

Uji Aktivitas Sitotoksik dan Analisis Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Sampare (*Glochidion* sp.)

GANIS OKTALIA¹, LINUS Y. CHRYSTOMO², ADITYA K. KARIM²

¹) Mahasiswa PS. Biologi, FMIPA Universitas Cenderawasih, Jayapura.

²) PS. Biologi, FMIPA Universitas Cenderawasih, Jayapura, Papua.

Diterima: 7 Juli 2017 - Disetujui: 26 Oktober 2017
© 2017 Jurusan Biologi FMIPA Universitas Cenderawasih

ABSTRACT

Sampare (*Glochidion* sp., Family: Phyllanthaceae) is a plant which grows dominant in Biak, Papua. Based on the local wisdom of the community, by hereditary, it can be used as an herbal medicine to treat the malaria disease. This study aims to determine the toxicity of LC₅₀ and to know the phytochemical compounds of extracted leaf of *Glochidion* sp using ethanol. The Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) and phytochemical screening using reagent chemical substance methods were used in this research. The results of this study can be concluded that the toxicity of extracted leaf of *Glochidion* sp. using ethanol was low, with LC₅₀ = 758.58 ppm and the results of phytochemical analysis showed the existence of the content of alkaloids, flavonoids, saponins, tannins and quinones. But, the steroids and triterpenoids could not be found in the extracted leaf of *Glochidion* sp using ethanol. Therefore, for further research is needed to isolate the bioactive compounds and in vivo test on the plasmodium, which cause the malaria disease.

Key words: *Glochidion* sp., malaria disease, Brine Shrimp Lethality Test (BSLT), LC₅₀, phytochemical analysis.

PENDAHULUAN

Studi etnofarmasi tentang tumbuhan obat tradisional pada beberapa masyarakat etnik di Papua menunjukkan bahwa salah satu tumbuhan obat yang berdasarkan kearifan lokal masyarakat etnik Biak Papua biasa dimanfaatkan untuk mengobati penyakit malaria adalah sampare (*Glochidion* sp.) (Chrystomo *et al.*, 2014a). Tumbuhan sampare merupakan salah satu tumbuhan dari famili Phyllanthaceae yang berasal dari Kabupaten Biak yang secara empiris mempunyai khasiat untuk menyembuhkan penyakit malaria. Secara etnofarmasi tumbuhan obat tradisional sampare sudah lama dimanfaatkan secara turun-temurun dari nenek

moyang mereka. Oleh masyarakat lokal Biak, tumbuhan ini dimanfaatkan untuk obat herbal antimalaria atau sebagai penyembuh sakit malaria. Masyarakat setempat memanfaatkan tumbuhan obat sampare dengan meminum air rebusan daun sampare (Chrystomo *et al.*, 2014b).

Sampare merupakan tumbuhan perdu banyak dijumpai tersebar di Biak Papua, tumbuh liar di daerah beriklim hutan hujan tropis, dengan habitat di tanah yang agak kering, gembur, di lahan terbuka, di kebun, di ladang atau di tepi-tepi jalan (Gambar 1). Banyak tumbuh dan menyebar luas di daerah hutan hujan tropis di daerah Biak Papua, mulai dari dataran rendah sampai ketinggian kira-kira 8-25 m dpl (Chrystomo *et al.*, 2016b). Hasil Observasi klinik terhadap 20 subyek penderita malaria positif terinfeksi plasmodium penyebab malaria yang didiagnosis secara RDT (*Rapid Diagnose Test*), setelah mengkonsumsi obat herbal daun sampare dapat menghambat atau menyembuhkan penyakit.

* Alamat korespondensi:

PS. Biologi, Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Cenderawasih, Jayapura. Jl. Kamp. Wolker, Waena Jayapura, Papua. Email: ganisoktalia@gmail.com, chrysyanka@yahoo.com

Perlakuan dilakukan dalam bentuk teh celup 1 gelas pagi dan sore hari selama 3 hari menunjukkan hasil yang signifikan menjadi sembuh dan hasil diagnosis ulang RDT memperlihatkan hasil negatif (Chrystomo *et al.* 2015). Chrystomo *et al.* (2016a) kemudian melakukan edukasi pemanfaatan herbal tumbuhan obat tradisional antimalaria *Glochidion* sp. kepada masyarakat lokal di daerah endemik malaria di Kabupaten Keerom Papua.

Malaria merupakan salah satu masalah utama kesehatan yang umum terjadi di daerah tropis atau di negara berkembang seperti di negara Asia Tenggara. Malaria disebabkan oleh parasit *Plasmodium* yang ditularkan oleh nyamuk *Anopheles* dan penyakit ini telah membunuh jutaan manusia baik anak-anak, wanita hamil dan orang dewasa (Bahekar & Kale, 2013). Menurut Chrystomo *et al.* (2013) penyakit malaria merupakan penyakit yang mempunyai prevalensi paling tinggi di Papua, yang diikuti penyakit lainnya seperti penyakit ispa, cacingan, penyakit kulit (kaskado), diare, luka-luka, penyakit dalam dan lain-lain.

Chrystomo *et al.* (2012) menjelaskan bahwa penggunaan tumbuhan obat tradisional relatif lebih mudah didapat, murah, aman dan tidak menimbulkan efek samping negatif. Walaupun demikian penggunaannya tidak langsung direkomendasikan dan harus bersabar menunggu karena tumbuhan obat tradisional yang akan digunakan sebagai obat herbal sebelumnya harus dilakukan uji keamanan toksisitasnya untuk menentukan keamanan dan takaran dosis yang tepat jika akan dikonsumsi.

Lazimnya setiap penelitian bahan alam yang diduga berpotensi sebagai obat herbal karena secara empiris telah digunakan masyarakat sebagai obat tradisional dari generasi ke generasi, harus diawali dengan uji keamanan toksisitas. Uji keamanan atau sering disebut uji praklinis dilakukan untuk memprediksi

tingkat keamanannya. Setelah itu, dilanjutkan dengan uji farmakologi lainnya. Metode uji toksisitas dapat dilakukan secara *in vitro*. Salah satu metode uji toksisitas secara *in vitro* yang sering digunakan adalah metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Metode BSLT memiliki keuntungan karena waktu pelaksanaan relatif cepat, biayanya juga relatif murah, praktis, tidak memerlukan teknik yang aseptik, sampel yang digunakan sedikit dan hasil ujinya berkorelasi baik dengan beberapa metode uji sitotoksik (Meyer *et al.*, 1982).

Analisis fitokimia dilakukan untuk menentukan ciri komponen bioaktif suatu ekstrak kasar yang mempunyai efek racun atau efek farmakologis lain yang bermanfaat bila diujikan dengan sistem biologi atau *bioassay* (Harbourne, 1996). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui toksisitas LC₅₀ dan kandungan senyawa fitokimia ekstrak etanol daun sampare.

METODE PENELITIAN

Metode penelitian yang digunakan uji sitotoksik adalah metode *Brine Shrimp Lethality Test* (Meyer *et al.*, 1982), sedangkan metode analisis fitokimia menggunakan reagen pereaksi (Harbourne, 1996). Tahapan kerja jalannya penelitian meliputi: proses pembuatan simplisia, proses ekstraksi, proses penyiapan hewan uji larva udang (*Artemia salina* Leach.), preparasi sampel larutan konsentrasi ekstrak etanol 0, 50, 100, 250,



Gambar 1. Tumbuhan *Glochidion* sp. Habitus (a). Buah (b). Bunga (c). (Chrystomo *et al.*, 2016b).

Tabel 1. Hasil preparasi sampel daun sampare (*Glochidion sp.*)

Sampel	Berat Basah (g)	Berat Kering (g)	Kadar Air (%)
Daun sampare	1200	385	67,91

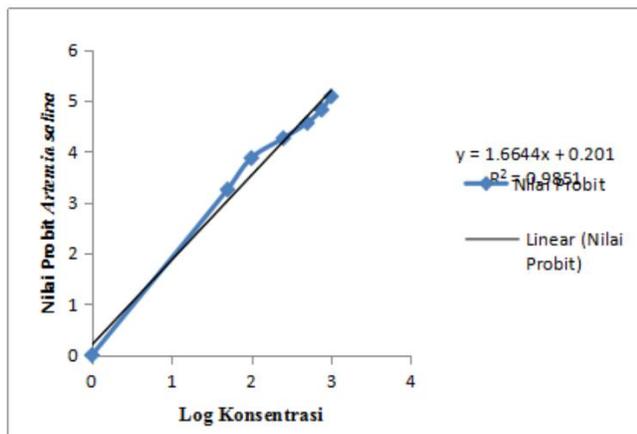
Tabel 2. Rendemen ekstrak etanol 96% daun sampare (*Glochidion sp.*)

Sampel	Berat Sampel (g)	Volume Pelarut (ml)	Berat Ekstrak (g)	Rendemen (%)
Serbuk daun sampare	100	350	21.57	21.57

500, 750, 1000 ppm., pengujian aktivitas sitotoksik BSLT dan analisis fitokimia simplisia dan ekstrak etanol daun sampare (*Glochidion sp.*). Sampel tanaman sampare diperoleh dari Biak, Kabupaten Biak Numfor, Papua.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil preparasi sampel dari sampel basah 1200 g setelah dikering anginkan menjadi 385 g jadi kadar air = berat sampel basah - berat sampel kering dibagi berat basah X 100% = 67,91 % (Tabel



Gambar 2. Grafik persamaan regresi linier hubungan antara log konsentrasi dengan nilai probit *Artemia salina* Leach.

1). Berat kering menjadi lebih kecil karena kadar air daun sampare yang basah sebanyak 67.91% sudah menguap ketika dikeringkan.

Hasil ekstraksi dari 100 g serbuk daun sampare yang dimaserasi dengan etanol 96% setelah di saring dan dievaporasi diperoleh ekstrak kental 21,57 g sehingga rendemen ekstrak : $21,57/100 \times 100\% = 21,57\%$ (Tabel 2). Ekstrak kental yang dihasilkan menjadi lebih sedikit karena proses penyarian yang dihasilkan hanya sarinya saja dari serbuk daun sampare, sedangkan material kasarnya tertinggal.

Hasil uji sitotoksik dengan konsentrasi larutan ekstrak etanol daun sampare yang berbeda-beda konsentrasinya didapatkan data log konsentrasi yang diperoleh dari konsentrasi dan persentase rata-rata mortalitas yang digunakan untuk menentukan nilai probit (Tabel 2). Dengan memasukkan data log konsentrasi dan nilai probit pada program MS Excell maka diperoleh persamaan regresi garis linear dan grafik persamaan garis linear (Gambar 2).

Lethal Concentration (LC_{50}) merupakan nilai yang menunjukkan konsentrasi zat toksik yang dapat mengakibatkan kematian organisme uji sampai 50% (Widyawaruyanti *et al.*, 2011). Hasil uji BSLT ekstrak daun sampare menunjukkan nilai LC_{50} adalah 758,58 ppm. Artinya bahwa pada konsentrasi tersebut ekstrak daun sampare (*Glochidion sp.*) memiliki tingkat toksik terhadap organisme uji sebesar 50%. Nilai LC_{50} diperoleh dengan memasukkan $y=5$ (untuk kematian 50% dari 10 organisme uji *A. salina* pada persamaan regresi linear $y = 1,6644x + 0,201$ sehingga nilai x dapat dihitung = 2,88, sedangkan LC_{50} adalah nilai dari anti log x ., jadi $LC_{50} = 758,58$.

Menurut Doyle & Griffiths (2000) dan Meyer (1982) ekstrak dapat dikatakan aktif atau mempunyai efek sitotoksik apabila nilai $LC_{50} < 1000$ ppm, sedangkan senyawa murni menurut Geran *et al.* (1972) dikatakan aktif atau mempunyai efek sitotoksik apabila $LC_{50} < 20$ ppm. Ekstrak etanol daun sampare mempunyai nilai $LC_{50} = 758,58$ jadi ekstrak daun sampare dapat dikatakan tidak toksik karena mendekati nilai

maksimum 1000 ppm. Hal ini tidak berbahaya apabila obat herbal daun sampare untuk mengobati penyakit malaria tersebut dikonsumsi oleh masyarakat Biak (Chrystomo *et al.*, 2014b).

Menurut Wijaya (2013) salah satu syarat tumbuhan bisa dikembangkan untuk menjadi obat herbal adalah harus memenuhi beberapa kriteria. Salah satu kriteria adalah mempunyai efek samping ringan dengan toksisitas rendah sehingga tidak merugikan penderita. Sedangkan menurut Chrystomo *et al.* (2012) dan Chrystono *et al.* (2016b) bahwa penggunaan tumbuhan obat dalam penanganan penyakit sangat dianjurkan karena bahan tanaman (fitokimia) dapat mudah terurai secara hayati atau tidak terakumulasi dan tidak menimbulkan efek samping negatif. Walaupun tanaman obat mudah diperoleh dan efektif, tetapi penggunaannya tidak langsung diprioritaskan tetapi harus bersabar menunggu karena harus

diuji terlebih dahulu sifat toksisitasnya untuk menentukan keamanannya jika dikonsumsi manusia. Nilai LC_{50} ekstrak etanol daun sampare dapat dikategorikan mempunyai efek toksik tetapi sangat rendah, karena nilai LC_{50} = 758,58 ppm mendekati nilai maksimum 1000 ppm (Meyer *et al.*, 1982) sehingga dapat dikatakan aman jika herbal tumbuhan tersebut dikonsumsi manusia.

Hasil analisis fitokimia menunjukkan bahwa skrining fitokimia simplisia dan ekstrak daun sampare mengandung senyawa golongan alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, kuinon tetapi tidak dijumpai adanya triterpenoid dan steroid (Tabel 4).

Oletunde & Damilola (2015) menyimpulkan bahwa ekstrak metanol kulit batang *Adansonia digitata* yang kaya flavonoid berpotensi sebagai agen malaria yang dipercaya secara etnomedik digunakan untuk mengobati malaria. Menurut Fitrianiingsih *et al.* (2010) bahwa ekstrak etanol

Tabel 3. Hasil uji sitotoksik ekstrak etanol daun sampare (*Glochidion* sp) selama 24 jam terhadap ekstrak larva *A. salina*.

Konsentrasi (ppm)	Log Konsentrasi	Mortalitas			Rata-rata Mortalitas	Persen (%) Mortalitas	Nilai Probit
		n1	n2	n3			
0	0	0	0	0	0	0	0
50	1.70	0	1	1	0.7	7	3.52
100	2.00	1	2	1	1.33	13	3.87
250	2.40	3	2	2	2.33	23	4.26
500	2.70	4	3	3	3.33	33	4.56
750	2.88	4	4	5	4.33	43	4.82
1000	3.00	5	5	6	5.33	53	5.08

Tabel 4. Hasil analisis fitokimia daun sampare (*Glochidion* sp).

Golongan senyawa	Pereaksi	Simplisia serbuk	Ekstrak kental	Pengamatan
Alkaloid	Meyer	+	+	Terbentuk endapan putih
	Dragendorff	+	+	Terbentuk endapan putih
Flavonoid	Mg + HCL pekat	+	+	Terbentuk endapan jingga
Tannin	FeCl3 1%	+	+	Berubah warna menjadi hijau kehitaman
Saponin	Air +HCL	+	+	Terdapat busa stabil selama ± 10 menit
Kuinon	NaOH 1N	+	+	Berubah warna menjadi merah
Steroid	HCL pekat + kloroform	-	-	Tidak terbentuk warna hijau
Triterpenoid	HCL pekat + kloroform	-	-	Tidak terbentuk warna merah

Keterangan: (+) terdeteksi, (-) tidak terdeteksi.

lima tumbuhan daun pepaya (*Carica papaya* L.), biji mahoni (*Swietenia macrophylla* King.), daun johar (*Cassia siamea* Lamk.), daun tapak dara (*Catharantus roseus* (L.) G. Don), akar tapak liman (*Elephantopus scaber* L.) yang mengandung flavonoid kelimanya memberikan aktivitas antiplasmodium (*Plasmodium berghei*) yang signifikan dengan persen imbibisi sebesar 42,45% diikuti berturut-turut 33,53%, 31,44%, 24,82% dan 20,67%. Momoh *et al.* (2014) dari hasil studi yang diperoleh mengungkapkan bahwa 200, 400 dan 800 mg/berat badan ekstrak etanol daun *Alstonia boonie* yang mengandung flavonoid, tanin, saponin dan steroid dapat menekan *Plasmodium berghei* penyebab malaria. Walaupun demikian, pada dosis ekstrak tinggi dapat menimbulkan efek positif merusak ginjal. Beberapa pustaka menyebutkan bahwa senyawa bioflavonoid yang mampu menghambat pertumbuhan parasit dan memiliki mekanisme aksi dengan dua target utama, yaitu: 1). Membran yang dibentuk parasit malaria stadium intraeritrositik yaitu Jalur Permeasi Baru (NPP= *New Permeation Pathway*) dengan cara menghambat transpor nutrisi yang dibutuhkan parasit, dan 2). Vakuola makanan parasit malaria yaitu dengan menghambat proses degradasi hemoglobin (Widyawaruyanti, 2011).

Kuinon yang terdapat pada daun sampare merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antimalaria. Salah satu derivat dari kuinon yang sudah teruji dan berpotensi membunuh *Plasmodium falciparum* adalah naftokuinon yang ditemukan pada suku *Bignoniaceae*. Senyawa naftokuinon ini, telah dikembangkan menjadi obat malaria yang dinamakan BW58C 2-[4-t-butilsikloheksil]-3-hidroksi-1,4-naftokuinon], yang ternyata lebih potensial membunuh *P. falciparum* dibandingkan dengan obat klorokuin dan mempunyai efektivitas yang sangat tinggi terhadap *Plasmodium beghei*, *Plasmodium yoelli* (Simanjuntak, 1995).

Senyawa bioaktif hasil analisis fitokimia yang berperan aktif dan efektif menghambat atau membunuh *Plasmodium* adalah flavonoid dan kuinon. Jadi kemungkinan besar daun sampare dapat untuk menyembuhkan penyakit malaria

karena adanya senyawa golongan flavonoid dan kuinon.

KESIMPULAN

Berdasarkan kajian dapat disimpulkan bahwa uji keamanan toksisitas ekstrak etanol daun sampare (*Glochidion* sp.) menunjuk toksisitas yang sangat rendah, dengan nilai *Lethal Concentration* LC₅₀ =758,58. Analisis fitokimia pada sampel serbuk dan ekstrak daun sampare menunjukkan postif mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan kuinon dan tidak mengandung steroid dan triterpenoid.

DAFTAR PUSTAKA

- Bahekar, S. and R. Kale. 2013. Herbal plants used for the treatment of malaria. A literature review. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 1(6): 141 - 147.
- Chrystomo, L.Y., A.K. Karim, I., J. Suyono, and M. Warpur. 2012. The therapeutic values and pharmacology activities of medicinal plant for antimalaria. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*. 8(2): 141-151.
- Chrystomo, L.Y., A.K. Karim, dan A. Pongtiku. 2013. Tumbuhan obat beberapa etnik Papua. *Laporan Penelitian Sentra Pengembangan dan Penerapan Pengobatan Tradisional (SP3T) Papua*. Dinas Kesehatan Propinsi Papua. 54p.
- Chrystomo, L.Y., A.K. Karim, I.M. Budi and A. Pongtiku. 2014a. Ethnopharmacy of the Many Ethnic Papua. *Poster Presentation*. International Symposium on Plant Medicinal and Traditional Medicine, Tawangmangu, Karanganyar. June 4-6, 2014.
- Chrystomo L.Y., I.M. Budi, A.K. Karim dan A. Pongtiku. 2014b. Studi etnofarmasi penggunaan tumbuhan obat *Glochidion* sp. untuk mengobati penyakit malaria oleh masyarakat lokal Biak. *Prosiding Seminar Nasional Biologi Indonesia*, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Cenderawasih. Tanggal 7-8 Oktober 2014. ISBN 978-602-7905-38-2. Hal: 47-54.
- Chrystomo L.Y., I.M. Budi, A.K. Karim dan A. Pongtiku. 2015. Observasi klinik penggunaan tumbuhan obat *Glochidion* sp dalam bentuk teh celup untuk menyembuhkan penyakit malaria oleh masyarakat Papua. *Prosiding Seminar Nasional Perhimpunan Biologi Indonesia (PBI) Ke-23*, Universitas Cenderawasih, Jayapura. Tanggal 8-9 September 2015. ISBN 979-602-7905-54-2. Hal: 235-238.
- Chrystomo, L.Y. dan A.K. Karim. 2016a. Edukasi pemanfaatan herbal tumbuhan obat tradisional antimalaria *Glochidion* sp. kepada masyarakat lokal di

- daerah endemik malaria Kabupaten Keerom. *Jurnal Pengabdian Papua*. 1(2): 47-50.
- Chrystomo, L.Y., A.K. Karim, N.N. Artantri, S. Dwa, Y. Wona dan A. Pongtiku. 2016b. Tumbuhan obat tradisional Papua berdasarkan kearifan lokal masyarakat. Dinas Kesehatan Provinsi Papua, Sentra Pengembangan dan Penerapan Pengobatan Tradisional (Sentra P3T). Penerbit Nulisbuku Jendela Dunia. ISBN 978-602-60288-9-1.
- Doyle, A and J.B. Griffiths. 2000. Cell and tissue culture for medical research. John Willey and Sons, Ltd. New York.
- Fitrianiingsih, S.P., Supriyatna, A. Diantini, dan A. Muis. 2010. Aktivitas antiplasmodium ekstrak etanol beberapa tanaman obat terhadap mencit yang diinfeksi *Plasmodium berghei*. *Prosiding SnaPP Edisi Eksakta*. ISSN: 2089-3582. Hal. 1-13.
- Geran, R.I., N.H. Greenberg, M.M. Macdonald, A.M. Schumacher and B.J. Abott. 1972. Protocol for screening chemical agents and natural product against animal tumours and other biological system. *Journal Cancer Chemother*. 3: 59-61.
- Harborne, J.B. 1987. Metode fitokimia: Penuntun cara modern menganalisis tumbuhan. (Penerjemah: K. Padmawinata dan I. Soediro). Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Harbourne, J.B. 1996. Metode fitokimia, Penuntun cara modern menganalisis tumbuhan. Edisi kedua. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Meyer, B.N., N.R. Ferigni, J.E. Putnam, L.B. Jaconsen, D.F. Nichols and J.L. McLaughlin. 1982. Brine shrimp a convenient general bioassay for active plant constituents. *J. Planta Medica*. 45: 31-34.
- Momoh, J., A.O Longe and C.A. Campbell. 2014. In vivo antiplasmodial and in vitro antioxidant activity of ethanolic leaf extract of *Alstonia boonie* and its effect on some biochemical parameters in Swiss Albino Mice infected with *Plasmodium berghei* NK 65. *European Scientific Journal*. 10(18): 68-82.
- Oletunde and M. Damilola. 2015. Antimalarial and antioxidant effect of metanol and flavonoid-rich extract of *Adansonia digitata* stem bark on *Plasmodium berghei* infected mice. A Project Report Submitted to The Department of Biochemistry, Federal University. Oye-Ekiti, Ekiti State Nigera.
- Simanjuntak, P. 1995. Tumbuhan sebagai zat aktif malaria. *Buletin Penelitian Kesehatan*. 23(9): 1-11.
- Widyawaruyanti A., N.C. Zaini dan Syafruddin. 2011. Mekanisme dan aktivitas antimalaria dari senyawa flavonoid yang diisolasi dari cempedak (*Artocarpus champeden* Spreng Stembark). *JBP* 13(2) : 67-77.
- Wijaya, A. R. 2013. Formulasi krim ekstrak lidah buaya (*Aloe vera*) sebagai alternatif penyembuh luka bakar. [Skripsi]. Universitas Negeri Semarang. Semarang.