

UJI TOKSISITAS EKSTRAK DAUN *Tamarindus indica* L. DENGAN METODE *BRINE SHRIMPS LETHALITY TEST*

TOKSISITAS EXTRACT TEST ON *Tamarindus Indica* LEAF BY USING *BRINE SHRIMPS LETHALITY TEST METHOD*

Maryati dan Erindyah W.

Fakultas Farmasi UMS Surakarta

ABSTRAK

Tamarindus indica L. banyak digunakan masyarakat dalam pengobatan tradisional. Kandungan kimia dari daun *Tamarindus indica* L adalah terpenoid, saponin, flavonoid, dan asam-asam organik. Pada penelitian ini dilakukan uji toksisitas daun *Tamarindus indica* L terhadap *Artemia salina* Leach sebagai skrining awal aktifitas biologisnya. Uji toksisitas dilakukan terhadap ekstrak kloroform dan ekstrak metanol *Tamarindus indica* L. Data diperoleh dengan menghitung jumlah larva yang mati setelah perlakuan 24 jam. Persen kematian digunakan untuk menghitung harga LC_{50} dengan metode analisis probit. Komponen penyusun ekstrak paling aktif dianalisa dengan Komatografi Lapis Tipis (KLT). Hasil uji toksisitas menunjukkan harga LC_{50} ekstrak kloroform dan metanol dari daun *Tamarindus indica* L berturut-turut adalah $94,38 \pm 0,84$ μ g/ml, dan $589,38 \pm 4,84$ μ g/ml. Hasil ini menunjukkan bahwa semua ekstrak bersifat toksis terhadap *Artemia salina* Leach dan ekstrak kloroform mempunyai efek toksis yang lebih besar dibandingkan ekstrak metanol. Hasil analisis dengan KLT menunjukkan bahwa ekstrak kloroform daun mengandung senyawa golongan terpenoid.

Kata kunci : *Tamarindus indica* L., *Brine Shrimp Lethallity Test* (BST), ekstrak kloroform, ekstrak metanol

ABSTRACT

Tamarindus indica L leaf is mostly used by society in traditional treatment. Chemically, *Tamarindus indica* L leaf consists of terpenoid, saponin, flavonoid, and organic acids. This research is done to test the toksinitas leaf toward *Artemia Salina* Leach as the early skrining of its biologic activity. Toksinitas test is done

toward chloroform and methanol extracts of *Tamarindus indica* L. The data are collected by counting a number of death larvas after getting treatment for 24 hours. The percentage of the death is used to count the price of LC50 by using probity analysis method. The most active extract arranger component is analyzed by using Comathrography Lamella. The result of toknisitas test shows that the price of LC50 of chloroform and methanol extract from the leaf of *Tamarindus indica* L successively is 94.38 ± 0.84 ig/ml, and 589.38 ± 4.84 ig/ml. It means that all extracts have topsis character toward *Artemia salina* Leach and chloroform extract has higher toksis effect compared to methanol extract. The analysis result using Comathrography Lamella shows that chloroform extract leaf consists of terpenoid faction compound.

Keywords: *Tamarindus Indica* L., Brine Shrimp Lethality Test (BST), Chloroform Extract, and Methanol Extract.

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara tropis yang mempunyai keanekaragaman tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat. Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat tradisional adalah *Tamarindus indica* L (asam jawa). Tanaman ini tersebar luas di Indonesia. Daun *Tamarindus indica* L digunakan dalam pengobatan tradisional sebagai obat bisul, encok, koreng, luka, sariawan, demam, sakit kuning, eksim, sariawan, gatal-gatal (Dalimarta, 2002). Kandungan kimia dari daun *Tamarindus indica* L adalah terpenoid, saponin, flavonoid, dan asam-asam organik (Soedibyo, 1998).

Berdasar penelitian terdahulu dengan uji BST dari ekstrak kloroform daun, biji, kulit buah dan kulit batang *Phaleria macrocarpa* (scheff) ternyata toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach. Senyawa yang diduga bertanggung jawab terhadap toksisitas tersebut adalah terpenoid yang terkandung di dalam-nya (Hertiani, 2002).

Sehubungan dengan kandungan kimia dari *Tamarindus indica* L tersebut maka akan dilakukan penelitian untuk mengetahui toksisitas dari ekstrak kloroform dan ekstrak metanol daun asam (daun *Tamarindus indica* L) dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethallity Test* (BST) yaitu uji toksisitas terhadap larva *Artemia salina* Leach .

Penelitian terhadap daun *Tamarindus indica* L. bertujuan untuk skrining awal senyawa yang mempunyai bioaktofitas dengan menggunakan metode BST dan untuk mengetahui kandungan kimia daun *Tamarindus indica* L. yang bersifat toksik terhadap *Artemia salina* Leach. Salah satu metode untuk menguji bahan-

bahan yang bersifat sitotoksik adalah dengan uji toksisitas terhadap larva udang dari *Artemia salina* Leach. Metode ini sering digunakan untuk skrining awal terhadap senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak tanaman karena murah, cepat, mudah dan dapat dipercaya (Meyer *et al*, 1982).

METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: serbuk daun *Tamarindus indica* L. yang diperoleh dari desa Domas, Mojogedang, Karanganyar, kloroform, metanol, aquades, air laut dengan pH \pm 8, telur *Artemia salina* Leach., suspensi ragi, DMSO, silica gel GF254 (E. Merck).

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: seperangkat alat Soxhlet, alat-alat gelas, rotaevaporator, alat KLT, lampu UV, vortex.

Penelitian diawali dengan mengekstrak serbuk bahan disoxhletasi dengan kloroform. Ekstrak hasil soxhletasi tersebut diuji BST sedangkan ampasnya disoxhletasi lagi dengan metanol. Ekstrak metanol hasil soxhletasi tersebut juga diuji BST.

Untuk uji toksisitas dengan metode BST, masing-masing ekstrak yang diperoleh dibuat dalam berbagai konsentrasi. Pembuatan larutan stok dilakukan dengan melarutkan sejumlah tertentu ekstrak dengan cairan penyarinya sehingga diperoleh kadar tertentu. Sejumlah tertentu sampel diambil dari masing-masing larutan stok dan dimasukkan ke dalam flakon, (masing-masing konsentrasi 5 flakon). Pelarut dalam flakon diuapkan pada suhu kamar hingga habis dan tidak berbau pelarut lagi, kemudian ditambah air laut 1 ml dan dicampur dengan bantuan vortex. Setiap konsentrasi dilakukan 3 kali replikasi. Untuk sampel kloroform, sebelum ditambahkan air laut, terlebih dahulu ditambah 20 ml DMSO.

Kontrol negatif dibuat dengan cara yang sama tanpa penambahan sampel tetapi hanya menggunakan pelarutnya saja, dan untuk kontrol kloroform ditambahkan 20 ml DMSO.

Penetasan telur *Artemia* dilakukan dalam wadah gelas dengan menggunakan media air laut. Telur *Artemia* yang akan ditetaskan terlebih dahulu direndam dalam aquadest selama \pm 1 jam, kemudian telur yang mengapung dibuang dan yang mengendap dimasukkan ke dalam tempat penetasan. Telur akan menetas setelah kira-kira 24 jam. Larva yang digunakan untuk uji adalah yang berumur 48 jam setelah menetas.

Langkah selanjutnya adalah melakukan uji toksisitas. Sepuluh ekor larva udang dipindah ke dalam masing-masing sampel dalam flakon dengan menggunakan pipet dan ke dalamnya ditambahkan air laut sampai volume 5 ml. Larva dapat dilihat secara makroskopi di dalam pipet dengan latarbelakang terang. Satu tetes suspensi ragi (dibuat dengan 3 mg ragi dalam 5 ml air laut)

ditambahkan sebagai makanan dalam tiap-tiap flakon. Flakon tersebut kemudian diletakkan di bawah penerangan, 24 jam kemudian dihitung larva udang yang mati.

Profil KLT dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa kimia dalam ekstrak paling aktif dari daun *Tamarindus indica* L.

Efek toksisitas dianalisis dari pengamatan dengan menghitung persen kematian.

$$\% \text{ kematian} = \frac{X - Y}{X} \times 100\%$$

Keterangan:

X : Jumlah larva hidup control

Y : Jumlah larva hidup pengaruh perlakuan sampel

Dari persen kematian larva *Artemia salina* Leach., kemudian dicari angka probit melalui tabel dan dibuat persamaan garis $Y = BX + A$, dengan $Y =$ angka probit dan $X = \log$ konsentrasi. Dari persamaan tersebut dihitung harga LC50 dengan memasukkan nilai probit 5 (50 % kematian).

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Daun sebelum diekstraksi dicuci dengan air mengalir sampai bersih, kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari secara tidak langsung dengan cara ditutup kain hitam untuk mencegah perubahan komposisi kimia yang dikatalisis oleh sinar matahari. Pengeringan bahan bertujuan untuk mencegah timbulnya bakteri, jamur dan bekerjanya enzim yang dapat menyebabkan perubahan komposisi kimia. Setelah kering daun kemudian diserbuk. Pembuatan serbuk ini bertujuan untuk memperkecil ukuran partikel sehingga proses penyarian lebih efektif.

Dalam penelitian ini penyarian dilakukan dengan metode Soxhletasi. Keuntungan menyari dengan cara ini adalah penyarian lebih efektif karena penyari dapat kontak berkali-kali dengan serbuk. Selain itu penyarian dengan metode Soxhletasi juga hanya membutuhkan pelarut yang sedikit. Ekstrak kloroform yang diperoleh sebanyak 2,59 gram dan ekstrak metanol yang diperoleh sebanyak 2,09 gram.

Hasil ekstraksi tersebut diuji toksisitasnya terhadap larva *Artemia salina* Leach yang berumur dua hari sebagai hewan uji dengan metode BST. Penelitian dengan menggunakan *Artemia salina* Leach memiliki beberapa keuntungan antara lain cepat, mudah, murah dan sederhana (Meyer *et al.*, 1982).

Tingkat toksisitas dari ekstrak tanaman dapat ditentukan dengan meli-

hat harga LC_{50} -nya. Apabila harga LC_{50} lebih kecil dari 1000 $\mu\text{g/ml}$ dikatakan toksik sebaliknya apabila tidak lebih besardari 1000 $\mu\text{g/ml}$ dikatakan tidak toksik (Meyer *et al.*, 1982).

Hasil pengujian toksisitas daun *Tamarindus indica* L menunjukkan harga LC_{50} ekstrak kloroform yaitu 94,38 $\mu\text{g/ml}$, dan ekstrak metanol dan 592,63 $\mu\text{g/ml}$. Harga LC_{50} kedua ekstrak tersebut kurang dari 1000 $\mu\text{g/ml}$, hal ini menunjukkan bahwa kedua ekstrak tersebut memiliki efek toksik terhadap *Artemia salina* Leach.

Ekstrak kloroform mempunyai toksisitas yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan ekstrak methanol. Hal ini mendorong dilakukan penelusuran kandungan kimia yang terdapat pada ekstrak kloroform.

Untuk mendeteksi senyawa yang berperan dalam toksisitas terhadap larva *Artemia salina* Leach., dilakukan analisis secara kasar dengan uji kualitatif menggunakan metode KLT. KLT ekstrak dari daun dilakukan dengan fase diam silica gel GF254 dan fase gerak heksana-etil asetat (4:1)v/v dengan jarak pengembangan 8 cm. Deteksi dilakukan dengan sinar UV 254 dan pereaksi semprot yaitu anisaldehyd-asam sulfat untuk terpenoid. Bila terdapat senyawa terpen maka nampak bercak berwarna violet, biru, merah, abu-abu atau hijau (Stahl,1985). Untuk mengetahui adanya senyawa flavonoid, KLT dilakukan dengan fase diam selulosa dan fase gerak BAW (4:1:5), deteksi dilakukan dengan sinar UV 366 dan uap amoniak.

Deteksi dengan anisaldehyd-asam sulfat memberikan hasil 12 bercak dengan warna berbeda. Hal ini menunjukkan bahwa dalam ekstrak kloroform masih mengandung banyak senyawa. Bercak dengan R_f 7 berwarna hijau, bercak dengan R_f 13 berwarna biru, bercak dengan R_f 37 dan 73 berwarna abu-abu, dan bercak dengan R_f 63 berwarna merah. Kelima bercak tersebut positif terhadap deteksi terpenoid. Dari hasil tersebut dapat dilihat bahwa ekstrak kloroform setidaknya mengandung lima senyawa terpenoid yang berbeda.

Deteksi adanya flavonoid dilakukan dengan fase diam selulosa dan fase gerak BAW (4:1:5), deteksi dilakukan dengan sinar UV 366 dan uap amoniak. Dari hasil KLT ini menunjukkan bahwa ekstrak kloroform daun *Tamarindus indica* L tidak mengandung flavonoid.

SIMPULAN

Hasil uji toksisitas daun *Tamarindus indica* L. memberikan harga LC_{50} dari ekstrak kloroform sebesar 294,38 $\mu\text{g/ml}$, dan ekstrak metanol sebesar 592,63 $\mu\text{g/ml}$. Ekstrak kloroform daun *Tamarindus indica* L mengandung terpenoid.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 1979. *Materia Medika Indonesia*, Jilid III. Jakarta: Depkes RI.
- Dalimartha, S. 2002. *Ramuan Tradisional Untuk Pengobatan Kanker*, Cetakan IV. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Hertiani, T., dan Pratiwi, S.U.T. 2002. Uji Toksisitas Kulit Batang *Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl. dan Profil KLT Fraksi Aktif, *MFI. Pharmacon*, Vol 2.
- Hertiani, T., dan Pratiwi, S.U.T. 2002. Uji Toksisitas Ekstrak Daun dan Biji *Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl. dengan Metode, *Pharmacon*, Vol 3, hal 7-11.
- Meyer, B.N., Ferrigri, N.R., Putnam, J.E., Jacobsen, L.B. 1982. Brine Shrimp: Aconverient General Bioassay for Active Plant Constituent, *Plant Medica*, 31-34.
- Soedibyoy, M. 1998. *Alam Sumber Kesehatan, Manfaat dan Kegunaan*. Jakarta: Balai Pustaka.
- Stahl, E. 1985. *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi*, Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwan Soediro. Bandung: Penerbit ITB.