

UJI TOKSISITAS EKSTRAK AIR DAUN KELOR (*Moringa oleifera*, L) ASAL LAHAN KERING NUSA TENGGARA TIMUR

Theo da Cunha*, Dodi Darmakusuma, Antonius R. Ola, Theodorus Y.K. Lulan, Alfius R Kale

Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Tknik Universitas Nusa Cendana

Article Received: 02 November 2020

Article Accepted: 25 November 2020

Abstract

Moringa Oleifera (*Moringa oleifera* Lamk) found excessive growth in dry East Nusa Tenggara (NTT) province. The plant has not only been primarily consumed as food especially for its leaves but also is rich in nutrients in its fruits to roots, benefits as coagulants, vitamins, and medicines. This research studied the toxic effect of the water extract of *Moringa* leaves to *Artemia Salina* Leach shrimp larvae according to BST method using water (room temperature) as a solvent, a preliminary study of the antibacterial and the anticancer target of study of the *Moringa*. *Moringa* leaves were macerated for 3 x 24 hours using water, the results of phytochemical tests identified secondary metabolic content, among others, alkaloids, flavonoids, triterpenes, and tannins. The results of the BSLT test showed that the water extract (room temperature) of *Moringa* leaves had a toxicity level against *Artemia Salina* Leach as indicated by an LC₅₀ value of 888, 34 less than 1000 ppm. It can be concluded that *Moringa* leaves have potential as a plant which can later be used as anti-bacterial and anti-cancer.

Keywords: Kelor (*Moringa oleifera* Lamk), *Artemia Salina* Leach, Dry land, NTT

Abstrak

Tumbuhan Kelor (*Moringa oleifera* Lamk) banyak tumbuh di Nusa Tenggara Timur (NTT) yang beriklim Lahan Kering. Daun Kelor banyak digunakan masyarakat NTT sebagai bahan makanan. Daun kelor mempunyai kandungan gizi yang tersebar mulai dari buah, sampai akarnya. Selain itu kelor mempunyai manfaat lain seperti koagulan, vitamin dan sebagai obat. Penelitian ini mempelajari efek toksik ekstrak air daun kelor terhadap larva udang *Artemia Salina* Leach dengan menggunakan metode BST. Metode ini sebagai pengujian awal dari efek anti bakteri dan anti kanker, menggunakan air (suhu kamar) sebagai pelarut agar dapat diaplikasikan secara langsung oleh masyarakat. Daun kelor dimaserasi selama 3 x 24 jam menggunakan air, hasil uji fitokimia teridentifikasi kandungan metabolik sekunder antara lain, Alkaloid, Flavonoid, Triterpen, dan Tanin. Hasil uji BSLT menunjukkan bahwa ekstrak air (suhu kamar) daun kelor mempunyai tingkat toksisitas terhadap *Artemia Salina* Leach yang ditunjukkan dengan nilai LC₅₀ 888, 34 kurang dari 1000 ppm. Dapat disimpulkan bahwa daun kelor mempunyai potensi sebagai tanaman yang nantinya dapat dimanfaatkan sebagai anti bakteri dan anti kanker.

Kata Kunci: Kelor (*Moringa oleifera* Lamk), *Artemia Salina* Leach, Lahan Kering, NTT

*Corresponding Author: Jl. Adisucipto-Penfui Kupang 85110 telp.(+62380)8037977
e-mail: dacunhamanda27@gmail.com

Pendahuluan

Kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) merupakan tumbuhan yang memiliki kandungan gizi yang tinggi baik kandungan nutrisi mikro maupun makro, sehingga kelor bukan hanya merupakan sumber nutrisi pangan namun juga memiliki efek secara farmakologi¹. Lebih dari itu kelor juga memiliki manfaat lingkungan yang sangat penting bagi kehidupan. Kemampuannya untuk hidup pada lahan kering ataupun marginal, penyelamat gizi dan kesehatan masyarakat yang hidup pada wilayah kering. Kelor juga memiliki khasiat sebagai penjernih air, bagian yang digunakan biasanya daun ataupun biji kelor. Kemampuan ini semakin melengkapi fungsi kelor sebagai penyelamat kehidupan. Hasil penelitian Anwar dkk., (2007) menunjukkan bahwa bagian-bagian dari kelor mempunyai kandungan senyawa yang berfungsi sebagai antitumor, antipiretik, antiepileptik, antiinflamatori, antipasmodik, diuretik, antihipertensi, menurunkan kolesterol, antioksidan dan antidiabetik². NTT dengan karakteristik Iklim dan Lahan mempunyai kespesifikan sehingga walaupun tumbuhan yang mempunyai jenis yang sama pada daerah lain seperti Jawa, Sulawesi. atas dasar tersebut maka diharapkan kandungan metabolit sekunder secara kualitatif dan kuantitatif dapat berbeda, demikian pula aktivitas biologi dan kimia, maka focus penelitian ini adalah Uji Toksisitas Ekstrak Air daun Kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) terhadap Larva Udang (*Artemia salina* Leach) dengan Metode Brime Shrim Letahlity Test (BSLT).

Hasil dan Pembahasan

Kadar Air

Kadar air dihitung dengan cara menghitung selisih berat basah dan berat kering dalam persen. Hasil dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kadar air daun kelor

Sampel daun Kelor	Kadar air (%)
Daun Segar, Hijau	60,56
Daun Kering, Hijau kecoklatan	7,35

Tabel di atas menunjukkan secara umum kadar air sampel yang diperoleh atau ditanaman dipekarangan rumah. Daun serbuk kering mengandung kadar air sebesar 7,35 %, sampel tersebut dapat menghindari terhadap pertumbuhan jamur/mikroba. Puspita, (2009)

menyatakan bahwa bila kadar air yang terkandung kurang dari 10 % maka kestabilan bahan akan dapat tercapai dan pertumbuhan mikroba dapat dikurangi³.

Uji Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder

Uji fitokimia digunakan sebagai uji kualitatif untuk mengungkapkan ada tidaknya senyawa metabolit sekunder dalam sampel. Uji Fitokimia dilakukan dengan uji Reagen terhadap ekstrak air (sampel).

Table 2 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Air daun Kelor

No	Senyawa	Keterangan
1	Flavonoid	+
2	Alkaloid	+
3	Triterpenoid	+
4	Saponin	-
5	Tanin	+

Uji fitokimia yang telah dilakukan ternyata diperoleh kandungan senyawa aktif pada ekstrak akuades adalah alkaloid, flavonoid, tanin dan triterpenoid. Adapun mekanisme reaksi senyawa tersebut terhadap kematian larva udang *Artemia salina* Leach seperti yang dilaporkan oleh Cahyadi (2009), bahwa senyawa alkaloid, flavonoid dan triterpenoid pada kadar tertentu memiliki potensi toksisitas akut serta dapat menyebabkan kematian larva udang *Artemia salina* Leach⁴. Mekanisme 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. Selain itu, senyawa-senyawa tersebut menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva. Hal ini mengakibatkan larva gagal mendapatkan stimulus rasa sehingga tidak mampu mengenali makanannya dan larva akan mati kelaparan⁴. Kartikasari (2010) melaporkan bahwa mortalitas *Artemia salina* Leach diduga disebabkan oleh senyawa triterpenoid sebagai senyawa toksik. Senyawa triterpenoid bisa masuk melalui membran sel *Artemia salina* Leach secara difusi⁵. Masuknya senyawa tersebut dapat merusak permeabilitas membran dan mengganggu proses biokimiawi *Artemia salina* Leach, akibatnya *Artemia salina* akan mati

Toksisitas Ekstrak Air Daun Kelor

Ke dalam wadah uji, dimasukkan sebanyak 2 mL larutan uji dari setiap konsentrasi, kemudian ditambahkan 8 mL air laut sehingga di dalam wadah uji berisi 10 mL larutan.

Pelarutan ekstrak dengan air laut sering menimbulkan masalah karena adanya perbedaan tingkat kepolaran sehingga perlu ditambahkan Dimetilsulfoksida (DMSO) untuk membantu kelarutannya. DMSO digunakan sebagai surfaktan karena ekstrak tidak dapat larut dalam air laut. Surfaktan merupakan senyawa yang memiliki ujung hidrofilik dan hidrofobik sehingga dapat melarutkan senyawa nonpolar dan polar. Dimetilsulfoksida (DMSO) merupakan cairan tidak berwarna yang memiliki rumus kimia $(\text{CH}_3)_2\text{SO}$. DMSO merupakan salah satu zat yang bersifat toksik. Kadar DMSO yang digunakan pada penelitian tidak bersifat toksik karena DMSO yang digunakan 1% sebanyak 1 tetes ($50 \mu\text{L}$) \leq 2%, sedangkan efek toksik akan terjadi jika kadar DMSO yang digunakan \geq 7.5%. Selanjutnya, ditambahkan setetes larutan ragi roti lalu dikocok. Larutan ragi berfungsi sebagai makanan larva udang. Larutan ragi roti dibuat dengan melarutkan 0.1 mg ragi ke dalam 10 mL air laut. Larva udang yang berumur 48 jam dimasukkan kedalam tempat uji masing-masing 10 ekor. Untuk larutan kontrolnya dimasukkan 10 ekor larva udang, ditambahkan air laut sebanyak 8 mL dan setetes larutan ragi roti tanpa penambahan ekstrak. Hal ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh air laut maupun faktor lain terhadap kematian larva. Tujuan penggunaan larva udang yang berumur 48 jam, karena berdasarkan morfologinya larva udang sudah mulai mempunyai mulut dan saluran pencernaan serta cadangan makanannya sudah mulai habis sehingga larva mulai mencari makanan. Larva udang berumur 48 jam paling sensitif terhadap suatu zat yang dimasukkan, berbeda dengan dengan larva berumur 24 jam yang belum mempunyai saluran pencernaan sehingga ekstrak atau senyawa luar tidak dapat diabsorpsi oleh larva. Hasil pengamatan kematian larva udang *Artemia salina* Leach setelah 24 jam dari setiap sampel dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3 Pengaruh Berbagai Konsentrasi Ekstrak air Daun Kelor (*Moringa oleifera* L) Terhadap Kematian Larva Udang *Artemia Salina* Leach

KONSENTRASI EKSTRAK (ppm)	JUMLAH LARVA (ekor)	JUMLAH LARVA MATI			RATA-RATA	% KEMATIAN
		I	II	III		
0	10	0	0	0	0	0
25	10	0	1	2	1	10
50	10	2	2	2	2	20
100	10	4	5	4	4,33	43,3
200	10	7	7	6	6,66	66,6
400	10	10	10	9	9,66	96,6

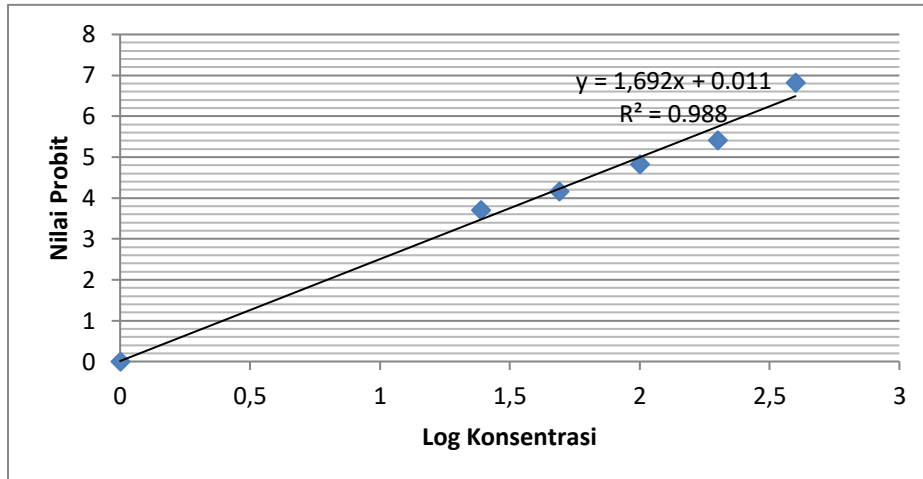
Tabel 3. menunjukkan bahwa berbagai konsentrasi setiap larutan uji memperlihatkan pengaruh yang berbeda terhadap kematian larva *Artemia salina* Leach. Pada tabel diatas dapat dilihat terdapat peningkatan kematian *Artemia salina* Leach yang selaras dengan peningkatan

konsentrasi. Pada konsentrasi 0 ppm (larutan kontrol) tidak terdapat larva *Artemia salin* Leach yang mati, sehingga kematian larva udang murni dipengaruhi oleh ekstrak bukan dari faktor lainnya. Hal ini sesuai dengan Meyer *et. al.* (1982) yang menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka sifat toksiknya akan semakin tinggi⁶.

Setelah diperoleh persentase kematian larva *Artemia salina* Leach, selanjutnya dilakukan perhitungan nilai LC₅₀ Ekstrak air Daun Kelor (*Moringa oleifera* L) LC₅₀ merupakan nilai yang menunjukkan dosis atau konsentrasi suatu ekstrak (ppm) yang diberikan selama 24 jam dan dapat mematikan 50% hewan coba.

Nilai LC₅₀ dapat ditentukan menggunakan analisis probit yaitu menggunakan perhitungan secara matematik (manual) dan aplikasi *Microsoft Office Excel* dengan membuat kurva. Dari data persentase kematian *Artemia salina* Leach dikonversikan ke nilai probit untuk menghitung harga LC₅₀. Analisis probit merupakan metode statistik dalam memahami hubungan dosis–respon dan membandingkan hubungan antara variabel respon atau variabel dependen terhadap variabel independen. Analisis ini umumnya digunakan dalam toksikologi untuk menentukan toksisitas relatif bahan kimia untuk organisme hidup dengan menguji respon organisme pada berbagai konsentrasi masing–masing bahan kimia. Metode probit digunakan dalam menentukan nilai LC₅₀ karena analisis probit dapat mengamati efek yang terjadi dari suatu konsentrasi, selain itu dapat memberikan nilai regresi yang menghasilkan garis linear sehingga memudahkan dalam penentuan nilai LC₅₀. Pada analisis probit, konsentrasi sampel ditransformasikan menjadi log konsentrasi dan persen kematian ditransformasikan menjadi nilai probit.

Nilai rata–rata persentase kematian *Artemia salina* Leach setiap sampel uji yang diperoleh diubah menjadi nilai probit menggunakan tabel probit untuk dilakukan perhitungan nilai LC₅₀ menggunakan metode probit. Adapun hasil uji toksisitas menggunakan metode probit adalah 888,3 ppm. Untuk memastikan kebenaran perhitungan nilai LC₅₀ secara manual, maka dilakukan perhitungan nilai LC₅₀ menggunakan aplikasi *Microsoft Office Excel* dengan membuat kurva hubungan antara log konsentrasi dan nilai probit. Kurva hubungan log konsentrasi dan nilai probit dapat dilihat pada grafik berikut.



Gambar 1 Grafik regresi linear pengaruh berbagai konsentrasi Ekstrak air Daun Kelor (*Moringa oleifera* L) terhadap kematian larva udang *Artemia salina* Leach

Berdasarkan persamaan garis lurus dari Ekstrak air batang tulak dapat ditentukan nilai LC_{50} dengan cara memasukkan nilai $Y = 5$ ke dalam persamaan garis lurus sehingga diperoleh log konsentrasi yang menyebabkan 50% kematian. Hasil perhitungan nilai LC_{50} yang diperoleh untuk Ekstrak air Daun Kelor (*Moringa oleifera* L) yaitu 888,3436 ppm menggunakan *Microsoft Office Excel*. Dari hasil yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa perhitungan LC_{50} menggunakan analisis probit dan *Microsoft Office Excel* tidak memberikan hasil yang jauh berbeda.

Menurut Meyer *et al.*, (1982) suatu senyawa dikatakan bersifat toksik jika nilai $LC_{50} < 1000$ ppm, sangat toksik jika < 30 ppm dan > 1000 ppm bersifat tidak toksik⁶. Dari hasil yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa nilai LC_{50} sampel uji termasuk dalam kategori yang bersifat toksik terhadap *Artemia salina* Leach. Semakin besar harga nilai LC_{50} berarti semakin kecil toksisitasnya dan sebaliknya semakin kecil harga nilai LC_{50} maka semakin besar toksisitasnya.

Kesimpulan

Ekstrak air daun Kelor (*Moringa oleifera* L), mengandung metabolic sekunder Alkaloid, Flavonoid, Triterpen dan Tanin. Ekstrak air juga mempunyai efek toksik terhadap larva udang *Artemia Salina Leach* dengan nilai LC_{50} lebih kecil dari 1000, yaitu 888,3436, kategori kuat.

Daftar Pustaka

1. Aminah, S., Ramdhan dan Yanis M., 2015. Kandungan Nutrisi dan Sifat Fungsional Tanaman Kelor (*moringa oleifera* L). *Bulletin Pertanian Perkotaan* 5(2), pp 35-44
2. Anwar S, et al: 2017, Uji Toksisitas ekstrak aqyades (suhu kamar) dan aquades suhu 70^o, daun Kelor terhadap Larva Udang, *Jurnal Alchem* 3(1): 84-92
3. Harryana, E. et al., 2013, *Daun Ampuh Basmi Berbagai Penyakit*, Yogyakarta: Nusa Creativa
4. Cahyadi, R. (2009). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia* L.) Terhadap Larva *Artemia salina* Leach dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BST). *Laporan Akhir Penelitian Karya Tulis Ilmiah*. Diterbitkan. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.
5. Kartikasari, F.G. 2010, *Uji Toksisitas Fraksi dari Spons Laut Xestopobia dengan menggunakan metode BST*. Skripsi, MIPA, ITS Surabaya.
6. Meyer, B. N., Ferringal, N. R., Putnaan, J.E., Jacobsen, L. B., Nikolas, D. E., Melaughlin, J. L., 1982, *Brine shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents*, *Planta Medica*, Volume 45 hal. 31-34.
7. Harborne, J. B., 1987, *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Padmawinata, K., Soedira, I., penerjemah; Penerbit Institut Teknolgi Bandung: Bandung, Terjemahan dari: *Phytochemical Methods*.

Metode

Preparasi Sampel untuk penentuan Kadar air

Preparasi sampel untuk analisis kadarair meliputi sampel daun kelor segar dan sampel daun serbuk kering. Analisis kadar air daun kelor segar dilakukan dengan cara dipotong kecil-kecil. Selanjutnya ditimbang sebanyak 25 g dan dimasukkan ke dalam cawan penguap, kemudian dianalisis kadar airnya. Analisis kadar air daun serbuk kering diperoleh setelah proses pengovenan dengan suhu sekitar 30-37 °C selama ± 10 jam, kemudian digerus dan diayak dengan ayakan berukuran 60 *mesh*. Selanjutnya daun serbuk kering ditimbang sebanyak 5 g dan dianalisis kadar airnya.

Persiapan Sampel Untuk Maserasi

Persiapan sampel daun kelor meliputi pembersihan, pengeringan dan penghalusan. Daun kelor dibersihkan dengan cara dibilas dengan air, kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 30-35 °C selama ± 10 jam. Selanjutnya sampel yang telah kering dihaluskan dengan menggunakan blender dan diayak dengan menggunakan ayakan berukuran 60 *mesh*. Diperoleh serbuk kering daun kelor yang lolos ayakan 60 *mesh* untuk dilakukan ekstraksi maserasi.

Serbuk daun kelor ditimbang sebanyak 100 g kemudian diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan akuades (suhu kamar). Maserasi dilakukan selama 3 hari. Pada hari pertama serbuk daun kelor direndam dengan akuades (suhu kamar) sebanyak 100 mL sambil dishaker selama 2 jam. Pada hari kedua diganti pelarutnya sebanyak 100 mL. Perlakuan ini dilakukan secara bertahap sampai pada hari ketiga, sehingga total volume pelarut yang digunakan sebanyak 375 mL. Filtrat hasil maserasi diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator vaccum* sehingga diperoleh ekstrak pekat akuades, ekstrak pekat dihitung rendemen dan diuji toksisitasnya dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach.

Uji Toksisitas

Pemilihan dan Penyiapan larva udang (*Artemia salina leach*).

Pemilihan telur udang dilakukan dengan merendam telur dalam akuades selama 1 jam. Telur yang baik akan tenggelam dan dipakai untuk penetasan. Penetasan telur dibuat dalam akuarium. Telur udang *Artemia salina* sebanyak 10 g ditambahkan 2000 mL air laut yang telah disaring. Kemudian diberi pencahayaan dengan menggunakan lampu dan aerator sebagai sumber oksigen selama 48 jam. Telur udang *Artemia salina* kemudian menetas sempurna dan siap diuji cobakan.

Uji Toksisitas terhadap Larva Udang (*Artemia salina I.*)

Ekstrak yang diperoleh dari hasil ekstraksi diuji LC-nya menggunakan larva udang (*Artemia salina*). Konsentrasi yang digunakan bervariasi masing-masing 0, 25, 50, 100, 200 dan 400 ppm. Konsentrasi tersebut diperoleh dari pengenceran ekstrak dengan air laut. Setiap konsentrasi ekstrak dimasukan 10 ekor larva udang (*Artemia salina*). Setelah 24 jam, jumlah larva udang yang mati dihitung dan dibuat kurva hubungan antara persen kematian larva dan konsentrasi ekstrak. Persamaan garis yang diperoleh dari hubungan linear persen kematian larva dan konsentrasi ekstrak digunakan untuk menentukan nilai LC₅₀.

Persen kematian larva dihitung menggunakan rumus:

$$M = \frac{L_p - L_k}{JL} \times 100\%$$

Dimana:

- M : Persen mortalitas (kematian larva)
- L_p : Jumlah larva yang mati pada perlakuan
- L_k : Jumlah larva yang mati pada kontrol
- JL : Jumlah larva dalam masing-masing tabung reaksi

Uji Fitokimia

Setiap ekstrak dilakukan dengan metode fitokimia:

a) Uji Alkaloid

Sebanyak 0,1 g ekstrak kental etanol ditambahkan 5 mL HCl 2 N dan dididihkan menggunakan penangas air. Setelah dingin, kemudian disaring dan filtratnya dibagi menjadi dua bagian. Satu bagian ditambahkan beberapa tetes pereaksi Mayer dan satu bagian yang lain ditambahkan pereaksi Wagner. Diamati adanya kekeruhan/pengendapan. (+) bila hanya terdapat sedikit kekeruhan, (++) bila terdapat kekeruhan tetapi tidak ada pengendapan, (+++) bila terjadi kekeruhan dan ada pengendapan.

b) Uji Flavonoid

Sebanyak 0,1 gram Ekstrak air kental dimasukkan ke dalam gelas piala kemudian ditambahkan 10 mL air panas dan dididihkan selama 5 menit. Kemudian disaring dan filtratnya digunakan untuk pengujian. Filtrat dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan 0,5 gram serbuk Mg yang telah dilarutkan dalam 1 mL HCl 2 N. Uji positif flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna merah, kuning, atau jingga.

c) Uji Saponin

Sebanyak 0,1 gram Ekstrak air kental dimasukkan ke dalam gelas piala kemudian ditambahkan dengan 10 mL air panas dan kemudian dididihkan selama 5 menit dengan menggunakan penangas air. Hasilnya disaring menggunakan kertas saring. Filtrat yang diperoleh dimasukkan ke dalam tabung reaksi tertutup, ditambahkan minyak zaitun kemudian dikocok selama 10 detik dan dibiarkan selama 10 menit. Terbentuknya buih yang stabil menunjukkan adanya saponin⁷.

d) Uji Tanin

Sebanyak 0,1 gram Ekstrak air kental ditambahkan 10 ml air panas, dididihkan selama 5 menit dan disaring. Sebagian filtrat yang diperoleh ditambahkan larutan FeCl₃ 1 %. Hasil positif ditunjukkan oleh terbentuknya warna hijau kehitaman⁷.

e) Uji terpenoid

Sebanyak 0,5 mL Ekstrak air kental ditambahkan dengan 0,5 mL kloroform. Kemudian ditambahkan 0,5 mL asam asetat anhidrat dan ditambahkan perlahan-lahan asam sulfat pekat. Terbentuknya cincin coklat atau kemerahan berarti positif mengandung terpenoid⁷.