

SKRINING FITOKIMIA DAN UJI TOKSISITAS PADA DAUN *TERAP* (*Artocarpus elasticus*) DENGAN METODE *BRINE SHRIMP LETHALITY TEST* (BSLT)

Mahardika Nastiti^{1*}, Erwin¹, Irawan W. Kusuma²

¹Jurusan Kimia FMIPA Universitas Mulawarman Samarinda

²Fakultas Kehutanan Universitas Mulawarman Samarinda

*Corresponding Author: mahardikanastiti@gmail.com

ABSTRACT

A research to find out the secondary metabolite compounds contained in the leaves of *terap* (*Artocarpus elasticus*) and its toxicity of *terap* leaves extract has been done by using *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) method. Toxicity was conducted for prawn *Artemia salina* Leach of 48 hours age. Toxicity data were obtained from *Lethal Concentration 50%* (LC₅₀) with percentage of death of prawn larva and counted by probit analysis SAS. The result showed that 5th-hexane fraction was more toxic than another extract with LC₅₀ values 71.887 ppm and furthermore, the bioactive compound of 5th-hexane fraction was probably to be either steroid compound.

Keywords: *Artocarpus elasticus*, Phytochemical, Toxicity

PENDAHULUAN

Indonesia dikenal sebagai salah satu pusat penyebaran berbagai tumbuhan tropis di dunia. Tumbuhan memegang peranan penting dalam kelangsungan hidup makhluk di atas bumi. Di samping itu, tumbuhan memiliki potensi kimia dari sebagian besar sumber daya hayati yang ada di atas bumi, yang setiap saat dapat memproduksi senyawa kimia secara teratur dan seimbang baik berupa produk metabolit primer dan metabolit sekunder (Sukandar, 2000). Keanekaragaman hayati juga dapat diartikan sebagai keanekaragaman kimiawi yang mana mampu menghasilkan bahan-bahan kimia alami, baik sebagai kebutuhan manusia maupun organisme lain seperti kegunaannya sebagai obat-obatan, kosmetik, intektisida dan sebagai bahan dasar sintesis senyawa organik yang lebih bermanfaat (Achmad, 1985).

Tanaman menghasilkan senyawa-senyawa metabolit sekunder yang bersifat toksik dan dapat digunakan sebagai obat. Golongan senyawa metabolit sekunder beranekaragam diantaranya: alkaloid, flavonoid, steroid, triterpenoid, fenolik, saponin dan tanin (Harborne, 1987). Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman dianalisis kemampuan sitotoksiknya menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) adalah salah satu cara yang digunakan untuk mengetahui kemampuan toksik terhadap sel (sitotoksik) dari suatu senyawa yang dihasilkan

oleh ekstrak tanaman dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach sebagai bioindikator (Kanwar, 2007). Beberapa kelebihan dari metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) menggunakan larva udang (*Artemia salina* Leach) seperti pengerjaan yang cepat, mudah, tidak memerlukan peralatan khusus dan keahlian yang khusus, sederhana (tanpa teknik aseptik) dan murah karena waktu pengamatan hanya 24 jam, jumlah organisme banyak, menggunakan sampel uji dalam jumlah kecil, hasilnya representatif dan dapat dipercaya (Meyer dkk, 1982).

Salah satu tanaman yang berpotensi memiliki bioaktivitas yaitu *terap* (*Artocarpus elasticus*) yang merupakan salah satu spesies dari *Artocarpus*. Menurut hasil penelitian yang dilakukan oleh Tasmin dkk (2014), isolat daun *terap*, fraksi kloroform dan ekstrak metanol daun *terap* (*A. oddoratisissimus* Blanco) berpotensi sebagai senyawa bioaktif antikanker dan isolat dari daun *terap* (*A. odoratisissimus* Blanco) diidentifikasi sebagai triterpenoid dan friedelinol, senyawa ini memiliki cukup sitotoksitas dengan menunjukkan nilai LC₅₀ 48.39 ppm (Erwin dkk, 2015). Selain itu, penelitian sebelumnya dari ekstrak metanol dan kloroform daun *terap* (*A. elasticus*) menunjukkan aktivitas radikal bebas yang baik dengan nilai IC₅₀ 11,30 ppm dan 11,89 ppm (Ramli dkk, 2013). Ekstrak daun *terap* (*A. elasticus*) memiliki potensi sebagai tanaman obat

yang terdeteksi memiliki senyawa metabolit sekunder serta aktivitas toksik yang berbeda-beda.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam daun *terap* (*A. elasticus*) dan untuk mengetahui toksisitas daun *terap* (*A. elasticus*) terhadap larva udang *A. salina* Leach melalui metode BSLT sebagai uji pendahuluan untuk mengetahui senyawa bioaktif dari daun *terap* (*A. elasticus*).

METODOLOGI PENELITIAN

Ekstraksi Sampel

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi. Sampel kering daun *terap* (*A. elasticus*) yang telah dihaluskan direndam dalam etanol 96% selama 2×24 jam sambil sesekali dikocok, kemudian ekstrak disaring dan dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak yang diperoleh disebut sebagai ekstrak kasar etanol. Selanjutnya, ekstrak kasar etanol dipartisi dengan etanol dan *n*-heksana (2:1) hingga terbentuk 2 lapisan secara berulang kali. Lapisan bagian atas dipisahkan dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh fraksi *n*-heksana. Ekstrak kasar etanol dan fraksi *n*-heksana yang diperoleh dilakukan uji skrining fitokimia dan uji toksisitas dengan metode BSLT.

Skrining Fitokimia

Uji Fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam daun *terap* (*A. elasticus*). Dilakukan dengan:

Uji Alkaloid (Pereaksi Dragendorff dan Pereaksi Meyer)

Etanol dan fraksi *n*-heksana daun *terap* (*A. elasticus*) dilarutkan dengan pelarut yang sesuai, kemudian ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendorff (campuran $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dalam asam nitrat dan larutan KI). Adanya alkaloid ditunjukkan dengan terbentuknya endapan jingga sampai merah coklat dengan pereaksi dragendorff (Robinson, 1995).

Uji Terpenoid/Steroid (Uji Liebermann Buchard)

Ekstrak kasar etanol dan fraksi *n*-heksana daun *terap* (*A. elasticus*) dilarutkan dalam pelaut yang sesuai, kemudian ditambahkan 3 tetes pereaksi Liebermann Buchard (asam asetat glasial dan $\text{H}_2\text{SO}_4(\text{P})$). Uji positif triterpenoid memberikan warna merah atau ungu dan uji positif steroid

memberikan warna hijau atau biru (Harborne, 1987).

Uji Fenolik

Ekstrak kasar etanol dan fraksi *n*-heksana daun *terap* (*A. elasticus*) dilarutkan dalam pelarut yang sesuai, kemudian ditambahkan larutan FeCl_3 10% beberapa tetes, ekstrak positif mengandung fenolik apabila menghasilkan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam (Harborne, 1987).

Uji Flavonoid

Ekstrak kasar etanol dan fraksi *n*-heksana daun *terap* (*A. elasticus*) dilarutkan dalam pelarut yang sesuai, kemudian ditambahkan 2 mg serbuk Mg dan 3 tetes HCL pekat. Uji positif mengandung flavonoid apabila terbentuk warna merah, kuning atau jingga (Harborne, 1987).

Uji Saponin

Ekstrak kasar etanol dan *n*-heksana daun *terap* (*A. elasticus*) dilarutkan dalam pelarut yang sesuai, kemudian dikocok kuat jika menghasilkan busa ditambahkan 1 tetes HCL pekat. Ekstrak positif mengandung saponin jika timbul busa dengan ketinggian 1-3 cm yang bertahan selama 15 menit (Harborne, 1987).

Uji Toksisitas

Penetasan Telur Udang *Artemia salina* Leach

Sebanyak 1 g telur udang ditambahkan dengan 500 mL air laut yang telah disaring dan dimasukkan ke dalam media penetasan dan diberikan pencahayaan lampu TL selama 48 jam sampai telur udang menetas menjadi larva udang (*nauplii*) dan siap digunakan untuk pengujian (Baud dkk, 2014).

Pembuatan Larutan Sampel dan Kontrol

Sebanyak 1 mg sampel dilarutkan dalam 100 μL DMSO dan diencerkan dengan 900 μL air laut sehingga diperoleh konsentrasi sampel 1000 ppm. Larutan kontrol dibuat sama dengan prosedur pembuatan larutan sampel tanpa menggunakan sampel (Tekha dkk, 2015).

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

Sebanyak 2 buah plat mikro standar disiapkan masing-masing untuk plat uji dan plat kontrol. Pada baris 1 dan 2 masing-masing tiga kolom dimasukkan 100 μL larutan sampel 1000 ppm pada plat uji dan 100 μL larutan kontrol pada plat kontrol. Larutan pada baris 2 pada plat uji diencerkan dengan 100 μL air laut dan diaduk. Kemudian dipipet kembali 100 μL larutan pada baris 2 dan dimasukkan ke dalam baris 3 dan

diencerkan kembali dengan 100 μ L air laut dan diaduk. Seterusnya dilakukan dengan cara yang sama sampai baris terakhir, sehingga diperoleh konsentrasi larutan pada masing-masing baris plat uji sebagai berikut: baris 1 = 1000 ppm, baris 2 = 500 ppm, baris 3 = 250 ppm, baris 4 = 125 ppm dan baris 5 = 62,5 ppm (Tekha dkk, 2015).

Selanjutnya di tambahkan 100 μ L air laut yang mengandung 10 –13 larva udang ke dalam larutan sampel pada plat uji dan larutan kontrol pada plat kontrol dan dibiarkan selama 24 jam. Jumlah rata-rata larva udang yang mati dan hidup pada setiap baris palt uji dan plat kontrol di hitung setelah 24 jam (Tekha dkk, 2015).

Teknik Analisa Data

Teknik analisa data yang digunakan untuk uji mortalitas larva udang yaitu berdasarkan nilai

LC₅₀ (*Lethal Concentration 50%*) yang dapat mengakibatkan kematian larva udang sampai 50% selama 24 jam (LC₅₀ dalam unit waktu) ditentukan dengan Analisa Probit (*Probability Unit*) menggunakan program SAS (*Statistical Analysis System*).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Skrining Fitokimia

Hasil uji fitokimia terhadap ekstrak kasar etanol, fraksi *n*-heksana dan fraksi aktif *n*-heksana 5 dari daun terap (*A.elasticus*) diperoleh kandungan metabolit sekunder yang dapat dilihat pada tabel 1, sebagai berikut:

Tabel 1. Hasil Uji Skrining Fitokimia

Golongan Metabolit Sekunder	Fraksi		
	Kasar etanol	<i>n</i> -heksana	<i>n</i> -heksana 5
Alkaloid	+	-	-
Flavonoid	+	+	-
Fenolik	+	-	-
Triterpenoid	-	-	-
Steroid	+	+	+
Saponin	-	-	-

Ket:

(+): mengandung golongan metabolit sekunder

(-): tidak mengandung golongan metabolit sekunder

Uji Toksisitas

Uji toksisitas metode *brine shrimp lethality test* (BSLT) terhadap larva udang (*A. salina* Leach) dapat digunakan sebagai uji pendahuluan yang cepat dan sederhana untuk mengetahui bioaktivitas suatu senyawa yang mengarah pada uji sitotoksik. Kisaran konsentrasi fraksi yang dapat memberikan efek toksik yaitu konsentrasi yang dapat menyebabkan kematian sebesar 50% pada konsentrasi < 1000 ppm dari jumlah hewan uji setelah 24 jam perlakuan, yang disebut sebagai LC₅₀. Jumlah larva udang yang mati dihitung dan dianalisis menggunakan program analisis probit (*Probability Unit*) SAS (*Statistical Analysis System*) untuk menentukan nilai LC₅₀ (Jayanti dkk, 2012).

Pada penelitian ini menggunakan larva udang (*A. salina* Leach) sebanyak 10-13 ekor pada setiap kolom uji yang ditambahkan ekstrak

daun *terap* dari masing-masing fraksi. Setiap sampel dilakukan percobaan dalam tiga kali pengulangan dengan konsentrasi 1000 ppm, 500 ppm, 250 ppm, 125 ppm dan 62,5 ppm dan 0 ppm sebagai kontrol tanpa penambahan sampel. Larva yang digunakan berumur 48 jam, karena menurut McLaughlin dan Roger (1998) kondisi larva yang tepat untuk uji hayati yaitu pada usia 48 jam, dimana anggota tubuh larva sudah lengkap (Muaja, 2013).

Berdasarkan perhitungan dengan menggunakan analisis probit SAS terhadap ekstrak kasar etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi *n*-heksana 1, fraksi *n*-heksana 2, fraksi *n*-heksana 3, fraksi *n*-heksana 4, fraksi *n*-heksana 5, fraksi *n*-heksana 6 dan fraksi *n*-heksana 7 dari daun terap (*A. elasticus*) diperoleh nilai LC₅₀ (*Lethal Concentration 50%*) yang dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Toksisitas

Jenis Ekstrak	LC ₅₀ (ppm)
Ekstrak kasar etanol	619.099
Fraksi <i>n</i> -heksana	311.073
Fraksi <i>n</i> -heksana 1	474.937
Fraksi <i>n</i> -heksana 2	377.978
Fraksi <i>n</i> -heksana 3	244.098
Fraksi <i>n</i> -heksana 4	105.867
Fraksi <i>n</i> -heksana 5	71.887
Fraksi <i>n</i> -heksana 6	202.357
Fraksi <i>n</i> -heksana 7	217.712

Berdasarkan pada tabel 2 menunjukkan bahwa ekstrak kasar etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi *n*-heksana 1, fraksi *n*-heksana 2, fraksi *n*-heksana 3, fraksi *n*-heksana 4, fraksi *n*-heksana 5, fraksi *n*-heksana 6 dan fraksi *n*-heksana 7 bersifat toksik yang menunjukkan kematian larva udang sampai 50%. Pada fraksi *n*-heksana 5 memiliki bioaktivitas paling tinggi terhadap larva udang yang ditunjukkan dengan nilai LC₅₀ sebesar 71.8870 ppm, fraksi *n*-heksana 5 menunjukkan adanya senyawa steroid, berdasarkan hasil penelitian Sukardiman (2004), senyawa steroid pada ekstrak etanol *Marchantia planiloba* Steph mampu membunuh larva udang (*A. salina* Leach) dengan nilai LC₅₀ 247.10 ± 5.28 ppm. Selain itu, sterol juga dapat berperan sebagai antikanker (De Stefani dkk, 2000). sehingga dapat dikatakan bahwa fraksi *n*-heksana 5 berpotensi sebagai antikanker.

Menurut Meyer dkk (1982) potensi bioktivitas berdasarkan nilai LC₅₀ yaitu suatu nilai yang menunjukkan konsentrasi zat toksik yang dapat mengakibatkan kematian organisme sampai 50% pada konsentrasi < 1000 ppm dan dikatakan tidak toksik apabila nilai LC₅₀> 1000 ppm. Apabila nilai LC₅₀< 30 ppm maka ekstrak sangat toksik dan berpotensi sebagai antikanker. Penentuan potensi bioaktif dilakukan dengan membandingkan nilai LC₅₀ suatu ekstrak sampel dengan ketentuan:

LC ₅₀ ≤ 30 ppm	Sangat toksik
31 ppm ≤ LC ₅₀ ≤ 1000	Toksik
LC ₅₀ > 1000 ppm	Tidak toksik

KESIMPULAN

Golongan metabolit sekunder yang terkandung di dalam ekstrak kasar etanol dan fraksi *n*-heksana dari daun *terap* (*A. elasticus*) adalah flavonoid dan steroid. Fraksi *n*-heksana 5 dari daun *terap* (*A. elasticus*) mengandung senyawa steroid. Berdasarkan hasil uji toksisitas

dengan menggunakan metode *brine shrimp lethality test* (BSLT) pada daun *terap* (*A. elasticus*) diperoleh bahwa fraksi *n*-heksana 5 memiliki toksisitas paling tinggi dengan nilai LC₅₀ sebesar 71.8870 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S.A. 1985. *Kimia Organik Bahan Alam*. Jakarta: Universitas Terbuka.
- Baud, G.S., Sangi, M.S dan Koleangan, H.S.J. 2014. *Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Batang Tanaman Patah Tulang (Euphorbia tirucalli L.) dengan Metode brine shrimp lethality test (BSLT)*. Jurnal Ilmiah Sains Vol.14 No.2.
- De Stefani, E. 2000. *Plant Sterol and Risk of Stomach Cancer: A Case-Control Study in Uruguay*. Nutrition and Cancer 37 (2): 140-144.
- Erwin., Sulistyaningsih. S dan Kusuma, I.W. 2015. *Isolation and MS Study of Friedelinol from The Leaves of Terap (Artocarpus odoratissimus Blanco)*. Int J Pharm Bio Sci 2015 Jan; 6(1): (P) 598 – 604.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan Edisi Kedua*. Bandung: ITB Press.
- Jayanti, N.W., Astuti, M.D., Komari, N dan Rosyidah, K. 2012. *Isolasi dan Uji Toksisitas Senyawa Aktif dari Ekstrak Metilena Klorida (MTC) Lengkuas Putih (Alpinia galangal (L) Willd)*. Chemistry Prog. Vol.5 No.2.
- Kanwar, A.S. 2007. *Brine Shrimp (Artemia salina) a Marine Animal for Simple and Rapid Biological Assays*. Chinese Clinical Medicine 2 (4): 35-42.
- McLaughlin, J.L and Rogers, L.L. 1998. *The Use Of Biological Assays To Evaluate Botanicals*. Drug Information Journal. 32:513-524.
- Meyer, BN., N.R. Ferrigni, JE Putnan, L.B. Jacobsen, D.E. Nicolas, J.L. and McLaughlin. 1982. *Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituent*. Departement of Medical Chemistry and Pharmacognocny, School of Pharmacy and Pharmacal Science and Cell Culture Libratory, Perdue Cancer Center. West Lavayette. USA.

- Muaja, A.D. 2013. *Uji Toksisitas dengan Metode BSLT dan Analisis Daun Soyogik (Saurauia bracteosa DC.) dengan Metode Soxhletasi*. [Skripsi]. FMIPA UNSRAT, Manado.
- Ramli, F., Rahmani, M., Kassim, N.K., Hashim, N.M., Sukari, M.A., Akim, A.M and Go, R. 2013. New Diprenylated Dihydrochalcones from Leaves of *Artocarpus elasticus*. *Phytochemistry Letter*. 6:582-585.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*. Bandung: ITB Press.
- Sukandar, D. 2000. *Flavonoid Terpenilasi dari Kayu Batang Tumbuhan Artocarpus champeden spreng*, Tesis. Bandung: ITB.
- Sukardiman, A.R dan Pratiwi, N.F. 2004. *Uji Praskrining Aktivitas Antikanker Ekstrak Eter dan Ekstrak Metanol Marchantia cf. planiloba Steph. Dengan Metode Uji Kematian Larva Udang dan Profil Densitometri Ekstrak Aktif*. *Majalah Farmasi Airlangga*, Vol.4 No.3.
- Tasmin, N., Erwin dan Kusuma, I.W. 2014. *Isolasi, Identifikasi dan Uji Toksisitas Senyawa Flavonoid Fraksi Kloroform dari Daun Terap (Artocarpus odoratissimus Blanco)*. *Jurnal Kimia Mulawarman* Vol 12 No.1.
- Tekha, K.N., Erwin dan Kartika, R. 2015. *Uji Toksistas Ekstrak Kelopak Jantung Pisang Kepok (Musa Paradisiaca Linn.) dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test)*. *Jurnal Kimia Mulawarman* Vol.12 No.1.