



## UJI SITOTOKSIK EKSTRAK ETIL ASETAT DARI CAMPURAN DAUN TEH HIJAU DAN TEH HITAM (*Camellia sinensis* (L.) kuntze)

Dwi Dinni Aulia Bakhtra<sup>1\*</sup>, Suwigo Rozen<sup>2</sup>, Aried Eriadi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departemen Biologi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi (STIFARM) Padang, Padang, Sumatera Barat, Indonesia

<sup>2</sup>Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi (STIFARM) Padang, Padang, Sumatera Barat, Indonesia

\*E-mail: [dwidinni89@gmail.com](mailto:dwidinni89@gmail.com)

### Abstrak

Daun teh (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) merupakan salah satu tanaman yang memiliki potensi sebagai sumber antioksidan alami dari alam. Daun teh memiliki kandungan senyawa-senyawa bermanfaat seperti alkaloid, purin (metil xantin), kafein, teobromin dan senyawa lainnya. Tujuan penelitian ini adalah untuk menilai sitotoksikitas ekstrak etil asetat campuran daun teh hijau dan daun teh hitam dengan perbandingan 1:1. Proses ekstraksi daun teh menggunakan metode maserasi, skrining fitokimia dengan reaksi warna, dan aktivitas sitotoksik dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Dari hasil penelitian diperoleh rendemen ekstrak campuran 9,25%. Kandungan metabolit sekunder campuran ekstrak etil asetat teh hijau dan teh hitam adalah alkaloid, saponin, flavonoid, fenol, tanin, dan terpenoid. Hasil uji sitotoksik didapatkan nilai  $LC_{50}$  sebesar 13,7566  $\mu\text{g/mL}$ . Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa campuran ekstrak memiliki aktivitas sitotoksik yang sangat baik.

**Kata kunci:** *Camellia sinensis*; teh hijau; teh hitam; sitotoksik

### Abstract

Tea leaves (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) are one of the plants that have the potential as a source of natural antioxidants from nature. Tea leaves contain beneficial compounds such as alkaloids, purines (methyl xanthine), caffeine, theobromine, and other compounds. The purpose of this study was to assess the cytotoxicity of a mixture of ethyl acetate extract of green tea leaves and black tea leaves in a 1:1 ratio. The tea leaf extraction process used the maceration method, phytochemical screening with color reactions, and cytotoxic activity with the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method. The results of the study yielded a yield of 9.25% of the mixed extract. The secondary metabolites contained in the mixture of ethyl acetate extracts of green tea and black tea are alkaloids, saponins, flavonoids, phenols, tannins, and terpenoids. The cytotoxic test results obtained an  $LC_{50}$  value of 13.7566  $\mu\text{g/mL}$ . From the results of the study, it can be concluded that the mixture of extracts has very good cytotoxic activity.

**Keywords:** *Camellia sinensis*; green tea; black tea; cytotoxic

## PENDAHULUAN

Obat antikanker tingkat keamanan yang sempit. Antikanker diharapkan memiliki toksisitas selektif tanpa merusak sel jaringan normal. Sebagian besar golongan antikanker menekan proliferasi sel dan dapat menimbulkan toksisitas, karena menghambat pembelahan sel normal yang proliferasinya cepat seperti sumsum tulang, epitel germinativum, mukosa saluran cerna, folikel rambut dan jaringan limfosit. Terapi hanya dapat dikatakan berhasil bila dosis yang digunakan dapat mematikan sel tumor ganas dan tidak terlalu mengganggu sel normal yang

berproliferasi. Oleh karena itu, menjadi sebuah tantangan untuk terus melakukan studi dan pencarian terhadap obat antikanker. Terutama yang berasal dari bahan alam, khususnya tumbuh-tumbuhan, dengan harapan dapat menemukan antikanker yang efektif dan dapat mengurangi efek samping yang berbahaya.

Salah satu tanaman yang memiliki aktivitas sitotoksik adalah daun teh (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze). Daun *Camellia sinensis* memiliki aktivitas sitotoksik dan antioksidan. Dari hasil penelitian Indira (2018), ekstrak etanol daun teh hitam pada sel kanker kolon (WiDr) memiliki nilai  $IC_{50}$  669,53  $\mu\text{g/mL}$ .



Ratnengsih (2018), fraksi teh memiliki nilai LC<sub>50</sub> fraksi etanol 65,52 mg/L, fraksi n-heksana 78,18 mg/L, dan fraksi etil asetat 20,17 mg/L. Hasil penelitian Simangunsong (2018), uji toksisitas teh hijau memiliki nilai LC<sub>50</sub> 33,3426 µg/mL.

Teh hijau dan hitam memiliki aktivitas sitotoksik dan antioksidan (Kumari & Kumar, 2022). Teh hijau dapat menginduksi gen p35 dan menghambat laju migrasi sel (Santos *et al.*, 2021).

Pembuatan sediaan teh untuk tujuan pengobatan banyak dilakukan berdasarkan pengalaman seperti pada pembuatan infus yang dilakukan pada teh hitam sebagai minuman. Menurut para ahli, daun teh mengandung senyawa-senyawa bermanfaat seperti polifenol, teofilin, flavonoid, tanin, vitamin C dan vitamin E, katekin, serta jumlah mineral seperti zink (Zn), seng (Se), molibdenum (Mo), germanium (Ge), magnesium (Mg). Semua itu tidak hanya berguna sebagai zat antimutagenik dan antikanker, mengobati gangguan saluran pencernaan, serta membantu menetralkan lemak dalam makanan, tetapi juga mencegah oksidasi lemak densitas rendah yang bisa menjadi plak, menurunkan kolesterol darah, menyegarkan pernapasan, dan merangsang batang otak (Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia, 2012).

Dari penelusuran literatur sebelumnya, belum ditemukan penelitian skrining aktivitas sitotoksik dari campuran ekstrak etil asetat daun teh hijau dan teh hitam (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze). Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian mengenai skrining aktivitas sitotoksik campuran ekstrak etil asetat daun teh hijau dan ekstrak etil asetat teh hitam dengan metode kematian larva udang air asin atau lebih dikenal dengan istilah *brine shrimp lethality test* (BSLT). Selain itu, dari penelitian ini juga diharapkan bahwa hasil campuran ekstrak etil asetat teh hijau dan teh hitam memberikan aktivitas sitotoksik terhadap kanker.

## METODE

### Pengambilan sampel dan pembuatan simplisia

Sampel yang digunakan adalah daun teh (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) diambil di daerah Solok, Sumatera Barat sebanyak 5 kg. Pada umumnya, pembuatan simplisia dilakukan melalui tahapan sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering dan penyerbukan simplisia (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995).

### Pembuatan teh hijau dan teh hitam

Pembuatan teh hijau meliputi: pemetikan, pelayuan, pengeringan, sortasi (Rahmanisa & Wulandari, 2016). Pembuatan teh hitam meliputi: proses pelayuan menggunakan wadah khusus hingga kadar air daun teh kurang dari 70%, proses penggilingan, proses oksidasi melibatkan enzim dari daun teh. Kontak antara daun teh dengan udara akan menyebabkan terjadinya proses oksidasi, hingga menciptakan rasa dan warna khas. Daun teh yang sudah melewati proses oksidasi diserbukkan (Wibowo & Ramadian, 2010). Karakterisasi kombinasi simplisia daun teh meliputi pengamatan organoleptis, susut pengeringan, uji KLT (eluen: etil asetat dan n-heksan) (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

### Ekstraksi kombinasi simplisia daun teh

Proses ekstraksi menggunakan etil asetat sebagai pelarut. Sebanyak 125 sebuk simplisia daun teh hijau dan hitam (1:1) dimaserasi dengan 2500 mL pelarut. Maserasi dilakukan sebanyak 3 kali. Maserat dirotary hingga mendapatkan ekstrak kental (Banu & Catrine, 2015). Ekstrak etil asetat dihitung rendemen ekstrak.

## **Skrining fitokimia ekstrak kombinasi daun teh**

Pengujian fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, fenol, steroid dan terpenoid. Karakterisasi kombinasi ekstrak daun teh meliputi pengamatan organoleptis, susut pengeringan, senyawa larut air dan etanol, uji KLT (eluen: etil asetat dan n-heksan (1:1)) (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

## **Uji aktivitas sitotoksik metode BSLT**

Uji aktivitas sitotoksik meliputi penetasan telur *Artemia salina*, penyiapan sampel uji, dan penentuan persentase kematian larva. Telur *Artemia salina* diinkubasi dengan 500 mL menggunakan air laut steril pada suhu  $27 \pm 2$  °C selama 48 jam. Uji aktivitas sitotoksik menggunakan konsentrasi uji 1000, 500, 250, 100, dan 50 µg/mL. Setiap konsentrasi ditambahkan DMSO 50 µL yang bertujuan untuk melarutkan ekstrak, dilakukan 3 kali pengulangan. Kontrol negatif menggunakan DMSO 50 µL (Bakhtra *et al.*, 2022). Data yang diperoleh dibuat dalam bentuk tabel dan grafik, kemudian dideskripsikan hasilnya. Tingkat toksisitas larva udang *Artemia salina* Leach dapat diketahui dengan menghitung nilai  $LC_{50}$ . Metode yang digunakan adalah metode Finney, yaitu analisis probit, yang diperoleh dengan cara memasukkan data dari dosis yang digunakan, yaitu minimal 3 dosis, kemudian hasilnya dihitung dengan menggunakan perhitungan kematian udang pada konsentrasi tertentu.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Dari hasil identifikasi sampel tanaman daun teh spesies sampel yang digunakan adalah *Camellia sinensis* (L.) Kuntze, famili *Theaceae*. Dari 5 kg sampel segar didapatkan 250 g simplisia, berat ekstrak kombinasi 23,13 g dengan nilai rendemen ekstrak kombinasi 9,23%. Ekstrak kombinasi daun teh hitam dan hijau didapatkan dengan warna ekstrak coklat kehitaman, rasa pahit dan aroma khas.

Penentuan organoleptik: didapatkan ekstrak dengan warna hijau, rasa pahit, bau khas, dan bentuk kental. Penentuan organoleptis ini termasuk salah satu parameter spesifik yang ditentukan dengan panca indera dan bertujuan untuk pengenalan awal secara sederhana dan subjektif.

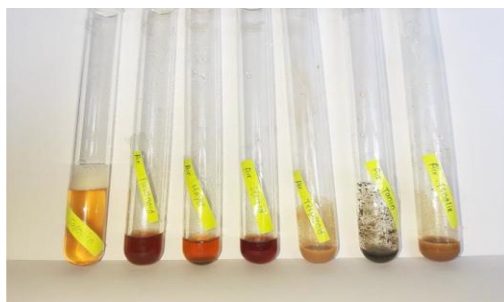
Pada pengujian kromatografi lapis tipis digunakan 2 jenis pelarut sebagai fase gerak, yaitu etil asetat dan n-heksan (4:1). Metabolit sekunder yang terkandung di dalam ekstrak etil asetat campuran teh hijau dan teh hitam dapat dideteksi secara kualitatif dengan menggunakan sinar UV (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2010). Bercak noda yang terbentuk oleh deteksi sinar UV akan diidentifikasi berdasarkan perbandingan nilai Rf. Pengujian kromatografi lapis tipis bertujuan untuk memberikan gambaran awal komposisi kandungan kimia berdasarkan pola kromatografi lapis tipis (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000). Pada pola kromatografi lapis tipis ekstrak etil asetat campuran teh hijau dan teh hitam, nilai Rf yang diperoleh yaitu 0,62 cm dan 0,64 cm (gambar 1).



**Gambar 1. Pola KLT Campuran ekstrak etil asetat campuran teh hijau dan teh hitam pada deteksi sinar UV  $\lambda$  366 nm**

Hasil skrining fitokimia, kombinasi ekstrak etil asetat daun teh hitam dan hijau mengandung metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, fenolik, saponin, dan tanin (gambar 2). Indira (2018) menyatakan bahwa ekstrak etil asetat campuran teh hijau dan teh hitam

mengandung senyawa metabolit sekunder, yaitu alkaloid, tanin, flavonoid, dan saponin. Selain itu, penelitian yang dilakukan Ratnengsih (2018) menunjukkan adanya senyawa alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin.



**Gambar 2. Hasil skrining fitokimia ekstrak etil asetat teh hitam dan teh hijau**

Ekstrak campuran teh hijau dan teh hitam dievaluasi melalui parameter spesifik dan parameter nonspesifik. Pengujian karakterisasi pada serbuk simplisia tersebut meliputi uji kadar sari larut air dan kadar sari

larut etanol. Dari hasil karakterisasi, ekstrak etil aetat kombinasi ekstrak memenuhi standar (tabel 1) (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

**Tabel 1. Hasil karakterisasi ekstrak etil asetat kombinasi daun teh hijau dan hitam**

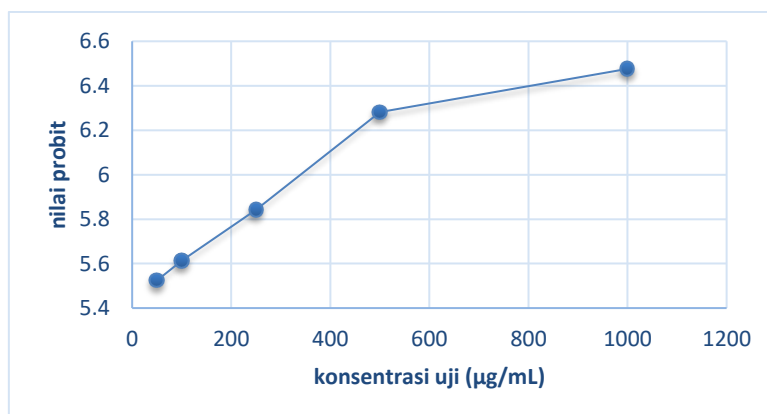
Parameter uji	Hasil (%)
Senyawa larut air	32,9714 $\pm$ 0,0286
Senyawa larut etanol	32,9850 $\pm$ 0,02623
Susut pengeringan	17,1854 $\pm$ 0,00436

Uji sitotoksik campuran ekstrak etil asetat teh hijau dan teh hitam (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) dengan metode BSLT menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach. Pada penelitian ini digunakan *Artemia salina* Leach sebagai hewan uji dikarenakan *Artemia salina* Leach merupakan hewan yang memiliki sensitivitas tinggi, di mana larva udang memiliki membran kulit yang tipis dan memiliki perkembangan sel yang cepat sehingga kematian suatu larva akibat efek sitotoksik dari senyawa bioaktif dianalogikan dengan kematian sebuah sel organisme (Feton & Longo, 2011). *Artemia salina* Leach digunakan untuk uji sitotoksik pada berumur 48 jam, karena berdasarkan morfologinya, *Artemia salina* yang berumur 48 jam sudah mulai mempunyai mulut dan saluran pencernaan, serta lebih sensitif terhadap suatu zat (Fadhli dan Hasanah, 2019).

Dari hasil uji aktivitas sitotoksik dengan metode BSLT, didapatkan nilai  $LC_{50}$  kombinasi ekstrak adalah 13,75  $\mu\text{g/mL}$ ; kategori toksisitas adalah sangat toksik dengan nilai regresi  $y = 0,7762x + 4,1162$ . Pemberian konsentrasi uji dengan berbagai variasi konsentrasi memengaruhi nilai probit (Gambar 3). Peningkatan konsentrasi uji meningkatkan persentase kematian larva udang (tabel 2) setelah pemberian kombinasi ekstrak dengan perbandingan 1:1. Nilai  $LC_{50} < 30 \mu\text{g/mL}$  berada dalam kategori sangat toksik. Menurut (Meyer *et al.*, 1982), pada metode BSLT suatu ekstrak dikatakan aktif apabila dapat menyebabkan kematian 50 % hewan uji pada konsentrasi  $< 1000 \mu\text{L}$ , oleh karena itu dapat disimpulkan bahwa campuran ekstrak etil asetat teh hijau dan teh hitam memiliki aktivitas sitotoksik terhadap *Artemia salina* Leach.

**Tabel 2. Hasil uji aktivitas sitotoksik dengan metode BSLT**

Konsentrasi uji ( $\mu\text{g/mL}$ )	Kematian larva udang (%)	Nilai probit
1000	93,3	6,476
500	90	6,282
250	80	5,842
100	73,3	5,613
50	70	5,524



**Gambar 3. Hubungan variasi konsentrasi uji dengan peningkatan nilai probit.**



Adanya aktivitas sitotoksik pada campuran ekstrak etil asetat teh hijau dan teh hitam diduga karena ekstrak mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, fenol, tanin dan steroid. Senyawa flavonoid memiliki aktivitas antioksidan yang kuat untuk meredam efek radikal bebas yang dapat menyebabkan berbagai dampak, salah satunya adalah kerusakan sel atau jaringan yang dapat memicu timbulnya penyakit kanker (Wayan *et al.*, 2018).

Peranan antioksidan dalam mencegah kanker ditunjukkan melalui kemampuannya menghambat oksidasi dan tahap inisiasi guna mencegah aktivasi karsinogen serta menghambat tahap promosi dan progresi dengan cara menekan proliferasi sel (Wayan *et al.*, 2018). Fenol mempunyai sifat antioksidan yang kuat dan dapat mencegah stress oksidatif pemicu terjadinya kanker (Dai & Mumper, 2010). Senyawa tanin dapat menghambat pertumbuhan tumor (Mabrurroh, 2015). Selanjutnya, senyawa alkaloid yang berasal dari tanaman memiliki mekanisme sitotoksik, yaitu berperan sebagai inhibitor tubulin.

Pada proses siklus, sel alkaloid berikatan dengan tubulin, yaitu suatu protein yang menyusun mikrotubulus. Terikatnya tubulin pada alkaloid mengakibatkan polimerisasi protein menjadi mikrotubulus terhambat, sehingga pembentukan spindel mitotik terhambat pula dan siklus sel terhenti pada metafase. Karena tidak dapat melakukan pembelahan sel, sel tersebut kemudian akan mengalami apoptosis (Bertomi, 2011).

## KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak etil asetat kombinasi teh hijau dan hitam berpotensi memiliki aktivitas sitotoksik. Kandungan senyawa kimia yang terdapat pada campuran ekstrak etil asetat teh hijau dan teh hitam yaitu alkaloid, saponin, flavonoid, fenol, tanin, dan terpenoid. Campuran ekstrak etil asetat teh hijau dan teh hitam memiliki aktivitas sitotoksik dengan

menggunakan metode kematian larva udang. Nilai LC<sub>50</sub> campuran ekstrak etil asetat teh hijau dan teh hitam adalah 13,7566 µg/mL (sangat toksik).

## DAFTAR RUJUKAN

- Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. (2012). Acuan Sediaan Herbal (Volume 7). Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- Bakhtra, D.D.A, Yanwirasti, Wahyuni, F.S., Handayani,D., Aminah, I. (2022). Antimicrobial and Cytotoxic Activities Screening of Marine Invertebrate-Derived Fungi Extract from West Sumatera, Indonesia. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 10(A):1427-1432.
- Banu, S. K., & Cathrine, L. Dr. (2015). General Techniques Involved in Phytochemical Analysis. *International Journal of Advanced Research in Chemical Science*. 2(1), 25-32.
- Bertomi, R, P. (2011). Uji toksisitas akut ekstrak kulit batang pulasari (*Alyxiae cortex*) dengan metode brine shrimp lethality test (BSLT). (Skripsi). Yogyakarta: Universitas Sanata Dharma.
- Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Journal Molecules*, (15), 7313-7352.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995). *Farmakope Indonesia*.(Edisi IV). Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2000). *Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat*. (Edisi I). Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2008). *Farmakope Herbal Indonesia Edisi I*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Fahdli, H., & Hasanah, S. U. (2019). Uji Sitotoksik Ekstrak Kulit Batang Tumbuhan Kangkang Katup (*Bauhinia semibifida Roxb*) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Scientia*



- Jurnal Farmasi dan Kesehatan, 9(2), 141-145.0
- Fenton, R.G., & Longo, D.L. (2011). *Cancer Cell Biology & Angiogenesis*. Harrison's principles of internal medicine (18th ed). New York: McGraw-Hill Medical Publishing Division.
- Indira, P. F. D. (2018). Pengaruh ekstrak etanol daun teh hitam (*Camellia sinensis*) dalam menghambat migrasi sel kanker kolon (WiDr) secara in vitro. (Skripsi) Yogyakarta: Universitas Muhammadiyah.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2010). *Suplemen I Farmakope herbal Indonesia*. (Edisi I). Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kumari, A., Kumar, D. (2022). Evaluation of antioxidant and cytotoxic activity of herbal teas from Western Himalayan region: a comparison with green tea (*Camellia sinensis*) and black tea. *Chem. Biol. Technol. Agric*, 9(33): 1-20. <https://doi.org/10.1186/s40538-022-00294-3>
- Mabruroh, A. I. (2015). Uji aktivitas antioksidan ekstrak tanin dari daun rumput bambu (*Lopatherum gracile Brongn.*) dan identifikasinya. (Skripsi). Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Meyer, B.N., Ferrigni, N.R., Putnam, J.E., Jacobsen, L.B., Nichols, D.E., McLaughlin, J.L. 1898. *Journal of Medicinal Plant Research*, 45: 31-34.
- Rahmanisa, S & Wulandari, R. (2016). Pengaruh Ekstrak Teh Hijau terhadap Penurunan Berat Badan pada Remaja. *Majority*, 5(2): 106-11.
- Ratnengsih, E. (2018). Uji Toksisitas Akut Seduhan Dan Hasil Fraksi Teh Hitam (*Camellia sinensis* L.) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). (skripsi) Bandung, Universitas al-ghifari.
- Ronimara A. Santos, R.A., Andrade, E.D.S., Monteiro, M., Fialho, E., Silva, J.L., Daleprane, J.B., Ferraz da Costa, D.C. (2021). Green Tea (*Camellia sinensis*) Extract Induces p53-Mediated Cytotoxicity and Inhibits Migration of Breast Cancer Cells. *Foods*, 10 (3154): 1-15.
- Santos, R.A., Andrade, E.D.S., Monteiro, M., Fialho, E., Silva J.L., Daleprane J.B., Ferraz da Costa, D.C. (2021). Green Tea (*Camellia sinensis*) Extract Induces p53-Mediated Cytotoxicity and Inhibits Migration of Breast Cancer Cells. *Foods*, 10(3154).
- Simangunsong, G.D (2018). Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Teh Hijau (*Camellia sinensis* L.) Terhadap *Artemia Salina* Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). (skripsi) Yogyakarta: Universitas Muhammadiyah.
- Wayan, P. E. P., Puspawati, N. M., & Parwata, I. M. O. A. (2018). Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid pada Ekstrak n-Butanol Daun Cendana dan Potensinya Sebagai agen antikanker dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test. *Cakra Kimia Indonesia E-Journal of Applied Chemistry*, 6(1), 46-55.
- Wibowo, A., & Ramadian, D. (2010). Model Simulasi Kinerja Produksi Teh Untuk Minimisasi Work-In-Process. *Jurnal Optimasi Sistem Industri*, Vol. 9 No. 1, April 2010:7-12