

Uji Toksisitas Ekstrak Biji Dan Klika Kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) Dengan Metode *Brine Shrimps Lethality Test*

Muhammad Rusdi¹, Deniyati², Nur Ida², Hasyim Bariun²

¹Program Studi Farmasi FKIK, Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar

²Program Studi Farmasi FMIPA, Universitas Islam Makassar

Email : muhammad.rusdi@uin-alauddin.ac.id

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang uji toksisitas ekstrak biji dan klika kelor (*Moringa oleifera* Lamk) terhadap larva udang (*Artemia salina* Leach). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui dan membandingkan potensi toksisitas akut ekstrak biji dan klika kelor terhadap larva udang dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dan untuk menentukan nilai LC_{50} setelah pemberian ekstrak biji dan klika kelor. Semplicia biji dan klika kelor diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian diuapkan untuk mendapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental diuji masing-masing aktivitasnya terhadap larva *Artemia salina* Leach. Hasil penelitian, analisis data dan pembahasan menunjukkan bahwa ekstrak biji dan klika kelor memiliki potensi toksisitas akut terhadap larva udang. Ekstrak biji kelor memiliki efek toksik lebih rendah dengan nilai LC_{50} sebesar 38,0101 $\mu\text{g/mL}$ dibandingkan dengan ekstrak klika kelor dengan LC_{50} sebesar 0,4551 $\mu\text{g/mL}$.

Kata Kunci : *Moringa oleifera* Lamk, Uji toksisitas, *brine shrimp lethality test*, LC_{50}

ABSTRACT

Has done research on acute toxicity tests seed extract and bark moringa (Moringa oleifera Lamk) against larvae of shrimp (Artemia salina Leach). The purpose of this study was to determine and compare the potential acute toxicity seed extract and bark moringa (Moringa oleifera Lamk) Against larvae of shrimp (Artemia salina Leach) using Brine Shrimp Lethality Test (BST) and to determine LC_{50} values after administration seed and bark Moringa extract. Semplicia moringa seeds and bark extracted by maceration method using ethanol 96%. Liquid extract obtained is then evaporated to obtain a thick extract. Condensed extract tested each activity against the larvae of Artemia salina Leach. The results of the study, data analysis and discussion shows that bark moringa seed extract and have the potential for acute toxicity to shrimp larvae. Moringa seed extract have less toxic effects with LC_{50} values of 38.0101 $\mu\text{g/mL}$, compared with bark Moringa extract with LC_{50} of 0.4551 $\mu\text{g/mL}$.

Keywords: *Moringa oleifera* Lamk, toxicity test, *brine shrimp lethality test* (BST), LC_{50}

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara beriklim tropis yang memiliki sumber daya alam hayati yang sangat beranekaragam. Tumbuh-tumbuhan hutan tropik Indonesia memiliki peranan dalam era teknologi yang tidak kalah penting dengan sumber daya alam lainnya seperti gas, batu bara, mineral, dan lain-lain. Sumber daya alam hayati ini merupakan

sumber senyawa kimia yang tak terbatas jenis maupun jumlahnya, dengan demikian keanekaragaman hayati dapat diartikan sebagai keanekaragaman kimiawi yang mampu menghasilkan bahan-bahan kimia, baik untuk kebutuhan manusia maupun organisme lain salah satunya sebagai sumber obat-obatan (Achmad, 1986).

Pengobatan secara tradisional sebagian besar menggunakan ramuan yang berasal dari tumbuh-tumbuhan baik berupa akar, kulit batang, kayu, daun, bunga, atau bijinya. Agar pengobatan secara tradisional dapat dipertanggungjawabkan maka diperlukan penelitian ilmiah seperti penelitian di bidang farmakologi, toksikologi, identifikasi, dan isolasi zat kimia aktif yang terdapat dalam tumbuhan. Salah satu tumbuhan atau bahan alam yang dimanfaatkan masyarakat sebagai bahan obat adalah kelor (*Moringa oleifera* Lamk). Kelor telah disebut sebagai "pohon ajaib" karena semua bagian dari pohon dapat dimanfaatkan (biji, daun, buah, akar, kulit kayu). Banyak peneliti telah melaporkan bahwa tanaman kelor dapat dipertimbangkan untuk gizi seimbang bagi penduduk, digunakan oleh banyak negara tropis dan subtropis sebagai makanan sehari-hari dan obat-obatan. Tumbuhan ini digunakan sebagai antijamur, melawan penyakit kulit, buah yang berfungsi sebagai antiinflamasi, daun dilaporkan sebagai antioksidan yang baik, demikian pula biji dan kulit batang.

Hasil penelitian Eman N. Ali, dkk (2015) dengan judul *An investigation of Anti-cancer activity of Moringa oleifera leaves* menyimpulkan bahwa daun kelor adalah solusi potensial sebagai anti-kanker alami. Khasiat ini kemungkinan disebabkan karena daun kelor mengandung senyawa isotiosianat yang menunjukkan aktivitas sebagai agen antikanker. Penelitian lebih lanjut dapat dilakukan untuk memahami mekanisme aktivitas melawan sel-sel kanker untuk merekomendasikan daun kelor sebagai anti-kanker sebelum komersialisasi (Ali dan Nazik, 2015); (Bose, 2007).

Aktivitas antikanker pada salah satu bagian tanaman, memungkinkan khasiat tersebut juga ada pada bagian tanaman yang lain. Demikian pula pada tanaman kelor, keberadaan senyawa antikanker pada daun menjadi referensi awal terhadap kemungkinan adanya aktivitas antikanker pada biji dan klika kelor.

Berdasarkan uraian diatas maka permasalahan yang timbul pada penelitian ini yaitu apakah ekstrak

biji dan klika kelor (*Moringa oleifera* Lamk) berkhasiat sebagai antikanker. Masalah tersebut dipecahkan dengan dilakukan penelitian menggunakan teknik uji bioaktivitas, salah satu metode pengujian pendahuluan senyawa antikanker yaitu metode BST. Metode pengujian BST dengan menggunakan *Artemia salina* dianggap memiliki korelasi dengan daya sitotoksik senyawa-senyawa antikanker, sehingga sering digunakan untuk skrining awal pencarian senyawa antikanker. Metode ini dikenal sebagai metode yang cepat, mudah, murah dan hasilnya dapat dipertanggungjawabkan (Mayer, et al., 1982).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui dan membandingkan potensi toksisitas akut ekstrak biji dan klika kelor dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST) dan untuk menentukan nilai LC_{50} setelah pemberian ekstrak biji dan klika kelor.

METODE PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah seperangkat alat maserasi, timbangan kasar, timbangan analitik, mikropipet, alat-alat untuk uji BST terdiri atas wadah penetasan telur, lampu pijar, vorteks, aerator, pipet, dan vial 10 ml.

Bahan-bahan yang digunakan adalah biji dan klika kelor (*Moringa oleifera* Lamk), etanol 96%, kertas whatman, air suling, DMSO, telur *Artemia salina*, air laut, dan ragi instan (Fermipan).

B. Ekstraksi

Simplisia biji dan klika kelor (*Moringa oleifera* Lamk) diperoleh dari Kota Makassar, Sulawesi Selatan. Simplisia biji kelor ditimbang sebanyak 150 g dimasukkan dalam wadah maserasi kemudian ditambahkan etanol 96% sedangkan simplisia klika kelor ditimbang sebanyak 200 g dimasukkan dalam wadah maserasi kemudian ditambahkan etanol 96%, ditutup dan dibiarkan selama 2x24 jam pada temperatur kamar terlindung dari cahaya sambil sesekali diaduk, lalu disaring. Perlakuan maserasi

diulang (remaserasi) hingga 3 kali dengan menggunakan pelarut yang sama. Ekstrak yang diperoleh dikumpulkan lalu diuapkan dengan *rotaryevaporator* sampai diperoleh ekstrak kental. Ekstrak etanol 96% kental yang diperoleh kemudian disimpan dalam desikator hingga diperoleh ekstrak kering. Ekstrak kering tersebut kemudian ditimbang untuk mengetahui rendamennya.

C. Penyiapan larva uji

Kista atau telur *Artemia salina* direndam dalam aquades (\pm 1 jam), ditiriskan, kemudian ditetaskan dalam kotak kecil berisi 500 ml air laut yang telah terbagi menjadi 2 bilik dengan sekat berlubang-lubang. Bilik penetasan diberi kondisi gelap sedangkan bilik satunya diberi sumber cahaya (lampu pijar), lalu aerator dihidupkan. Telur akan menetas dalam 24 jam dan larva berenang menuju bilik terang karena larva bersifat fototropik. Setelah berumur 48 jam larva *Artemia* siap digunakan.

D. Penyiapan dan pengujian sampel uji

Ekstrak etanol 96% biji danklika kelor, masing-masing ditimbang 50 mg. Untuk membuat larutan stok dengan konsentrasi 10000 ppm ekstrak biji dan klika kelor dilarutkan dengan etanol 96% hingga 5 mL dalam labu tentu ukur. Kemudian dari setiap larutan stok tersebut dipipet sebanyak 500 μ L, 50 μ L, dan 5 μ L untuk mendapatkan konsentrasi 1000, 100, dan 10 ppm dalam 5 mL air laut. Untuk konsentrasi 1 ppm diperoleh dari larutan yang dipipet sebanyak 50 μ L dari larutan stok 100 ppm yang dibuat dengan mengambil larutan stok awal sebanyak 10 μ L dan ditambahkan dengan tiap pelarut ekstrak hingga 1 mL dan masing-masing

dimasukkan dalam vial, diuapkan pelarutnya selama 24 jam. Setelah pelarut habis menguap, ditambahkan ke dalam masing-masing vial 50 μ L DMSO dan air laut hingga 3 mL. Selanjutnya dimasukkan 10 ekor larva *Artemia salina* Leach yang diambil secara acak dan 3 tetes suspensi ragi (fermipan®) ke dalam masing-masing vial, ditambahkan air laut sampai 5 ml, sebagai kontrol digunakan DMSO 50 μ L ditambah dengan air laut sampai 5 ml. Kemudian vial-vial ini disimpan ditempat yang cukup mendapat cahaya lampu 24 jam. Dilakukan pengamatan selama 24 jam terhadap kematian larva udang. Dihitung jumlah larva yang mati untuk tiap konsentrasi. Dilakukan replikasi atau pengulangan sebanyak 3 kali.

E. Pengumpulan dan analisis data

Data yang dikumpulkan adalah data primer yang didapatkan dari jumlah larva udang yang mati 24 jam (% Kematian) setelah perlakuan pada tiap-tiap konsentrasi ekstrak Akar dan Biji cempedak. Setelah melewati proses tersebut, data dianalisis dengan analisis probit menggunakan nilai probit untuk mengetahui harga LC_{50} ,

$$\% \text{ kematian} = \frac{\sum \text{larva uji mati} - \sum \text{larva kontrol mati}}{\sum \text{larva total awal}} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis data efek toksisitas akut ekstrak biji kelor (*Moringa oleifera* Lamk) terhadap larva *Artemia salina* Leach setelah 24 jam perlakuan dapat dilihat pada tabel 1 di bawah ini:

Tabel 1. Hasil Analisis Data Efek Toksisitas Akut Ekstrak Biji Kelor (*Moringa Oleifera* Lamk) terhadap Larva Udang (*Artemia Salina* Leach) setelah 24 Jam Perlakuan

Konsentrasi (μ g/mL)	Log konsentrasi	Jumlah Kematian Larva			Total Larva		Persentase Kematian	Nilai Probit
		V1	V2	V3	Uji	Mati		
1000	3	7	9	10	30	26	83,33	5,95
100	2	5	6	7	30	18	56,67	5,15
10	1	4	6	4	30	14	43,33	4,82

1	0	2	4	5	30	5	13,33	3,87
Kontrol		0	1	0	30	1		
Pers. Regresi		$y = 0,657 + 3,962x; R^2 = 0,970$						
Nilai LC₅₀ = 38,0101 µg/mL								

Hasil analisis data uji toksisitas masing-masing ekstrak etanol klika kelor (*Moringa oleifera* Lamk)

setelah 24 jam perlakuan dapat dilihat pada tabel 2 di bawah ini:

Tabel 2. Hasil Analisis Data Uji Toksisitas ekstrak etanol klika kelor (*Moringa oleifera* Lamk) terhadap Larva Udang (*Artemia salina* Leach) Setelah 24 Jam Perlakuan.

Konsentrasi (µg/mL)	Log Konsetrasi	Jumlah Kematian Larva			Total		Persentase Kematian	Nilai probit
		V1	V2	V3	Uji	Mati		
1000	3	10	10	10	30	30	93,33	6,48
100	2	8	9	10	30	27	83,33	5,95
10	1	9	8	7	30	24	73,33	5,61
1	0	6	6	7	30	19	56,67	5,15
Kontrol		2	0	0	30	2		
Pers. Regresi		$y = 0,433x + 5,148; R^2 = 0,993$						
Nilai LC₅₀ = 0.4551 µg/mL								

Hewan uji yang digunakan adalah larva *Artemia salina* Leach, Hal ini disebabkan selain memiliki ukuran sangat kecil, pertumbuhannya cepat sehingga dapat diasumsikan sebagai pertumbuhan sel yang abnormal. Kontrol yang digunakan adalah air laut, dimaksudkan untuk melihat apakah respon kematian hewan uji benar-benar berasal dari sampel atau bukan disebabkan faktor teknis perlakuan, dimana air laut digunakan karena merupakan tempat hidup dari larva *Artemia salina* Leach.

Suspensi ragi ditambahkan sebagai sumber makanan larva dalam tiap vial perlakuan. Penambahan makanan ini penting, untuk memastikan bahwa kematian larva bukan disebabkan karena kekurangan makanan.

Pelarutan ekstrak dengan air laut sering menimbulkan masalah karena adanya perbedaan tingkat kepolaran, ekstrak sukar larut dengan air laut sehingga digunakan DMSO untuk membantu pelarutannya. DMSO digunakan sebagai surfaktan

karena ekstrak tidak dapat larut dalam air laut. Surfaktan merupakan senyawa yang memiliki ujung hidrofilik dan hidrofobik sehingga dapat melarutkan ekstrak dengan air laut dengan cara menurunkan tegangan permukaan. Penggunaan DMSO sebanyak 50 µL berfungsi untuk membantu kelarutan ekstrak. Dimetilsulfoksida (DMSO) memiliki rumus (CH₃)₂SO merupakan pelarut yang dapat melarutkan senyawa polar maupun non polar (Bertomi, 2011).

Jumlah *Artemia salina* Leach yang mati dalam tiap vial selama 24 jam dapat dihitung dengan cara manual dan mikroskopik. Kriteria standar untuk menilai kematian larva udang adalah bila larva udang tidak menunjukkan pergerakan selama beberapa detik observasi.

Efek toksisitas akut diperoleh dari pengamatan dengan menghitung persentase kematian larva *Artemia salina* Leach setelah 24 jam pada tiap konsentrasi. Melalui persen kematian, dicari nilai probit tiap konsentrasi melalui tabel probit,

menentukan log konsentrasi uji kemudian dibuat grafik dengan persamaan garis lurus hubungan antara nilai probit dengan log konsentrasi, $y = bx + a$. Dimana y : angka probit dan x : log konsentrasi, kemudian ditarik garis dari harga probit 5 (= 50% kematian) menuju sumbu X, didapatkan log konsentrasi. Log konsentrasi diantilogkan untuk mendapatkan harga LC_{50} atau LC_{50} dapat juga dihitung dari persamaan garis lurus tersebut dengan memasukkan nilai 5 (probit dari 50% kematian hewan coba) sebagai y sehingga dihasilkan x sebagai nilai log konsentrasi. LC_{50} dihitung dan diperoleh dari antilog nilai x tersebut (Priyanto, 2009).

Hasil analisis data menunjukkan nilai LC_{50} ekstrak etanol biji adalah 38.0101 $\mu\text{g/mL}$ dan klika kelor (*Moringa oleifera* Lamk) adalah 0.4551 $\mu\text{g/mL}$ (lihat tabel 1 dan 2). Menurut Meyer et al. (1982) suatu ekstrak memiliki aktivitas toksik terhadap *Artemia salina* L. jika ekstrak memiliki LC_{50} kurang dari 1000 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak tersebut mempunyai potensi aktivitas sitotoksik yang dapat dikembangkan sebagai antikanker terutama ekstrak etanol klika kelor.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, analisis data dan pembahasan yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan, bahwa:

1. Ekstrak etanol biji dan klika kelor (*Moringa oleifera* Lamk) memiliki potensi toksisitas akut terhadap larva udang (*Artemia salina* Leach).

2. Ekstrak etanol klika kelor memiliki efek lebih toksik dengan nilai LC_{50} sebesar 0,4551 $\mu\text{g/mL}$ dibandingkan dengan ekstrak biji kelor dengan LC_{50} sebesar 38,0101 $\mu\text{g/mL}$.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad. S.A., 1986. Kimia Organik Bahan Alam, Universitas Terbuka, Jakarta.
- Ali N.E., Nazik M., 2015. *An Investigation Of Anti-Cancer Activity Of Moringa oleifera Leaves*, Jurnal Faculty Of Chemical And Natural Resources Engineering, Universiti Malaysia Pahang, Malaysia.
- Bertomi, R., 2011. *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Kulit Batang Pulasari (Alyxia Cortex) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BST)*(Skripsi), Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta.
- Bose, C.K., 2007. *Possible role of Moringa oleifera L. root in epithelial ovarian cancer*, *MedGenMed*, 9(1): 26.
- McLaughlin, JL, Anderson JE. *A blind comparison of single benzsch-top bioassay and human tumor cell. Cytotoxicities studies as Anti tumor prescreens*. Phytochemical Analysis. Volume 2; 1991.
- Meyer B.N., Ferigni N.R., Putnam J.E., Ja Cobsen L.B., Nichols D.E., dan McLaughlin J.L., 1982, *Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay For Active Plant Constituent*, *Planta medica*, 31-45