

## UJI TOKSISITAS EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH HUTAN (*Piper aduncum* L.)

### TOXICITY TEST OF SIRIH HUTAN LEAF ETHANOL EXTRACT (*Piper aduncum* L.)

Sri Wahyuni<sup>1\*</sup>, Cindy Aulia<sup>1</sup>, Rizky Arianto<sup>1</sup>, Mita Haryani<sup>1</sup>, Yuyun Krisdayanti Lase<sup>1</sup>, Erwin<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Student of Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, University of Mulawarman, Samarinda (East Kalimantan) 75119, Indonesia

<sup>2</sup>Lecturer of Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, University of Mulawarman, Samarinda (East Kalimantan) 75119, Indonesia

\*Corresponding author: [inuyyyy1604@gmail.com](mailto:inuyyyy1604@gmail.com)

#### ABSTRACT

Forest betel (*Piper aduncum* L.) is one of the largest general in tropical regions, with more than 1000 species estimated within the Piperaceae family. In Indonesia, it is widely distributed across Papua, where its habitat occupies nearly a significant portion of the secondary forest areas. Traditionally, the leaves of forest betel are used as a remedy for canker sores, leucorrhea, mouthwash, internal wounds, to stop vomiting, reduce nausea, promote digestion, act as an antiseptic, and kill bacteria, fungi, and viruses. The objective of this research is to identify the secondary metabolites present in the leaves of forest betel (*Piper aduncum* L.), analyze the toxicity level, and assess the antioxidant activity of the ethanol extract of forest betel leaves (*Piper aduncum* L.). The methods employed in this study include extraction, phytochemical screening, toxicity testing using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT), and antioxidant activity testing using the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) method. The results of the phytochemical screening test showed that the ethanol extract of forest betel leaves (*Piper aduncum* L.) contains alkaloid, triterpenoid, phenolic, flavonoid, and quinone compounds. Based on the toxicity test, the ethanol extract of forest betel leaves (*Piper aduncum* L.) exhibited a toxicity level of  $6.12915 \times 10^{-13}$  ppm, categorized as toxic (<1000 ppm), suggesting that the ethanol extract has bioactivity as it is toxic to *Artemia salina* L. larvae.

**Keywords :** Antioxidant, Toxicity, Forest Betel Leaves, Phytochemistry, Secondary Metabolites

#### ABSTRAK

Sirih hutan (*Piper aduncum* L.) merupakan salah satu genus terbesar di daerah tropis yang diperkirakan lebih dari 1000 jenis dari famili piperaceae. Di Indonesia, tersebar luas di daratan Papua yang habitatnya menempati hampir sebagian wilayah hutan sekunder. Secara tradisional, bagian daun dari sirih hutan dimanfaatkan sebagai obat sariawan, keputihan, obat kumur, obat luka dalam, menghentikan muntah, mengurangi mual, melancarkan pencernaan, sebagai antiseptik, membunuh bakteri dan jamur serta virus. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang terdapat di dalam Daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.), menganalisis tingkat toksisitas dan tingkat antioksidan ekstrak etanol daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.). Adapun metode yang dilakukan dalam penelitian ini adalah ekstraksi, uji skrining fitokimia, uji toksisitas menggunakan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Hasil uji skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) mengandung senyawa alkaloid, triterpenoid, fenolik, flavonoid dan kuinon. Berdasarkan hasil uji toksisitas menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) memiliki tingkat toksisitas sebesar  $6,12915 \times 10^{-13}$  ppm dengan kategori toksik (<1000 ppm) sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) memiliki bioaktivitas karena bersifat toksik terhadap larva udang *Artemia salina* L.

**Kata kunci:** Antioksidan, Toksisitas, Daun Sirih Hutan, Fitokimia, Metabolit Sekunder

#### PENDAHULUAN

Keanekaragaman hayati bagian daratan Indonesia menempati peringkat kedua setelah Brazil. Ketika keanekaragaman hayati daratan dan lautan digabung, maka Indonesia menjadi negara dengan keanekaragaman hayati paling tinggi di dunia. Sebanyak 31.750 jenis tumbuhan yang dilaporkan pada tahun 2017. Ditemukan bahwa sebanyak 25.000 diantaranya merupakan tumbuhan berbunga dan sekitar 15.000 memiliki potensi dalam pengembangan obat, akan tetapi hanya 7.000 jenis yang sudah digunakan dalam bahan baku pembuatan obat [1].

Pengembangan potensi tanaman sebagai obat hingga beberapa dekade kian meningkat akibat kebutuhan masyarakat akan pengobatan alami dan ramah lingkungan. Penggunaan bahan alami adalah langkah *back to nature* yaitu memanfaatkan bahan alami di kehidupan sehari-hari [2]. Salah satu tanaman yang berpotensi untuk dikembangkan lebih lanjut adalah tanaman sirih-sirihan. Bagian daun sirih secara tradisional sudah diketahui berkhasiat sejak zaman dahulu sebagai tanaman obat dalam kebutuhan sehari-hari [3]. Jenis sirih-sirihan yang menarik untuk diteliti lebih lanjut adalah sirih hutan (*Piper aduncum* L.). Pemanfaatan sirih hutan sebagai obat tradisional oleh masyarakat yaitu sebagai obat sariawan, keputihan, obat kumur, antiseptik yaitu penyembuh luka bakar [2].

Sirih hutan (*Piper aduncum* L.) termasuk genus Piper yang dikategorikan sebagai salah satu genus terbesar di daerah tropis yang memiliki pertumbuhan dan perkembangbiakan dengan cara merambat. Genus piper diperkirakan lebih dari 1000 jenis dari famili piperaceae sebagai Semak, herba maupun liana [4]. Sirih hutan tersebar luas di daratan papua, habitatnya menempati hampir sebagian wilayah hutan sekunder (salah satu jenis penciri hutan sekunder) [6].

*Piper aduncum* L. telah lama dimanfaatkan menjadi tanaman obat (*medical plant*) oleh masyarakat Kampung Nijh, Papua. Sebab menurut pengetahuan lokal masyarakat kampung Nijh, *Piper aduncum* yang oleh masyarakat tersebut dikenal dengan nama 'sirih hutan' digunakan sebagai obat tradisional cukup ampuh dalam mengobati berbagai jenis penyakit. Bagian tanaman yang digunakan adalah getah batang dan daun *Piper aduncum* L. yang terbukti berkhasiat sebagai obat luka dalam, penyembuhan luka, menghentikan muntah, mengurangi mual, melancarkan pencernaan, sebagai antiseptik, membunuh bakteri dan jamur serta virus [4].

Ekstrak daun tanaman *Piper aduncum* L. telah diteliti secara mendalam melalui studi fitokimia. Kandungan metabolit sekunder yang dimiliki oleh tanaman ini diantaranya alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin. Melalui 4 kandungan metabolit sekunder yang terkandung pada tanaman ini, *Piper aduncum* L. memiliki aktivitas antibakteri yang melalui beberapa penelitian terdahulu diketahui ekstrak daun *Piper aduncum* L. mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* [7]. Selain itu, *Piper aduncum* L. juga memiliki aktivitas antioksidan kuat yang sangat penting untuk menetralkan dan menghancurkan radikal bebas penyebab terjadinya kerusakan sel, biomolekul seperti DNA, protein dan lipoprotein dalam tubuh yang memicu penyakit degeneratif seperti kanker, jantung, artritis, katarak, diabetes dan hati [4]. Sebagai tambahan, *Piper aduncum* L. dapat dikatakan bersifat toksik dan berpotensi sebagai kandidat antikanker karena dari penelitian terdahulu melalui pengujian Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) diperoleh nilai  $LC_{50}$  lebih kecil dari 1000  $\mu\text{g/ml}$  [4].

Tingkat toksisitas dari suatu ekstrak tanaman dapat dilakukan dengan pengujian sederhana yaitu berupa uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) yang menggunakan hewan uji *Artemia salina*. Uji BSLT merupakan uji pendahuluan secara sederhana dalam mengetahui sifat sitotoksitas keseluruhan suatu senyawa pada tumbuhan dengan cara menentukan nilai  $LC_{50}$  dari komponen aktif dari ekstrak tanaman. Metode analisis yang digunakan terhadap  $LC_{50}$  adalah analisis probit dengan selang kepercayaan 95% yang digunakan untuk menentukan toksisitas relatif senyawa kimia terhadap organisme hidup dengan respon yaitu kematian organisme tersebut. Apabila nilai  $LC_{50}$  yang diperoleh berada  $< 1000$  ppm, maka ekstrak tanaman tersebut bersifat toksik dan berpotensi sebagai antikanker [4].

Berdasarkan uraian diatas, artikel ini bertujuan untuk mengidentifikasi kandungan fitokimia, menganalisis toksisitas ekstrak etanol daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.), melalui pendekatan multidisiplin berupa uji skrining fitokimia, uji toksisitas dan diharapkan penelitian ini dapat memberikan kontribusi signifikan terhadap pemanfaatan tanaman ini dalam perkembangan pengobatan berbasis obat alami berdasarkan uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

## METODOLOGI PENELITIAN

### Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini, diantaranya yaitu wadah maserasi, blender, eraca analitik, timbangan *digital*, *rotary evaporator*, *hair dryer*, kompartemen, lampu pijar, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet tetes, pipet ukur, bulb *filler*, *vortex*, pelat mikro, pipet mikro, tip 1000  $\mu\text{L}$ , *hot plate*, Erlenmeyer, botol reagen, botol vial, kaca arloji, spatula, batang pengaduk, corong kaca, gelas kimia dan gelas ukur.

### Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini, diantaranya yaitu daun tanjung (*Mimusops elengi* L), air laut, larutan DMSO (Dimetil sulfoksida) 1%, larva udang *Artemia salina* L, etanol 96%, larutan klorofom-amoniak, larutan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  2 N, pereaksi Dragendorff, larutan asam asetat anhidrat, larutan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat, larutan  $\text{FeCl}_3$  1%, larutan HCl pekat, pita Mg, *aquadest*, larutan NaOH 5%, larutan HCl 2 N, *aluminium foil*, *plastic wrap*, kertas label, kertas saring dan tisu.

### Prosedur Penelitian

#### Preparasi Sampel

Sampel berupa daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) diambil dari sekitar Kampus Universitas Mulawarman kota Samarinda, Kalimantan Timur. Daun yang diperoleh harus disortir terlebih dahulu dengan mengambil daun yang segar, lalu dicuci dengan air mengalir, kemudian dikering-anginkan pada suhu ruang yang terhindar dari sinar matahari secara langsung. Daun sirih hutan yang kering selanjutnya dihaluskan dengan menggunakan *blender* menjadi serbuk.

#### Ekstraksi Sampel

Sebanyak 100 gram sampel kering dari daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 95% selama 3 hari. Penyaringan dilakukan menggunakan kertas saring kemudian diambil filtrat yang diperoleh dari hasil maserasi. selanjutnya filtrat dipisahkan dengan pelarut menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40 °C, hingga diperoleh ekstrak etanol kental daun tanjung (*Mimusops elengi* L.) [4].

#### Uji Skrining Fitokimia

Ekstrak etanol daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) dilarutkan ke dalam pelarut etanol 96%, selanjutnya dilakukan uji fitokimia sesuai dengan metode [4] yang dimodifikasi.

#### Uji Alkaloid

Sebanyak 1 pipet ekstrak etanol daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) yang telah dilarutkan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian larutan kloroform-amoniak ditambahkan ke dalam tabung reaksi yang berisi larutan ekstrak hingga terbentuk dua fasa. fasa bawah yang terbentuk diambil kemudian dipindahkan ke dalam tabung reaksi yang bersih. Secara perlahan larutan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  2 N sebanyak 10 tetes ditambahkan ke dalam fasa bawah tersebut hingga terbentuk kembali dua fasa. Fasa atas yang terbentuk, diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi berbeda. Kemudian sebanyak 3 tetes pereaksi Dragendorff di masukkan ke dalam fasa atas tersebut. Uji positif senyawa alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna merah-jingga [8; 9; 10].

#### Uji Triterpenoid dan Steroid

Sebanyak 1 pipet ekstrak etanol daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) yang telah dilarutkan, dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Lalu sebanyak 10 tetes pereaksi Liebermann-Burchard (asam asetat anhidrat dan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat) ditambahkan ke dalam larutan uji. Uji positif senyawa triterpenoid ditandai dengan terbentuknya larutan berwarna merah-cokelat, sedangkan uji positif senyawa steroid ditandai dengan terbentuknya larutan berwarna hijau-biru [8; 11].

#### Uji Fenolik

Larutan uji berupa 1 pipet ekstrak etanol daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) yang telah dilarutkan, dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Lalu beberapa tetes larutan  $\text{FeCl}_3$  1% ditambahkan ke dalam larutan uji. Uji positif senyawa fenolik ditandai dengan terbentuknya larutan berwarna hijau, biru, ungu, atau hitam [12].

### **Uji Flavonoid**

Larutan uji berupa 1 pipet ekstrak etanol daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) yang telah dilarutkan, dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Lalu ditambahkan sepotong pita Mg dan 3 tetes HCl<sub>(p)</sub> ke dalam larutan uji. Uji positif senyawa flavonoid ditandai dengan terbentuknya larutan berwarna merah [12].

### **Uji Saponin**

Larutan uji berupa 1 pipet ekstrak etanol daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) yang telah dilarutkan, dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Lalu ditambahkan *aquadest* panas ke dalam larutan uji dan dikocok kuat hingga membentuk busa. Selanjutnya ditambahkan sebanyak 3 HCl<sub>(p)</sub>. Uji positif senyawa saponin ditandai dengan adanya busa yang tetap stabil dengan ketinggian 1-3 cm [12].

### **Uji Kuinon**

Larutan uji berupa 1 pipet ekstrak etanol daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) yang telah dilarutkan, dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Lalu ditambahkan larutan NaOH 5% dan larutan HCl 2 N masing-masing sebanyak 5 tetes ke dalam larutan uji. Uji positif adanya senyawa kuinon ditandai dengan perubahan warna kembali seperti semula [12].

### **Uji BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)**

Pengujian Ekstrak etanol daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) menggunakan uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) terhadap *Artemia salina* L dengan menggunakan metode Meyer (1982) yang telah dimodifikasi [13; 14].

### **Penetasan Larva Udang *Artemia salina* L.**

Sebanyak  $\pm$  10 larva *Artemia salina* L. dimasukkan ke dalam kompartemen yang telah diisi dengan 500 mL air laut. Kurun waktu 24 – 48 jam dengan disinari oleh cahaya lampu pijar, larva *Artemia salina* L dibiarkan hingga menetas [13].

### **Pembuatan Larutan Uji**

Ekstrak etanol daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) sebanyak 1 mg dilarutkan dengan menggunakan larutan DMSO 1% sebanyak 100  $\mu$ L. Lalu larutan tersebut diencerkan hingga volume 250  $\mu$ L dengan menambahkan 150  $\mu$ L *aquadest*. Selanjutnya diambil sebanyak 200  $\mu$ L dari larutan tersebut dan diencerkan kembali hingga volume 800  $\mu$ L dengan menambahkan 600  $\mu$ L *aquadest*, sehingga diperoleh larutan ekstrak etanol daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) 1000 ppm dalam 800  $\mu$ L. Kemudian larutan tersebut diencerkan hingga diperoleh variasi konsentrasi 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,6 dan 7,8 ppm. Selanjutnya, diulangi prosedur yang sama untuk pembuatan larutan kontrol, namun tanpa penambahan sampel [14].

### **Uji Toksisitas**

Sebanyak 100  $\mu$ L air laut yang mengandung 10-15 ekor larva udang *Artemia salina* L. dimasukkan ke dalam pelat mikro yang berisi larutan uji dan pelat kontrol. kemudian pelat-pelat tersebut diinkubasi selama 24 jam. Setelah inkubasi selama 24 jam telah dilakukan, selanjutnya diamati jumlah larva udang *Artemia salina* L. yang hidup dan mati pada kedua pelat, baik pelat uji maupun kontrol. Data jumlah larva yang hidup dan mati yang diperoleh, digunakan untuk menghitung nilai *Lethal Concentration 50%* (LC<sub>50</sub>) melalui analisis probit menggunakan Microsoft Excel [13; 14].

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Langkah awal dalam penelitian ini yaitu dengan menimbang sebanyak 100 gram sampel daun sirih hutan yang telah dikeringkan dan dihaluskan. Selanjutnya sampel tersebut akan diekstraksi dengan cara maserasi selama 3 x 24 jam menggunakan pelarut etanol, semakin lama waktu maserasi maka akan semakin maksimal hasil yang didapatkan. Setelah itu hasil maserasi disaring dan filtrat yang diperoleh diuapkan atau dipekatkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40°C untuk memisahkan ekstrak murni dan pelarut yang masih tersisa.

Selanjutnya ekstrak etanol daun sirih hutan tersebut akan di uji kandungan metabolit sekunder yang terdapat didalamnya dengan menggunakan uji skrining fitokimia secara kualitatif menggunakan beberapa

reagen atau pereaksi tertentu. Dimana uji fitokimia adalah salah satu metode skrining yang digunakan untuk mendeteksi senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam suatu tanaman [23]. Adapun beberapa metabolit sekunder yang akan diuji yaitu seperti alkaloid, triterpenoid, steroid, fenolik, flavanoid, saponin dan kuinon. Berikut adalah hasil uji fitokimia dari ekstrak etanol daun sirih hutan dapat dilihat pada **Tabel 1**.

**Tabel 1.** Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun sirih hutan

Golongan Senyawa	Hasil Uji
Alkaloid	+
Triterpenoid	+
Steroid	-
Fenolik	+
Flavonoid	+
Saponin	-
Kuinon	+

Keterangan:

(+) = Terdapat senyawa metabolit sekunder

(-) = Tidak terdapat senyawa metabolit sekunder

Berdasarkan data yang telah diperoleh pada **Tabel 1**. diatas, ekstrak etanol daun sirih hutan mengandung alkaloid, steroid, fenolik, flavonoid dan kuinon. Uji fitokimia memiliki peran penting untuk mengidentifikasi senyawa aktif yang dapat memiliki efek berbahaya atau memberi manfaat, yang terlihat melalui pengujian ekstrak tumbuhan kasar dengan sistem biologi. Metabolit sekunder pada tumbuhan berfungsi sebagai komponen penting dalam penelitian dan pengembangan obat baru, serta memberikan perlindungan terhadap tanaman itu sendiri dari ancaman lingkungan. Beberapa senyawa yang dikenal memiliki sifat obat antara lain flavonoid, alkaloid, triterpenoid, kuinon, saponin, dan steroid [22].

Pada Uji alkaloid, dideteksi dengan menggunakan beberapa reagen seperti larutan kloroform-amoniak, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2 N dan Pereaksi Dragendorff. Adanya endapan berwarna merah jingga menunjukkan adanya senyawa alkaloid. Pada uji triterpenoid dan steroid, Dideteksi dengan menggunakan pereaksi Liebermann-Burchard. Diperoleh berupa larutan berwarna merah coklat yang menunjukkan adanya senyawa triterpenoid didalam ekstrak tanaman tersebut. Selanjutnya pada uji fenolik, dideteksi dengan menggunakan larutan FeCl<sub>3</sub> 1%. Hasil yang diperoleh yaitu terbentuk larutan berwarna hitam yang menunjukkan beradaan senyawa fenolik dalam ekstrak tanaman. Kemudian pada uji flavonoid, dideteksi dengan menggunakan Pita Mg dan HCl<sub>(p)</sub>. Hasil yang diperoleh yaitu terbentuk larutan berwarna merah yang menandakan terdapat senyawa flavonoid dalam ekstrak tanaman. Pada uji kuinon, Dideteksi dengan menggunakan pereaksi NaOH 5% dan larutan HCl 2 N. Hasil yang diperoleh yaitu warna kembali seperti semula yaitu hijau kehitaman yang menandakan adanya kandungan senyawa kuinon yang terdapat dalam sampel sirih hutan tersebut. Adapun pada uji saponin, dideteksi dengan terbentuknya busa stabil setelah penambahan HCL<sub>(p)</sub>. Hasil yang diperoleh yaitu tidak terbentuk busa yang stabil sehingga kandungan senyawa saponin tidak terdapat dalam sampel ekstrak daun sirih hutan. [10; 11; 12]

Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) dengan menggunakan larva *Artemia salina* L. adalah uji toksisitas sederhana yang bertujuan untuk mengetahui aktivitas biologis yang dilakukan dari suatu ekstrak tanaman. Metode BSLT telah digunakan sebagai salah satu teknik bioassay untuk menentukan tingkat toksisitas dari ekstrak tanaman. Adapun hasil uji toksisitas yang telah dilakukan akan dinyatakan dalam LC<sub>50</sub> (*Lethal Concentration 50*), dimana LC<sub>50</sub> merupakan konsentrasi yang optimum untuk ekstrak tanaman untuk membunuh 50% dari larva *Artemia salina* L. Efek toksisitas dari suatu tanaman akan semakin tinggi jika nilai LC<sub>50</sub> yang semakin rendah [17].

Metode BSLT sering digunakan untuk uji toksisitas karena sederhana, murah dan mudah dilakukan, serta hasil yang diperoleh cukup akurat. Beberapa metode BSLT menggunakan larva larva *Artemia salina* L hal ini karena larva tersebut memiliki pertumbuhan sel yang hampir sama dengan manusia, persamaan tipe DNA-*dependent RNA Polymerase* dan organisme yang memiliki *ouabaine-sensitive* Na<sup>+</sup> dan K<sup>+</sup> *dependent* ATPase. Maka dari itu senyawa atau ekstrak yang memiliki bioaktivitas pada sistem tersebut dapat terdeteksi melalui uji ini [19]. Digunakan beberapa variasi konsentrasi pada uji BSLT ini dengan tujuan mengetahui nilai konsentrasi zat toksik yang sesuai atau LC<sub>50</sub> yang menunjukkan 50 % kematian populasi hewan uji. Adapun Hasil Uji BSLT yang diperoleh dari ekstrak etanol daun sirih hutan dapat dilihat pada **Tabel 2**.

Dengan membuat kurva regresi linear dari data yang diperoleh yaitu antara log konsentrasi terhadap nilai probit yang diperoleh merupakan cara atau metode analisis data yang digunakan untuk menentukan nilai LC50. Berdasarkan hasil uji BSLT yang telah dilakukan diperoleh bahwa ekstrak etanol daun sirih hutan memiliki nilai LC50 sebesar  $6,12915 \times 10^{-13}$  ppm.

Aktivitas dari berbagai senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, terpenoid, fenolik dan saponin yang terkandung didalam ekstrak etanol daun sirih hutan dapat menyebabkan kematian dari populasi larva *Artemia salina* L. Senyawa alkaloid bekerja dengan cara bertindak sebagai racun yang mempengaruhi sistem pencernaan. Zat ini akan menghambat reseptor rasa di mulut larva, yang membuat larva tidak dapat merasakan makanannya dengan baik. Akibatnya, larva tidak dapat mengenali makanan dan mati kelaparan. Sementara itu, senyawa saponin berfungsi dengan mengikat oksigen dalam air, sehingga mengurangi kadar oksigen yang tersedia. Hal ini menyebabkan larva *Artemia salina* Leach kekurangan oksigen dan akhirnya mati. Flavonoid berperan sebagai antioksidan yang melindungi DNA dari kerusakan akibat radikal bebas seperti radikal hidroksil, yang dapat memicu kerusakan sel dan perkembangan kanker. Selain itu, senyawa flavonoid juga dapat mempercepat proses apoptosis sel, yang berujung pada kematian sel [18].

**Tabel 2.** Hasil Uji BSLT Ekstrak Etanol Daun Sirih Hutan

C (g/mL)	Log C	Jumlah Larva (Ekor)	Jumlah Larva Mati (Ekor)					Mortalitas (%)	Nilai Probit	Per. Regresi Linear	Nilai R <sup>2</sup>
			I	II	III	Rata- rata	K				
1000	3,00	11	4	3	4	3,66	0	33,3%	4,56	y = - 0,0475x +4,4199	0,0122
500	2,70	11	4	4	0	2,66	0	24,2%	4,29		
250	2,40	12,66	5	3	1	3	1	23,6%	4,26		
125	2,10	11	4	2	0	2	1	18,8%	4,08		
62,5	1,80	11,33	7	1	0	2,66	0	23,5%	4,26		
31,25	1,49	10,66	3	0	1	1,33	1	12,5%	3,82		
15,625	1,19	10,33	5	5	4	4,66	1	45,1%	4,87		
7,8125	0,89	12	6	2	3	3,66	0	30,5%	4,48		
<b>LC<sub>50</sub> = 6,12915 x 10<sup>-13</sup> ppm (Toksik)</b>											

Keterangan:

C = Konsentrasi

K = Kontrol

Flavonoid dapat bertindak sebagai antikanker dengan melalui mekanisme pengaktifan jalur apoptosis sel kanker, dimana jalur tersebut terbagi menjadi dua jalur yaitu jalur ekstrinsik dan jalur intrinsik. Jalur ekstrinsik berhubungan dengan tumor necrosis factor (TNF) yang berada pada membran sel, sementara jalur intrinsik berhubungan dengan mitokondria. Kemudian terjadi fragmentasi DNA pada jalur intrinsik yang diawali lepasnya rantai proksimal DNA yang disebabkan oleh senyawa oksigen reaktif seperti radikal hidroksil. Fungsi flavonoid adalah menghambat aktivitas protein kinase sehingga dapat menghambat proliferasi sel kanker [20]. Berdasarkan pernyataan tersebut menjadikan golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak etanol daun sirih hutan berpotensi sebagai antikanker, hal ini karena sangat berkorelasi positif pada uji toksisitas menggunakan metode BSLT dengan larva *Artemia salina* L.

## KESIMPULAN

Berdasarkan pada penelitian yang telah dilakukan, daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, triterpenoid, flavonoid, kuinon dan fenolik yang dikaji lebih lanjut sebagai agen antikanker. Hasil uji toksisitas yang dilakukan, menunjukkan ekstrak etanol daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) bersifat sangat toksik (< 10 ppm) terhadap larva udang *Artemia salina* L menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) diperoleh nilai LC<sub>50</sub> sebesar  $6,12915 \times 10^{-13}$  ppm.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada kepala laboratorium dan laboran Laboratorium Kimia Organik, Laboratorium Biokimia dan Laboratorium Kimia Dasar, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,

Universitas Mulawarman atas segala bantuan sarana dan prasarana yang dibutuhkan selama penelitian ini dilakukan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Angelique, C. M., Tanan., Budiarmo, F., Bodhi, W., Fatimawali., Kepel, B. J., dan Manampiring, A. (2022). Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol Buah Sirih (Piper Betle L.) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *E biomedik*, 10(1), 14-19.
- Arisma. (2017). Aktivitas Larutan Akar Sirih Hutan (Piper aduncum L.) Sebagai Penghambat Pertumbuhan Bakteri. *Biolearning Journal*, 4(10), 17-22.
- AZ, S. F., Erwin dan Alimuddin. (2022). Phytochemical and Toxicity Test On The Nipah' S Leaf ( *Nypa fruticans* Wurmb.). *Prosiding Seminar Nasional Kimia 2022*, 199–203.
- Bohari, Karolina, A., Pratiwi, D. R., Erwin dan Rahmadi, A. (2019). Toxicity test, antioxidant activity test and gc-ms profile of the active fraction of *coptosapelta tomentosa* (Blume) root (merung). *EurAsian Journal of BioSciences*, 13(2), 2403–2406. <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85083838759&partnerID=40&md5=dc0f8da27356bc6991b8405319e718ae>.
- Budi, H.S., Gunawan, E., Rizki, M dan Wanggai, C. (2022). POTENSI SIRIH HUTAN (Piper aduncum L.) SEBAGAI TUMBUHAN OBAT: PROSPEK PENGEMBANGAN DI PAPUA (The Potential of Sirih Hutan [Piper aduncum L.] as a medicinal plant: Prospect for Development in Papua). *Jurnal Kehutanan Papuasiasia*, 8(2), 397-408.
- Erwin, E., Nuryadi, D. dan Usman, U. (2020). Skrining Fitokimia dan Bioaktivitas Tumbuhan Bakau Api-Api Putih (*Avicennia alba* Blume). *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 2(4), 311–315. <https://doi.org/10.25026/jsk.v2i4.152>.
- Fajaryantie, A. R., Erwin dan Pasaribu, S. P. (2021). Uji Fitokimia Dan Uji Toksisitas Ekstrak Kasar Daun, Batang Dan Kulit Batang Tanaman Durian (*Durio zibethinus* Murray). *Prosiding Seminar Nasional Kimia 2021*, 1–5.
- Hallianah, I.P., Lambui, O. Dan Ramadanil. (2019). Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih Hutan (*Piper aduncum* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Biocebeles*, 13(1), 46-55.
- Harborne, J. B. (1987). *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan* (Edisi ke-2). Penerbit ITB.
- Jonathan., Hairani, R., dan Ruga, R. (2024). Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Diklorometana Rimpang Temu Kunci (*Boesenbergia Rotunda*). *Jurnal Atomik*, 9(2), 62-68.
- Khafid, A., Wiraputra, M. D., Putra, A. C., Khoirunnisa, N., Putri, A. A. K., Suedy, S. W. A., dan Nurchayati, Y. (2023). Uji Kualitatif Metabolit sekunder pada Beberapa Tanaman yang Berkhasiat Sebagai Obat Tradisional. *Buletin Anatomi dan Fisiologi*, 8(1), 61-70.
- Manik, R., Erwin dan Alimuddin. (2019). Uji Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Batang Rambai (*Baccaurea motlyeana* Mull.Arg.). *Jurnal Atomik*, 4(1), 50–55.
- Marsah, R.U. dan Ardiyanti, Y. (2019). Analisis Aktivitas Toksisitas Beberapa Minyak Atsiri Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test*. *Journal of Holistic and Health Sciences*, 03(1), 14-20.
- Maulina, S., Pratiwi, D. R. dan Erwin. (2019). Skrining fitokimia dan bioaktivitas ekstrak akar *Uncaria nervosa* Elmer (bajakah). *Jurnal Atomik*, 4(2), 100–102. <http://jurnal.kimia.fmipa.unmul.ac.id/index.php/JA/article/download/902/556>.
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. E. dan McLaughlin, J. L. (1982). Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica*, 45(1), 31–34. <https://doi.org/10.1055/s-2007-971236>.
- Munawaroh, E. dan Yuzammi. (2017). Keanekaragaman Piper (Piperaceae) dan konservasinya di Taman Nasional Bukit Barisan Selatan, Provinsi Lampung. *Media Konservasi*, 22(2), 118-128.
- Nuralifah, N., Parawansah, P., dan Nur, H. (2021). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Air Dan Ekstrak Etanol Daun Kacapiring (*Gardenia jasminoides Ellis*) Terhadap Larva *Artemia Salina Leach* Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*, 1(2), 98–106. <https://doi.org/10.37311/ijpe.v1i2.11462>
- Nurbaiti., dan rahmawati, N. (2022). Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Kulit Batang Tumbuhan Akar Kaik-Kaik (*Uncaria Cordata*) (Lour.) Meer Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Jurnal Kesehatan As-Shiha*, 2(2), 157–166.
- Sanjaya, I.M.D., Purba, R. dan Saleh, C. (2024). Skrining Fitokimia Dan Potensi Antibakteri Ekstrak Etanol

- Daun Sirih Hutan (*Piper aduncum* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*: A MINI REVIEW. *Prosiding Seminar Nasional Kimia 2024*, 78–82.
- Setiawan, A. (2022). Keanekaragaman Hayati Indonesia: Masalah dan Upaya Konservasinya. *Indonesian Journal of Conservation*, 11(1), 13-21.
- Tonahi, J. M. M., dan Suherman. (2014). Antioksidan Dari Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum*). *Jurnal Akad Kimia*, 3(3), 158-164.
- Tullah, M. H., Marlina, E. dan Erwin. (2023). Antioxidant Activity Test of Ambon Banana Peel (*Musa paradisiaca* var. *sapientum* (L.) Kunt.) Methanol Extract with DPPH Method. *Jurnal Atomik*, 08(2), 54–59.
- Zuliani, N. E., Erwin dan Kusuma, I. W. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan (Metode DPPH) Ekstrak Metanol dan Fraksi - Fraksinya dari Daun Rumput Knop (*Hyptis capitata* Jacq.). *Jurnal Atomik*, 04(1), 36–40