

UJI TOKSISITAS EKSTRAK DAUN BERUWAS LAUT (*Scaevola taccada*) DENGAN METODE BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BSLT)

*Toxicity Test of Beach Naupaka Leaves (*Scaevola taccada*) Extract Using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) Method*

Mutia Sari ¹⁾, Azwin Apriandi ¹⁾, Made Suhandana ¹⁾

¹⁾*Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Ilmu Kelautan Dan Perikanan, Universitas Maritim Raja Ali Haji*

Korespondensi : mutiasari4504@gmail.com

Diterima : 16 Februari 2020; Disetujui : 28 Maret 2020

ABSTRACT

Beach Naupaka leaves (*Scaevola taccada*) originating from the coast of Tanjung Siambang, Riau Islands are thought to have secondary metabolites. This study aims to determine the level of toxicity and active compounds in young leaves and old leaves with marine characteristics. Extraction of active compounds is done in two ways, namely extraction without using solvents to produce crude extracts and extraction using chloroform solvents to produce crude extracts of chloroform. Each extract was tested for toxicity against *Artemia salina* Leach shrimp larvae. The results showed that the toxicity of crude extracts from beach naupaka leaves against shrimp larvae of *Artemia salina* Leach obtained LC₅₀ values, namely crude extracts of young leaves and old leaves of beach naupaka amounted to 6006.20 ppm and 59841.16 ppm. Whereas crude chloroform extracts of young and old beach naupaka leaves are 410204.10 ppm and 7153.19 ppm. Phytochemical test results show that crude extract and crude extract of chloroform are steroids and reducing sugars. This result was reinforced by TLC using the best eluent, for crude extracts young leaves of eluent chloroform produced 7 spots with an R_f value of 0.088-0.213. Crude extract old leaves of eluent chloroform produced 7 spots with an R_f value of 0.169-0.263. Crude extract of chloroform young leaves of eluent metanol:chloroform (1:1) produced 10 spots with an R_f value of 0.025-0.275. And crude chloroform extract old leaves of eluent chloroform produced 11 spots with an R_f value of 0.006-0.281.

Keywords: marine habit, phytochemistry, TLC, toxicity

ABSTRAK

Daun beruwass laut (*Scaevola taccada*) yang berasal dari pantai Tanjung Siambang, Kepulauan Riau diduga memiliki senyawa-senyawa metabolit sekunder. Senyawa-senyawa tersebut kemungkinan merupakan senyawa bioaktif yang dapat digunakan dalam dunia farmakologi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat toksisitas dan senyawa aktif pada daun muda dan daun tua beruwass laut. Ekstraksi senyawa aktif dilakukan dengan dua cara yaitu ekstraksi tanpa menggunakan pelarut menghasilkan ekstrak kasar dan ekstraksi menggunakan pelarut kloroform menghasilkan ekstrak kasar kloroform. Masing-masing ekstrak diuji toksisitasnya terhadap larva udang *Artemia salina* Leach. Hasil penelitian menunjukkan bahwa hasil uji toksisitas ekstrak kasar daun beruwass laut terhadap larva udang *Artemia salina* Leach diperoleh nilai LC₅₀ yaitu ekstrak kasar daun muda dan daun tua beruwass laut sebesar 6006,20 ppm dan 59841,16 ppm. Sedangkan ekstrak kasar kloroform daun muda dan daun tua beruwass laut sebesar 410204,10 ppm dan 7153,19 ppm. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahawa ekstrak kasar dan ekstrak kasar kloroform adalah steroid dan gula pereduksi. Hasil ini diperkuat dengan KLT menggunakan eluen terbaik, untuk ekstrak kasar daun muda uluen kloroform menghasilkan 7 spot dengan nilai R_f 0,088-0,213. Ekstrak kasar daun tua uluen kloroform menghasilkan 7 spot dengan nilai R_f 0,169-0,263. Ekstrak kasar kloroform daun muda uluen metanol:kloroform (1:1) menghasilkan 10 spot dengan nilai R_f 0,025-0,275. Dan Ekstrak kasar kloroform daun tua uluen kloroform menghasilkan 11 spot dengan nilai R_f 0,006-0,281.

Kata kunci : beruwass laut, fitokimia, KLT, toksisitas

PENDAHULUAN

Di alam terdapat banyak sekali tumbuhan yang mengandung antioksidan. Antioksidan merupakan zat penangkal radikal bebas yang memiliki peranan penting dalam menghambat proses oksidasi lipida. Antioksidan juga sangat bermanfaat dalam pencegahan timbulnya berbagai penyakit. Peranan antioksidan sangat penting dalam menetralkan dan menghancurkan radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan sel dan juga merusak biomolekul, seperti DNA, protein, dan lipoprotein di dalam tubuh yang akhirnya dapat memicu terjadinya penyakit degeneratif seperti kanker, jantung, artritis, katarak, diabetes dan hati (Filbert *et al.* 2014). Antioksidan memiliki kemampuan untuk menetralkan radikal bebas tanpa menjadi radikal bebas itu sendiri. Antioksidan banyak terdapat pada sayuran, buah-buahan dan tumbuhan obat (Najihudin *et al.* 2017). Salah satu tumbuhan yang berpotensi sebagai antioksidan yang berasal dari tumbuhan obat yaitu beruwah laut (*Scaevola taccada*).

Tumbuhan *S. taccada* merupakan tumbuhan yang habitatnya berada pada daerah pesisir pantai, salah satunya terdapat di Kepulauan Riau. Tumbuhan ini hidup di tanah pasir berkerikil dan berfungsi sebagai pencegah erosi pantai. Oleh masyarakat pesisir secara empiris, tumbuhan *S. taccada* digunakan sebagai obat-obatan. Beberapa bagian tumbuhan yang dimanfaatkan menjadi obat diantaranya daun digunakan sebagai obat tetes telinga dan buah digunakan sebagai obat tetes mata (Rudianto *et al.* 2019). Skrining fitokimia awal *S. taccada* menunjukkan adanya protein, fenol, karbohidrat dan glikosida (Manimegalai *et al.* 2012).

Tumbuhan *S. taccada* memiliki nilai aktivitas antioksidan (IC_{50}) adalah 27,06 ppm (Dahlia *et al.* 2013). Antioksidan yang baik adalah antioksidan yang memiliki nilai IC_{50} kurang dari 200 ppm. Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin baik untuk menangkal radikal bebas.

Hasil penelitian Rudianto *et al.* (2019) aktivitas antioksidan *S. taccada* memperoleh nilai IC_{50} pada ekstrak kloroform daun sebesar 0,1944 ppm, IC_{50} pada ekstrak metanol daun sebesar 0,1034 ppm. Kandungan antioksidan pada tumbuhan ini menjadi bukti ilmiah atas pengetahuan empiris masyarakat pesisir mengenai tumbuhan obat *S. taccada*.

Tumbuhan obat berkhasiat karena kandungan senyawa aktif didalamnya. Senyawa tersebut umumnya adalah senyawa metabolit sekunder. Tumbuhan menghasilkan metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antioksidan, zat pewarna, penambah aroma makanan, parfum, insektisida dan obat (Ergina *et al.* 2014). Saat ini penggunaan senyawa antioksidan berkembang pesat untuk penambahan pada makanan dan obat-obatan, akan tetapi tumbuhan obat yang digunakan perlu diawali dengan uji pre-klinis toksisitas untuk memprediksi tingkat keamanannya. Pengetahuan tentang khasiat dan keamanan tumbuhan obat di Indonesia biasanya hanya berdasarkan pengalaman empiris yang diwariskan secara turun temurun dan belum teruji secara ilmiah. Dalam penggunaan tumbuhan obat, perlu diketahui keamanannya agar tidak menimbulkan efek berbahaya yang tidak diinginkan. Namun, masih banyak tanaman yang belum diketahui kadar toksisitasnya, sehingga perlu diteliti lebih lanjut. Oleh sebab itu perlu dilakukan pengujian lebih lanjut pada hewan uji untuk melihat ada tidaknya efek toksik untuk menjamin keamanan penggunaannya.

Uji toksisitas diperlukan untuk menilai keamanan bahan yang dipakai sebagai obat, suplemen ataupun makanan. Salah satu metode yang digunakan untuk mengetahui aktivitas toksik dari suatu ekstrak atau senyawa bahan alam adalah *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Suatu ekstrak atau senyawa bahan alam yang bersifat toksik pada metode BSLT ($LC_{50} < 1000$ ppm) dapat dikembangkan lebih lanjut sebagai obat antikanker (Setyowati dan Cahyanto 2016). Oleh karena itu

untuk mengetahui tingkat toksisitas ekstrak daun *S. taccada* perlu dilakukan uji menggunakan metode BSLT dengan melihat persentase mortalitas hewan uji larva *Artemia salina* Leach.

METODE

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi *hot plate*, pisau, blender, *oven*, timbangan analitik, kaca arloji, tabung reaksi, batang pengaduk, pipet tetes, mikropipet, penjepit, *beaker glass*, *rubber bulb*, *erlenmeyer*, gelas ukur, corong kaca, aluminium foil, kertas saring, labu ukur, plat silika GF₂₅₄, pipa kapiler, aerator, botol vial, wadah penetasan, lampu penerang.

Bahan utama yang digunakan untuk penelitian ini adalah daun *S. taccada*. Bahan-bahan yang dibutuhkan untuk uji fitokimia meliputi asam sulfat 2 N, pereaksi Wagner, pereaksi Meyer, pereaksi Dragendroff (uji alkaloid), kloroform, anhidra asetat, asam sulfat pekat (uji steroid), serbuk magnesium, amil alkohol, alkohol (uji flavonoid), air panas, larutan HCl 2 N (uji saponin), pereaksi benedict (uji benedict), pereaksi biuret (uji biuret), dan larutan ninhidrin 0.1% (uji ninhidrin). Bahan-bahan yang dibutuhkan untuk pemisahan senyawa ekstrak menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yaitu ekstrak kasar dan ekstrak kasar kloroform daun muda dan daun tua *S. taccada*, metanol, dan kloroform. Bahan-bahan yang dibutuhkan untuk uji toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) yaitu ekstrak kasar dan ekstrak kasar kloroform daun muda dan daun tua *S. taccada*, telur *A. salina* Leach, air laut, dan ragi roti.

Pengambilan Sampel dan Karakterisasi

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun muda dan daun tua beruas laut (*S. taccada*) berasal dari Pantai Tanjung Siambang, Tanjungpinang, Kepulauan Riau. Pengamatan morfologi dilakukan dengan metode deskriptif, dengan pengamatan dan pengukuran terhadap bentuk, ukuran

dan jumlah dari karakter-karakter yang diamati. Untuk membedakan daun muda dan daun tua *S. taccada*, bagian yang diamati adalah warna dan tekstur daun (Rahayu et al. 2015).

Rendemen merupakan persentase perbandingan antara berat bagian bahan yang dapat dimanfaatkan dengan berat total bahan (Nurjanah et al. 2011). Setelah sampel diperoleh, dilakukan penentuan ukuran dan berat rata-rata dari daun muda dan daun tua *S. taccada* masing-masing sebanyak 30 daun secara acak. Nilai rendemen yang tinggi menunjukkan banyaknya hasil pemisahan yang digunakan sebagai sampel dibandingkan bagian sampel yang tidak digunakan.

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Bobot bagian daun beruas laut yang digunakan (g)}}{\text{Bobot utuh daun beruas laut (g)}} \times 100$$

Ekstraksi *S. taccada*

Pada tahap ini daun muda dan daun tua *S. taccada* diekstraksi dengan dua cara yaitu tanpa menggunakan pelarut dan menggunakan pelarut. Proses ekstraksi tanpa menggunakan pelarut dilakukan dengan cara 1 kg daun muda dan daun tua *S. taccada* dalam keadaan masih segar dipotong kecil-kecil dan dihaluskan menggunakan blender, sehingga didapatkan tekstur yang halus. Kemudian diperas sehingga menghasilkan filtrat dan residu. Filtrat yang diperoleh berbentuk cairan dijadikan sebagai ekstrak kasar. Setelah itu dilakukan perhitungan rendemen ekstrak tersebut.

Proses ekstraksi menggunakan pelarut dilakukan dengan cara 1 kg daun muda dan daun tua dalam keadaan masih segar dipotong kecil-kecil dan dikeringkan dengan panas matahari sampai kering. Daun muda dan daun tua *S. taccada* yang telah dikeringkan tersebut kemudian dihancurkan dengan blender, sehingga didapatkan tekstur yang halus. Tahap selanjutnya adalah ekstraksi bahan aktif. Metode untuk ekstraksi menggunakan larutan adalah metode Quinn (1988) yang telah dimodifikasi. Pada metode ini menggunakan pelarut kloroform. Sampel

sebanyak 25 g yang telah dihancurkan, dimaserasi dengan pelarut kloroform sebanyak 100 ml selama 24 jam. Hasil maserasi yang berupa larutan kemudian disaring dengan kertas saring sehingga didapat filtrat dan residu. Filtrat yang dihasilkan dievaporasi menggunakan oven dengan suhu 50°C sampai diperoleh berupa ekstrak kasar kloroform berbentuk pasta.

Uji Fitokimia *S. taccada* (Harborne 1984)

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya komponen-komponen bioaktif yang terdapat pada ekstrak daun muda dan daun tua *S. taccada*. Analisis fitokimia meliputi uji alkaloid, steroid/triterpenoid, flavonoid, saponin, benedict, biuret dan ninhidrin. Uji fitokimia ini meliputi:

a. uji alkaloid

Sejumlah sampel dilarutkan dalam beberapa tetes asam sulfat 2 N kemudian diuji dengan pereaksi Wagner. Hasil uji dinyatakan positif bila dengan pereaksi Wagner terbentuk endapan coklat. Pereaksi Wagner dibuat dengan cara 10 ml akuades dipipet kemudian ditambahkan 2,5 g iodin dan 2 g kalium iodida lalu dilarutkan dan diencerkan dengan akuades menjadi 200 ml dalam labu takar. Pereaksi ini berwarna coklat.

b. uji steroid/ triterpenoid

Sejumlah sampel dilarutkan dalam 2 ml kloroform dalam tabung reaksi yang kering. Lalu, ke dalamnya ditambahkan 10 tetes anhidra asetat dan 3 tetes asam sulfat pekat. Terbentuknya larutan berwarna merah untuk pertama kali kemudian berubah menjadi biru dan hijau menunjukkan reaksi positif.

c. uji flavonoid

Sejumlah sampel ditambahkan serbuk magnesium 0,1 mg dan 0,4 ml amil alkohol (campuran asam klorida 37% dan etanol 95% dengan volume yang sama) dan 4 ml alkohol kemudian campuran dikocok. Terbentuknya warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol menunjukkan adanya flavonoid.

d. uji saponin

Saponin dapat dideteksi dengan uji busa dalam air panas. Busa yang stabil selama 30 menit dan tidak hilang pada penambahan 1 tetes HCl 2 N menunjukkan adanya saponin.

e. uji benedict

Larutan sampel sebanyak 8 tetes dimasukkan ke dalam 5 ml pereaksi Benedict. Campuran dikocok dan dididihkan selama 5 menit. Terbentuknya warna hijau, kuning, atau endapan merah bata menunjukkan adanya gula pereduksi.

f. uji biuret

Sebanyak 1 ml larutan sampel ditambahkan 4 ml pereaksi Biuret. Campuran dikocok dengan seksama. Terbentuknya larutan berwarna ungu menunjukkan hasil uji positif adanya peptida.

g. uji ninhidrin

Sebanyak 2 ml larutan sampel ditambah beberapa tetes larutan Ninhidrin 0,1 %. Campuran dipanaskan dalam penangas air selama 10 menit. Terjadinya larutan berwarna biru menunjukkan reaksi positif terhadap adanya asam amino.

Pemisahan Senyawa Dari Ekstrak Daun Beruwas Laut (*S. taccada*) Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) (Jannah 2014)

Identifikasi dengan KLT dilakukan dengan menggunakan plat silika gel F₂₅₄ sebagai fase diam. Plat silika diaktivasi terlebih dahulu di dalam oven pada suhu 60-70 °C selama 10 menit untuk menghilangkan air yang terdapat pada plat. Masing-masing ekstrak daun *S. taccada* plat disiapkan dengan ukuran 1x10 cm. Sebanyak 1000 mg ekstrak diencerkan dengan penambahan pelarut 1 mL yang memberikan hasil positif pada uji fitokimia, kemudian ditotolkan pada jarak ±1 cm dari tepi bawah plat silika gel F₂₅₄ dengan pipa kapiler dan dalam 1 tempat totolan diberikan 3-5 kali penotolan. Plat KLT tersebut kemudian dimasukkan dalam bejana kromatografi yang telah jenuh dengan larutan pengembang, kemudian dikeringkan plat silika gel. Eluen untuk pengembang ini dilakukan penjenuhan terlebih dahulu

dalam suatu bejana tertutup. Setelah fase gerak sampai pada garis batas elusi dihentikan. Noda-noda pada permukaan plat diamati kemudian pada masing-masing hasil nodanya ditentukan nilai Rf (*Rentetion factor*).

Uji Toksisitas dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) (Modifikasi Sharo *et al.* 2013)

Penetasan larva udang *A. salina* Leach dilakukan dengan cara dimasukkan 1 L air laut dalam wadah penetasan, kemudian dimasukkan 1 g telur *A. salina* Leach lalu diaerasi dan diberi pencahayaan. Telur akan menetas dalam waktu \pm 24 jam dan siap untuk digunakan sebagai target uji toksisitas pada umur 48 jam.

Perlakuan uji toksisitas dilakukan sebanyak 3 kali ulangan pada masing-masing ekstrak kasar dan ekstrak kasar kloroform daun muda dan daun tua *S. taccada*. Botol vial disiapkan untuk pengujian, masing-masing ekstrak membutuhkan 72 botol dan 3 botol sebagai kontrol.

Pada masing-masing ekstrak diperoleh dipipet masing-masing sebanyak 0 μ L (sebagai kontrol), 5 μ L, 25 μ L, 50 μ L, 100 μ L, 150 μ L dan 200 μ L, kemudian dimasukkan ke dalam botol vial dan pelarutnya diuapkan hingga kering. Selanjutnya dimasukkan setetes larutan ragi roti dan 10 ml air laut, kemudian dikocok sampai ekstrak dapat larut dalam air laut. Kemudian masing-masing botol dimasukkan 10 ekor larva udang *A. salina* Leach dan dilakukan pengamatan selama 24 jam terhadap kematian larva udang.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakterisasi Tumbuhan *S. taccada*

Tumbuhan *S. taccada* di sekitar pantai Tanjung Siambang, Tanjungpinang, Kepulauan Riau. *S. taccada* adalah semak padat yang menyebar yang membentuk gundukan bundar setinggi 1 hingga 3,5 m. *S. taccada*, juga dikenal sebagai kubis pantai, selada laut, beruwah laut, beruwah. Tumbuhan ini dapat ditemukan di wilayah pesisir Indo-

Pasifik, seluruh Laut Arab, Samudra Hindia dan Kepulauan Pasifik Tropis. *S. taccada* menyerupai semak besar yang mencapai ketinggian hingga sekitar 4 meter, karakteristik zona litoral dimana ia tumbuh sangat dekat dengan laut, umumnya tumbuh di tanah berpasir atau berkerikil (Sutar *et al.* 2017).

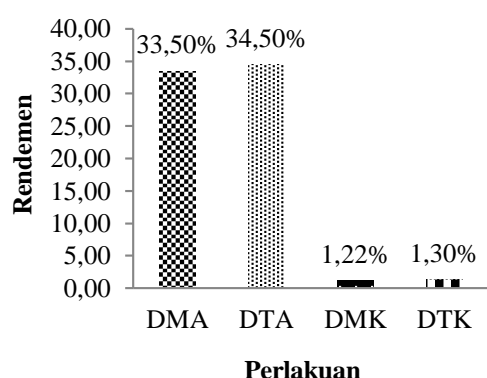
Sampel yang dalam penelitian ini adalah daun *S. taccada*. Daun *S. taccada* yang ditemukan dilokasi penelitian melebar kearah atas, berwarna hijau kekuningan dan mengkilat, tepinya melengkung dan permukaan daun seperti berlapis lilin, letak bersilang, bentuk bulat telur terbalik hingga elips dengan ujung daun membundar. Daun *S. taccada* terbagi menjadi dua yaitu daun muda dan daun tua. Daun muda *S. taccada* berwarna hijau muda (cerah) dan tekstur tipis lunak dengan panjang rata-rata 19,41 cm dan lebar 6,94 cm. Daun tua *S. taccada* berwarna hijau tua (pekat/gelap) dan tekstur tebal keras dengan panjang rata-rata 25,49 cm dan lebar 8,47 cm.

Pengukuran rendemen daun muda *S. taccada* menunjukkan lembaran daun terdapat 60,87 % dan tulang daun terdapat 39,13 %. Sedangkan pengukuran rendemen daun tua *S. taccada* menunjukkan lembaran daun terdapat 63,29 % dan tulang daun terdapat 36,71 %.

Ekstraksi Komponen Bioaktif Daun *S. taccada*

Ekstraksi pada penelitian ini menggunakan dua cara ekstraksi yaitu ekstraksi tanpa pelarut dan ekstraksi dengan pelarut. Ekstraksi tanpa pelarut menghasilkan ekstrak kasar berbentuk cairan sedangkan ekstrak dengan pelarut menggunakan pelarut kloroform menghasilkan ekstrak kasar kloroform berbentuk pasta.

Rendemen ekstrak merupakan perbandingan antara jumlah ekstrak yang dihasilkan dengan jumlah sampel awal yang diekstrak dan dinyatakan dalam persen (Nurjanah *et al.* 2011). Rendemen ekstrak daun *S. taccada* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Rendemen ekstrak daun *S. taccada* (DMA = ekstrak kasar daun muda, DTA = ekstrak kasar daun tua DMK = ekstrak kasar kloroform daun muda, DTK = ekstrak kasar kloroform daun tua)

Hasil perhitungan rendemen ekstrak *S. taccada* pada Gambar 1 menunjukkan bahwa ekstrak kasar daun tua menghasilkan 34,50 % sedangkan daun muda yang menghasilkan 33,50 %. Rendemen ekstrak kasar kloroform daun tua menghasilkan 1,30 % sedangkan daun muda yang menghasilkan 1,22 %. Hal ini menunjukkan bahwa rendemen yang paling banyak dihasilkan oleh daun tua *S. taccada*. Semakin tua daun *S. taccada* akan menghasilkan rendemen yang semakin tinggi. Hal ini sesuai dengan pendapat Jailani *et al.* (2015) menyatakan bahwa daun tua pada tanaman sudah memiliki jaringan yang lebih kompleks dibandingkan dengan daun muda.

Hasil Uji Fitokimia Daun *S. taccada*

Uji fitokimia yang dilakukan pada penelitian ini meliputi uji alkaloid, steroid, flavonoid, saponin, uji benedict, uji biuret dan uji ninhidrin. Adapun hasil uji fitokimia ekstrak kasar daun *S. taccada* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil analisis fitokimia ekstrak daun *S. taccada*

| Parameter | Daun Muda | | Daun Tua | |
|-----------|-----------|-----|----------|-----|
| | DMA | DMK | DTA | DTK |
| Alkaloid | - | - | - | - |

| (Wagner) | | | | |
|-----------|---|---|---|---|
| Steroid | + | + | + | + |
| Flavonoid | - | - | - | - |
| Saponin | - | - | - | - |
| Benedict | + | - | + | - |
| Biuret | - | - | - | - |
| Ninhidrin | - | - | - | - |

Keterangan:

+ (positif), - (negatif)

DMA = ekstrak kasar daun muda, DTA = ekstrak kasar daun tua

DMK = ekstrak kasar kloroform daun muda, DTK = ekstrak kasar kloroform daun tua

Hasil uji fitokimia pada Tabel 1 menunjukkan bahwa komponen bioaktif pada daun *S. taccada* yaitu senyawa steroid dan gula pereduksi. Hal ini disebabkan ekstrak yang diperoleh dari hasil proses ekstraksi pada penelitian ini masih berupa ekstrak kasar, sehingga perlu dilakukan pengujian lebih lanjut dengan menggunakan kromatografi, hal ini bertujuan untuk mengetahui komponen lain apa saja yang terkandung dalam ekstrak tersebut beserta jumlahnya.

Pada Tabel 1 menunjukkan bahwa senyawa steroid diketahui positif pada keempat sampel yaitu ekstrak kasar dan ekstrak kasar kloroform dari daun muda dan daun tua *S. taccada*. Steroid merupakan golongan lipid yang diturunkan dari senyawa jenuh yang memiliki inti dengan empat cincin. Beberapa turunan steroid yang penting adalah alkohol steroid/sterol (Radam dan Purnamasari 2016). Steroid merupakan golongan senyawa triterpenoid. Golongan senyawa tersebut diketahui mempunyai aktivitas bioinsektisida, antibakteri, antifungi, dan antidiabetes (Hidayah *et al.* 2016). Senyawa steroid dapat digunakan sebagai bahan dasar pembuatan obat. Hasil pengujian fitokimia selaras dengan data empiris yaitu daun *S. taccada* dapat dijadikan sebagai obat tetes telinga mengingat dimana senyawa steroid beerpotensi sebagai antibakteri.

Pada Tabel 1 menunjukkan pada pengujian benedict diketahui positif pada ekstrak kasar dari daun muda dan daun tua *S. taccada*. Hasil pengujian benedict

menandakan adanya gula pereduksi dalam ekstrak *S. taccada*. Gula pereduksi adalah monosakarida yang mereduksi senyawa lain seperti pereaksi benedict. Bila monosakarida dioksidasi akan menghasilkan senyawa bergugus karboksil, sedangkan pada waktu yang sama ion Cu^{2+} dalam pereaksi benedict direduksi menjadi Cu^+ (Hafiluddin 2011).

Hasil Pemisahan Senyawa Ekstrak Daun *S. taccada* Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Pemisahan ekstrak daun *S. taccada* dengan teknik KLT menggunakan plat silika gel F₂₅₄. Eluen yang digunakan pada ekstrak daun *S. taccada* meliputi ekstrak kasar daun muda yaitu kloroform, ekstrak kasar daun tua yaitu kloroform, ekstrak kasar kloroform daun muda yaitu metanol: kloroform (1:1), dan ekstrak kasar kloroform daun tua yaitu kloroform.

Hasil pemisahan menggunakan kromatografi lapis tipis didapatkan perbandingan nilai Rf pada daun muda dan tua *S. taccada* dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Perbandingan nilai Rf pada daun muda dan tua *S. taccada*

| Nilai Rf | Ekstrak daun <i>S. taccada</i> | | | |
|----------|--------------------------------|-------|-------|-------|
| | DMA | DTA | DMK | DTK |
| Rf1 | 0,088 | 0,169 | 0,025 | 0,006 |
| Rf2 | 0,163 | 0,175 | 0,038 | 0,050 |
| Rf3 | 0,175 | 0,188 | 0,075 | 0,069 |
| Rf4 | 0,188 | 0,206 | 0,113 | 0,088 |
| Rf5 | 0,200 | 0,238 | 0,138 | 0,100 |
| Rf6 | 0,206 | 0,256 | 0,200 | 0,150 |
| Rf7 | 0,213 | 0,263 | 0,238 | 0,169 |
| Rf8 | | | 0,248 | 0,206 |
| Rf9 | | | 0,250 | 0,250 |
| Rf10 | | | 0,275 | 0,269 |
| Rf11 | | | | 0,281 |

Keterangan:

DMA = ekstrak kasar daun muda,

DTA = ekstrak kasar daun tua

DMK = ekstrak kasar kloroform daun muda, DTK = ekstrak kasar kloroform daun tua

Hasil pemisahan senyawa ekstrak daun *S. taccada* dengan KLT pada Tabel 2 menunjukkan bahwa ekstrak kasar daun muda menghasilkan 7 fraksi yaitu 0,169; 0,175; 0,188; 0,206; 0,238; 0,256; 0,263, ekstrak kasar daun tua menghasilkan 7 fraksi yaitu 0,088; 0,163; 0,175; 0,188; 0,200; 0,206; 0,213, ekstrak kasar kloroform daun muda menghasilkan 10 fraksi yaitu 0,025; 0,038; 0,075; 0,113; 0,138; 0,200; 0,238; 0,244; 0,250; 0,275, dan ekstrak kasar kloroform daun tua menghasilkan 11 fraksi yaitu 0,006; 0,050; 0,069; 0,089; 0,100; 0,150; 0,169; 0,206; 0,250; 0,269; 0,281.

Pada Tabel 2 menunjukkan bahwa hasil pemisahan ekstrak *S. taccada* dengan KLT didapatkan jumlah fraksi terbanyak pada ekstrak daun tua kloroform sebanyak 11 fraksi, dengan eluen terbaik yaitu kloroform. Hasil pemisahan tersebut menggambarkan bahwa ekstrak kasar kloroform kemungkinan diduga 11 senyawa yang terdeteksi.

Uji Toksisitas dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

A. salina Leach 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 *Artemia* untuk menetas karena *Artemia* termasuk dalam organisme fototropik (Amaliyah et al. 2013). Sedangkan, fungsi dari aerasi adalah untuk memberikan oksigen yang cukup dalam kelangsungan hidup *Artemia*.

Mekanisme penetasan larva *A. salina* Leach. melalui beberapa tahapan yaitu tahap hidrasi, pecahnya cangkang dan tahap payung atau tahap pengeluaran. Tahap hidrasi terjadi penyerapan air sehingga telur yang diawetkan dalam bentuk kering akan menjadi bulat dan aktif bermetabolisme. Selanjutnya tahap pecahnya cangkang yang diikuti tahap payung yang terjadi beberapa saat sebelum naupli (larva) keluar dari

cangkang (Sriwahyuni 2010).

Larva udang *A. salina* L. yang baru menetas berwarna kemerah-merahan dan masih mengandung cadangan makanan. Sehingga, *Artemia* dapat bertahan hidup selama ± 2 hari setelah menetas tanpa diberi makanan. Setelah ± 2 hari, cadangan makanan larva habis karena seiring dengan itu, larva mempunyai mulut. Oleh sebab itu, larva mulai membutuhkan makanan untuk kelangsungan hidupnya. Makanan larva *Artemia* berupa larutan ragi roti yang dibuat dengan takaran setiap 3 mg ragi dalam 5 mL aquades (Amaliyah et al. 2013).

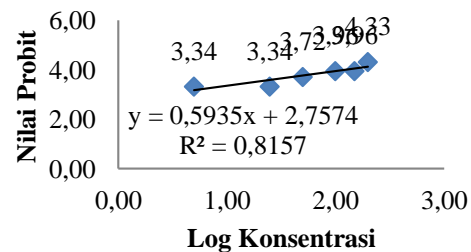
Larva *Artemia* yang digunakan untuk pengujian toksisitas adalah *Artemia* dengan umur 48 jam. Hal ini dikarenakan pada umur 48 jam larva berada dalam keadaan paling peka. Organ-organ pada *Artemia* sudah terbentuk lengkap, salah satunya adalah terbentuknya mulut. Dengan terbentuknya mulut, *Artemia* dapat meminum air laut yang mengandung ekstrak daun *S. taccada*.

Ekstrak daun *S. taccada* yang diperoleh kemudian diujikan toksisitasnya dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Metode BSLT menggunakan larva udang *A. salina* Leach. merupakan salah satu tahapan dalam pengujian farmakologik eksperimental. Metode ini dipilih dengan beberapa alasan. Pertama, metode ini merupakan metode penapisan farmakologi awal yang mudah dan relatif murah serta tidak membutuhkan suatu spesialisasi tertentu dalam pelaksanaannya. Kedua, metode ini merupakan metode yang telah teruji hasilnya dengan tingkat kepercayaan 95% untuk mengamati toksisitas suatu senyawa di dalam ekstrak kasar tanaman. Ketiga, metode BSLT sering digunakan dalam tahap awal isolasi senyawa toksik yang terkandung dalam suatu ekstrak kasar (Vitalia et al. 2016).

Pengujian toksisitas dengan metode BSLT menggunakan larva udang *A. salina* Leach sebagai hewan uji. *A. salina* Leach telah digunakan oleh Pusat Kanker Purdue, Universitas Purdue di Lafayette

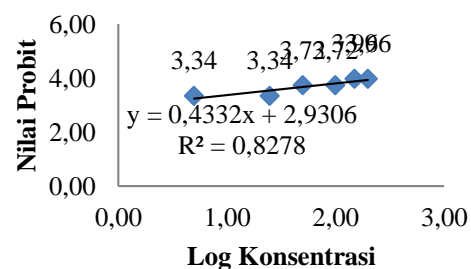
untuk senyawa aktif tanaman secara umum dan tidak spesifik untuk zat anti kanker. Namun demikian hubungan yang signifikan dari sampel yang bersifat toksik terhadap larva *A. salina* Leach ternyata juga mempunyai aktifitas sitotoksik. Berdasarkan hal tersebut maka larva *A. salina* Leach dapat digunakan untuk uji toksisitas (Vitalia et al. 2016).

Uji toksisitas dengan metode BSLT merupakan salah satu metode untuk menguji sifat toksik dari suatu senyawa menggunakan hewan uji larva *A. salina* Leach. Prosedurnya dengan menentukan nilai LC_{50} dari aktivitas senyawa terhadap larva udang *A. salina* Leach. Menurut Jannah (2014), suatu senyawa dikatakan bersifat toksik jika nilai $LC_{50} < 1000$ ppm yaitu konsentrasi dimana suatu senyawa dapat menyebabkan terjadinya 50 % kematian hewan uji larva *A. salina* Leach. Berikut ini hasil uji toksisitas dengan metode BSLT dari ekstrak daun *S. taccada* dapat dilihat pada Gambar 2, 3, 4, dan 5.



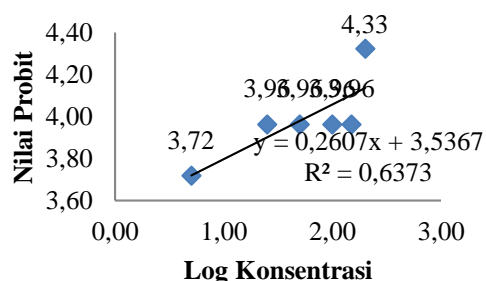
Gambar 2. Grafik uji toksisitas (LC_{50}) ekstrak kasar daun muda

Dari grafik pada Gambar 2 didapatkan persamaan garis lurus $Y = 0,5935x + 2,7574$. Grafik analisis regresi linier diatas menunjukkan bahwa nilai LC_{50} pada ekstrak kasar daun muda beruwes sebesar 6006,20 ppm.



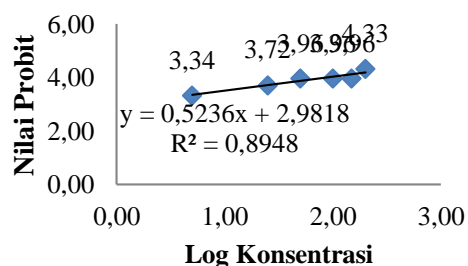
Gambar 3. Grafik uji toksisitas (LC_{50}) ekstrak kasar daun tua

Dari grafik pada Gambar 3 didapatkan persamaan garis lurus $Y = 0,4332x + 2,9306$. Grafik analisis regresi linier diatas menunjukkan bahwa nilai LC_{50} pada ekstrak kasar daun tua beruwass laut sebesar 59841,16 ppm.



Gambar 4. Grafik uji toksisitas (LC_{50}) ekstrak kasar kloroform daun muda

Dari grafik pada Gambar 4 didapatkan persamaan garis lurus $Y = 0,2607x + 3,5367$. Grafik analisis regresi linier diatas menunjukkan bahwa nilai LC_{50} pada ekstrak kasar kloroform daun muda beruwass laut sebesar 410204,10 ppm.



Gambar 5. Grafik uji toksisitas (LC_{50}) ekstrak kasar kloroform daun tua

Dari grafik pada Gambar 5 didapatkan persamaan garis lurus $Y = 0,5236x + 2,9818$. Grafik analisis regresi linier diatas menunjukkan bahwa nilai LC_{50} pada ekstrak kasar kloroform daun tua beruwass laut sebesar 7153,19 ppm.

Berdasarkan grafik pada Gambar 2, 3, 4, dan 5 mengenai pengujian terhadap uji toksisitas ekstrak daun *S. taccada* didapatkan LC_{50} yaitu pada ekstrak kasar daun muda sebesar 6006,20 ppm,

ekstrak kasar daun tua sebesar 59841,16 ppm, ekstrak kasar kloroform daun muda kloroform sebesar 410204,10 ppm, dan ekstrak kasar kloroform daun tua sebesar 7153,19 ppm. Menurut Setyowati dan Cahyanto (2016) menyatakan bahwa suatu senyawa dikatakan bersifat toksik jika nilai $LC_{50} < 1000$ ppm. Sehingga ekstrak daun *S. taccada* pada penelitian ini termasuk kategori tidak toksik karena nilai $LC_{50} > 1000$ ppm. Hasil identifikasi golongan senyawa metabolit sekunder dari ekstrak kasar daun *S. taccada* mengandung steroid. Kandungan kimia dalam ekstrak kasar daun *S. taccada* tidak bersifat toksik.

Kandungan kimia dalam ekstrak kasar daun *S. taccada* kemungkinan bersifat toksik yaitu alkaloid, saponin, dan flavonoid. Menurut Yunita *et al.* (2009), saponin mengandung glikosida dalam tanaman yang sifatnya menyerupai sabun dan dapat larut dalam air. Saponin dapat menurunkan aktivitas enzim pencernaan dan penyerapan makanan. Saponin memiliki rasa yang pahit dan tajam serta dapat menyebabkan iritasi lambung bila dimakan. Larva tidak mau makan sehingga menjadi kelaparan dan akhirnya tidak mampu mencapai berat kritisnya untuk dapat tumbuh menjadi pupa.

Mekanisme kematian larva *A. salina* Leach berhubungan dengan fungsi senyawa alkaloid dan flavonoid menghambat daya makan larva (*antifeedant*). Cara kerja senyawa-senyawa tersebut adalah dengan bertindak sebagai *stomach poisoning* atau racun perut. Oleh karena itu, bila senyawa-senyawa ini masuk ke dalam tubuh larva, alat pencernaannya akan terganggu. Senyawa ini akan menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva. Hal ini mengakibatkan larva gagal mendapatkan stimulus rasa sehingga tidak mampu mengenali makanannya dan akibatnya larva mati kelaparan (Putri *et al.* 2012).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian disimpulkan bahwa rendemen tertinggi

terdapat pada daun tua *S. taccada*. Pada skrining fitokimia simplisia senyawa yang terdeteksi pada daun *S. taccada* adalah senyawa steroid dan gula pereduksi. Pemisahan ekstrak daun *S. taccada* dengan kromatografi lapis tipis (KLT) mendapatkan jumlah fraksi terbanyak pada ekstrak kasar kloroform daun tua yang menghasilkan 11 fraksi. Hasil pengujian terhadap uji toksisitas ekstrak daun *S. taccada* tidak memberikan efek toksik terhadap larva udang *A. salina* Leach.

DAFTAR PUSTAKA

- Amaliyah, S., A. Ghanaim F., Munirul, A. Hanapi. 2013. Uji Toksisitas terhadap Larva Udang *Artemia salina* dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Kasar Mikroalga *Chlorella sp.* Hasil Kultivasi dalam Media Ekstrak Tauge (Met). [Skripsi]. UIN Malang.
- Dahlia, A.A., Kosma, R., Halija. 2013. Uji Aktivitas Antiradikal Bebas Fraksi Dietil Eter Beruwah Laut (*Scaevola taccada* (Gaertn.) Roxb.) Menggunakan DPPH. Jurnal As-syifaa. 5(1): 62-71.
- Ergina., Nuryanti, S., Pursitasari, I.D. 2014. Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) yang Diekstraksi dengan Pelarut Air dan Etanol. Jurnal Akademika Kimia. 3(3): 165-172.
- Filbert., Koleangan, H.S.J., Runtuwene, M.R.J., Kamu, V.S. 2014. Penentuan Aktivitas Antioksidan Berdasarkan Nilai IC₅₀ Ekstrak Metanol dan Fraksi Hasil Partisinya pada Kulit Biji Pinang Yaki (*Areca vestiaria* Giseke). Jurnal Mipa Unsrat Online. 3(2): 149-154.
- Hafiluddin. 2011. Ekstraksi dan Identifikasi Senyawa Bioaktif Lintah Laut (*Discodori sp*) sebagai Antioksidan. [Tesis]. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Harborne, J.B. 1984. Phytochemical Methods: A Guide to Modern Technique of Plant Analysis. (2nd end). London: Chapman and Hall.
- Hidayah, W.W., Kusrin, D., Fachriyah, E. 2016. Isolasi, Identifikasi Senyawa Steroid dari Daun Getih-Getihan (*Rivina humilis* L.) dan Uji Aktivitas sebagai Antibakteri. Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi. 19(1): 32-37.
- Jailani, A., Sulaeman, R., Sribudiani, E. 2015. Karakteristik Minyak Atsiri Daun Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii* (Ness & Th.Ness)). Jurnal Jom Faperta UR. 2(2): 1-7.
- Jannah, M. 2014. Uji Toksisitas dan Fitokimia Ekstrak Kasar Metanol, Kloroform dan *n*-Heksana Alga Coklat (*Sargassum vulgare*) dari Pantai Kapong Pamekasan Madura. [Skripsi]. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Manimegalai, B., Inbathamizh, L., Ponnu, T.M. 2012. In vitro Studies on Antimicrobial Activity and Phytochemical Screening of Leaf Extracts of *Scaevola taccada*. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 4(4): 367-370.
- Najihudin, A., Chaerunisaa, A., Subarnas, A. 2017. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Dan Fraksi Kulit Batang Trengguli (*Cassia fistula* L) dengan Metode DPPH. Jurnal IJPST. 4(2): 70-78.
- Nurjanah., Abdullah, A., Apriandi, A. 2011. Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Keong Ipong-Ipong (*Fasciolaris salmo*). Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia. 14(1): 22-29.
- Putri, M.K.D., Pringgenies, D., Radjasa, O.K. 2012. Uji Fitokimia dan Toksisitas Ekstrak Kasar Gastropoda (*Telescopium telescopium*) Terhadap Larva *Artemia salina*. Journal of Marine Research. 1(2): 58-66.
- Quinn, R.J. 1988. Chemistry of Aqueous Marine Extracts: Isolation Techniques. Biorganic Marine Chemistry, Vol. 2. Verlag Berlin Heidelberg: Springer.

- Radam, R.R., Purnamasar, E. 2016. Uji Fitokimia Senyawa Kimia Aktif Akar Nipah (*Nyfa fruticans* Wurmb) Sebagai Tumbuhan Obat di Kalimantan Selatan. *Jurnal Hutan Tropis*. 4 (1): 28-34.
- Rahayu, S., Kurniasih, N., Amalia, V. 2015. Ekstraksi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Limbah Kulit Bawang Merah sebagai Antioksidan Alami *Jurnal Al Kimiya*. 2(1): 1-8.
- Rudianto., Putri, R.M.S., Apriandi, A. 2019. Aktivitas Antioksidan dari Tanaman “Beruas Laut” (*Scaevola taccada*). *Jurnal Marinade*. 02(1): 29 – 38.
- Sharo, N.M., Ningsih, R., Nasichuddin, A., Hanapi, A. 2013. Uji Toksisitas dan Identifikasi Senyawa Ekstrak Alga Merah (*Eucheuma cottonii*) terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach. *Jurnal Alchemy*. 2(3): 170 – 177.
- Sriwahyuni, I. 2010. Uji Fitokimia Ekstrak Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica* Linn) dengan Variasi Pelarut dan Uji Toksisitas Menggunakan Brine Shrimp Tehality Test (*Artemia salina* Leach). [Skripsi]. Tidak Diterbitkan. Universitas Islam Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Sutar, N.G., Kulkarni, A., B, Arangale. K. 2017. Literature Review of *Scaevola taccada*. *World Journal of Pharmaceutical Research*. 6(11): 251-258.
- Vitalia, N., Najib, A., Ahmad, A.R. 2016. Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pletakan (*Ruellia tuberosa* L.) dengan Menggunakan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 3(1): 124-129.
- Yunita, E.A., Suprpti, N.H., Hidayat, J.W. 2009. Pengaruh Ekstrak Daun Teklan (*Eupatorium rioarium*) terhadap Mortalitas dan Perkembangan Larva *Aedes aegypti*. *Jurnal Bioma*. 11(1): 11-17.