

Toksitas Ekstrak Kulit Batang Kalangkala (*Litsea angulata*) Terhadap Larva Udang (*Artemia salina*) dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekundernya

Toxicity of Kalangkala (Litsea Angulata) Skin Extract on Shrimp (Artemia salina) Larva and Identification of Its Secondary Metabolite Compounds

Alvindra Ramadhan, Cahya Anggita Safitri*, Endang Astuti, Nur Baiti Athiyah,
Tasya Surta Yosya, Farah Erika

Program Studi Pendidikan Kimia, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan
Universitas Mulawarman Samarinda, Indonesia

*E-mail: cahyaanggitasafitri@gmail.com

DOI: -

Received: 21 Sept 2021, Revised: 30 Nov 2021, Accepted: 30 Nov 2021, Online: 30 Nov 2021

Abstrak

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa organik yang telah disintesis dalam ekstrak kulit pohon Kalangkala (*Litsea angulata*) dan toksitas dari ekstrak terhadap larva udang *Artemia salina* Leach. Metode BST (Brine Shrimp Lethality) digunakan sebagai uji pendahuluan untuk memperoleh ekstrak etanol dan ekstrak n-heksan kulit pohon Kalangkala (*L. angulata*) yang bersifat toksik dengan nilai LC₅₀ berturut-turut yaitu 647 ppm dan 907 ppm. Hasil skrining fitokimia juga menunjukkan bahwa ekstrak kulit pohon Kalangkala (*L. angulata*) mengandung senyawa saponin dan steroid.

Kata Kunci: *Kalangkala, Litsea angulata, skrinning fitokimia, toksitas.*

Abstract

*This study was conducted to determine the content of organic compounds that have been synthesized in the bark extract of the Kalangkala tree (*Litsea angulata*) and the toxicity of the extract to the larvae of *Artemia salina* Leach shrimp. BST (Brine Shrimp Lethality) method was used as a preliminary test to obtain ethanol extract and n-hexane extract of Kalangkala tree bark (*L. angulata*) which were toxic with LC₅₀ values of 647 ppm and 907 ppm, respectively. The results of phytochemical screening also showed that the bark extract of the Kalangkala (*L. angulata*) tree contains saponins and steroids.*

Keywords: *Kalangkala, Litsea angulata, phytochemical screening, toxicity.*

1 Pendahuluan

Tanaman Kalangkala (*Litsea angulata*) adalah salah satu tanaman endemik khas Kalimantan. Sudah banyak penelitian yang dilakukan untuk mengetahui bioaktivitas dan kandungan metabolit sekunder dari tanaman kalangkala tersebut, mulai dari bagian buah, biji, daun, hingga kulit batang dari kalangkala.

Tanaman kalangkala diketahui memiliki kandungan alkaloid dan tanin serta memiliki aktivitas antioksidan. Tanaman ini sering digunakan oleh masyarakat sebagai obat

tradisional. Misalnya pada bagian biji buah dan daun kalangkala sering dimanfaatkan sebagai obat bisul yang disebabkan oleh bakteri.

Tumbuhan jenis litsea sering dimanfaatkan dengan cara meminum air hasil rebusan dari daunnya yang dijadikan sebagai jamu. Perebusan ini merupakan salah satu pengolahan pangan dengan cara pemanasan. Proses pemanasan akan mempengaruhi bioaktivitas antioksidan serta kandungan metabolit sekunder yang ada di dalam tanaman tersebut. Proses penyimpanan juga akan mempengaruhi bahan



karena semakin lama suatu bahan disimpan maka kandungan bahan tersebut akan semakin banyak mengalami oksidasi. Oleh sebab itu peneliti ingin mengetahui tingkat toksisitas ekstrak kulit pohon dan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak kulit pohon kalangkala.

Suatu molekul atau atom yang memiliki kereaktifan tinggi yang dapat berinteraksi dengan molekul-molekul dalam tubuh dan dapat merusak yang disebabkan karena memiliki elektron bebas yang tidak berpasangan disebut dengan radikal bebas. Elektron bebas tersebut yang akan menangkap elektron dari senyawa lain seperti lipid, protein, karbohidrat serta DNA sehingga mencapai kestabilan diri [1]. Hal yang dapat memacu timbulnya stres oksidatif yang memiliki peran dalam patofisiologi berbagai macam penyakit seperti penyakit jantung, kanker serta penyakit degeneratif lainnya ialah peningkatan produksi radikal bebas dalam tubuh [2]. Senyawa antioksidan ialah senyawa yang dapat memberikan satu atau lebih elektron bebasnya untuk dapat menghambat senyawa radikal bebas, sehingga senyawa antioksidan ini sangat diperlukan oleh tubuh untuk dapat mengatasi stres oksidatif [3].

Uji toksisitas pada penelitian ini menggunakan metode BSLT keuntungan dari uji ini yaitu cepat, mudah dikerjakan, waktu deteksi singkat, dapat dipertanggung jawabkan, dan hasilnya dapat diulang serta tidak membutuhkan biaya yang mahal sehingga banyak digunakan pada tahap awal dalam penapisan ekstrak bahan aktif [4]. Uji BSLT dapat digunakan sebagai dasar untuk uji toksisitas terhadap sel *line*, aktivitas anti-tumor dan anti-kanker. Salah satu metode yang baik digunakan untuk pengujian toksisitas adalah dengan menggunakan larva udang jenis *Artemia salina*, dalam metode ini *A. salina* digunakan sebagai bioindikator.

2 Metode Penelitian

2.1 Bahan

Bahan yang digunakan menggunakan kulit pohon Kalangkala (*L. Angulata*) yang diperoleh di daerah perkebunan Desa Tuana Tuha Kecamatan Kenohan Kabupaten Kutai Kartanegara Kalimantan Timur. Bahan yang digunakan untuk menganalisis ekstrak kulit pohon kalangkala antara lain *n*-heksana, etanol, aquades, DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), HCl pekat, serbuk Mg, Kloroform, H₂SO₄, NaOH, FeCl₃, KI, HgCl₂, Padatan Iodin, Timbal Asetat, dan Asam Asetat.

2.2 Preparasi Sampel

Kulit pohon Kalangkala (*L. Angulata*) dirajang dan dijemur hingga kering kemudian ditimbang sebanyak 1000 gram dan ditambahkan dengan pelarut (etanol dan *n*-heksana) masing-masing sebanyak 500 mL. Maserasi dilakukan selama 2 x 24 jam. Hasil ekstraksi disaring dan filtrat dengan memanaskannya di atas *waterbath* pada suhu 70°C untuk menguapkan pelarutnya sehingga diperoleh ekstrak kental. Untuk mendapatkan ekstrak kental juga dapat dilakukan dengan evaporator.

2.3 Uji Alkaloid

Ekstrak total, fraksi *n*-heksana dan etanol kulit pohon Kalangkala (*L. Angulata*) dilarutkan menggunakan pelarut yang sesuai. Lalu H₂SO₄ 2N ditambahkan beberapa tetes dan dikocok. Kemudian diamati setelah penambahan pereaksi Dragendorff. Terbentuknya endapan jingga sampai merah coklat, membuktikan uji positif alkaloid.

2.4 Uji Flavonoid

Masing-masing fraksi dan sejumlah ekstrak kasar dilarutkan dalam pelarut yang sesuai kemudian ditambahkan dengan beberapa tetes HCl pekat dan sedikit serbuk Mg. Timbulnya warna jingga, merah hingga merah tua membuktikan adanya flavonoid.

2.5 Uji Saponin

Ekstrak total, fraksi *n*-heksana dan etanol kulit pohon kalangkala ditambahkan air panas, dikocok kuat, ditambahkan 1 tetes HCl pekat jika timbul busa. Jika timbul busa dengan ketinggian 1-3 cm yang bertahan selama 15 menit menandakan positif uji saponin.

2.6 Uji Steroid dan Triterpenoid

Pereaksi Liebermann-Burchard (asam asetat glasial dan H₂SO₄ pekat) dibutuhkan dalam uji steroid dan triterpenoid. Masing-masing fraksi dan sejumlah ekstrak dilarutkan dalam pelarut yang sesuai ditambahkan pereaksi Liebermann-Burchard. Secara perlahan larutan dikocok dan didiamkan selama beberapa menit. Timbulnya warna merah jingga atau ungu menandakan positif uji triterpenoid, jika timbul warna biru hingga kehijauan dinyatakan positif uji steroid.

2.7 Uji Toksisitas dengan Metode BSLT

Uji toksisitas dilakukan dengan larva udang (*A. salina* Leach). Media yang digunakan untuk larva menggunakan air laut buatan. Dibuat air setiap 1 liter air yang dialiri udara (menggunakan aerator). Telur larva udang *A. salina* sebanyak 8 gram dicuci menggunakan air laut, kemudian didiamkan selama 48 jam hingga telur menetas dan menandakan siap digunakan untuk penelitian. Pengujian tersebut dilakukan menggunakan dua pelarut yaitu pelarut etanol dan *n*-heksana.

Masing-masing ekstrak kulit pohon kalangkala sebanyak 0,00394 mg dilarutkan dengan 50 ml etanol dan 0,00327 mg dilarutkan dengan pelarut *n*-heksana. Disiapkan 8 tabung reaksi untuk pengamatan dan diambil larutan tersebut berturut-turut 0,5 mL, 1,25 mL, 1,5 mL, dan 2 mL kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah disediakan dan diuapkan. Setelah tabung reaksi kering dipipet 50 μ L dimetilsulfoksida ditambahkan 1 mL air laut untuk mempermudah pencampuran larutan, kemudian ditambahkan air laut kembali hingga volume tabung reaksi menjadi 5 mL dengan konsentrasi secara berturut-turut 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, dan 40 ppm. Untuk membuat konsentrasi 0 ppm tidak perlu menambahkan ekstrak. Setelah larutan untuk pengujian siap, dimasukkan 10 ekor larva udang *A. salina* Leach pada masing-masing tabung reaksi lalu ditutup dengan *aluminium foil* yang telah diberi lubang kecil-kecil. Dilakukan pengamatan terhadap kematian larva udang *A. salina* selama 24 jam dengan selang waktu 6 jam, tetapi untuk 6 jam pertama dilakukan pengamatan setiap 1 jam, dicatat jumlah kematian larva tersebut. Dilanjutkan analisis data untuk mencari konsentrasi kematian (LC_{50}).

3 Hasil dan Pembahasan

Pada Tabel 1, Skrining fitokimia senyawa golongan alkaloid menunjukkan hasil positif bila tampak endapan jingga hingga merah coklat. Hasil menunjukkan ekstrak *n*-heksana dan ekstrak etanol tidak mengandung alkaloid karena tidak tampak endapan jingga. Alkaloid mengandung atom nitrogen yang bersifat basa sehingga dibutuhkan penambahan asam sulfat untuk mengekstraknya. Pasangan elektron bebas nitrogen pada alkaloid mengganti ion iod dalam pereaksi Mayer, hal ini mengakibatkan terbentuknya endapan merah pada penambahan pereaksi Mayer karena nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam K^+ dari pereaksi Mayer. Alkaloid pada umumnya

laut dengan konsentrasi 2% dengan cara melarutkan 20 gram garam tidak beriodium

berbentuk kristal yang disebut dengan garam-garam alkaloid. Di dalam alkaloid terkandung atom nitrogen yang bersifat basa, akibatnya untuk proses pengekstrakan diperlukan penambahan asam sulfat. Atom nitrogen yang memiliki pasangan elektron bebas dalam alkaloid mengubah ion iod pada pereaksi Mayer, sehingga terbentuknya endapan merah dalam penambahan pereaksi Mayer lantaran nitrogen dalam alkaloid akan bereaksi menggunakan ion logam K^+ menurut pereaksi Mayer. Alkaloid biasanya berbentuk kristal yang diklaim menggunakan garam-garam alkaloid.

Tabel 1. Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Total dan Fraksi Ekstrak Kulit Pohon Kalangkala (*L. angulata*)

Jenis Senyawa	Jenis Ekstrak	
	<i>n</i> -heksana	Etanol
Alkaloid	-	-
Flavonoid	-	+
Saponin	-	+
Steroid	+	+
Triterpenoid	+	+

Skrining fitokimia senyawa golongan flavonoid menunjukkan hasil positif bila tampak adanya warna jingga, merah hingga merah tua. Hasil menunjukkan ekstrak *n*-heksana tidak mengandung flavonoid karena tidak tampak warna jingga pada larutan, namun pada ekstrak etanol hasil menunjukkan warna jingga. Senyawa flavonoid memiliki sejumlah gugus hidroksil sehingga dapat, larut dalam pelarut polar seperti etanol. Penambahan asam klorida pekat berfungsi untuk protonasi flavonoid hingga terbentuk garam flavonoid. Hasil positif pada penambahan bubuk magnesium akan menghasilkan perubahan warna larutan menjadi hitam kemerahan. Hal ini terjadi karena proses reduksi oleh magnesium dan asam klorida pekat sehingga menghasilkan warna hitam kemerahan.

Skrining fitokimia senyawa saponin menunjukkan hasil positif bila tampak adanya busa dalam waktu yang konstan. Hasil menunjukkan ekstrak *n*-heksana tidak mengandung saponin karena tidak tampak busa pada larutan, namun pada ekstrak etanol hasil menunjukkan adanya saponin yang ditandai dengan adanya busa. Kombinasi

struktur senyawa penyusun saponin yaitu rantai sapogenin non polar dan rantai samping polar yang larut dalam air menyebabkan timbulnya busa.

n-heksana dan etanol mengandung steroid dan triterpenoid karena tampak warna jingga pada larutan.

Tabel 2. Nilai LC₅₀ Ekstrak Total dan Fraksi Ekstrak Kulit Pohon Kalangkala (*L. angulata*)

Jenis Ekstrak	LC ₅₀ (ppm)
<i>n</i> -heksana	32,89
Etanol	21,96

Pada Tabel 2, Hasil LC₅₀ menunjukkan bahwa pada konsentrasi tersebut, ekstrak sampel kulit pohon Kalangkala (*L. angulata*) mampu membunuh larva udang *A. salina* Leach sampai 50% populasi. Dari data tersebut menunjukkan bahwa ekstrak fraksi etanol memiliki bioaktivitas paling tinggi terhadap larva udang *A. salina* Leach yang ditunjukkan dengan nilai LC₅₀ paling kecil yaitu 21,96 ppm di mana nilai ini menunjukkan bahwa pada fraksi etanol mampu membunuh larva udang *A. salina* Leach setengah dari larva udang yang digunakan. Semakin besar nilai LC₅₀ dari suatu sampel menunjukkan semakin rendah toksisitasnya. pada ekstrak fraksi *n*-heksana diperoleh nilai sebesar 32,89 ppm yang berarti bioaktivitas dari ekstrak *n*-heksana lebih rendah dibandingkan dengan ekstrak fraksi etanol.

4 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa hasil skrining fitokimia yang telah dilakukan

Skrining fitokimia steroid dan terpenoid menunjukkan hasil positif bila tampak adanya warna merah jingga. Hasil menunjukkan ekstrak

pada kulit pohon Kalangkala (*L. angulata*) mengandung metabolit sekunder. Pada ekstrak dengan pelarut *n*-heksana terdapat senyawa steroid dan triterpenoid, sedangkan pada ekstrak dengan pelarut etanol terdapat senyawa flavonoid, saponin, steroid dan triterpenoid. Hasil uji toksisitas dari ekstrak kulit pohon Kalangkala (*L. angulata*) terhadap larva udang *A. salina* Leach bersifat toksik dengan nilai LC₅₀ berturut-turut yaitu 647 ppm dan 907 ppm.

Daftar Pustaka

- [1]. Regina A, Maimunah M, Yovita L. Penentuan Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenolat Total dan Likopen pada Buah Tomat (*Solanum lycopersicum* L). J Sains dan Teknol Farm. 2008;13(1).
- [2]. Fitriana WD, Fatmawati S, Ersam T. Uji Aktivitas Antioksidan terhadap DPPH dan ABTS dari Fraksi-fraksi Daun Kelor (*Moringa oleifera*). In: Prosiding Simposium Nasional Inovasi dan Pembelajaran Sains. Bandung; 2015. p. 657–60.
- [3]. Lee J, Koo N, Min DB. Reactive Oxygen Species, Aging, and Antioxidative Nutraceuticals. Compr Rev Food Sci Food Saf [Internet]. 2004;3(1):21–33. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1541-4337.2004.tb00058.x>
- [4]. Rezaeizadeh A, Zuki ABZ, Abdollahi M, Goh YM, Noordin MM, Hamid M, et al. Determination of antioxidant activity in methanolic and chloroformic extracts of *Momordica charantia*. African J Biotechnol. 2011;10(24):4932–40.

