



dapat diakses melalui <http://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/jmuo>



Uji Toksisitas dengan Metode BSLT dan Analisis Kandungan Fitokimia Ekstrak Daun Soyogik (*Saurauia bracteosa* DC) dengan Metode Soxhletasi

Arter D. Muaja^{a*}, Harry S. J. Koleangan^a, Max R. J. Runtuwene^a

^aJurusan Kimia, FMIPA, Unsrat, Manado

KATA KUNCI

Soyogik
Artemia salina
LC₅₀
Fenolik
Flavonoid
Tanin

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui toksisitas dari ekstrak daun soyogik menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dan menentukan kandungan fitokimia daun soyogik (*Saurauia bracteosa* DC). Ekstrak dibuat dengan cara soxhletasi menggunakan pelarut metanol. Uji toksisitas dilakukan dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach yang berumur 48 jam. Efek toksik ekstrak diidentifikasi dengan presentase kematian larva udang menggunakan analisis probit (LC₅₀). Kandungan fitokimia meliputi fenolik, flavonoid dan tanin. Penelitian menunjukkan ekstrak daun soyogik bersifat toksik (LC₅₀: 35,4 ppm). Kandungan senyawa fenolik (128 ppm), flavonoid (44,4 ppm), tanin (86,75 ppm).

KEYWORDS

Soyogik
Artemia salina
LC₅₀
Phenolic
Flavonoid
Tannin

ABSTRACT

The aims of this research were to determine the toxicity of soyogik (*Saurauia bracteosa* DC) leaf extract using *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) and the content of its compounds. The extraction was carried out by soxhletation using methanol. Toxicity assay used *Artemia salina* Leach larvae of 48-hours age. Toxic effects of the extract were identified by the percentage mortality of shrimp larvae using probit analysis (LC₅₀). Leaf extract was further tested to phenolic, flavonoid and tannin contents. The results showed soyogik leaf extract was toxic (LC₅₀: 35,4 ppm). The content of phenolic, flavonoid, and tannin compounds were 128 ppm, 44,4 ppm and 86,75 ppm, respectively..

AVAILABLE ONLINE

20 Oktober 2013

1. Pendahuluan

Kanker merupakan penyakit yang tidak diketahui penyebabnya secara pasti, tetapi dipengaruhi oleh banyak faktor seperti merokok/terkena paparan asap rokok, mengkonsumsi alkohol, paparan sinar ultraviolet pada kulit, obesitas dan diet tidak sehat, kurang aktifitas fisik, dan infeksi yang berhubungan dengan kanker. Kanker dapat dicegah dengan mengurangi faktor risiko terjadinya kanker tersebut. Dalam perkembangan di bidang kesehatan telah ditemukan obat-obat antikanker dan dilakukan kemoterapi, namun faktor biaya yang mahal menjadi kendala. Hal ini mendorong masyarakat

untuk melakukan pengobatan menggunakan bahan alam atau obat tradisional.

Obat tradisional atau obat-obatan alami telah dikenal oleh masyarakat Indonesia sejak zaman dahulu. Selain khasiatnya yang telah turun temurun digunakan oleh masyarakat, obat ini lebih murah dan mudah didapat, namun diperlukan penelitian yang lebih lanjut karena banyaknya tanaman yang belum diketahui kadar toksisitasnya (Hyeronimus, 2008).

Salah satu tanaman yang digunakan masyarakat sebagai obat tradisional adalah daun soyogik. Tanaman ini dipercaya secara empiris oleh masyarakat di Minahasa Tenggara, Sulawesi Utara sebagai obat tumor dan kanker. Dari penelitian yang telah dilakukan oleh Kadji (2013), daun

*Corresponding author: Jurusan Kimia FMIPA UNSRAT, Jl. Kampus Unsrat, Manado, Indonesia 95115; Email address: artermuaja@gmail.com

soyogik memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong kuat yaitu $IC_{50} < 50$ ppm dan juga telah dilakukan skrining fitokimia di mana daun soyogik memiliki senyawa fenolik, steroid, flavonoid, dan saponin, namun belum dilakukan analisis kandungan senyawa terhadap daun soyogik. Untuk mengetahui suatu tanaman memiliki potensi sebagai antikanker, maka perlu dilakukan penelitian awal. Salah satu metode awal untuk uji sitotoksik adalah *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). BSLT merupakan salah satu metode yang banyak digunakan untuk pencarian senyawa antikanker baru yang berasal dari tanaman. Metode BSLT telah terbukti memiliki korelasi dengan aktivitas antikanker. Selain itu, metode ini juga mudah dikerjakan, murah, cepat, dan cukup akurat (Meyer, et al., 1982).

Tujuan dari penelitian ini adalah menentukan toksisitas daun soyogik dengan menggunakan metode BSLT dan menentukan kandungan senyawa daun soyogik.

2. Metodologi

2.1. Alat

Alat yang digunakan adalah alat-alat gelas laboratorium, rak tabung reaksi, blender, timbangan analitik, alat soxhlet, aluminium foil, kertas saring, spektrofotometer UV-Vis, evaporator, waterbath, vortex, desikator, hot plate, aerator, lampu pijar, ayakan 65 mesh, oven..

2.2. Bahan

Bahan yang digunakan adalah daun soyogik, metanol, larva *Artemia salina* Leach, garam bubuk non-komersil, reagen Folin-Ciocalteu (50%), natrium karbonat 2%, aluminium klorida 2%, vanilin 4%, asam klorida pekat dan asam galat.

2.3. Pengambilan dan Preparasi Sampel

Sampel diambil di Desa Silian Kecamatan Tombatu Kabupaten Minahasa Tenggara. Daun soyogik yang telah dipetik, dicuci kemudian di keringanginkan selama 5 hari. Setelah kering daun dihaluskan dengan blender sampai berbentuk serbuk dan diayak dengan ayakan 65 mesh.

2.4. Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan cara soxhletasi. Sampel sebanyak 50 g, dibungkus dengan kertas saring dan dimasukkan ke dalam ekstraktor soxhlet. Pelarut metanol sebanyak 500 mL dimasukkan ke dalam labu alas bulat. Kemudian alat soxhletasi dirangkai dengan kondensor. Ekstraksi dilakukan sekitar 8 jam hingga cairan tidak berwarna. Ekstrak yang didapat dievaporasi menggunakan evaporator, kemudian pelarut diuapkan menggunakan waterbath sampai diperoleh ekstrak kental.

2.5. Penentuan Kadar Air (Sudarmadji et al., 1989)

2 g sampel dimasukkan ke dalam oven pada suhu 105°C selama 3-5 jam, kemudian dikeluarkan dari oven dan didinginkan dalam desikator selama

30 menit, setelah itu sampel ditimbang. Perlakuan ini dilakukan beberapa kali hingga berat sampel konstan. Kadar air dihitung berdasarkan rumus:

$$\% \text{ Kadar Air} = \frac{\text{beratawal} - \text{berataakhir}}{\text{beratawal}} \times 100\%$$

2.6. Uji Toksisitas Menggunakan Metode *Brine Shrimp Lethality Test*

2.6.1. Penyiapan larva *A. salina* Leach

Penyiapan larva dilakukan dengan mengambil telur *A. salina* Leach sebanyak 1 g. Penetasan dilakukan dengan cara merendam telur tersebut dalam air laut buatan sebanyak 2 L dan diberi penerangan dengan lampu pijar 40-60 watt serta diaerasi selama 48 jam. Air laut buatan dibuat dengan cara melarutkan 40 g garam dalam 2 L air kemudian disaring.

2.6.2. Penyiapan Larutan Stok

Dibuat larutan uji dengan konsentrasi 2000 ppm. Dari larutan uji 2000 ppm, selanjutnya dibuat lagi larutan dengan konsentrasi 1000, 500, 100, 50, 25 dan 12,5 ppm dengan cara pengenceran. Untuk kontrol (0 ppm) dilakukan tanpa penambahan ekstrak.

2.6.3. Uji Toksisitas

Larutan uji dengan konsentrasi 100, 50, 25 dan 12,5 ppm, masing-masing dipipet sebanyak 6 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 10 ekor larva udang yang telah berumur 2 hari. Setiap konsentrasi dilakukan dua kali pengulangan dan dibandingkan dengan kontrol. Pengamatan I dilakukan selama 6 jam dengan selang waktu 1 jam. Selanjutnya pengamatan II dilakukan pada 12, 18 dan 24 jam. Jumlah larva udang yang mati dihitung tiap 6, 12, 18 dan 24 jam (Sirait, dalam Sangi et al., 2012).

2.7. Uji Kandungan Total Senyawa Metabolit Sekunder

2.7.1. Uji Kandungan Fenolik (Jeong et al., 2004)

Sampel ekstrak 200 ppm sebanyak 1 mL ditambahkan dengan 1 mL reagen *Folin-Ciocalteu* (50%) dalam tabung reaksi dan kemudian campuran divortex selama 3 menit. Setelah interval waktu 3 menit, 1 mL larutan Na_2CO_3 2% ditambahkan. Selanjutnya campuran disimpan dalam ruang gelap selama 30 menit. Absorbansi ekstrak dibaca dengan spektrofotometer pada λ 750 nm. Hasilnya dinyatakan sebagai ekuivalen asam galat dalam mg/kg ekstrak.

2.7.2. Uji Kandungan Flavonoid (Meda et al., 2005)

1 mL sampel ekstrak 200 ppm ditambahkan dengan 2 mL aluminium klorida 2% yang telah dilarutkan dalam metanol, kemudian divortex dan ditera pada λ 415 nm. Kandungan total flavonoid dinyatakan sebagai ekuivalen kuersetin dalam mg/kg ekstrak.

2.7.3. Uji Kandungan Tanin (Julkunen-Tiito,1985)

Sebanyak 0,1 mL larutan ekstrak 200 ppm dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dibungkus dengan aluminium foil, kemudian ditambahkan 3 mL larutan vanilin 4% (b/v) dalam metanol dan divortex. Selanjutnya ditambahkan 1,5 mL HCl pekat dan divortex lagi. Absorbansi dibaca pada λ 500 nm setelah campuran diinkubasi selama 20 menit pada suhu kamar. Kandungan tanin terkondensasi dinyatakan dalam mg katekin/kg ekstrak.

2.8. Analisis Data

Data pengujian toksisitas diperoleh dari analisis nilai LC₅₀ dilakukan dengan uji probit menggunakan *Software Package used for Statistical Analysis (SPSS) 20*.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Ekstraksi Daun Soyogik

Besar rendemen hasil ekstraksi 50 g serbuk daun soyogik dalam 500 mL metanol dihitung dalam persen rendemen. Hasil ekstraksi daun soyogik diperoleh ekstrak sebanyak 4,23 g berwarna hijau pekat. Persen rendemen ekstrak daun soyogik didapat dengan membagi jumlah rendemen ekstrak dengan berat serbuk sebelum ekstraksi kemudian dikalikan 100 %. Persen rendemen yang didapat yaitu 8,46 %.

3.2. Kadar Air

Tabel 1. Persen kadar air serbuk dan ekstrak daun soyogik.

Sampel	Kadar Air Rata-Rata (%)
Serbuk	9,37
Ekstrak	11,46

Penentuan persen kadar air berguna untuk mengetahui ketahanan suatu bahan dalam penyimpanannya dan merupakan cara penanganan terbaik bagi suatu bahan untuk menghindari pengaruh aktivitas mikroba. Pengujian persen kadar air dari serbuk daun soyogik dilakukan dengan 3 kali pengulangan dan didapatkan hasil rata-rata yaitu 9,37 %.

Pengujian persen kadar air untuk ekstrak daun soyogik hanya dilakukan dengan 2 kali pengulangan dan hasil rata-rata yang diperoleh yaitu, 11,46 %.

3.3. Uji Toksisitas

Hasil uji menunjukkan beban konsentrasi ekstrak dalam media dapat membunuh larva *A. salina* Leach secara berturut-turut dengan konsentrasi 1000, 500, 100, 50, 25 dan 12,5 ppm. Jumlah kematian larva *A. salina* Leach pada setiap gelas uji dalam berbagai konsentrasi perlakuan ekstrak daun soyogik ditunjukkan pada Tabel 2. Dari tabel tersebut dapat diketahui bahwa variasi konsentrasi ekstrak daun soyogik pada percobaan ini memperlihatkan pengaruh yang

berbeda terhadap kematian larva *A. salina* Leach. Jumlah larva tiap gelas uji adalah 10 ekor dan tiap konsentrasi dilakukan dua kali pengulangan. Jumlah total larva *A. salina* Leach yang digunakan adalah 140 ekor larva. Larva yang digunakan berumur 48 jam, karena pada umur ini anggota tubuh larva sudah lengkap dibandingkan pada saat larva itu menetas. Dalam mengamati pertumbuhan dan perkembangan larva sampai pada pengujian toksisitas ekstrak, digunakan alat bantu untuk mengamati yaitu kaca pembesar.

Tabel 2. Pengaruh berbagai konsentrasi ekstrak daun soyogik terhadap larva *A. salina* Leach.

Waktu (Jam)	Konsentrasi (ppm)						
	0	12,5	25	50	100	500	1000
1	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0,5	0
3	0	0	0	0	1,5	1,5	2
4	0	0	0,5	1	0,5	1	1
5	0	0	0	0,5	0,5	0	0
6	0	0	0,5	0,5	0	0,5	1,5
12	0	0,5	1	1,5	3	3,5	3
18	0	0	1	0,5	1	2	1
24	0	1	1	2	2,5	0,5	1,5
Total Kematian	0	3	8	12	18	19	20
Rata-rata	0	1,5	4	6	9	9,5	10
% Kematian Larva	0%	15%	40%	60%	90%	95%	100%

Total kematian diperoleh dengan menjumlahkan larva yang mati pada setiap konsentrasi.

Respon kematian lebih cepat terjadi pada konsentrasi 500 ppm, namun bukan berarti pada konsentrasi ini memberikan nilai kematian paling besar, melainkan pada konsentrasi 1000 ppm. Jumlah kematian larva pada setiap jam tidak menunjukkan suatu nilai yang tetap.

Hasil analisis probit dengan menggunakan SPSS menunjukkan harga LC₅₀ dari ekstrak daun soyogik adalah 35,4 ppm. Menurut Meyer et al. (1982) melaporkan bahwa suatu ekstrak menunjukkan aktivitas ketoksikan dalam uji toksisitas jika ekstrak dapat menyebabkan kematian 50% hewan uji pada konsentrasi < 1000 ppm. Berdasarkan dari pernyataan tersebut maka ekstrak daun soyogik bersifat toksik. Hal ini ditunjukkan dari nilai LC₅₀ yang diperoleh yaitu pada konsentrasi 35,4 ppm.

3.4. Penentuan Kandungan Total Fenolik, Flavonoid dan Tanin

Hasil analisis kandungan total fenolik, flavonoid dan tanin yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil uji kandungan total fenolik, flavonoid, dan tanin.

Ekstrak	Total Fenolik (ppm)	Total Flavonoid (ppm)	Total Tanin (ppm)
Ekstrak Daun Soyogik	128	44,4	86,75

Keterangan : Kandungan senyawa pada konsentrasi 1000 ppm

Pada penelitian ini didapatkan bahwa ekstrak daun soyogik mempunyai potensi toksisitas. Hal tersebut berkaitan dengan senyawa yang terdapat dalam daun soyogik yaitu fenolik, flavonoid dan tanin, di mana pada kadar tertentu memiliki potensi toksisitas serta dapat menyebabkan kematian larva. Mekanisme kematian larva berhubungan dengan fungsi senyawa fenolik, flavonoid dan tanin dalam daun soyogik yang dapat menghambat daya makan larva (antifedant).

Menurut Cahyadi (2009) cara kerja senyawa-senyawa tersebut adalah dengan bertindak sebagai *stomach poisoning* atau racun perut. Oleh karena itu, bila senyawa-senyawa ini masuk ke dalam tubuh larva, alat pencernaannya akan terganggu. Selain itu, senyawa ini menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva. Hal ini mengakibatkan larva gagal mendapatkan stimulus rasa sehingga tidak mampu mengenali makanannya sehingga larva mati kelaparan.

Senyawa flavonoid dan tanin mempunyai mekanisme efek antikanker masing-masing. Menurut Woo *et al.*, (2013), mekanisme flavonoid sebagai antikanker ada beberapa teori. Flavonoid sebagai antioksidan yaitu melalui mekanisme pengaktifan jalur apoptosis sel kanker. Mekanisme apoptosis sel pada teori ini akibat fragmentasi DNA. Fragmentasi ini diawali dengan dilepasnya rantai proksimal DNA oleh senyawa oksigen reaktif seperti radikal hidroksil. Efek lainnya adalah flavonoid sebagai penghambat proliferasi tumor/kanker yang salah satunya dengan menginhibisi aktivitas protein kinase sehingga menghambat jalur transduksi sinyal dari membran ke sel inti. Flavonoid menghambat aktivitas reseptor tirosin kinase, karena aktivitas reseptor tirosin kinase yang meningkat berperan dalam pertumbuhan keganasan sel kanker. Flavonoid juga berfungsi untuk mengurangi resistensi tumor terhadap agen kemoterapi.

4. Kesimpulan dan Saran

4.1. Kesimpulan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun soyogik pada pengujian toksisitas menunjukkan nilai LC₅₀ sebesar 35,4 ppm. Dengan demikian ekstrak daun soyogik mempunyai potensi toksisitas terhadap larva *Artemia salina* Leach.

Kandungan fenolik: 128 ppm, flavonoid 44,4 ppm dan tanin: 86,75 ppm.

4.1. Saran

Untuk melanjutkan penelitian ini disarankan melakukan isolasi senyawa aktif yang bersifat toksik.

Daftar Pustaka

- Cahyadi, R. 2009. Uji toksisitas akut ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L) Terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan metode Brine shrimp lethality test (BST). *Universitas Diponegoro Repository*. 5: 1-8.
- Hyeronimus S.B. 2008. *Ragam dan Khasiat Tanaman Obat*. 1st ed. Agro Media. Jakarta.
- Jeong, S.M., Kim, S.Y., Kim, D.R., Jo, S.C., Nam, K.C., Ahn, D.U. dan Lee, S.C. 2004. Effect of Heat Treatment on the Antioxidant Activity of Extracts from Citrus Peels. *J. Agric. Food Chem.* **33**: 213-217.
- Julkunen-Tiito, R. 1985. Phenolic Constituents in Leaves of Northern Willows: Methods for The Analysis of Certain Phenolic. *J. Agric. Food Chem.* **33**: 213-218.
- Kadji, M., Runtuwene, M.R.J. dan Citraningtyas, G. 2013. Uji Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Etanol Daun Soyogik (*Saurauia bracteosa* DC). *Pharmacon*. **5**: 13-17.
- Meda, A., Lamien, C.E., Romito, M., Miliogo, J., dan Nacoulina, O.G. 2005. Determination of The Total Phenolic, Flavonoid, and Proline Content in Burkina Fasan Money, As Well As Their Radical Scavenging Activity. *Food Chemistry*. **91**: 571-577.
- Meyer, 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 Constituent, *Planta Medica*. **45**:31-34.
- Sangi, M., Momuat, L. dan Kumaunang, M. 2012. Uji toksisitas dan skrining fitokimia tepung gabah pelepah aren (*Arenga pinnata*). *Jurnal Ilmiah Sains*. **12**: 128-134.
- Sudarmadji, S., Haryono B., dan Suhardi. 1989. *Prosedur Analisis untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Liberty. Jogjakarta.
- Woo, H. D dan Kim, J. 2013. Dietary Flavonoid Intake and Risk of Stomach and Colorectal Cancer. *World Journal of Gastroenterology*. **7**: 1011-1019.