IDENTIFIKASI KANDUNGAN SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DAN UJI BIOAKTIVITAS TERHADAP LARVA UDANG (*Artemia salina* Leach.) EKSTRAK DAUN KECAPI (*Sandoricum koetjape* Merr.)

Destri Erawaty*, Aditya Fridayanti, Laode Rijai

Laboratorium Penelitian dan Pengembangan FARMAKA TROPIS, Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda, Kalimantan Timur

*Corresponding author email: destri_erawaty@yahoo.com

ABSTRACT

Secondary metabolites identification and bioactivity of santol leaves extract (*S.koetjape* Merr.) against *Artemia salina* Leach has been done. Secondary metabolite identification was done by testing santol leaves extract and fractions against reagent, whereas the bioactivity tests carried out by Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method. Santol leaves extract was extracted using methanol solvent and was fractioned using *n*-hexane, ethyl acetate and *n*-butanol solvents. The results showed that the santol leaves extract contain flavanoid, saponin, tannin, karatenoid, fenol, steroid, and triterpenoid. LC₅₀ value of each crude extract, *n*-hexane fraction, ethyl acetate fraction, and *n*-butanol fraction was 190.12 ppm, 189.23 ppm, 299.23 ppm, and 301.99 ppm.

Keywords: *S.koetjape* Merr, *Artemia salina* Leach, BSLT

ABSTRAK

Penelitian identifikasi metabolit sekunder dan bioaktivitas ekstrak daun kecap (*S.koetjape* Merr.) terhadap Larva *Artemia salina* Leach telah dilakukan. Identifikasi metabolit sekunder dilakukan dengan melakukan uji ekstrak dan fraksi daun kecap terhadap pereaksi, sedangkan uji bioaktivitas dilakukan dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Ekstrak daun kecap telah diekstrak dengan menggunakan pelarut metanol dan difraksi menggunakan pelarut *n*-heksana, etil asetat dan *n*-butanol. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun kecap mengandung golongan flavanoid, saponin, tannin, karatenoid, fenol, steroid, dan terpenoid. Nilai LC₅₀ dari masing-masing ekstrak kasar, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi *n*-butanol adalah 190.12 ppm, 189.23 ppm, 299.23 ppm dan 301.99 ppm.

Kata kunci : *S.koetjape* Merr, *Artemia salina* Leach, BSLT

Submitted on: 5 January 2017

Accepted on: 15 February 2017

DOI: <https://doi.org/10.25026/jsk.v1i6.64>

PENDAHULUAN

Pemanfaatan tanaman sebagai obat sudah dilakukan dari dimulainya peradaban manusia. Tanaman memiliki berbagai bahan kimia yang mempunyai sejuta manfaat termasuk untuk obat berbagai penyakit. Kemampuan meracik tanaman berkhasiat obat dan jamu atau ramuan merupakan warisan turun temurun dan obat tradisional tersebut telah mengakar kuat di masyarakat. Tanaman yang merupakan

bahan baku obat tradisional tersebut, terdapat diseluruh wilayah Indonesia.

Banyak tumbuhan obat mempunyai potensi sebagai obat antikanker. Dalam penggunaannya, tumbuhan obat ini dapat bisa dipakai bersamaan dengan pengobatan medis, setelah pengobatan medis selesai dilakukan atau sebelum mendapatkan pengobatan medis. Di Indonesia, penggunaan tumbuhan obat memang belum diakui secara resmi, meski dari pengalaman

turun temurun jelas bahwa tumbuhan obat mempunyai manfaat yang sangat besar untuk kesehatan. Berbeda dengan di negara Cina dan India yang sudah mengakui cara pengobatan tradisional secara resmi. Padahal Indonesia merupakan sumber tumbuhan obat terbesar kedua di dunia setelah Brasil. Saat ini diketahui terdapat sekitar 40 jenis tumbuhan obat asli Indonesia yang dipercaya mempunyai efek antikanker. Sehingga sayang sekali jika tidak dimanfaatkan secara optimal [1].

Salah satu tumbuhan asli Indonesia yang dapat digunakan sebagai obat tradisional adalah tanaman kecapi (*S.koetjapi* Merr.). Kecapi merupakan salah satu anggota famili *Sapindales*. Berdasarkan literatur daun kecapi (*S.koetjapi* Merr.) mengandung senyawa flavonoid, saponin, fenol, steroid dan tanin. Daun kecapi (*S.koetjapi* Merr.) diduga memiliki banyak manfaat yang sangat luas sebagai obat, seperti obat batuk, obat mulas, keputihan, pengobatan cacing gelang, kurap, obat kembung, diare, sakit pinggang, serta untuk penguat tubuh wanita setelah melahirkan [2].

Metode BSLT merupakan salah satu metode yang digunakan untuk penapisan awal senyawa-senyawa yang diduga memiliki senyawa aktif. Penelitian ini menggunakan *Artemia salina* Leach sebagai hewan uji. Parameter yang digunakan untuk menunjukkan adanya aktivitas biologi suatu senyawa yaitu jumlah kematian *Artemia salina* Leach. Metode ini dilakukan dengan menentukan besarnya LC_{50} selama 24 jam. Suatu ekstrak tanaman atau fraksi ekstrak tanaman yang mempunyai LC_{50} kurang dari 1000 $\mu\text{g/mL}$ dapat diduga memiliki aktivitas seperti sitotoksik, anti mikroba, dan pestisida [3].

Suatu ekstrak dinyatakan bersifat aktif menurut metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) ini jika memiliki LC_{50} kurang dari 1000 $\mu\text{g/mL}$. Jika hasil uji BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) menunjukkan bahwa ekstrak tumbuhan bersifat aktif maka dapat dikembangkan ke penelitian lebih lanjut untuk mengisolasi senyawa aktivitas tumbuhan sebagai usaha pengembangan obat alternatif dan dapat dikembangkan juga ke penelitian lebih lanjut untuk meneliti khasiat-khasiat lain dari ekstrak tersebut [4].

Berdasarkan hal tersebut dilakukan penelitian identifikasi golongan metabolit sekunder dan uji bioaktivitas ekstrak daun menggunakan metode BSLT. Penelitian ini merupakan penelitian pendahuluan untuk mengetahui bioaktivitas ekstrak daun kecapi untuk pemanfaatannya sebagai sitotoksik, anti mikroba, dan pestisida.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui rendemen ekstrak, metabolit sekunder yang terkandung, mengetahui bioaktivitas ekstrak, dan berapa nilai LC_{50} dari ekstrak daun kecapi terhadap larva udang *Artemia salina* Leach.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan yang diteliti adalah simplisia daun kecapi (*S.koetjapi* Merr.). Pelarut metanol digunakan untuk proses ekstraksi dan fraksinasi. Pelarut n-heksan, etil asetat, n-butanol digunakan untuk fraksinasi cair-cair. Larva udang *Artemia salina* Leach bioindikator uji. Pereaksi Dragon droff, Meyer, Asam sulfat pekat, Asam asetat, Kloroform, Ferri klorida, kalium heksasianoferat (III), metanol, pita magnesium, asam klorida pekat, natrium klorida, natrium hidroksida digunakan pengujian metabolit sekunder. Air laut

untuk media penetasan dan tempat hidup bioindikator uji.

Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian adalah neraca analitik (*Precisa XB 4200 C[®]*, *Precisa XT 220 A[®]*), toples, botol selai, batang pengaduk, gelas kimia (*Pyrex[®]*), gelas ukur (*Pyrex[®]*), labu ukur (*Pyrex[®]*), tabung pereaksi (*Pyrex[®]*), botol timbang, spoit, corong pisah, *rotary evaporator* (*Heidolph[®]*), pipet tetes, pipet volume (*Pyrex[®]*), cawan porselin, kaca arloji, spatula, pinset, rak tabuk reaksi, aluminium foil, botol vial, penangas air, kaca aquarium, *aerator*, seperangkat alat penerangan, statif, selang plastik, kertas saring Whatman, pompa vakum.

Prosedur Pengujian Penelitian

Pengujian identifikasi metabolit sekunder pada ekstrak dan fraksi daun kecapi yakni dengan cara mengamati perubahan reaksi menggunakan reagen kimia. Golongan metabolit sekunder yang diuji adalah alkaloid, flavanoid, karotenoid, saponin, senyawa fenol, steroid/triterpenoid, dan tannin.

Pengujian bioaktivitas ekstrak daun kecapi terhadap larva udang *Artemia salina* Leach. Larva udang *Artemia salina* Leach 10 ekor dimasukkan ke dalam masing-masing vial yang berisi ekstrak dengan berbagai konsentrasi. Konsentrasi yang digunakan 50 ppm, 150 ppm, 250 ppm, 350 ppm, dan 450 ppm untuk ekstrak metanol dan fraksi n-heksan. Konsentrasi 50 ppm, 200 ppm, 350 ppm, 500 ppm, dan 650 ppm untuk fraksi etil asetat dan fraksi n-butanol. Dibuat stok ragi sebanyak 3 mg dalam 5

mL air laut sebagai sumber makanan bioindikator uji. Ke dalam vial-vial tersebut dimasukkan 1 tetes ragi. Vial-vial uji kemudian disimpan di tempat yang cukup mendapat sinar lampu. Pengamatan dilakukan selama 24 jam dan dihitung jumlah larva yang mati. Jumlah larva udang *Artemia salina* Leach yang mati dicatat dan dihitung LC₅₀ dengan menggunakan analisis *Reed and Muench*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen dianalisis dengan menghitung persentase ekstrak dan fraksi dengan cara membandingkan bobot hasil proses (ekstrak dan fraksi) dengan bobot awal (sampel basah, sampel kering, dan ekstrak metanol yang difraksinasi). Ekstrak metanol yang digunakan untuk fraksinasi dikonversikan terlebih dahulu terhadap bobot ekstrak metanol. Perhitungan rendemen ini bertujuan untuk mengetahui persentase bobot ekstrak dan fraksi yang dihasilkan terhadap bobot awal sampel.

Dari Tabel 2 diketahui bahwa rendemen ekstrak kasar metanol terhadap sampel segar dan kering berturut turut adalah 7,62% dan 21,18%. Rendemen tertinggi dari fraksi daun kecapi adalah fraksi n-heksana sebesar 50,91% terhadap ekstrak kasar metanol dan terkecil adalah ekstrak fraksi n-butanol sebesar 24,97% terhadap ekstrak kasar metanol, hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak daun kecapi memiliki kandungan senyawa non polar yang lebih banyak daripada senyawa polarnya.

Tabel 1. Berat Ekstrak dan Fraksi Daun Kecapi terhadap sampel segar, sampel kering dan ekstrak metanol

No	Sampel dan Ekstrak	Berat (g)
1	Sampel Segar	1876
2	Sampel kering	675
3	Ekstrak metanol	142,97
4	Fraksi n- heksana	15,24
5	Fraksi etil asetat	9,441
6	Fraksi n- butanol	7,492

Tabel 2. Data Rendamen Ekstrak Daun Kecapi

No	Ekstrak Daun Kecapi	Rendemen Ekstrak Daun Kecapi (%)		
		Sampel Basah 1876 g	Sampel Kering 675 g	Ekstrak Metanol 142,97 g
1	Ekstrak Kasar	7,62	21,18	-
2	Fraksi n-heksana	3,87	10,76	50,91
3	Fraksi Etil asetat	2,39	6,66	31,47
4	Fraksi n-butanol	1,90	5,28	24,97

Tabel 3. Hasil Uji Kandungan Metabolit Sekunder Daun Kecapi

Metabolit Sekunder	Perlakuan			
	Ekstrak metanol	Fraksi n-heksana	Fraksi etil asetat	Fraksi n-butanol
Alkaloid	-	-	-	-
Flavanoid	+	+	+	+
Karatenoid	+	+	+	+
Saponin	+	+	+	-
Senyawa Fenol	+	+	+	+
Steroid dan Triterpenoid	-	+	+	+
Tanin	+	+	+	+

Keterangan :

Data berupa data kualitatif (-) dan (+), dimana:

(-) : Tidak teridentifikasi metabolit sekunder

(+) : Teridentifikasi metabolit sekunder

Berdasarkan hasil pengujian kandungan metabolit sekunder ini disimpulkan bahwa daun kecap mengandung golongan senyawa flavanoid, karatenoid, tanin, saponin, fenol, steroid dan triterpenoid. Bioaktivitas larva *Artemia salina* Leach dilihat dari kemampuan yaitu tinggi atau rendahnya konsentrasi yang digunakan oleh ekstrak daun kecap untuk mematikan larva. Pengujian ini juga menggunakan kontrol negatif. Kontrol negatif adalah sampel yang perlakuannya tidak ditambahkan ekstrak yaitu hanya bioindikator dan media air laut, sehingga diharapkan kontrol negatif tidak beraktivitas larvasida yaitu semua larva udang yang digunakan hidup yang

mengartikan media, lingkungan dan pengaruh lain tidak mempengaruhi pengujian yang telah dilakukan.

Terlihat pada Gambar 1 terjadi peningkatan konsentrasi ekstrak methanol daun kecap dalam kemampuan membunuh hewan uji larva udang, yaitu dengan bertambahnya larva udang yang mati. Ini terlihat dari hasil analisis dengan metode *Reed and Muench* dengan nilai LC_{50} 190,12 ppm. Dapat terlihat pada titik pertemuan antara akumulasi kematian dengan akumulasi yang hidup adalah estimasi nilai LC_{50} . Sumbu ini berada pada grafik antara log konsentrasi 2,176 – 2,397. Nilai LC_{50} ekstrak metanol daun kecap menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun kecap berpotensi antimikroba (LC_{50} 30-200 ppm).

Tabel 4 Hasil Uji Ekstrak Metanol Terhadap Larva Udang Artemia salina

Konsentrasi	Log Konsentrasi	Jumlah		Terakumulasi		Rasio	Mortalitas
		Mati	Hidup	Mati (x)	Hidup (y)	mati : total	(%)
						Terakumulasi x : (x+y)	Rasio x 100 %
50 ppm	1,698	9	41	9	101	0,080	8
150 ppm	2,176	25	25	34	60	0,362	36,2
250 ppm	2,397	33	17	67	35	0,657	65,7
350 ppm	2,544	38	12	105	18	0,854	85,4
450 ppm	2,653	44	6	149	6	0,960	96

Identifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder dan uji bioaktivitas terhadap larva udang (*artemia salina* leach.) Ekstrak daun kecapi (*sandoricum koetjape merr.*)

Gambar 1 Grafik LC₅₀ Ekstrak Metanol Daun Kecapi

Tabel 5 Hasil Uji Fraksi N-Heksan Terhadap Larva Udang *Artemia salina*

Konsentrasi	Log Konsentrasi	Jumlah		Terakumulasi		Rasio mati : total	Mortalitas (%)
		Mati	Hidup	Mati (x)	Hidup (y)	Terakumulasi x : (x+y)	Rasio x 100 %
50 ppm	1,698	8	42	8	98	0,075	7,5
150 ppm	2,176	20	30	28	56	0,333	33,3
250 ppm	2,397	32	18	60	26	0,697	69,7
350 ppm	2,653	42	8	102	8	0,927	92,7

Gambar 2 Grafik LC₅₀ Fraksi n-Heksana Daun Kecapi

Tabel 6 Hasil Uji Fraksi Etil Asetat Terhadap Larva Udang *Artemia salina*

Konsentrasi	Log Konsentrasi	Jumlah		Terakumulasi		Rasio mati : total	Mortalitas (%)
		Mati	Hidup	Mati (x)	Hidup (y)	Terakumulasi x : (x+y)	Rasio x 100 %
50 ppm	1,698	11	39	11	112	0,089	8,9
200 ppm	2,301	17	33	28	73	0,277	27,7
350 ppm	2,544	29	21	57	40	0,587	58,7
500 ppm	2,698	38	12	95	19	0,833	83,3
650 ppm	2,812	43	7	138	7	0,952	95,2

Gambar 3 Grafik LC_{50} Fraksi Etil Asetat Daun Kecapi

Terlihat pada Gambar 2 terjadi peningkatan konsentrasi fraksi n-Heksan daun kecapi dalam kemampuan membunuh hewan uji larva udang, yaitu dengan bertambahnya larva udang yang mati. Ini terlihat dari hasil analisis dengan metode *Reed and Muench* dengan nilai LC_{50} 189,23 ppm. Dapat terlihat pada titik pertemuan antara akumulasi kematian dengan akumulasi yang hidup adalah estimasi nilai LC_{50} . Sumbu ini berada pada grafik antara log konsentrasi 2,176 – 2,397. Nilai LC_{50} menunjukkan bahwa fraksi n-heksan daun

kecapi berpotensi antimikroba (LC_{50} 30-200 ppm). Terlihat pada Gambar 3 terjadi peningkatan konsentrasi fraksi etil asetat dalam kemampuan membunuh hewan uji larva udang, yaitu dengan bertambahnya larva udang yang mati. Ini terlihat dari hasil analisis dengan metode *Reed and Muench* dengan nilai LC_{50} 299,23 ppm. Dapat terlihat pada titik pertemuan antara akumulasi kematian dengan akumulasi yang hidup adalah estimasi nilai LC_{50} . Sumbu ini berada pada grafik antara log konsentrasi 2,301 – 2,544. Nilai LC_{50}

menunjukkan bahwa fraksi etil asetat daun kecapi berpotensi sebagai pestisida (LC_{50} 200-1000 ppm).

Terlihat pada Gambar 4 terjadi peningkatan konsentrasi fraksi n-butanol dalam kemampuan membunuh hewan uji larva udang, yaitu dengan bertambahnya larva udang yang mati. Ini terlihat dari hasil analisis dengan metode *Reed and Muench* dengan nilai LC_{50} 301,99 ppm.

Dapat terlihat pada titik pertemuan antara akumulasi kematian dengan akumulasi yang hidup adalah estimasi nilai LC_{50} . Sumbu ini berada pada grafik antara log konsentrasi 2,301 – 2.544. Nilai LC_{50} menunjukkan bahwa fraksi n-butanol daun kecapi berpotensi pestisida (LC_{50} 200-1000 ppm). Nilai LC_{50} ekstrak dan fraksi daun kecapi dapat dilihat pada Tabel.8.

Tabel 7. Hasil Uji Fraksi Etil Asetat Terhadap Larva Udang *Artemia salina*

Konsentrasi	Log Konsentrasi	Jumlah		Terakumulasi		Rasio mati : total	Mortalitas (%)
		Mat i	Hidup	Mati (x)	Hidup (y)	Terakumulasi x : (x+y)	Rasio x 100 %
50 ppm	1,698	8	42	8	144	0,065	6,5
200 ppm	2,301	18	32	26	72	0,265	26,5
350 ppm	2,544	30	20	56	40	0,583	58,3
500 ppm	2,698	37	13	93	20	0,823	82,3
650 ppm	2,812	43	7	136	7	0,951	95,1

Gambar 4 Grafik LC_{50} Fraksi n-Butanol Daun Kecapi

Tabel 8 Nilai LC_{50} Ekstrak Daun Kecapi

No.	Sampel	LC ₅₀ (ppm)
1.	Ekstrak kasar (metanol)	190,12
2.	Fraksi n-heksana	189,23
3.	Fraksi etil asetat	299,23
4.	Fraksi n-butanol	301,99

Dengan membandingkan nilai LC₅₀ ekstrak dan masing-masing fraksi daun kecap dapat diketahui bahwa yang paling efektif terhadap *Artemia salina* Leach adalah ekstrak fraksi n-heksana daun kecap. Berdasarkan hal tersebut dapat dikatakan dalam hal ini semua fraksi yang ada pada ekstrak daun kecap mengandung masing-masing metabolit sekunder yang sesuai dengan tingkat polaritas sehingga semua fraksi aktif dalam membunuh larva udang uji.

KESIMPULAN

Hasil pengujian bioaktivitas terhadap larva udang *Artemia salina* Leach. diperoleh nilai LC₅₀ masing-masing yaitu ekstrak metanol terhadap larva udang *Artemia salina* Leach LC₅₀ 190,12 ppm, fraksi n-heksana terhadap larva udang *Artemia salina* Leach LC₅₀ 189,23 ppm, fraksi etil asetat terhadap larva udang *Artemia salina* Leach. LC₅₀ 299,23 dan fraksi n-butanol terhadap larva udang *Artemia salina* Leach LC₅₀ 301,99 ppm.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada staf laboran Kimia Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman Samarinda. Kepada saudari Pindo Hardika Putri Abiyadh Noor, S.Farm yang telah mau bekerja sama tentang penelitian tanaman kecap ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1]. Mangan Y. 2005. *Cara Bijak Menaklukan Kanker*. PT.Agro Media Pustaka. Depok
- [2]. Tinggen, I N., 2000, *Taru Premara*, Pustaka Leluhur Eka Cipta; Singaraja
- [3]. Colegate, Steven M. dan Russell J.Molyneux. 1993. *Bioactive Natural Products: Detection, Isolation, and Structural Determination*. CRC Press Inc: Florida.
- [4]. Hendrawati, 2009, *Penelitian Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol daun Kemangi (*Ocimum sanctum* Linn.) terhadap Larva Artemia Salina Leach. dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*, Fakultas Kedokteran Jurusan kedokteran Universitas Dipenogoro, Semarang.