

## Toksisitas Ekstrak Daun Kopasanda (*Chromolaena Odorata*) Terhadap Larva *Artemia Salina* Leach

Sumardi<sup>\*</sup>, Dadang Irfan Husori<sup>2</sup>, Taufit Julianto<sup>1</sup>, Raihanil Fauza<sup>1</sup>, Edita Eliska<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Farmasi Universitas Tjut Nyak Dhien

<sup>2</sup>Farmasi Universitas Sumatera Utara

Corresponden author\*: (mardisaad@utnd.ac.id; mardisaad@gmail.com)

### ABSTRACT

Leaf kopasanda (*Chromolaena odorata* L. King & H.E Robins) family asteraceae empirically used as a wound and sore throat by Aceh residence, but scientific information about the effects of toxicity on cells has not been informed. The method used is phytochemical screening by using appropriate chemical detection reagents and continued with the search profile for extract using thin layer chromatography (TLC) as well as toxicity test of crude extract and its partition to shrimp larvae (*Artemia salina* Leach). Chemical content of extracts showed the presence of flavonoids, saponins, triterpenoids, alkaloids and tannins. The stain profile on TLC plate with silica gel GF254 as stationary phase showed the best stain by using the mobile phase on crude extract ethanol and its partition ethyl acetate, n-hexane and water were respectively n-heksan : etil asetat (3:7), n-heksan : etil asetat (7:3); n-heksan : etil asetat (2:8). their toxicity effects showed a low toxic category. *C. odorata* extracts have potentially safe and can be developed in aspects of biological activity.

**Keywords:** kopasanda (*Chromolaena odorata*), Brine Shrimp Lethality Test, larva udang (*Artemia salina* Leach), stain profile on TLC

### ABSTRAK

Leaf kopasanda (*Chromolaena odorata* L. King & HE Robins) asteraceae keluarga secara empiris digunakan sebagai luka dan sakit tenggorokan oleh residents Aceh, tetapi informasi ilmiah tentang efek toksisitas pada sel belum diinformasikan. Metode yang digunakan adalah skrining fitokimia dengan menggunakan reagen deteksi kimia yang sesuai dan dilanjutkan dengan profil pencarian untuk ekstrak menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) serta uji toksisitas ekstrak kasar dan partisi untuk larva udang (*Artemia salina* Leach). Kandungan kimianya menunjukkan adanya flavonoid, saponin, triterpenoid, alkaloid dan tanin. Profil noda pada pelat TLC dengan silika gel GF254 sebagai fase diam menunjukkan pewarnaan terbaik dengan menggunakan fase gerak pada ekstrak kasar etanol dan partisi etil asetat, n-heksana dan air masing-masing n-heksan: etil asetat (3: 7), n-heksan: etil asetat (7: 3); n-heksan: etil asetat (2: 8). efek toksisitas mereka menunjukkan kategori beracun rendah. Ekstrak *C. odorata* berpotensi aman dan dapat dikembangkan dalam aspek aktivitas biologis.

**Kata kunci:** kopasanda (*Chromolaena odorata*), Uji Letalitas Brine Shrimp, larva udang (*Artemia salina* Leach), profil noda pada TLC

### 1. PENDAHULUAN

Uji toksisitas suatu bahan dengan menggunakan larva udang (*Artemia salina* L.) lebih dikenal dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) merupakan metode yang sederhana dan digunakan sebagai model uji pendahuluan tingkat keamanan terhadap mamalia. Metode ini berdasarkan pada

prinsip pengaruh bahan aktif terhadap jumlah kematian organisme larva udang (*Artemia salina* Leach) (Wu C. 2014). Metode ini juga dapat dihubungkan dengan pengujian aktivitas anti kanker (Vida E, Maria B, Bambang 2016). Tumbuhan kopasanda telah dikenal menjadi tanaman obat dan tersebar di Amerika Utara, Asia, Afrika Barat dan Australia (José LC, Zaira LHI, 2012). Di Indonesia, khususnya masyarakat Aceh menggunakan daun kopasanda yang telah dilumatkan kemudian ditempelkan pada bagian luka secara topikal (Schmidt GJ, 2000). Tumbuhan herba ini memiliki tinggi antara 1,5 – 6 m dengan membentuk cabang secara bebas dan ranting berkembang dari kuncup secara berpasang – pasangan. Batang berwarna coklat dan berkayu pada bagian pangkal sedangkan pada bagian ujung berwarna hijau. Akar tumbuhan semak ini serabut dengan kedalaman tembus ke tanah sekitar 20 – 30 cm (Colin W, 2006).

Skrining fitokimia merupakan salah satu upaya untuk mengetahui keberadaan golongan senyawa kimia di dalam tumbuhan sehingga dapat dijadikan acuan pengujian selanjutnya baik identifikasi senyawa aktif maupun aktivitas biologinya. Sinergitas keduanya akan menghasilkan metode terapi yang terstandar (Ali P, Elmira S, Amir RJ).

Metode kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan teknik yang efisien dan efektif analisis suatu campuran senyawa termasuk ekstrak tumbuhan. Noda yang muncul dengan fase gerak yang sesuai dapat dijadikan sebagai karakteristik dan acuan preparatif isolasi senyawa (Libretext, 2017).

## **2. BAHAN DAN METODE**

Daun kopasanda (*Chromolaena odorata*) yang diperoleh dari Desa Samuti Kecamatan Ganda Pura Kabupaten Bireun, Nanggroe Aceh Darussalam. Identifikasi tumbuhan dilakukan di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (*Indonesian Institute of Sciences*) Pusat Penelitian Biologi (*Research Center for Biology*) (LIPI).

### **Ekstraksi dan Partisi**

Serbuk kering daun *C. odorata* dipanaskan dengan menggunakan air pada suhu 90°C selama 15 menit kemudian dipekatkan di atas waterbath sehingga diperoleh ekstrak air. Sebahagian serbuk lainnya dimaserasi dengan etanol 80% selanjutnya maserat di uapkan dengan rotary evaporator sehingga diperoleh maserat kental. Partisi padat cair dilakukan dengan menggunakan *n*-heksan, etil asetat secara berturut-turut sehingga diperoleh crude sari

etanol (CSE), sari larut *n*-heksan (SLH), sari larut etil asetat (SLE) dan sari tidak larut *n*-heksan dan etil asetat (sari sisa).

### **Profil Kandungan Kimia dengan Kromatografi Lapis Tipis**

Ekstrak ditotolkan pada fase diam silika gel GF254 kemudian dielusi dengan variasi fase gerak sehingga diperoleh noda noda yang terpisah dengan baik dan digunakan reagen penanda H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dalam metanol 50% dan Asam asetat anhidrid dalam H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

### **Skrining Fitokimia**

Metode skrining fitokimia mengacu pada buku *Materia Medika Indonesia* jilid VI yang telah dimodifikasi (Anonim,1982).

**Uji Flavonoid.** ekstrak ditambahkan 2-4 tetes HCl pekat dan 2-3 potong kecil logam Mg. Perubahan warna terjadi diamati dari kuning tua menjadi orange.

**Uji Saponin.** Ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan akuades panas hingga seluruh sampel terendam, selanjutnya didinginkan, kemudian dikocok kuat-kuat. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil.

**Uji Alkaloid.** Ekstrak dilarutkan dengan 5 ml HCl 2N. Larutan yang diperoleh dibagi ke dalam 3 tabung reaksi. Tabung pertama ditambah dengan 3 tetes HCl 2N, tabung kedua ditambah dengan 3 tetes pereaksi *Dragendorff*, sedangkan pereaksi ketiga ditambah dengan 3 tetes pereaksi *Mayer*. Terbentuknya endapan menunjukkan bahwa sampel tersebut mengandung alkaloid.

**Uji Polifenol dan Tanin.** Ekstrak ditambah akuades sampai sampel terendam semuanya. Kemudian ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl<sub>3</sub> 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau.

**Uji Triterpenoid/steroid.** ekstrak yang telah dilarutkan dalam pelarutnya. Kemudian diuapkan di dalam cawan porselen. Residu dilarutkan dengan 0,5 ml kloroform dan ditambahkan 0,5 asam asetat pekat anhidrad. Asam sulfat pekat sebanyak 2 ml ditambahkan melalui dinding tabung reaksi. Reaksi positif triterpenoid ditunjukkan dengan terbentuknya violet sedangkan positif steroid menghasilkan warna hijau sampai biru pada perbatasan larutan.

### **Toksitas Brine Shrimp Lethality Test**

Pengujian toksisitas ini dimodifikasi dari metode yang dibuat oleh Meyer *el al.*, (1982). Wadah plastik yang berbentuk persegi panjang disiapkan untuk penetasan telur udang. Wadah dibagi

menjadi dua bagian, yaitu bagian dengan ruangan gelap dan ruangan terang. Kedua bagian tersebut dibatasi dengan sekat plastik yang beberapa bagian sudah dilubangi  $\pm 2$  mm, sebagai tempat keluarnya telur yang telah menetas.

Dimasukkan  $\pm 1$  liter air laut ke dalam wadah hingga kedua lubang pada sekat plastik terendam. Salah satu ruang dalam wadah tersebut diberi penerangan dengan cahaya lampu pijar/neon untuk menghangatkan suhu dalam penetasan dan merangsang proses penetasan. Untuk ruangan yang gelap tanpa penyinaran ditutup dengan aluminium foil. Setelah 48 jam, telur akan menetas menjadi larva dan akan bergerak secara alamiah menuju ruang terang. Larva yang bersifat fototropik dan dapat dijadikan hewan uji pada metode BSLT.

Larva udang diambil masing-masing 10 ekor untuk vial yang berisi bahan uji dengan konsentrasi 1000, 500, 200, 100, dan 10 ppm. Kemudian semua vial diletakkan di bawah cahaya lampu selama 24 jam, selanjutnya dihitung jumlah persentase kematian larva. Masing-masing konsentrasi dilakukan pengulangan sebanyak 5 kali.

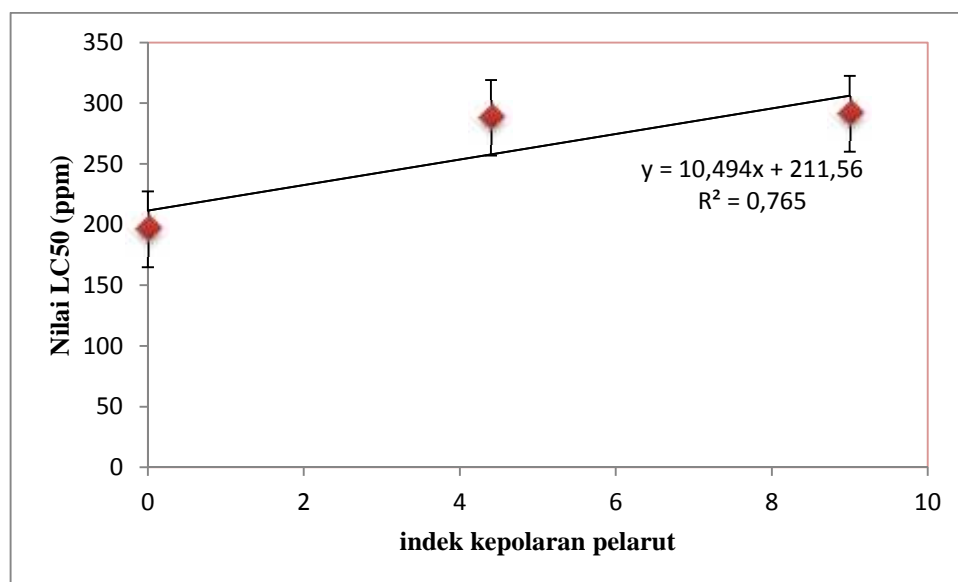
### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil skrining fitokimia ekstrak air dan etanol daun *C. odorata* menunjukkan keberadaan golongan senyawa flavonoid, saponin, triterpenoid, alkaloid dan tanin. Persen randemen sari yang diperoleh dengan menggunakan pelarut etanol 80% dan air masing - masing adalah 16,90 dan 16,19%. Sedangkan pemilihan fase gerak untuk sari dan partisinya diperoleh *n*-heksan dan etil asetat dengan perbandingan yang bervariasi, dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Nilai  $LC_{50}$  ekstrak daun *C. odorata* terhadap larva udang

Sampel	Nilai $LC_{50}$ (ppm)	Randemen (%)	Fase Gerak KLT Terpilih
Sari Air	291.23 $\pm$ 111.09	16,19	<i>n</i> -heksan: etil asetat (2:8)
<i>Crude</i> Ekstrak Etanol	326.8371 $\pm$ 264.09	16,9	<i>n</i> -heksan: etil asetat (3:7)
Sari Larut Etil Asetat	287.9561 $\pm$ 116.64	8,06	<i>n</i> -heksan: etil asetat (7:3)
Sari Larut <i>n</i> -heksan	196,11 $\pm$ 51,47	7,9	<i>n</i> -heksan: etil asetat (2:8)

Untuk melihat hubungan antara kelarutan senyawa yang tertarik dalam pelarut yang berbeda kepolarannya, maka sari dan partisinya diplot antara nilai angka kematian larva udang dengan nilai indeks kepolaran pelarut yang digunakan. Pada Gambar 1 dapat dilihat nilai koefisien determinasi diperoleh 0,765.



**Gambar 1.** Hubungan indeks kepolaran pelarut dengan angka kematian larva udang

Kandungan di dalam daun *C. odorata* sebagaimana dilaporkan mengandung flavonoid, saponin, triterpenoid, alkaloid dan tanin. Flavonoid dan senyawa fenol merupakan senyawa metabolit sekunder yang banyak dilaporkan memiliki banyak aktivitas biologi diantaranya adalah general toksik terhadap larva udang, seperti kandungan flavonoid yang terdapat dalam ekstrak metanol daun *Ficus carica* sebesar 40,729 mg/g ekuivalen dengan kuersetin memiliki LD<sub>50</sub> sebesar 0,158 mg/ml 10. (Saeideh A, Abbas D, Moslem N, 2014). Hal tersebut menunjukkan bahwa senyawa flavonoid dan fenol memiliki peran penting dalam toksisitas sel.

Penelitian yang terkait dengan pengujian pendahuluan antikanker banyak menyertakan uji *Brine Shrimp Lethality Toxicity* (BSLT) sebagai penelitian pendukung, seperti yang dilaporkan pada beberapa tumbuhan obat seperti *Kaempferia galanga* (Zingiberaceae), *Clerodendrum viscosum* (Verbenaceae), *Jatropha curcus* (Euphorbiaceae), *Lens culinaris* (Fabaceae) dan *Ranunculus arvensis*

(Ranunculaceae) menunjukkan adanya hubungan aktivitas antikanker dengan efek toksis terhadap larva *Artemia salina* (Bagya SK, Rajashree PV, Sam KG, 2011) dan (12. Bhatti MZ, Ali A, 2015).

Koefisien determinasi ( $R^2$ ) dapat dijadikan suatu indikator yang digunakan untuk menggambarkan berapa banyak variasi yang dijelaskan dalam model. Nilai  $R^2$  dapat diketahui tingkat signifikansi atau kesesuaian hubungan antara variabel bebas dan variabel tak bebas dalam regresi linier (Sinambela SD, Suwarno A, Henry RS, 2014).

Laman *online* Penn State Science (2018) menjelaskan variasi nilai  $R^2$ , dimana semakin mendekati nilai 1 atau 100% menunjukkan semakin sempurna hubungan pengaruh variabel terikat dengan variabel bebas (Anonim, 2018).

Hasil penelitian ini diperoleh nilai  $R^2$  sebesar 0,765 atau 76,5%, hal tersebut menunjukkan bahwa indeks kepolaran penyari yang digunakan menarik atau mempartisi ekstrak daun *C. odorata* mempengaruhi sebesar 76,5% terhadap kematian larva *A. salina*. Semakin rendah indeks kepolaran pelarut memiliki kecenderungan meningkat aktivitas toksis terhadap sel .

Senyawa triterpenoid, saponin dan alkaloid yang terkandung dalam ekstrak daun *C. odorata* cenderung tertarik oleh pelarut yang indeks kepolarannya rendah.

Saponin merupakan senyawa yang tersusun dari aglikon triterpenoid, steroid atau stereodal glikoalkaloid yang bersifat non polar serta senyawa glikon yang bersifat polar, oleh sebab itu saponin memiliki kemampuan amfipatik (Tessa M, 2014). Diantara aktivitas biologi senyawa tersebut yang tersebar di tumbuhan obat adalah antikanker dan antiinflamasi . Sedangkan senyawa alkaloid juga beberapa diantaranya memiliki efek sitotoksik dan dapat menginduksi apoptosis sel kanker (Diah R, 2017). Diperkirakan senyawa aglikon triterpenoid dan alkaloid tersebut terdistribusi ke pelarut *n*-heksan dan yang bertanggung jawab dalam kematian larva *A. salina*.

Profil noda KLT yang diperoleh berdasarkan fase gerak yang digunakan, dapat menjadi acuan pemilihan fase gerak dalam kromatografi preparatif selanjutnya (Ali & Wulan, 2018). Pendekatan tersebut sesuai dengan senyawa yang polar akan cenderung mudah terelusi oleh fase gerak yang polar pula dengan fase diam non polar begitu pula sebaliknya.

#### 4. KESIMPULAN

Ekstrak *C. odorata* dan partisinya dengan konsentrasi 1000, 500, 200, 100, dan 10 ppm tergolong dalam rendah toksik. Kandungan metabolit sekunder flavonoid, saponin, triterpenoid,

alkaloid dan tanin diduga memiliki peran dalam memberikan efek toksik terhadap larva udang *Artemia salina*. Metabolit sekunder yang tertarik dalam pelarut non polar memiliki kecenderungan aktivitas toksik yang lebih tinggi.

## DAFTAR PUSTAKA

Ali, M., & Wulan, W. (2018). EFFECTS OF SAND AND SUGAR CONCENTRATION ROSELLA (*Hibiscus sabdariffa*Linn) AGAINST QUALITY OF JELLY CANDY. *Teknoboyo*, 2(1).

Ali P, Elmira S, Amir RJ. Perspectives and Key Factors Affecting the Use of Herbal Extracts against Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacteria. Available from:<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123985392000124>

Anonim. *Materia Medika Indonesia* Jilid VI. Jakarta: Departemen Kesehatan RI

Anonim, (2018). The Coefficient of Determination, r-squared. Available from:  
<https://onlinecourses.science.psu.edu/stat501/print/book/export/html/255>

Bagya SK, Rajashree PV, Sam KG. Preliminary Anticancer Screening and Standardization of some Indigenous Medical Plants using Cell-biology and Molecular Biotechnology Based Models. *Research Journal of Medical Plant*. 2011; 5(6):728-737

Bhatti MZ, Ali A, Saeed A, Saeed A, Malik SA. Antimicrobial, antitumor and brine shrimp lethality assay of *Ranunculus arvensis* L. extracts. *Pak J Pharm Sci*. 2015 May; 28(3):945-949

Colin W, Parks. Wildlife Commission of the Northern Territory, Australia. Northern Department of Primary Industry and Fisheries, Australia. 2006. Available from:  
<http://www.iucngisd.org/gisd/speciesname/Chromolaena+odorata>

Diah R. Alkaloids in Plant Cell Cultures. Technology & Medicine Open Access book publisher; 2017. Available from: <https://www.intechopen.com/books/alkaloids-alternatives-in-synthesis-modification-and-application/alkaloids-in-plant-cell-cultures>.

José LC, Zaira LHI, Pilar P, María DGG. A comparison between two brine shrimp assays to detect *in vitro* cytotoxicity in marine natural products. *Methodology Article*. 2012. Available from:  
<https://bmcbiotechnol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1472-6750-2-17>

- Libretext. Thin Layer Chromatography. 2017. Available from:  
[https://chem.libretexts.org/Demonstrations\\_and\\_Experiments/Basic\\_Lab\\_Techniques/Thin\\_Layer\\_Chromatography](https://chem.libretexts.org/Demonstrations_and_Experiments/Basic_Lab_Techniques/Thin_Layer_Chromatography).
- Meyer BN, Ferrigni NR, Putman JE, Jacobsen LB, Nicols DE, McLaughlin JL. Brine Shrimp : A Convenient General Bioassay For Active Plant Constituents. *Plant Medica*. 1982; 45:31-34
- Schmidt GJ, Schilling EE. Phylogeny and Biogeography of Eupatorium (Asteraceae: Eupatorieae) Based on Nuclear ITS Sequence. *American Journal of Botany*. 2000 May; 87(5): 716–726.
- Saeideh A, Abbas D, Moslem N. Evaluation of General Toxicity, Anti-Oxidant Activity and Effects of *Ficus Carica* Leaves Extract on Ischemia/Reperfusion Injuries in Isolated Heart of Rat. *Adv Pharm Bull*. 2014 Dec; 4(2): 577–582
- Sinambela SD, Suwarno A, Henry RS. Menentukan Koefisien Determinasi Antara Estimasi M Dengan Type Welsch Dengan Least Trimmed Square Dalam Data Yang Mempunyai Pencilan. *Saintia Matematika*. 2014; 2(3):225–235.
- Tessa M, Kalliope KP, and Anne O. Metabolic and functional diversity of saponins, biosynthetic intermediates and semi-synthetic derivatives. *Crit Rev Biochem Mol Biol*. 2014 Nov; 49(6): 439–462.
- Vida E, Maria B, Bambang PP. Cytotoxicity and Antiproliferative Activity Assay of Clove Mistletoe (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.) Leaves Extracts. *Advances in Pharmacological Sciences*. 2016 . Available from: <http://dx.doi.org/10.1155/2016/3242698>.