

**UJI TOKSISITAS MINYAK ATSIRI KULIT BATANG KAYU MANIS  
(*Cinnamomum burmanii* BI.) TERHADAP LARVA *Artemia salina* Leach.  
DENGAN METODE *BRINE SHRIMP LETHALITY TEST* (BSLT)**

**Toxicity Of The Cinnamon (*Cinnamomum burmanii* BI) Bark Essential Oil  
On Brine Shrimp (*Artemia salina* Leach) Larvae By Using Brine Shrimp  
Lethality Test (BSLT) Method**

Yul Tri Darweni

M0409068

Biology Department, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Sebelas  
Maret University, Surakarta

**ABSTRACT**

Cancer is a major health problem in the world and the second largest disease after cardiovascular disorder. Conventional medications cause many side effect symptoms. The use of medicinal plants as an alternative medication increases sharply now because it is easy to access both on price and availability. Cinnamon (*Cinnamomum burmanii* BI) is widely known as a medicinal plant in Indonesia. Essential oil distilled from cinnamon bark contains cinnamaldehyde. It has inhibitor properties and destructive to the biology process, therefore it expects to use as a co-chemotherapy agent for cancer. This study aims to determine the toxicity effect of the cinnamon bark essential oil on brine shrimp (*Artemia salina* Leach) larvae, estimate  $LC_{50}$  of the cinnamon bark essential oil on brine shrimp larvae, and detect the thin layer chromatography (TLC) profile of the cinnamon bark essential oil.

Cinnamon barks were obtained from Center for Research and Development of Medicinal Plants and Traditional Medicine Tawangmangu. Essential oil distilled from cinnamon bark was tested its toxicity by applying Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method with serial concentrations i.e.: 1000, 500, 250, 100, 50, 30, and 0 ppm. Lethal concentration (LC) 50 of cinnamon essential oil on brine shrimp larvae was calculated for 24 hours. TLC was carried out to detect chemical content in the cinnamon bark essential oil.

The study showed that cinnamon bark essential oil is toxic to the brine shrimp larvae in 24 hours and its  $LC_{50}$  value is 124.93  $\mu\text{g/ml}$ . Therefore cinnamon bark essential oil is potential to use as anti-cancer agent. Chemical content in the cinnamon bark essential oil can be separated at retention factor (Rf) 0.76 (Phenol) ; 0,47 (Terpenoid) ; and 0,28 (Phenol).

Keywords: essential oil, cinnamon (*Cinnamomum burmanii* BI), *Artemia salina* Leach, Brine Shrimp Lethality Test (BSLT).

## PENDAHULUAN

Kanker menjadi masalah utama kesehatan di seluruh dunia dan penyakit terbesar kedua setelah kardiovaskuler (Apantaku, 2002). Terapi pengobatan kanker konvensional seperti pembedahan dan radiasi hanya dapat dilakukan pada kanker stadium awal sedangkan dengan kemoterapi belum memberikan hasil yang optimal karena bekerja tidak spesifik terhadap sel-sel kanker, tetapi juga menyerang sel-sel yang normal (Supardjan dan Meiyanto, 2002).

Penggunaan obat tradisional digencarkan sebagai alternatif pengobatan karena dinilai lebih mudah dijangkau baik harga maupun ketersediaannya. Penelitian tentang obat tradisional mulai dikembangkan salah satunya penelitian tentang tanaman obat kayu manis (*Cinnamomum burmanii* Bl.). Tanaman kayu manis banyak dibudidayakan di Indonesia sebagai tanaman obat. Bagian yang sering digunakan untuk pengobatan yaitu minyak atsiri hasil destilasi kulit batang. Masyarakat Indonesia telah percaya dan menggunakan minyak atsiri kulit batang kayu manis sebagai obat untuk mengatasi berbagai penyakit antara lain reumatik, asam urat, batuk dan flu, melancarkan aliran darah, menghilangkan bau badan, menurunkan kadar kolesterol dan menghilangkan masuk angin (Delvian, 2005), sedangkan efeknya terhadap penyakit kanker belum diteliti.

Komponen yang terdapat pada minyak atsiri kulit batang kayu manis adalah pinen yang berkhasiat sebagai penguat fungsi pencernaan dan menambah nafsu makan, kamfen sebagai anti bakteri, limonene untuk pengharum, sineol, p-simen, d-kamfor, benzaldehid, linalol, metil eugenol, sinamaldehyd, dan eugenol

sebagai anti bakteri (Nainggolan, 2008). Kandungan utamanya yaitu *cinnamaldehyde* (70-88%) bersifat menghambat dan merusak proses kehidupan. diduga senyawa ini dapat digunakan sebagai kokemoterapi untuk penyakit kanker. Berdasarkan atas informasi tersebut untuk menunjang serta melengkapi informasi tentang khasiat tanaman obat kayu manis, maka dilakukan penelitian tentang potensi minyak atsiri kulit batang kayu manis sebagai anti kanker. Dalam penelitian ini akan dilakukan pengujian toksisitasnya dengan menggunakan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). Penelitian ini bertujuan menentukan nilai  $LC_{50}$  dari uji toksisitas minyak atsiri kulit batang kayu manis terhadap *Artemia salina* Leach, mengetahui apakah senyawa bioaktif yang terkandung dalam minyak atsiri kulit batang kayu manis berpotensi sebagai kandidat antikanker dan melihat profil senyawa aktif minyak atsiri kulit batang kayu manis berdasarkan kromatografi lapis tipis (KLT).

## BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit batang kayu manis yang diperoleh dari BBPPTOOT (Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional) Tawangmangu, aquadest, petroleum eter, natrium sulfat anhidrat, garam laut, telur *A.salina* Leach., suspensi ragi *Sacharomyces cerevicease* dengan konsentrasi 3mg/10ml air laut, fase gerak toluene-etil asetat dengan perbandingan 93:7, pereaksi semprot reagen vanillin asam sulfat dan pembanding minyak atsiri kayu manis teknis

Dalam penelitian ini digunakan penelitian eksperimental dengan perlakuan minyak atsiri kulit batang kayu manis (*Cinnamomun burmanii* BI.)

terhadap larva *Artemia salina* Leach. untuk mengetahui toksisitasnya. Langkah-langkahnya sebagai berikut :

Penetasan Larva Artemia : telur direndam dalam air laut secukupnya dengan menerangi bagian wadah yang ditempati telur udang dengan sinar lampu biasa selama 48 jam.

Pembuatan minyak atsiri kulit kayu manis dengan metode destilasi : Kulit batang kayu manis dibersihkan, dipotong-potong dan dimasukkan dalam labu destilasi dan ditambah aquades sampai bahan terendam. Kemudian ditambahkan petroleum eter, dan alat destilasi diset, mantel pemanas dinyalakan. Destilasi dilakukan selama 6 jam yang dihitung setelah destilat pertama turun. Minyak atsiri yang dihasilkan ditampung dan dikeringkan dengan Natrium Sulfat anhidrat yang telah dioven selama 3 jam pada suhu 105-110°C. Minyak atsiri yang bebas air dipindahkan ke dalam botol vial. Petroleum eter yang masih tercampur diuapkan pada suhu kamar (Wijayanti dkk., 2009).

Uji Toksisitas menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) : Larutan uji dibuat dengan menimbang 20mg minyak atsiri dilarutkan dalam 2ml etanol kemudian dipipet ke dalam botol flakon sebanyak 500µl, 250µl, 125µl, 50µl, dan 25µl dibiarkan 24 jam untuk menguapkan pelarut. Larutan kemudian ditambahkan air laut sampai dengan volume akhir 5ml dan dihomogenisasi dengan vortex kemudian masing-masing flakon dimasukkan 10 ekor larva *A. salina* Leach. dan ditambahkan 1 tetes suspensi ragi. Flakon-flakon diletakkan di bawah lampu penerangan dan dibiarkan selama 24 jam. Setelah 24 jam dihitung larva yang mati menggunakan lup. Setelah diketahui persen kematian kemudian

ditentukan nilai LC50-nya. Suatu senyawa dinyatakan aktif apabila memiliki nilai LC50 < 500 ppm dan dinyatakan tidak aktif jika memiliki LC50 > 500 ppm (Meyers *et al.*, 1982).

Profil Kromatografi Lapis Tipis : Minyak atsiri ditotolkan pada plat silika Gel 60 F<sub>254</sub> dengan pipa kapiler dan dimasukkan ke dalam kolom *chamber* yang diisi dengan fase gerak berupa toluene-etil asetat 93:7. Plat silika dielusi sampai tanda dan diperiksa di bawah lampu UV<sub>254</sub> dan UV<sub>366</sub> kemudian dideteksi dengan pereaksi semprot vanillin asam sulfat. Selanjutnya dihitung nilai R<sub>f</sub> yang dihasilkan.

#### ANALISIS DATA

Persentase kematian larva uji setelah 24 jam pelakuan dengan rumus sebagai berikut : % kematian = 
$$\frac{\text{Jumlah larva } Artemia \text{ salina Leach. mati}}{\text{Jumlah larva uji}} \times 100\%$$

Jumlah larva uji

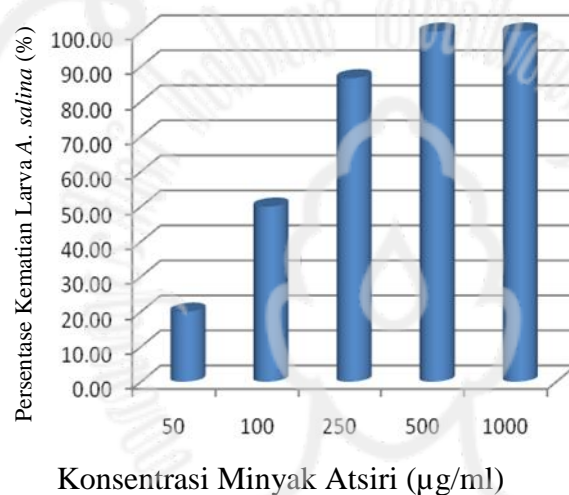
Persentase kematian larva *Artemia salina* Leach. digunakan untuk mencari angka probit melalui tabel dan dibuat persamaan regresi linier menggunakan program Microsoft excel, sehingga diperoleh persamaan sebagai  $y = bx + a$ , dimana  $y$  = angka probit, dan  $x$  = log konsentrasi

Persamaan tersebut dapat digunakan untuk mengetahui nilai LC<sub>50-24</sub> jam Minyak Atsiri kulit batang kayu manis dengan memasukan nilai probit 5 (50% kematian), Apabila nilai LC<sub>50-24</sub> jam dari sampel yang diujikan di bawah 1000 µg/ml, maka komponen yang terkandung pada sampel tersebut dapat berpotensi sebagai kokemoterapi untuk penyakit kanker (Meyer *et al.*, 1982).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. Uji Toksisitas

Berdasarkan hasil uji toksisitas (Gambar 1) diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi minyak atsiri semakin tinggi pula persentase kematian larva *A. salina*. Rata-rata presentase kematian *A. salina* sudah mencapai 50% pada konsentrasi 100  $\mu\text{g/ml}$ . Dengan demikian minyak atsiri kulit kayu manis sudah dapat diduga mempunyai potensi toksisitas akut terhadap larva.



Gambar 1 . Persentase Kematian Larva *A. salina* Dalam Minyak Atsiri Kayu Manis Selama 24 Jam

Beberapa bahan kimia yang terkandung di dalam minyak atsiri kayu manis antara lain eugenol, safrole, dan sinamaldehyd. sinamaldehyd dan eugenol adalah yang paling banyak dan telah terbukti bersifat toksik terhadap bakteri dan jamur (Wang *et al.*, 2009)

Efek farmakologis yang dimiliki minyak atsiri kayu manis antara lain mempunyai daya bunuh terhadap mikroorganisme (*antiseptis*), sebagai peluruh

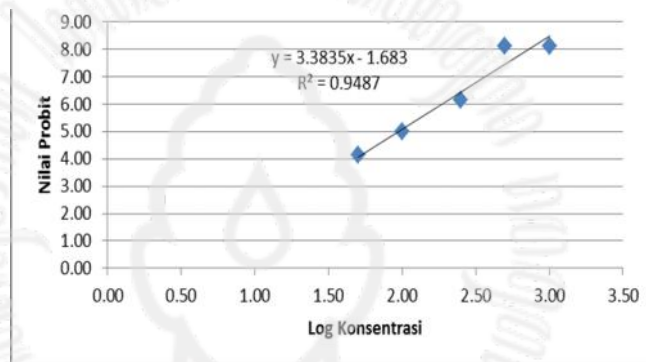
angin (*carminative*), peluruh keringat (*diaphoretic*), antirematik, anti inflamasi, penambah nafsu makan (*stomachica*) dan penghilang rasa sakit (*analgesic*) (Hariana, 2008). Senyawa aktif dalam minyak atsiri kayu manis yang bersifat toksik bakteri adalah sinamaldehyd dan eugenol. Salah satunya mekanisme toksik dari sinamaldehyd yaitu dengan menghambat metabolise energi pada sel, sehingga menyebabkan ketidakmampuan sel untuk melakukan metabolisme atau beradaptasi terhadap bahan ini. Sinamaldehyd diduga juga dapat menghambat biosintesis enzim (Adriani dkk, 2010 ; Davidson, 2001). Minyak asiri kayu manis juga mengandung senyawa golongan terpenoid seperti  $\alpha$ -pinena dan limonene, senyawa tersebut dapat terakumulasi dalam jaringan lipid membrane sel dan menyebabkan terganggunya strektur dan fungsi membrane sel disebabkan oleh penambahan volume sel dan perubahan permeabilitas membrane sel ( sikemma *et al.*, 19964)

Saluran pencernaan *A. salina* bersifat penyaring tidak selektif sehingga memudahkan zat toksik untuk masuk melalui mulut. Senyawa toksik dari minyak atsiri kulit batang kayu manis yang masuk dapat berinteraksi dengan target membran sel dan enzim sehingga mempengaruhi mekanisme tubuh larva yang pada akhirnya dapat menyebabkan terjadinya kematian (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995).

Perhitungan nilai  $LC_{50}$  dari uji toksisitas dengan mempergunakan persamaan yang didapat dari kurva regresi linier yang menunjukkan hubungan log konsentrasi minyak atsiri kayu manis dengan nilai probit kematian larva *A. salina*. Nilai probit merupakan angka yang didapat dari rata-rata prosentase kematian *A.*



*salina* disetiap variasi konsentrasi zat yang digunakan. Selanjutnya nilai probit tersebut dimasukkan kedalam program *Microsoft Excel* bersama nilai log dari konsentrasi yang digunakan sehingga akan terbentuk persamaan regresi lineir. Dari persamaan tersebut dimasukkan nilai  $Y = 5$  (50%) sebagai variable terikat sehingga diperoleh nilai  $X$  sebagai variable bebas. Nilai  $X$  yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk mencari antilog dan dapat digunakan untuk menentukan nilai  $LC_{50}$ . Kurva regresi lineier dapat dilihat pada Gambar 6 dibawah ini.



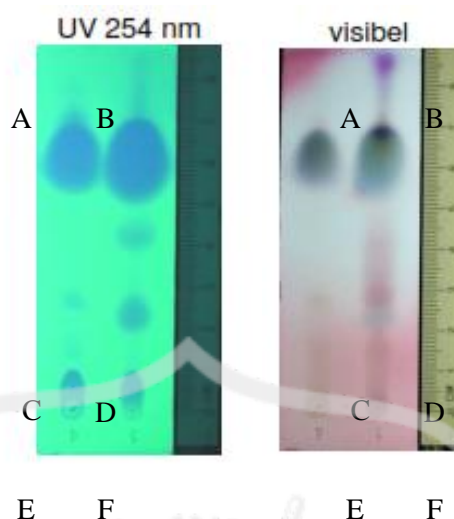
Gambar 2. Kurva regresi linier hasil uji toksisitas minyak atsiri kulit kayu manis terhadap *A. salina*.

Hasil analisis regresi uji toksisitas minyak atsiri kulit kayu manis diperoleh persamaan linier  $Y = 3,3835 + 1,683$  dengan nilai  $R^2 = 0,9487$ . Pada uji toksisitas ini nilai  $R^2$  mendekati angka 1, hal ini menunjukkan bahwa faktor yang mempengaruhi kematian larva uji adalah akibat dari senyawa minyak atsiri yang diberikan (Sugiyono, 2009). Dari perhitungan berdasarkan persamaan regresi linier pada Gambar 2, diketahui nilai  $LC_{50}$  minyak atsiri kulit kayu manis adalah sebesar  $94,308 \mu\text{g/ml}$ . Berdasarkan nilai  $LC_{50}$  tersebut, maka dapat dinyatakan bahwa minyak atsiri kayu manis dapat berpotensi sebagai kandidat antikanker.



## B. Deteksi Kandungan Senyawa Kimia

Pemeriksaan dengan cara kromatografi lapis tipis (KLT) dimulai dengan mencari fase gerak dan fase diam yang akan digunakan. Pemisahan yang optimal ditentukan oleh fase diam dan fase gerak yang sesuai untuk campuran atau senyawa yang akan dipisahkan sehingga diperoleh noda atau bercak yang jelas . Fase diam yang digunakan adalah silika gel GF254, dengan pertimbangan bahwa fase diam ini bersifat polar agar dapat mengikat komponen-komponen pengotor yang bersifat polar juga, sehingga terjadi pemisahan antara minyak atsiri dengan pengotor atau komponen lainnya. Fase gerak yang digunakan adalah campuran toluen dan etil asetat (93:7) sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan Dwijayanti (2011). Plat yang sudah ditotolkan sampel dan pembanding dimasukkan ke dalam *chamber* yang sudah jenuh dan berisi fase gerak. Setelah dilakukan elusi maka dilakukan deteksi bercak yang dihasilkan dengan pengamatan di bawah sinar UV 254 nm dan dengan pereaksi semprot vanilin asam sulfat pekat. Vanilin-Asam sulfat dapat digunakan untuk mendekteksi senyawa atsiri (terpenoid, fenol dan turunannya, saponin serta fenilpropan). Kemudian plat dipanaskan pada suhu 110°C selama 2 menit di dalam oven. Warna yang dihasilkan dari minyak atsiri adalah biru kelabu, biru muda dan merah muda. Dari hasil KLT profil juga didapat hasil berdasarkan penyinaran UV dapat dilihat pada Gambar 3



Gambar 3. Profil KLT Minyak Atsiri Batang Kayu Manis dengan Fase Diam Silikal Gel 60 F<sub>254</sub> Pengembang Etil Asetat, Penampakan Bercak UV 254

Keterangan :

P : Pembanding Minyak Kayu Manis Teknis

S : Sample Minyak Kayu Manis Hasil Destilasi

Tabel 1 . Hasil Kromatogram Kromatografi Lapis Tipis Minyak Atsiri Kayu Manis

Rf	Visibel	UV254	Uv366
0,76	Biru kelabu	Berpendar	Tidak berpendar
0,47	Merah muda	Berpendar	Tidak berpendar
0,28	Biru muda	Berpendar	Tidak berpendar

Berdasarkan data kromatogram minyak atsiri (Tabel 1) dengan pembanding *cinnamomi oil* (teknis) pada pengamatan di bawah sinar UV 254 nm, diketahui nilai Rf bercak yang dihasilkan oleh minyak atsiri hasil destilasi sama dengan Rf bercak yang dihasilkan oleh *cinnamomi oil* teknis. Secara kualitatif terbukti bahwa minyak atsiri hasil destilasi tersebut sama dengan *cinnamomi oil* teknis. Pada KLT minyak atsiri kayu manis terdapat beberapa bercak yang dapat dipisahkan yaitu pada Rf 0,76; Rf 0,47 dan pada Rf 0,28 (Gambar B, D dan E).

Pada Rf 0,47 menampilkan warna merah pada sinar visible dan berpendar pada UV 254 diduga senyawa ini adalah senyawa golongan terpenoid dan pada 0,76 dan 0,28 dengan penampakan warna biru pada sinar visible dan berpendar pada sinar UV254 diduga golongan senyawa fenol.

### KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Nilai  $LC_{50}$  minyak atsiri kulit kayu manis terhadap *A. salina* dari uji adalah 94,308  $\mu\text{g/mL}$
2. Senyawa bioaktif yang terkandung dalam minyak atsiri kulit kayu manis. Tawangmangu berpotensi sebagai kandidiat antikanker
3. Profil KLT (Kromatografis Lapis Tipis) senyawa bioaktif hasil minyak atsiri kulit kayu manis dapat dipisahkan pada Rf 0,47 diduga golongan terpenoid, dan pada 0,76 dan 0,28 yang diduga golongan fenol.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Keluarga besar Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret Surakarta.

### DAFTAR PUSTAKA

- Apantaku, L.M. 2006. Breast-conseving surgery for breast cancer. *Physician* 66 (1):23-26
- Ardiani, M., Prastiwi, S., Hertiani, T. 2010. Efek Campuran Minyak Atsiri Sebagai Antiplak Gigi. *Majalah Farmasi Indonesia* 2010 : 21(3) : 191-201
- Davidson, P.M. 2001. Chemical Presentatives And naturally Antimicrobial Compounds In : Beuchat MP. Montuile LR. *Food Microbiology* 2<sup>nd</sup> Edition. Wasington DC : ASM Press page 593-628

- Delvian. 2005. Pengaruh Cendawan Mikoriza arbuskula dan Naungan Terhadap Pertumbuhan Bibit Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii* BI). *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Pertanian Agrisol* 4 (1): 34-40
- Dwijayanti, K. r. 2011. Daya Anntibakteri Minyak Atsiri Kulit Batan Kau Manis ( *Cinnamomum burmanii* BI) Terhadap *Streptococcus mutans* Penyebab Caries Gigi. Skripsi : Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta.
- Hariana, A. 2008. *Tumbuhan Obat Dan Khasiatnya Seri 2*. Jakarta : Penebar Swadaya Indonesia
- Isnansetyo, A., dan Kurniastuty. 1995. *Teknik Kultur Phytoplankton dan Zooplankton: Pakan Alami untuk Pembenihan Organisme Laut*. Cetakan I. Penerbit Kanisius : Yogyakarta
- Meiyanto, E., Sugiyanto, dan Sudarto, B., 1997, Uji Antikarsinogenik dan Antimutagenik Preparat Tradisional Daun *Gynura procumbens* (Lour.) Merr., Fakultas Farmasi UGM, Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XII, 32.
- Meyers, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D.E., dan McLaughlin, J. L. 1982. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *PlantaMedica* 45: 31-34
- Nainggolan, M. 2008. Isolasi Sinamaldehyd dari Kulit Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii* Bi). *Tesis*. Sekolah Pasca Sarjana USU : Medan
- Sikkema, J., De Bont, J.A., Poolman, B. 1994. Interaction Of Cyclic Hydrocarbons With Biological Membrannes. *Journal Biochem* 1994 : 269 (11) : 8022-8028
- Sugiyono. 2009. *Analisis Kuantitatif, Kualitatif dan RD*. Bandung; Alfabeta
- Supardjan, A.M., dan Meiyanto, E. 2002. Efek antiproliferatif pentagamavunon- 0 terhadap beberapa sel kanker, *Laporan Penelitian*, Lembaga Penelitian Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Wang, R., Wang, R., Yang, B. 2009. Extraction Of Essential oil From Cinnamom Leaves And Identification Of Their Volatile Compound Compisitions. *Inovative Food Science And Emergin Technologies* 10 : 289-292
- Wijayanti, W.A., Zetra, Y., Burhan, P. 2009. Minyak Atsiri Dari Kulit Batang *Cinnamomum burmanii* (Kayu Manis) Dari Famili Lauraceae Sebagai Insektisida Alami, Antibakteri, Dan Antioksidan. *Skripsi*. Jurusan Kimia Fakultas MIPA. Institut Teknologi Sepuluh November.