

Toksisitas Fraksi Sari n-Heksan Daun Kopasanda (*Chromolaena odorata* (L.) R.M King & H.Rob) terhadap Larva Udang dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test)

Ayu Yolanda Ginting, Sumardi, Vierza Mierza
Farmasi, Universitas Tjut Nyak Dhien, Medan
Corresponding author: mardisaad@gmail.com)

Received: 1 September 2020; Revised: 5 Oktober 2020; Accepted: 26 Desember 2020
DOI: 10.52622/jisk.v1i1.6

Abstract

Kopasanda leaf plants (*Chromolaena odorata* (L.) R.M.King & H.Rob) are plants commonly used as medicinal ingredients empirically. The people of East Aceh use it as a wound medicine. Preliminary tests show that the extract and its partitions have a toxic effect on shrimp larvae. In this study, the soluble extract of n-hexane was fractionated using column chromatography with isocratic mobile phase n-hexane: ethyl acetate (7: 3) and silica gel stationary phase. Analysis of the chemical content profile using thin layer chromatography showed that there were polyphenol organic compounds. The fraction 7 obtained shows that it is toxic to shrimp larvae of *Artemia salina* Leach.

Keywords: *Kopasanda (Chromolaena odorata), fraksi n-heksan, polyphenol, toxicity*

Abstrak

Tanaman daun Kopasanda (*Chromolaena odorata* (L.) R.M.King & H.Rob) merupakan tumbuhan yang biasa digunakan sebagai bahan obat secara empiris. Masyarakat Aceh Timur menggunakan sebagai obat luka. Uji pendahuluan menunjukkan bahwa ekstrak dan partisinya memiliki efek toksik terhadap larva udang. Pada penelitian ini sari bagian larut n-heksan dilakukan fraksinasi dengan menggunakan kromatografi kolom dengan fase gerak isokratis n-heksan:etil asetat (7:3) dan fase diam silika gel. Analisis profil kandungan kimia dengan menggunakan kromatografi lapis tipis menunjukkan terdapat kandungan senyawa organik polifenol. Fraksi 7 yang diperoleh menunjukkan bersifat toksik terhadap larva udang *Artemia salina* Leach.

Kata kunci: *Kopasanda (Chromolaena odorata), fraksi n-heksan, polifenol, toksisitas*

PENDAHULUAN

Bahan alam merupakan sumber rujukan utama bahan obat yang tersedia melimpah, perlu pengembangan dan pengolahan yang serius. Indonesia kaya dengan bahan alam sebagai obat tradisional yang merupakan warisan turun-temurun nenek moyang. Akan tetapi dari sejumlah tanaman yang digunakan sebagai obat belum banyak yang diteliti secara ilmiah, baik mengenai komponen aktif maupun mekanisme kerja obat. Oleh karena itu, perlu penelitian dan pengembangan bahan alam yang dapat digunakan sebagai obat untuk menunjang peningkatan pelayanan kesehatan masyarakat.

Herba Kopasanda (Maros) di Sunda disebut Kirinyuh (Rusli, Kosman, and Melinda 2020), di Jawa dikenal dengan nama Tekelan, di Makassar terkenal dengan sebutan Botto-botto, Laruna atau Gondrong-Gondrong (Mukhriani et al. 2017), dan di Aceh diketahui oleh masyarakat dengan nama Sikhoh-khoh, Seurapok atau Serunei (Absa 2017), di Sumatera Utara dikenal dengan Lenga-Lenga (Andika, Halimatussakdiah, and Amna 2020) merupakan salah satu kekayaan alam yang tumbuh di Indonesia. Herba Kopasanda (*Chromolaena odorata* (L.) R.M. King & H. Rob) berwarna hijau tua, diremas memberikan bau menyengat, daun memiliki permukaan yang berbulu halus dan rapat, bentuk tepi daun bergerigi, bentuk ujung runcing dimana kedua daun kanan dan kiri menuju ke atas dan membentuk sudut lancip. Herba Kopasanda (*Chromolaena odorata* (L.) R.M.king & H.Rob) merupakan salah satu famili *Asteraceae*.

Daun herba Kopasanda digunakan sebagai obat dalam penyembuhan luka (Yenti, Afrianti, and Afriani 2011), obat kumur sakit tenggorokan, obat batuk, obat malaria (Absa 2017), antidiare, antimikroba (Rusli, Kosman, and Melinda 2020), sakit kepala, antihipertensi (Ikewuchi et al. 2012), antiinflamasi (Ifora, Arifin, and Silvia 2017), antioksidan (Saputra, Gani, and Erlidawati 2017), dan diuretik (Ngozi, Jude, and Catherine 2009). Daun herba Kompasanda mengandung beberapa senyawa utama seperti fenol, flavanoid, alkaloid, glikosida, tanin, saponin (Inya-Agha et al. 1987).

Fraksinasi sebagai metode pemisahan komponen ekstrak menjadi kelompok senyawa yang memiliki kemiripan karakteristik kimia. Fraksinasi berjalan dengan baik jika menggunakan pelarut yang tepat, sesuai untuk senyawa-senyawa yang akan pisahkan. Kromatografi kolom dan kromatografi lapis tipis merupakan metode fraksinasi yang umum. Kromatografi kolom merupakan metode kromatografi yang terbaik untuk pemisahan campuran. Fraksinasi dengan kromatografi kolom dilakukan dengan cara menuangkan suspensi fase diam dalam pelarut sesuai dan dibiarkan termampatkan di dalam kolom. Pelarut mengelusi komponen campuran sesuai kepolaran senyawa terhadap pelarut karena gaya berat atau dengan tekanan melewati kolom (Day and Underwood 2002).

Brine Shrimp Lethality Test, BSLT salah satu metode *bioassay* yang digunakan untuk uji toksisitas pendahuluan dari racun jamur, ekstrak tanaman, logam berat, pestisida dan lain-lain. BSLT sering digunakan untuk skrining senyawa aktif dalam ekstrak tanaman, karena murah, mudah dan dapat dipercaya. *Artemia salina* Leach merupakan hewan uji *brine shrimp*, sejenis udang-udangan yang hidup sebagai zooplankton digunakan dalam pengujian toksisitas suatu bahan uji yang dapat mrmberi informasi awal dalam pengembangan pengujian obat antikanker (Ajrina 2013).

Hasil penelitian toksisitas yang telah dilakukan terhadap mencit (*Mus musculus*) didapatkan nilai LD50 dari ekstrak etanol daun Kopasanda termasuk dalam kategori toksik ringan (Jumain, Syahrini, and Farid 2018) juga telah melakukan uji toksisitas ekstrak metanol, n-heksan dan etil asetat terhadap *Artemia salina* Leach menunjukkan bahwa ketiga ekstrak tersebut toksit dan berpotensi sebagai antikanker (Mukhriani et al. 2017) Oleh karena itu, penelitian dilakukan dengan fraksinasi sari n-heksan dalam fase gerak n-heksan : etil asetat.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Tjut Nyak Dhien Medan. Metode penelitian yang dilakukan ekperimental tanpa membandingkan sampel yang tumbuh di tempat lain. Tumbuhan yang digunakan masih segar dan diperoleh dari Daerah Langsa Kabupaten Aceh Timur.

Penyiapan sampel

Daun Kopasanda segar dikeringkan di oven, dihaluskan dan diekstraksi dengan etanol dan dipartisi oleh pelarut n-heksan, etil asetat. Ekstrak yang larut dalam n-heksan dilanjutkan pemisahan dengan menggunakan kromatografi kolom dan fase gerak n-heksan : etil asetat.

Fraksinasi

Ekstrak yang larut dalam n-heksan dimasukkan dalam kolom yang telah dikemas sebelumnya dengan fase diam silika gel GF254 60 dengan ukuran partikel 0,063 - 0,200 mm dan fase gerak isokratis n-heksan : etil asetat (7:3). Fraksi yang diperoleh diperiksa profil kandungan kimia dengan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT). Pola noda yang sama digabung dalam satu kelompok fraksi. Analisis senyawa kimia sari n-heksana dengan KLT. Analisis KLT terhadap fraksi n-heksana daun Kopasanda dilakukan dengan menggunakan fase diam plat lapis tipis silika GF24 dengan fase gerak n-heksana : etil asetat (7:3). Penampakan noda digunakan adalah Asam Sulfat 50% dalam Metanol.

Uji Toksisitas

Penelitian ini menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach sebagai hewan uji. Larva udang yang digunakan dalam metode ini karena hewan ini memiliki kepekaan yang cukup tinggi terhadap zat toksik (Mutia 2010). Penetasan telur *Artemia salina* Leach menggunakan wadah penetasan yang dipisahmenjadi dua bagian, yaitu daerah gelap dan terang. Daerah gelap merupakan tempat penetasan. Telur udang *Artemia salina* Leach ditetaskan dengan menggunakan air laut sekitar 2 ml. Kemudian diinkubasi selama 48 jam (Olowa and Nuñez 2013).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemisahan sari n-heksana daun kopasanda dengan kromatografi kolom. Hasil pemisahan sari n-heksana daun kopasanda dengan kromatografi kolom menggunakan fase gerak n-heksana : etil asetat (7:3), fase diam silika gel GF254 60 dengan ukuran partikel 0,063-0,200 mm diperoleh 280 vial yang ditampung masing-masing sebanyak 5 ml. Lalu dilakukan analisis senyawa kimia secara kromatografi

lapis tipis (KLT) dengan fase gerak n-heksana : etil asetat (7:3) menggunakan penampak noda asam sulfat 50% dalam metanol. Jumlah dan pola noda yang sama dikelompokkan dalam satu fraksi dapat dilihat pada Tabel 1. Variasi noda dan harga Rf dapat dilihat pada Tabel 2.

Fraksi 7 dipilih dalam analisis kandungan kimia dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis. Metode ini dipilih karena diperlukan alat yang sederhana, namun dapat memberikan informasi keberadaan senyawa kimia dalam fraksi tersebut melalui noda yang muncul baik sebelum maupun setelah menggunakan reagen penanda. Fraksi ini dipilih karena diperoleh jumlah yang banyak dibanding fraksi yang lain.

Hasil KLT ekstrak n-heksana dengan fase gerak n-heksana : etil asetat (7:3) menggunakan penampak noda. Asam Sulfat 50% dalam metanol memberikan 3 noda yang menunjukkan adanya golongan senyawa polifenol. Ekstrak daun kopasanda dan partisinya dengan konsentrasi 1000, 500, 200, 100, dan 10 ppm tergolong dalam rendah toksik. Kandungan metabolit sekunder flavonoid, saponin, triterpenoid (Sumardi et al. 2018).

Kandungan kimia yang diperoleh dari ekstrak n-heksan ada 3 noda dengan nilai Rf 0,16; 0,78 dan 0,87. Informasi noda tersebut masih perlu ditindaklanjuti untuk memisahkan kandungan senyawa kimia yang mungkin terdapat di dalamnya, karena tidak tertutup kemungkinan penggabungan beberapa senyawa kimia memiliki kepolaran yang mirip dalam satu noda.

Toksisitas Fraksi n-Heksan

Telur udang ditetaskan di dalam bejana gelap dan tenang. Zona gelap diletakkan telur dan aerator, sedangkan zona terang diletakkan lampu untuk memberi pencahayaan dalam penetasan serta memisahkan antara kista. Bejana diisi sekitar 50 - 100 mg telur udang yang akan ditetaskan, selanjutnya bejana dibagi menjadi 2 bagian zona gelap dan zona terang yang diberi lampu yang dinyalakan selama 48 jam. Kemudian larva dipipet sebanyak 10 ekor pada 1,9 µL air laut. Agar sampel larut ditambahkan DMSO.

Larutan dibiarkan selama 24 jam, kemudian dihitung jumlah 19 larva yang mati dan hidup dari tiap vial kemudian dihitung dengan analisa probit untuk menentukan LC₅₀ (Ningdyah, Alimuddin, and Jayuska 2015). Fraksi 7 yang diperoleh dari proses kromatografi kolom grafiti dibuat larutan dengan konsentrasi tertentu dan dilanjutkan uji toksisitas seperti dalam Tabel 3. Hasil kematian larva pada berbagai konsentrasi daun Kopasanda terlihat memiliki perbedaan dengan control negatif. Metabolit sekunder dapat bekerja sendiri atau dalam kombinasi sehingga menyebabkan toksik atau menyebabkan kematian pada larva. Hasil penelitian ini tidak berbeda dengan yang dilakukan oleh peneliti sebelumnya (Mukhriani et al. 2017; Fitrah, Winarno, and Simanjuntak 2017).

Tabel 1. Hasil KLT Fraksi n-Heksana Daun Kopasanda ngan menggunakan kromatografi kolom grafiti

Fraksi	Urutan Vial	Jumlah Noda
1	Vial 1-30	1
2	Vial 31-60	3
3	Vial 61-70	2
4	Vial 71-100	1
5	Vial 101-139	1
6	Vial 140-179	2
7	Vial 180-190	2
8	Vial 191-200	1
9	Vial 201-260	1
10	Vial 261-269	3
11	Vial 270-280	3

Tabel 2. Warna Noda dan Harga Rf n-Heksana Daun Kopasanda (*Chromolaena odorata*)

Fase Gerak	H ₂ SO ₄ 50% dalam metanol	
	Harga Rf	Warna Noda
n-heksana	0,16	Hijau Kuning
etilasetat	0,78	Biru Kehitaman
(7:3)	0,87	Biru

Tabel 3. Toksisitas Fraksi n-Heksan

Konsentrasi (mg/ml)	Kematian Larva (%)
0,8125	100
1,625	100
3,25	100
Kontrol	0

KESIMPULAN

Fraksi aktif senyawa polifenol yang toksik terhadap larva udang ada sebanyak 3 (tiga) noda pada kromatografi lapis tipis. Fraksi 7 menunjukkan kematian larva udang yang tinggi sebagai indikasi memiliki aktivitas toksik kategori kuat.

DAFTAR PUSTAKA

- Absa, Nurfadilah. 2017. "Skrining Partisi-Partisi Dan Fraksi-Fraksi Larut Etil Asetat Dari Ekstrak Metanol Daun Botto-Botto (*Chromolaena Odorata* L.) Sebagai Anti Plasmodium." Skripsi, Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
- Ajrina, Aulia. 2013. *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Daun Garcinia Benthami Pierre Terhadap Larva Artemia Salina Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*. Skripsi. Jakarta.
- Andika, Bayu, Halimatussakdiah, and Ulil Amna. 2020. "Analisis Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Daun Gulma Siam (*Chromolaena Odorata* L.) Di Kota Langsa, Aceh." *QUIMICA: Jurnal Kimia Sains Dan Terapan* 2 (2): 1–6.
- Day, Reuben Alexander, and Arthur Louis Underwood. 2002. *Analisis Kimia Kuantitatif*. Erlangga.
- Fitrah, M, H Winarno, and P Simanjuntak. 2017. "Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Kimia Zat Anti Kanker Dari Daun Kopasanda (*Chromolaena Odorata* (L.))." *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia* 15 (1): 77–81.
- Ifora, Helmi Arifin, and Rella Silvia. 2017. "Efek Antiinflamasi Krim Ekstrak Etanol Daun Kirinyuh (*Chromolaena Odorata* (L) RM King & H. Rob) Secara Topikal Dan Penentuan Jumlah Sel Leukosit Pada Mencit Putih Jantan." *Jurnal Farmasi Higea* 9 (1): 68–75.
- Ikewuchi, Jude C, Catherine C Ikewuchi, Emeke C Enuneku, Stella A Ihunwo, Osazee I Osayande, Damiete B Batubo, and Damieibi I D Manuel. 2012. "Alteration of Blood Pressure Indices and Pulse Rates by an Aqueous Extract of the Leaves of *Chromolaena Odorata* (L) King and Robinson (Asteraceae)." *Pacific Journal of Science and Technology* 13 (2): 348–58.
- Inya-Agha, S I, B O Oguntimein, A Sofowora, and T V Benjamin. 1987. "Phytochemical and Antibacterial Studies on the Essential Oil of *Eupatorium Odoratum*." *International Journal of Crude Drug Research* 25 (1): 49–52.
- Jumain, Syahrini, and Farid. 2018. "Uji Toksisitas Akut Dan LD50 Ekstrak Etanol Daun Kirinyuh (*Eupatorium Odoratum* Linn) Pada Mencit (*Mus Musculus*)." *Media Farmasi* 14 (1): 28–34.
- Mukhrani, Andi Armisman Edy, Muh Fitrah Ilyas, and Dwi Wahyuni Leboe. 2017. "Analisis Efektivitas Daun Botto-Botto (*Chromolaena Odorata* L) Terhadap *Artemia Salina* Leach Yang Berpotensi Sebagai Agen Antikanker." *Jurnal Farmasi UIN Alauddin Makassar* 4 (1): 28–35.
- Mutia, Dita. 2010. "Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Buah Anggur (*Vitis Vinifera*) Terhadap Larva *Artemia Salina* Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (Bst)." Skripsi, Universitas Diponegoro.
- Ngozi, Igboh M, Ikewuchi C Jude, and Ikewuchi C Catherine. 2009. "Chemical Profile of *Chromolaena Odorata* L.(King and Robinson) Leaves." *Pakistan Journal of Nutrition* 8 (5): 521–24.
- Ningdyah, Arimbi Wahyu, Andi Hairil Alimuddin, and Afghani Jayuska. 2015. "Uji Toksisitas Dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) Terhadap Hasil Fraksinasi Ekstrak Kulit Buah Tampoi (*Baccaurea Macrocarpa*)." *Jurnal Kimia Khatulistiwa* 4 (1): 75–83.
- Olowa, Lilybeth F, and Olga M Nuñez. 2013. "Brine Shrimp Lethality Assay of the Ethanolic Extracts of Three Selected Species of Medicinal Plants from Iligan City, Philippines." *International Research Journal of Biological Sciences* 2 (11): 74–77.
- Rusli, Rachmat Kosman, and Pina Melinda. 2020. "Penelusuran Fungsi Endofit Pada Daun Kopasanda (*Chromolaena Odorata* L.) Yang Berpotensi Sebagai Penghasil Antibakteri Terhadap Bateri Penyebab Infeksi Kulit." *As-Syifaa Jurnal Farmasi* 12 (1): 64–69.
- Saputra, Ajmi, Abdul Gani, and Erlidawati Erlidawati. 2017. "Uji Aktivitas Antioksidan Daun Gulma Siam (*Chromolaena Odorata* L.) Dengan Metode 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil." *Jurnal IPA & Pembelajaran IPA* 1 (2): 131–42. <https://doi.org/10.24815/jipi.v1i2.9687>.
- Sumardi, Dadang Irfan Husori, Taufit Julianto, Raihanil Fauza, and Edita Eliska. 2018. "Toksisitas Ekstrak Daun Kopasanda (*Chromolaena Odorata*) Terhadap Larva *Artemia Salina* Leach." *NERSMID: Jurnal Keperawatan Dan Kebidanan* 1 (1): 58–65.
- Yenti, Revi, Ria Afrianti, and Linda Afriani. 2011. "Formulasi Krim Ekstrak Etanol Daun Kirinyuh (*Eupatorium Odoratum*. L) Untuk Penyembuhan Luka." *Majalah Kesehatan PharmaMedika* 3 (1): 227–30.