

Acute Toxicity Test of Kopasanda (*Chromolaena odorata* L) Leaves Ethanol Extract Using Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) Method

Suwahyuni Mus, Sitti Rahimah Burhanuddin Taebe, Musrifah, Lukman Muslimin
Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar

Artikel info

Diterima : 23 Sep 2020
Direvisi : 14 Des 2020
Disetujui : 18 Des 2020

Keyword

Chromolaena odorata L
BSLT
LC50

ABSTRACT

Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) is one of the plants used empirically by the community as a burn medicine and antioxidant. Kopasanda plants contain flavonoid compounds, saponins, triterpenoids, alkaloids, and tannins. This study aims to determine the acute toxicity potential of the ethanol extract of kopasanda leaves using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method with concentrations of 10, 20, 30, 40 and 50 ppm and sea water as a control. The death of *Artemia salina* Leach were observed for 24 hours which were carried out every hour for the first 6 hours then at 12, 18 and 24 hours. The results showed that the ethanol extract of kopasanda leaves had moderate toxicity with an LC₅₀ value was 101.62 ppm.

Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

Kata kunci

Chromolaena odorata L
BSLT
LC50

ABSTRAK

Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) merupakan salah satu tanaman yang digunakan secara empiris oleh masyarakat sebagai obat luka bakar dan antioksidan. Tanaman kopasanda mengandung senyawa flavonoid, saponin, triterpenoid, alkaloid dan tanin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi toksisitas akut ekstrak etanol daun kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dengan konsentrasi 10, 20, 30, 40 dan 50 bpj serta air laut sebagai kontrol. Pengamatan terhadap kematian *Artemia salina* Leach diamati selama 24 jam yang dilakukan setiap jam pada 6 jam pertama selanjutnya pada jam ke 12, 18 dan 24. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak etanol daun kopasanda memiliki daya toksisitas yang tergolong sedang dengan nilai LC₅₀ sebesar 101,62 bpj.

PENDAHULUAN

Daun kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) merupakan salah satu tumbuhan yang dimanfaatkan sebagai obat oleh masyarakat di Indonesia. Tumbuhan ini telah dikenal sebagai tumbuhan obat dan tersebar di Amerika Utara, Asia, Afrika Barat dan Australia. Di Indonesia, khususnya masyarakat di wilayah Makassar menggunakan daun kopasanda sebagai obat luka dan antioksidan (Nurhajanah *et al.*, 2020; Rasyid *et al.*, 2020; Sirinthipaporn & Jiraungkoorskul, 2017; Vijayaraghavan *et al.*, 2017). Penelitian yang telah dilakukan oleh Sumardi *et al.* (2018) tentang adanya senyawa aktif yang terdapat pada daun kopasanda yaitu golongan senyawa flavonoid, saponin, triterpenoid, alkaloid dan tanin yang kaya akan manfaat (Sumardi *et al.*, 2018). Salah satunya dapat mencegah pertumbuhan sel kanker (Yu *et al.*, 2015).

Kopasanda termasuk tumbuhan yang merugikan karena menyebabkan diare pada ternak yang mengonsumsinya dan jika dikonsumsi terlalu banyak dapat menyebabkan keracunan bahkan kematian pada ternak. Kandungan nitrat yang tinggi dapat menyebabkan aborsi selain itu dapat meracuni daun dan tunas muda tanaman kebun. Ekstrak daun kopasanda memiliki aktivitas anti proliferasi terhadap sel leukemia L1210 dengan nilai IC_{50} 9,30 $\mu\text{g/mL}$ (Fitrah *et al.*, 2017). Suatu ekstrak tanaman dikatakan aktif atau positif menghambat pertumbuhan sel pada uji proliferasi sebagai zat anti kanker bila $IC_{50} \leq 50 \mu\text{g/mL}$ (Manggau *et al.*, 2013; Pakki *et al.*, 2019).

Mengingat pemanfaatan daun kopasanda di masyarakat masih berdasarkan pengalaman yang turun-temurun, maka sangat diperlukan informasi ilmiah mengenai keamanannya salah satunya uji toksisitas akut. Uji toksisitas akut merupakan suatu pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang muncul dalam waktu singkat setelah pemberian sediaan uji secara oral dalam dosis tunggal, atau dosis berulang yang diberikan dalam waktu 24 jam (Jumain *et al.*, 2018). 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.

Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui potensi toksisitas akut ekstrak daun kopasanda dengan metode BSLT.

METODE PENELITIAN

Sampel penelitian

Daun kopasanda diperoleh dari Kecamatan Biringkanaya Kota Makassar, Sulawesi Selatan dan dibuat dalam bentuk simplisia kering.

Ekstraksi

Ekstrak etanol daun kopasanda diperoleh dengan metode maserasi yaitu merendam simplisia daun kering kopasanda dalam etanol 70% selama 3 hari. Proses maserasi diulang sebanyak tiga kali dan ekstrak digabungkan. Pelarut diuapkan dan dipekatan

pada *rotary evaporator* (Rotavapor II Buchi®) untuk mendapatkan ekstrak etanol kental.

Penetasan larva udang

Penetasan larva *A. salina* dilakukan dengan cara merendam telur tersebut dalam air laut pada akuarium yang telah dipasang aerator dan diletakkan di ruang yang cukup cahaya selama 48 jam. Cahaya ini berfungsi untuk pertumbuhan larva. Dalam waktu \pm 48 jam telur akan menetas menjadi larva.

Uji toksisitas

Ekstrak dilarutkan dengan DMSO 2-3 tetes dan ditambahkan air laut hingga didapatkan seri konsentrasi (10 bpj, 20 bpj, 30 bpj, 40 bpj dan 50 bpj). Pengujian toksisitas dilakukan dengan metode BSLT. Pada kelompok uji dimasukkan sebanyak 10 ekor larva *A. salina* yang berumur 48 jam ke dalam masing-masing vial seri konsentrasi, sedangkan untuk kelompok kontrol dimasukkan 10 ekor larva ke dalam campuran air laut dan ragi, setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali (triplo). Pengamatan I dilakukan selama 6 jam dengan selang waktu 1 jam. Selanjutnya pengamatan II dilakukan pada jam ke 12, 18 dan 24. Kemudian data dianalisis dengan menggunakan analisis probit.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi

Hasil ekstraksi dengan metode maserasi diperoleh persentase rendemen sebesar 15,81%. Pemilihan metode ekstraksi ini karena merupakan metode yang sederhana, mudah, dan tanpa melalui proses pemanasan, sehingga kemungkinan rusaknya komponen senyawa kimia dapat diminimalisir. Proses penyarian dilakukan dengan cara merendam sejumlah serbuk simplisia dalam cairan penyari. Prinsip ekstraksi dengan metode maserasi adalah terjadinya proses difusi larutan penyari kedalam sel tumbuhan yang mengandung senyawa aktif. Difusi tersebut mengakibatkan tekanan osmosis dalam sel menjadi berbeda dengan keadaan di luar sel. Sehingga senyawa yang memiliki kepolaran yang sama dengan pelarut kemudian terdesak keluar karena adanya perbedaan tekanan osmosis di dalam sel dan di luar sel (Sari, *et al.*, 2016).

Daya toksisitas

Pemilihan metode BSLT karena merupakan salah satu cara yang paling banyak digunakan untuk mengetahui potensi batas keamanan dari suatu tanaman. Metode ini mudah, cepat dan sederhana. Uji toksisitas dapat diketahui dengan mengamati kematian hewan coba dalam hal ini *A. salina*, respons kematian ini dianggap sebagai pengaruh senyawa yang diuji yaitu pada sampel daun kopasanda. Uji toksisitas ini dapat diketahui dari jumlah kematian hewan karena pengaruh senyawa bahan alam pada dosis yang telah ditentukan (Nuralifah, *et al.*, 2018).

Artemia salina yang digunakan untuk pengujian toksisitas tersedia dalam bentuk telur. Sehingga, sebelum digunakan untuk pengujian, terlebih dahulu dilakukan penetasan telur dalam air laut dengan pencahayaan dan aerasi selama 48 jam. Fungsi dari pencahayaan adalah untuk memberikan rangsangan terhadap *A. salina* untuk menetas karena *A. salina*

Tabel 1 Rata-rata dan % kematian

Jam ke-	Jumlah larva <i>A. salina</i> yang mati tiap konsentrasi					LC50
	10 bpj	20 bpj	30 bpj	40 bpj	50 bpj	
1	0	0	0	0	0	101,62 bpj
2	0	0	0	0	0,3	
3	0	0	0	0,3	0	
4	0	0	0	0,3	0,3	
5	0	0,3	0,3	0	0,7	
6	0,3	0	0,3	0	0,7	
12	0	0,3	0,7	1	1	
18	0,3	0,7	0,3	1	0	
24	1	1	1	1,7	2	
Total kematian	5	7	8	13	15	
Rata-rata	1,7	2,3	2,7	4,3	5	
% kematian	16,66	23,33	26,66	43,33	50	

termasuk dalam organisme fototropik (Nuralifah *et al.*, 2018).

Untuk melarutkan ekstrak dengan air laut sering menimbulkan masalah karena adanya perbedaan tingkat kepolaran, ekstrak sukar larut dengan air laut sehingga digunakan DMSO untuk membantu melarutkan ekstrak. DMSO digunakan sebagai surfaktan yang memiliki ujung hidrofilik dan hidrofobik sehingga dapat melarutkan ekstrak dalam air laut. DMSO merupakan pelarut yang dapat melarutkan senyawa polar maupun non polar (Nuralifah, *et al.*, 2018). Penambahan suspensi ragi berfungsi sebagai sumber makanan *A. salina* dalam tiap vial, penambahan makanan ini penting untuk memastikan bahwa kematian *A. salina* bukan disebabkan karena kekurangan makanan. Jumlah *A. salina* yang mati dalam tiap vial dapat dihitung dengan cara manual dan mikroskopis. Kriteria standar untuk menilai kematian *A. salina* adalah bila tidak menunjukkan pergerakan selama beberapa detik observasi. Cara manual yaitu dengan mengamati larva di dalam vial dengan atau tanpa bantuan cahaya.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan pada ekstrak etanol daun kopasanda menggunakan seri konsentrasi 10, 20, 30, 40 dan 50 bpj serta air laut sebagai larutan kontrol dapat dilihat pada Tabel 1. Hasil analisis probit menunjukkan nilai LC_{50} dari ekstrak etanol daun kopasanda yaitu sebesar 101,62 bpj. Suatu ekstrak menunjukkan aktivitas ketoksikan dalam uji toksisitas jika ekstrak dapat menyebabkan kematian 50% hewan uji pada konsentrasi <1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (Sumardi *et al.*, 2018). Hal tersebut berkaitan dengan senyawa yang terdapat dalam ekstrak etanol daun kopasanda yaitu flavonoid, saponin, triterpenoid, alkaloid dan tanin pada kadar tertentu memiliki potensi toksisitas serta dapat menyebabkan kematian larva (Adedapo *et al.*, 2016; Kouamé *et al.*, 2013; Putri & Fatmawati, 2019). Mekanisme kematian larva berhubungan dengan fungsi senyawa fenolik, flavonoid dan tanin dalam daun kopasanda yang dapat menghambat daya makan larva (Neves *et al.*, 2017).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh maka dapat ditarik kesimpulan bahwa ekstrak etanol daun kopasanda memberikan efek toksisitas akut terhadap *A. salina* menggunakan metode BSLT yaitu dengan nilai LC_{50} sebesar 101,62 bpj (toksisitas sedang).

DAFTAR PUSTAKA

- Adedapo AA, Oyagbemi AA, Fagbohun OA, Omobowale TO, Yakubu MA. Evaluation of the anticancer properties of the methanol leaf extract of *Chromolaena odorata* on HT-29 cell line. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. **2016**;5(2); 52-57
- Fitrah M, Winarno H, Simanjuntak P. Isolasi dan identifikasi senyawa kimia zat anti kanker dari daun kopasanda (*Chromolaena odorata* (L.)) *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. **2017**;15(1); 77-81
- Jumain, Syahrini, Farid F. Uji toksisitas akut dan LD50 ekstrak etanol daun kirinyuh (*Eupatorium odoratum* Linn) pada mencit (*Mus musculus*). *Media Farmasi*. **2018**;14(1); 65-71
- Kouamé PB, Jacques C, Bedi G, Silvestre V, Loquet D, Barillé-Nion S, Robins RJ, Tea I. Phytochemicals isolated from leaves of *Chromolaena odorata*: Impact on viability and clonogenicity of cancer cell lines. *Phytotherapy Research*. **2013**;27(6); 835-40
- Manggau M, Lukman, Rusdi M, Hatta M, Sinrang WA, Subehan. Effect of an isolated active compound (BVI03) of *Boehmeria virgata* (Forst) Guill leaves on anti-proliferation in human cancer cervix HeLa cells through activation of caspase 3 and p53 protein. *Trop Med Surg*. **2013**;1(3); 1-4
- Neves RAF, Fernandes T, Santos LN, Nascimento SM. Toxicity of benthic dinoflagellates on grazing, behavior and survival of the brine shrimp *Artemia salina*. *PLOS ONE*. **2017**;12(4); e0175168
- Nuralifah, Jabbar A, Parawansah, Iko R. Uji toksisitas akut ekstrak etanol daun notika (*Archboldiodendron caloserium* (Kobuski)) terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan menggunakan metode brine shrimp lethality test (BSLT). *Majalah Farmasi, Sains, dan*

- Kesehatan Pharmauho. **2018**;4(1); 1-5
- Nurhajanah M, Agussalim L, Iman SZ, Hajiriah TL. Analisis kandungan antiseptik daun kopasanda (*Chromolaena odorata*) sebagai dasar pembuatan gel pada luka. Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi. **2020**;8(2); 284-93
- Pakki E, Alam G, Usmar, Syukur R, Muslimin L. Anticancer activity of selected medicinal plants indigenous to Duri ethnic. Int J Pharm Sci Res. **2019**;11(Supplementary 1); 602-08
- Putri DA, Fatmawati S. A new flavanone as a potent antioxidant isolated from *Chromolaena odorata* L. leaves. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. **2019**; e1453612
- Rasyid SA, Sugireng, Surya RA, Sanatang, Rosdarni, Natalia WOR. The antibacterial activity of tembelekan leaf (*Lantana camara* L.) and kopasanda leaf (*Chromolaena odorata* L.) extracts against *Staphylococcus aureus*. Infectious Disease Reports. **2020**;12(Suppl 1); 8734-34
- Sirinthipaporn A, Jiraungkoorskul W. Wound healing property review of siam weed, *Chromolaena odorata*. Pharmacognosy Reviews. **2017**;11(21); 35-38
- Sumardi, Husori D, Julianto T, Fauza R, Eliska E. Toksisitas ekstrak daun kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) terhadap larva *Artemia salina* Leach. Jurnal Keperawatan dan Kebidanan Nersmid. **2018**;1(1); 58-65
- Vijayaraghavan K, Rajkumar J, Bukhari SNA, Al-Sayed B, Seyed MA. *Chromolaena odorata*: A neglected weed with a wide spectrum of pharmacological activities (Review). Molecular Medicine Reports. **2017**;15(3); 1007-16
- Yu Z, Zhang T, Zhou F, Xiao X, Ding X, He H, Rang J, Quan M, Wang T, Zuo M, Xia L. Anticancer activity of saponins from *Allium chinense* against the B16 melanoma and 4T1 breast carcinoma cell. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. **2015**; e725023