0,3 kali.

DAFTAR PUSTAKA

- Novik N. Traditional microbial-extraction of essential selenium from tea epiphytic-parasitic medicinal plants used by the people in Gunung Gede biosphere reserve, Indonesia. UNESCO Man and Biosphere Young Scientists Award, 2002.
- Nugroho YA, Nuratmi B, Suhardi. Daya hambat benalu teh (*Scurulla atropurpurea* (Bl.) Danser) terhadap proliferasi sel tumor kelenjar susu mencit (*Mus musculus* L) C3H. Cermin Dunia Kedokteran. 2000.(127):15-7.
- Winarno MW, Sundari S, Nuratmi B. Penelitian aktivitas biologik infus benalu teh (*Scurulla atropurpurea* (Bl.) Danser) terhadap aktivitas sistim imun mencit. Cermin Dunia Kedokteran. 2000.(127):11-4.
- Pasha IB. Penelitian pendahuluan kandungan benalu teh (*Scurulla atropurpurea* (Bl.) Danser). Disampaikan dalam Simposium Penelitian Tumbuhan Obat V, Perhimpunan Peneliti Bahan Alam, Surabaya, 1996.
- Kardono BS. Beberapa senyawa terisolasi dari benalu teh (*Scurulla atropurpurea* (Bl.) Danser). Disampaikan dalam Simposium Penelitian Tumbuhan Obat V, Perhimpunan Peneliti Bahan Alam, Surabaya, 1995.

6. Lazuardi M. Aktivitas antiproliferatif ekstrak kloroform benalu duku (*Loranthaceae dendrophthoe Spec.*) terhadap sel kanker secara *in vitro*. Jurnal Oftalmologi Indonesia. 2007.5(1):65-9.
7. Ma'at S. Pengobatan kanker menggunakan bahan obat alami dalam pertemuan strategi penanggulangan kanker nasional, Jakarta, 2001.
8. Sukardiman, Santa IGP, Rahmadany. Efek antikanker isolat flavonoid dari herba mangga (*Dendrophthoe petandra*). Cermin Dunia Kedokteran. 1999.122:5-8.
9. Santa IGP. Studi kemotaksonomi-farmakognosi benalu antikanker (*Scurulla atropurpurea* (Bl.) Danser) dan *Dendrophthoe petandra* (L.) Miq. Disampaikan dalam Seminar Nasional ke-IX. Penggalan, Pelestarian, Pengembangan dan Pemanfaatan Tumbuhan Obat, Yogyakarta 21-22 September, 1995.
10. Leswara ND. Perbandingan daya antioksidan beberapa jenis benalu menggunakan metode spektrofotometri. Disampaikan dalam Seminar POKJANAS TOI. IX. Yogyakarta, 1995.
11. Mc. Laughlin JL. Assay for Bioactivity. Grown gall tumours on potato disc and brine shrimp lethality: two simple bioassay for higher plant screening and fractionation, methods in plant biochemistry. Vol. 6. London:, Academic Press; 1991.
12. Meyer, Laughlin, Ferrigni. Brine shrimp: convenient general bioassay for active constituents. *Planta Medica*. 1982.(45):31-4.
13. Anderson JE, Mc. Laughlin JL. A blind comparison of simple bench top bioassay and human tumor cell cytotoxicities as antitumor prescreens. *Phytochemical Analysis*. 1991.(2):107-11.