

**UJI TOKSISITAS EKSTRAK DAUN *HYPERICUM
LESCHENAULTII* CHOISY TERHADAP *ARTEMIA SALINA*
L. SEBAGAI KANDIDAT ANTI KANKER**

Yudha Noviana¹, Dwimey Ayudewardari Pranamati²

¹ *Kelompok Studi Biodiversitas, FMIPA UNS Surakarta*, ² *UIN Walisongo Semarang*

Email : yudhanoviana@gmail.com, dwimeibiologi@walisongo.ac.id

Abstract

Mount Lawu is a biodiversity rich mountain, with the potensial of medicinal plants of various kinds including anticancer plants. Flora on the Mount Lawu that has potential for anticancer is Hypericum leschenaultii Choisy containing compounds hypericin. Hypericum has several biological activities such as a antioxidant, antitumor, and anticancer. The research aims to determine the potential of bioactive compounds and extracts of the leaves of H. leschenaultii from Mount Lawu and toxicity to Artemia salina Leach and profile Thin Layer Chromatography (TLC) it. Ethanol extract of the leaves of H. leschenaultii was tested toxicity with Brine Shrimp Lethality Test (BST) using a concentration of 400 µg/ml, 200 µg/ml, 100 µg/ml, 50 µg/ml, 25 µg/ml. The TLC profiles of bioactive compounds were determined by using spesific spray reagent. The results show the potential and toxicity of leaf extract of H. leschenaultii with LC values 175,77 µg/ml. TLC profile of bioactive compounds leaf extract of H. leschenaultii containing flavonoids with Rf values of 0,98 and terpenoid compounds with Rf value of 0,91; 0,95; 0,98.

Keywords: *Hypericum leschenaultii Choisy, Brine Shrimp Lethality Test (BST), Thin Layer Chromatography (TLC).*

Abstrak

Gunung Lawu merupakan gunung yang kaya akan keanekaragaman hayati, dengan potensi tumbuhan obat yang beragam, termasuk potensi

tumbuhan sebagai antikanker. Adanya potensi tumbuhan sebagai sumber senyawa antikanker tersebut belum banyak diteliti dan digunakan sebagai pengobatan alternative. *Hypericum leschenaultii* Choisy mengandung senyawa *hypericin* yang berpotensi sebagai antikenker dan memiliki status keberadaan yang melimpah di Gunung Lawu. *Hypericin* memiliki beberapa aktivitas biologis seperti antioksidan, antitumor, dan antikanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi senyawa bioaktif ekstrak daun *H. leschenaultii* dari Gunung Lawu sebagai antikanker dengan melihat toksisitasnya terhadap *Artemia salina* Leach serta profil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) nya. Untuk mengetahui potensi sebagai tanaman antikanker maka ekstrak etanol daun *H. leschenaultii* diuji toksisitasnya dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST). Dalam uji BST tersebut digunakan 5 konsentrasi ekstrak etanol daun *H. leschenaultii* yaitu: 400 µg/ml, 200 µg/ml, 100 µg/ml, 50 µg/ml, 25 µg/ml. Kandungan senyawa bioaktif dideteksi dengan reagen semprot spesifik untuk mengetahui profil KLT-nya. Hasil penelitian menunjukkan potensi dan toksisitas ekstrak *H. leschenaultii* dengan nilai LC 175,77 µg/ml. Profil KLT senyawa bioaktif ekstrak daun *H. leschenaultii* mengandung senyawa flavonoid dengan nilai Rf 0,98 serta senyawa terpenoid dengan nilai Rf 0,91; 0,95; 0,98.

Kata kunci: *Hypericum leschenaultii* Choisy, *Brine Shrimp Lethality Test* (BST), Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

Pendahuluan

Indonesia sejak dari dulu memang sudah terkenal dengan kekayaan keanekaragaman hayatinya. Hal ini dapat disebabkan karena lokasi geografis yang dilewati garis khatulistiwa serta bentuk negara kepulauan yang dikelilingi banyak laut serta iklim tropis yang mendukung banyak flora dan fauna dapat bertahan hidup didalamnya. Kekayaan hayati Indonesia tersebar mulai dari gunung hingga di lautnya. Gunung Lawu yang terletak di Jawa Tengah merupakan salah satu kawasan yang kaya akan keanekaragaman hayati dengan potensi kekayaan flora dan

fauna yang sangat menarik, memiliki keragaman faktor lingkungan yang tinggi, dan menunjukkan daya dukung lingkungan yang beragam terhadap pertumbuhan jenis-jenis tumbuhan yang mampu beradaptasi di tempat tersebut, termasuk tumbuhan obat¹²³. Karakter lingkungan yang ekstrim berkorelasi dengan mekanisme produksi metabolit sekunder yang akan semakin banyak apabila tumbuhan tersebut semakin tercekam. Lingkungan ekstrim tersebut misalnya suhu ekstrim yang rendah, pH yang rendah atau tinggi, tanah kekurangan air, dan lain-lain⁴.

Pada lingkungan ekstrim seperti Gunung Lawu dengan suhu dingin yang dapat mencapai minus derajat celcius, khasiat tumbuhan obat pada lingkungan ekstrim juga diharapkan lebih tinggi karena jauh dari gangguan manusia maupun hama, sehingga tumbuhan akan memproduksi lebih banyak senyawa metabolit sekunder⁵, dan umumnya senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan tumbuhan tersebut bermanfaat sebagai obat untuk berbagai kepentingan manusia. Berdasarkan penelitian yang dilakukan di sekitar puncak Gunung Lawu terdapat 11 jenis tumbuhan berpotensi obat, yaitu *Brassica juncea*, *Digitalis purpurea*, *Gaultheria leucocarpa*, *Gaultheria nummularioides*, *Mellisa axillaris*, *Plantago major*, *Polygonum chinense*, *Solanum nigrum*, *Sonchus asper*, *Sonchus javanicus* dan *Vaccinium varingaefolium*⁶. Selain itu, terdapat 9 jenis tumbuhan berpotensi antikanker di sepanjang jalur pendakian Cemoro Sewu, Gunung Lawu yaitu, *Bryonia* sp., *Debregeasia longifolia* (Burm. f.) Wedd., *Hypericum*

¹ Setyawan, A. D. Distribusi dan Kemelimpahan *Rubus* di Gunung Lawu. *Biosmart* 1 No. 2 (1999): 34 - 41.

² Setyawan, A.D. Review: Potensi Gunung Lawu sebagai Taman Nasional. *Jurnal Biodiversitas* 2 No. 2 (2001): 163-168.

³ Rofikah, M.N. Imanullah, dan R. Zultan. Perlindungan Hak Kekayaan Intelektual (HKI) Varietas Tanaman Obat di Gunung Lawu Wilayah Kecamatan Tawangmangu Kabupaten Karanganyar. *Yustisia* (2007) 71: 64-74.

⁴ Sugiyarto, Setyawan, A. D., Pitoyo, A.. Estimasi Kemelimpahan dan Distribusi *Plantago major* L. di Gunung Lawu. *Biodiversitas* 7 No. 2 (2006) : 143– 146.

⁵ Harborne, J. B. *Metode Fitokimia* Edisi II. (Bandung: ITB Press, 1987)

⁶ Mianingsih, Rr Dwi Rahayu. Keanekaragaman, Distribusi dan Komposisi Tumbuhan Berkhasiat Obat di Sekitar Puncak Gunung Lawu, Jawa. *Skripsi*. Jurusan Biologi FMIPA UNS, Surakarta. 2003.

leschenaultii Choisy., *Rubus chrysophyllus* Miq., *Rubus lineatus* Bl., *Rubus fraxinifolius* Poir., *Rubus niveus* Thunb., dan *Plantago major* L.⁷. *Hypericum leschenaultii* Choisy merupakan salah satu tumbuhan berpotensi sebagai antikanker yang ada di sekitar jalur pendakian Cemoro Sewu, Gunung Lawu⁸. Genus dari tumbuhan ini mengandung banyak senyawa bioaktif, diantaranya senyawa *hypericin* yang berpotensi sebagai antikanker⁹ dan memiliki efek antiangiogenik pada proses *invitro* dan *in vivo*¹⁰.

H. leschenaultii merupakan perdu tegak dengan tinggi 1-4m dengan batang berwarna coklat kemerahan. Daun duduk, membundar telur melonjong, 25–75 mm dan lebar 7,5–40 mm, umumnya sedikit demi sedikit menyempit ke arah ujung, permukaan bawah putih keperakan berbintik-bintik. Daun muda sering agak berwarna kemerahan. Bunga mencolok dengan daun mahkota berwarna kuning cerah. Perbungaan payung menggarpu pendek, diameter 3 cm. Buah kapsul, membulat telur memanjang, berkatup 5¹¹¹² (Sunarno dan Rugayah, 1992; Steenis, 2008).

Kanker masih menjadi penyakit yang memiliki pandangan sangat berbahaya dan mematikan oleh masyarakat karena tingkat kesembuhannya yang masih rendah. Salah satu upaya untuk mendapatkan hasil yang tepat dalam pengobatan kanker adalah dengan menggunakan bahan obat alam, namun perlu ada beberapa hal yang diperhatikan diantaranya : indikasi,

⁷ Purnomo, NugrohoAndi. Keanekaragaman, Distribusi, dan Kemelimpahan Tumbuhan Obat Berpotensi sebagai Antikanker di Jalur Pendakian Cemoro Sewu Gunung Lawu. *Skripsi*. Biologi FMIPA UNS, Surakarta. 2013.

⁸ Purnomo, Nugroho Andi. Keanekaragaman, Distribusi, dan Kemelimpahan Tumbuhan Obat Berpotensi sebagai Antikanker di Jalur Pendakian Cemoro Sewu Gunung Lawu. *Skripsi*. Biologi FMIPA UNS, Surakarta. 2013.

⁹ Bouratoua, A., Touafek, O., Kabouche, A and Kabouche, Z. Bioactive components of butanolic extract of *Hypericum tomentosum* L. (Clusiaceae). *Der Pharmacia Lettre* 5(2) (2013): 201-204.

¹⁰ Martínez-Poveda B, Quesada AR and M. MA. Hyperforin, a Bio-Active Compound of St. John's Wort, is a New Inhibitor of Angiogenesis Targeting Several Key Steps of the Process. *International Journal of Cancer* 117(5) (2005): 775–780.

¹¹ Sunarno dan Rugayah. Flora Taman Nasional Gede Pangrango. Herbarium Bogoriense. (Bogor : Pusat Penelitian Biologi LIPI, 1992).

¹² Steenis, C.G.G.J. Van. Flora untuk sekolah di Indonesia. Penerjemah Surjowinoto, Moeso. (Jakarta : Pradnya Paramita, 2008).

tepat jenis, tepat dosis/takaran, tepat waktu, tepat cara serta waspada terhadap efek sampingnya, dan memenuhi persyaratan aman. Sehingga diperlukan penilaian yang cermat dalam memilih tumbuhan obat untuk pengobatan kanker¹³. Dalam sebuah penelitian telah dilaporkan bahwa dalam genus *Hypericum* terdapat beberapa spesies yang dapat berpotensi sebagai antikanker dan antivirus diantaranya *H. mysorensense*, *H. hookerianum*, *Hypericum perforatum*, *Hypericum connatum*, *Hypericum caprifoliatum* dan *Hypericum polyanthemum*¹⁴. Berdasar latar belakang tersebut, maka perlu dilakukan skrining awal pada *H. leschenaultii* dari Gunung Lawu, berupa uji toksisitas dengan metode BST dan uji fitokimia dengan KLT, sehingga diketahui potensi *H. leschenaultii* dari Gunung Lawu sebagai kandidat antikanker.

Metode

Preparasi sampel

Bahan utama berupa daun *H. leschenaultii* diambil di jalur pendakian Cemoro Sewu, Gunung Lawu, Jawa Timur pada ketinggian 2800 mdpl. Bagian daun yang diambil adalah daun ke-3 dan ke-4 dari masing-masing tumbuhan. Daun *H. leschenaultii* yang didapat kemudian ditimbang, masing-masing memiliki berat 2, kg. Daun *H. leschenaultii* dicuci dengan air bersih mengalir untuk menghilangkan kotoran dan atau debu yang menempel pada daun agar tidak ikut terekstrak. Setelah itu, daun dikeringkan dengan cara dijemur di bawah sinar matahari secara tidak langsung menggunakan kain hitam sebagai penutupnya selama 7 hari. Simplisia diblender hingga berbentuk serbuk. Maserasi dilakukan selama 3 hari dengan pelarut baru setiap harinya. Pelarut yang digunakan untuk maserasi adalah etanol 70% sebanyak 2 liter. Ekstrak yang didapat kemudian di masukkan ke dalam water bath dengan suhu 50⁰C hingga

¹³ Ma'at, Suprpto. Tanaman Obat Untuk Pengobatan Kanker (Bagian 4, Terakhir). *Jurnal Bahan Alam Indonesia* 4 (1) (2005): 244-252.

¹⁴ Vijayan, P., Raghu, C., Ashok, G., Dhanaraj, S.A. Dhanaraj dan Suresh, B. Antiviral activity of medicinal plants of Nilgiris. *Indian J Med Res* 120, (2004) : 24-29

berbentuk pasta kental. Pasta kental yang didapat dari proses ini sebanyak 38,1 g untuk sampel *H. Leschenaultii*.

Uji Toksisitas dengan Metode BST¹⁵

Penetasan telur *A. salina* dilakukan dalam wadah penetas telur dengan dua bagian ruang bersekat gelap dan terang. Air laut berupa garam kristal 3,8 % dilarutkan dalam 1000 ml akuades dimasukkan ke dalam wadah, serta diaerasi menggunakan aerator. Sejumlah telur *A. salina* dimasukkan ke dalam satu ruang, kemudian ruang ini ditutup dengan alumunium foil. Sisi yang lain dibiarkan terbuka dan diberi penerangan dengan cahaya lampu pijar 40 watt agar suhu penetasan 25-30°C tetap terjaga. Cahaya lampu tersebut akan menarik *A.salina* yang telah menetas melalui lubang sekat karena sifatnya yang fototaksis. Telur akan menetas kira-kira setelah 24 jam menjadi larva. Setelah itu ditunggu larva ditunggu hingga berumur 48 jam untuk dapat digunakan dalam uji toksisitas. Berdasarkan uji pendahuluan yang telah dilakukan menggunakan seri konsentrasi 1000 µg/ml, 500 µg/ml, 200 µg/ml, 100 µg/ml, dan 10 µg/ml, diketahui bahwa nilai LC50 ekstrak daun *H. leschenaultii* adalah masing-masing sebesar 165,72 µg/ml. Berdasarkan hasil uji pendahuluan tersebut, digunakan seri konsentrasi yang berada diantara nilai LC50 tersebut, yaitu 400 µg/ml, 200 µg/ml, 100 µg/ml, 50 µg/ml, dan 25 µg/ml. Larutan uji dibuat larutan stok 1% (10.000 µg/ml) dengan cara melarutkan sampel ke dalam etanol 70%. Kemudian larutan stok 1% tersebut dipipet ke dalam botol flakon sesuai dengan konsentrasi ekstrak tersebut. Pembuatan kontrol uji dilakukan dengan memasukkan pelarut saja (etanol 70%) ke dalam flakon sebanyak 200µl. Setiap perlakuan dilakukan 5 kali ulangan dengan 3 replikasi. Kemudian flakon yang telah berisi sampel dan kontrol diangin-anginkan hingga kering dan tidak berbau pelarut lagi. Flakon berisi sampel dan kontrol yang sudah diangin-anginkan, kemudian ditambahkan DMSO sebanyak 50 µl untuk melarutkan sampel. Kemudian

¹⁵ Meyer B. N., N. R. Ferrigni, J. E. Putnam, L. B. Jacobson, D. E. Nichols, and J. L. McLaughlin. Brine shrimp : A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Plant medica*.45 (1982) : 31-41.

ditambah air laut 1 mldan divortex selama 1 menit. Setelah itu, dimasukkan 10 larva *A. salina* umur 48 jam yang sehat dan bergerak aktif yang dipilih secara acak menggunakan pipet tetes. Satu tetes suspensi ragi fermipan (3 mg/5 ml air laut) ditambahkan ke dalam flakon sebagai makanan larva *A. salina* dan ditambahkan air laut sampai 5 ml. Setelah itu, flakon diletakkan di bawah lampu penerangan selama 24 jam untuk mengetahui persentase larva *A. salina* yang mati. Kemudian dibandingkan dengan kontrol dan hasilnya dianalisis untuk menentukan harga LC50.

Profil Kromatografi Lapis Tipis

Maserat yang diperoleh ditotolkan sebanyak dua kali pada plat silika GF254 berukuran 1 x 10 cm dengan pipa kapiler dengan jarak pengembangan 8 cm. Kolom chamber diisi dengan fase gerak kloroform : metanol : air (65 : 35 : 5) (Chaudhry *et al.*, 2003). Plat silika dimasukkan ke dalam kolom chamber dan dielusi sampai tanda batas akhir. Setelah mencapai tanda batas akhir, plat dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Plat diperiksa dibawah lampu UV254 dan UV₃₆₆ dideteksi menggunakan semprot Serium (IV) Sulfat, Liebernan-burchard, Dragendorf, dan FeCl₃ mengetahui profil KLT nya. Setelah itu dihitung nilai Rfnya.

a) Deteksi senyawa organik umum

Pemeriksaan senyawa organik umum yang terkandung dalam ekstrak menggunakan pereaksi semprot serium (IV) sulfat. Hasil KLT disemprot dengan serium (IV) sulfat dan dikeringkan dengan oven pada suhu 60⁰C selama 5 menit. Hasil positif akan memberikan bercak berwarna kecoklatan¹⁶.

b) Deteksi senyawa golongan alkaloid

Pemeriksaan alkaloid yang terkandung dalam ekstrak menggunakan reagen Dragendorf. Hasil KLT disemprot dengan reagen Dragendorf dan dikeringkan dengan oven pada suhu 60⁰C menit. Hasil positif akan

¹⁶ Cannel, R. J. P. 1998. How to Approach the Isolation of a Natural Product. In R.J. P. Cannel (Ed.). *Methods in Biotechnology 4* (1998): 1-51.

memberikan bercak berwarna coklat jingga dengan latar belakang kuning untuk hasil positifnya¹⁷

c) Deteksi senyawa golongan terpenoid

Deteksi senyawa golongan terpenoid dilakukan dengan menggunakan pereaksi semprot Liebermen-Burcad. Hasil KLT disemprot dengan reagen Liebermen-Burcad dan dikeringkan dengan oven pada suhu 60°C selama 5 menit. Hasil positif ditunjukkan dengan bercak berwarna kuning-jingga¹⁸

d) Deteksi senyawa golongan fenolik

Deteksi senyawa golongan fenolik dilakukan dengan menggunakan pereaksi semprot FeCl₃. Hasil KLT disemprot dengan reagen FeCl₃ dikeringkan dengan oven pada suhu 60°C selama 5 menit. Hasil positif ditunjukkan dengan bercak berwarna hijau, merah ungu, biru, atau hitam yang kuat¹⁹

Analisis Data

Efek toksik ekstrak daun *H. Leschenaultia* dan terhadap larva *A. salina* dianalisis dengan cara menghitung persentase kematian larva uji setelah 24 jam perlakuan, dengan rumus:

$$\% \text{ kematian} = \frac{\text{Jumlah larva } A. \text{ Salina} \text{ yang mati} \times 100\%}{\text{Jumlah larva uji}}$$

Apabila pada kontrol ada yang mati, persen kematian ditetapkan dengan rumus Abbott²⁰

¹⁷ Santosa, C. M., dan Hertiani, T. Kandungan senyawa Kimia dan Efek Air Daun Bangun-bangun (*Coleus Amboinicus* L.) pada Fagositosis Netrofil Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*). *Majalah Farmasi Indonesia* 16 (3) (2005): 141-148

¹⁸ Sulistijowati, A., dan Gunawan, D. Efek Ekstrak Daun Kembang Bulan (*Thitonia diversifolia*) terhadap *Candida albicans* serta Profil Kromatografinya. *Cermin Dunia Kedokteran* (130) (2001): 32-36

¹⁹ Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia Edisi II* (Bandung : ITB Press, 1987)

$$\% \text{ kematian} = \frac{\text{Jumlah larva } A. \text{ Salina (mati - kontrol)} \times 100\%}{\text{Jumlah larva uji}}$$

Data persentase kematian larva *A. salina* digunakan untuk mencari angka

probit dengan menggunakan tabel dan dibuat persamaan regresi linier :

$$y = bx + a$$

dimana y = angka probit dan x = log konsentrasi

Apabila diketahui nilai LC50 dari sampel yang diujikan di bawah 1000 $\mu\text{g/ml}$, maka komponen yang terkandung pada sampel tersebut dapat dinyatakan toksik dan memiliki aktivitas antikanker menurut BST²¹

Hasil Dan Pembahasan

Daun *H. leschenaultii* yang telah didapatkan dan melewati tahap maserasi kemudian dijadikan dalam bentuk pasta kental. Pasta kental yang didapat dari proses ini sebanyak 38,1 g untuk sampel H. Leschenaulti dan 26,9 g.

²⁰ Meyer B. N., N. R. Ferrigni, J. E. Putnam, L. B. Jacobson, D. E. Nichols, and J. L. McLaughlin. Brine shrimp : A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Plant medica*.45(1982) : 31-41

²¹ Meyer B. N., N. R. Ferrigni, J. E. Putnam, L. B. Jacobson, D. E. Nichols, and J. L. McLaughlin. Brine shrimp : A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Plant medica*.45(1982) : 31-41



(a)



(b)

Gambar 1. *H. Leschenaultii* Gunung Lawu: a. habitus, b. daun dan bunga

Uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BST)

Berdasarkan hasil uji toksisitas menggunakan metode uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BST) terhadap larva *A. salina*, diketahui bahwa rata-rata presentase kematian ekstrak daun *H. leschenaultii* masing-masing mencapai 50 % pada konsentrasi 100 µg/ml dan 400 µg/ml (Tabel 1). Menurut hasil ini, dapat dikatakan bahwa senyawa yang terkandung pada ekstrak daun *H. leschenaultii* bersifat toksik karena dengan konsentrasi yang lebih rendah ekstrak daun *H. leschenaultii* sudah mampu membunuh 50 % larva *A. salina*.

Tabel 1. Hasil uji toksisitas ekstrak etanol daun *H. leschenaultii* dari Gunung Lawu terhadap *A. salina*.

Sampel Uji	Konsentrasi (µg/ml)	Rata-rata presentase kematian larva <i>A. salina</i> (%)
Ekstrak daun <i>H. leschenaultii</i>	400	87
	200	78
	100	51
	50	24
	25	11

Pada perlakuan kontrol dan uji saat 0 jam pemberian ekstrak, larva *A. salina* terlihat bergerak aktif mendekati sumber cahaya karena sifat fototaksis yang dimiliki oleh larva *A. salina*. Setelah 24 jam perlakuan kontrol dan uji, terdapat larva yang hidup maupun mati pada flakon dengan pemberian ekstrak berbagai konsentrasi. Selama 24 jam perlakuan, senyawa toksik yang ada di dalam ekstrak masuk ke dalam tubuh larva dan menunjukkan efek toksik yang menyebabkan adanya kerusakan fungsional dan metabolisme larva. Kerusakan fungsional dan metabolisme ini dapat terlihat dari larva yang diberi ekstrak, yaitu larva yang hidup tetapi gerakannya menjadi kurang aktif serta larva yang mati atau tidak bergerak dan berada di dasar flakon. Senyawa toksik yang terdistribusi ke dalam tubuh larva *A. salina* membuat adanya interaksi dengan target seperti lemak, membran sel, enzim, dan nukleat serta menyebabkan perubahan gradien konsentrasi di dalam dan di luar sel sehingga terjadi kerusakan fungsional dan metabolisme sel *A. salina*^{22,23}.

Presentase kematian larva juga meningkat seiring bertambahnya konsentrasi ekstrak yang diberikan. Hal ini berbeda dengan larva kontrol yang tidak terpengaruh senyawa toksik dalam ekstrak, sehingga masih bergerak aktif karena tidak terjadi kerusakan fungsional dan metabolisme pada tubuhnya. Tumbuhan dari genus *Hypericum* memiliki beberapa aktivitas biologis seperti antimikroba, antiproliferasi, antioksidan, dan antikanker²⁴. Senyawa yang berperan diantaranya adalah *hypericin* dan *hyperforin*. *Hypericin* menghambat reseptor EGF (*Epidermal Growth Factor*) dan aktifitas PTK (*Protein Tyrosine Kinase*)²⁵. Sedangkan *hyperforin*

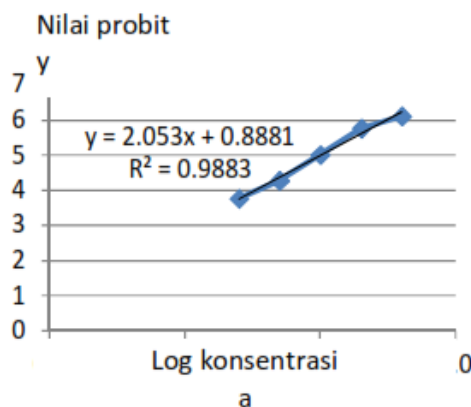
²² Castritsi, C., J. M. Loannidou, M. Katsorchis, and T. Kiortsis. Action of dispersant on the petroselinic acid epithelium of Artemia. *Tr. Journal Of Zoology* 22 (1984) : 259-266

²³ Isnansetyo, A., dan Kurniastuty. Teknik Kultur Phytoplankton dan Zooplankton.: Pakan Alami untuk Pembenihan Organisme Laut. Cetakan I. Yogyakarta: Kanisius, 1995).

²⁴ Vattikuti, U. M. R dan Ciddi, V. An Overview on *Hypericum perforatum* Linn. *Medicinal Plant Biotechnology Laborator* 4 (5) (2005) :365-381

²⁵ Miskovsky, P. Hypericin-A new antiviral and antitumor photosensitizer: mechanism of action and interaction with biological macromolecules. *Curr Drug Targets* 3 (1) (2002): 55-84

mengaktifkan apoptosis mediasi mitokondria saat masuk ke dalam sel MT-450²⁶. Terdapat aktivitas antiproliferasi dari ekstrak metanol *H. caprifoliatum* Cham. & Schlecht., *H. carinatum* Griseb., *H. connatum* Lam., *H. myrianthum* Cham. & Schlecht., *H. polyanthemum* Klotzsch ex Reichardt and *H. ternum* A. St. Hil terhadap dua sel (HT-29 sel karsinoma kolon manusia dan H-460 non-sel paru-paru karsinoma kecil)²⁷. Meskipun berbeda spesies, referensi tersebut dapat ditambahkan sebagai informasi yang cukup relevan untuk mengetahui potensi *H. leschenaultii* sebagai antikanker karena tergolong dalam genus yang sama, yaitu genus *Hypericum*²⁸.



Gambar 2. Kurva regresi linier hasil uji toksisitas ekstrak daun *H. leschenaultii* terhadap *A. salina*

²⁶ Schemmp, C. M., Kirkin, V., Simon, H. B. K. A., Kis, J., and Temeer, C. Inhibition of tumour cell growth by hyperforin, a novel anticancer drug from St. John's Wort that acts by induction of apoptosis. *Oncogene* 21 (8) (2002) :1242-1250

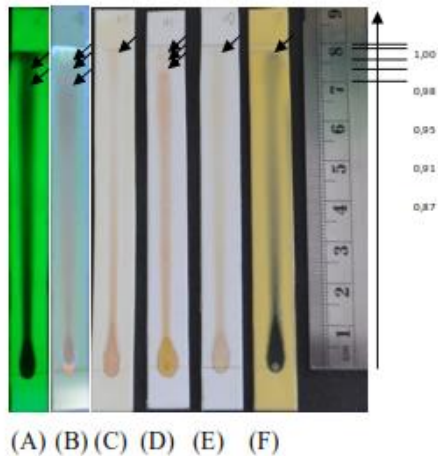
²⁷ Ferraz A.B.F., Limberger R.p, Bordignon S.A.L., Von Poser G.L., and Henriques A.T. Essential Oil Compositio of Six Hypericum Species from Southern Brazil. *Flavour and Fragrance Journal* 20 (2005) : 335-339.

²⁸ Purnomo, Nugroho Andi. Keanekaragaman, Distribusi, dan Kemelimpahan Tumbuhan Obat Berpotensi sebagai Antikanker di Jalur Pendakian Cemoro Sewu Gunung Lawu. *Skripsi*. Biologi FMIPA UNS, Surakarta. 2013.

Berdasarkan persamaan kurva regresi linier hasil uji toksisitas ekstrak etanol daun *H. lesbenaultii* diperoleh persamaan linier $Y = 2,053x + 0,8881$ dan nilai $R = 0,988$. Nilai LC50 yang didapat dari perhitungan persamaan garis linier diatas adalah 100,66 $\mu\text{g/ml}$ untuk ekstrak daun *H. lesbenaultii*. Nilai LC50 menunjukkan konsentrasi yang menyebabkan 50 % kematian hewan uji. Semakin besar harga nilai LC50 berarti toksisitasnya semakin kecil dan sebaliknya semakin kecil harga nilai LC50 maka toksisitasnya semakin besar. Ekstrak *H. lesbenaultii* tersebut dianggap bersifat toksis dan berpotensi sebagai antikanker karena memiliki toksisitas dengan nilai LC50 kurang dari 1000 $\mu\text{g/ml}$. Uji toksisitas ini merupakan skrining awal, sehingga perlu dilakukan uji lebih lanjut untuk mengetahui spesifikasi dari aktifitas senyawa antikanker yang terdapat pada ekstrak daun *H. lesbenaultii* terhadap berbagai sel kanker. Selanjutnya golongan senyawa pada ekstrak dideteksi dengan KLT dan pereaksi semprot spesifik.

Deteksi Kandungan Senyawa Kimia

Deteksi kromatogram dengan sinar UV254 memperlihatkan terjadinya peredaman yang ditandai dengan adanya beberapa zona gelap pada latar belakang berflouresensi hijau. Peredaman yang terjadi pada UV254 menunjukkan adanya keberadaan kromofor, suatu gugus fungsi yang berflouresensi pada penyinaran UV gelombang pendek. Sedangkan deteksi menggunakan sinar UV366 memperlihatkan terjadinya peredaman yang ditandai dengan bercak yang berpendar dan berwarna ungu hingga merah. Peredaman yang terjadi pada UV366 menunjukkan keberadaan senyawa dengan ikatan rangkap terkonjugasi yang panjang sehingga dapat berpendar dengan penyinaran UV gelombang panjang.



Gambar 3. Kromatogram hasil KLT ekstrak etanol daun *H. lesbenaultii* dengan berbagai pereaksi penampak bercak. (A) UV254, (B) UV366, (C) Serum (IV) Sulfat, (D) Lieberman Burchad, (E) Dragendorff, (F) FeCl₃.

Keterangan:

Fase diam : Silika gel GF 254

Fase gerak : kloroform : metanol : air (65 : 35 : 5)

Jarak pengembangan : 8 cm

Tabel 2. Hasil kromatogram KLT ekstrak etanol daun *H. lesbenaultii*

Rf	Penampakan bercak					
	UV ₂₅₄	UV ₃₆₆	SS	LB	DD	FeCl ₃
0,87	Peredaman	Berpendar	-	-	-	-
0,91	Peredaman	Berpendar	-	Kuning-jingga	-	-
0,95	-	Berpendar	-	Kuning-jingga	-	-
0,98	-	-	Coklat	Kuning-jingga	Coklat	Hitam

Keterangan :

- SS : Serum (IV) Sulfat
- LB : Lieberman Burchad
- DD : Dragendorff

Berdasarkan hasil uji KLT, diketahui bahwa ekstrak daun *H. lesbenaultii* mengandung senyawa terpenoid dan flavonoid, hal ini dapat terlihat dari hasil visualisasi bercak pada plat KLT yang berubah warna

menjadi kuning jingga dan hitam. Terpenoid merupakan kelompok senyawa fitokimia yang telah dieksplorasi sebagai agen antikanker dalam percobaan medis. Terpenoid secara selektif dapat membunuh sel kanker liver²⁹. Sebagian besar triterpenoid telah dilaporkan dapat menghambat pertumbuhan sel kanker tanpa merusak sel normal. Senyawa fenolik mempunyai sejumlah aktifitas biologis termasuk antioksidan³⁰. Terdapat hubungan antara proses terjadinya kanker dengan senyawa antioksidan yang erat kaitannya dengan kerusakan oksidatif DNA. Dengan menekan reaksi oksidatif radikal bebas, kerusakan mitokondria sebagai organel penyedia energi dalam sel dapat dicegah³¹.

Kesimpulan

Nilai LC50 dari ekstrak daun *H. leschenaultii* adalah 100,66 µg/ml, dimana senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak daun *H. leschenaultii* dari Gunung Lawu berpotensi sebagai kandidat antikanker. Profil KLT (Kromatografi Lapis Tipis) senyawa bioaktif hasil ekstrak daun *H. leschenaultii* mengandung senyawa flavonoid dengan nilai Rf 0,98 serta senyawa terpenoid dengan nilai Rf 0,91; 0,95; 0,98

²⁹ Thoppil, R.J.J dan Bishayee, A. Terpenoids as potential chemopreventive and therapeutic agents in liver cancer. *World Journal Hepatology* 3 (9) (2011): 228249.

³⁰ Petronelli, A., Pannitteri, G., dan Testa, U. Triterpenoids as New Promising Anticancer Drugs. *Anticancer drugs* (20) (2009): 880-892

³¹ Poon, H. F., Calabrese, V., Butterfield, D. A. Free Radicals And Brain Aging. *Clinical Geriatri Medical* 20 (2004) : 329-359

Referensi

- Bouratoua, A., Touafek, O., Kabouche, A and Kabouche, Z. Bioactive components of butanolic extract of *Hypericum tomentosum* L. (Clusiaceae). *Der Pharmacia Lettre* 5(2) (2013): 201-204.
- Cannel, R. J. P. 1998. How to Approach the Isolation of a Natural Product. In R.J. P. Cannel (Ed.). *Methods in Biotechnology* 4 (1998): 1-51.
- Castritsi, C., J. M. Loannidou, M. Katsorchis, and T. Kiortsis. Action d'un dispersant du petrole sur l'epithelium intestinal de deux souches d'Artemia. *Tr. Journal Of Zoology* 22 (1984) : 259-266
- Ferraz A.B.F., Limberger R.p, Bordignon S.A.L., Von Poser G.L., Henriques A.T. Essential Oil Compositio of Six Hypericum Species from Southern Brazil. *Flavour and Fragrance Journal* 20 (2005) : 335-339.
- Harborne, J. B. *Metode Fitokimia* Edisi II. (Bandung: ITB Press, 1987)
- Isnansetyo, A., dan Kurniastuty. Teknik Kultur Phytoplankton dan Zooplankton.: Pakan Alami untuk Pembenihan Organisme Laut. Cetakan I. (Yogyakarta : Kanisius,1995)
- Ma'at, Suprpto. Tanaman Obat Untuk Pengobatan Kanker (Bagian 4, Terakhir). *Jurnal Bahan Alam Indonesia* 4 (1) (2005): 244-252.
- Martínez-Poveda B, Quesada AR and M. MA. Hyperforin, a Bio-Active Compound of St. John's Wort, is a New Inhibitor of Angiogenesis Targeting Several Key Steps of the Process. *International Journal of Cancer* 117(5) (2005): 775–780.
- Meyer B. N., N. R. Ferrigni, J. E. Putnam, L. B. Jacobson, D. E. Nichols, and J. L. McLaughlin. Brine shrimp : A Convinient General Bioassay for Active Plant Constituens. *Plant medica.* 45(1982) : 31-41

At-Taqaddum

Vol. 11 No. 2 (2019) pp 168-185

DOI: <http://dx.doi.org/10.21580/at.v11i2.4448>

- Mianingsih, Rr Dwi Rahayu. Keanekaragaman, Distribusi dan Komposisi Tumbuhan Berkhasiat Obat di Sekitar Puncak Gunung Lawu, Jawa. *Skripsi*. Jurusan Biologi FMIPA UNS, Surakarta (2003) .
- Miskovsky, P. Hypericin-A new antiviral and antitumor photosensitizer: mechanism of action and interaction with biological macromolecules. *Curr Drug Targets* 3 (1) (2002): 55-84
- Purnomo, Nugroho Andi. Keanekaragaman, Distribusi, dan Kemelimpahan Tumbuhan Obat Berpotensi sebagai Antikanker di Jalur Pendakian Cemoro Sewu Gunung Lawu. *Skripsi*. Biologi FMIPA UNS, Surakarta. 2013.
- Rofikah, M.N. Imanullah, dan R. Zultan. Perlindungan Hak Kekayaan Intelektual (HKI) Varietas Tanaman Obat di Gunung Lawu Wilayah Kecamatan Tawangmangu Kabupaten Karanganyar. *Yustisia* (2007) 71: 64-74.
- Santosa, C. M., dan Hertiani, T. Kandungn senyawa Kimia dan Efek Air Daun Bangun-bangun (*Coleus Amboinicus* L.) pada Fagositosis Netrofil Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*). *Majalah Farmasi Indonesia* 16 (3) (2005): 141148
- Schemmp, C. M., Kirkin, V., Simon, H. B. K. A., Kis, J., Temeer, C. C. Inhibition of tumour cell growth by hyperforin, a novel anticancer drug from St. John's Wort that acts by induction of apoptosis. *Oncogene* 21 (8) (2002) :1242-1250
- Setyawan, A. D. Distribusi dan Kemelimpahan *Rubus* di Gunung Lawu. *Biosmart* 1 No. 2 (1999): 34 - 41.
- Setyawan, A.D. Review: Potensi Gunung Lawu sebagai Taman Nasional. *Jurnal Biodiversitas* 2 No. 2 (2001): 163-168.
- Steenis, C.G.G.J. Van. Flora untuk sekolah di Indonesia. Penerjemah Surjowinoto, Moeso. Pradnya Paramita, Jakarta (2008).

- Sugiyarto., Setyawan, A. D., Pitoyo, A.. Estimasi Kemelimpahan dan Distribusi *Plantago major* L. di Gunung Lawu. *Biodiversitas* 7 No. 2 (2006) : 143– 146.
- Sulistijowati, A., dan Gunawan, D. Efek Ekstrak Daun Kembang Bulan (*Thitonia diversifolia*) terhadap *Candida albicans* serta Profil Kromatografinya. *Cermin Dunia Kedokteran* (130) (2001): 32-36
- Sunarno dan Rugayah. Flora Taman Nasional Gede Pangrango. Herbarium Bogoriense. Pusat Penelitian Biologi LIPI, Bogor (1992).
- Vattikutti, U. M. R dan Ciddi, V. 2005. An Overview on *Hypericum perforatum* Linn. *Medicinal Plant Biotechnology Laborator* 4 (5):365:381
- Vijayan, P., Raghu, C., Ashok, G., Dhanaraj, S.A. Dhanaraj dan Suresh, B. Antiviral activity of medicinal plants of Nilgiris. *Indian J Med Res* 120, (2004) : 24-29