

**PHYTOCHEMICAL SCREENING AND TOXICITY TEST OF MANGROVE LEAF
ETHANOL EXTRACT (*Bruguiera gymnorrhiza*) WITH BRINE SHRIMP LETHALITY TEST
(BSLT) METHOD**

**SKRINING FITOKIMIA DAN UJI TOKSISITAS EKSTRAK ETANOL DAUN
MANGROVE (*Bruguiera gymnorrhiza*) DENGAN METODE BRINE SHRIMP LETHALITY
TEST (BSLT)**

Friyan Criscanus Manopo^{1)*}, Fatimawali¹⁾, Olvie Syenni Datu¹⁾

¹⁾Program Studi Farmasi Fakultas MIPA Universitas Sam Ratulangi Manado

*frianmanopo22@gmail.com

ABSTRACT

Cancer is one of the biggest causes of death in the world. Therefore, efforts to manufacture drugs for cancer treatment continue to be developed. One of the efforts to develop cancer drugs is by using medicinal plants which are empirically used by local communities in various regions. This study aims to analyze the content of secondary metabolites contained in the leaf extract of the Mangrove *Bruguiera gymnorrhiza* and to determine the potential as an anticancer by determining the LC₅₀ value. The extract was obtained by maceration using 96% ethanol solvent, identification of secondary metabolites by phytochemical screening and to determine the anticancer potential using the BSLT method with data analysis using Microsoft Excel. The phytochemical test results showed that the leaf extract contained alkaloids, flavonoids, saponins, tannins, and did not contain steroid/triterpenoid compounds. The results of the analysis showed that the ethanol extract of mangrove leaf (*Bruguiera gymnorrhiza*) was highly toxic with an LC₅₀ value of 24.1 µg/ml.

Key Words : *Phytochemical screening, Brine Shrimp Lethality Test, Bruguiera gymnorrhiza*

ABSTRAK

Kanker merupakan salah satu penyebab kematian terbesar di dunia. Oleh karena itu, upaya pembuatan obat untuk penanganan kanker terus dikembangkan. Salah satu upaya pengembangan obat kanker yaitu dengan pemanfaatan tumbuhan obat yang secara empiris digunakan oleh masyarakat lokal di berbagai daerah. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kandungan metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak daun Mangrove *Bruguiera gymnorrhiza* dan untuk mengetahui potensi sebagai antikanker dengan menentukan nilai LC₅₀. Ekstrak diperoleh dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%, identifikasi metabolit sekunder dengan cara skrining fitokimia dan untuk mengetahui potensi antikanker menggunakan metode BSLT dengan analisis data menggunakan Microsoft Excel. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak daun mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, dan tidak mengandung senyawa steroid/triterpenoid. Hasil analisis menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun mangrove *Bruguiera gymnorrhiza* bersifat sangat toksik dengan nilai LC₅₀ 24,1 µg/ml.

Kata kunci : *Skrining Fitokimia, Brine Shrimp Lethality Test, Bruguiera gymnorrhiza*

PENDAHULUAN

Kanker merupakan salah satu penyebab kematian terbesar didunia. Oleh karena itu, upaya pembuatan obat untuk penanganan kanker terus dikembangkan. Salah satu upaya pengembangan obat kanker yaitu dengan pemanfaatan tumbuhan obat yang secara empiris digunakan oleh masyarakat lokal di berbagai daerah (Yuli *et al.*, 2011).

Indonesia adalah salah satu negara yang memiliki keanekaragaman hayati yang sangat tinggi. Dengan luas kawasan hutan tropis terkaya kedua di dunia setelah Brazil, negara kita menyimpan potensi hayati yang merupakan sumber bahan pangan dan obat-obatan yang telah lama dimanfaatkan oleh masyarakat di Indonesia (Hohakay, 2019).

Sekitar 30.000 jenis tumbuhan berada dan hidup di Indonesia, banyak diantaranya mengandung bahan yang digunakan untuk pengobatan. Tumbuhan perlu terus digali, diteliti, dikembangkan dan dioptimalkan pemanfaatannya. Kecenderungan masyarakat dunia untuk “*Back to Nature*” dengan indikasi utama peningkatan kebutuhan produk-produk konsumsi untuk kesehatan dari bahan alam, merupakan peluang besar bagi pengembangan tanaman obat dan obat tradisional Indonesia (BPOM, 2020).

Tanaman mangrove diketahui memiliki banyak potensi sebagai obat. Beberapa diantaranya memiliki potensi sebagai antioksidan, antimikroba, dan antikanker. Bagian dari tumbuhan mangrove yang dapat dimanfaatkan adalah akar, kulit batang, dan daun. Tumbuhan mangrove sendiri diketahui mengandung senyawa flavonoid, polifenol, tanin, senyawa fenolat, klorofil, karotenoid, terpenoid dan alkaloid. Karena kandungan senyawa-senyawa ini, tanaman mangrove biasa digunakan sebagai antikanker, antibakteri, antimalaria, antiviral dan antioksidan (Ridlo *et al.*, 2017).

Pada penelitian terdahulu ditemukan adanya korelasi positif antara toksisitas *brine shrimp* dengan sitotoksitas 9 KB (karsinoma nasofaring pada manusia. Kegunaan BSLT sebagai uji pendahuluan untuk aktivitas antitumor dipertegas dengan uji sitotoksitas

in vitro dan aktivitas 3ps (Sel murni leukimia p388 *in vivo*) secara *Blind Comparison*. Uji BSLT telah digunakan dalam 20 tahun terakhir dan telah menuntun ditemukannya efek sitotoksik dari berbagai bahan alam. Kelebihan BSLT yaitu lebih cepat, biaya yang sedikit dan sederhana (Syarie, 2010).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Widia Rahma pada tahun 2021 tentang potensi tanaman mangrove sebagai agen anti kanker mengatakan bahwa ekstrak tanaman mangrove memiliki potensi sebagai agen antikanker yang bekerja dengan menghambat dan membunuh sel kanker untuk berkembang sebagaimana mestinya dalam tubuh. Oleh karena itu penelitian ini dilakukan untuk melihat potensi anti kanker pada mangrove *Bruguiera gymnorrhiza* yang terdapat di kecamatan Waisai Kota Kabupaten Raja Ampat Provinsi Papua Barat.

METODOLOGI PENELITIAN

Bentuk Penelitian

Bentuk penelitian ini berupa penelitian eksperimental di laboratorium yang dilakukan dengan cara menguji senyawa pada ekstrak daun mangrove (*Bruguiera gymnorrhiza*) yang bersifat toksik terhadap larva udang *Artemia salina* Leach.

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2022 – Februari 2022 di Laboratorium Penelitian Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi Manado.

Prosedur Penelitian

Pengambilan Sampel

Daun mangrove yang sudah diambil kemudian dibersihkan dan dicuci dengan air mengalir. Daun mangrove yang sudah bersih dicuci lalu dipotong kecil-kecil dengan pisau kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C. daun mangrove yang sudah kering selanjutnya di blender agar halus (serbuk simplisia).

Ekstraksi dengan Metode Maserasi

Serbuk simplisia daun mangrove ditimbang 170 gr untuk diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96 %. Sampel dimasukkan kedalam bejana maserasi kemudian direndam dengan etanol 96% sebanyak 1200 ml. Wadah maserasi disimpan selama kurang lebih 5 hari di tempat yang terlindungi dari sinar matahari langsung sambil sesekali di aduk, selanjutnya disaring, dipisahkan antara ampas dan filtrat. Ampas diekstraksi kembali dengan etanol 96 % yang baru dengan jumlah yang sama, dilakukan pengulangan sampai hasil rendaman tidak terlalu pekat. Ekstrak etanol yang di peroleh kemudian di uapkan pelarut etanolnya menggunakan *Rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental.

Uji Fitokimia

1. Uji Alkaloid

Sebanyak 1 g ekstrak etanol daun mangrove (*Bruguiera gymnorrhiza*) dimasukkan ke dalam tabung reaksi, selanjutnya ditambahkan 2 mL kloroform serta 2, 5 mL ammonia 10%, kemudian ditambahkan 10 tetes asam sulfat 2 M untuk memperjelas terjadinya pemisahan 2 fase yang berbeda. Bagian atas dari fase yang terbentuk diambil, setelah itu ditambahkan reagen Mayer. Keberadaan alkaloid dalam sampel ditandai dengan terjadinya endapan putih ataupun kabut putih atau kekeruhan.

2. Uji Flavonoid

Sebanyak 0,5 g ekstrak etanol daun mangrove (*Bruguiera gymnorrhiza*) dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 5 mL etanol dan dipanaskan selama 5 menit dalam tabung reaksi. Setelah dipanaskan, ditambahkan 10 tetes asam klorida (HCl) pekat. Kemudian ditambahkan 0,2 g serbuk magnesium (Mg). Adanya flavonoid ditunjukkan oleh timbulnya warna merah.

3. Uji Tanin

Sebanyak 0,5 g ekstrak etanol daun mangrove (*Bruguiera gymnorrhiza*) dimasukkan ke dalam tabung reaksi,

selanjutnya ditambahkan dengan 10 mL air panas, kemudian ditetesi besi (III) klorida (FeCl₃), keberadaan tannin dalam sampel ditandai dengan munculnya warna hijau kehitaman.

4. Uji Saponin

Sebanyak 0,5 g ekstrak etanol daun mangrove (*Bruguiera gymnorrhiza*) ditambahkan dengan 10 mL akuades kemudian dikocok selama kurang lebih 1 menit. Selanjutnya didiamkan selama 10 menit dan diamati buih atau busa yang terbentuk. Keberadaan senyawa saponin dalam sampel ditandai dengan terbentuknya buih yang stabil selama 10 menit.

5. Uji Steroid dan Terpenoid

Sebanyak 0,5 g ekstrak etanol daun mangrove (*Bruguiera gymnorrhiza*) ditambahkan dengan 1 mL kloroform (CHCl₃). Selanjutnya campuran dikocok. Ditambahkan masing-masing asetat anhidrat (C₄H₆O₃) dan asam sulfat (H₂SO₄) pekat sebanyak 2 tetes. Larutan dikocok perlahan lalu dibiarkan selama beberapa menit. Jika mengandung steroid maka larutan memberikan warna biru atau hijau dan apabila mengandung triterpenoid maka larutan memberikan warna merah atau ungu.

Uji Toksisitas dengan metode BSLT

1. Penyiapan Larva *Artemia salina* L.

Penetasan telur *Artemia salina* L. dilakukan dengan cara merendam sebanyak 50 mg telur *A. salina* dalam wadah yang berisi air laut dan aerator dibawah cahaya lampu 25 watt. Telur *A. salina* akan menetas dan menjadi larva setelah 24 jam. Larva *A. salina* yang baik digunakan untuk uji BSLT yaitu yang berumur 48 jam sebab jika lebih dari 48 jam dikhawatirkan kematian *A. salina* bukan disebabkan toksisitas melainkan oleh terbatasnya persediaan makanan.

2. Pembuatan Konsentrasi Sampel Uji

Konsentrasi larutan uji untuk BSLT adalah 1000 µg/mL, 500 µg/mL, 250 µg/mL, 125 µg/mL, 62,5 µg/mL, 31,25 µg/mL dan larutan kontrol. Untuk pembuatan larutan stok,

ekstrak kental etanol 96% ditimbang sebanyak 1000 mg, kemudian dilarutkan dengan menambahkan air laut hingga 1 L, hingga diperoleh konsentrasi larutan stok 1000 µg/mL.

- a. Larutan konsentrasi 1000 µg/mL dibuat dengan cara diambil 10 mL dari larutan stok.
- b. Larutan konsentrasi 500 µg/mL dibuat dengan cara diambil 10 mL dari larutan stok dan ditambahkan air laut hingga 20 mL.
- c. Larutan konsentrasi 250 µg/mL dibuat dengan cara diambil 10 mL dari larutan 500 µg/mL dan ditambahkan air laut hingga 20 mL.
- d. Larutan konsentrasi 125 µg/mL dibuat dengan cara diambil 10 mL dari larutan 250 µg/mL dan ditambahkan air laut hingga 20 mL.
- e. Larutan konsentrasi 62,5 µg/mL dibuat dengan cara diambil 10 mL dari larutan 125 µg/mL dan ditambahkan air laut hingga 20 mL.
- f. Larutan konsentrasi 31,25 µg/mL dibuat dengan cara diambil 10 mL dari larutan 62,5 µg/mL dan ditambahkan air laut hingga 20 mL, setelah itu di ambil 10 mL untuk digunakan agar volume yang digunakan dengan tabung uji lain seragam.
- g. Larutan kontrol dibuat dengan mengambil 10 mL air laut saja.

3. Uji Toksisitas

Pada uji toksisitas masing-masing konsentrasi dilakukan 3 duplikasi dengan tiap kelompok sebanyak 10 ekor larva *Artemia salina* L. Disiapkan wadah untuk pengujian, untuk masing - masing konsentrasi ekstrak sampel membutuhkan 3 wadah dan 3 wadah sebagai kontrol untuk masing - masing duplikasi. Selanjutnya pada tiap konsentrasi larutan dimasukan 10 ekor larva *A. salina*. Pengamatan dilakukan selama 24 jam terhadap kematian larva *A. salina* dimana setiap konsentrasi dilakukan 3 duplikasi dan dibandingkan dengan kontrol. Kriteria standar

untuk menilai kematian larva *A. salina* yaitu bila larva *A. salina* tidak menunjukkan pergerakan selama 5 detik observasi.

4. Analisis data

Data yang dikumpulkan adalah data primer yang didapatkan dari jumlah larva udang yang mati 24 jam setelah perlakuan pada tiap-tiap konsentrasi daun mangrove (*Bruguiera gymnorrhiza*). Data hasil penelitian dari uji toksisitas akan dianalisis dengan analisis Microsoft Excel untuk menentukan nilai LC₅₀, serta disajikan dalam bentuk tabel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi Sampel

Daun mangrove yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Kelurahan warmasen, Kecamatan Waisai Kota, Kabupaten Raja Ampat, Sulawesi Utara. Daun mangrove yang diperoleh dilakukan sortasi, pencucian dan pengeringan. Sortasi dan pencucian pada air mengalir yang bertujuan untuk membersihkan dari kotoran-kotoran yang melekat ataupun bagian dari tanaman lain yang tidak akan digunakan yang terbawa saat pengumpulan daun.

Tujuan dari pengeringan untuk menghilangkan kadar air yang terdapat dalam sampel yang dapat menyebabkan terjadinya reaksi enzimatik yang mengakibatkan rusaknya sampel karena susunan senyawa yang terdapat dalam daun tersebut telah berubah (Ningsih *dkk*, 2016).

Daun mangrove yang sudah kering dihaluskan menggunakan blender dan diayak. Sampel yang diperoleh dari hasil pengayakan berupa serbuk, bertujuan untuk memperluas permukaan sampel sehingga interaksi pelarut dengan senyawa yang akan diambil lebih efektif dan senyawa dapat terekstrak sempurna. Semakin kecil ukuran bahan yang digunakan maka semakin luas bidang kontak antara bahan dengan pelarut. Kondisi ini akan menyebabkan kecepatan untuk mencapai kesetimbangan sistem menjadi lebih besar. Jaringan bahan atau simplisia dapat mempengaruhi efektivitas ekstraksi. Ukuran bahan yang sesuai akan menjadikan proses

ekstraksi berlangsung dengan baik dan tidak memakan waktu yang lama (Ningsih *dkk*, 2016).

Ekstraksi

Serbuk kering daun mangrove diekstraksi dengan metode maserasi. Serbuk daun mangrove yang digunakan sebesar 200 g dan diekstraksi dengan pelarut etanol 96% sebanyak 1000 mL selama 5 hari. Setelah 5 hari dilakukan lagi remaserasi 1 kali selama 3 hari dengan ditambahkan pelarut etanol 96% mencapai 600 mL.

Pemilihan metode maserasi dikarenakan pelaksanaannya lebih mudah dan tidak memerlukan peralatan yang spesifik. Selain itu, metode maserasi dapat digunakan untuk jenis senyawa yang tahan panas maupun yang tidak tahan panas dan dapat digunakan

untuk jenis senyawa yang belum diidentifikasi (Herawati *et al.*, 2012). Proses ini sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam, karena selama perendaman terjadi peristiwa plasmolisis yang menyebabkan terjadi pemecahan dinding sel akibat perbedaan tekanan didalam dan diluar sel, sehingga senyawa yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dan proses ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang diinginkan (Ningsih *et al.*, 2016).

Hasil ekstraksi daun mangrove diperoleh rendemen ekstrak kental sebanyak 38,4 g. Persen rendemen ekstrak daun mangrove didapat dengan membagi jumlah rendemen ekstrak dengan berat serbuk sebelum ekstraksi kemudian dikalikan 100%. Persen rendemen yang didapat yaitu 19%.

Uji Fitokimia

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia dari Ekstrak Etanol Daun Mangrove (*Bruguiera gymnorrhiza*)

Senyawa Metabolit	Penambahan	Perubahan Positif	Perubahan Warna	Hasil Pengujian
Alkaloid	2 mL kloroform + 10 tetes asam sulfat	Pereaksi Meyer: endapan putih Pereaksi Dragendorf: merah jingga Pereaksi Wagner: coklat	merah jingga	+
Flavonoid	10 tetes asam klorida pekat + 0,2 g serbuk magnesium	Warna merah bata	Warna merah bata	++
Tanin	10 mL air panas + 5 tetes besi (III) klorida	Warna hijau kehitaman	Warna hijau kehitaman	+
Saponin	10 mL akuades	Terbentuknya buih stabil selama 10 menit	Terbentuknya buih stabil selama 10 menit	+
Steroid dan Triterpenoid	1 mL kloroform + 2 tetes asetat anhidrat + 2 tetes asam sulfat pekat	Steroid: warna biru atau hijau Triterpenoid: warna merah atau ungu	Warna kecoklatan	- Steroid - Triterpenoid

Ketrangan hasil pengujian : hasil negative ditandai dengan (-), hasil positif ditandai dengan (+), dan hasil positif yang diduga mempunyai jumlah yang besar ditandai dengan (++)

Pengujian fitokimia ini menunjukkan bahwa ekstrak daun mangrove positif memiliki senyawa metabolit sekunder yakni alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin. Sedangkan untuk metabolit sekunder triterpenoid dan steroid menunjukkan hasil negatif. Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Jayanti dkk pada tahun 2021 menjelaskan bahwa tumbuhan mangrove *Bruguiera gymnorrhiza* mengandung Alkaloid, Flavanoid, Saponin, Steroid, Tanin dan Triterpenoid. Keberadaan metabolit sekunder tersebut menunjukkan bahwa daun mangrove mempunyai efek farmakologis dan berpotensi untuk dijadikan sebagai bahan obat-obatan.

Alkaloid termasuk dalam golongan antikanker. Mekanisme dari alkaloid vinca yaitu menghambat proliferasi sel dengan cara mempengaruhi dinamika mikrotubulus selama mitosis, sehingga menyebabkan proses mitosis terhambat dan menyebabkan terjadinya apoptosis (Sisodiya, 2013). Menurut Nogrady (1992), mekanisme dari alkaloid vinca yaitu menghentikan pembelahan sel pada tahap metaphase sehingga sel kanker dapat dihambat pertumbuhannya. Alkaloid memiliki mekanisme sitotoksik dengan cara berikatan dengan tubulin (proteini yang menyusun mikrotubulus) sehingga polimerisasi protein menjadi mikrotubulus terhambat dan menyebabkan pembentukan benang spindle terhambat. Hal tersebut menyebabkan siklus terhenti pada tahap metaphase sehingga tidak terjadi pembelahan sel dan memicu terjadinya apoptosis (Bertomi, 2011).

Flavanoid mempunyai beberapa sifat biologis seperti Manfaat flavonoid antara lain adalah untuk melindungi struktur sel, meningkatkan efektivitas vitamin C, anti-inflamasi, mencegah keropos tulang dan sebagai antibiotik. Dalam tubuh manusia flavonoid berfungsi sebagai antioksidan sehingga sangat baik untuk pencegahan kanker. Golongan flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan meliputi flavon, flavonol, isoflavon dan flavanon (Harjito, 2015).

Tanin adalah salah satu senyawa aktif metabolit sekunder yang mempunyai beberapa

khasiat seperti sebagai astringen, anti diare, antibakteri dan antioksidan (ummah, 2010).

Saponin memiliki berbagai macam sifat biologis seperti kemampuan hemolitik, aktivitas antibakteri, antimolluska, aktivitas sitotoksik atau antikanker dan anti protozoa (Yanuartono *et al.*, 2017).

Pengujian Toksisitas dengan Metode BSLT

Pengujian toksisitas dilakukan dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) menggunakan larva *Artemia salina* L. Kemampuan toksisitas dari ekstrak etanol daun mangrove dalam mematikan larva udang yang telah diberikan perlakuan dengan konsentrasi 1000, 500, 250, 125, 62,5 dan 31,25 µg/mL beserta larutan kontrol yang hanya berisi air laut dapat dilihat dalam **Tabel 2**. Penambahan larutan kontrol dilakukan untuk mengetahui pengaruh air laut maupun faktor lain terhadap kematian larva, sehingga kematian larva dapat dipastikan karena efek dari ekstrak yang ditambahkan.

Air laut yang digunakan merupakan air laut sintetik yang dibuat dengan cara melarutkan garam non iodium sebanyak 20 g dalam 1000 mL akuades. Dapat diketahui bahwa masing-masing konsentrasi ekstrak daun mangrove yang digunakan memperlihatkan pengaruh yang berbeda. Jumlah larva tiap uji adalah 10 ekor dan tiap konsentrasi dilakukan hingga 3 kali duplikasi. Jumlah total larva udang *A. salina* yang digunakan adalah 210 ekor larva.

Larva yang digunakan adalah larva yang berumur 48 jam dan aktif bergerak. Pada fase ini disebut dengan fase nauplii atau telur menjadi larva, dimana fase ini merupakan fase paling aktif membelah secara mitosis sehingga identik dengan sel kanker. Nauplii yang berumur dibawah 48 jam mempunyai epitel saluran pencernaan yang belum dapat berkontak dengan medium eksternal dan nauplii ini hanya hidup dari kantung kuning telurnya sehingga dikhawatirkan kematian larva tidak berhubungan dengan efek toksisitas dari ekstrak etanol sampel (Panggabean, 1984).

Tabel 2. Presentase Jumlah Kematian Larva Udag

Pengujian	Larutan Kontrol	Jumlah Kematian Setiap Konsentrasi					
		31,25 µg/mL	62,5 µg/mL	125 µg/mL	250 µg/mL	500 µg/mL	1000 µg/mL
1	0	7	7	8	9	10	10
2	0	7	8	9	9	10	10
3	0	6	7	7	9	9	10
Total Kematian Larva	0	20	22	24	27	29	30
Rata-rata	0	6,6	7,3	8	9	9,6	10
Presentase Kematian	0%	66%	73%	80%	90%	96%	100%

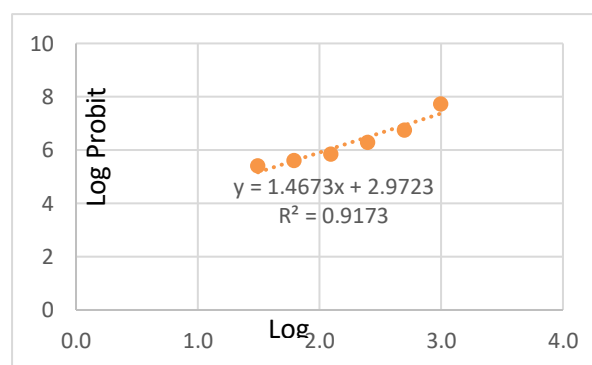
Berdasarkan Tabel 2, dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi maka semakin besar juga tingkat kematian larva udang, dimana diperoleh tingkat kematian tertinggi pada konsentrasi 1000 µg/mL dan kematian terendah pada konsentrasi 31,25 µg/mL.

Mekanisme kematian larva udang berhubungan dengan senyawa metabolit sekunder ekstrak yang bersifat toksik yang dapat menghambat daya makan larva udang. Ketika senyawa tersebut tertelan oleh larva, alat pencernaanya akan terganggu. Selain itu, senyawa ini menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva udang. Sehingga larva udang tidak bisa makan, sehingga menyebabkan larva udang mati (Meyer *et al.*, 1982).

Menurut Meyer *et al.*, (1982), ekstrak dapat disebut bersifat toksik apabila memiliki nilai LC₅₀ dengan konsentrasi kurang dari 1000 µg/mL, semakin kecil nilai LC₅₀ menunjukkan bahwa senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak tersebut semakin kuat.

Nilai x yang didapatkan kemudian diolah untuk mendapatkan nilai LC₅₀ menggunakan formula “=POWER(10,nilai x)”. Nilai LC₅₀ yang didapatkan yaitu 24,1 µg/mL

Berdasarkan perhitungan LC₅₀ menggunakan excel didapatkan hasil 24,1 µg/mL. hasil ini masuk kedalam kategori highly toksik dengan kisaran nilai LC₅₀ (10 µg/mL-30 µg/mL). Pada penelitian yang dilakukan oleh Anamardiyah, Undri Rastuti dan Santy Nurhandayani pada tahun 2021



Gambar 9. Kurva Regresi Linear

Tabel 3. Perhitungan nilai LC₅₀ menggunakan Excel.

Konsentrasi Uji µg/mL	Log Konsentrasi	Jumlah Larva Uji	Jumlah Larva mati				Rata-rata	Persen Kematian (%)	Nilai probit
			1	2	3	4			
1000	3.0	10	10	10	10	10	100	7.73	
500	2.7	10	10	10	10	9	96	6.75	
250	2.4	10	9	9	9	9	90	6.28	
125	2.1	10	8	9	7	8	80	5.84	
62.5	1.8	10	7	8	7	7.3	73	5.61	
31.25	1.5	10	7	7	6	6.6	66	5.41	

LC50 = 24.09494762

Perhitungan LC₅₀

$$y = 5$$

$$a = 1,4673$$

$$b = 2,9723$$

$$y = ax + b$$

$$x = \frac{y - b}{a}$$

$$x = \frac{5 - 2,9723}{1,4673}$$

$$x = 1.381925987$$

menunjukkan nilai LC₅₀ dari daun mangrove *Bruguiera gymnorrhiza* sebesar 34,109 µg/mL.

Flavonoid, alkaloid, dan saponin yang dapat berperan sebagai antioksidan dan antikanker. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi radikal bebas didalam tubuh. Flavonoid dan alkaloid bekerja sebagai antioksidan yaitu dengan cara

menyumbangkan atom hydrogen, sehingga radikal DPPH dapat tereduksi. Senyawa saponin juga mempunyai efek antioksidan dengan membentuk spesies reaktif seperti hidroperoksida dan superoksida sebagai antioksidan sehingga menghambat pembentukan lipid peroksida. Senyawa Flavonoid dan alkaloid juga dikatakan sebagai antikanker yaitu dengan cara menghambat mekanisme pembelahan serta pengaktifan jalur apoptosis sel kanker (Desi *et al.*, 2020). Tanin dapat digunakan sebagai antikanker. Aktifitas antikanker suatu senyawa tanin terjadi melalui mekanisme penghambatan kerja enzim sel, pencegahan proses mutagenesis sel yang dapat menimbulkan kanker, dan pengaktifan sel makrofag kanker. Mekanisme kerja tanin ini menggunakan inhibitor histone deacetylase (HDAC) (Intan, 2016).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Ekstrak etanol 96% daun mangrove (*Bruguiera gymnorrhiza*) mengandung senyawa metabolit sekunder yakni alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin yang dapat memberikan aktivitas farmakologis. Senyawa yang berpotensi sebagai antikanker yaitu Alkaloid, Flavanoid, Tanin dan saponin.
2. Ekstrak etanol 96% daun mangrove (*Bruguiera gymnorrhiza*) memiliki sifat toksik dengan nilai LC_{50} sebesar 24,1 $\mu\text{g/mL}$. sangat toksik terhadap larva udang *Artemia salina* sehingga dapat dikembangkan sebagai tanaman antikanker.

SARAN

Dengan hasil penelitian yang dilakukan ini, perlu dilakukan penelitian yang lebih lanjut mengenai daun mangrove, karena daun mangrove memiliki berbagai senyawa metabolit sekunder yang bermanfaat dan juga ekstrak etanol daun mangrove bersifat toksik yang sangat berpotensi sebagai bahan obat antikanker. Penelitian selanjutnya disarankan untuk menggunakan metode yang lebih

spesifik lagi seperti *Microtetrazolium* (MTT) atau *Cell Line*.

DAFTAR PUSTAKA

- Arum Syarie, S. 2010. "Uji Toksisitas daun *Gracinia porrecta* Wall var. *Schizogyne Boerl* dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia dari Ekstrak dan yang Aktif". Skripsi. Universitas Indonesia.
- Abdullah, S. S., Antasionasti, I., Rundengan, G., Abdullah, R. P. I. (2022). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Biji Dan Daging Buah Pala (*Myristica fragrans*) Dengan Metode DPPH. *Chemistry Progress*, 15(2), 70–75.
- Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia. 2020. Potensi Obat Herbal Indonesia. <https://www.pom.go.id/new/view/more/pers/531/Potensi-Obat-Herbal-Indonesia.html>
- Bertomi R. P., 2011, Uji Toksisitas Akut Ekstrak Kulit Batang Pulasari (*Alyxia cortex*) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BST), [Skripsi]. Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta.
- Desi, E. Gusingi, Wilmar, M. Hariyadi., Nerni, O. Potalangi. 2020. Studi Aktivitas Antioksidan Dan Antikanker Payudara (MCF-7) Ekstrak Etanol Daun Benalu Langsung *Dendrophthoe pentandra*. [Skripsi] Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam UKIT, Tomohon.
- Hohakay, Jio. 2019. Pengaruh Metode Pengeringan Terhadap Kadar Flavonoid Daun Sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl.). [Skripsi]. FMIPA Universitas SAM Ratulangi, Manado
- Intan, A, Firdaus. 2016. Identifikasi Tanin Pada Fraksi Air Tanaman Rumput Bambu (*Lophatherum gracile* B.) Dan

Uji Aktivitas Antikanker Isolat Tanin Terhadap Sel Kanker Payudara T47D

- Ningsih, D.R., Zufahair, D. Kartika. (2016). Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Serta Uji Aktivitas Ekstrak Daun Sirsak Sebagai Antibakteri. *Molekul*. **11 (1)**: 101-111.
- Panggabean, M. G. L. 1984. Teknik Penetasan dan Pemanenan *Artemia salina*. *Jurnal Oseana*, **9 (2)**: 57-65
- Ridlo, A., Pramesti, R., Supriyantini, E., & Soenardjo, N. 2017. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Mangrove *Rhizophora mucronata*. *Buletin Oseanografi Marina*. oktober, **6 (2)**: 1-8.
- Ummah, M.K. 2010. Ekstraksi Dan Pengujian Aktivitas Antibakteri Senyawa Tanin Pada Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) (kajian variasi pelarut) [disertasi]. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Yanuartono, H. Purnamaningsih. A. Nururrozi. Indarjulianto. 2017. Saponin : Dampak Terhadap Ternak. *Jurnal Peternakan Sriwijaya*.
- Yuli Dkk. 2011. Eksplorasi, Identifikasi dan Uji Sitotoksik Tanaman Obat Serta Pengembangan Formolanya Sebagai Antikanker berbasis Etnobotani Medis.