

## UJI TOKSISITAS EKSTRAK TANAMAN PATAH TULANG (*Euphorbia tirucalli* L.) TERHADAP *Artemia salina* DENGAN METODE BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BSLT) SEBAGAI STUDI PENDAHULUAN POTENSI ANTI KANKER

Sandriani A. Oratmangun<sup>1)</sup>, Fatimawali<sup>1)</sup>, dan Widdhi Bodhi<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

### ABSTRACT

Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* L.) is one of the plants that has been widely known by the world's population for a long time and was used as a traditional medicine, one of them as anti-cancer. The purpose of this study is to prove the existence of anti-cancer potential of methanol and chloroform extracts of Patah Tulang, and continued with the screening of phytochemical compounds. This study was an experimental study with Post Test Only Control Group Design. The used method is *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Based on the result, the LC<sub>50</sub> of methanol and chloroform extracts of Patah Tulang, Determined by simple linear regression analysis using Microsoft Office Exel 2010. Results of linear regression analysis showed LC<sub>50</sub> values of methanol extracts of Patah Tulang is 332.2489 mg/mL and chloroform extracts of Patah Tulang is 240.6432 mg / mL. The results of this study indicate that the methanol and chloroform extracts of Patah Tulang are toxic, it is marked with LC<sub>50</sub> values <1000 mg/mL. The content of phytochemical compounds from the methanol extract of Patah Tulang are flavonoids, alkaloids and tannins.

Key words : *Euphorbia tirucalli* Linn, *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), LC<sub>50</sub>, Phytochemical Compounds

### ABSTRAK

Tanaman Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* L.) merupakan salah satu tanaman yang telah banyak dikenal oleh penduduk dunia sejak lama dan digunakan sebagai pengobatan tradisional, salah satunya sebagai anti kanker. Tujuan penelitian ini adalah membuktikan ada tidaknya potensi anti kanker dari ekstrak metanol dan kloroform tanaman patah tulang, dan dilanjutkan dengan skrining senyawa fitokimia. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan *Post Test Only Control Group Design*. Metode yang digunakan adalah *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Berdasarkan data, LC<sub>50</sub> ekstrak metanol dan kloroform patah tulang, ditentukan dengan analisis regresi linier sederhana menggunakan Microsoft Office Exel 2010. Hasil dari analisis regresi linier menunjukkan nilai LC<sub>50</sub> dari ekstrak metanol tanaman patah tulang adalah 332,2489 µg/mL dan ekstrak kloroform tanaman patah tulang adalah 240,6432 µg/mL. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol dan kloroform tanaman patah tulang bersifat toksik, hal ini ditandai dengan nilai LC<sub>50</sub> < 1000 µg/mL, dan senyawa fitokimia yang diduga bersifat toksik terhadap *Artemia salina* L. adalah alkaloid, flavonoid dan tanin

Kata kunci : *Euphorbia tirucalli* Linn, *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), LC<sub>50</sub>, *Artemia salina* Leach, Senyawa Fitokimia

## PENDAHULUAN

Indonesia memiliki sekitar 30.000 spesies tanaman, 940 di antaranya digunakan sebagai tanaman obat. Penggunaan tanaman obat sebagai pengobatan tradisional merupakan pilihan pengobatan yang kini makin diminati, terlebih lagi dengan kesadaran untuk kembali ke alam dan juga karena relatif aman dan murah, bahkan dengan perkembangan yang kini ada makin mendapat perhatian bagi alternatif pelayanan kesehatan. Dari berbagai penelitian, obat tradisional telah diakui keberadaannya oleh masyarakat, dengan demikian meningkatkan manfaat tanaman bagi kesehatan dan menciptakan kondisi yang mendorong pengembangan obat tradisional (Hendrawati, 2009).

Salah satu tanaman obat yang sering digunakan oleh masyarakat secara turun temurun ialah tanaman Patah tulang. Tanaman Patah tulang telah dimanfaatkan oleh masyarakat untuk mengobati nyeri lambung, tukak rongga hidung, rematik, tulang terasa sakit, nyeri syaraf, wasir, sifilis, penyakit kulit, kusta, kaki dan tangan yang mati rasa dan juga digunakan sebagai obat antikanker (Dalimartha, 2003; Taylor, 2002).

Kanker menjadi masalah utama kesehatan di seluruh dunia dan penyakit pembunuh terbesar kedua setelah kardiovaskuler. Pengobatan konvensional yang umum dilakukan pada penyakit kanker ialah dengan pembedahan, kemoterapi dan radioterapi (Apantaku, 2002). Namun, terapi kanker secara pembedahan tidak dapat dilakukan khususnya pada sel kanker yang telah menyebar (metastasis), sementara pengobatan kemoterapi dan radiasi dapat menimbulkan efek samping meskipun pengobatan kemoterapi mampu mengeluarkan keseluruhan tumor (Hawariah, 1998). Saat ini kanker merupakan penyakit yang paling mematikan. Oleh karena itu peneliti tertarik untuk menemukan senyawa yang

baru yang dapat digunakan sebagai antikanker.

Sebagai skrining awal senyawa antikanker, metode yang dapat dipergunakan adalah metode *Brine Shrimp lethality Test* (BSLT) yaitu uji toksisitas senyawa terhadap larva udang *Artemia salina*. Metode ini telah dibuktikan memiliki korelasi dengan daya sitotoksik senyawa-senyawa antikanker (Meyer *et al.*, 1982). Selain itu, metode ini mudah, murah, cepat dan cukup akurat. Metode ini dilakukan dengan menentukan besarnya  $LC_{50}$  selama 24 jam (Meyer *et al.*, 1982). Suatu ekstrak tanaman atau senyawa hasil isolasi yang memiliki nilai  $LC_{50} < 1000$   $\mu\text{g/mL}$  dapat diduga memiliki efek sitotoksik (Dwiatmaka, 2000)

## METODOLOGI PENELITIAN

### Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tanaman Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* L.), air laut, larva *Artemia salina* Leach, aquades, Metanol (*Merck*), kloroform (*Merck*), ammonia (*Merck*), asam sulfat (*Merck*), pereaksi mayer (*Merck*), asam klorida (*Merck*), besi klorida (*Merck*), serbuk magnesium (*Merck*), asetat anhidrat (*Merck*), DMSO (Dimetil sulfoksida).

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu, alat-alat gelas Laboratorium (Pyrex), rak tabung reaksi, blender (*laboratory blender*), aluminium foil, timbangan analitik (AND), mikropipet, loop, kertas saring, aerator, hot plate, lampu pijar, ayakan *mesh* 200, oven (Memmert), vortex, *water bath*, *vacum rotary evaporator* (Steroglass 3000).

### Pengambilan dan Persiapan Sampel

Sampel yang digunakan ialah Ranting Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* L.) yang akan diambil di daerah sekitar Universitas Sam Ratulangi Kota Manado. Selanjutnya sampel dibersihkan dan dikering anginkan hingga sampel kering. Setelah kering sampel di blender hingga

sampel menjadi halus lalu diayak dengan ayakan mesh 200.

#### **Pembuatan Ekstrak Pelarut Polar**

Ekstraksi sampel menggunakan pelarut metanol. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi, yaitu sebanyak 100 g serbuk patah tulang yang diperoleh dimasukkan ke dalam *beaker* gelas kemudian ditambahkan pelarut metanol sebanyak 500 mL, ditutup dengan *aluminium foil* dan dibiarkan terendam selama 3 hari terlindung dari cahaya (setiap hari digojok).

Setelah 3 hari, sampel yang direndam tersebut disaring dengan menggunakan kertas saring sehingga didapat maserat (Filtrat I) dan residunya diremaserasi dengan metanol sebanyak 200 mL, ditutup dengan *aluminium foil* dan dibiarkan selama 2 hari, sampel tersebut disaring menggunakan kertas saring, sehingga diperoleh ekstrak maserat (Filtrat II). Selanjutnya semua maserat metanol digabungkan (Filtrat I + Filtrat II) dan diuapkan dengan menggunakan alat penguap *Rotary evaporator* pada temperatur 40<sup>0</sup>C sampai volumenya menjadi ¼ dari volume awal dan dilanjutkan dengan pengeringan dengan menggunakan *water bath* pada suhu 40<sup>0</sup>C sehingga menghasilkan ekstrak kental metanol.

#### **Pembuatan Ekstrak Pelarut Non Polar**

Ekstraksi sampel menggunakan pelarut kloroform. Pembuatan ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi, yaitu sebanyak 100 g serbuk patah tulang yang diperoleh dimasukkan ke dalam *beaker* gelas kemudian ditambahkan pelarut kloroform sebanyak 500 mL, ditutup dengan *aluminium foil* dan dibiarkan terendam selama 3 hari terlindung dari cahaya (setiap hari digojok).

Setelah 3 hari, sampel yang direndam tersebut disaring dengan menggunakan kertas saring sehingga didapat maserat (Filtrat I) dan residunya diremaserasi dengan kloroform sebanyak 200 mL, ditutup dengan *aluminium foil* dan dibiarkan selama 2 hari, sampel

tersebut disaring menggunakan kertas saring, sehingga diperoleh ekstrak maserat (Filtrat II). Selanjutnya semua maserat kloroform digabungkan (Filtrat I + Filtrat II) dan diuapkan dengan menggunakan alat penguap *Rotary evaporator* pada temperatur 40<sup>0</sup>C sampai volumenya menjadi ¼ dari volume awal dan dilanjutkan dengan pengeringan dengan menggunakan *water bath* pada suhu 40<sup>0</sup>C sehingga menghasilkan ekstrak kental kloroform.

#### **Pemilihan telur *Artemia salina* Leach**

Pemilihan telur udang dilakukan dengan merendam telur dalam aquades selama satu jam. Telur yang baik akan mengendap sedangkan telur yang kurang baik akan mengapung.

#### **Penyiapan Larva *Artemia salina* Leach**

Penetasan telur *Artemia salina* dilakukan dengan cara merendam sebanyak 50 mg telur *Artemia salina* dalam wadah yang berisi air laut dibawah cahaya lampu 25 watt dan dilengkapi dengan aerator. Telur *Artemia salina* akan menetas dan menjadi larva setelah 24 jam (Mudjiman, 1988). Larva *Artemia salina* yang baik digunakan untuk uji BSLT yaitu yang berumur 48 jam sebab jika lebih dari 48 jam dikhawatirkan kematian *Artemia salina* bukan disebabkan toksisitas ekstrak melainkan oleh terbatasnya persediaan makanan (Meyer et al., 1982).

#### **Pembuatan Konsentrasi sampel uji**

Prosedur berdasarkan McLaughlin, et al. (1991). Konsentrasi larutan uji untuk BSLT adalah 500 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, 10 µg/mL dan 0 µg/mL (sebagai control negatif). Untuk pembuatan larutan stok ekstrak kental metanol dan kloroform ditimbang sebanyak 20mg, kemudian dilarutkan dengan kedalam air laut sebanyak 20 mL, hingga diperoleh konsentrasi larutan stok 1000 µg/ml. Sampel yang kurang laut ditambahkan DMSO 0,5 mL. Dari larutan stok ini, selanjutnya dibuat lagi konsentrasi 500 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL 10 µg/mL dan 0 µg/mL,

dengan cara pengenceran. Untuk konsentrasi 500 µg/mL larutan induk dipipet 5 mL ke dalam vial uji ditambahkan air laut sebanyak 5 mL. Konsentrasi 250 µg/mL larutan induk dipipet 2,5 mL ke dalam vial uji ditambahkan air laut sebanyak 7,5 mL. Konsentrasi 100 µg/mL larutan induk dipipet 1 mL ke dalam vial uji ditambahkan air laut sebanyak 9 mL. Konsentrasi 50 µg/mL larutan induk dipipet 0,5 mL ke dalam vial uji ditambahkan air laut sebanyak 9,5 mL. Untuk konsentrasi 10 µg/mL larutan induk dipipet 0,1 mL ke dalam vial uji ditambahkan air laut sebanyak 9,9 mL dan untuk konsentrasi 0 µg/mL (kontrol) dilakukan tanpa penambahan ekstrak.

#### **Pelaksanaan Uji Toksisitas**

Uji toksisitas pada masing-masing ekstrak sampel. Disiapkan wadah untuk pengujian, untuk masing-masing konsentrasi ekstrak sampel membutuhkan 3 wadah dan 1 wadah sebagai kontrol. Selanjutnya pada tiap konsentrasi larutan dimasukkan 10 ekor larva *Artemia salina*. Pengamatan dilakukan selama 24 jam terhadap kematian larva *Artemia salina* dimana setiap konsentrasi dilakukan tiga kali pengulangan dan dibandingkan dengan kontrol. Kriteria standar untuk menilai kematian larva *Artemia salina* yaitu bila larva *Artemia salina* tidak menunjukkan pergerakan selama beberapa detik observasi.

#### **Uji Fitokimia (Harborne, 1987)**

Uji fitokimia kandungan senyawa aktif dengan uji reagen dari ekstrak pekat metanol dan kloroform dari tanaman patah tulang dilarutkan dengan sedikit masing-masing pelarutnya. Kemudian dilakukan terhadap uji alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan steroid.

#### **Uji Alkaloid**

Ekstrak diambil 2 g dan ditambahkan 1 mL kloroform dan 5 mL ammonia 10 %, lalu ditambahkan 10 tetes asam sulfat 2 M untuk memperjelas pemisahan terbentuknya 2 fase yang

berbeda. Fase bagian atas diambil, kemudian ditambahkan reagen mayer. Keberadaan alkaloid dalam sampel ditandai dengan terbentuknya endapan merah.

#### **Uji Flavonoid**

Ekstrak diambil 2 g dan ditambahkan serbuk magnesium secukupnya untuk mengoksidasi sampel. Ditambahkan 10 tetes asam klorida 5 M. Keberadaan flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna hitam kemerahan pada larutan.

#### **Uji Tanin**

Ekstrak diambil 2 g dan ditambahkan dengan 10 mL air panas, kemudian ditetesi menggunakan besi (III) klorida, keberadaan tanin dalam sampel ditandai dengan timbulnya warna hijau kehitaman.

#### **Uji Saponin**

Ekstrak diambil 2 g dan ditambahkan dengan 10 mL akuades kemudian dikocok kuat 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 dengan tinggi 3 cm.

#### **Uji Steroid**

Ekstrak diambil 2 g dan ditambahkan dengan 1 mL kloroform. Setelah itu campuran dikocok. Masing-masing asetat anhidrat dan asam sulfat pekat sebanyak 2 tetes ditambahkan pada filtrat, perubahan warna merah pada larutan pertama kali kemudian berubah menjadi biru dan hijau menunjukkan reaksi positif.

#### **Analisa Data**

Data hasil penelitian akan diolah dan disajikan dalam bentuk tabel dan grafik. Data dari uji toksisitas tersebut akan dianalisis dengan analisis regresi linier sederhana menggunakan Microsoft office excel 2010 untuk menentukan nilai LC<sub>50</sub>.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**  
**Hasil Pembuatan Ekstrak Patah Tulang**  
**(*Euphorbia tirucalli* L.)**

Serbuk patah tulang yang digunakan sebesar 100 g untuk masing masing pelarut, kemudian diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol dan kloroform masing-masing 700 mL. Proses maserasi dilakukan selama 3 hari dan remaserasi

selama 2 hari. Hasil maserat (Filtrat I + Filtrat II) kemudian diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40<sup>0</sup>C. Sehingga diperoleh ekstrak kental metanol 10,49 g dan ekstrak kental kloroform 5,33 g. Hasil ekstraksi bahan aktif dan besar rendemen tanaman patah tulang (*Euphorbia tirucalli* L.) dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1. Hasil Ekstraksi Bahan Aktif Patah Tulang ( *Euphorbia tirucalli* L.)**

NO	Jenis Pelarut	Berat Sampel (g)	Berat Ekstrak (g)	Rendemen Ekstrak(%)
1	Metanol	100	10,49	10,49
2	Kloroform	100	5,33	5,33

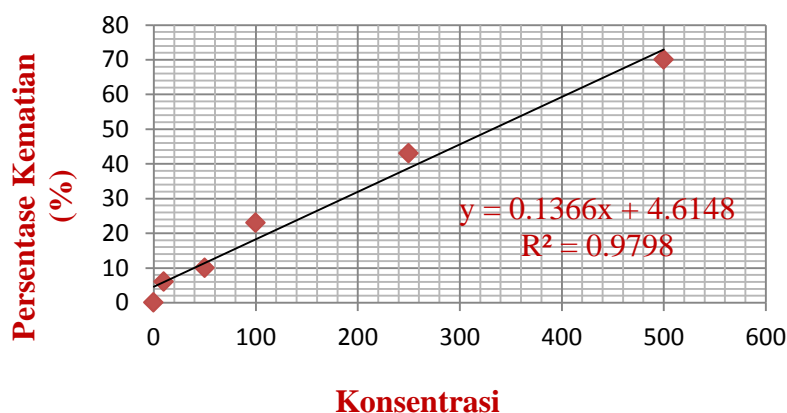
**Hasil Uji Toksisitas**

Penelitian ini menunjukkan beban konsentrasi ekstrak dalam media dapat membunuh larva *Artemia salina* Leach secara berturut-turut dengan konsentrasi 500 µg/ml, 250 µg/ml, 100 µg/ml, 50 µg/ml dan 10 µg/ml. Jumlah kematian larva *Artemia salina* Leach pada setiap tabung uji dalam berbagai konsentrasi perlakuan ekstrak patah tulang ditunjukkan pada tabel 2 dan 3 dan gambar 9 dan 10. Dari tabel dan gambar tersebut dapat diketahui bahwa berbagai konsentrasi ekstrak metanol dan kloroform tanaman patah tulang pada percobaan ini memperlihatkan pengaruh yang berbeda

terhadap kematian larva *Artemia salina* Leach.

Persentase kematian larva *Artemia salina* sebesar 6 – 70 %. Pada konsentrasi 0 µg/mL persentase kematiannya sebesar 0 %, 10 µg/mL persentase kematiannya sebesar 6 %, 50 µg/mL persentase kematian sebesar 10 %, 100 µg/mL persentase kematiannya sebesar 23 %, 250 µg/mL persentase kematian sebesar 43 % dan 500 µg/mL persentase kematian sekitar 70 %.

Hasil yang diperoleh dibuat grafik yang terlihat pada Gambar 9 yang menunjukkan hubungan antara persentase kematian larva *Artemia salina* dengan konsentrasi ekstrak yang larut dalam metanol.



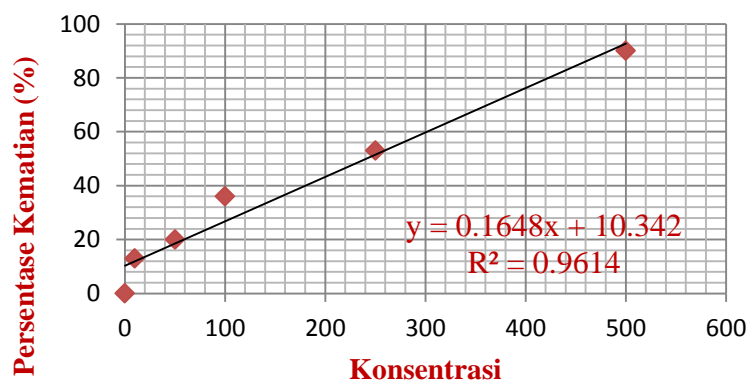
**Gambar 9. Grafik Hubungan Antara Konsentrasi dan Persentase Kematian *Artemia salina* Leach**

Persamaan regresi linear dari grafik pada Gambar 9 di atas digunakan untuk mencari  $LC_{50}$  dengan mensubstitusikan angka 50 % sebagai  $y$ , sehingga didapat nilai  $y = 0.1366x + 4.6148$ .

Dari hasil tersebut didapat konsentrasi ekstrak metanol adalah 332,2489. Hal ini berarti mortalitas hewan uji mencapai 50% saat konsentrasi ekstrak senyawa mencapai 332,2489  $\mu\text{g/ml}$ . Persentase kematian larva *Artemia salina* sebesar 13 – 90 %. Pada konsentrasi 0  $\mu\text{g/mL}$  persentase kematiannya sebesar

0%, 10  $\mu\text{g/mL}$  persentase kematiannya sebesar 13 %, 50  $\mu\text{g/mL}$  persentase kematiannya sebesar 20 %, 100  $\mu\text{g/mL}$  persentase kematiannya sebesar 36 %, 250  $\mu\text{g/mL}$  persentase kematian sebesar 53% dan 500  $\mu\text{g/mL}$  persentase kematiannya sebesar 90%.

Hasil yang diperoleh dibuat grafik yang terlihat pada Gambar 10 yang menunjukkan hubungan antara persentase kematian larva *Artemia salina* dengan konsentrasi ekstrak yang larut dalam kloroform.



**Gambar 10. Grafik Hubungan Antara Konsentrasi dan Persentase Kematian *Artemia Salina* Leach**

Persamaan regresi linear dari grafik pada Gambar 10 di atas digunakan untuk mencari  $LC_{50}$  dengan mensubstitusikan angka 50 % sebagai  $y$ , sehingga didapat nilai  $y = 0.1648 x + 10.342$ . Dari hasil tersebut didapatkan nilai  $y$  dalam persamaan ini adalah 240,6432. Hal ini berarti kematian hewan uji mencapai 50% saat konsentrasi ekstrak senyawa mencapai 240,6432  $\mu\text{g/mL}$ .

Jumlah larva *Artemia salina* Leach diuji dengan tiga kali replikasi yaitu 30 ekor. Jumlah total larva *Artemia salina* Leach yang digunakan yaitu 180 ekor larva. Total kematian diperoleh dengan menjumlahkan larva yang mati pada setiap konsentrasi, sedangkan rata-rata kematian larva diperoleh dengan membagi total kematian larva pada tiap konsentrasi dengan jumlah replikasi yang dilakukan

yaitu tiga kali. Kemudian dihitung persentase kematian larva dari rata-rata kematian pada tiap konsentrasi. Hasil dari analisis dengan menggunakan regresi linier sederhana menunjukkan nilai  $LC_{50}$  dari ekstrak metanol patah tulang adalah 332,2489  $\mu\text{g/mL}$  dan ekstrak kloroform patah tulang adalah 240,6432  $\mu\text{g/mL}$ .

BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) merupakan salah satu uji praskrining atau pendahuluan untuk mendapatkan aktivitas biologis yang sederhana untuk menentukan tingkat toksisitas akut suatu senyawa atau ekstrak dengan menggunakan *Artemia salina* sebagai hewan uji. *Artemia salina* yang digunakan pada pengujian toksisitas ialah *Artemia salina* yang berada pada tahap nauplii atau tahap larva. Hal ini dikarenakan *Artemia*

*salina* pada tahap nauplii sangat mirip dengan sel manusia (Meyer, 1982).

Korelasi antara uji toksisitas akut ini dengan uji aktivitas sitotoksik adalah jika mortalitas terhadap *Artemia salina* yang ditimbulkan memiliki nilai  $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$ .  $LC_{50}$  (Lethal Concentration 50) merupakan konsentrasi zat yang menyebabkan terjadinya kematian pada 50% hewan uji. Parameter yang ditunjukkan untuk mengetahui adanya aktivitas sitotoksik, menurut McLaughlin (1991) nilai  $LC_{50} < 30 \mu\text{g/mL}$  berpotensi sebagai antikanker (sitotoksik), nilai  $LC_{50}$  dari 30-200  $\mu\text{g/mL}$  berpotensi sebagai antimikroba dan nilai  $LC_{50}$  200-1000  $\mu\text{g/mL}$  berpotensi sebagai pestisida.

Dari Tabel 2 dan 3 di atas terlihat bahwa semakin besar nilai konsentrasi ekstrak, mortalitas pada *Artemia salina* juga semakin besar. Hal ini sesuai dengan Harborne (1994), yang menyebutkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka sifat toksiknya akan semakin tinggi. Kematian *Artemia salina* dalam tabung percobaan karena perlakuan, mengalami disorientasi gerak (gerakannya tidak teratur). *Artemia salina* dalam tabung ini tetap aktif bergerak, akan tetapi tetap berputar-putar pada satu titik, sedangkan *Artemia salina* yang berada dalam tabung percobaan Oppm (Kontrol) tidak memberikan kematian sama sekali dalam waktu 24 jam pengamatan. Hal ini membuktikan bahwa *Artemia salina* yang mati disebabkan oleh sifat toksik dari

kedua ekstrak patah tulang (*Euphorbia tirucalli* L) tersebut.

Suatu ekstrak menunjukkan aktivitas ketoksikan dalam BSLT jika ekstrak dapat menyebabkan kematian 50% hewan uji pada konsentrasi kurang dari 1000  $\mu\text{g/ml}$  (Meyer, 1982 ; Anderson, 1991). Berdasarkan dari pernyataan di atas, maka ekstrak patah tulang bersifat toksik. Hal ini ditunjukkan oleh perolehan data yang berasal dari kedua pelarut baik metanol maupun kloroform. Ekstrak metanol memiliki nilai  $LC_{50}$  sebesar 332,2489  $\mu\text{g/ml}$  dan ekstrak kloroform memiliki  $LC_{50}$  pada sebesar 240,6432  $\mu\text{g/ml}$ , menurut McLaughlin berpotensi sebagai pestisida.

### Skrining Fitokimia

Analisis fitokimia merupakan salah satu cara untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder pada suatu tanaman secara kualitatif. Analisis fitokimia Pada penelitian ini dilakukan terhadap tanaman patah tulang yang sudah dimaserasi menggunakan pelarut metanol dan kloroform. Pengujiannya dilakukan dengan cara mengambil sedikit sampel dari kedua ekstrak tersebut, lalu ditambahkan reagen sesuai dengan senyawa yang akan diidentifikasi. Senyawa-senyawa yang diperiksa keberadaannya adalah alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan steroid.

Hasil analisis fitokimia pada ekstrak patah tulang (*Euphorbia tirucalli* L.) dapat dilihat pada Tabel 4 berikut ini:

**Tabel 4. Hasil uji fitokimia pada ekstrak (*Euphorbia tirucalli* L.)**

Senyawa Metabolit	Hasil Pengujian		Perubahan Warna
	Metanol	Kloroform	
Alkaloid	-	+	Terbentuk endapan merah (Reagen Mayer)
Flavonoid	+	-	Terjadi perubahan warna hitam kemerahan
Tanin	+	-	Terjadi perubahan warna hijau kehitaman
Saponin	+	-	Terbentuk buih stabil selama 10 menit, dengan tinggi 2 cm
Steroid	-	-	Tidak terjadi perubahan warna biru dan hijau

Keterangan :

+ : Terdapat dalam sampel

- : Tidak terdapat dalam sampel

Hasil uji fitokimia menunjukkan adanya kandungan alkaloid, tanin dan saponin. Dari hasil tersebut berkaitan dengan kematian (mortalitas) *Artemia salina* pada larutan ekstrak patah tulang (*Euphorbia tirucalli* L.) yang terlarut pada metanol dan kloroform, membuktikan adanya metabolisme sekunder yang bersifat polar dan nonpolar. Senyawa metabolit sekunder dari patah tulang yang bersifat polar yaitu flavonoid, tanin dan saponin, dan yang bersifat nonpolar yaitu alkaloid.

Senyawa fitokimia yang memberikan efek toksik yaitu flavonoid, dimana pada kadar tertentu memiliki potensi toksisitas akut. Adanya flavonoid dalam lingkungan sel, menyebabkan gugus OH<sup>-</sup> pada flavonoid berikatan dengan protein integral membran sel. Hal ini menyebabkan terbundungnya transport aktif Na<sup>+</sup> - K<sup>+</sup>. Transport aktif yang berhenti menyebabkan pemasukan ion Na<sup>+</sup> yang tidak terkendali ke dalam sel, hal ini menyebabkan pecahnya membran sel. (Scheuer, 1994). Pecahnya membran sel inilah yang menyebabkan kematian sel.

Senyawa flavonoid dan tanin mempunyai mekanisme efek antikanker masing-masing. Menurut Woo et al., (2013), Mekanisme flavonoid sebagai antikanker ada beberapa teori:

1. Flavonoid sebagai antioksidan yaitu melalui mekanisme pengaktifan jalur apoptosis sel kanker. Mekanisme apoptosis sel pada teori ini akibat fragmentasi DNA. Fragmentasi ini diawali dengan dilepasnya rantai proksimal DNA oleh senyawa oksigen reaktif seperti radikal hidroksil.
2. Flavonoid sebagai penghambat proliferasi tumor/kanker yang salah satunya dengan menghibisi aktivitas protein kinase sehingga menghambat jalur transduksi sinyal dari membran ke sel inti.

3. Dengan menghambat aktivitas reseptor tirosin kinase. Karena aktivitas reseptor tirosin kinase yang meningkat berperan dalam pertumbuhan keganasan.
4. Flavonoid berfungsi juga untuk mengurangi resistensi tumor terhadap agen kemoterapi.

Mekanisme kematian larva juga berhubungan dengan fungsi senyawa alkaloid dan tanin dalam patah tulang yang dapat menghambat daya makan larva (antifedant). Menurut Cahyadi (2009) Cara kerja senyawa-senyawa tersebut adalah dengan bertindak sebagai stomach poisoning atau racun perut. Oleh karena itu, bila senyawa-senyawa ini masuk ke dalam tubuh larva, alat pencernaannya akan terganggu. Selain itu, senyawa ini menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva. Hal ini mengakibatkan larva gagal mendapatkan stimulus rasa, sehingga tidak mampu mengenali makanannya sehingga larva mati kelaparan.

## PENUTUP

### Kesimpulan

1. Ekstrak metanol dan kloroform dari tanaman Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* L.) bersifat toksik dan berpotensi sebagai pestisida. Nilai LC<sub>50</sub> ekstrak metanol tanaman Patah Tulang ialah 332,2489 µg/ml, sedangkan LC<sub>50</sub> dari ekstrak kloroform tanaman Patah Tulang ialah 240,6432 µg/ml.
2. Senyawa yang terkandung didalam ekstrak tanaman Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* L.) yang diduga bersifat toksik yaitu Flavonoid, Alkaloid dan Tanin.

### Saran

1. Hasil uji toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) menunjukkan ekstrak metanol dan kloroform tanaman patah tulang memiliki potensi toksisitas, sehingga perlu dilakukan pengujian



bioaktivitas lebih lanjut terhadap tanaman ini.

2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai kandungan kimia yang memiliki potensi toksisitas, dengan mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa sitotoksik yang terdapat dalam tanaman patah tulang sampai menentukan struktur molekul/senyawa aktif.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Anderson, J. E., Goetz C.M., Mc Laughlin J. L. 1991. *A Blind Comparison of Simple Bench-top Bioassay and Human Tumor Cell Cytotoxicities as Antitumor Prescreens*, Natural Product Chemistry, Elsevier, Amsterdam.
- Apantaku, L.M., 2002, *Breast-conserving surgery for breast cancer*, *Am.Fam.Physician*, Vol.66, No.12, 2271-2278.
- Cahyadi, R. 2009. *Uji toksisitas akut ekstrak etanol buah pare (Momordica charantia L) Terhadap larva Artemia salina Leach dengan metode Brine shrimp lethality test (BST)*. Universitas Diponegoro Repository.5: 1-8.
- Dalimartha S. 2003. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia. Jilid II*. Jakarta: Trubus Agriwidya.
- Dwiatmaka, Y., 2000, *Skrining tanaman Berkhasiat Antikanker Dengan Metode "BST"*, dalam Yuswanto, Ag. dan Sinaradi (Eds.), *Kanker*. Penerbitan Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta 110-113
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia*. Edisi ke dua, ITB, Bandung.
- Harborne, J. B. 1994. *The Flavonoids*. Chapman and Hall. London.
- Hawariah, L.P., 1998, *Kanker Payudara*, Penerbit universiti Putra Malaysia, Serdang.
- Hendrawati A. R. S. 2009. *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Kemangi (Ocimum sanctum Linn. ) Terhadap Artemia salina Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*. Skripsi. Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro, Semarang.
- Meyer, B.N., et al., 1982. *Brine Shrimp : A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituent*. *Drug Information Journal*, Vol. 32, 513-524.
- Mc. Laughlin, J. L., Chang, C. J., and Smith, D. L. 1991. *Bench-Top, Bioassay for The Discovery of Bioactive Natural Products, An Update*, *Natural Product Chemistry*. Elsevier, Amsterdam.
- Mudjiman, A. 1988. *Udang Renik Air Asin (Artemia salina)*. Bhatara Karya Aksara, Jakarta.
- Scheuer, J. S. 1994. *Produk Alami Lautan*. Cetakan pertama. IKIP Semarang Press. Semarang.
- Taylor L. 2002. *The healing power of rainforest herbs*. <http://www.raintree.com/aveloz.htm>
- Woo, H. D dan Kim, J. 2013. *Dietary Flavonoid Intake and Risk of Stomach and Colorectal Cancer*. *World Journal of Gastroenterology*. 7: 1011-1019.