

TOXICITY TEST DIETHYL ETHER EKSTRAKT *Oxalis corniculata* L. HERB ON BRINE SHRIMP LETHALITY TEST METHOD

Herwin, Rachmat Kosman, Muzakkir Baits

Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia

Email : herwinfarmasi@gmail.com

ABSTRACT

Research toxicity effect of standar dietil eter ekstrak *Oxalis corniculata* L. herb at *Artemia salina* Leach with purpose to determine toxicity potencial and LC_{50} value *Oxalis corniculata* L. herb on brine shrimp lethality test method. The result of this research shows that diethyl ether ekstrak *Oxalis corniculata* L. herb at concentration 100, 50, 5, 1, 0.5, 0.1, 0.05, 0.01 $\mu\text{g/ml}$ and controler is diethyl ether. Presentation data of *Artemia salina* Leach larvae was analyzed with probit analysis to count LC_{50} . Ekstrak is toxic if LC_{50} value $< 1000 \mu\text{g/ml}$. So obtained that diethyl ether ekstrak *Oxalis corniculata* L. herb is toxic to *Artemia salina* Leach larvae with $LC_{50} 4,17 \pm 2,59 \mu\text{g/ml}$.

Key words : *Oxalis corniculata* L., Toxicity, Brine Shrimp Lethality Test.

PENDAHULUAN

Keanekaragaman hayati yang ada di bumi ini tak hanya digunakan sebagai bahan pangan atau hiasan, tetapi juga bermanfaat sebagai bahan untuk mengobati berbagai penyakit. Tanaman yang ada, terutama yang tumbuh di Indonesia dikenal sebagai bahan yang ampuh sebagai obat dan digunakan sebagai bahan obat tradisional.

Belakangan ini telah banyak dilakukan penelitian mengenai tanaman yang berpotensi sebagai obat tradisional. Salah satu tanaman tradisional yang diteliti adalah belimbing tanah (*Oxalis corniculata* L.).

Herba belimbing tanah (*Oxalis corniculata* L.) merupakan tumbuhan yang digunakan sebagai obat tradisional oleh masyarakat Mamuju Sulawesi barat yaitu obat flu dan batuk. Secara empiris herba belimbing tanah (*Oxalis corniculata* L.) digunakan untuk mengatasi demam, flu, diare, radang hati (hepatitis), radang tenggorokan, infeksi saluran kencing, terlambat haid, hipertensi dan neurasthenia (kelemahan badan). Dan dilaporkan mengandung karbohidrat, glikosida, phytosterol, asam oksalat, saponin, flavonoida, polifenol, asam amino, protein 12,5%, volatile oil dan tanin. Selain itu ia juga kaya

dengan vitamin B, zat besi dan kalsium. Daunnya pula mengandung sedikit selulosa (Vijayanagar, *et.all*, 2010). Dan secara KLT-Bioautografi dan difusi agar ekstrak dietil eter terstandar herba belimbing tanah (*Oxalis corniculata* L.) sangat potensial memberikan aktivitas terhadap beberapa mikroba patogen (Herwin, 2013).

Untuk mengetahui toksisitas suatu ekstrak maka dilakukan pengujian toksisitas dimaksudkan untuk memaparkan adanya efek toksik dan batas keamanan penggunaan suatu tanaman sebagai obat tradisional (Cassaret and Doull's, 1991). Suatu ekstrak dinyatakan bersifat toksik menurut metode *Brine Shrimp Lethality Test* jika memiliki *Lethal Concentration* (LC₅₀) kurang dari 1000 µg/ml (Meyer, 1982). Jika hasil uji *Brine Shrimp Lethality Test* menunjukkan bahwa ekstrak tumbuhan bersifat toksik maka dapat dikembangkan ke penelitian yang lebih lanjut berupa penelitian sitotoksik tumbuhan sebagai pengembangan obat antikanker (Rosenda, 2009).

Berdasarkan uraian tersebut, maka akan dilakukan penelitian toksisitas ekstrak dietil eter herba belimbing tanah (*Oxalis corniculata* L.) terhadap larva udang (*Artemia salina*

Leach) dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* sehingga dapat diketahui tingkat toksisitas dari herba belimbing tanah (*Oxalis corniculata* L.)

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia Makassar. Pengujian toksisitas ekstrak dilakukan dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), dilaksanakan pada bulan Agustus - Oktober 2013.

Bahan dan Alat Penelitian

Bahan dalam penelitian ini adalah air laut, aquadest, ekstrak dietil eter herba belimbing tanah (*Oxalis corniculata* L.), etanol 70 %, dietil eter, ragi, dan telur udang (*Artemia salina* Leach).

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah aerator (Life Q₃), alat-alat gelas, lampu, mikropipet (Gilson), Rotavapor (IKA rv 10), seperangkat alat maserasi, timbangan kasar (Triple Beam), timbangan analitik (Ohaus) dan vial.

Presedur Penelitian

Belimbing tanah (*Oxalis corniculata* L.) yang diperoleh dari Mamuju Sulawesi Barat terlebih dahulu disortasi dengan tujuan untuk memisahkan kotoran-kotoran yang

melekat pada sampel sehingga sampel yang dibutuhkan sesuai dengan yang diperlukan. Proses pemisahan kotoran dilakukan dengan air mengalir hingga bersih dan diangin-anginkan diudara bebas dan tidak terkena matahari secara langsung sehingga diperoleh simplisia dan diekstraksi.

Ekstraksi Sampel

Ekstraksi secara maserasi dengan pelarut etanol

Sampel beruwah laut (*Scaevola taccada* (Gaertn.) Roxb.) yang telah dikeringkan, ditimbang sebanyak 300 gram kemudian dimasukkan ke dalam wadah maserasi. Ditambahkan etanol 70% hingga simplisia tersebut terendam seluruhnya sebanyak 5 liter dan dibiarkan selama 5 hari dengan pegadukan beberapa kali. Ekstrak cair yang diperoleh diuapkan dengan menggunakan rotavapor hingga diperoleh ekstrak etanol kental.

Ekstraksi dengan pelarut n-heksan

Ekstrak etanol yang diperoleh kemudian dipartisi padat-cair menggunakan pelarut n-heksan. Ekstrak etanol kental ditimbang sebanyak 30 gram disuspensikan sebanyak 30 ml n-heksan dalam corong pisah, dikocok sampai merata dan didiamkan sampai terjadi pemisahan dari fase residu dan fase n-heksan, dipisahkan fase fase n-heksan

kemudian fase residu dimasukkan kembali ke dalam corong pisah dan diekstraksi lagi dengan n-heksan dan dilakukan hingga jernih. Fraksi n-heksan yang diperoleh dari beberapa kali penyaringan disatukan kemudian diuapkan hingga diperoleh fraksi kental.

Ekstraksi dengan pelarut dietil eter

Residu dari n-heksan yang diperoleh kemudian dipartisi padat-cair menggunakan pelarut dietil eter. Residu n-heksan disuspensikan dengan sebanyak 30 ml dietil eter ke dalam corong pisah, dikocok sampai merata dan didiamkan sampai terjadi pemisahan dari fase residu dan fase dietil eter, dipisahkan fase residu dan fase dietil eter kemudian fase residu dimasukkan kembali ke dalam corong pisah dan diekstraksi lagi dengan dietil eter, dilakukan hingga jernih. Fraksi dietil eter yang diperoleh dari beberapa kali penyaringan disatukan kemudian diuapkan sampai mendapatkan fraksi kental.

Penetasan telur larva *Artemia salina* Leach (Meyer, 1982)

Sebanyak 50 gram telur *Artemia salina* Leach, direndam dalam wadah yang berisi 200 ml air laut pada kondisi pH 7 dibawah cahaya lampu dan dilengkapi dengan aerator pada suhu 25⁰C. Telur udang akan menetas

setelah 24 jam dan menjadi larva. Larva yang berumur 2 hari (48 jam) yang akan digunakan sebagai hewan uji.

Pengujian toksisitas ekstrak dietil eter terstandar herba belimbing tanah (*Oxalis corniculata* L.)

Ekstrak dietil eter kental ditimbang sebanyak 100 mg dilarutkan dengan dietil eter 10 ml sehingga diperoleh konsentrasi 100 mg/10 ml sebagai larutan persediaan (stok). Dari sediaan tersebut dipipet 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 50 dan 100 µl/ml, selanjutnya dietil eter diuapkan. Untuk kontrol yaitu pelarut dietil eter 10 µl dalam 10 ml air laut, kemudian dipipet 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 50, dan 100 µl/ml ke dalam masing-masing vial.

Ke dalam masing-masing vial yang berisi fraksi dietil eter dan kontrol dengan konsentrasi 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 50 dan 100 µl/ml ditambahkan 5 ml air laut, lalu dimasukkan 10 ekor larva udang *Artemia salina* Leach. Ke dalam tiap vial ditambahkan 1 tetes suspensi ekstrak ragi (3 mg dalam 5 ml air laut) sebagai sumber makanan. Dicumukkan volumenya sampai 10 ml. Vial-vial uji kemudian disimpan di tempat yang cukup mendapat sinar lampu. Setelah 24 jam dilakukan pengamatan terhadap jumlah larva yang mati. Untuk tiap sampel dan kontrol dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali.

HASIL PENELITIAN

Tabel 1. Hasil Determinasi Herba Belimbing Tanah (*Oxalis corniculata* L.) Asal Mamuju Sulawesi Barat

No.	Nama Tumbuhan Indonesia	Nama Tumbuhan Mamuju	Nama Species
1.	Calincing	Belimbing Tanah	<i>Oxalis corniculata</i> L.

Tabel 2. Hasil Ekstraksi Simplisia Herba Belimbing Tanah (*Oxalis corniculata* L.) Asal Mamuju Sulawesi Barat

Berat Simplisia (gram)	Ekstrak Etanol (gram)	Ekstrak Etanol Yang Dipartisi (gram)	Ekstrak Dietil Eter (gram)	Residu (gram)
700	75	50	38	8

Tabel 3. Data Hasil Pengamatan Kematian Larva Udang *Artemia salina* Leach setelah 24 Jam Perlakuan

No	Konsentrasi (%)	Jumlah Rata-Rata Yang Mati	Jumlah Rata-Rata Yang Hidup
1.	0.01	0	10
2.	0.05	2	8
3.	0.1	3	7
4.	0.5	3	7
3.	1	4	6
4.	5	5	5
5.	10	6	4
6.	50	7	3
7.	100	8	2

PEMBAHASAN

1. Determinasi Tumbuhan Belimbing Tanah (*Oxalis corniculata* L.) Asal Mamuju Sulawesi Barat

Berdasarkan hasil determinasi tumbuhan belimbing tanah (*Oxalis corniculata* L.) dari laboratorium Farmakognoni-Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia dan LIPI Indonesia diperoleh bahwa sampel yang digunakan bernama Calincing/Belimbing tanah dengan species *Oxalis corniculata* L., terlihat pada tabel 1.

2. Ekstraksi Herba Belimbing Tanah (*Oxalis corniculata* L.)

Simplisia kering sebanyak 700 gram diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 96% diperoleh 75 gram ekstrak etanol kering. Dengan 50 gram ekstrak etanol kering dipartisi

dengan metode padat cair diperoleh 38 gram ekstrak dietil eter dan 8 gram residu, terlihat pada tabel 2.

3. Pengujian toksisitas ekstrak dietil eter belimbing tanah (*Oxalis corniculata* L.) terhadap kelinci janta (*Oryctolagus cuniculus*) dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BST)

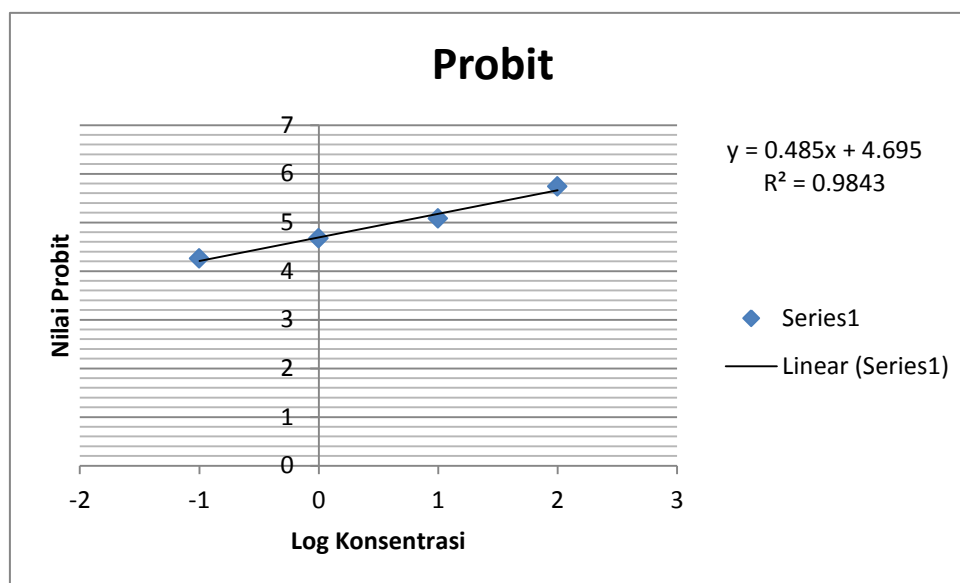
Ekstrak dietil eter terstandar herba belimbing tanah (*Oxalis corniculata* L.) dengan konsentrasi 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 50, 100 µg/ml dan dietil eter sebagai pembanding dengan konsentrasi yang sama diujikan terhadap larva udang *Artemia salina* Leach dengan parameter kematian setelah 24 jam perlakuan sebagai respon toksisitas, jumlah kematian larva udang pada tiap-tiap konsentrasi dapat dilihat pada tabel 3.

4. Grafik Hubungan Log Konsentrasi Ekstrak Dietil Eter

Terstandar Herba Belimbing Tanah (*Oxalis corniculata* L.) Terhadap Harga Probit Sesuai Persentase Kematian

Hasil dari analisis probit menunjukkan nilai LC_{50} dari ekstrak dietil eter terstandar herba Belimbing Tanah (*Oxalis corniculata*

L.) adalah $4,17 \pm 2,59 \mu\text{g/ml}$. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak dietil eter terstandar herba Belimbing Tanah (*Oxalis corniculata* L.) bersifat toksik dan memiliki potensi sebagai antikanker dengan nilai $R^2 = 0.984$, terlihat pada grafik dibawah :



KESIMPULAN

Hasil penelitian dan hasil analisis probit disimpulkan bahwa ekstrak dietil eter terstandar herba belimbing tanah (*Oxalis corniculata* L.) bersifat toksik dan memiliki potensi sebagai antikanker dengan nilai LC_{50} $4,17 \pm 2,59 \mu\text{g/ml}$.

DAFTAR PUSTAKA

Anonim. 2011. *Plantamor Situs dunia tumbuhan*, (Online), (<http://www.plantamor.com/index.php?Plant=928>, Diakses 2 Agustus 2013).

Alam, G. 2002. *BST Sebagai Bioassay Dalam Isolasi Senyawa Bioaktif dari Bahan Alam*. Majalah Farmasi dan Farmakologi, vol 6.

Casarett, L.J., and Doull J., 1991. *Toxicology, The Basic Science of Poison*, First Edition, Mac Millan Publishing, Co, Inc, New York.

Ditjen POM., 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta : Departemen Kesehatan RI. 10-15

LIPI, 2011. Hasil Identifikasi / Determinasi Tumbuhan. (Laporan Penelitian

Toxicity Test Diethyl Ether Ekstract Oxalis corniculata L. Herb On Brine Shrimp Lethality Test Method

- No.1178/IPH.1.02/if.8/VIII/2011). Lembaga Ilmu Penelitian Indonesia : Cibinong.
- Loomis, T.A., 1978, *Toksikologi Dasar*, edisi III, penerjemah Imono Argo, IKIP Semarang Press.
- McLaughlin, J.E., 1991. *A Blind Comparison of Simple Benzch Top Bioassay and Human Tumor Cell Cytotoxicities as Antitumor Prescreens, Natural Product Chemistry*. Elsvier, Amsterdam.
- Meyer, B.N., Ferrigni, N. R., Putman, J. E., Jacobsen, L. B., Nicols, D.E., and McLaughlin, J. L. 1982. *Brine Shrimp : A Comvenient General Bioassay For Active Plant Constituent*. Plant Medica.
- Mudjiman, A. 1989. *Udang Renik Air Asin*. Brata Karya Aksara, Jakarta.
- Mukono, H.J. 2005. *Toksikologi Lingkungan*. Airlangga University Press, Surabaya.
- Priyanto. 2009. *Toksikologi. Mekanisme, Terapi Antidotum dan Penilaian Resiko*. Lembaga Studi dan Konsultasi Farmakologi (Leskonfi), Depok.
- Ramadhani, Ahmad Nur. 2009. *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Sukun (Artocarpus altilis) Terhadap Larva Artemia Salina Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BST)*. Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro, Semarang.
- Rosenda, E.H. Anandita dan Suhardjono. 2009. *Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Kemangi (Ocimum sanctum Linn.) Terhadap Larva Artemia salina Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test*. Majalah Farmasi Indonesia, Semarang.
- Soemirat, Juli dkk. 2009. *Toksikologi Lingkungan*. Gadjah Mada Uiversity Press, Yogyakarta.
- Steenis, Van.C.G.G.J. dkk. 2008. *Flora*. PT. Pradnya Paramita: Jakarta .