

## POTENSI SITOTOKSIK EKSTRAK AIR DAUN SIRIH HITAM (*Piper sp.*)

Nadia Rahma Kusuma Dewi\*, Hadi Kuncoro, Laode Rijai

Laboratorium Penelitian dan Pengembangan FARMAKA TROPIS, Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda, Kalimantan Timur

\*email: [nadia\\_rahma@rocketmail.com](mailto:nadia_rahma@rocketmail.com)

### ABSTRAK

Penelitian potensi sitotoksik ekstrak air daun sirih hitam (*Piper sp.*) dilakukan berdasarkan hasil penelitian kandungan metabolit sekunder dan bioaktivitas terhadap *Artemia salina* Leach ekstrak daun sirih hitam (*Piper sp.*). Uji bioaktivitas dilakukan dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) terhadap *Artemia salina* Leach. Ekstrak daun sirih hitam telah diekstraksi menggunakan pelarut air dengan metode panas (rebusan). Hasil pengujian potensi sitotoksik ekstrak air daun sirih hitam menunjukkan nilai LC<sub>50</sub> pada ekstrak daun sirih hitam muda 69,18 ppm dan ekstrak daun sirih hitam tua 5,13 ppm.

**Kata kunci :** Sitotoksik, *Piper sp.*, Metode panas

### PENDAHULUAN

Pemakaian obat bahan alam untuk pengobatan telah lama dipraktekkan oleh masyarakat Indonesia karena hasil dan manfaatnya telah dapat dirasakan langsung. Oleh sebab itu tidaklah mengherankan jika penggunaan obat bahan alam cenderung meningkat dari waktu ke waktu. Hal ini dapat dilihat dengan semakin meningkatnya pemakaian jamu oleh masyarakat, di sisi lain Industri obat bahan alam terus berkembang. Agar penggunaannya optimal, perlu diketahui informasi yang memadai tentang kelebihan dan kelemahan serta kemungkinan penyalahgunaan obat tradisional dan tanaman obat (Rahmadhani, 2009).

Salah satu usaha yang dapat ditempuh untuk menggali sumber obat nabati adalah menemukan obat kanker. Pengembangan obat antikanker dari bahan alam menjadi sangat penting karena sebagian besar obat antikanker yang ada saat ini selain bersifat antiproliferatif terhadap sel kanker juga terhadap sel normal. Karena sifat itulah maka obat antikanker ini mempunyai

indeks terapi sempit dan selektivitas rendah, di samping itu timbulnya resistensi terhadap berbagai obat antikanker tidak dapat dihindari.

Banyak penelitian dilakukan untuk mencari senyawa antikanker baru dengan harapan sifat yang lebih baik. Selektivitas suatu obat dapat digunakan sebagai tolak ukur baik dan buruknya suatu obat serta keamanannya. Selektivitas obat antikanker dapat diukur dengan cara menghitung indeks selektivitas (IS) yaitu menghitung IC<sub>50</sub> sel normal dibagi dengan IC<sub>50</sub> sel kanker (Badisa *et al.*, 2009). Semakin besar angka indeks selektivitas obat antikanker yang ada saat ini, artinya efek samping yang ditimbulkan cukup banyak, menyebabkan penderita kanker banyak yang menghentikan kemoterapi. Efek samping yang sering muncul pada obat antikanker adalah alopecia (kerontokan rambut), mual, emesis (muntah), anemia, toksisitas pada liver, dan induksi kanker di organ lain. Hal inilah yang mendorong masyarakat berbondong-bondong datang ke pengobat tradisional atau pengobatan herbal untuk mengurangi dan menghilangkan penderitaannya. Banyak

sekali obat herbal Indonesia telah digunakan secara tradisional untuk mengatasi penyakit kanker. Namun demikian, usaha untuk mencari antikanker baru dari bahan alam masih terus dilakukan secara intensif oleh para peneliti/akademisi (Wahyuningasih, 2010).

Telah dilakukan penelitian sitotoksik terhadap daun sirih hitam menggunakan metode ekstraksi yaitu maserasi dimana sampel yang telah kering diekstraksi menggunakan pelarut organik yaitu etanol sehingga diketahui data nilai  $LC_{50}$  dari daun sirih hitam dengan pelarut etanol yaitu 5,741 ppm, fraksi *n*-heksana 2,460 ppm, dan fraksi etil asetat 0,925 ppm. Berdasarkan hasil penelitian, daun sirih hitam teridentifikasi mengandung golongan senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, senyawa fenol, karatenoid, dan steroid yang diduga memiliki potensi sitotoksik (Hastuty, 2011).

Senyawa-senyawa yang menunjukkan ketoksikan yang tinggi dapat dikaitkan dengan potensinya sebagai antikanker atau kematian sel kanker. Skrining terhadap beberapa tanaman yang berpotensi sebagai antikanker telah dilakukan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) pada larva *Artemia salina* Leach yaitu suatu metode bioassay yang mudah, cepat, murah, dan dapat dipercaya (Meyer, BN *et al*, 1982). Metode ini telah banyak dimanfaatkan untuk berbagai keperluan antara lain mencari keberadaan senyawa antikanker karena sifat toksiknya.

Ditinjau berdasarkan data tersebut, jika pelarut etanol diganti menggunakan pelarut air kemungkinan dapat memberikan aktivitas biologi dimana dari segi kepolaran pelarut air memiliki nilai konstanta dielektrik lebih besar daripada pelarut etanol. Senyawa polar yang

terekstraksi di dalam air, tidak mungkin terekstraksi oleh pelarut etanol karena kepolaran etanol masih di bawah air sehingga memungkinkan adanya perbedaan kandungan kimia yang terekstraksi. Sehubungan dengan itu perlu dilakukan penelitian ekstrak air dengan cara panas karena karena hal ini penting jika terbukti baik dengan cara perebusan sirih hitam dapat memberikan khasiat.

Pertimbangan pemilihan air adalah untuk mengetahui bioaktivitas dari tanaman ini berdasarkan pemanfaatannya sebagai obat tradisional di masyarakat dilakukan dengan cara perebusan dengan air. Penggunaan daun sirih hitam sebagai obat tradisional masih jarang, hal ini yang mendorong peneliti mengkaji tanaman sirih hitam (*Piper* sp.) penggunaannya secara umum sebagai obat tradisional dengan melihat perbedaan aktivitas antara daun muda dan tua.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi sitotoksik ekstrak air daun sirih hitam (*Piper* sp.) terhadap larva udang laut *Artemia Salina* Leach dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

## METODE PENELITIAN

### Bahan

Bahan yang diteliti adalah simplisia daun sirih hitam (*Piper* sp.) bagian daun muda dan daun tua. Pelarut air digunakan untuk proses ekstraksi. Larva udang *Artemia salina* Leach bioindikator uji. Ragi untuk sumber makanan larva udang *Artemia salina* Leach. Air laut untuk media penetasan dan tempat hidup bioindikator uji.

## Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian adalah blender, desikator vakum, panci tanah, neraca analitik (*Precisa XB 4200 C<sup>®</sup>*, *Precisa XT 220 A<sup>®</sup>*), botol selai, batang pengaduk, gelas kimia, gelas ukur, labu ukur, pipet tetes, cawan porselin, spatula, aluminium foil, botol vial, penangas air, kaca aquarium, *aerator*, seperangkat alat penerangan, mikro pipet.

## Prosedur Pengujian Penelitian

Pengujian potensi sitotoksik ekstrak air daun sirih hitam. Larva udang *Artemia salina* Leach ditetaskan dalam wadah pembiakan yang berisi air laut dan digunakan setelah 48 jam dari waktu penetasan. Vial uji dikalibrasi sebanyak 5 mL. Larva udang *Artemia salina* Leach 10 ekor dimasukkan ke dalam masing-masing vial yang berisi ekstrak dengan berbagai konsentrasi. Konsentrasi uji yang digunakan yaitu 5 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 75 ppm, dan 100 ppm untuk ekstrak daun sirih hitam muda. Konsentrasi uji yang digunakan yaitu 0,5 ppm, 1 ppm, 2 ppm, 4 ppm, 8 ppm, 16 ppm, dan 32 ppm untuk ekstrak air daun tua. Dibuat stok ragi sebagai sumber makanan bioindikator uji. Ke dalam vial-vial tersebut dimasukkan 1 tetes ragi. Vial-vial uji kemudian disimpan

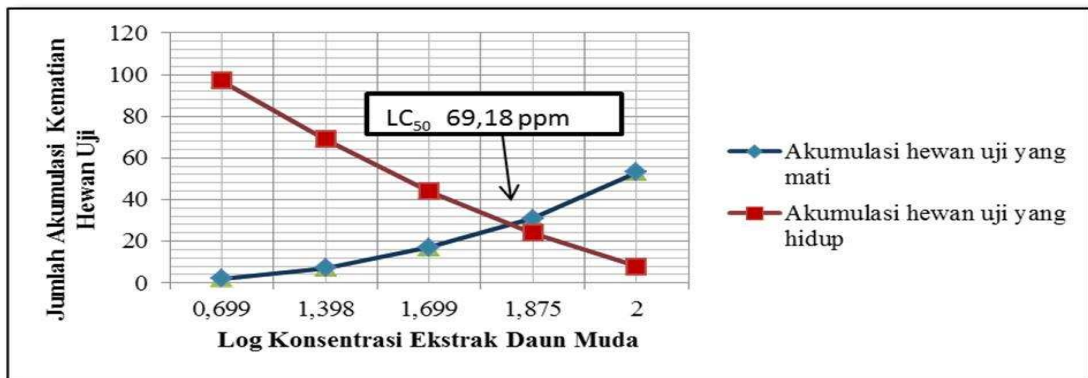
di tempat yang cukup mendapat sinar lampu. Pengamatan dilakukan selama 24 jam dan dihitung jumlah larva yang mati. Jumlah larva udang *Artemia salina* Leach yang mati dicatat dan dihitung LC<sub>50</sub> dengan menggunakan analisis *Reed and Muench*.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Terlihat pada Gambar 1. terjadi peningkatan konsentrasi ekstrak air daun sirih hitam muda dalam kemampuan membunuh hewan uji larva udang, yaitu dengan bertambahnya larva udang yang mati. Ini terlihat dari hasil analisis dengan metode *Reed and Muench* dengan nilai LC<sub>50</sub> 69,18 ppm (Tabel.3). Estimasi nilai LC<sub>50</sub> dapat terlihat pada grafik titik pertemuan antara akumulasi kematian dengan akumulasi yang hidup. Hasil log dari LC<sub>50</sub> 69,18 ppm adalah 1,84. Sumbu ini berada pada grafik antara log konsentrasi 1,699 – 1,875 seperti yang terlihat pada grafik. Hasil perhitungan batas kepercayaan angka LC<sub>50</sub> berada antara range 1,78 – 1,9 dengan ukuran kesalahan sebesar 0,03. Berdasarkan nilai LC<sub>50</sub> ekstrak air daun sirih hitam muda menunjukkan bahwa ekstrak air daun sirih hitam muda kurang berpotensi sebagai antikanker melainkan berpotensi sebagai antimikroba (LC<sub>50</sub> 30 – 200 ppm).

Tabel 1. Hasil Uji Ekstrak Air Daun Sirih Hitam Muda Terhadap Larva Udang *Artemia salina*

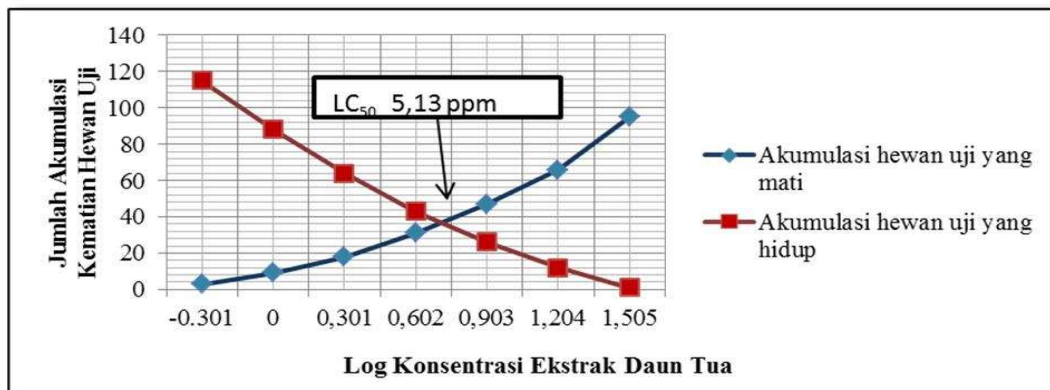
Konsentrasi (ppm)	Log Konsentrasi	Jumlah		Terakumulasi		Rasio mati : total	Mortalitas (%)
		Mati	Hidup	Mati (x)	Hidup (y)	x : (x+y)	Rasio x 100 %
5	0,699	2	28	2	97	0,02	2
25	1,398	5	25	7	69	0,092	9,2
50	1,699	10	20	17	44	0,279	27,9
75	1,875	14	16	31	24	0,564	56,4
100	2	22	8	53	8	0,869	86,9



Gambar 1. LC<sub>50</sub> Ekstrak Air Daun Sirih Hitam Muda

Tabel 2. Hasil Uji Ekstrak Air Daun Sirih Hitam Tua Terhadap Larva Udang *Artemia salina*

Konsentrasi (ppm)	Log Konsentrasi	Jumlah		Terakumulasi		Rasio mati : total	Mortalitas (%)
		Mati	Hidup	Mati (x)	Hidup (y)	Terakumulasi x : (x+y)	Rasio x 100 %
0,5	- 0,301	3	27	3	115	0,025	2,5
1	0	6	24	9	88	0,093	9,3
2	0,301	9	21	18	64	0,219	21,9
4	0,602	13	17	31	43	0,419	41,9
8	0,903	16	14	47	26	0,644	64,4
16	1,204	19	11	66	12	0,846	84,6
32	1,505	29	1	95	1	0,989	98,9



Gambar 2. LC<sub>50</sub> Ekstrak Air Daun Sirih Hitam Tua

Tabel 3. Nilai LC<sub>50</sub> Ekstrak Daun Sirih Hitam

No.	Sampel	LC <sub>50</sub> (ppm)
1.	Ekstrak Daun Muda	69,18
2.	Ekstrak Daun Tua	5,13

Terlihat pada Gambar 2. terjadi peningkatan konsentrasi ekstrak air daun sirih hitam tua dalam kemampuan membunuh hewan uji larva udang, yaitu dengan bertambahnya larva udang yang

mati. Ini terlihat dari hasil analisis dengan metode *Reed and Muench* dengan nilai LC<sub>50</sub> 5,13 ppm (Tabel.3). Estimasi nilai LC<sub>50</sub> dapat terlihat pada grafik titik pertemuan antara akumulasi kematian dengan akumulasi yang hidup. Hasil log dari LC<sub>50</sub> 5,13 ppm adalah 0,71. Sumbu ini berada pada grafik antara log konsentrasi 0,602 – 0,903 seperti yang

terlihat pada grafik. Hasil perhitungan batas kepercayaan angka  $LC_{50}$  berada antara range 0,59 – 0,83 dengan ukuran kesalahan sebesar 0,06. Berdasarkan nilai  $LC_{50}$  ekstrak air daun sirih hitam tua menunjukkan bahwa ekstrak air daun sirih hitam tua sangat berpotensi sebagai antikanker ( $LC_{50}$  0 – 30 ppm).

Dengan membandingkan nilai  $LC_{50}$  ekstrak daun sirih hitam dapat diketahui bahwa yang paling efektif terhadap *Artemia salina* Leach adalah ekstrak air daun sirih hitam tua. Berdasarkan hal tersebut dapat dikatakan bahwa aktivitas yang paling baik untuk potensi sitotoksik antikanker ditunjukkan oleh ekstrak air daun sirih hitam tua.

## KESIMPULAN

Hasil pengujian potensi sitotoksik ekstrak air daun sirih hitam (*Piper* sp.) diperoleh nilai  $LC_{50}$  masing-masing yaitu ekstrak daun sirih hitam muda adalah 69,18 ppm dan ekstrak daun sirih hitam tua adalah 5,13 ppm.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Badisa, R.B.; Selina, F.; Darling-Reed, Patrick, J.; John, S.C.; Lekan, M.L.; & Goodman, C.B. 2009. *Selective Cytotoxic activities of Two Novel Synthetic Drugs on MCF-7 Cells*, Anticancer Res.
2. Hastuty, R. 2011. Kandungan Metabolit Sekunder dan Bioaktivitas Terhadap *Artemia salina* Leach Ekstrak Daun Sirih Hitam (*Piper* sp.). *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman : Samarinda.
3. Meyer, B.N.; et al. 1982. *Brine Shrimp : A Convenient Bioassay for Active Plant Constituent*. Plant Medica.
4. Rahmadhani, A. 2009. *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Sukun Terhadap Artemia salina dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro: Semarang.
5. Wahyuningsih, Mae Sri Hartati. 2010. *Potensi Pengembangan Obat Bahan Alam Indonesia Untuk Penyakit Kanker: Tantangan dan Harapan*. Universitas Gadjah Mada: Yogyakarta.