

**Parameter Non Spesifik dan Pengujian Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Kokang
(*Lepisanthes amoena*) Terhadap Larva Udang *Artemia salina leach***

**Non-Specific Parameters and Toxicity Testing of Ethanol Extract of Kokang Leaf
(*Lepisanthes amoena*) Against Shrimp Larvae *Artemia salina leach***

Syarifah Irhamnah*, Novita Eka Kartab Putri, Hadi Kuncoro

Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Kefarmasian "Farmaka Tropis",
Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia

*Email: syrfhnn09@gmail.com

Abstract

The kokang leaves *Lepisanthes amoena* (Hassk.) Leenh) is a family of *Sapindaceae* which has been widely used as a traditional medicine, even now there are many formulas for the preparation of kokang leaves. The purpose of this study was to determine non-specific parameters, profile of TLC and to determine the acute toxicity of ethanol extract of kokang leaves against shrimp larvae of *Artemia salina leach*. The ethanol extract of kokang leaves was obtained by meseration method using 70% ethanol with a yield of 20.97%. The determination of non-specific parameters includes specific gravity, drying losses, total ash content, acid insoluble ash content. The ethanol extract of kokang leaves was analyzed by TLC profile using chloroform: acetone (8: 2) as eluent. Toxicity testing using the BSLT method and data were analyzed using *Reed-Muench* analysis. The results of the research to determine the non-specific parameters obtained are the average density 0.81 g; shrinkage in drying an average of 1.73%; total ash content on average 18.76%; acid insoluble ash content averaged 2.31%. The results of the TLC profile analysis were observations at UV 254 nm with an Rf value of 0.8. The results of observations on UV 366 nm showed two stains with Rf values of 0.7 and 0.8. The results of the acute toxicity test showed an LC₅₀ value of 154.170 ppm. The conclusion based on the research results obtained non-specific parameters of kokang leaves. Based on the results of the TLC profile analysis of the compounds contained in the ethanol extract of kokang leaves, it tends to be non-polar. The LC₅₀ value obtained shows that the ethanol extract of kokang leaves is toxic with a value of 154.170 ppm <1000 ppm.

Key words: Leaf Kokang (*Lepisanthes amoena*), non-specific parameters, BSLT, toxicity, *Artemia salina leach*.

Abstrak

Daun kokang *Lepisanthes amoena* (Hassk.) Leenh merupakan famili *Sapindaceae* yang sudah banyak digunakan sebagai obat tradisional bahkan saat ini sudah banyak formula sediaan daun kokang. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui parameter non spesifik, profil KLT serta mengetahui toksisitas akut ekstrak etanol daun kokang terhadap larva udang *Artemia salina leach*. Ekstrak etanol daun kokang diperoleh dengan metode meserasi menggunakan etanol 70% dengan hasil rendemen sebesar 20,97%. Penentuan parameter non spesifik meliputi bobot jenis, susut pengeringan, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam. Ekstrak etanol daun kokang yang diperoleh dianalisis profil KLT menggunakan eluen kloroform:aseton (8:2). Pengujian toksisitas dengan metode BSLT dan data dianalisa menggunakan analisa *Reed-Muench*. Hasil penelitian penentuan parameter non spesifik yang diperoleh yaitu bobot jenis rata-rata 0,81 g; susut pengeringan rata-rata 1,73%; kadar abu total rata-rata 18,76%; kadar abu tidak larut asam rata-rata 2,31%. Hasil analisis profil KLT yaitu pengamatan pada UV 254 nm dengan nilai Rf 0,8. Hasil pengamatan pada UV 366 nm nampak dua noda dengan nilai Rf 0,7 dan 0,8. Hasil pengujian toksisitas akut diperoleh nilai LC_{50} 154,170 ppm. Kesimpulan berdasarkan hasil penelitian maka diperoleh parameter non spesifik daun kokang. Berdasarkan hasil analisis profil KLT senyawa yang terdapat dalam ekstrak etanol daun kokang cenderung bersifat non polar. Nilai LC_{50} yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kokang bersifat toksik dengan nilai 154,170 ppm <1000 ppm.

Kata kunci: Daun kokang (*Lepisanthes amoena* (Hassk.) Leenh.), Parameter non spesifik, Toksisitas, BSLT, *Artemia salina leach*.

DOI: <https://doi.org/10.25026/mpc.v13i1.466>

1 Pendahuluan

Standardisasi sangat penting dilakukan untuk mengembangkan obat dari bahan alam yang tersebar luas di Indonesia untuk menjamin mutu serta keamanan dari sediaan obat tersebut yang nantinya dapat dikembangkan menjadi fitofarmaka ataupun obat herbal terstandar. Pengujian parameter non spesifik merupakan standarisasi yang dapat dilakukan untuk menjamin keamanan dari suatu tanaman yang digunakan. Daun kokang (*Lepisanthes amoena* (Hassk.) Leenh) merupakan tumbuhan liar yang tumbuh di dataran tinggi. Secara empiris Kokang (*Lepisanthes amoena* (Hassk.) Leenh) banyak digunakan sebagai obat tradisional. Suku Kutai dan suku Dayak Tunjung menggunakan daun kokang untuk mengatasi berbagai masalah kulit di antaranya menghilangkan noda hitam di wajah, menyembuhkan bekas luka cacar dan bekas jerawat [1]. Daun kokang memiliki kandungan metabolit sekunder, seperti senyawa fenolik, flavanoid, tanin, steroid, dan saponin [2]. Sejauh ini pengujian keamanan

penggunaan tanaman kokang belum ada sehingga diperlukan pengujian parameter non spesifik dan uji toksisitas. Penelitian ini mengacu pada penelitian dan pengembangan tanaman berkhasiat obat. Pengujian toksisitas ialah yang digunakan untuk mengamati suatu senyawa pada waktu singkat setelah terpapar atau pemberian dalam dosis tertentu. *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) adalah metode awal yang sering dipakai untuk mengamati toksisitas senyawa dan merupakan metode penapisan untuk aktivitas antikanker senyawa kimia dalam ekstrak tanaman. Penelitian kali ini adalah melakukan penentuan parameter non spesifik ekstrak etanol daun kokang yaitu meliputi penentuan bobot jenis, susut pengeringan, kadar abu total dan kadar abu tidak larut asam.

2 Metode Penelitian

Bahan yang digunakan adalah aquades, *Artemia salina leach*, Daun kokang (*Lepisanthes amoena*), etanol 70%, air laut

bebas protozoa, HCL p, H₂SO₄ 10%, kloroform, aseton.

Alat yang digunakan adalah alat kaca dan alat non kaca, timbangan analitik (Precisa®), oven, Tanur (*Muffle Furnace* FB 1410-M33), mikroskop, UV 256 nm dan 366 nm.

2.1 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kokang

Simplisia daun kokang (*Lepisanthes amoena*) yang telah menjadi serbuk kasar ditimbang sebanyak 500 gram, kemudian diekstraksi menggunakan etanol 70% sebanyak 5000 ml dengan menggunakan metode maserasi di dalam toples kaca sampai pelarut menjadi bening. Maserat yang telah didapatkan dipisahkan menggunakan *rotary evaporator* hingga menjadi ekstrak yang pekat. Selanjutnya ekstrak diangin-anginkan hingga kental dan ditimbang berat ekstrak.

2.2 Pemiakan Larva Udang

Ditimbang Telur udang (*Artemia salina* Leach) sebanyak 0,5g direndam dalam wadah penetasan yang berisi air laut 1 liter bebas protozoa dibawah cahaya lampu pijar 40 atau 60 watt pada suhu kamar (25°C), yang dilengkapi dengan aerator dengan jarak sinar lampu dengan wadah penetasan ± 20 cm. Telur akan menetas selama 24 jam menjadi larva. Ketika larva berumur 48 jam larva udang siap diujikan.

Pembuatan larutan uji

Dibuat larutan stok 100 ppm dalam 50 ml dengan cara ditimbang 50 mg ekstrak etanol daun kokang lalu dilarutkan dengan air laut dalam wadah labu ukur 50 ml. Kemudian pembuatan seri konsentrasi untuk 50 ppm diambil dari larutan stok sebanyak 0,25 ml lalu diadkan dengan air laut sampai 5 ml. Seri konsentrasi 100 ppm diambil dari larutan stok sebanyak 0,5 ml lalu diadkan dengan air laut sampai 5 ml. Seri konsentrasi 500 ppm diambil dari larutan stok sebanyak 2,5 ml lalu diadkan dengan air laut sampai 5 ml. Direplikasi sebanyak 5 kali.

2.3 Pengujian Parameter Nonspesifik

2.3.1 Bobot jenis

Digunakan piknometer bersih, kering dan telah dikalibrasi atur hingga suhu ekstrak cair lebih kurang 25° C, dimasukkan ke dalam piknometer. Kemudian atur suhu piknometer yang telah diisi hingga suhu 25° C, buang kelebihan ekstrak cair dan ditimbang. Dikurangkan bobot piknometer kosong dari bobot piknometer yang telah diisi. Bobot jenis ekstrak cair adalah hasil yang diperoleh dengan membagi bobot ekstrak dengan bobot air, dalam piknometer pada suhu 25° C [3].

2.3.2 Susut pengeringan

Ditimbang 2 g ekstrak dalam botol timbang yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu 105 ° C selama 30 menit dan telah ditara. Diratakan simplisia dalam botol timbang sampai lapisan setebal lebih kurang 5-10 mm, dimasukkan ke dalam ruang pengering, dibuka tutupnya, dikeringkan pada suhu 105 ° C sampai bobot tetap. Pengeringan dilakukan pada suhu antara 5-10 ° C di bawah suhu leburnya selama 1-2 jam, kemudian pada suhu 105 ° C selama waktu yang ditentukan atau sampai bobot tetap [4].

2.3.3 Kadar abu total

Sebanyak 2g ekstrak ditimbang seksama, dimasukkan kedalam kurs yang telah ditara. Ekstrak kemudian dipijar dengan menggunakan tanur pada suhu 600° C selama 3 jam. Dinginkan dalam desikator dan ditimbang bobotnya hingga konstan [5].

2.3.4 Kadar abu tidak larut asam

Abu yang diperoleh dari penentuan kadar abu, disaring dengan HCL p sebanyak 25 ml. Disaring dengan kertas saring, lalu dibilas dengan air panas, diambil bagian yang tidak larut asam dan ditanur kembali pada suhu 600° C selama 3 jam. Didinginkan dalam desikator dan ditimbang bobotnya hingga konstan [5].

2.4 Analisis Profil KLT

Analisis Profil KLT dilakukan dengan plat kromatografi lapis tipis dengan melarutkan ekstrak metanol dan fraksi etil asetat dari yang telah diperoleh menggunakan pelarut metanol,

kemudian dilakukan elusi menggunakan eluen dengan perbandingan yang telah ditentukan. Setelah dilakukan elusi plat KLT diamati dibawah sinar UV 366 nm dan 254 nm, kemudian disemprotkan dengan H₂SO₄ 10% amati plat noda secara visual, kemudian dilakukan perhitungan nilai Rf.

2.5 Pengujian Toksisitas

Dimasukkan Larva udang sebanyak 10 ekor dalam masing-masing vial yang berisi ekstrak. Lalu Dimasukkan 1 tetes ragi sebanyak 3 mg/5 ml air laut sebagai pakan. Ditambahkan air laut bebas protozoa 5 ml. dimasukkan kedalam Vial-vial uji dengan konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 500 ppm direplikasi 5 kali. kemudian disimpan di tempat yang cukup mendapat sinar lampu. Diamati dan dicatat selama 24 jam jumlah larva yang mati pada masing-masing vial. Dihitung LC₅₀ dengan menggunakan Analisa *Reed-Muench*.

3 Hasil Dan Pembahasan

3.1 Penentuan Parameter Nonspesifik

3.1.1 Bobot Jenis

Tabel 1. Hasil Pengujian Bobot Jenis Ekstrak Etanol Daun Kokang

Rep	Pikno kosong	Pikno + aquades	Pikno + etanol+ ekstrak	Hasil bobot jenis
1	16 g	26,904 g	24,773 g	0,80 g
2	16 g	27,056 g	25, 085 g	0,82 g
Rata- rata				0,81 g
Standar deviasi				0,01414214

3.1.2 Susut Pengerangan

Tabel 2. Hasil Pengujian Susut Pengerangan Ekstrak Etanol Daun Kokang

Rep	Cawan kosong	Sebelum pemanasan	Bobot akhir setelah pemanasan	Hasil susut pengerangan
1	59,730 g	61, 730 g	66,705 g	1,66%
2	56,906 g	58, 906 g	57, 845 g	1,80%
Rata- rata				1,73%
Standar deviasi				0,00098995

3.1.3 Kadar Abu Total

Tabel 3. Hasil Pengujian Kadar Abu Total Ekstrak Etanol Daun Kokang

Rep	Cawan krus kosong	Berat ekstrak	Cawan krus + ekstrak	Setelah ditanur	Hasil kadar abu total
1	63,686 g	2 g	65,686 g	64,080 g	19 %
2	59, 714 g	2 g	61, 714 g	60, 087 g	18,65 %
Rata- rata					18,85%
Standar deviasi					0,00175594

3.1.4 Kadar Abu Tidak Larut Asam

Tabel 4. Hasil Pengujian Kadar Abu Tidak Larut Asam Ekstrak Etanol Daun Kokang.

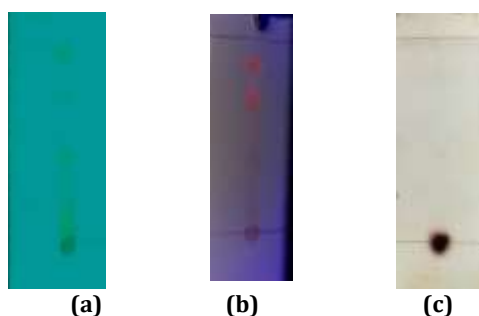
Rep	Cawan krus kosong	Esktrak Kertas saring	Cawan+ sampel	Setelah ditanur	Hasil	
1	63,686 g	2 g	0,1553 g	64,080 g	63,736 g	2,4%
2	59, 714 g	2 g	0,1617 g	60, 087 g	59,760 g	2,23%
Rata- rata					2,35%	
Standar deviasi					0,00120208	

Standarisasi merupakan tahapan penting dalam melakukan penelitian dan pengembangan obat bahan alam di Indonesia untuk menjamin mutu dan keamanan dari sediaan obat tersebut. Dalam penelitian ini dilakukan standarisasi ekstrak secara kualitatif yang meliputi parameter non spesifik yaitu bobot jenis, susut pengeringan, kadar abu dan kadar abu tidak larut asam. Penentuan bobot jenis ini bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan kimia yang terlarut pada suatu ekstrak [6]. Penetapan susut pengeringan dilakukan dengan tujuan untuk memberikan batas maksimal tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan [6]. Penetapan kadar abu total bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal [6]. Penetapan kadar abu tidak larut asam menunjukkan adanya kontaminasi mineral atau logam yang tidak larut asam dalam ekstrak [6].

Tingginya kadar abu menunjukkan tingginya kandungan mineral internal didalam daun kokang itu sendiri. Semakin tinggi kadar

abu yang diperoleh maka kandungan mineral dalam bahan juga semakin tinggi [7]. Menurut Utami [7] tingginya kadar abu tidak larut dalam asam menunjukkan adanya kandungan silikat yang berasal dari tanah atau pasir, tanah dan unsur logam perak, timbal dan merkuri. Karena tumbuhan kokang ini diperoleh tumbuh liar dan lingkungan tempat hidupnya juga mempengaruhi hasil pengujian ini.

3.2 Profil KLT



Gambar 1. Profil Kromatogram (a) Penampakan dengan UV 366 nm (b) Penampakan dengan UV 254 nm (c) Penampakan setelah penyemprotan H₂SO₄ 10% dan dipanaskan hot plate

Tabel. 5 Hasil Nilai Rf dari profil KLT

Eluen	Penampakan UV		Semprot H ₂ SO ₄ 10%
	254 nm	366 nm	
Kloroform:aseton 8:2	0,8	0,7 0,8	-

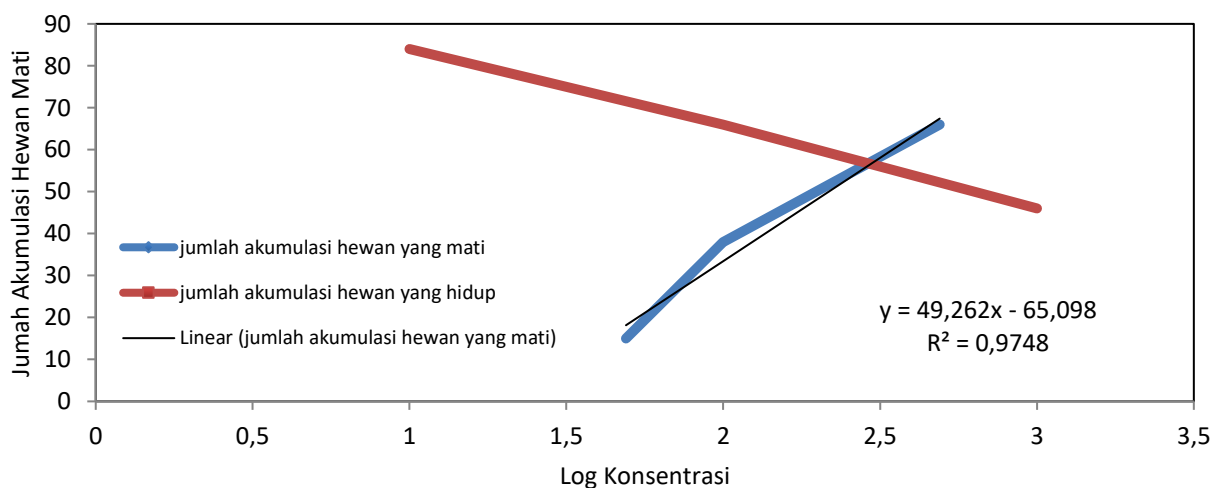
Hasil yang didapatkan pada UV 254 nm yaitu terdapat 1 noda dengan nilai Rf 0,8 dan senyawa cenderung bersifat non polar, berdasarkan hasil ini maka nilai Rf yang diperoleh ini baik karena masuk kedalam rentang nilai Rf terbaik itu mulai dari 0.2-0,8 [8].

Hasil yang didapatkan pada UV 366 nm yaitu terdapat 2 noda dengan nilai Rf 0,7 dan 0,8 senyawa yang didapatkan cenderung bersifat non polar, berdasarkan hasil ini maka nilai Rf yang diperoleh ini baik karena masuk kedalam rentang nilai Rf terbaik itu mulai dari 0.2-0,8 [8]. Noda yang tampak itu berwarna merah jambu atau merah lembayung. Kemudian noda pada KLT hasil pereaksi H₂SO₄ 10% diamati secara visual tidak terdapat noda.

3.3 Pengujian Toksisitas

Tabel. 6 hasil pengujian BSLT

Tanaman Obat	Nilai Lc50
Daun Kokang (<i>Lepisanthes amoena</i>)	154,170 ppm



Gambar 2. Grafik Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Kokang

Hasil yang didapatkan dari pengujian BSLT dan dianalisis menggunakan metode *Reed-Muench*. Metode ini menggunakan nilai-nilai kumulatif. Asumsi yang dipakai adalah bahwa seekor hewan mati oleh dosis tertentu maka akan mati juga oleh dosis yang lebih besar. Sedangkan hewan yang bertahan hidup dalam dosis tertentu juga akan tetap bertahan hidup pada dosis yang lebih rendah. Kematian kumulatif diperoleh dengan menambahkan secara suksetif ke bawah dan hidup kumulatif diperoleh dengan menambah secara suksetif ke atas. Pada konsentrasi 50 ppm jumlah kematian hewan uji sebanyak 15 ekor dengan mortalitas kematian 15,1%. Pada konsentrasi 100 ppm jumlah kematian hewan uji sebanyak 23 ekor dengan mortalitas kematian 36,5%. Pada konsentrasi 500 ppm jumlah kematian hewan uji sebanyak 66 ekor dengan mortalitas kematian 58,1% dan diperoleh nilai LC_{50} yaitu 154,170 ppm menurut Mayer [9] masuk kedalam kategori toksik <1000 ppm. Berdasarkan hasil yang didapatkan terlihat bahwa jumlah kematian hewan uji semakin banyak dan berbanding lurus dengan semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun kokang. Hal ini telah sesuai menurut teori Harborne [10] yang menyebutkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka sifat toksiknya akan semakin tinggi. Berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Rijai [2] dan Kuspradini [11] metabolit yang terkandung dalam ekstrak etanol yaitu alkaloid, fenolik, flavanoid, tanin, steroid, dan saponin. Adapun penyebab kematian larva udang ini menurut Jelita [12] adanya senyawa yang menyebabkan *stomach poisoning* atau racun perut. Bila senyawa-senyawa ini masuk ke dalam tubuh larva, alat pencernaannya akan terganggu. Senyawa ini menyebabkan inhibisi reseptor perasa pada daerah mulut larva yang mengakibatkan larva gagal mendapatkan stimulus rasa dan tidak mampu mengenali makanannya sehingga larva mati kelaparan. Senyawa toksik yang ada pada ekstrak dapat masuk melalui bagian mulut *Artemia salina* dan diabsorpsi masuk ke dalam saluran pencernaan terjadi proses absorpsi melalui membran sel. Setelah proses absorpsi dilanjutkan dengan proses distribusi senyawa toksik ke dalam tubuh *Artemia salina*, dan

terjadi proses kerusakan reaksi metabolisme. Perubahan gradient konsentrasi yang drastis antara di dalam dan di luar sel yang menyebabkan senyawa toksik mampu menyebar dengan baik ke tubuh *Artemia salina*. Efek kerusakan metabolisme yang ditimbulkan terjadi secara cepat dapat dideteksi dalam waktu 24 jam, hingga menyebabkan 50% kematian *Artemia salina*.

4 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian parameter non spesifik diperoleh hasil yaitu : bobot jenis rata-rata 0,81 g. susut pengeringan rata-rata 1,73% kadar abu total rata-rata 18,76%. kadar abu tidak larut asam rata-rata 2,31%. Hasil analisis profil KLT dengan eluen kloroform:aseton (8:2). Terdapat 2 noda yang terpisah secara sempurna dengan nilai R_f 0,7 dan 0,8 yaitu masuk kisaran nilai R_f yang baik yaitu 0,2-0,8. Senyawa yang terdapat dalam ekstrak etanol daun kokang cenderung bersifat non polar. Nilai LC_{50} ekstrak etanol daun kokang yaitu 154,170 ppm termasuk kedalam kategori toksik.

5 Daftar Pustaka

- [1] Warnida, Husnu. 2017. Effectiveness of *Lepisanthes amoena* extract as sunscreen; An exploration of East Borneo people's local wisdom. *JURNAL Penelitian Ekosistem Dipterokarpa Vol.3 No.2, Desember 2017: 57-62*
- [2] Rijai, L., 2008. *Penelusuran dan Bioaktivitas Tumbuhan Obat di Kabupaten Kutai Barat*. Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman Samarinda.
- [3] Syarif, R. A., & Waris, R. (2017). Standarisasi Ekstrak Air Daun Jati Belanda dan Teh Hijau, (July), 2-7. <https://doi.org/10.33096/jffi.v4i2.268>.
- [4] Ayu Ika Mentari, Wirnawati, Maulina Rahmawati Putri. 2020. Karakterisasi Simplisia Dan Ekstrak Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides* L) Sebagai Kandidat Obat Karies Gigi. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 5(1), Maret 2020, 1-9 p-ISSN: 2502-647X; e-ISSN: 2503-1902.
- [5] Krisyanella, Nana Susilawati, dan Harrizul Rivai. 2013. Pembuatan Dan Karakterisasi Serta Penentuan Kadar Flavonoid Dari Ekstrak Kering Herba Meniran (*Phyllanthus niruri* L.). *jurnal Farmasi Higea, Vol. 5, No. 1, 2013*.

- [6] DEPKES, RI. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat Dan Makanan*
- [7] Utami, Yuri Pratiwi., Abdul Halim Umar.,Reny Syahru., Indah Kadullah.2017. Standardisasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.) *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences 2017 2(1): pp 32-39.*
- [8] Wulandari, L. 2011. *Kromatografi Lapis Tipis*. Jember: PT. Taman Kampus Presindo.
- [9] Meyer, H.N. 1982. Brine Shrimp Lethality Test: *Med. Plant Research*. Vol. 45 No. 3. Amsterdam, Hipokrates Verlag Gmbhl. Hlm. 1-3.
- [10] Harborne. 1994. *Metode Fitokimia*. Diterjemahkan oleh Radmawinata, K dan Soediso, I. Bandung: ITB Press. Hal : 102-235
- [11] Kuspradini, Harlinda., Dwi Susanto., Ritmaleni., Tohru Mitsunaga. 2012. Phytochemical and comparative study of anti microbial activity of *Lepisanthes amoena* Leaves Extrac. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare Vol.2 , No.11, 2012.*
- [12] Jelita, Sheila Frizqia., Gita Widi Setyowati., Michelle Ferdinand., Ade Zuhrotun., Sandra Megantara.2020. Uji Toksisitas Infusa *Acalypha Siamensis* Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Farmaka Volume 18 Nomor .*