

Efek sitotoksik ekstrak buah kapulaga jawa (*Amomum compactum* Soland. Ex. Maton) Cytotoxic effect of Cardamom Java (*Amomum compactum* Soland. Ex. Maton) extracts

SAGO: Gizi dan Kesehatan
2019, Vol. 1(1) 79-84
© The Author(s) 2019



DOI: <http://dx.doi.org/10.30867/gikes.v1i1.302>
<https://ejournal2.poltekkesaceh.ac.id/index.php/gikes>



Poltekkes Kemenkes Aceh

Nailul Muna¹, Noni Zakiah², Vonna Aulianshah³, Munira⁴,
Amelia Sari⁵

Abstract

Background: In developed countries cancer is the second leading cause of death after cardiovascular disease. Cancer prevention can be done with synthetic or traditional medicine. However, synthetic treatments often cause side effects and of course require high costs. Java Cardamom (*Amomum compactum* Soland. Ex Maton) is a plant that contains antioxidants. Antioxidants can inhibit oxidation reactions by binding to free radicals and molecules that are very reactive so that cell damage can be prevented. Cardamom contains flavonoids which can induce cell death programs as well as tannins as free radical scavengers.

Objectives: This study aims to determine the LC50 value of Java cardamom (*Amomum compactum* Soland. Ex Maton) on *Artemia salina* Leach.

Methods: This study was an experimental study using a completely randomized design (CRD) using 180 artemia larvae which were divided into 6 treatment groups. Each group included 10 artemia larvae with varying concentrations of 500 ppm, 250 ppm, 100 ppm, 50 ppm, 10 ppm and 0 ppm (not given extract). Three repetitions were performed for each concentration.

Results: The results showed from the observations obtained the LC50 value of Java cardamom extract is 26.60 ppm. So that the Java cardamom extract (*Amomum compactum* Soland. Ex Maton) has the potential as an anticancer (cytotoxic).

Conclusion: Java cardamom extract (*Amomum compactum* Soland. Ex Maton) is active and can be developed as an anticancer compound.

Keywords

Amomum compactum, BSLT, artemia salina leach

Abstrak

Latar Belakang: Di negara yang maju kanker merupakan penyebab kematian kedua setelah penyakit kardiovaskular. Pencegahan kanker dapat dilakukan dengan pengobatan sintetik maupun tradisional. Namun pengobatan sintetik kerap menimbulkan efek samping dan tentunya memerlukan biaya yang tinggi. Kapulaga Jawa (*Amomum compactum* Soland. Ex Maton) merupakan tanaman yang mengandung antioksidan. Antioksidan mampu menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga kerusakan sel dapat dicegah. Kapulaga mengandung flavonoid yang dapat menginduksi program kematian sel juga tanin sebagai penangkap radikal bebas.

Tujuan: Penelitian bertujuan untuk mengetahui nilai LC50 dari kapulaga jawa (*Amomum compactum* Soland. Ex Maton) terhadap *Artemia salina* Leach.

¹ Program Studi D-III Farmasi, Jurusan Farmasi Politeknik Kesehatan Kemenkes Aceh, Aceh, Indonesia. E-mail: munavincent96@gmail.com

² Jurusan Farmasi Politeknik Kesehatan Kemenkes Aceh, Aceh, Indonesia. E-mail: noni.zakiah@poltekkesaceh.ac.id

³ Jurusan Farmasi Politeknik Kesehatan Kemenkes Aceh, Aceh, Indonesia. E-mail: vonnaaulianshah16@gmail.com

⁴ Jurusan Farmasi Politeknik Kesehatan Kemenkes Aceh, Aceh, Indonesia. E-mail: munira.ac@gmail.com

⁵ Jurusan Farmasi Politeknik Kesehatan Kemenkes Aceh, Aceh, Indonesia. E-mail: amel_sfarm@yahoo.com

Penulis Koresponding:

Noni Zakiah: Jurusan Farmasi Politeknik Kesehatan Kemenkes Aceh. Jalan Soekarno-Hatta, Kecamatan Lampeunerut, 23352, Aceh Besar. Aceh, Indonesia. E-mail: noni.zakiah@poltekkesaceh.ac.id

Metode: Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) menggunakan 180 ekor larva artemia yang dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan. Masing-masing kelompok dimasukkan 10 ekor larva artemia dengan variasi konsentrasi 500 ppm, 250 ppm, 100 ppm, 50 ppm, 10 ppm dan 0 ppm (tidak diberi ekstrak). Dilakukan tiga kali pengulangan untuk masing-masing konsentrasi.

Hasil: Hasil penelitian menunjukkan bahwa berdasarkan hasil pengamatan di peroleh nilai LC50 dari ekstrak kapulaga jawa yaitu 26,60 ppm. Sehingga ekstrak buah kapulaga jawa berpotensi sebagai antikanker atau sitotoksik.

Kesimpulan: Ekstrak buah kapulaga jawa (*Amomum compactum* Soland. Ex Maton) bersifat aktif dan dapat dikembangkan sebagai senyawa antikanker.

Kata Kunci

Amomum compactum, BSLT, artemia salina leach

Pendahuluan

Kanker merupakan suatu penyakit yang ditandai dengan pertumbuhan yang tidak terkendali dan penyebaran sel-sel abnormal. Sekitar 606,880 orang Amerika diperkirakan akan meninggal karena kanker di tahun 2019, dengan jumlah kematian 1,660 orang perhari. Kanker merupakan penyebab kematian kedua di Amerika Serikat setelah penyakit jantung (American Cancer Society, 2019).

Berdasarkan data World Health Organization International Agency for research on cancer pada tahun 2018 di Indonesia terdapat sejumlah 348,809 kasus baru dan 207,210 kematian yang disebabkan oleh kanker (World Health Organization, 2019). Beberapa teknik pengobatan kanker diantaranya yaitu pembedahan, terapi hormonal, radiasi dan kemoterapi. Kemoterapi merupakan teknik yang paling banyak digunakan dan telah diketahui dapat meningkatkan kelangsungan hidup pasien, namun teknik tersebut dapat menimbulkan efek samping yang signifikan seperti mual dan muntah, kerusakan saraf, diareha, neutropenia dan infeksi, konstipasi hingga rontok rambut (Loprinzi et al., 2014).

Beberapa agen antikanker yang telah diteliti diantaranya merupakan dari keluarga zingiberaceae yaitu tanaman yang hidup pada daerah tropis. Keluarga zingiberaceae memiliki kandungan minyak atsiri golongan terpenoid yang berfungsi sebagai antioksidan. Antioksidan memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan tumor secara selektif tanpa mempengaruhi sel normal. Antioksidan juga menunjukkan dampak yang relatif baik dan

responsif terhadap tumor dari pada kemoterapi dan terapi radiologis (Gummadi, 2016).

Kapulaga Jawa juga merupakan salah satu family zingiberaceae. Komponen aktif yang diidentifikasi dalam minyak atsiri kapulaga jawa 98% dari total minyak terdiri dari 1.8-cineole (38.7%), β -pinene (13.6%), α -terpineol (12.6%), spathulenol (8.3%), 4-terpineol (4.5%), germacrene D (3.0%), α -pinene (2.8%) dan β -selinene (2.7%) (Asih kurniati, dkk 2018). Kapulaga Jawa juga mempunyai kandungan berupa Alkaloid, tanin, asam amino, protein saponin (Das et al., 2018).

Mengingat penjelasan di atas, maka peneliti tertarik untuk menguji efek sitotoksik ekstrak kapulaga Jawa terhadap *Artemia salina* Leach dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Artemia salina* Leach memiliki respon stress yang sama dengan manusia dan digunakan secara luas untuk uji toksisitas karena ketersediaan telur dorman (kista) dapat dipanen dalam jumlah besar di danau garam (Gajardo & Beardmore, 2012). Oleh karena itu, penelitian ini mempunyai tujuan untuk mengukur dan mengetahui nilai LC50 dari ekstrak kapulaga jawa (*Amomum compactum* Soland. Ex Maton) terhadap *Artemia salina* Leach.

Metode

Penelitian ini yaitu merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian dilaksanakan di laboratorium Fitokimia Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Aceh untuk proses maserasi sampai proses pengeringan ekstrak. Waktu penelitian yaitu dilakukan pada bulan Juni – Agustus tahun 2017.

Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu buah Kapulaga jawa (*Amomum compactum* Soland. Ex Maton) etanol 70%, akuadest, air laut, telur udang *Artemia salina* Leach, dimetilsulfoksida 2% (DMSO 2%).

Sedangkan untuk kebutuhan alat-alat dalam penelitian yaitu berupa wadah maserasi, pengaduk kayu, Vacum Rotary Evaporator, cawan petri, corong, Beaker glass, lup, mikropipet, neraca analitik, pipet tetes, sendok plastik, tabung reaksi, Erlenmeyer, aluminium foil, lakban hitam, seperangkat wadah penetasan udang.

Pembuatan ekstrak Kapulaga Jawa

Dimasukkan 100 gram serbuk kapulaga Jawa ke dalam wadah maserasi. Ditambahkan 500 ml etanol 70%, kemudian ditutup.

Selanjutnya dibiarkan selama 6 jam pertama terlindung dari cahaya sambil diaduk sesekali. Kemudian didiamkan selama 18 jam. Dipisahkan maserat dengan cara filtrasi (*maserat 1*). Diulangi proses tersebut sebanyak dua kali dengan pelarut yang sama dan volume pelarut setengah dari volume pelarut penyarian pertama (*maserat 2*, *maserat 3*). Dikumpulkan semua maserat, lalu diuapkan dengan *Vacum rotary evaporator*.

Penetasan Larva *Artemia salina* Leach

Penetasan larva *Artemia salina* Leach dilakukan dengan menyiapkan wadah terdiri dari dua ruang yang tidak sama dengan beberapa lubang pada pembatas di antaranya yang telah berisi air laut untuk penetasan larva *Artemia*.

Bejana tersebut diletakkan lampu untuk menghangatkan suhu dalam penetasan, sedangkan di ruang sebelahnya ditutup dengan aluminium foil, dimasukkan 1 gram larva *Artemia* di bagian yang ditutup aluminium foil dan dilengkapi dengan aerator sebagai sumber oksigen. Setelah 24 jam larva akan menetas dan bergerak menuju ke tempat yang terang. Larva yang digunakan adalah larva yang berumur 48 jam, bergerak aktif dan bersifat fototropik (Hamidi, Jovanova, and Panovska 2014., Litaay, M et al 2019).

Pembuatan Konsentrasi Larutan Uji

Dalam pembuatan konsentrasi dilakukan variasi konsentrasi yaitu 500 ppm, 250 ppm, 100 ppm, 50 ppm, 10 ppm dan 0 ppm (sebagai kontrol).

Pembuatan larutan stok ekstrak kental etanol Kapulaga jawa ditimbang sebanyak 50 mg, kemudian dilarutkan kedalam air laut sebanyak 50 mL, hingga diperoleh konsentrasi larutan stok 1000 ppm. Sampel yang kurang larut ditambahkan DMSO 2% 0.5 mL. Kematian *Artemia salina* Leach mulai terlihat pada konsentrasi 2.5% untuk DMSO (Geethaa, 2013).

Prosedur Uji Sitotoksik dengan metode BSLT

Prosedur Uji sitotoksik dengan metode BSLT dilakukan dengan pembagian kelompok menjadi 6 kelompok perlakuan dengan variasi konsentrasi 500 ppm, 250 ppm, 100 ppm, 50 ppm, 10 ppm, dan 0 ppm.

Larva *Artemia salina* Leach yang berumur 48 jam sebanyak 10 ekor kemudian dimasukkan ke dalam masing-masing konsentrasi. Dilakukan tiga kali pengulangan (Triplo). Tabung reaksi dibiarkan di tempat terbuka selama 24 jam. Dihitung larva yang masih hidup pada masing-masing tabung reaksi menggunakan kaca pembesar dan jumlah larva yang mati di setiap botol dihitung dan dicatat. Berdasarkan kriteria standar larva dikatakan mati apabila larva tidak bergerak selama 10 detik pengamatan. Dihitung persentase kematian dan dianalisis menggunakan probit (Mangirang et al. 2019., Morshed et al. 2018).

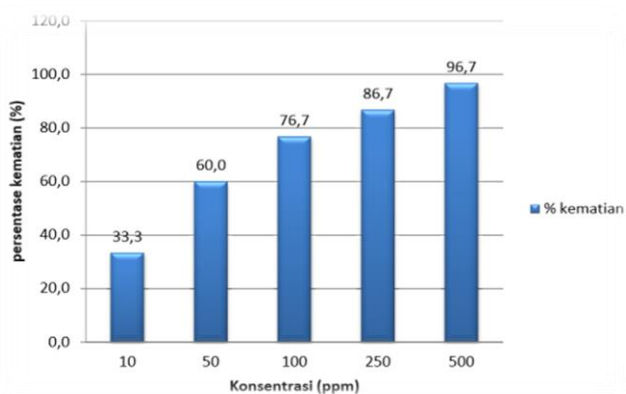
Hasil

Hasil penelitian terkait pengaruh berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol Buah Kapulaga terhadap *Artemia salina* Leach.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah disajikan pada Tabel 1 dan pada Gambar 1, menunjukkan bahwa persentase kematian tertinggi larva terdapat pada konsentrasi 500 ppm dan terendah pada konsentrasi 10 ppm. Persentase kematian larva juga selaras dengan peningkatan konsentrasi ekstrak. Pada grafik tersebut juga dapat dilihat bahwa pada kontrol negatif yang tidak diberi ekstrak kapulaga jawa tidak didapatkan larva yang mati, dan peningkatan persentase kematian berdasarkan penggunaan konsentrasi sangat signifikan. Sehingga kematian larva *Artemia salina* Leach murni karena pemberian ekstrak. Standar deviasi untuk setiap kematian masih dalam batas normal, karena standar deviasinya masih di bawah 2.

Tabel 1. Pengaruh Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol Buah Kapulaga terhadap *Artemia salina* Leach

Tabung Reaksi	Angka kematian larva salina Leach 10 larva (setelah 24 jam)					Kontrol Negatif (0 ppm)
	konsentrasi ekstrak pada tabung reaksi uji (ppm)					
Ulangan 1	500	250	100	50	10	0
Ulangan 2	10	10	9	8	4	0
Ulangan 3	10	8	7	5	3	0
Total	9	8	7	5	3	0
Rata-rata kematian	29	26	23	18	10	0.0
Standar Deviasi	0.6	1.2	1.2	1.7	0.6	0.0
% Kematian	96.7	86.7	76.7	60.0	33.3	0.0

**Gambar 1.** Grafik pengaruh konsenrasi ekstrak etanol buah kapulaga jawa terhadap *Artemia salina* Leach.

Selanjutnya dilakukan analisis perhitungan probit sebagaimana disajikan pada Tabel 2. Dari Tabel 2 diperoleh data untuk perhitungan persamaan regresi linier hubungan antara Y (nilai probit dari persentase kematian) dan X (log konsentrasi). Persamaan regresi linier dapat dilihat pada Gambar 2.

Berdasarkan Gambar 2, hasil penelitian menunjukkan bahwa grafik tersebut didapatkan persamaan garis lurus $Y = 1.120x + 3.424$. Pengujian terhadap ekstrak buah kapulaga jawa (*Amomum compactum* Soland. Ex Maton) didapatkan konsentrasi untuk membunuh 50% larva *Artemia salina* Leach dengan nilai LC_{50} sebesar 25.52 ppm.

Tabel 2. Hasil perhitungan nilai LC_{50} menggunakan metode probit

Konsentrasi (ppm)	Log konsentrasi (X)	% Kematian	Probit (Y)	X^2	Y^2	XY
0	0	0.0	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
10	1.000	33.3	4.5684	1.0000	20.8703	4.5684
50	1.699	60.0	5.2533	2.8865	27.5972	8.9252
100	2.000	76.7	5.7200	4.0000	32.7184	11.4400
250	2.398	86.7	6.1123	5.7501	37.3602	14.6569
500	2.699	96.7	6.8084	7.2844	46.3545	18.3757
Jumlah	9.796		28.4624	20.9211	164.9005	57.9662

Pembahasan

Uji toksisitas dengan menggunakan metode BSLT merupakan uji sitotoksitas dimana efek toksik dari suatu senyawa dapat ditentukan dalam waktu singkat, yaitu rentang waktu 24 jam setelah pemberian dosis.

Metode ini merupakan bioassay yang sederhana, cepat, rendah biaya, dapat dilakukan di laboratorium kimia produk alami karena tidak ada persyaratan untuk teknik aseptik dan dapat dipercaya (Meyer, et al. 1982). Hasilnya memiliki korelasi dengan aktivitas antikanker, dan memiliki kepercayaan hingga 95% (Ogugu et al.,

2012). Hewan uji yang digunakan pada metode ini yaitu larva *Artemia salina* Leach yang berusia 48 jam karena pada usia ini larva *Artemia salina* Leach memiliki saluran pencernaan yang terbentuk lengkap sehingga peka terhadap suatu zat yang dimasukkan.

Penggunaan metode BSLT dengan *Artemia salina* sering dihubungkan dengan aktivitas antikanker karena pertumbuhan *Artemia salina* membelah dengan cepat sehingga identik dengan sel kanker. Keuntungan dari uji ini yaitu cepat, mudah, hasilnya dapat diulang, serta tidak membutuhkan biaya yang mahal (Hamidi et al.,

2014). Proses penetasan telur *Artemia salina* Leach menjadi larva membutuhkan lampu agar larva bergerak ke arah yang terang karena larva bersifat fotoaksis. Selain itu, proses penetasan juga memerlukan aerator sebagai sumber oksigen. Pada uji ini dibuat 6 variasi konsentrasi yaitu 500 ppm, 250 ppm, 100 ppm, 50 ppm, 10 ppm, dan 0 ppm tanpa penambahan ekstrak sebagai kontrol negatif. Kontrol negatif digunakan untuk menguji pengaruh air laut maupun faktor lain yang berpengaruh terhadap kematian larva. Sehingga dapat dipastikan bahwa kematian *Artemia salina* murni karena penambahan ekstrak. Larva yang digunakan sebanyak 10 ekor untuk masing-masing konsentrasi dan dilakukan 3 kali pengulangan (triplo) untuk hasil yang lebih akurat.

Menurut Meyer *et al* (1982), ekstrak etanol buah kapulaga jawa pada penelitian ini bersifat aktif dan dapat dikembangkan sebagai senyawa antikanker (sitotoksik) karena memiliki nilai $LC_{50} < 30$ ppm dan termasuk dalam kategori sangat sitotoksik. Hal ini diduga karena buah kapulaga jawa memiliki berbagai kandungan metabolit sekunder yang bersifat antioksidan seperti minyak atsiri, flavonoid, tanin dan saponin.

Kesimpulan

Hasil perhitungan nilai LC_{50} dari ekstrak buah kapulaga jawa (*Amomum compactum* Soland. Ex Maton) terhadap *Artemia salina* Leach dengan menggunakan analisis probit adalah sebesar 25.52 ppm. Sehingga buah kapulaga jawa (*Amomum compactum* Soland. Ex Maton) bersifat aktif dan dapat dikembangkan sebagai senyawa antikanker (sitotoksik).

Saran berdasarkan hasil penelitian, bahwa perlu dilakukan penelitian lanjutan dalam meningkatkan ekstrak kapulaga sebagai alternatif pengobatan kanker.

Deklarasi Konflik Kepentingan

Bagian deklarasi, dalam penelitian ini secara sadar bahwa penulis telah menyatakan yang mana dalam artikel ini tidak ada maupun terdapat potensi konflik kepentingan baik dari penulis maupun instansi sehubungan dengan penelitian yang telah dilakukan, baik berdasarkan kepengarangan, maupun publikasi.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Direktur Politeknik Kesehatan Kemenkes Aceh yang telah membantu anggaran dana penelitian dan juga kepada Ketua Jurusan Farmasi yang telah berkontribusi terhadap pelaksanaan penelitian. Selain itu, ucapan terima kasih juga kami sampaikan kepada Tim Pakar yang telah membantu perbaikan baik secara teknis maupun isi dalam pelaksanaan penelitian ini.

Daftar Rujukan

- American Cancer Society. (2019). Surveillance Research. In *Cancer facts & Figures* (p. 5).
- B. N. Meyer., N. R. Ferrigni., J. E. Putnam., L. B. Jacobsen., D. E. Nicols., and J. L. M. (1982). Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Journal of Medicinal Plant Research Planta Medika*, 45(May 1982), 31–34. <https://doi.org/10.1055/s-2007-971236>
- Das, A., Pal, K. K., & Nag, S. (2018). *Anatomy, Micromorphology and Histochemical Localization of Different Phytochemicals of Two Medicinally Important Taxa of the Family Zingiberaceae*. 4(191), 191–198. <https://doi.org/10.26479/2018.0401.16>
- Gajardo, G. M., & Beardmore, J. A. (2012). The brine shrimp *Artemia*: adapted to critical life conditions. *Frontiers in Physiology*, 3, 185.
- Geethaa, S. (2013). *Interference from ordinarily used solvents in the outcomes of Artemia salina lethality test*. 4(4), 179–182. <https://doi.org/10.4103/2231-4040.121411>
- Gummadi, P. (2016). Role of Antioxidants on Cancer and Neurodegenerative Disorders. *Journal of Medical & Health Science*, 5(3), 1–6.
- Hamidi, M. R., Jovanova, B., & Panovska, T. K. (2014). *Toxicological evaluation of the plant products using Brine Shrimp (Artemia salina L.) model*. 60(1), 9–18.
- Litaay, M et al. (2019). Toxicity of methanol fraction from marine tunicates *Pyura* sp and *Polycarpa aurata* to the brine shrimp *Artemia salina* Leach Toxicity of methanol fraction from marine tunicates *Pyura* sp and *Polycarpa aurata* to the brine shrimp *Artemia salina*. *Earth and Environmental Science* 253 (2019)012014, 1–4. <https://doi.org/10.1088/1755->

1315/253/1/012014

Loprinzi, C., Bensinger, W., & Peterson, D. (2014). *Understanding and managing chemotherapy side effects*. 4–7.

Morshed, M. H., Das, P. K., Roy, A. K., & Ibrahim, M. (2018). *Cytotoxicity of four active dyes against artemia salina leach*. 09(2), 55–59.

Ogugu, S. E., Kehinde, A. J., James, B. I., & Paul, D. K. (2012). Assessment of cytotoxic effects of

methanol extract of calliandra portoricensis using brine shrimp (*artemia salina*). *Global Journal Of Bio-Science & Biotechnology*, 1(2), 257–260.

World Health Organization. (2019). Indonesia Source GLOBOCAN 2018. *International Agency for Research on Cancer*, 256, 1–2.