

SKRINING FITOKIMIA DAN UJI TOKSISITAS EKSTRAK ETANOL DAUN LANGSAT (*Lansium domesticum* Corr) TERHADAP Larva *Artemia salina* Leach DENGAN METODE *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Indriawati Yunus¹⁾, Widdhi Boddhi¹⁾, Edwin De Queljoe¹⁾

¹⁾Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

ABSTRACT

Langsat (Lansium domesticum Corr) is one of indigenous Indonesian plants that have long been used in traditional medicine. Some parts of langsat widely used to treat various diseases that is one the skin of stems and fruit, among others as a worm medicine, fever medicine, diarrhea drugs, and also as an anti-cancer. Other parts of leafy plants such as leaves have not been utilized and known toxicity levels. This study aims to identify phytochemical compounds and determine the toxicity value of leaf extracts of ethanol to leaf Artemia salina Leach through toxicity test using BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) method. The results showed that leaf extract langsat (Lansium domesticum) contain phenolic compounds, saponins, triterpenoids, and steroids. The results of this study indicate that the leaf extract of ethanol is toxic, this is indicated by $LC_{50} < 1000 \mu\text{g} / \text{mL}$, with LC_{50} value of $32.713 \mu\text{g} / \text{mL}$.

Keywords: Leaf Langsat, Phytochemical, Toxicity, BSLT, LC_{50}

ABSTRAK

Langsat (*Lansium domesticum* Corr) merupakan salah satu tanaman asli Indonesia yang telah lama digunakan dalam pengobatan tradisional. Beberapa bagian dari langsat banyak dimanfaatkan untuk mengobati berbagai penyakit yaitu pada kulit batang dan buahnya, antara lain sebagai obat cacing, obat demam, obat diare, dan juga sebagai antikanker. Bagian lainnya pada tanaman langsat seperti daun belum dimanfaatkan dan diketahui kadar toksisitasnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa fitokimia dan menentukan nilai toksisitas dari ekstrak etanol daun langsat terhadap udang *Artemia salina* Leach melalui uji toksisitas menggunakan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun langsat (*Lansium domesticum*) mempunyai kandungan senyawa fenolik, saponin, triterpenoid, dan steroid. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun langsat bersifat toksik, hal ini ditandai dengan nilai $LC_{50} < 1000 \mu\text{g}/\text{mL}$, dengan nilai LC_{50} yaitu $32,713 \mu\text{g}/\text{mL}$.

Kata kunci: Daun Langsat, Fitokimia, Toksisitas, BSLT, LC_{50}

PENDAHULUAN

Bahan alami digunakan sebagai bahan untuk pembuatan obat-obatan karena umumnya mengandung senyawa metabolit sekunder. Metabolit sekunder merupakan senyawa yang disintesis oleh tumbuhan, mikroba atau hewan yang memiliki aktivitas farmakologi dan biologis sehingga memiliki potensi sebagai bahan obat (Hendrawati, 2009). Tumbuhan umumnya mengandung senyawa bioaktif dalam bentuk metabolit sekunder yaitu flavonoid, tanin, alkaloid, triterpenoid, steroid, saponin dan fenolik yang terdapat pada tanaman (Lenny, 2006). Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat tradisional ialah tanaman Langsung (*Lansium domesticum*).

Langsat merupakan salah satu tanaman asli Indonesia yang telah lama digunakan dalam pengobatan tradisional. Langsung memiliki banyak kegunaan karena kandungan senyawa-senyawa berkhasiat didalamnya. Selain khasiatnya yang telah turun temurun digunakan oleh masyarakat, tanaman ini lebih murah dan mudah didapat, namun diperlukan penelitian yang lebih lanjut karena banyaknya tanaman yang belum diketahui kadar toksisitasnya. Beberapa bagian dari langsung banyak dimanfaatkan oleh masyarakat untuk mengobati berbagai penyakit, antara lain sebagai obat cacing, obat demam, obat diare, dan juga sebagai anti kanker (Mokosuli, 2008). Penelitian dari Korompis et al (2010) juga menunjukkan bahwa Ekstrak kulit buah, biji dan kulit batang langsung memiliki aktivitas antibakteri .

Uji toksisitas merupakan salah satu persyaratan suatu tanaman dapat

dikembangkan sebagai obat. Salah satu metode yang digunakan untuk mengetahui toksisitas dari suatu ekstrak atau senyawa bahan alam ialah Bhrine Shrimp Lethality Test. Beberapa kelebihan metode ini ialah mudah, relatif murah, tidak membutuhkan spesialisasi tertentu dalam pelaksanaannya dan memiliki hasil dengan tingkat kepercayaan tinggi (95%) untuk mengamati aktivitas toksik dari suatu senyawa di dalam ekstrak tanaman. Aktivitas toksik diketahui dari jumlah kematian larva *Artemia salina* Leach karena pengaruh ekstrak atau senyawa bahan alam pada konsentrasi yang diberikan (Silva et al, 2007). Suatu ekstrak atau senyawa bahan alam yang diketahui memiliki aktivitas toksik melalui metode BSLT jika nilai $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/ml}$ (Meyer et al, 1982).

Berdasarkan uraian di atas, penelitian untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder pada Tanaman Langsung (*Lansium domesticum*) dan uji toksisitasnya perlu dilakukan. Penelitian ini dilakukan pada bagian daun, mengingat pemanfaatan tanaman langsung selama ini masih terbatas pada kulit batangnya, sedangkan bagian daun masih belum dimanfaatkan secara maksimal.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Daun Langsung (*Lansium domesticum*), telur udang *Artemia salina*, etanol 96 %, Air laut, aquadest, Besi Klorida (Merck), Kloroform (Merck), Amoniak (Merck), Asetat anhidrat (Merck), Asam sulfat (Merck), Asam klorida (Merck), Magnesium (Merck), Pereaksi Meyer

(Merck), Pereaksi Dragendorf (Merck), dan Pereaksi Wagner (Merck).

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu : Ayakan mesh 200, Kertas saring whatman 42, alat-alat gelas Laboratorium (Pyrex), rak tabung reaksi, mikropipet, Beaker glass, Timbangan analitik (AND), oven (Memmert), water bath, hot plate, aerator, Alumunium foil, vacum rotary evaporator (Steroglass 3000)., Blender (laboratory blender), Spatula, Corong, Lampu pijar..

Pengambilan dan Persiapan sampel

Sampel yang digunakan ialah daun langsung (*Lansium domesticum*) yang diambil dari desa Belang, Minahasa Tenggara, Sulawesi Utara. Selanjutnya sampel dibersihkan dan dikering anginkan hingga sampel kering. Setelah kering sampel diblender hingga sampel menjadi halus lalu diayak dengan ayakan mesh 200.

Ekstraksi Daun

Ekstraksi bahan aktif dilakukan dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Serbuk daun Langsung ditimbang sebanyak 100 gram dan dimasukkan ke dalam beaker glass, kemudian ditambahkan pelarut hingga volume akhir mencapai 1000 mL dengan perbandingan 1 : 10 (w/v). Hasil maserasi kemudian disaring dengan kertas saring Whatman 42 sehingga dihasilkan filtrat dan residu. Perendaman dilakukan 1 kali remaserasi. Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatan dengan vacuum rotary evaporator pada suhu 400C hingga diperoleh ekstrak kental berupa pasta..

Uji Fitokimia (Harborne,1987)

Uji Fenolik

Sejumlah sampel dilarutkan dengan 20 ml etanol 96%. Larutan yang dihasilkan diambil sebanyak 1 ml kemudian ditambahkan 2 tetes larutan $FeCl_3$ 1 %. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau atau hijau biru.

Uji Alkaloid

Sebanyak 0,5 g ekstrak etanol daun Langsung dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 2 mL kloroform secukupnya dan 10 mL amoniak lalu ditambahkan 10 tetes H_2SO_4 . Campuran dikocok dan dibiarkan hingga membentuk 2 lapisan. Lapisan H_2SO_4 dipindahkan dalam 3 tabung reaksi dengan volume masing-masing 2,5 mL. Ketiga larutan diuji dengan pereaksi Meyer, Dragendorf dan Wagner. Terjadinya endapan putih (untuk Meyer), merah jingga (untuk Dragendorf) dan coklat (untuk Wagner) menandakan adanya alkaloid.

Uji Saponin

Sebanyak 0,5 g ekstrak etanol daun Langsung dan ditambahkan dengan 10 mL akuades kemudian dikocok kuat selama kurang lebih 1 menit. Selanjutnya didiamkan selama 10 menit dan diamati buih atau busa yang terbentuk. Keberadaan senyawa saponin dalam sampel ditandai dengan terbentuknya buih yang stabil selama 10 menit..

Uji Triterpenoid/Steroid

Sebanyak 0,5 g ekstrak etanol daun Langsung ditambahkan dengan 1 ml kloroform. Setelah itu campuran dikocok . ditambahkan masing-masing asetat anhidrat dan asam sulfat pekat sebanyak 2 tetes. Larutan dikocok perlahan dan dibiarkan

selama beberapa menit. Steroid memberikan warna biru atau hijau, sedangkan triterpenoid memberikan warna merah atau ungu.

Uji Tanin

Sebanyak 0,5 g ekstrak etanol daun Langsung. dan ditambahkan dengan 10 mL air panas, kemudian ditetesi menggunakan besi (III) klorida, keberadaan tanin dalam sampel di tandai dengan timbulnya warna hijau kehitaman..

Penyiapan Larva *Artemia Salina* Leach

Penetasan telur *Artemia Salina* Leach dilakukan dengan cara merendam sebanyak 30 mg telur *Artemia Salina* Leach dalam wadah berisi air laut dibawah cahaya lampu 25 watt. Telur *Artemia Salina* Leach akan menetas dan menjadi larva setelah 24 jam.

Pembuatan Konsentrasi Sampel Uji

Konsentrasi larutan uji untuk BSLT ialah 1000 µg/mL, 500 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL, 10 µg/mL, dan 0 µg/mL (sebagai kontrol negatif). Untuk pembuatan larutan stok ekstrak kental etanol 96 % Ditimbang sebanyak 50 mg, kemudian dilarutkan dengan air laut sebanyak 50 mL, hingga diperoleh konsentrasi larutan stok 1000 µg/mL..

Pelaksanaan Uji Toksisitas

Pada uji toksisitas masing - masing konsentrasi dilakukan 3 kali pengulangan dengan tiap kelompok sebanyak 10 ekor larva *Artemia salina*. Disiapkan wadah untuk pengujian, untuk masing - masing konsentrasi ekstrak sampel membutuhkan 3 wadah dan 1 wadah sebagai kontrol untuk masing – masing pengulangan. Selanjutnya

pada tiap konsentrasi larutan dimasukan 10 ekor larva *Artemia salina*, pengamatan dilakukan selama 24 jam terhadap kematian larva *Artemia salina* dimana setiap konsentrasi dilakukan 3 kali pengulangan dan dibandingkan dengan kontrol. Kriteria standar untuk menilai kematian larva *Artemia salina* yaitu bila larva *Artemia salina* tidak menunjukkan pergerakan selama beberapa detik observasi.

Analisis Data

Data hasil penelitian akan diolah dan disajikan dalam bentuk tabel. Data dari uji toksisitas akan dianalisis dengan analisis probit menggunakan SPSS (Statistical Product and Service Solution) 23 untuk menentukan nilai LC50..

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Fitokimia

Pengujian fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif yang terdapat pada tanaman. Uji fitokimia pada penelitian ini dilakukan terhadap daun langsung yang sudah dimaserasi menggunakan pelarut etanol. Proses maserasi sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam karena selain murah dan mudah dilakukan, dengan perendaman sampel tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel, sehingga metabolit sekunder yang ada di dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut (Harbone, 1987). Maserasi terhadap bagian daun dari tanaman Langsung menghasilkan ekstrak kental berwarna hitam kehijauan sebanyak 15 gram. Pengujiannya dilakukan

dengan cara mengambil sedikit sampel dari ekstrak tersebut kemudian dilihat perubahan warna yang terjadi. Uji fitokimia dilakukan terhadap golongan senyawa fenolik,

alkaloid, saponin, triterpenoid/steroid dan tanin. Hasil pengujian dapat dilihat pada Tabel 1..

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Daun Langsung

Senyawa Metabolit	Perubahan Warna	Hasil Pengujian
Fenolik	warna hijau atau hijau biru	+
Alkaloid	warna hijau	-
Saponin	terbentuknya buih yang stabil selama 10 menit	+
Triterpenoid/Steroid	warna biru atau hijau (Steroid), merah atau ungu (Triterpenoid)	+
Tanin	warna putih kecokelatan	-

Pengujian fitokimia yang telah dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak daun langsung memiliki kandungan metabolit sekunder berupa Fenolik, Saponin, Triterpenoid, dan Steroid. Keberadaan metabolit sekunder tersebut menunjukkan bahwa daun langsung mempunyai efek farmakologis dan berpotensi untuk dijadikan sebagai bahan obat-obatan. Dengan demikian penelitian dilanjutkan dengan uji aktivitas toksik menggunakan metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test).

Uji toksisitas dengan Metode Brine Shimp Lethaly Test (BSLT)

BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) merupakan salah satu uji praskrining atau pendahuluan untuk mendapatkan aktivitas biologis yang sederhana untuk menentukan tingkat toksisitas akut suatu senyawa atau

ekstrak dengan menggunakan Artemia salina sebagai hewan uji. Artemia salina yang digunakan pada pengujian toksisitas ialah Artemia salina yang berada pada tahap nauplii atau tahap larva. Hal ini dikarenakan Artemia salina pada tahap nauplii sangat mirip dengan sel manusia (Meyer, 1982).

Pengujian toksisitas ekstrak etanol daun langsung dilakukan dengan menggunakan konsentrasi 1000 µg/mL, 500 µg/mL, 250 µg/mL, 100 , 10 µg/mL dan 0 µg/mL sebagai kontrol negatif. Pengujian terlebih dahulu dilakukan dengan cara menetasakan telur larva artemia salina leach. Pada awalnya, penetasan dilakukan dengan cara merendam telur A. salina dalam wadah yang berisi air laut namun telur A. salina tidak menetas. karena tidak menetasnya telur A.salina tersebut, maka dibuat air laut

buatan (sintetik) yaitu 20 g garam non yodium dilarutkan dalam 1 L aquades. Setelah 48 jam telur *A. salina* berhasil menetas dengan sempurna. Selanjutnya, Pengujian dilakukan dengan memindahkan larva artemia dewasa, masing-masing sepeluh ekor ke dalam setiap konsentrasi untuk dibuat perlakuan. Jumlah larva *Artemia salina* Leach diuji dengan tiga kali pengulangan yaitu 30 ekor. Jumlah total larva *Artemia salina* Leach yang digunakan sebanyak 180 ekor larva. Total kematian diperoleh dengan menjumlahkan larva yang mati pada setiap konsentrasi, sedangkan rata-rata kematian larva diperoleh dengan membagi total kematian larva pada tiap

konsentrasi dengan jumlah pengulangan yang dilakukan yaitu tiga kali. Kemudian dihitung persentase kematian larva dari rata-rata kematian pada tiap konsentrasi. Ekstrak daun langsung diuji ketoksikannya dalam mematikan larva dengan perlakuan konsentrasi yang berbeda, rentang konsentrasi ini dipilih karena sampel dikatakan toksik apabila nilai LC50 kurang dari 1000 ppm. Kemampuan toksisitas ekstrak etanol dari daun langsung dalam mematikan larva udang yang telah diberi perlakuan dapat dilihat dalam Tabel 2.

Tabel 2. Pengaruh berbagai konsentrasi ekstrak daun langsung terhadap larva udang

Pengujian	Kontrol Negatif	Jumlah Kematian Setiap Konsentrasi				
		10µg/mL	100µg/mL	250µg/mL	500µg/mL	1000µg/mL
1	0	2	6	10	10	10
2	0	2	6	9	10	10
3	0	5	7	7	9	10
Total Kematian Larva	0	9	19	26	29	30
Rata- rata	0	3	6,3	8,6	9,6	10
Presentase Kematian	0	30%	63,3%	86,6%	96,6%	100%

Tabel 2 menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka kematian larva akan semakin tinggi. Hal ini sesuai dengan Harborne (1994), yang menyebutkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka sifat toksiknya akan semakin tinggi, sehingga kematian larva dipengaruhi oleh peningkatan konsentrasi dalam sampel. Hasil pengujian yang diolah menggunakan analisis probit, menunjukkan nilai LC50 dari daun langsung yaitu: 32,713 µg/ml. dimana tingkat kematian tertinggi terdapat pada konsentrasi 1000 µg/mL dan kematian terendah pada konsentrasi 10 µg/mL. Hal ini membuktikan bahwa *Artemia salina* yang mati disebabkan oleh sifat toksik dari ekstrak daun langsung tersebut.

Senyawa fitokimia yang memiliki efek toksik pada tanaman tersebut, antara lain fenolik, triterpenoid/steroid, dan saponin. Diantara metabolit sekunder tersebut, fenolik diperkirakan memiliki peran terbesar, fenol merupakan salah satu gugus dari acetogenin (senyawa toksik). Fenol sering digunakan sebagai antiseptik dan antibakteria, mekanisme kerja senyawa ini adalah dengan penghancuran dinding sel dan presipitasi (pengendapan) protein sel dari mikroorganisme sehingga terjadi koagulasi dan kegagalan fungsi dari mikroorganisme tersebut. Senyawa fenol diduga mempunyai aktivitas antioksidan, antitumor, antiviral, dan antibiotik (Harborne, 1987; Apak et al., 2007). Selain Fenolik, metabolit sekunder yang lain juga memberikan aktivitas toksik yaitu dengan bertindak sebagai racun perut. Apabila senyawa-senyawa tersebut masuk ke dalam tubuh larva, alat pencernaannya akan

terganggu dan dapat menghambat reseptor perasa pada mulut larva. hal ini mengakibatkan larva gagal mendapat stimulus rasa, sehingga tidak mampu mengenali makanannya sehingga larva mati kelaparan.

Suatu ekstrak menunjukkan aktivitas ketoksikan dalam BSLT jika ekstrak dapat menyebabkan kematian 50% hewan uji pada konsentrasi kurang dari 1000 µg/ml (Meyer, 1982 ; Anderson, 1991). Berdasarkan data hasil pengujian yang kemudian diolah menggunakan analisis probit LC50, didapatkan nilai LC50 dari ekstrak etanol daun langsung yaitu 32,713 µg/ml. dari pernyataan di atas, maka hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun langsung bersifat toksik. Sehingga dapat dikembangkan ke penelitian lebih lanjut untuk mengisolasi senyawa sitotoksik tumbuhan.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

- 1) Senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak etanol 96 % daun langsung (*Lansium domesticum* Corr) yaitu Fenolik, Saponin, Triterpenoid, dan Steroid.
- 2) Ekstrak etanol 96 % daun langsung (*Lansium domesticum* Corr) memiliki sifat toksik dengan nilai LC50 yaitu 32,713 µg/mL.

SARAN

Hasil uji toksisitas menunjukkan daun langsung bersifat toksik yang berpotensi sebagai bahan obat, sehingga perlu

dilakukan pengujian bioaktivitas lebih lanjut terhadap tanaman ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson, J. E., Goetz C.M., Mc Laughlin J. L. 1991. *A Blind Comparison of Simple Bench-top Bioassay and Human Tumor Cell Cytotoxicities as Antitumor Prescreens*, Natural Product Chemistry, Elsevier, Amsterdam.
- Apak R., K.Guclu, B. Demirata M. Ozytirik, S. E. Qelih B. Bektaqollu, K.I. Berker and D. Ozyurt. 2007. *Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assay Applied to Phenolic Compounds with The CWPMC Assay*. *Molecules*, 12 : 1496-1547.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia: Penentuan Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Terjemahan Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. ITB, Bandung.
- Harborne, J. B. 1994. *The Flavonoids*. Chapman and Hall. London.
- Hendrawati, A. R. S. 2009. *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Kemangi (Ocimum sanctum Linn.) Terhadap Artemia salina Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro. Semarang.
- Kanwar, A.S. 2007. *Brine Shrimp (Artemia salina) A Marine Animal for Simple and Rapid Biological Assays*. Chinese Clinical Medicine.
- Korompis GEC, Danes VR, Sumampouw OJ. 2010. *Uji invitro aktivitas antibakteri Langsung (Lansium domesticum)*. *Bul Penelitian Kesehatan* 3: 13-19.
- Lawalata N. V. 2012. *Rekayasa Proses Ekstraksi Kulit Buah Langsung (Lansium domesticum L) Sebagai Bahan Antibakteri dan Antioksidan* [Skripsi]. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian : Bogor.
- Lenny, S. 2006. *Senyawa Flavonoida, Fenilpropanoida dan Alkaloida*. Departemen Kimia FMIPA USU, Medan.
- Mc Laughlin JL et al. 1998. The use of biological assays to evaluate botanicals. *Drug Information Journal* 32:513-524.
- Meyer, B. N. Ferrigni, Putnam, J. E. Jacobsen, L. B. Nichols, McLaughlin. 1982. *Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents*. *Planta Medica*. 45:31-34.
- Mokusuli YS. 2008. *Aktivitas antioksidan dan antikanker ekstrak kulit batang langsung (Lansium domesticum L.)* [Tesis]. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Silva, T.M., Nascimento, R.J., Batista, M.B., Agra, M.F., dan Camara, C.A. 2007. *Brine shrimp bioassay of some species of solanum from northeastern Brazil*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 17(1) :35-38