

IDENTIFIKASI SENYAWA FITOKIMIA DAN UJI TOKSISITAS DENGAN METODE BSLT EKSTRAK ETANOL BUNGA UBU-UBU (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) DARI MALUKU UTARA

Lievyana F. Tulangow¹⁾, Edwin De Queljoe²⁾, Herny Simbala²⁾

¹⁾Program Studi Farmasi, FMIPA, UNSRAT Manado, 95115

²⁾Jurusan Biologi, FMIPA UNSRAT Manado, 95115

ABSTRACT

Ubu-ubu flower (Hibiscus rosa-sinensis L.) is a medical plant which have the potential as anti-diabetes, anticonvulsant, cardioprotector and anti-inflammatory. This research aims to identify phytochemical content and to determine the toxicity value of Ubu-ubu flower ethanol extracts collected from Akehuda and Wayafli Village, North Maluku through toxicity test assessed using BSLT method. Extraction was done by ultrasonication method using ethanol 95% as the solvent. Phytochemical screening was done according to Harborne method including identification of flavonoids, alkaloids triterpenoids, steroids and tannins. BSLT method had been used in toxicity essay, shrimp larvae had been put in test solutions, each provided with different concentration. The observation was done every 60 minutes in 24 hours. The value of LC₅₀ were obtained based from the calculation of shrimp larvae lethality percentage using probit analysis. The result of phytochemical screening showed that Ubu-ubu flowers ethanol extracts from Akehuda and Wayafli both containing phytochemical compounds namely flavonoids, triterpenoids and tannin. LC₅₀ values were 76,913 ppm for Ubu-ubu flowers extracts from Akehuda and 71,779 ppm for Ubu-ubu flowers ethanol extract from Wayafli.

Keywords: *Ubu-ubu (Hibiscus rosa-sinensis L.), Phytochemical Screening, Toxicity Assay, Brine Shrimp.*

ABSTRAK

Bunga Ubu-ubu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) merupakan tanaman berkhasiat obat yang dapat digunakan sebagai antidiabetes, antikonvulsan, kardioprotektor dan antiinflamasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa fitokimia dan menentukan nilai toksisitas ekstrak etanol bunga Ubu-ubu dari Maluku Utara yang diambil dari Desa Akehuda dan Desa Wayafli melalui uji toksisitas menggunakan metode BSLT. Ekstraksi dilakukan dengan metode *Ultrasonikasi* menggunakan pelarut etanol 95%. Pengujian senyawa fitokimia dilakukan dengan metode Harborne yang mencakup identifikasi flavonoid, alkaloid, triterpenoid, steroid dan tanin. Uji toksisitas dilakukan dengan menggunakan metode BSLT, larva udang yang masukkan dalam empat larutan uji dengan masing-masing konsentrasi larutan yang berbeda. Pengamatan dilakukan setiap 60 menit selama 24 jam. Nilai LC₅₀ didapatkan berdasarkan perhitungan persen kematian larva udang menggunakan analisis probit. Hasil identifikasi fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol bunga Ubu-ubu Wayafli dan Akehuda mengandung flavonoid, triterpenoid dan tanin. Nilai LC₅₀ yang diperoleh yaitu 76,913 ppm untuk ekstrak bunga Ubu-ubu dari Akehuda dan 71,779 ppm untuk ekstrak bunga Ubu-ubu dari Wayafli.

Kata kunci: *Ubu-ubu (Hibiscus rosa-sinensis L.), Identifikasi Fitokimia, Uji Toksisitas, Larva Udang.*

PENDAHULUAN

Masyarakat di seluruh dunia, terlebih khusus di negara-negara berkembang seperti Indonesia, mulai menyadari nilai penting tanaman dalam mencegah dan mengobati penyakit. Hal ini terjadi karena tanaman obat telah terbukti khasiatnya selama berabad-abad silam, selain itu tanaman obat umumnya memiliki efek samping yang relatif kecil, lebih mudah ditemukan oleh masyarakat yang tinggal di pedalaman serta berpotensi menjadi obat baru yang terjangkau (Anonim, 1997). Salah satu tanaman yang bagian bunganya dapat digunakan sebagai obat tradisional adalah bunga Ubu-ubu (*Hibiscus rosa-sinensis*).

Bunga Ubu-ubu, yang umum dikenal dengan nama Kembang sepatu, adalah tumbuhan yang berasal dari daerah tropis dan subtropis dan banyak dipakai sebagai tanaman hias karena memiliki bunga yang besar dengan warna merah cerah. (Kumar dan Singh, 2012). Selain sebagai ornamen, bunga Ubu-ubu juga dapat dipakai sebagai obat tradisional, umumnya digunakan sebagai obat batuk, bahan kosmetik dan bahan tambahan pada makanan, sebagai bahan pewarna dan bahan pengawet. Kegunaan bunga Ubu-ubu ini tidak terlepas dari senyawa yang ada di dalamnya, yang disebut senyawa fitokimia.

Fitokimia adalah bahan-bahan kimia dalam tanaman. Fitokimia biasanya bersifat spesifik pada setiap jenis atau kelompok jenis tanaman tertentu. Fitokimia terbagi atas metabolit primer dan metabolit sekunder. (Suryanto, 2012). Metabolit primer digunakan tanaman untuk pertumbuhan sementara metabolit sekunder berperan penting dalam menentukan efek fisiologis suatu

tanaman seperti perlindungan terhadap hewan herbivore, sifat antioksidan dan sebagainya. Jenis fitokimia dapat berbeda pada tanaman yang sama spesies dengan tempat tumbuh yang berbeda dikarenakan iklim dan keadaan lingkungan tumbuh yang berbeda. Untuk itu perlu dilakukan uji fitokimia pada bunga Ubu-ubu yang ada di Provinsi Maluku Utara. Efek fisiologis yang diberikan senyawa fitokimia membutuhkan konsentrasi yang tepat, untuk itu, perlu diadakan uji toksisitas.

Uji toksisitas perlu dilakukan untuk mengetahui konsentrasi minimum tanaman hingga bersifat toksik. Uji toksisitas dapat dilakukan dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Uji BSLT merupakan metode yang sudah sering digunakan misalnya pada penelitian uji toksisitas beberapa tanaman dari Papua (Lestari *et. al*, 2015) dan uji toksisitas beberapa jenis teripang suku Holothuriidae dari Kepulauan Seribu (Albuntana *et. al*, 2011).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi senyawa fitokimia yang ada dalam ekstrak etanol bunga Ubu-ubu dari Maluku Utara serta nilai toksisitasnya.

BAHAN DAN METODE

Alat dan Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah bunga Ubu-ubu berwarna merah yang diambil dari Maluku Utara. Bahan-bahan lainnya ialah larva udang *Artemia salina*, air, etanol 95%, natrium klorida, kloroform, amoniak, asam sulfat, asam klorida, asam asetat anhidrat, besi(III) klorida, serbuk

magnesium, eter, pereaksi Mayer, Dragendorf dan Wagner.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini ialah gelas-gelas *pyrex*, neraca analitik, pipet tetes, corong, cawan petri, kertas saring, bola lampu 5 watt, kaca pembesar, *ultrasonic bath* ULTRA 8060D-H, *rotary evaporator* Steroglass Strike 300, oven, batang pengaduk, tabung reaksi, rak tabung reaksi, aluminium foil dan sendok plastik.

Preparasi Sampel

Bunga Ubu-ubu yang berwarna merah diambil langsung dari Desa Akehuda, Kecamatan Ternate Utara dan dari Desa Wayafli, Kecamatan Maba. Bunga Ubu-ubu dicuci bersih dengan air mengalir kemudian dipisahkan dari tangkai bunga dan kaliks bunga. Selanjutnya bunga Ubu-ubu dirajang hingga menjadi potongan-potongan kecil.

Ekstraksi

Potongan bunga Ubu-ubu masing-masing yang diambil dari Desa Akehuda dan Desa Wayafli sebanyak 250 g ditimbang dan dimasukkan dalam beaker gelas, diekstraksi dengan metode ultrasonikasi dengan merendam sampel dalam pelarut alkohol 95% sebanyak 1,5 L selama 50 menit sambil diaduk sesekali. Sampel yang telah diekstraksi disaring menggunakan kertas saring dan corong. Filtrat yang diperoleh diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental.

Uji Fitokimia

a. Alkaloid

Sebanyak 4 g masing-masing ekstrak sampel dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian ditambah kloroform

secukupnya. Kemudian ditambah 10 mL amoniak. Lapisan kloroform dipisahkan dan diasamkan dengan H₂SO₄ 2 M. Lapisan H₂SO₄ diambil, dimasukkan dalam 3 tabung reaksi yang berbeda kemudian ditambahkan masing-masing pereaksi Mayer, Dragendorf dan Wagner. Jika terbentuk endapan putih dengan pereaksi Mayer, dengan pereaksi Dragendorf memberikan endapan jingga dan dengan pereaksi Wagner memberikan endapan coklat, maka uji dinyatakan positif terhadap alkaloid.

b. Triterpenoid dan Steroid

Sebanyak 2 g masing-masing ekstrak sampel dimasukkan dalam erlenmeyer kemudian ditambahkan etanol sebanyak 25 mL lalu dipanaskan dan disaring. Filtratnya diuapkan hingga volume filtrat tinggal separuh dan ditambahkan eter. Lapisan eter dipipet, dipindahkan ke tabung reaksi yang lain dan diuji dengan pereaksi Lieberman-Buchard. Adanya warna merah ungu menunjukkan positif terhadap triterpenoid dan warna hijau menunjukkan positif mengandung steroid.

c. Flavonoid

Sebanyak 200 mg masing-masing ekstrak sampel dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan 5 mL etanol dan dipanaskan selama 5 menit dalam tabung reaksi. Larutan ekstrak ini kemudian dipipet dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi lain. Selanjutnya ditambahkan beberapa tetes HCl pekat. Kemudian ditambahkan 0.2 g serbuk Mg. Adanya flavonoid ditunjukkan oleh timbulnya warna merah coklat.

d. Tanin

Sebanyak 20 mg masing-masing ekstrak sampel dimasukkan ke dalam tabung

reaksi, ditambahkan 2 mL air lalu dipanaskan, kemudian ditambahkan FeCl₃. Terbentuknya warna biru kehitaman atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tannin.

Uji Toksisitas

a. Pembuatan Pelarut

Pelarut yang digunakan dalam uji BSLT adalah air laut sintetik. Pertama-tama, kristal NaCl sebanyak 20 g ditimbang menggunakan neraca analitik. NaCl kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur dan ditambahkan air bersih hingga tanda tera kemudian diaduk dengan batang pengaduk hingga NaCl terlarut sempurna.

b. Penyiapan Larva *A. salina* Leach

Telur *A. salina* Leach ditimbang sebanyak 1 g dan dimasukkan ke dalam beaker gelas bersama 100 mL air laut sintetik. Selama 24 jam, telur-telur *A. salina* Leach dibiarkan dibawah cahaya lampu 5 watt. Setelah 24 jam, telur-telur yang telah menetas menjadi nauplii dipindahkan ke cawan petri lainnya yang telah diisi dengan 100 mL air laut sintetik menggunakan sendok plastik. 24 jam kemudian, nauplii dapat digunakan. Larutan uji kedua ekstrak dibuat dengan konsentrasi 1000 ppm, 100 ppm, 10 ppm dan 1 ppm dengan menggunakan air laut sintetik sebagai pelarut.

c. Pengujian Terhadap Larva

Sebanyak 10 ekor larva *A. salina* dimasukkan kedalam cawan petri berisi 10 mL larutan uji konsentrasi 1000 ppm.

Hal yang sama dilakukan untuk larutan uji 100 ppm, 10 ppm dan 1 ppm. Masing-masing larutan uji dibagi dalam dua kelompok dan dibuat kontrol positif yaitu larva *A. salina* yang dimasukkan ke dalam 10 mL air laut sintetik dengan perlakuan yang sama. Pengamatan dilakukan setiap 60 menit hingga 24 jam dengan menghitung jumlah larva yang mati dari total larva yang dimasukkan ke dalam cawan petri. Perhitungan dilakukan dengan memakai bantuan kaca pembesar.

d. Analisis Data

Aktivitas sitotoksik dianalisis berdasarkan probit LC₅₀. Pengolahan data persen mortalitas kumulatif dihitung menggunakan analisis probit LC₅₀ dengan selang kepercayaan 95%. Analisis probit LC₅₀ menggunakan Microsoft Excel 2013.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Randemen Ekstrak

Randemen ekstrak adalah presentasi jumlah ekstrak yang didapat dari sejumlah sampel. Randemen ekstrak dan warna dari masing-masing sampel ekstrak etanol bunga Ubu-ubu dapat dilihat dalam Tabel 1.

Dalam Tabel 1, masing-masing sebesar 3,833 % untuk sampel dari Akehuda dengan ekstrak sebanyak 2,3 gram dari sampel seberat 60 gram dan 3,25% untuk sampel dari Wayafli dengan sampel seberat 200 gram dan berat ekstrak 6,5 gram.

Tabel 1. Randemen Ekstrak Etanol Bunga Ubu-ubu

Jenis Sampel	Randemen (%)	Warna
Ekstrak Etanol Bunga Ubu-ubu Akehuda	3,833	Merah
Ekstrak Etanol Bunga Ubu-ubu Wayafli	3,25	Merah

Identifikasi Senyawa Fitokimia

Identifikasi senyawa fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan fitokimia yang ada dalam bunga Ubu-ubu dari Maluku Utara. Senyawa fitokimia yang diidentifikasi adalah flavonoid, alkaloid, terpenoid, steroid dan tanin. Hasil identifikasi senyawa fitokimia dalam sampel dapat dilihat dalam Tabel 2.

Flavonoid bersifat polar sehingga dapat ditemukan pada ekstrak etanol

bunga Ubu-ubu. Pada bunga, flavonoid dapat menjadi ko-pigmen dari antosianin untuk memberikan warna yang cerah pada kelopak bunga. Terdeteksinya flavonoid diakibatkan oleh kepekaan flavonoid terhadap perlakuan dengan senyawa yang bersifat basa. Penambahan basa, dalam percobaan ini serbuk Magnesium, menyebabkan terjadinya perubahan warna yang spontan melalui reaksi reduksi yang terjadi pada flavonoid (Harborne, 1984).

Tabel 2. Kandungan Senyawa Fitokimia Bunga Ubu-ubu

Sampel	Flavonoid	Alkaloid	Tritepenoid/Steroid	Tanin
Bunga Ubu-ubu Wayafli	+++	-	Tritepenoid +++	+++
Bunga Ubu-ubu Akehuda	+++	-	Tritepenoid +++	+++

Uji alkaloid dilakukan awalnya dengan penambahan kloroform dalam ekstrak. Hal ini dilakukan agar garam alkaloid larut dalam kloroform. Penambahan amoniak sebagai basa lemah akan membebaskan alkaloid dari garamnya. Penambahan asam mempermudah alkaloid untuk diendapkan, reagen pada uji alkaloid kemudian akan memberikan reaksi yang menghasilkan endapan kompleks alkaloid. (Marliana & Suyono, 2005). Alkaloid larut dalam alkohol 95% (Harborne, 1984) sehingga tidak terdeteksinya alkaloid pada ekstrak bunga Ubu-ubu tidak dipengaruhi oleh pelarut.

Pada pengujian triterpenoid dan steroid, pemanasan dilakukan agar triterpenoid/steroid larut dalam pelarut dengan pengaruh suhu yang tinggi. Triterpenoid dan steroid dapat larut dalam senyawa polar seperti etanol 95%, meskipun kelarutan triterpenoid dan steroid lebih baik dalam metanol yang telah dipanaskan (Harborne, 1984). Asam asetat anhidrida dan asam sulfat ditambahkan pada pengujian triterpenoid/steroid untuk menghasilkan reaksi hidrolisis untuk membebaskan aglikon jika terdapat glikosida dalam ekstrak, karena triterpenoid dan steroid umumnya muncul dalam tanaman dalam bentuk glikosida.

Tanin merupakan bagian dari flavonoid yang bersifat polar, sehingga dapat larut dalam etanol 95% meski, seperti triterpenoid dan steroid, tanin lebih mudah larut dan terdeteksi dalam pelarut metanol (Harborne, 1984). Penggunaan FeCl₃ dalam pengujian tannin dimaksudkan agar gugus hidroksi dalam tannin dapat bereaksi dengan Fe³⁺ hingga terbentuk warna hijau kehitaman (Sangi et. al., 2012).

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

Pengujian tingkat toksisitas dilakukan dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) menggunakan larva udang *Artemia salina*. Larva udang ini digunakan karena *A. salina* adalah hewan dengan ketahanan tinggi. Ekstrak etanol dari bunga Ubu-ubu diuji tingkat toksisitasnya dalam mematikan larva udang yang telah diberi perlakuan dengan konsentrasi 1, 10, 100 dan 1000 ppm. Rentang konsentrasi ini digunakan karena sampel yang diuji merupakan ekstrak yang dinyatakan toksik bila nilai LC₅₀ kurang dari 1000 ppm. Dalam pengujian, larva udang diletakkan dibawah cahaya lampu 5 watt, karena larva udang dapat bertahan hidup pada suhu optimum 28°C. Hasil pengujian dapat dilihat pada Tabel 3 dan Tabel 4.

Tabel 3. Persentase Jumlah Kematian Larva Udang pada Ekstrak Etanol Bunga Ubu-ubu dari Akehuda

Ubu-ubu Akehuda	Kontrol	1 ppm	10 ppm	100 ppm	1000 ppm
Ulangan I	0	0	0	3	10
Ulangan II	0	0	1	4	10
Rata-Rata	0	0	0,5	3,5	10
% Kematian	0	0	15	35	100

Tabel 4. Persentase Jumlah Kematian Larva Udang pada Ekstrak Etanol Bunga Ubu-ubu dari Wayafli

Ubu-ubu Wayafli	Kontrol	1 ppm	10 ppm	100 ppm	1000 ppm
Ulangan I	0	0	1	3	10
Ulangan II	0	0	1	4	10
Rata-Rata	0	0	1	3,5	10
% Kematian	0	0	10	35	100

Berdasarkan Tabel 3 dan Tabel 4, didapati bahwa konsentrasi ekstrak berbanding lurus dengan kematian larva udang. Dengan kata lain, kematian larva udang dipengaruhi oleh peningkatan konsentrasi dalam sampel. Suatu ekstrak daun bersifat toksik apabila mempunyai nilai LC₅₀ < 1000 ppm. LC₅₀ adalah konsentrasi yang dapat mematikan 50% larva udang laut

(Meyer et. al., 1982). Berdasarkan data hasil pengujian yang kemudian diolah menggunakan analisis probit LC₅₀, didapatkan nilai LC₅₀ dari ekstrak etanol bunga Ubu-ubu yaitu 76,913 ppm untuk ekstrak etanol bunga Ubu-ubu dari Akehuda dan 71,779 ppm untuk ekstrak etanol bunga Ubu-ubu dari Wayafli. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol bunga Ubu-ubu bersifat toksik

Tabel 5. Hasil Analisis Probit LC₅₀

Jenis Sampel	Nilai LC ₅₀ (ppm)
Ekstrak Etanol Bunga Ubu-ubu Akehuda	76,913
Ekstrak Etanol Bunga Ubu-ubu Wayafli	71,779

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol bunga Ubu-ubu dari Maluku Utara, baik dari Akehuda dan Wayafli mengandung senyawa flavonoid, tannin dan triterpenoid dan bersifat toksik dengan nilai LC₅₀ 76,913 ppm untuk ekstrak dari Akehuda dan 71,779 ppm untuk ekstrak dari Wayafli.

DAFTAR PUSTAKA

Albuntana A, Yasman dan Wardhana W. 2011. Uji Toksisitas Ekstrak Empat Jenis Teripang Suku Holothuriidae Dari Pulau Penjaliran Timur Kepulauan Seribu, Jakarta Menggunakan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. 3(1):65-72.

Anonim. 1997. *Medicinal Plants in China; A Selection of 150 Commonly Used*

- Species*. World Health Organization. Manila.
- Harborne, J. B. 1984. *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis 2nd*. Chapman and Hall. USA.
- Kumar, A. dan Singh, A. 2012. Review on *Hibiscus rosa-sinensis*. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*. 3 : 534-538.
- Lestari M.S, Himawan T, Abadi A.L dan Retnowati L. 2015. Toxicity and Phytochemistry Test of Methanol Extract of Several Plants From Papua Using *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 7(4) : 866-872.
- Marliana, S. D., V, Suryanti dan Suyono. 2005. *dalam Uji Fitokimia, Toksisitas dan Antioksidan Dari Daun Yantan (Blumea chinensis DC)*. [skripsi] FMIPA Universitas Sam Ratulangi. Manado.
- Meyer, B. N., N. R. Ferrigni, J. E. Putnam, L. B. Jacobsen, D. E. Nichols dan J. L. McLaughlin. 1982. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Journal of Medical Plant Research*. 45: 31-34.
- Sangi, M., Momuat, L. dan Kumaunang, M. 2012. *dalam Uji Fitokimia, Toksisitas dan Antioksidan Dari Daun Yantan (Blumea chinensis DC)*. [skripsi] FMIPA Universitas Sam Ratulangi. Manado.
- Suryanto E. 2012. *Fitokimia Antioksidan*. Penerbit Putra Media Nusantara. Surabaya.