

## INTISARI

Indonesia kaya akan tumbuh-tumbuhan, yang berdasarkan pengalaman telah dimanfaatkan antara lain untuk obat. Salah satu tumbuhan obat adalah tanaman pacar air (*Impatiens balsamina* L.). Tanaman pacar air berkhasiat untuk menghentikan perdarahan, meningkatkan fungsi pencernaan, antikanker, melunakkan massa yang keras (tumor), sebagai peluruh haid, dan mempermudah persalinan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui toksisitas ekstrak kloroform dan etanol dari biji pacar air (*Impatiens balsamina* L) terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan metode BST (*Brine Shrimp Test*) dan untuk mengetahui kemungkinan senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak tersebut.

Biji *Impatiens balsamina* L disari dengan alat Soxhlet menggunakan pelarut kloroform dan etanol. Masing-masing ekstrak diuji toksisitasnya terhadap larva *Artemia salina* Leach dan setiap ekstrak diuji kontrol negatif untuk mengoreksi pengaruh pelarut yang digunakan. Ekstrak kloroform digunakan kadar 100, 160, 250, 500, 650 µg/ml sedang untuk ekstrak etanol digunakan kadar 100, 170, 290, 500, 840 µg/ml. Kemudian ekstrak kloroform dan ekstrak etanol biji pacar air dianalisis dengan KLT untuk mengetahui kemungkinan senyawa kimia yang terkandung didalamnya. Fase diam yang digunakan adalah silika gel GF<sub>254</sub>. Fase gerak untuk ekstrak kloroform adalah BAW (4:1:5) dan fase gerak untuk ekstrak etanol adalah BAW (5:1:4).

Perhitungan dengan menggunakan metode analisis probit menghasilkan harga LC<sub>50</sub> ekstrak kloroform (158,83 ± 2,33) µg/ml dan LC<sub>50</sub> ekstrak etanol (255,50 ± 5,35) µg/ml. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak kloroform lebih toksik daripada ekstrak etanol. Hasil KLT pada ekstrak kloroform dan ekstrak etanol biji pacar air (*Impatiens balsamina* L.) mempunyai kandungan saponin.

**Kata kunci :** *Impatiens balsamina* L., BST, *Artemia salina* Leach, KLT

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. LATAR BELAKANG**

Indonesia kaya akan tumbuh-tumbuhan, yang berdasarkan pengalaman telah dimanfaatkan oleh nenek moyang sejak zaman dahulu kala untuk memenuhi keperluan hidupnya, antara lain untuk obat. Sampai saat ini pemanfaatan tumbuhan obat sebagai obat tradisional masih dilakukan disamping obat-obatan modern, bahkan ada kecenderungan meningkat. Hal ini terlihat nyata sekali di pedesaan, terlebih lagi pada daerah terpencil yang jauh dari fasilitas kesehatan modern (Dalimartha, 2003).

Salah satu tumbuhan sebagai obat adalah tanaman pacar air (*Impatiens balsamina* L). Bagian dari tanaman yang dimanfaatkan adalah biji yang rasanya pahit, pedas dan sifatnya hangat, dan sedikit toksik (Dalimartha, 2003). Biji pacar air (*Impatiens balsamina* L.) berkhasiat untuk menghentikan perdarahan, meningkatkan fungsi pencernaan, antikanker, melunakkan massa yang keras (tumor), sebagai peluruh haid, dan mempermudah persalinan (Dalimartha, 2004).

Pada penelitian terdahulu tentang uji toksisitas ekstrak daun tolod (*Isotoma longifora* (L.) Prest), menunjukkan bahwa ekstrak yang paling toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach ternyata mengandung senyawa saponin yang terdapat pada ekstrak kloroform dengan harga  $LC_{50}$   $95,51 \pm 5,51$   $\mu\text{g/ml}$  (Wahyuni, 2004). Biji pacar air (*Impatiens balsamina* L.) mempunyai kandungan saponin, oleh

karena itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui potensi efek toksik biji pacar air terhadap larva *Artemia salina* Leach.

Salah satu prinsip suatu tanaman dapat digunakan sebagai antikanker yaitu apabila tanaman tersebut mengandung senyawa yang bersifat toksik. Salah satu uji hayati yang paling murah, sederhana, dan cepat untuk skrining uji aktivitas ketoksikan adalah BST (*Brine Shrimp Test*) yang menggunakan *Artemia salina* Leach sebagai organisme uji. BST menunjukkan salah satu metode skrining untuk menentukan efek toksik suatu ekstrak atau senyawa (Meyer *et al*, 1982 *cit* Wahyuni, 2003). Penelitian ini merupakan penelitian pendahuluan untuk menemukan senyawa sitotoksik yang diharapkan dalam perkembangan selanjutnya dapat digunakan sebagai obat antikanker.

Prosedur klasik untuk memperoleh kandungan senyawa organik dan jaringan tumbuhan kering (biji kering, akar, daun) ialah dengan mengekstraksi sinambung serbuk bahan dengan alat Soxhlet dengan menggunakan sederetan pelarut secara berganti-ganti, mulai dengan eter, lalu eter minyak bumi, dan kloroform (untuk memisahkan lipid dan terpenoid). Kemudian digunakan alkohol dan etil asetat (untuk senyawa yang lebih polar) (Harbone, 1996). Oleh karena itu dalam penelitian ini digunakan dua pelarut yang berbeda tingkat kepolarannya yaitu kloroform untuk senyawa yang berpolaritas rendah dan etanol untuk senyawa yang polar.

## **B. PERUMUSAN MASALAH**

Berdasarkan uraian latar belakang diatas maka dapat dirumuskan suatu masalah yaitu apakah ekstrak kloroform dan ekstrak etanol biji pacar air (*Impatiens balsamina* L.) toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach. ?

### C. TUJUAN PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek toksik ekstrak kloroform dan ekstrak etanol biji pacar air (*Impatiens balsamina* L.) terhadap larva *Artemia salina* Leach.

### D. TINJAUAN PUSTAKA

#### 1. Tanaman Pacar Air

- a. Sistematika tanaman pacar air (*Impatiens balsamina* L.) dalam taksonomi adalah sebagai berikut :

Divisio : Spermatophyta

Sub Divisio : Angiospermae

Classis : Dicotyledoneae

Sub Classis : Dialypetalae

Ordo : Balsaminales

Famili : Balsaminaceae

Genus : *Impatiens*

Spesies : *Impatiens balsamina* L. (Van Steenis, 2003)

- b. Nama daerah

Tanaman Pacar Air mempunyai beberapa nama daerah antara lain :

Sumatera : lahine (Nias), paru inai (Minangkabau)

Jawa : pacar cai (Sunda), pacar banyu (Jawa), kimhong (Jakarta)

Nusa Tenggara: pacar toya (Bali), pacar aik (Sasak)

(Dalimartha, 2003)

c. Morfologi Tanaman

Pacar Air (*Impatiens balsamina* L.) merupakan tumbuhan berbatang basah dan tegak mempunyai tinggi 30-80 cm dan bercabang. Daun tunggal, bertangkai pendek. Helai daun berbentuk lanset memanjang, ujung dan pangkal runcing, tepi bergerigi, pertulangan menyirip, dan warnanya hijau muda. Bunga keluar dari ketiak daun, warnanya bermacam-macam, seperti merah, oranye, ungu, dan putih. Bunganya ada yang engkel dan ada yang dobel. Buahnya buah kendaga, jika masak akan membuka menjadi lima bagian yang terpilin (Dalimartha, 2003).

d. Ekologi dan Penyebaran

Tanaman Pacar air berasal dari India. Di Indonesia ditanam sebagai tanaman hias, kadang-kadang ditemukan tumbuh liar. Perkembangbiakannya dengan biji (Hutapea, 1994).

e. Kandungan dan sifat kimia

Biji pacar air mengandung saponin dan *fixed oil* (terdiri dari  $\gamma$ -spinasterol,  $\beta$ -ergosterol, balsaminasterol, parinaric acid, minyak menguap, quersetin, derivat kaempferol, dan naftokuinon) (Dalimartha, 2004).

Saponin adalah glikosida triterpena dan sterol, telah terdeteksi dalam lebih dari 90 suku tumbuhan. Saponin merupakan senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun, serta dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya membentuk busa dan menghemolisis sel darah. Dari segi

ekonomi, saponin penting juga karena kadang-kadang menimbulkan keracunan pada ternak atau karena rasanya yang manis. Pola glikosida saponin kadang-kadang rumit, banyak saponin yang mempunyai satuan gula sampai lima dan komponen yang umum adalah asam glukoronat (Harborne, 1996).

Saponin yang terdapat dalam simplisia mengandung turunan terpena dan sebagian kecil steroid. Beberapa saponin bersifat asam, karena kehadiran gugus karboksil pada aglikon dan atau gugus gula (Wagner *et al.*, 1984).

Minyak atsiri dalam kehidupan manusia berguna sebagai bakterisida dan fungisida, karena sifat bakterisida ini beberapa minyak atsiri telah banyak digunakan untuk mengobati infeksi urogenital (Guenther, 1987).

Minyak atsiri mudah larut dalam etanol absolut, eter minyak tanah dan kloroform serta minyak tanah, sebaliknya sangat sedikit larut dalam air. Minyak atsiri ini dengan adanya pengaruh cahaya udara dan panas, mudah terjadi perubahan (Voight, 1995).

f. Kegunaan Tanaman

Biji Tanaman Pacar Air berkhasiat menghentikan perdarahan, meningkatkan fungsi pencernaan, antikanker, melunakkan massa yang keras (tumor), sebagai peluruh haid, dan mempermudah persalinan (Dalimartha, 2004).

## **2. Metode Penyarian Simplisia**

Simplisia adalah bahan alam yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun, kecuali dinyatakan lain dan biasanya berupa bahan yang telah dikeringkan ( Anonim, 1985 ).

Ekstraksi atau penyarian adalah penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah obat dengan menggunakan pelarut yang dipilih dimana zat yang diinginkan larut (Ansel, 1989). Sedangkan ekstrak adalah sediaan kering, kental dan cair yang dibuat dengan menyari simplisia nabati, hewan, menurut cara yang cocok (Anonim, 1979).

Pada umumnya penyarian akan bertambah baik apabila permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan dengan penyari semakin luas. Pemilihan larutan penyari harus mempertimbangkan banyak faktor. Larutan penyari yang baik harus memenuhi kriteria yaitu murah dan mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, tidak mempengaruhi zat berkhasiat, diperbolehkan oleh peraturan ( Anonim, 1986 ).

Penyarian dengan alat Soxhlet dilakukan dengan cara bahan yang akan diekstraksi diletakkan dalam sebuah kantung ekstraksi (kertas, karton dan sebagainya) dibagian dalam alat ekstraksi dari gelas yang bekerja kontinyu. Wadah gelas yang mengandung kantung diletakkan diantara labu penyulingan dengan pendingin alir balik dan dihubungkan dengan labu melalui pipa. Labu tersebut berisi bahan pelarut, yang menguap dan mencapai ke dalam pendingin alir balik melalui pipet, berkondensasi di dalamnya dan menarik keluar bahan yang diekstraksi. Larutan berkumpul di dalam wadah gelas dan setelah mencapai

tinggi maksimalnya, secara otomatis dipindahkan ke dalam labu. Dengan demikian zat yang terekstraksi akan berkumpul dalam labu tersebut (Harbone, 1996).

Keuntungan penyarian dengan alat Soxhlet adalah membutuhkan pelarut yang sedikit, karena penyarian terjadi berulang-ulang sehingga simplisia terus-menerus diperbaharui dan zat yang tersari di dalam pelarut lebih banyak. Kerugian dari penyarian dengan alat Soxhlet biasanya hanya dipergunakan untuk konstituen-konstituen yang relatif aman terhadap pengaruh pemanasan dan hanya dipergunakan untuk simplisia tumbuhan dalam jumlah yang kecil oleh karena keterbatasan daya tampung dari alat Soxhlet tersebut ( Voight, 1995 ).

### **3. Toksisitas**

Uji toksisitas dapat dibedakan menjadi dua golongan, yaitu uji toksisitas tidak khas dan uji toksisitas khas. Uji toksisitas tidak khas adalah uji yang dirancang untuk mengevaluasi keseluruhan atau spektrum efek toksik suatu senyawa. Uji toksisitas khas adalah uji yang dirancang untuk mengevaluasi secara rinci efek yang khas suatu senyawa (Donatus, 1990).

Kematian merupakan salah satu diantara beberapa kriteria toksisitas. Salah satu caranya dengan menggunakan senyawa dosis maksimal, kemudian kematian hewan percobaan dicatat. Angka kematian hewan percobaan dihitung sebagai harga *median lethal dose* ( $LD_{50}$ ) atau *median lethal concentration* ( $LC_{50}$ ).



Harga  $LC_{50}$  hanya dibedakan menjadi :

1. Toksik ( $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/ml}$ )
2. Tidak toksik ( $LC_{50} > 1000 \mu\text{g/ml}$ )

(Meyer *et al.*, 1982 *cit* Wahyuni 2003)

#### 4. **BST (*Brine Shrimp Test*)**

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode *Brine Shrimp Test*. Keuntungannya murah, cepat, sederhana dan tepat untuk penelitian. *Brine Shrimp Test* adalah salah satu metode skrining untuk menentukan toksisitas suatu sari tumbuhan dan sering digunakan sebagai pengujian dalam mengisolasi senyawa toksik. Metode ini menggunakan hewan uji larva *Artemia salina* Leach. Prinsip metode ini adalah menyelidiki kegiatan farmakologi dalam ekstrak tumbuhan yang diwujudkan sebagai racun pada larva *Artemia salina* Leach yang baru ditetaskan. Ekstrak yang diteliti berawal dari tumbuhan yang diuji, ekstrak diperoleh dari penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah obat dengan menggunakan pelarut yang dipilih dimana zat yang diinginkan larut (Meyer *et al.*, 1982 *cit* Wahyuni 2003).

#### 5. *Artemia salina* Leach.

##### a. Sistematika

*Artemia* merupakan bangsa udang-udangan yang diklasifikasikan sebagai berikut :

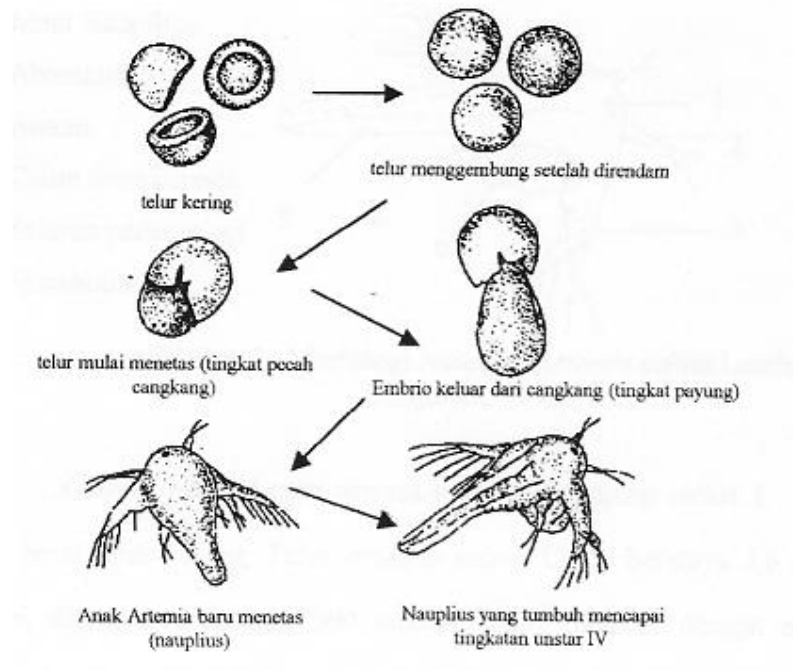
Phylum : Arthropoda  
 Classes : Crustacea  
 Subclasses : Branchiopoda

Ordo : Anostraca  
 Familia : Artemidae  
 Genus : *Artemia*

(Bougis, 1979 cit Isnansetyo *et al.*, 1995).

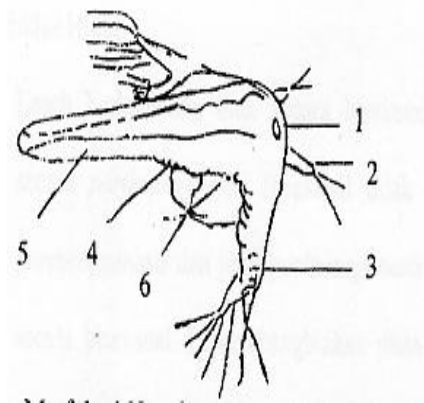
b. Tahap Penetasan dan Morfologi

*Artemia* diperjualbelikan dalam bentuk telur istirahat yang disebut dengan kista. Kista ini apabila dilihat dengan mata telanjang berbentuk bulatan-bulatan kecil berwarna kecoklatan dengan diameter berkisar antara 200-350 mikron. Kista yang berkualitas baik akan menetas sekitar 18-24 jam apabila diinkubasikan dalam air bersalinitas 5-70/mil. Ada beberapa tahapan proses penetasan *Artemia*, yaitu tahap hidrasi, tahap pecah cangkang, dan tahap payung atau tahap pengeluaran yang dapat dilihat pada gambar 1.



**Gambar 1.** Tahapan penetasan *Artemia salina* Leach (Mujiman, 1992).

*Artemia* yang baru menetas disebut nauplius. Nauplius berwarna oranye, berbentuk bulat lonjong dengan panjang sekitar 400 mikron, lebar 170 mikron, dan beratnya 0,002 mg. Ukuran-ukuran tersebut sangat bervariasi tergantung strainnya. Nauplius mempunyai sepasang antenulla dan sepasang antena. Antenulla berukuran lebih kecil dan pendek dibandingkan dengan antena. Selain itu, di antara antenulla terdapat bintik mata yang disebut dengan ocellus. Sepasang mandibula rudimenter terdapat di belakang antena. Sedangkan labrum (semacam mulut) terdapat di bagian ventral seperti yang terlihat pada gambar 2.



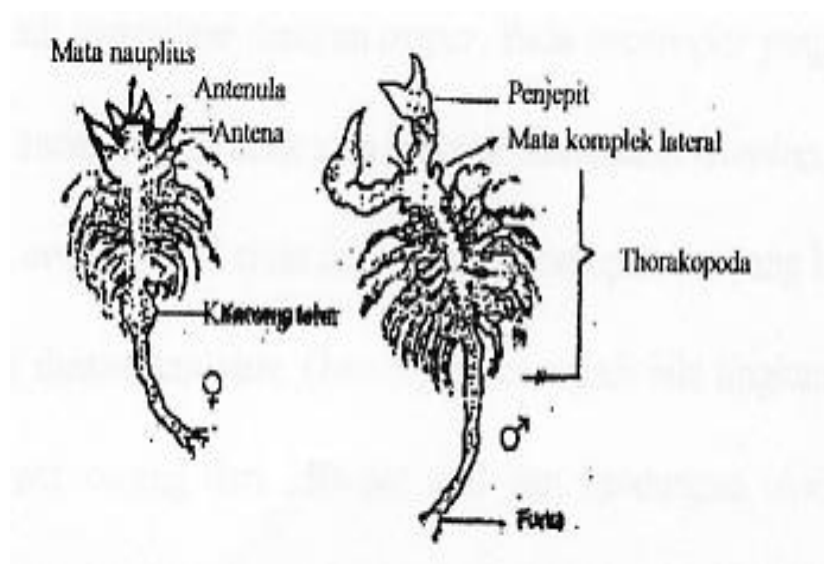
Keterangan :

1. Mata nauplius
2. Antennulla
3. Antena
4. Calon thoracopoda
5. Saluran pencernaan
6. Mandibula

**Gambar 2.** Morfologi nauplius (Isnansetyo *et al.*, 1995)

*Artemia* dewasa biasanya berukuran panjang 8–10 mm yang ditandai dengan adanya tangkai mata yang jelas terlihat pada kedua sisi bagian kepala, antena sebagai alat sensori, saluran pencernaan yang terlihat jelas, dan 11 pasang thorakopoda. Pada *Artemia* jantan, antena

berubah menjadi alat penjepit (mascular gasper), sepasang penis terdapat di bagian belakang tubuh. Sedangkan pada *Artemia* betina, antenna mengalami penyusutan, sepasang indung telur atau ovari terdapat di kedua sisi saluran pencernaan, di belakang thorakopoda. Telur yang sudah matang akan disalurkan ke sepasang kantong telur atau uterus (Isnansetyo *et al.*, 1995). Morfologi *Artemia* dapat dilihat pada gambar 3.



**Gambar 3.** Morfologi *Artemia salina* Leach dewasa (Mujiman, 1992).

### c. Siklus Hidup

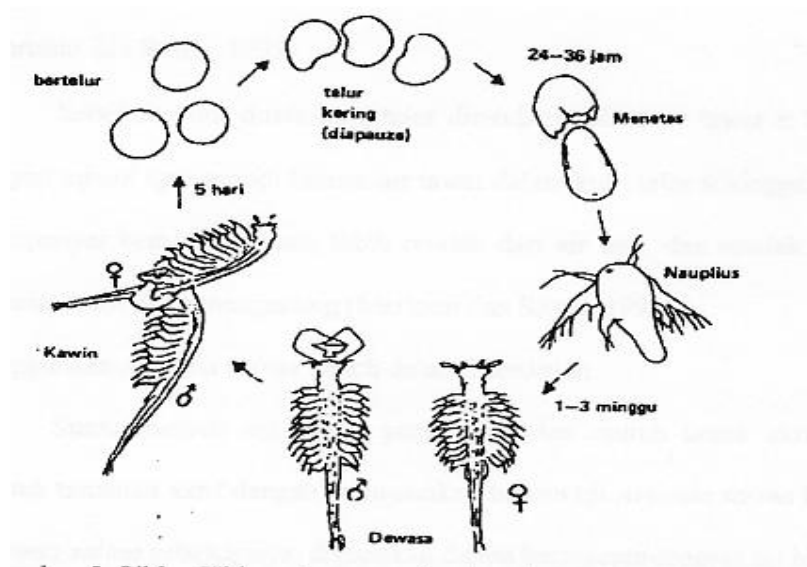
*Artemia* banyak ditemukan di danau-danau yang kadar garamnya sangat tinggi sehingga disebut juga *brine shrimp*. Toleransi terhadap kadar garam sangat menakjubkan, bahkan pada siklus hidupnya memerlukan kadar garam yang tinggi agar dapat menghasilkan kista. Kadar garam yang diperlukan agar *Artemia* tersebut dapat menghasilkan kista bervariasi

tergantung strainnya, pada umumnya membutuhkan kadar garam di atas 100 /mil.

Keasaman air (pH) juga mempengaruhi kehidupan *Artemia*. Seperti halnya hewan-hewan yang hidup di air laut, *Artemia* juga membutuhkan pH air yang sedikit bersifat basa untuk kehidupannya. Agar *Artemia* dapat tumbuh dengan baik maka pH air yang digunakan untuk budidaya berkisar antara 7,5 – 8,5.

*Artemia* bersifat pemakan segala atau omnivora. *Artemia* mengambil pakan dari media hidupnya terus-menerus sambil berenang. Pengambilan makanan dibantu dengan antenna II pada nauplius, sedangkan pada artemia dewasa dibantu oleh telopodite yang merupakan bagian dari thorakopoda.

Menurut cara reproduksinya, *Artemia* dipilah menjadi dua, yaitu *Artemia* yang bersifat biseksual dan *Artemia* yang bersifat partenogenetik. Keduanya mempunyai cara berkembangbiak yang berlainan. *Artemia* biseksual berkembangbiak secara seksual, yaitu didahului dengan perkawinan antara jantan dan betina. Sedangkan *Artemia* parthenogenesis berkembangbiak secara parthenogenesis, yaitu betina menghasilkan telur atau nauplius tanpa adanya pembuahan. Siklus hidup *Artemia salina* Leach dapat dilihat pada gambar 4.



**Gambar 4.** Siklus hidup *Artemia salina* Leach (Mujiman, 1992).

Siklus hidup *Artemia* cukup unik, baik jenis biseksual maupun parthenogenetik. Perkembangannya dapat secara ovovivipar maupun ovipar tergantung kondisi lingkungan terutama salinitas. Pada salinitas tinggi akan dihasilkan kista yang keluar dari induk betina sehingga disebut dengan perkembangbiakan secara ovipar. Sedangkan pada salinitas rendah tidak akan menghasilkan kista akan tetapi langsung menetas dan dikeluarkan sudah dalam bentuk nauplius sehingga disebut dengan perkembangbiakan secara ovovivipar (Isnansetyo *et al.*, 1995).

## 6. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis adalah metode pemisahan fisikokimia. Lapisan yang memisahkan terdiri atas bahan berbutir-butir (fase diam), yang ditempatkan pada penyangga berupa pelat gelas, logam, atau lapisan yang cocok. Campuran yang akan dipisah, berupa larutan, dan ditotolkan berupa

bercak atau pita (awal). Larutan pengembang yang cocok (fase gerak), pemisahannya terjadi selama perambatan kapiler (pengembangan). Selanjutnya senyawa yang tidak berwarna harus ditampakkan (dideteksi) (Stahl, 1985).

Fase diam dalam kromatografi lapis tipis sering disebut penjerap. Fase diam yang banyak digunakan adalah silika gel, tetapi lapisan dapat dibuat dari aluminium oksida, kalsium hidroksida, dapar penukar ion, magnesium fosfat, poliamida, polivinil pirolidon, kieselgur, selulose, dan campuran 2 bahan diatas atau lebih (Harbone, 1996).

Fase gerak merupakan medium angkut dan terdiri dari satu atau lebih pelarut, ia bergerak dalam fase diam yang merupakan suatu lapisan berpori, karena adanya gaya kapiler (Stahl, 1985). Pemilihan fase gerak bergantung pada faktor-faktor yang sama seperti dalam pemisahan dalam kromatografi kolom. Sebaiknya menggunakan campuran pelarut organik yang mempunyai polaritas serendah mungkin. Komponen-komponen yang mempunyai sifat polar yang tinggi terutama air dalam campuran yang cukup akan merubah sistem menjadi sistem partisi (Sastrohamidjojo, 2002).

Pengembangan adalah proses pemisahan cuplikan akibat pelarut mengembang naik dalam lapisan. Hasil pemisahan yang diperoleh setelah pengembangan diidentifikasi dibawah lampu UV (254 nm dan 366 nm), ditandai dengan ada atau tidaknya fluoresensi. Jika tidak tampak dengan cara diatas, maka dilakukan secara kimia yaitu dengan penyemprotan atau diuapi dengan pereaksi yang sesuai.

Keuntungan KLT diantaranya adalah lebih murah, dapat memisahkan dalam waktu singkat dalam bentuk kromatogram yang spesifik dan dapat didokumentasikan.

Angka Rf merupakan jarak pengembangan senyawa pada kromatogram. Angka Rf berkisar 0,00-1,00 hanya ditentukan 2 desimal, sedangkan hRf adalah angka Rf dikalikan 100 menghasilkan nilai berjangka 0 sampai 100.

$$Rf = \frac{\text{Jarak titik pusat bercak dari titik awal}}{\text{Jarak batas pengembangan dihentikan}}$$

(Stahl, 1985)

## E. Hipotesis

Pada penelitian terdahulu tentang uji toksisitas ekstrak daun tolod (*Isotoma longifora* (L.) Prest), menunjukkan bahwa ekstrak yang paling toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach ternyata mengandung senyawa saponin yang terdapat dalam ekstrak kloroform dengan harga  $LC_{50}$   $95,51 \pm 5,51$   $\mu\text{g/ml}$  (Wahyuni, 2004). Biji pacar air (*Impatiens balsamina* L.) mempunyai kandungan saponin. Berdasarkan keterangan tersebut dapat disusun suatu hipotesis dalam penelitian ini yaitu ekstrak kloroform dan ekstrak etanol biji pacar air (*Impatiens balsamina* L.) mempunyai efek toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach.