

BIOAKTIVITAS EKSTRAK METANOL DAN FRAKSI N-HEKSANA DAUN SUNGKAI (*PERONEMA CANESCENS* JACK) TERHADAP LARVA UDANG (*ARTEMIA SALINA* LEACH)

Islamudin Ahmad dan Arsyik Ibrahim

Laboratorium Penelitian dan Pengembangan FARMAKA TROPIS Fakultas Farmasi

Universitas Mulawarman, Samarinda, Kalimantan Timur

email: islamudinahmad@farmasi.unmul.ac.id

ABSTRAK

Penelitian bioaktivitas ekstrak methanol dan farksi *n*-heksana daun sungkai (*Peronema canesens* JACK) dengan metode *brine shrimp lethality test* (BSLT) telah dilakukan pengujiannya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui rendemen ekstrak, dan bagaimana bioaktivitasnya terhadap *Artemia salina* Leach. Penelitian ini menggunakan metode *brine shrimp lethality test* dimana data penelitiannya diperoleh dengan mengamati jumlah hewan uji yang mati, kemudian data tersebut diolah dengan menggunakan tabel Reed and Muench. Hasil pengujian ekstrak daun sungkai dengan metode *brine shrimp lethality test* bersifat bioaktif terhadap larva *Artemia salina* Leach. Dengan nilai LC₅₀ dari ekstrak methanol adalah 387,257 ppm dan *n*-heksana adalah 107,399 ppm.

Kata Kunci: *Peronema canesens* Jack, *Artemia salina* Leach, BSLT

PENDAHULUAN

Indonesia adalah negara dengan hutan tropis paling besar ketiga di dunia (setelah Brazil dan Zaire). Keanekaragaman hayati merupakan basis berbagai pengobatan dan penemuan industri farmasi dimasa mendatang. Jumlah tumbuhan berkhasiat obat di Indonesia diperkirakan sekitar 1.260 jenis tumbuhan. Salah satunya tanaman sungkai (*Peronema canescens* Jack) adalah salah satu obat herbal yang terdapat di Indonesia. Secara empiris, daun sungkai dimanfaatkan oleh masyarakat sebagian masyarakat untuk sakit gigi dan penurun demam (Heyne, 1987) Selain itu, daun sungkai juga dimanfaatkan untuk mengobati malaria (Fatriyadi, 2008). Dan tanaman bagian daun Sungkai mengandung metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, dan tannin (Hadi, 2011).

Kecenderungan gaya hidup *back to neturalsekarang* ini membuat pengobatan herbal semakin meningkat pemakaiannya, ditunjang lagi dengan banyaknya kalangan medis yang ikut

serta dalam mengembangkannya. Kecenderungan ini didasari oleh beberapa alasan, diantaranya harga obat-obatan modem yang semakin mahal menyebabkan masyarakat mulai cari alternatif pengobatan yang murah dan mudah didapatkan, serta tidak kalah manjur.

Belum banyak penelitian yang dilakukan terhadap daun sungkai, karena penelitian daun ini sebagai bahan obat di lingkungan masyarakat masih kurang, maka perlu dilakukan pengujian dasar untuk menentukan bioaktivitas dari tumbuhan ini. Salah satu cara untuk menguji bioaktivitas ekstrak tumbuhan yaitu dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). Bioaktivitas adalah suatu kemampuan suatu senyawa aktif yang terkandung dalam tumbuhan yang dapat memberikan pengaruh terhadap organisme tertentu.

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 LC₅₀ selama 24 jam. Suatu ekstrak tanaman atau fraksi ekstrak tanaman yang mempunyai LC₅₀ kurang dari 1000 ppm dapat diduga memiliki aktivitas seperti sitotoksik, anti mikroba, dan pestisida (Colegate and Molyneux, 1993).

Berdasarkan hal tersebut dilakukan penelitian Uji bioaktivitas ekstrak daun sungkai menggunakan metode BSLT. Penelitian ini merupakan penelitian pendahuluan untuk mengetahui bioaktivitas ekstrak daun sungkai untuk pemanfaatannya sebagai sitotoksik, anti mikroba, dan pestisida.

METODE PENELITIAN

Peralatan Penelitian

Alat yang digunakan di dalam penelitian ini adalah Topels, wadah kaca tempat penetasan telur udang, Corong pisah, *rotary evaporator* (*Eyela*), timbangan digital, labu Erlenmeyer (*Pyrex*), gelas ukur (*Pyrex*), keranjang, botol vial, gelas kimia (*Pyrex*), desikator dan peralatan kaca lainnya yang mendukung.

Sampel penelitian

Bahan yang ingin diteliti adalah tanaman sungkai (*Peronema canescens* Jack). Bagian yang ingin diteliti pada tanaman ini adalah bagian daunnya. Tumbuhan yang diambil merupakan tanaman liar yang tidak diketahui usianya. Tanaman ini diperoleh di Poros Samarinda menuju Balikpapan.

Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack) metanol, *n*-heksan, aquades, tween 80, aluminium

voil, *Artemia salina* Leach, air laut, ragi dan kertas saring.

Prosedur Penelitian

Ekstraksi

Daun Sungkaisegar yang digunakan dalam penelitian ini diidentifikasi terlebih dahulu di Laboratorium Dendrologi dan Ekologi Hutan, Fakultas Kehutanan, Universitas Mulawarman, Samarinda. Daun Sungkai yang digunakan sebelumnya ditimbang terlebih dahulu dan didapatkan berat daun sungkai sebelum dan sesudah dikeringkan 2370 g dan 586 g. Daun Sungkai dikeringkan dengan cara diangin-anginkan tanpa terkena sinar matahari langsung. Kemudian dilakukan maserasi atau perendaman dengan pelarut metanol dalam wadah kaca. Setelah proses ekstraksi selesai, larutan ekstrak diuapkan pelarutnya dengan menggunakan *alatroary evaporator*. Sisa pelarut diuapkan dengan menggunakan *waterbath* sampai didapatkan ekstrak yang kering.

Fraksinasi

Ekstrak yang didapatkan kemudian difraksinasi dengan metode fraksinasi cair-cair menggunakan pelarut *n*-heksana.

Perhitungan Rendemen

Penentuan rendemen daun Sungkai diperoleh dengan cara membagi berat akhir ekstrak daun Sungkai yang diperoleh dari proses ekstraksi dan fraksinasi dengan berat awal

Penentuan Konsentrasi

Konsentrasi ekstrak kasar metanol dan fraksi *n*-heksanan daun sungkai yang digunakan pada perlakuan adalah konsentrasi tersebut ditetapkan berdasarkan hasil uji pendahuluan.

Penyiapan Hewan Uji

Larva udang *Artemia Salina* L ditetaskan dengan merendam telur dalam aquarium yang berisi air laut dan diberi *aerator*, 24 jam sebelum dilakukan uji. Bagian air laut yang tidak berisi telur diberi penerangan. Hal ini bertujuan agar larva yang sudah menetas bergerak menuju cahaya, sehingga terpisah dari cangkang telurnya.

Pengujian Bioaktivitas

Pelaksanaan uji dilakukan dengan memasukkan 10 ekor larva berumur 48 jam ke dalam *vial* berisi larutan uji ekstrak dan fraksi *n*-heksanan daun sungkai. Tiap kelompok perlakuan dilakukan replikasi lima kali. Volume akhir tiap-tiap *vial* sebesar 5 ml. *Vial* kemudian diletakkan dibawah penerangan selama 24 jam, kemudian dihitung jumlah larva yang mati.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini dilakukan penghitungan rendemen, pengujian bioaktivitas ekstrak methanol dan *n*-heksana daun Sungkai terhadap *Artemia salina* Leach dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) adalah salah satu metode skrining untuk menentukan bioaktivitas suatu senyawa atau ekstrak secara akut dengan menggunakan hewan uji *Artemia salina* Leach. Ekstrak yang diperoleh, kemudian diujikan ke bioindikator untuk mengetahui bioaktivitas dari masing-masing ekstrak. Daya bioaktivitas suatu ekstrak dapat diketahui dengan perhitungan jumlah kematian larva udang dengan parameter *Lethal*

Concentration 50 (LC_{50}). Ekstrak bersifat toksik bila harga $LC_{50} < 1000$ ppm, Ekstrak atau fraksi senyawa yang memiliki nilai $LC_{50} < 30$ ppm berpotensi sebagai sitotoksik, LC_{50} 30-200 ppm berpotensi sebagai antimikroba, sedangkan LC_{50} 200-1000 ppm berpotensi sebagai pestisida (Fathiyawati, 2008).

Rendemen Ekstrak dan Fraksi Daun Sungkai

Sampel daun sungkai yang digunakan adalah 2370 gram. Lalu dilakukan pengeringan pada daun sungkai dengan tujuan mendapatkan simplisia daun sungkai yang tidak mudah rusak sehingga dapat disimpan dalam waktu lama. Berat sampel kering yang diperoleh adalah 586 gram. Setelah itu dilakukan perajangan untuk memperluas bidang kontak antara cairan pelarut dengan simplisia.

Sampel kering kemudian dimaserasi dengan pelarut metanol. Maserasi dilakukan dengan cara merendam simplisia dalam cairan penyari. Kemudian dilakukan penguapan dengan *rotary evaporator* sehingga didapatkan ekstrak metanol sebanyak 80,223 gram.

Berdasarkan tabel 1, rendemen ekstrak kasar terhadap sampel segar sebesar 3,38% dan terhadap sampel kering sebesar 13,79%, hasil dari fraksinasi menggunakan pelarut *n*-heksana adalah 3,64%. Dari hasil tersebut menunjukkan sifat senyawa yang dominan terdapat pada daun Sungkai bersifat non polar.

Tabel 1 Data Rendemen Ekstrak Daun Sungkai

No.	Ekstrak Daun Sungkai	Rendemen Ekstrak Batang Grinsat (%)		
		Sampel Segar 2370 g	Sampel Kering 586 g	Ekstrak Metanol 80,223 g
1.	Ekstrak Kasar	3,38%	13,79%	-
2.	Fraksi <i>n</i> -heksana	0,12%	0,49%	3,64%

Bioaktivitas Ekstrak Metanol Daun Sungkai

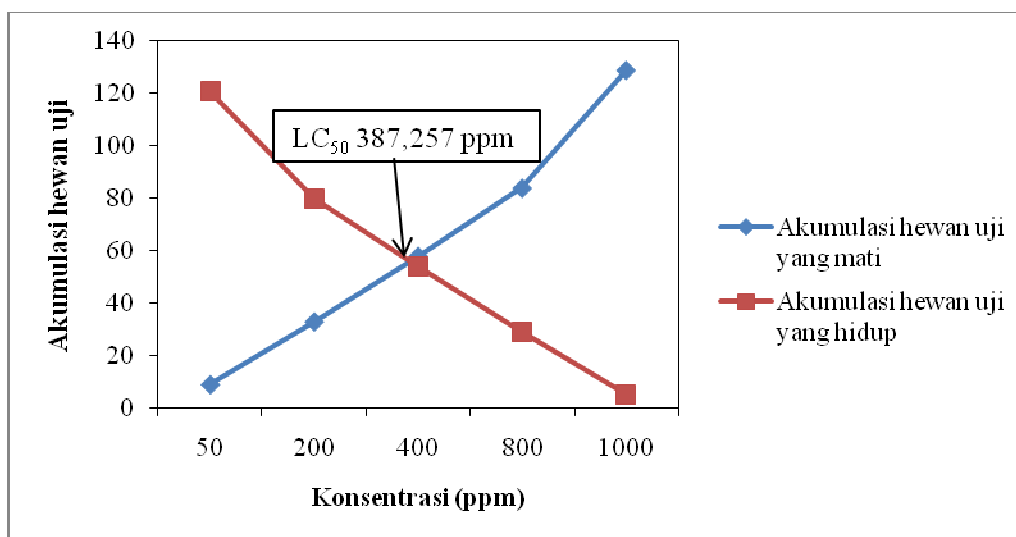
Bioaktivitas ekstrak daun Sungkai dapat dihitung dengan menggunakan hasil pengujian yang diperoleh setelah diinkubasi selama 24 jam.

Hasil pengujian (Tabel 2) menunjukkan bahwa terjadi kematian 50% hewan uji pada konsentrasi antara 200 – 400 µg/mL. Hasil uji ini membuktikan bahwa ekstrak metanol daun Sungkai membunuh 50% hewan uji *Artemia salina* Leach. Grafik akumulasi hewan uji yang mati dan akumulasi hewan uji yang hidup dapat dilihat pada Gambar 1.

Terlihat pada Gambar 1 peningkatan konsentrasi ekstrak metanol daun Sungkai dalam kemampuan membunuh hewan uji larva udang *Artemia Salina*, yaitu dengan bertambahnya larva udang yang mati. Ini terlihat dari hasil analisis dengan metode *Reed and Muench* dengan nilai LC_{50} 387,257 µg/mL. Hasil perhitungan batas kepercayaan angka LC_{50} berada antara batasan 238,781 µg/mL–628,058 µg/mL dengan ukuran kesalahan sebesar 0,105. Berdasarkan nilai LC_{50} ekstrak metanol daun Sungkai menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun Sungkai berpotensi pestisida alami (LC_{50} 200-400 µg/mL).

Tabel 2 Hasil Uji Ekstrak Metanol Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach

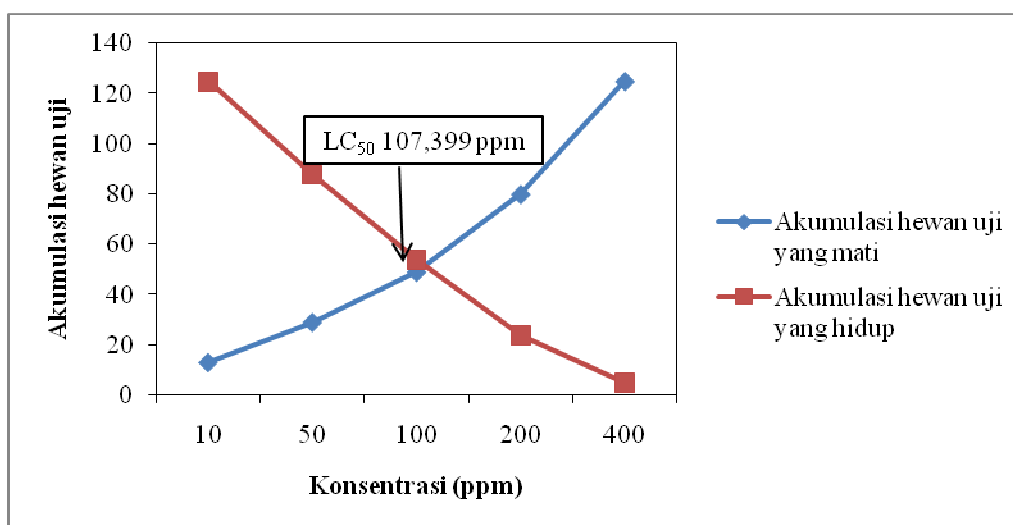
Konsentrasi (ppm)	Log Konsentrasi	Jumlah		Terakumulasi		Rasio mati: total	Mortalitas (%)
		Mati	Hidup	Mati (x)	Hidup (y)	Terakumulasi x:(x+y)	Rasio x 100
50	1,699	9	41	9	121	0,06	6
200	2,301	24	26	33	80	0,29	29
400	2,602	25	25	58	54	0,51	51
800	2,903	26	24	84	29	0,74	74
1000	3	45	5	129	5	0,96	96



Gambar 1. LC_{50} ekstrak metanol Daun Sungkai

Tabel 3 Hasil Uji Fraksi *n*-heksana Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach

Konsentrasi	Log Konsentrasi	Jumlah		Terakumulasi		Rasio mati: total	Mortalitas (%)
		Mati	Hidup	Mati (x)	Hidup (y)	Terakumulasi x:(x+y)	Rasio x 100
10 ppm	1	13	37	13	125	0,09	9
50 ppm	1,699	16	34	29	88	0,24	24
100 ppm	2	20	30	49	54	0,47	47
200 ppm	2,301	31	19	80	24	0,76	76
400 ppm	2,602	45	5	125	5	0,96	96



Gambar 2. LC₅₀ Fraksi *n*-Heksana daun Sungkai

Bioaktivitas Fraksi *n*-Heksana Daun Sungkai

Bioaktivitas fraksi *n*-heksana daun Sungkai dapat dihitung dengan menggunakan hasil pengujian yang diperoleh setelah diinkubasi selama 24 jam.

Hasil pengujian (Tabel 3) menunjukkan bahwa terjadi kematian 50% hewan uji pada konsentrasi antara 100 – 200 $\mu\text{g/mL}$. Hasil uji ini membuktikan bahwa fraksi *n*-heksana daun Sungkai mampu membunuh 50% hewan uji *Artemia salina* Leach. Grafik akumulasi hewan uji yang mati dan akumulasi hewan uji yang hidup dapat dilihat pada Gambar 2.

Terlihat pada Gambar 2 peningkatan konsentrasi fraksi *n*-heksana daun Sungkai 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 LC₅₀ 107,399 $\mu\text{g/mL}$. Hasil perhitungan batas kepercayaan angka LC₅₀ berada antara batasan 26,977 $\mu\text{g/mL}$ – 427,563 $\mu\text{g/mL}$ dengan ukuran kesalahan sebesar 0,030. Berdasarkan nilai LC₅₀ fraksi *n*-heksana daun Sungkai menunjukkan bahwa fraksi *n*-heksana daun Sungkai berpotensi antimikroba (LC₅₀ 30-200 $\mu\text{g/mL}$).

Hubungan Bioaktivitas Dengan Kandungan Metabolit Sekunder

Kandungan metabolit sekunder yang terdapat dalam tumbuhan berhubungan dengan aktivitas biologis suatu tumbuhan. dengan teridentifikasinya metabolit sekunder yang terdapat pada daun Sungkai,

menandakan bahwa daun Sungkai memiliki potensi sebagai bahan obat alami dan dapat memberikan gambaran kandungan metabolit sekunder apa saja yang memberikan aktivitas terhadap bioindikator uji.

Bioaktivitas daun Sungkai pada ekstrak metanol dan berbagai fraksi berbeda-beda, kemungkinan ini disebabkan oleh kandungan metabolit sekunder tiap ekstrak yang berbeda sehingga terdapat ekstrak yang memberikan aktivitas lemah dan ada yang memberikan aktivitas yang kuat terhadap bioindikator. Parameter bioaktivitas yaitu nilai LC₅₀. LC₅₀ merupakan konsentrasi ekstrak yang dimana hewan uji diberikan ekstrak dan menyebabkan kematian pada 50% hewan coba. Dalam penelitian ini, LC₅₀ ekstrak daun Sungkai adalah konsentrasi ekstrak daun Sungkai tunggal didalam air laut pada setiap tabung/ uji yang menyebabkan kematian pada 50% larva *Artemia salina* Leach. Berdasarkan metode BSLT, suatu ekstrak dikatakan aktif jika harga LC₅₀ < 1000 µg/mL. Semakin kecil dari 1000 µg/mL, ekstrak semakin bersifat sitotoksik. Nilai LC₅₀ ekstrak metanol 387,257 µg/mL, hasil tersebut membuktikan bahwa konsentrasi daun Sungkai berpotensi sebagai pestisida alami (LC₅₀ 200-400 µg/mL). Nilai LC₅₀ fraksi *n*-heksana 107,399 µg/mL, hasil tersebut membuktikan bahwa konsentrasi daun Sungkai memiliki potensi sebagai antimikroba (LC₅₀ 100-200 µg/mL).

Mekanisme kematian larva *Artemia salina* Leach diperkirakan berhubungan dengan fungsi golongan senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, saponin, senyawa fenol, steroid dan terpenoid, serta tanin dalam daun Sungkai yang dapat menghambat daya makan larva (antifeedant). Cara kerja senyawa tersebut adalah dengan bertindak sebagai stomach poisoning

atau racun perut. Kemungkinan senyawa tersebut masuk ke dalam tubuh larva, sehingga alat pencernaannya akan terganggu. Senyawa ini juga dapat menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva. Hal ini mengakibatkan larva tidak mampu mengenali makanannya.

KESIMPULAN

1. Persentase rendemen ekstrak kasar terhadap sampel segar sebesar 3,38% dan terhadap sampel kering sebesar 13,79%.
2. Bioaktivitas ekstrak methanol Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack) terhadap larva udang berdasarkan nilai LC₅₀ adalah 387,257 µg/mL, sedangkan pada fraksi *n*-heksana peroleh nilai LC₅₀ adalah 107,399 µg/mL.

UCAPAN TERIMA KASIH

Disampaikan pada Rosyid Hidayat atas keterlibatannya dalam penelitian ini. Kepala Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Farmaka Tropis atas izin dan fasilitas yang diberikan selama penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

1. Francisconi, M.D.S. 2012. *Artemia salina* Leach. Diakses 15 Juli 2012. (<http://www.bib.unesc.net>)
2. Colegate, . 1993. *Bioactive Natural Products: Detection, Isolation, and Structural Determination*. CRC Press Inc: Florida.
3. Gunawan, Didik, dan Sri Mulyani. 2004. *Ilmu Obat Alam(Farmakognosi) Jilid 1*. Penebar Swadaya. Jakarta
4. Hadi, I. 2011. *Identifikasi Metabolit Sekunder dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sungkai (Peronema canescens Jack)*. Skripsi Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman Samarinda. Samarinda.