

Toksisitas Ekstrak Kasar Bunga dan Daun Ketepeng Cina (*Senna alata* L. Roxb.) terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach

Toxicity of Crude Extracts of Candle Bush Flowers and Leaves (*Senna alata* L. Roxb) on The Brine Shrimp Larvae (*Artemia salina* Leach)

Hartati Soetjipto*, A.Ign. Kristijanto, Rica Susy Asmorowati

FSM Kimia Universitas Kristen Satya Wacana Salatiga
Jl. Diponegoro 52-60 Salatiga 50711 E-mail: hartatis2003@yahoo.com *Penulis untuk Korespondensi

Abstract

Extract of Candlebush (*Senna alata* L. Roxb) flowers and leaves show toxicity effect on *Artemia salina* Leach. The crude extract was obtained by maceration method using methanol 80% and followed by partition into hexane, chloroform and ethylacetate. Data was analyzed using Randomized Completely Block Design (RCBD) Sub Sampling, that consisted of six treatments, five replications and three sub samples. To compare the differences between the mortality rater of *A. salina*, the Honestly Significant Differences (HSD) at 5% level of significance was used. Furthermore, to determine the LC₅₀, the probit analysis was used. The results of this study show that the most effective toxin from all fractions of *S. alata* was the hexane fraction of the leaves extract. The LC₅₀ of *S. alata* crude extract of leaves was 187,72 ppm (hexane fraction) and 290,34 ppm (EtOAc fraction). The crude extract of *S. alata* flowers toward *A. salina* were 210,77 ppm (hexane fraction) and 354,49 ppm (EtOAc fraction). In general, this study showed that all fractions which were tested had the toxic activity on *A. salina*.

Key words: *Senna alata*, *Artemia salina*, BST, LC₅₀

Diterima: 22 April 2006, disetujui: 09 Mei 2007

Pendahuluan

Ketepeng cina (*Senna alata* L. Roxb.) merupakan salah satu anggota suku Fabaceae yang sering dipelihara sebagai perindang halaman rumah atau gedung. Tanaman ini sering digunakan sebagai obat tradisional, antara lain sebagai obat cacing, pencahar, sariawan, sembelit, panu, kurap, kudis obat kelainan kulit yang disebabkan parasit kulit, sifilis, gonorrhoea dan gatal-gatal. Tanaman ini diketahui efektif sebagai antijamur, antibakteri, insektisida dan larvisida (Anonim, 2005a).

Salah satu metoda untuk menguji efek sitotoksik suatu senyawa adalah dengan uji toksisitas terhadap kematian udang renik air asin (*Artemia salina* Leach). Metoda ini dikenal sebagai *Brine Shrimp Lethality Test* (BST) dan diyakini memiliki korelasi positif

dengan daya sitotoksik senyawa-senyawa antikanker, sehingga sering digunakan dalam skrining awal toksisitas zat aktif biologis karena cepat, murah dan hasilnya dapat dipercaya (Anderson *et al.*, 1991). Sifat toksisitas dapat diketahui berdasarkan pada jumlah kematian larva dalam perlakuan. Menurut Meyer *et al.*, (1982), suatu ekstrak dikatakan bersifat toksik terhadap *A. salina* apabila mempunyai LC₅₀ (konsentrasi yang dapat mematikan 50% larva udang) kurang dari 1000 µg/ml.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk memperoleh data skrining fitokimia ekstrak daun dan bunga *S. alata*, serta menentukan daya toksisitas berbagai fraksi ekstrak daun dan bunga *S. alata* dengan menggunakan metode "*Brine Shrimp Test*". (Anderson *et al.*, 1991).

Metode Penelitian

Bahan

Daun dan bunga *S. alata* diperoleh dari Salatiga dan sekitarnya. Setelah dikeringanginkan sampel daun dan bunga dibuat serbuk dengan digiling kemudian diayak ukuran 18 mesh. Telur *A. salina* diperoleh dari Laboratorium Kimia FSM UKSW.

Pembuatan ekstrak

Masing-masing 100 g serbuk daun atau bunga dimaserasi dengan metanol 80% selama tiga kali 24 jam. Selanjutnya dilakukan partisi berturut-turut dengan pelarut heksana, CHCl_3 dan EtOAc. Selanjutnya dilakukan skrining fitokimia terhadap masing-masing fraksi yang diperoleh.

Skrining fitokimia (Metoda Ciulei, dalam Siregar, 1997)

Identifikasi minyak atsiri

Ekstrak kasar diuapkan sampai kering, jika residu yang diperoleh berbau enak ditambah dengan etanol. Larutan alkoholik tersebut diuapkan sampai kering. Jika residu berbau enak, menunjukkan ekstrak positif mengandung minyak atsiri.

Identifikasi sterol dan triterpen

Ekstrak kasar diuapkan sampai kering, kemudian residu yang dihasilkan dilarutkan dalam 0,5 ml Asam Asetat anhidrida, kemudian ditambah dengan 0,5 ml kloroform. Campuran ini ditetesi dengan 1-2 ml H_2SO_4 pekat ke dalam tabung tersebut dan jika hasil yang diperoleh berupa cincin violet atau hijau kebiruan menunjukkan adanya triterpen dan sterol.

Identifikasi alkaloid

Ekstrak diuapkan sampai kering, kemudian residu ditambah 1,5-2% HCl dan larutan dibagi dalam tiga tabung. Tabung 1 larutan ditambah 0,5 ml larutan asam encer, tabung 2 ditambah 2-3 tetes reagen Dragendorff, dan tabung 3 ditambah 2-3 tetes reagen Mayer. Jika pada tabung 2 terbentuk endapan jingga dan pada tabung 3 terbentuk

endapan kekuning-kuningan menunjukkan adanya alkaloid.

Identifikasi kumarin

Ekstrak diuapkan sampai kering, kemudian dilarutkan dalam air panas, setelah dingin, larutan dibagi dalam 2 tabung reaksi, yaitu tabung 1 sebagai control dan dalam tabung 2 ditambah 0,5 ml NH_3 10%. Adanya pijaran yang kuat dibawah sinar UV, menunjukkan adanya kumarin dan turunannya.

Identifikasi flavon aglikon

Mula-mula ekstrak diuapkan sampai kering. Residu dilarutkan dalam 1 – 2 ml metanol panas 50% (v/v). Kemudian kedalam larutan ditambahkan logam Mg dan 4 -5 tetes HCl pekat. Larutan berwarna merah atau jingga yang terbentuk menunjukkan adanya flavon aglikon (reaksi Shibata).

Identifikasi saponin

Ekstrak kasar ditambah air (1:1) sambil dikocok selama 5 menit pada tabung reaksi. Keberadaan gumpalan busa minimal 1 cm tingginya yang bertahan minimal 15 menit menunjukkan positif adanya saponin.

Identifikasi tannin dan fenolik (Guevera & Recio, 1985)

Ekstrak kasar diuapkan sampai kering, kemudian ditambah 10 ml air panas dan 5 tetes 10% NaCl. Setelah disaring filtrat dibagi menjadi 3 bagian. Satu bagian pertama digunakan sebagai kontrol, bagian kedua dan ketiga akan dianalisa lebih lanjut.

Tes gelatin

Filtrat bagian kedua ditambah 3 tetes larutan garam gelatine kemudian diamati. Pembentukan endapan mengidentifikasi keberadaan tannin.

Tes feri klorida

Selanjutnya filtrate bagian ketiga ditambah 3 tetes larutan FeCl_3 . Pembentukan warna biru kehitaman menunjukkan adanya *hydrolysable tannins*, sedangkan warna hijau kecoklatan mengidentifikasi tannin terkondensasi.

Apabila pada tes gelatin tidak terjadi endapan maka senyawa tersebut masuk ke dalam polifenol.

Identifikasi antrakuinon

Larutan ekstrak kasar dalam air disaring dengan kertas saring. Residu diekstraksi dengan menggunakan toluen 2 kali. Fase toluen diambil dan dibagi menjadi dua bagian ke dalam tabung reaksi yang berbeda. Tabung 1 digunakan sebagai blanko dan tabung 2 ditambah dengan 5 ml ammonia kemudian dikocok dan diamati pada lapisan alkalinnya. Perubahan warna yang terjadi diamati, jika warna larutan menjadi merah maka Antrakuinon dinyatakan positif.

Persiapan pengujian

Telur *A. salina* ditetaskan dalam air laut buatan (20 gram garam kasar dalam 1 l air kran) yang diaerasi. Setelah larva berusia 48 jam siap digunakan untuk pengujian. Konsentrasi ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini adalah 0, 75, 150, 225, 300, 450 ppm untuk fraksi heksana dan untuk fraksi EtOAc adalah 0, 200, 300, 400, 600, 800 ppm.

Pengujian toksisitas

Ke dalam masing-masing larutan uji dengan konsentrasi yang telah ditentukan dimasukkan 10 ekor larva *A. salina*, Leach. Wadah-wadah disimpan di tempat yang diberi penerangan cahaya lampu 60 watt. Pengamatan

dilakukan setelah 24 jam waktu kontak dan dihitung jumlah larva *A. salina* yang mati.

Analisis Data

Data hasil uji toksisitas dianalisis dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) sub sampling dengan 6 perlakuan, 5 kali ulangan dan 3 sub sampling. Untuk membandingkan rata-rata mortalitas *A. salina* antar konsentrasi digunakan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) dengan tingkat kebermaknaan 5% (Steel & Torrie, 1989). Selanjutnya untuk menentukan dosis efektif dengan LC₅₀ dilakukan analisa Probit (Goulden, 1970).

Hasil dan Pembahasan

Hasil skrining fitokimia ekstrak daun maupun bunga *S. alata* antarfraksi menunjukkan perbedaan kandungan senyawa kimia (Tabel 1). Perbedaan ini dimungkinkan terjadi karena adanya perbedaan polaritas tiap pelarut yang digunakan. Selain itu juga sebaran kandungan senyawa bahan alam yang tidak merata dalam suatu tubuh misalnya seperti polifenol yang hanya ditemukan pada daun *S.alata* tetapi tidak pada bunganya.

Hasil pengujian efek toksisitas ekstrak daun dan bunga (*S.alata*) fraksi heksana dan fraksi etil asetat terhadap *A.salina* dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 1. Hasil skrining fitokimia ekstrak daun dan bunga *S. alata*

No	Senyawa kimia	Daun				Bunga			
		Hx	CHCl ₃	EtOAc	MeOH	Hx	CHCl ₃	EtOAc	MeOH
1	Minyak atsiri	+	+	-	-	+	+	-	-
2	Sterol dan triterpen	-	+	-	+	+	+	+	-
3	Alkaloid	-	-	-	-	-	-	-	-
4	Kumarin	+	+	-	-	-	+	-	-
5	Flavon aglikon	-	-	-	+	-	-	-	-
6	Tannin	-	-	+	+	-	-	-	-
7	Saponin	-	-	+	+	-	-	+	+
8	Polifenol	-	-	+	+	-	-	-	-
9	Antrakuinon	+	+	+	-	+	+	+	-

Keterangan: (+) = senyawa terdeteksi; (-) = senyawa tidak terdeteksi; H = fraksi heksana; CHCl₃ = kloroform; EtOAc = etil asetat; MeOH = metanol

Terdapat perbedaan efektivitas antara konsentrasi ekstrak daun dan bunga *S. alata* (Tabel 2). Mortalitas *A. salina* mencapai 50% pada ekstrak daun *S. alata* fraksi heksana dengan konsentrasi 225 ppm, sedangkan untuk ekstrak bunga fraksi heksana mortalitas *A. salina* 50% dicapai pada konsentrasi antara 225-300 ppm (Tabel 2). Lebih lanjut pada fraksi etil asetat 50% mortalitas *A. salina* dicapai dengan konsentrasi 400 ppm untuk ekstrak daun, dan 400-600 ppm untuk ekstrak bunga (Tabel 2). Berdasarkan hasil tersebut, ekstrak daun *S. alata* fraksi heksana lebih efektif terhadap *A. salina* jika dibandingkan dengan fraksi lain baik pada daun maupun bunga *S. alata*. Hal ini diduga berkaitan dengan adanya kandungan senyawa-senyawa kimia yang terdapat dalam ekstrak daun *S. alata* fraksi heksana. Dalam ekstrak daun *S. alata* fraksi heksana mengandung kumarin, antrakuinon dan minyak atsiri. Antrakuinon merupakan turunan *anthracene*, yang tidak larut dalam air maupun alkohol (Anonim, 2005b).

Berdasarkan Tabel 1 terlihat bahwa senyawa antrakuinon terdeteksi pada daun dan bunga *S. alata* pada fraksi yang sama yaitu

fraksi heksana, kloroform dan etil asetat. Menurut Anonim (2005c), senyawa antrakuinon yang terdapat dalam tanaman *S. alata* antara lain *rein*, *aloe emodina*, *chrysophanol*, *chrysophanic acid*, dan *dihidroksimetilanthraquinon*. Aktivitas fisiologi dari senyawa antrakuinon adalah sebagai obat pencahar dan penyakit usus (*laxative*), obat infeksi jamur (fungisida) dan memiliki aktivitas antimikroba. Glikosida antrakuinon diduga menjadi penyebab dari daya racun atau bersifat toksik. Selain antrakuinon dalam fraksi heksana juga terdapat minyak atsiri yang dikenal sering bersifat toksik, antiparasitik maupun insektisidal (Burt, 2004).

Hasil penelitian yang disajikan dalam Tabel 3 menunjukkan bahwa semua fraksi yang diuji dinyatakan toksik karena LC_{50} yang diperoleh di bawah 1000 $\mu\text{g/ml}$ (Meyer *et al.*, 1982). Fraksi heksana pada daun *S. alata* menunjukkan fraksi yang paling aktif karena pada konsentrasi sampel yang relatif rendah sudah mampu memberikan efek toksik terhadap larva *A. salina*.

Tabel 2. Mortalitas *A. salina* (%) pada berbagai konsentrasi ekstrak daun dan bunga (*S. alata*) fraksi heksana dan fraksi etil asetat pada pengamatan jam ke-24

Bagian Tanaman	W	Konsentrasi (ppm)						
		0	75	150	225	300	450	
Fraksi Heksana	Daun	9,85	0,67a	25,33b	40,00c	50,67d	61,33e	76,00f
	Bunga	11,05	0,67a	20b	36,67c	43,33c	63,33d	78,00e
Fraksi Etil asetat	W	Konsentrasi (ppm)						
		0	200	300	400	600	800	
Fraksi Etil asetat	Daun	12,13	0,67a	29,33b	41,33bc	50,67c	66d	84e
	Bunga	9,59	0,67a	28,67b	38,00b	48,67c	63,33d	78,00e

Keterangan: * W = BNJ 5%

Angka yang disertai dengan huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna dan angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antarkonsentrasi.

Tabel 3. Analisis probit prosentase mortalitas *A. salina* pada berbagai konsentrasi ekstrak daun dan bunga *S. alata*

Bagian tumbuhan	Fraksi	LC_{50} (ppm)
Daun	Heksana	187,72
	EtOAc	290,34
Bunga	Heksana	210,77
	EtOAc	354,49

Kesimpulan

Daun *S. alata* mengandung minyak atsiri, sterol, triterpen, kumarin, flavon aglikon tannin, saponin, polifenol, dan antrakuinon, sedangkan pada bunganya positif mengandung minyak atsiri, sterol triterpen, kumarin, saponin serta antrakuinon.

Fraksi heksana ekstrak daun *S. Alata* memiliki daya toksisitas paling tinggi terhadap *Artemia salina* Leach dibanding fraksi etil asetat.

Daftar Pustaka

- Anderson, J.E., Goetz, C.M. and McLaughlin, J.L. 1991. A Blind Comparison of Simple Benzc-top Bioassays and Human Tumor Cell. Cytotoxicities as Antitumor Prescren. *Phytochem. Anal.* 2: 107-111.
- Anonim. 2005a. *Ketepeng Cina*. http://www.iptek.net.id/ind/cakra_obat/tanam_anobat.php/1d=2.5/6/2005.
- Anonim. 2005b. *Anthraquinone*. <http://en.wikipedia.org/wiki/Anthraquinone>. 7/17/2005.
- Anonim, 2005c. *Safety Glossary Definition: LC₅₀*. <http://ptcl.chem.ox.ac.uk/MSDS/glossary/lc50.7/17/2005>.
- Ciu Lei, J. 1984. *Metodologi for Analisis of Vegetables and Drugs*. Faculty of Pharmacy, Bucharest Rumania, 11-26.
- Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications In foods – a review. *International J. of Food Microb.* 94: 223-253.
- Goulden, C.H. 1970. *Method of Statistical Analysis*, 2nd Ed. Modern Asia Edition, John Wiley & sons. Inc. New York.
- Guevera, B.Q. and Recio, E.V. 1985. *Phytochemical Microbiological and Pharmacological Screening of Medicinal Plants*. University of Santo Tomas, Manila, Philippines.
- Meyer, B.N., Ferigni, N.R., Putnam, J.E., Ja Cobsen, L.B., Nichols, D.E. and McLaughlin, J.L. 1982. Brine Shrimp: A Conventient General Bioassay for Active Plant Constituen. *Planta Medica*. 45: 31-45.
- Siregar, F., Akbar, S. and Chairul, S. 1997. *Phytochemical Screening and Haemolytic Activity of Yatropha curcas.L (Euphorbiaceae) Latex*. International Seminar on Natural Product Chemistry and Utilization of Natural Resources.
- Steel, R.G.D. dan Torrie, J.H. 1989. *Prinsip dan Prosedur Statistika Suatu Pendekatan Geometric, Edisi kedua*. PT. Gramedia. Jakarta.