

Toksisitas Fraksi Daun Boboan (*Cleome rutidosperma* D.C) terhadap Larva Udang *Artemia salina*

Toxicity of Boboan (Cleome rutidosperma D.C) Fraction to Brine Shrimp Artemia salina

Dwi Wahyuni Leboe¹, Muh.Fitrah¹, Jumasni²

¹Program Study Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar
Jl. HM Yasin Limpo No. 36 Samata Kab. Gowa

²Mahasiswa Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar
Jl. HM Yasin Limpo No. 36 Samata Kab. Gowa

Kontak sur-el: dwiwahyunileboe@gmail.com

ABSTRAK

Boboan (*Cleome rutidospermae* D.C) adalah tanaman yang umum dibudidayakan karena keberadaannya di alam liar. Beberapa orang menggunakannya sebagai obat herbal untuk mengobati bengkak, rasa sakit, atau kemerahan di mata. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan toksisitas terhadap larva udang *Artemia salina* dan identifikasi golongan senyawa dari fraksi aktif daun boboan. Sampel diekstraksi secara bertingkat menggunakan n-heksana, etil asetat, etanol 96% dan air dengan metode maserasi dan refluks Ekstrak kemudian diuji toksisitasnya dan etanol 96% memiliki toksisitas yang lebih tinggi. Nilai LC₅₀ ekstrak etanol 96% adalah 13.489 µg/ml. Ekstrak etanol 96% kemudian difraksinasi dengan kromatografi kolom dan diperoleh mendapatkan 7 fraksi. Setiap fraksi diuji toksisitas. Fraksi F₁ yang memiliki toksisitas paling besar dengan nilai LC₅₀ 13,182 ug / ml. Hasil identifikasi fraksi FI menunjukkan adanya golongan senyawa steroid, flavonoid, fenolik dan senyawa organik.

Kata kunci: Uji *Brine Shrimp Letality* (BSLT), daun Boboan (*Cleome rutidospermae* D.C).

ABSTRACT

Boboan (Cleome rutidospermae D.C) is an officially cultivated plant because of its presence in the wild. Some people use it as an herbal medicine to treat swelling, pain, or redness in the eyes. This research aims to determine toxicity to brine shrimp Artemia salina and identification of the class of compounds from the active fraction of Boboan leaf. The sample was multilevel extraction using n-hexane, ethyl acetate, ethanol 96% and water using maceration and reflux methods. The extract then tested for toxicity and the ethanol 96% extract had a higher toxic level. The LC₅₀ value of ethanol 96% extract is 13,489 µg/ml. The extract then fractionated by column chromatography and had obtained 7 fractions. Each fraction was tested for toxicity. Fraction F₁ had highest toxicity, LC₅₀ value is 13.182 ug/ml. The result of identification of F₁ fraction showed the presence of steroid, flavonoids, and phenolic compounds class.

Keywords : *Brine Shrimp Letality Test (BSLT)*, Boboan leaf (*Cleome rutidospermae* D.C).

PENDAHULUAN

Penyakit kanker merupakan suatu penyakit yang disebabkan oleh pertumbuhan sel-sel jaringan tubuh yang tidak normal, berkembang cepat dan terus membelah diri, hingga menjadi penyakit berat (Maharani, 2009, p. 12). Kanker merupakan penyakit

yang ditandai dengan pembelahan sel tidak terkendali dan kemampuan sel-sel tersebut menyerang jaringan biologis lainnya (Sunaryanti, 2011, p. 12). Salah satu sumber obat kanker adalah dari obat tradisional.

Obat tradisional atau obat-obatan alami telah dikenal oleh masyarakat Indonesia sejak

zaman dahulu. Selain khasiatnya yang telah turun temurun digunakan oleh masyarakat, obat ini lebih murah dan mudah didapat. Namun diperlukan penelitian yang lebih lanjut karena banyaknya tanaman yang belum diketahui kadar toksisitasnya (Hyeronimus, 2008, p. 15). Salah satunya adalah daun Boboan.

Tanaman untuk dapat dijadikan sebagai obat tradisional harus memenuhi standar mutu dari WHO, meliputi standar kualitas, keamanan dan khasiat. Uji toksisitas merupakan salah satu persyaratan suatu tanaman dapat dikembangkan sebagai obat, termasuk sebagai antikanker. Salah satu metode yang digunakan untuk mengetahui toksisitas dari suatu ekstrak atau senyawa bahan alam adalah *Brine Shrimp Lethality Test*. Beberapa kelebihan metode ini adalah mudah, relatif murah, tidak membutuhkan kompetensi tertentu dalam pelaksanaannya dan memiliki hasil dengan tingkat kepercayaan tinggi. Dengan alasan-alasan tersebut, maka uji ini sangat tepat digunakan dalam penelitian bahan alam Toksisitas diketahui dari jumlah kematian larva *Artemia salina* karena pengaruh ekstrak atau senyawa bahan alam pada konsentrasi yang diberikan. Ekstrak atau senyawa bahan alam yang diketahui memiliki aktivitas toksik melalui metode BSLT (nilai $LC_{50} < 1000$ ppm) dapat dikembangkan lebih lanjut sebagai obat antikanker (Meyer, 1982., p. 112).

Uji Toksisitas merupakan metode uji yang digunakan untuk mengetahui tingkat toksik

dari suatu senyawa yang ditentukan dalam waktu singkat setelah pemberian suatu sediaan. Uji toksisitas dengan metode BSLT ini memiliki spektrum aktifitas farmakologi yang luas (Krishnarajua, et al., 2005).

Secara empiris, tanaman Boboan memiliki beberapa manfaat yang digunakan masyarakat dan berpotensi dalam menyembuhkan beberapa penyakit. Daun Boboan yang dikenal telah dapat mengatasi penyakit Antidiare, obat mata, dan anti inflamasi.

Metode *brine shrimp lethality test* merupakan salah satu metode bioassay yang dipertimbangkan sebagai uji pendahuluan toksisitas atau untuk uji praskrining terhadap senyawa-senyawa yang diduga berkhasiat sebagai antitumor. Uji ini mempunyai korelasi positif dengan potensinya sebagai anti kanker (Sukardiman & Pratiwi, 2004).

METODE PENELITIAN

Sampel

Tanaman dideterminasi oleh Divisi Botani di Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Negeri Makassar. Bagian tanaman yang digunakan adalah daun. Sampel dikeringkan dalam lemari pengering, kemudian diserbukkan hingga diperoleh simplisia.

Ekstraksi

Simplisia diekstraksi sebanyak 600 g dengan pelarut n-heksan, etil asetat, etanol 96% dan air. Metode ekstraksi yang digunakan untuk n-heksan, etil asetat, etanol

96% adalah maserasi bertingkat yang menggunakan 3 pelarut dilakukan pada suhu ruang selama 24 jam dengan sesekali diaduk. Sampel kemudian diekstraksi lagi menggunakan air dengan metode refluks

Uji Toksisitas dengan Metode BSLT

Penyiapan larva Udang

Langkah awal dalam penyiapan larva udang yaitu dengan menetas kista. Kista *Artemia salina* direndam dalam aquades (± 1 jam), lalu ditiriskan. Kemudian kista ditetaskan dalam wadah kerucut dilengkapi dengan aerator dan lampu penerangan selama 24 jam. Setelah larva menetas kemudian dipindahkan ke wadah 2 bilik (gelap-terang) dengan sekat berlubang-lubang yang berisi air laut. Bilik penetasan diberi kondisi gelap sedangkan bilik satunya dilengkapi dengan lampu sebagai sumber cahaya dan diberi aerator yang berfungsi sebagai oksigen dan menjaga agar kista tidak mengendap. Larva yang baik akan berenang menuju ruang yang terang karena bersifat fototropik. Larva udang akan siap untuk digunakan dalam pengujian setelah berumur 48 jam.

Pembuatan Konsentrasi Sampel dan Kontrol

Ekstrak dari daun boboan (ekstrak n-heksan, etil asetat, etanol 90% dan ekstrak air) ditimbang masing-masing sebanyak 30 mg. Kemudian ekstrak tersebut dilarutkan dalam pelarut sesuai dengan jenis ekstrak sebanyak 3 ml sehingga diperoleh konsentrasi 10000 $\mu\text{g/ml}$ sebagai larutan stok. Untuk membuat konsentrasi 10 $\mu\text{g/ml}$, 100 $\mu\text{g/ml}$

dan 1000 $\mu\text{g/ml}$, maka dari larutan stok tersebut dipipet ke dalam vial masing-masing 5 μl , 50 μl , dan 500 μl menggunakan mikropipet, kemudian diuapkan dengan cara diangin-anginkan hingga pelarutnya menguap. Pembuatan kontrol pelarut dilakukan dengan memasukkan pelarut n-heksan, etil asetat, etanol 96% dan air ke dalam vial berbeda dengan volume masing-masing 5 ml, kemudian diuapkan.

Pelaksanaan uji

Larva udang disiapkan ke dalam vial-vial masing-masing sebanyak sepuluh ekor *Artemia salina* umur 48 jam yang sehat (bergerak aktif) dipilih secara acak, kemudian ditambahkan air laut sampai 5 ml. Satu tetes suspensi ragi *Saccharomyces cerevicease* (3 mg/10 ml air laut) ditambahkan ke dalamnya sebagai makanan *Artemia salina*. Vial diletakkan di bawah lampu penerangan selama 24 jam. Setelah 24 jam jumlah larva yang hidup dihitung dengan bantuan kaca pembesar. Persen kematian larva dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{ kematian larva} = \frac{LM - LK}{LT} \times 100\%$$

dimana LM= jumlah larva yang mati, LK = jumlah larva kontrol, LT = jumlah total larva uji

Analisis dan Pengolahan Data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan dianalisis dengan menggunakan analisis probit. Toksisitas dihitung sebagai LC_{50} dalam unit $\mu\text{g/ml}$ yang diperoleh dari kurva persen kematian larva (sumbu y) terhadap konsentrasi (sumbu x).

Kromatografi Lapis Tipis

Ekstrak teraktif dari sampel ditotolkan pada lempeng bagian batas bawahnya. Lempeng dielusi dengan eluen dalam chamber, sampai cairan pengelusi mengelusi lempeng sampai batas atas. Lempeng dikeluarkan dikeringkan. Lempeng yang telah dielusi diamati penampakan noda yang terbentuk dibawah sinar lampu UV 254 nm dan 366 nm.

Fraksinasi

Ekstrak etanol 96% ditimbang sebanyak 11 gram, kemudian difraksinasi dengan menggunakan kromatografi kolom. Proses fraksinasi dilakukan dengan metode Kromatografi Kolom (KK) dengan fase gerak gradien kepolaran yang semakin meningkat yaitu berturut-turut Heksan : Etil [(9:1), (7:1), (6:1), (5:1), (3:1), (2:1), (1:1)]. Hasil fraksinasi kemudian diujikan ke larva udang.

Identifikasi Golongan Senyawa

Alkaloid

Pereaksi yang digunakan yaitu Dragendorf, jika sampel positif mengandung alkaloid, maka timbul warna jingga dengan latar belakang kuning.

Steroid

Pereaksi yang digunakan Liebermann-Burchard atau pereaksi Salkowski. Kromatogram terlebih dahulu dipanaskan, kemudian diamati di lampu UV 366 nm, munculnya noda berfluoresensi coklat atau biru menunjukkan adanya triterpen,

sedangkan munculnya warna hijau kebiruan menunjukkan adanya steroid.

Flavanoid

Pereaksi yang digunakan yaitu Aluminium Klorida diamati di lampu UV 366 nm, jika sampel mengandung senyawa flavanoid maka noda akan berfluoresensi kuning.

Fenolik

Pereaksi yang digunakan Besi (III) Klorida, jika sampel positif mengandung fenol akan dihasilkan warna hijau atau biru.

Kumarin

Pereaksi yang digunakan KOH etanolik, jika sampel positif mengandung senyawa kumarin akan dihasilkan warna merah terang.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen paling diperoleh jika diekstraksi dengan air. Tabel 1 menunjukkan rendemen hasil ekstraksi daun boboan yang diperoleh masing-masing yaitu ekstrak n-heksan sebanyak 7,05 gram, ekstrak etil asetat sebanyak 7,9 gram, ekstrak etano 96% sebanyak 38,4 gram, dan ekstrak air sebanyak 39,7 gram.

Masing-masing ekstrak yang telah diperoleh diuji efek toksiknya terhadap *Artemia salina*. Daya toksisitas suatu senyawa dapat diketahui dengan menghitung jumlah kematian larva udang dengan parameter *Lethal Concentration 50 percent* (LC₅₀). Suatu sampel dianggap memiliki potensi toksisitas terhadap larva udang apabila mempunyai LC₅₀ <1000 µg/ml

Tabel 1. Hasil ekstraksi daun boboan.

Sampel	Berat sampel (gram)	Pelarut	Berat ekstrak (gram)	Rendamen %
Daun Boboan	600	Heksan	7,1	1,18
		Etil Asetat	7,9	1,31
		Etanol 96%	38,4	6,40
		Air	39,7	6,61

Table 2. Hasil uji toksisitas ekstrak daun boboan dengan menggunakan metode *Brine shrimp lethality test* (BSLT)

Ekstrak	LC ₅₀ (µg/ml)	Persamaan Regresi	R ²
Heksan	19.952	$y = 0,38x + 3.363$	0,989
Etil Asetat	53.703	$y = 0,205x + 4.03$	0,957
Etanol 96%	13,49	$y = 0,305x + 4.653$	0,947
Air	218,77	$y = 0,735x + 3.277$	0,992

(Kalauw, Ilang, Kartika, Rachman, & Simanjuntak, 2016).

Ekstrak etanol 96% dan ekstrak air memiliki aktivitas yang toksik terhadap larva udang *Artemia salina* karena memiliki nilai LC₅₀<1000 µg/ml, sedangkan ekstrak n-heksan dan ekstrak etil asetat tidak memiliki aktivitas toksik terhadap larva udang, karena hasil kedua ekstrak ini memiliki nilai LC₅₀>1000 µg/ml. Ekstrak yang memiliki toksisitas yang paling tinggi yaitu ekstrak etanol 96% karena semakin kecil nilai LC₅₀ berarti semakin toksik terhadap larva udang *Artemia salina*. Data toksisitas ekstrak tersaji dalam tabel 2.

Hasil identifikasi KLT (lihat tabel 3.) ekstrak etanol 96% pada daun boboan, dengan eluen heksan : etil (9:1) pada penampakan noda UV₂₅₄ nm diperoleh 3 noda dengan nilai Rf-nya yaitu 0,09; 0,18; dan 0,27; sedangkan pada UV₃₆₆ nm di peroleh 4 noda dengan nilai Rf-nya yaitu 0,09; 0,18; 0,27; dan 0,45. Noda pada UV₂₅₄ adalah noda yang sama dengan noda pada UV₃₆₆ karena

kesamaan nilai Rf, kecuali penambahan noda ke-4.

Ekstrak etanol 96% daun Boboan kemudian difraksinasi dengan menggunakan metode kromatografi kolom (KK). Ekstrak etanol 96% difraksinasi sebanyak 11 gram. Prinsip kerja kromatografi kolom berdasarkan perbedaan daya serap dan kelarutan dari masing-masing komponen campuran yang akan diuji terhadap fase gerak dan fase diam. Ekstrak Etanol 96% dilarutkan dengan sedikit pelarut lalu dimasukkan ke kolom dan dibiarkan mengalir bersama fase gerak. Senyawa yang lebih polar akan terserap lebih kuat oleh fase diam sehingga turun lebih lambat dari senyawa non polar yang terserap lebih lemah dan turun lebih cepat (Sastrohamidjojo, 2004). Metode ini dipakai karena hasil fraksinasi yang diperoleh sangat baik, sebab elusi terjadi secara wajar tanpa ada tekanan dari alat lain serta waktu kontak yang lama. Metode ini dilakukan menggunakan fase diam silica gel 60 PF₂₅₄ dan fase gerak dengan gradient kepolaran

Tabel 3. Hasil identifikasi KLT ekstrak etanol daun Boboan

Ekstrak	UV 254 nm		UV 366 nm		Eluen
	Noda	Rf (cm)	Noda	Rf (cm)	
Etanol 96%	1	0,09	1	0,09	Heksan : Etil (9 : 1)
	2	0,18	2	0,18	
	3	0,27	3	0,27	
			4	0,45	

Tabel 4. Hasil uji toksisitas fraksi daun boboan dengan menggunakan metode *Brine shrimp lethality test*

Fraksi	LC ₅₀ (µg/ml)	Persamaan Regresi	R ²
F ₁	13,18	y = 0,125x + 4,86	0,959
F ₂	74,13	y = 0,765x + 3,13	0,869
F ₃	173,78	y = 0,25x + 4,44	0,853
F ₄	102,32	y = 0,895x + 3,2	0,993
F ₅	154,88	y = 0,74x + 3,37	0,895
F ₆	104,71	y = 0,385x + 4,22	0,961
F ₇	117,49	y = 0,635x + 3,68	0,859

yang semakin meningkat yaitu berturut-turut heksan : etil asetat (9:1), (7:1), (6:1), (5:1), (3:1), (2:1), (1:1). Etil asetat dan Etanol. Hasil fraksinasi tersebut selanjutnya dianalisis menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT). Hal ini dilakukan dengan tujuan pengelompokan lebih lanjut terhadap fraksi-fraksi yang diperoleh berdasarkan kesamaan profil kandungan kimia dari bercak KLT yang terbaik.

Hasil fraksi dari ekstrak daun boboan diperoleh sebanyak 345 fraksi yang kemudian di KLT dengan fase gerak heksan : etil (2 : 1), sehingga pada Kromatogram fraksi yang memiliki bercak warna yang sama digabungkan sehingga diperoleh 7 gabungan fraksi. Skrining toksisitas dari masing-masing gabungan fraksi kemudian dilakukan untuk mendapatkan fraksi teraktif.

Seluruh fraksi memiliki toksisitas dengan nilai LC₅₀ dibawah 200 (lihat tabel 4). Fraksi F1 memiliki efek toksik yang paling besar di

antara 6 fraksi lainnya karena memiliki nilai LC₅₀ paling kecil. Semakin kecil nilai LC₅₀ maka semakin toksik terhadap larva udang *Artemia salina*.

Fraksi F1 dilakukan identifikasi senyawa kimia dengan cara ditotolkan pada lempeng KLT kemudian dielusi dengan eluen Heksan : etil asetat (2 : 1). Kromatogramnya disemprot dengan menggunakan pereaksi penampak noda dragendorff untuk golongan alkaloid atau komponen kimia yang mengandung senyawa nitrogen, FeCl₃ 5% untuk senyawa golongan fenolik, pereaksi Lieberman-Bouchard untuk golongan senyawa terpenoid seperti triterpen dan sterol, pereaksi AlCl₃ 5% untuk senyawa golongan flavonoid dan KOH etanolik untuk senyawa kumarin.

Fraksi F1 mengandung senyawa golongan flavonoid, steroid dan fenolik (lihat tabel 5). Pada uji menggunakan pereaksi Dragendorff hasilnya negatif karena tidak terdapat noda berwarna jingga dengan latar kuning,

Tabel 5. Hasil identifikasi golongan senyawa kimia daun boboan

Pereaksi	Fraksi F7	Hasil ^{117,}
	Golongan senyawa	
Dragendorf	Alkaloid	-
AlCl ₃	Flavonoid	+
LB	Steroid	+
KOH	Khumarin	-
FeCl ₃	Fenolik	+

sedangkan pereaksi Liebermann-Burchard memberikan hasil positif dengan adanya noda berwarna hijau kebiruan menunjukkan adanya komponen kimia golongan steroid. Pada uji menggunakan pereaksi FeCl₃ 5% hasilnya positif dengan adanya noda berwarna hitam dan memberikan hasil positif terhadap pereaksi AlCl₃ dengan adanya noda berwarna kuning yang menunjukkan adanya senyawa golongan flavonoid. Pada uji menggunakan pereaksi KOH hasilnya negatif karena noda tidak berwarna merah.

PENUTUP

Ekstrak daun boboan memiliki nilai LC₅₀ lebih tinggi yaitu 13.489 µg/ml, dibandingkan dengan nilai LC₅₀ hasil fraksinasi yaitu 13.182 µg/ml. Adapun senyawa kimia yang terkandung dalam daun boboan yaitu steroid, flavanoid, dan fenolik.

REFERENSI

- Hyeronimus, S. (2008). *Ragam dan Khasiat Tanaman Obat* (1 ed.). Jakarta: Agro Media.
- Kalauw, S. L., Ilang, Y., Kartika, R., Rachman, F., & Simanjuntak, P. (2016). Uji BSLT dan Antioksidan Ekstrak N-Butanol dan Air pada Ranting Tanaman Sirih Hutan (*Piper aduncum* L.). *Seminar Nasional Kimia 2014*.
- Krishnarajua, A. V., Rao, T. V., Sundararajua, D., Vanisree, M., Tsay, H.-S., & Subbaraju, G. V. (2005). Assessment of Bioactivity of Indian Medicinal Plants Using Brine Shrimp (*Artemia salina*) Lethality Assay. *International Journal of Applied Science and Engineering*, 3(2), 125-134.
- Maharani, S. (2009). *Kanker: mengenal 13 jenis kanker dan pengobatannya*. Yogyakarta: Katahati.
- Meyer, H. (1982.). *Brine Shrimp Lethality Test. Plant Research*. (Vol. 45). Amsterdam: Hipokrates Verlag.
- Sastrohamidjojo, H. (2004). *Teknik Pemisahan Kromatografi*. Yogyakarta: UGM Press.
- Sukardiman, A. R., & Pratiwi, N. F. (2004). Uji Praskrining Aktivitas Antikanker Ekstrak Eter dan Ekstrak Metanol *Marchantia cf. planiloba* Steph. Dengan Metode Uji Kematian Larva Ugang dan Profil Densitometri Ekstrak Aktif. *Majalah Farmasi Airlangga*, 4(3), 97-100.
- Sunaryanti, S. (2011). *Penyakit paling sering menyerang dan mematikan (anti kanker)*. Yogyakarta. : Flasbook.