

**SKRINING FITOKIMIA DAN UJI SITOTOKSISITAS EKSTRAK ETANOL
DAUN UNGU (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) DENGAN
METODE BSLT**

**PHYTOCHEMICAL SCREENING AND CYTOTOXICITY TEST OF DAUN UNGU
(*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) ETHANOL EXTRACT WITH
BSLT METHOD**

Sri Natalia Saragih¹, M. Pandapotan Nasution^{1*}, Haris Munandar Nasution¹, Rafita Yuniarti¹

¹ Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Nusantara (UMN)
Al-washliyah, Jl. Garu II No. 93, Medan, 20147

Alamat Korespondensi:

M. Pandapotan Nasution, Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Nusantara
(UMN) Al-washliyah, Jl. Garu II No. 93, Medan, 20147

No. HP: +62819869283

*E-mail: mpnasution49@gmail.com

ABSTRAK

Salah satu tanaman yang memiliki khasiat antikanker adalah daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) yang termasuk dalam famili Acanthaceae. Kandungan metabolit sekunder pada daun ungu merupakan golongan flavonoid. Flavonoid merupakan pigmen yang terdapat pada tumbuhan dan merupakan salah satu senyawa kimia yang memiliki efek anti kanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui metabolit sekunder yang terkandung dalam simplisia daun ungu dan ekstrak etanol daun ungu serta potensi antikanker ekstrak etanol daun ungu dengan menentukan LC₅₀. Pada penelitian ini dilakukan skrining fitokimia daun ungu, karakterisasi simplisia dan studi sitotoksitas daun ungu. Uji sitotoksik ekstrak etanol daun ungu dilakukan dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) pada berbagai konsentrasi 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm, 500 ppm, 600 ppm, 700 ppm, 800 ppm, 900 ppm dan 1000 ppm. Skrining fitokimia menunjukkan bahwa daun ungu mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, steroid dan glikosida. Hasil karakterisasi daun ungu diketahui kadar air 6,66%, kadar sari larut air 30,85%, kadar sari larut etanol 12,47%, kadar abu total 7,95% dan kadar abu tidak larut asam 0,86%. Hasil karakterisasi sesuai dengan *Materia Medika Indonesia*. Hasil pengujian yang diperoleh dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* menunjukkan nilai LC₅₀ sebesar 302,9005 µg/ml, sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun ungu bersifat sitotoksik dan memiliki sifat antikanker. Senyawa uji bersifat toksik jika LC₅₀ kurang dari 1000 µg/ml.

Kata kunci: Daun Ungu, Sitotoksitas, BSLT, LC₅₀

ABSTRACT

*One of the plants with anticancer potential is daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) of the family Acanthaceae. Daun Ungu is known to contain flavonoids. Flavonoids are standard plant pigments widespread in the plant kingdom and have anticancer effects. This study aimed to determine the secondary metabolites in herbal medicines and daun ungu ethanol extract and the efficacy of daun ungu ethanol extract as an anticancer agent by determining the LC₅₀. In this study, phytochemical screening and characterization of simplicia and daun ungu extracts were performed. Cytotoxicity testing of daun ungu ethanol extract using the *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) procedure was performed at several concentrations of 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm, 500 ppm, 600 ppm, 700 ppm, 800 ppm, 900 ppm, 1000 ppm. The results showed that phytochemical screening of daun ungu revealed the presence of alkaloids, flavonoids, tannins, saponins, steroids, and glycosides. Daun Ungu characterization results revealed a water content of 6.66%, water-soluble extracts of 30.85%, ethanol-soluble extracts of 12.47%, total ash of 7.95%, and acid-insoluble ash of 0.86%. The results of this characterization show results consistent with *Materia Medika Indonesia*. Testing results using the *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) method revealed an LC₅₀ value of 302.9005 µg/ml, indicating that daun ungu ethanol extract is toxic and is toxic if the test compound therefore, it has potential as an anticancer agent. LC₅₀ values are below 1000 µg/ml.*

keyword: Daun Ungu, Cytotoxicity, BSLT, LC₅₀

PENDAHULUAN

Kanker adalah penyakit yang disebabkan oleh proliferasi sel-sel jaringan di dalam tubuh. Sel kanker tumbuh dengan cepat, tak terkendali dan terus membelah. Selain itu, sel kanker menyerang jaringan sekitarnya dan terus menyebar melalui jaringan ikat dan darah, menyerang organ vital dan sumsum tulang belakang (Indah, 2010). Data *Global Burden of Cancer* (GLOBOCAN) yang dilaporkan oleh *World Health Organization* (WHO) menunjukkan jumlah kasus kanker naik menjadi 18,1 juta kasus dan 9,6 juta kematian pada tahun 2018. Kematian akibat kanker diperkirakan akan terus meningkat menjadi lebih dari 13,1 juta pada tahun 2030. Insiden dan kematian akibat kanker semakin meningkat di Indonesia, dan salah satu jenis kanker yang paling banyak menyerang wanita adalah kanker serviks, sekitar 0,8% per 1.000 penduduk (Kemenkes, 2019).

Salah satu tanaman obat yang digunakan adalah daun ungu yang secara empiris banyak digunakan sebagai obat alternatif untuk wasir, rematik, infeksi saluran kencing dan sebagai pencahar. Menurut Kemenkes (2012), kandungan zat aktif pada daun ungu termasuk dalam golongan flavonoid. Flavonoid merupakan pigmen yang selalu ada pada tumbuhan dan merupakan salah satu senyawa kimia yang memiliki efek anti kanker. Berdasarkan penelitian (Rosmiati dan Alexius, 2017), ekstrak etanol daun ungu efektif menurunkan gula darah pada dosis 250 mg dan penelitian (Rustini dan Ni, 2017) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun ungu memiliki efek antioksidan pada konsentrasi 4 µg/ml. Antioksidan memiliki efek penting pada pengobatan kanker.

Metabolit sekunder pada daun ungu antara lain alkaloid, flavonoid, steroid, tanin, fenol, polifenol dan saponin (Permadi, 2008). Metabolit sekunder tanaman dapat diprediksi sitotoksitasnya menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Teknik ini menggunakan larva udang *Artemia Salina* Leach sebagai bioindikator (Kanwar, 2007). *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) banyak digunakan karena murah, sederhana, cepat dan hasilnya akurat. Selain itu, kemampuan metode ini untuk berkorelasi dengan sitotoksitas senyawa antikanker (Meyer *et al.*, 1982). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui metabolit sekunder yang terkandung dalam simplisia dan ekstrak etanol daun ungu serta kemampuan ekstrak etanol daun ungu sebagai senyawa antikanker berdasarkan LC₅₀.

METODE

Penelitian eksperimental dilakukan untuk mengetahui hubungan antara konsentrasi ekstrak etanol dan aktivitas sitotoksitas daun ungu dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmasi Terpadu Universitas Muslim Nusantara Al Washliyah Medan. Penelitian dilakukan di bulan Januari sampai dengan bulan April 2022.

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah rak dan tabung reaksi, gelas ukur, labu ukur, erlenmeyer, pipet volume, batang pengaduk, kertas saring, kaca objek, timbangan analitik, lemari pengering, *rotary evaporator*.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun ungu, etanol, aquadest, pereaksi Bouchardat, pereaksi Mayer, pereaksi Dragendorff, pereaksi besi (III) klorida 1%, pereaksi natrium hidroksida 2 N, pereaksi Molish, pereaksi Liebermann-Burchard, pereaksi asam klorida 2 N, pereaksi timbal (II) asetat 0,4 N, pereaksi asam sulfat 2 N, toluen, kloroform, NaOH dan air laut buatan.

Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini yaitu daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) yang berasal dari Raya Kabupaten Simalungun.

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Ungu

Pembuatan ekstrak memakai metode maserasi. Sebanyak 10 bagian (500 gram) serbuk simplisia dimasukkan ke dalam bejana maserator, kemudian dituangkan 75 bagian etanol 96% (3750 ml) ditutup rapat serta di diamkan selama lima hari terlindung dari cahaya matahari, sesekali diaduk, lalu diperas sehingga di dapat maserat I. Kemudian ampas yang diperoleh dibilas dengan 25 bagian etanol (1250 ml) sehingga di dapat maserat II, maserat I dan II pindahkan ke bejana tertutup serta diamkan di tempat yang sejuk terlindung dari cahaya matahari selama 2 hari, kemudian di enaptuangkan dan diperoleh ekstrak cair, lalu dipekatan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu tidak lebih dari 50⁰C hingga diperoleh ekstrak kental (Depkes RI, 1979).

Karakterisasi Simplisia

Pemeriksaan karakterisasi simplisia yaitu penetapan kadar air, penetapan kadar sari larut dalam air, penetapan kadar sari larut dalam etanol, penetapan kadar abu total serta penetapan kadar abu tidak larut dalam asam (Depkes RI, 1995).

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia untuk mengetahui golongan senyawa yang ada pada ekstrak etanol daun ungu yaitu mencakup pemeriksaan alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, steroid/triterpenoid dan glikosida.

Uji Sitotoksitas Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Penetasan telur *Artemia salina* Leach

Penetasan telur dilakukan dalam wadah menggunakan media air laut buatan. Wadah yang digunakan dibagi menjadi dua bagian oleh sekat berlubang yaitu bagian gelap serta bagian terang. Sekat berlubang menjadi jalan untuk larva yang sudah menetas bergerak secara alamiah ke arah terang. Wadah diisi menggunakan satu liter air laut buatan, kemudian pada bagian gelap dimasukkan satu sendok telur. Wadah bagian gelap ditutup dengan aluminium foil dan wadah bagian terang diberi cahaya lampu agar suhu penetasan 25-30⁰C. Telur udang dibiarkan terendam selama 48 jam sampai telur menetas. Telur akan menetas pada waktu 24-36 jam dan akan bergerak secara alamiah menuju ke arah terang sehingga larva udang terpisahkan dari bagian telur atau kulit telur. Larva yang sudah aktif bergerak siap dipergunakan menjadi hewan uji dalam penelitian (Fadli *et al.*, 2019).

Pembuatan Air laut buatan

Air laut buatan (*artificial sea water*) dibuat dengan cara melarutkan 38 gr garam tanpa iodium dalam 1 liter air, lalu diaduk sampai homogen. Setelah itu, disaring menggunakan kertas Whatman (Djamil dan Tria, 2009).

Pembuatan Larutan Ekstrak

Timbang 0,2 g ekstrak etanol daun ungu masukkan ke dalam labu tentukur 100 ml dan tambahkan dengan air laut buatan sampai batas tanda. Kemudian diperoleh Larutan Induk Baku dengan konsentrasi 2000 µg/ml.

Uji Sitotoksitas Ekstrak Etanol Daun Ungu

Vial disiapkan untuk uji orientasi buat tiap kelompok sesuai tingkat konsentrasi masing-masing disediakan 10 vial serta replikasi sebanyak tiga kali menggunakan

konsentrasi 100 µg/ml, 200 µg/ml, 300 µg/ml, 400 µg/ml, 500 µg/ml, 600 µg/ml, 700 µg/ml, 800 µg/ml, 900 µg/ml, 1000 µg/ml dan 1 vial digunakan untuk kontrol negatif. Vial diisi menggunakan sampel yang sudah dilarutkan dengan air laut buatan sebesar 10 ml. Sebanyak 10 ekor larva *Artemia* dimasukkan ke dalam masing-masing vial yang sudah berisi senyawa uji. Kontrol negatif (blanko) diberi perlakuan yang sama seperti larutan uji namun tidak ditambahkan dengan ekstrak. Jumlah larva udang yang mati pada setiap vial dihitung selama 24 jam. Tingkat toksisitas ditentukan dengan menghitung jumlah larva udang yaitu apabila larva udang tidak bergerak selama beberapa menit (Supriningrum *et al.*, 2017).

Analisis data

Data hasil penelitian uji sitotoksitas diolah serta disajikan pada bentuk tabel dan kurva. Sitotoksitas tersebut akan di analisis menggunakan analisis probit dan *Microsoft Office Excel* untuk mencari regresi linier antara nilai probit dengan log konsentrasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Karakterisasi Simplisia

Hasil karakterisasi simplisia dapat dilihat pada Tabel 1. Tabel ini menunjukkan bahwa hasil karakterisasi simplisia daun ungu memenuhi persyaratan dalam *Materia Medika Indonesia (MMI)*.

Tabel 1. Hasil Karakterisasi Simplisia Daun Ungu

No.	Parameter	Rata-rata	MMI
1.	Kadar air	6,66%	< 10%
2.	Kadar sari larut air	30,85%	> 29%
3.	Kadar sari larut etanol	12,47%	> 6%
4.	Kadar abu total	7,95%	< 12%
5.	Kadar abu tidak larut asam	0,86%	< 2%

Hasil karakterisasi dari pemeriksaan kadar air, kadar sari larut dalam air, kadar sari larut dalam etanol, kadar abu total dan kadar abu tidak larut dalam asam memenuhi persyaratan menurut *Materia Medika Indonesia*.

Hasil skrining fitokimia serbuk simplisia dan ekstrak etanol daun ungu

Hasil skrining fitokimia serbuk simplisia dan ekstrak etanol daun ungu dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil skrining fitokimia serbuk simplisia dan ekstrak etanol daun ungu

No.	Parameter	Hasil	
		Simplisia	Ekstrak
1.	Alkaloid	+	+
2.	Flavonoid	+	+
3.	Tanin	+	+
4.	Saponin	+	+
5.	Steroid	+	+
6.	Glikosida	+	+

Keterangan :

(+) = Positif, menunjukkan adanya senyawa aktif

(-) = Negatif, menunjukkan tidak adanya senyawa aktif

Uji skrining fitokimia menunjukkan bahwa serbuk dan ekstrak etanol daun ungu memiliki metabolit sekunder yaitu, alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, steroid dan glikosida. Senyawa metabolit sekunder ini menunjukkan bahwa daun ungu memiliki efek farmakologis dan memiliki kemampuan sebagai bahan obat termasuk dalam pengobatan antikanker.

Hasil Uji Sitotoksitas Ekstrak Etanol Daun Ungu Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Tabel 3. Hasil Pengujian Sitotoksitas Ekstrak Etanol Daun Ungu

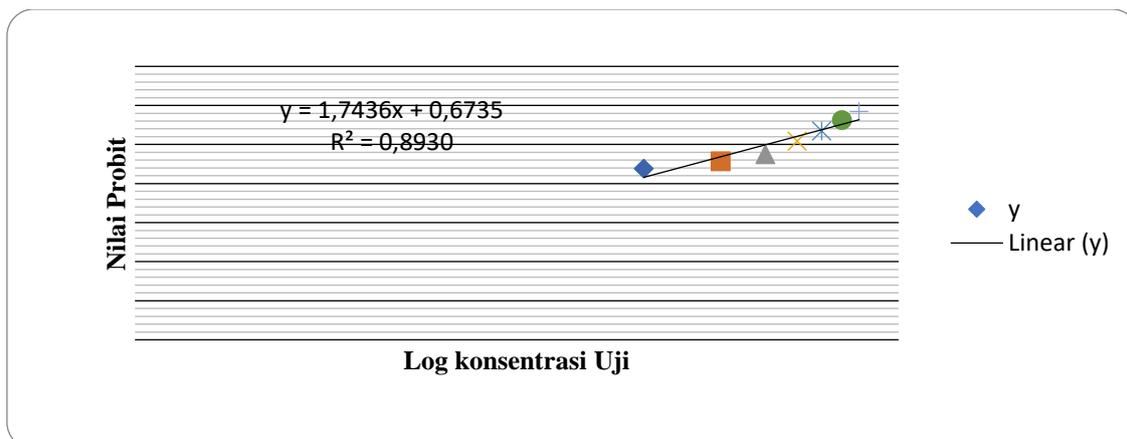
No	Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	% Mortalitas	Nilai Probit	Log Konsentrasi
1	100	26,6%	4,3781	2,000
2	200	33,3%	4,5684	2,3010
3	300	40%	4,7467	2,4771
4	400	53,3%	5,0828	2,6020
5	500	63,3%	5,3398	2,6989
6	600	73,3%	5,6219	2,7781
7	700	80%	5,8416	2,8450

Jumlah larva setiap pengulangan yaitu 10 ekor dengan tiga kali perlakuan, sehingga totalnya menjadi 30 ekor. Tabel 3 menunjukkan persentase kematian dari konsentrasi rendah 100 $\mu\text{g/ml}$ hingga konsentrasi tertinggi 700 $\mu\text{g/ml}$ dengan persentase kematian 20 – 80%. Pada saat yang sama blanko tidak terjadi mortalitas pada larva. Hal ini sesuai dengan teori bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin banyak larva yang mati. Selain itu, dari presentasi kematian larva dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi terhadap ekstrak maka semakin tinggi kematian larva (Supriningrum *et al.*, 2017).

Data yang diperoleh pada tabel 3 kemudian dianalisis menggunakan tabel evaluasi probit untuk mendapatkan nilai LC_{50} . Nilai LC_{50} dapat dihitung menggunakan persamaan regresi garis lurus dengan menggunakan nilai (probit 50% kematian hewan uji) sebagai y agar x dihasilkan sebagai nilai log konsentrasi. Antilog dari nilai x adalah nilai LC_{50} . Parameter yang terbukti menentukan adanya aktivitas biologis dalam suatu senyawa pada hewan uji adalah dengan menghitung jumlah larva yang mati akibat pengaruh senyawa yang diberikan pada konsentrasi yang telah ditentukan (Agustini, 2017). Setelah dilakukan evaluasi probit, dapat diketahui bahwa grafik persamaan garis lurus $Y = 1,7436x + 0,6735$.

Hasil analisis data

Dalam penelitian ini dianalisis menggunakan tabel analisa probit untuk memperoleh nilai LC_{50} . Pada gambar 1 dapat dilihat bahwa data tersebut linear berdasarkan garis lurus dan diperoleh nilai R^2 sebesar 0,8930. Hasil analisis probit menunjukkan nilai LC_{50} ekstrak etanol daun ungu yaitu 302, 9005 $\mu\text{g/ml}$.



Gambar 1. Grafik Regresi Linier Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Ungu Terhadap Nilai Probit

Hasil pengujian ekstrak etanol daun ungu menunjukkan nilai LC_{50} sebesar 302,9005 $\mu\text{g/ml}$, sehingga dapat diketahui bahwa ekstrak etanol daun ungu pada percobaan ini memiliki toksisitas terhadap larva *Artemia salina* Leach menggunakan teknik BSLT.

KESIMPULAN

Skrining fitokimia yang terkandung dalam daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) menunjukkan adanya alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, steroid dan glikosida. Berdasarkan efek sitotoksitasnya menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* terbukti bahwa ekstrak etanol daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) bersifat



sitotoksitas dengan nilai LC_{50} sebesar 302,9005 $\mu\text{g/ml}$, yang termasuk dalam golongan toksik dan memiliki kemampuan sebagai antikanker.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada semua pihak yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Agustini NWS. Identifikasi Senyawa Aktif dan Toksisitas Hayati Ekstrak n-heksana, Etil Asetat dan etanol Mikroalga *Tetraselmis chuii* Secara *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Indones J Ind Res.* 2017;34(1):8–17.
2. Depkes RI. *Farmakope Indonesia Edisi III*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1979;
3. Depkes RI. *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. 1995;
4. Djamil R, Anelia T. Penapisan fitokimia, uji BSLT, dan uji antioksidan ekstrak metanol beberapa spesies Papilionaceae. *J Ilmu Kefarmasian Indonesia.* 2009;7(2):65–71.
5. Fadli F, Suhaimi S, Idris M. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) Dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). *Med Sains J Ilmu Kefarmasian.* 2019;4(1):35–42.
6. Indah Y. *Stop Kanker :Kanker Bukan Lagi Vonis Mati*. Cet. 1. Jakarta : Agro Media Pustaka, 2010; 2010.
7. Kanwar AS. Brine shrimp (*Artemia salina*) a marine animal for simple and rapid biological assays. *J Chinese Clin Med.* 2007;2(4):236–40.
8. Kemenkes RI. *Formularium Obat Herbal Asli Indonesia*. Jakarta: Peraturan Menteri Kesehatan RI.; 2012.
9. Kemenkes RI. *Deteksi Dini Mencegah Kanker*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.; 2019.
10. Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE j, McLaughlin JL. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Med.* 1982;45(05):31–4.
11. Permadi A. *Membuat kebun tanaman obat*. Niaga Swadaya; 2008.
12. Rosmiati K, Fernando A. Uji efektivitas antidiabetes ekstrak etanol daun ungu (*Graptophyllum pictum*) terhadap mencit putih jantan (*Mus musculus*). *J Sains dan Teknol Lab Med.* 2017;2(1):8–13.
13. Rustini NL, Ariati NK. Aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun ungu (*Graptophyllum pictum* L. griff). *Cakra Kim.* 2017;5(2):145–51.
14. Supriningrum R, Sapri S, Pranamala VA. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Akar KB (*Coptosapelta tomentosa* Valetton ex K. Heyne) Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *J Ilm manuntung.* 2017;2(2):161–5.