

ANALISIS FITOKIMIA DAN PENENTUAN NILAI LC₅₀ EKSTRAK METANOL DAUN LIWAS

Gerry Sumihe¹⁾ Max R. J.Runtuwene¹⁾ dan Johnly A. Rorong¹⁾

¹⁾Jurusan Kimia FMIPA UNSRAT, Manado

e-mail: 004Gerry@gmail.com; max_runtuwene@yahoo.com; rorongjohnly@yahoo.co.id

ABSTRAK

Penentuan nilai LC₅₀ dari ekstrak metanol daun liwas menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) terhadap hewan indikator udang *Artemia salina* menunjukkan nilai LC₅₀ dari *A. salina* bersifat sangat toksik. Nilai LC₅₀ yang didapatkan sebesar 15,696 mg/L. Nilai LC₅₀ ditentukan dengan menggunakan metode SPSS 20.0. Ekstrak metanol daun liwas mengandung kandungan senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin dan saponin sebagai hasil uji fitokimia.

Kata kunci: BSLT, Daun Liwas, Metabolit Sekunder, LC₅₀.

PHYTOCHEMICAL ANALYSIS AND DETERMINING LC₅₀ VALUE OF LIWAS LEAVE METHANOL EXTRACT

ABSTRACT

Determination of LC₅₀ of methanol extract of leaves liwas using *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) against animal indicator shrimp *Artemia salina* showed LC₅₀ values of *A. salina* is highly toxic. LC₅₀ values were obtained at 15.696 mg / L. LC₅₀ values determined using SPSS 20.0. Liwas leaf methanol extract contains compounds secondary metabolites such as flavonoids, tannins and saponins as phytochemical test results.

Keywords: BSLT, Leaves Liwas, Secondary Metabolites, LC₅₀.

PENDAHULUAN

Daun liwas merupakan salah satu tanaman obat yang sering digunakan sebagai salah satu obat tradisional yang digunakan sebagai anti rabies dan infeksi oleh masyarakat desa Liwutung, Minahasa Tenggara, Sulawesi Utara.

Flavonoid, saponin, dan tanin merupakan senyawa metabolit sekunder yang berkhasiat sebagai anti histamin, antioksidan, anti virus, anti bakteri, anti inflamasi sampai anti kanker (Harmanto, 2002). Beberapa senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa polar dengan gugus OH⁻ dan dapat larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol dan air (Markham, 1988).

Metanol digunakan sebagai pelarut dalam ekstraksi maserasi karena metanol bersifat sebagai pelarut polar mampu melarutkan unsur-unsur bioaktif yang bersifat

polar pada tanaman herba medisinalis (Santosa, 1995).

Khasiat dari daun liwas perlu dikaji secara ilmiah tentang kandungan senyawa yang terkandung dalam daun liwas tersebut. Berdasarkan hal tersebut perlu dilakukan penelitian uji toksisitas ekstrak metanol daun liwas terhadap udang *A. salina* Leach dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

METODOLOGI PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian dilakukan pada bulan Juli-September 2013 di Laboratorium Kimia Advance dan Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sam Ratulangi.

Bahan

Bahan yang digunakan adalah: sampel daun liwas, HCl, telur udang *Artemia salina*, aquades, garam tak beryodium, serbuk magnesium, metanol, FeCl₃, vaselin dan aluminium foil.

Alat

Alat yang digunakan antara lain tabung reaksi, neraca analitik, *rotary evaporator*, *waterbath*, beker gelas, spatula, kertas saring, lampu pijar 40 watt, wadah bening, blender, thermometer, labu takar 100 mL, Erlenmeyer, desikator, pipet 10 mL, pipet tetes, lemari asam, kaca pembesar dan gelas arloji.

Prosedur Penelitian**Preparasi Sampel**

Sebelum dikeringkan daun liwas dicuci dan dipetik kemudian dikeringkan dalam oven pada 40°C. Daun dihaluskan menggunakan blender sampai menjadi serbuk dan diayak dengan ayakan 65 mesh (Silaban, 2009).

Kadar Air

Serbuk sampel yang sudah diayak ditimbang untuk ditentukan kadar air. Sampel serbuk daun liwas sebanyak 170,61 g sebagai berat awal. Sampel yang sudah diimbang dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 105°C selama 3 jam. Didinginkan selama 30 menit dalam desikator dan kemudian ditimbang sebagai berat akhir. Perlakuan yang sama dilakukan sebanyak tiga kali (Sudarmadji, 1989).

Ekstraksi Maserasi

Sampel sebanyak 50 g diekstraksi dengan pelarut metanol menggunakan metode ekstraksi maserasi. Sampel didiamkan dalam 250 mL metanol selama 24 jam dan diaduk. Filtrat disaring dan ampas dipisahkan dari filtrat menggunakan kertas saring. Sebanyak 250 mL metanol ditambahkan lagi ke dalam ampas dan dimaserasi selama 24 jam. Kedua filtrate digabungkan dan dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 70°C. Ekstrak yang didapat didinginkan di dalam desikator.

Uji Fitokimia**Uji Flavonoid (Harborne, 1996)**

Ekstrak ditimbang sebanyak 50 mg dan ditambahkan air panas sebanyak 100 mL kemudian dididihkan selama 5 menit dan disaring. 0,05 mg serbuk Magnesium ditambahkan ke dalam filtrat sebanyak 5 mL dan 1 mL HCl pekat, kemudian dikocok dengan kuat. Warna merah magenta yang terbentuk menunjukkan adanya senyawa flavonoid.

Uji Tanin (Harborne, 1996)

Ekstrak ditimbang sebanyak 50 mg dilarutkan dalam 2 mL air kemudian ditambahkan 2 tetes larutan FeCl₃ 1%. Adanya tannin ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru kehitaman dan hijau kehitaman.

Uji Saponin (Harborne, 1996)

Ekstrak ditimbang sebanyak 50 mg kemudian ditambahkan 10 mL air dan dikocok selama 1 menit. Setelah itu ditambahkan 2 tetes HCl 1 N. Adanya saponin ditunjukkan dengan terbentuknya busa yang tetap stabil selama 7 menit.

Penentuan LC₅₀**Uji toksisitas**

10 ekor udang *Artemia salina* dimasukkan ke dalam larutan uji dengan konsentrasi 1000, 500, 250, 100, 50 mg/L dan pada control 1 dan control 2. Setiap larutan uji dilakukan 2 kali pengulangan dan dibandingkan dengan kontrol. Pengamatan terhadap udang *Artemia salina* dilakukan selama 24 jam. Prosentase

kematian udang *Artemia salina* dihitung dengan persamaan berikut:

$$\% \text{Mortalitas} = \frac{\text{Jumlah larva yang mati}}{\text{Jumlah larva uji}} \times 100\%$$

Rumus Abbot's digunakan apabila pada kontrol ada udang yang mati:

$$\% \text{Mortalitas} = \frac{\% \text{Kematian pada uji} - \% \text{Kematian pada kontrol}}{100 - \% \text{Kematian pada kontrol}} \times 100\%$$

Penentuan Nilai LC₅₀

Penentuan nilai LC₅₀ menggunakan metode analisis probit SPSS 20.0.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar Air

Pengujian kadar air terhadap sampel serbuk daun liwas selama 3 kali pengulangan mendapatkan prosentase kadar air kurang dari 10%. Nilai kadar air daun liwas adalah sebesar 2,34%.

Nilai tersebut menunjukkan bahwa kandungan kadar air daun liwas sangat baik karena kurang dari 10% (Winarno, 1997). Semakin rendah kadar air suatu sampel, akan menghasilkan rendemen yang lebih banyak (Inayati, 2007).

Maserasi

Metode maserasi dipilih untuk digunakan karena mudah dioperasikan, kerusakan komponen dapat dihindari dan relatif lebih murah, tetapi memiliki kelemahan dari segi waktu yang lebih lama dan penggunaan pelarut yang relatif banyak (Wulandari, 2005). Ekstraksi maserasi dilakukan sebanyak dua kali terhadap sampel daun liwas. Setelah direndam selama 2x24 jam, diperoleh 19,57 g ekstrak dari 50 g sampel dengan prosentase rendemen sebesar 39,14%. Penggunaan pelarut metanol dalam proses ekstraksi menghasilkan jumlah ekstrak yang besar. Menurut Khopkar (1980) untuk

mendapatkan hasil pemisahan baik, proses ekstraksi harus diulang beberapa kali. Besarnya luas permukaan sampel dan rendahnya kandungan kadar air dari sampel daun liwas menyebabkan jumlah rendemen yang lebih banyak (Inayati, 2007).

Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan sebagai uji pendahuluan untuk mengetahui tentang kandungan senyawa bioaktif yang terkandung di dalam daun liwas. Uji fitokimia ekstrak metanol daun liwas menunjukkan adanya kandungan senyawa bioaktif seperti flavonoid, tannin dan saponin. Menurut Markham (1988) flavonoid dapat larut dalam pelarut polar seperti metanol, sehingga hasil menunjukkan (+) adanya senyawa flavonoid dalam ekstrak metanol daun liwas. Adanya senyawa tannin karena senyawa tannin dapat ditemukan hampir disetiap bagian dari tanaman (Hagerman, 2002). Sedangkan saponin dapat larut dalam air dan dapat menyebabkan tegangan aktif permukaan serta bersifat polar (Wu *et al.*, 2007).

Penentuan Nilai LC₅₀

Hasil uji *brine shrimp lethality test* ekstrak metanol daun liwas terhadap udang *A. salina* dapat di lihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Toksisitas

Konsentrasi (mg/L)	Mortalitas (%)
0	0
25	42,85
50	57,14
100	64,24
250	71,42
500	85,71
1000	100

Berdasarkan data dari (Tabel. 1) dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak dalam larutan uji semakin besar jumlah kematian udang *A. salina*. Semakin besar jumlah udang *A. salina* yang mati pada larutan uji dengan kandungan ekstrak daun liwas yang kecil menunjukkan pengaruh ekstrak metanol daun liwas dapat mematikan pada konsentrasi yang kecil.

Nilai LC₅₀ diperoleh dari data pada tabel di atas dan dianalisis probit menggunakan SPSS 20. Hasil yang diperoleh adalah 15,69 mg/L. Nilai ini menunjukkan bahwa pada

konsentrasi 15,69 mg/L ekstrak metanol daun liwas mampu membunuh larva udang sampai 50% populasi. Berdasarkan nilai LC₅₀ ekstrak metanol daun liwas menunjukkan toksisitas yang sangat baik. Menurut (Meyer *et al.*, 1982), Tingkat toksisitas suatu ekstrak adalah sebagai berikut: LC₅₀ ≤ 30 mg/L = Sangat toksik; LC₅₀ ≤ 1.000 mg/L = Toksik; LC₅₀ > 1.000 mg/L = Tidak toksik.

Kematian 50% udang *A. salina* disebabkan oleh kandungan senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak metanol daun liwas. Udang *A. salina* memiliki

membran kulit yang sangat tipis sehingga difusi zat dari lingkungan yang mempengaruhi metabolisme dalam tubuhnya dapat terjadi (Mudjiman, 1989). Semakin kecil nilai LC₅₀ dari suatu sampel maka semakin tinggi senyawa bioaktifnya. Tingginya aktivitas bioaktif dari ekstrak metanol daun liwas terhadap udang *A. salina* disebabkan adanya kandungan senyawa saponin dan fenolik yang cukup tinggi (Harborne, 1996). Adanya flavonoid dalam lingkungan sel dapat menyebabkan pecahnya membran sel. pemasukan ion Na⁺ yang tidak terkontrol ke dalam sel, yang menyebabkan pecahnya membran sel. Hal ini disebabkan gugus OH⁻ pada flavonoid berikatan dengan protein integral membran sel sehingga terbelahnya transport aktif Na⁺ dan K⁺. Transport aktif yang berhenti menyebabkan pemasukan ion Na⁺ yang tidak terkontrol ke dalam sel, yang menyebabkan pecahnya membran sel. Pecahnya membran sel inilah yang menyebabkan kematian sel (Scheuer, 1994).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Ekstrak metanol daun liwas memiliki senyawa bioaktif flavonoid, tannin dan saponin.
2. LC₅₀ ekstrak metanol daun liwas adalah 15,89 mg/L

Saran

Uji kandungan fitokimia terhadap daun liwas untuk perlu dilakukan lagi terhadap pelarut lain untuk mengetahui kandungan senyawa bioaktif lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Hagerman, A.E. 2002. *Tannin Handbook. Department of Chemistry and Biochemistry.* Miami University.
- Harbone, J.B. 1996. Metode Fitokimia: Penentuan Cara Modern Menganalisa Tumbuhan. Terjemahan Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. ITB, Bandung.
- Harmanto, N. 2002. Sehat dengan Ramuan Tradisional. Edisi ke-4. Agromedia Pustaka, Tangerang.
- Inayati, H. 2007. Potensi Anti Bakteri Ekstrak Daun Kedondong Bangkok (*Spondias dulcis* Forst.) [Skripsi]. FMIPAIPB, Bogor.
- Khopkar, S.M. 1980. Konsep Dasar Kimia Analitik. Cet. 1 Terjemahan : Saptorahardjo, H., Nurhadi, A. UI Press, Jakarta.
- Markham, K.R. 1988. Cara Mengidentifikasi Flavanoid. Divisi kelima Departemen Penelitian Ilmu Pengetahuan dan Industri, Petone Selandia Baru. Penerbit ITB, Bandung.
- Meyer, B.N., N.R. Ferrigni., J.E. Putnam., L.B. Jacobsen., D.E. Nichols., and J.L. Mc Laughlin. 1982. Brine shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *J. Planta Medica.* **45(5)**: 31-45.
- Santosa, M.H. 1995. Penyediaan Bahan Penelitian Tumbuhan Obat: Dalam Rapat Kerja Penelitian Tumbuhan Obat Indonesia. Lembaga Penelitian Universitas Airlangga, Surabaya.
- Scheuer, J.S. 1994. Produk Alami Lautan. IKIP Semarang Press, Semarang.
- Silaban, L.W. 2009. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Anti bakteri dari Kulit Buah Sentul (*Sandoricum koetjape* (Burm.f.) Merr) terhadap beberapa Bakteri secara *in vitro* [Skripsi]. Fakultas Farmasi USU, Medan.
- Sudarmadji, S., B. Haryono., dan Suhardi. 1989. Prosedur Analisis untuk Bahan Makanan dan Pertanian. Liberty, Yogyakarta.
- Winarno, M.W. 1997. Efek Daun Katu (*Saurorhous androgenus* Merr.) terhadap Diare Tikus Putih. *J. Cermin dunia Farmasi.* **33**:31-35.
- Wu, J., Tang., H.M.Wu., and Z.R. Zhou. 2007. Hillasides A and B, Two New Cytotoxic Triterpene Glycosides from the Sea Cucumber *holothuria hilla* lesson. *J. Asian Natural Products Reseach.* **9(7)**:609-615.
- Wulandari, N.D.M. 2005. Perbandingan Metode Ekstraksi Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) dan Uji Toksisitas Sub-kronis pada Tikus Putih [Skripsi]. FMIPA IPB, Bogor.