

**FRAKSINASI EKSTRAK METANOL KULIT BATANG KETAPANG
(*Terminalia catappa* Linn.) DAN UJI TOKSISITASNYA DENGAN
METODE BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)**

Moch. Chasani*, Ruli Budi Fitriaji, Purwati

Program Studi Kimia, MIPA, Fakultas Sains dan Teknik,
Universitas Jenderal Soedirman
*e-mail: moch.chasani@gmail.com

ABSTRAK

Ketapang (*Terminalia catappa* Linn.) merupakan salah satu tumbuhan anggota famili *Combretaceae*. Hasil uji senyawa metabolit sekunder pada kulit batang ketapang diketahui mengandung flavonoid, terpenoid, polifenol, steroid dan saponin. Penelitian ini dilakukan untuk menemukan fraksi ekstrak dari kulit batang ketapang yang memiliki toksisitas tertinggi terhadap larva udang *Artemia salina* Leach dengan menggunakan metode BSLT serta mengidentifikasi senyawa metabolit sekundernya.

Kulit batang ketapang diekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut metanol. Ekstrak metanol yang diperoleh diekstraksi cair-cair dengan pelarut n-heksana, dan etil asetat. Ekstrak metanol (EM), fraksi n-heksana ekstrak metanol (FH), fraksi etil asetat ekstrak metanol (FE), dan residu etil asetat ekstrak metanol (FR) diuji toksisitasnya. Fraksi ekstrak dengan toksisitas tertinggi diuji kandungan senyawa metabolit sekundernya menggunakan pereaksi warna pada plat KLT.

Hasil uji menunjukkan bahwa EM, FH, FE, dan FR bersifat toksik terhadap larva udang *Artemia salina* Leach dan FE bersifat paling toksik dengan nilai LC₅₀ sebesar 61,675 ppm. Hasil uji metabolit sekunder menunjukkan FE mengandung senyawa golongan flavonoid, fenolat, terpenoid, dan saponin.

Kata kunci : *Terminalia catappa* Lin., BSLT, toksisitas.

**FRACTIONATION EXTRACT METHANOL OF KETAPANG BARK
(*Terminalia catappa* Linn.) AND TOXICITY TEST BY BSLT
(*Brine Shrimp Lethality Test*)**

ABSTRACT

Ketapang (*Terminalia catappa* Linn.) is one of *Combretaceae* family members. Results of experiment on extract of ketapang bark it is contain flavonoid, alkaloid, saphonin, and tannin. This research was conducted to find extract fractions of ketapang bark flesh which has the highest toxicity against shrimp larva *Artemia salina* Leach by using BSLT method, and to identify the secondary metabolite compounds.

Ketapang bark flesh was extracted by maceration using methanol. Then the methanol extract was extracted by using n-hexane and ethyl acetate. Toxicity of methanol extract (ME), fraction of n-hexane methanol extract (FH), fraction of ethyl

acetate methanol extract (FE), and residue of ethyl acetate methanol extract (FR) were tested. The extract fractions with the highest toxicity was assayed their secondary metabolite compounds using thin layer chromatography test.

The results of the test showed that ME, FH, FE, and FR were toxic against shrimp larva *Artemia salina* Leach, and FE was the most toxic with value of LC₅₀ 61.675 ppm. Results of the test secondary metabolite compounds showed that FE contain flavonoid, phenolic, terpenoid, and saponin compounds..

Key word: *Terminalia catappa* Lin., BSLT, toxicity

PENDAHULUAN

Ketapang merupakan salah satu tumbuhan obat yang banyak tumbuh di Indonesia dan telah digunakan secara tradisional untuk mengobati penyakit kardiovaskuler, kulit, liver, pernafasan, perut, gonorrhoea dan insomnia (Pauly, 2001). Khasiat tanaman ketapang ini tidak lepas dari senyawa yang terkandung di dalam tanaman ketapang itu sendiri. Ketapang diketahui mengandung senyawa obat seperti flavonoid (Lin, *et al.*, 2000), triterpenoid (Gao, *et al.*, 2004), tanin (Ahmed, *et al.*, 2005), alkaloid (Mandasari, 2006), steroid (Babayi, *et al.*, 2004) dan asam lemak (Jaziroh, 2008).

Uji skrining kulit batang ketapang mengandung flavonoid, tannin, saponin, kuinon, and mono/sesquiterpene (Sumintir dalam Zuhrotun *et al.*, 2008). Berdasarkan uji fitokimia yang dilakukan oleh Zuhrotun *et al.* (2010), ekstrak etanol kulit batang ketapang mengandung flavonoid, kuinon, saponin, katekin, gallotanin, dan steroid/triterpenoid. Ekstrak n-heksana mengandung kuinon, katekin, gallotanin, dan steroid/triterpenoid. Sedangkan ekstrak etil asetat mengandung flavonoid, kuinon, gallotanin, dan steroid/triterpenoid. Jika dilihat dari kandungan senyawa pada kulit batang ketapang, ada kemungkinan senyawa-senyawa tersebut mempunyai aktivitas toksik,

sebagai contohnya adalah flavonoid, dimana senyawa golongan ini mempunyai bermacam-macam efek, yaitu efek antitumor, antikanker, immunostimulant, antioksidan, analgesik, antiradang (anti inflamasi), antivirus, antibakteri, antifungal, antidiare, antihepatotoksik, dan antihiperglikemik (De Padua *et al.*, 1999).

Berdasarkan uraian tersebut maka penelitian untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam kulit batang tanaman ketapang dan tingkat toksisitasnya masih berpeluang untuk dilakukan. Oleh sebab itu, perlu dilakukan penelitian uji toksisitas dengan menggunakan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) yaitu metode uji toksisitas terhadap larva udang *A. salina* Leach, di mana tingkat toksisitasnya dinyatakan dengan LC₅₀ dan identifikasi senyawa bioaktifnya dari ekstrak kulit batang ketapang. Langkah penelitian dimulai dengan cara ekstraksi kulit batang ketapang dengan pelarut metanol. Ekstrak metanol kulit batang ketapang kemudian difraksinasi menggunakan pelarut n-heksana dan pelarut etil asetat, sehingga diperoleh ekstrak metanol (EM), fraksi n-heksana ekstrak metanol (FH), fraksi etil asetat ekstrak metanol (FE), dan residu etil asetat ekstrak metanol (FR). Masing-masing ekstrak dan fraksi ekstrak kemudian diuji toksisitasnya

menggunakan metode BSLT. Ekstrak atau fraksi ekstrak yang memiliki toksisitas tertinggi diuji golongan senyawa metabolit sekundernya menggunakan KLT

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan antara lain: kulit batang ketapang yang diambil dari Desa Karangwangkal Kecamatan Purwokerto Utara, metanol teknis, n-heksana, etil asetat, FeCl₃, pereaksi Liberman-Burchard, pereaksi Vanilin-HCl, larutan I₂, HCl pekat, telur *Artemia salina* L., ragi, air laut, pereaksi Dragendorff, kertas saring, etanol, asam asetat glasial, H₂SO₄, dan tissue.

Alat-alat yang digunakan antara lain: alat-alat gelas, blender, *Rotary evaporator* Buchi, timbangan digital, oven, corong Buchner pompa vakum, perangkat alat penetasan telur *Artemia salina* Leach, filler, lampu UV 254 nm, plat KLT.

Prosedur Penelitian

Preparasi sampel

Batang ketapang dikupas kulitnya sampai batas kambium, kulit batang dibersihkan, diiris tipis-tipis, kemudian dikeringkan dan dihaluskan dengan blender hingga menjadi serbuk.

Ekstraksi

Lima ratus lima puluh gram serbuk kulit batang ketapang kering dimaserasi dengan menggunakan metanol sampai semua serbuk terendam selama 24 jam sambil sesekali diaduk. Selanjutnya dilakukan penyaringan dengan corong Buchner dan pompa vakum sehingga didapat

filtrat dan residu. Maserasi diulang beberapa kali sampai ekstrak terlihat bening. Ekstrak metanol kemudian dipekatkan dan ditimbang. Ekstrak metanol pekat sebagian disimpan sebagai EM, dan sebagian lagi di ekstraksi dengan n-heksana, maka didapatkan fraksi n-heksana ekstrak metanol dan residu. Fraksi n-heksana yang didapat dipekatkan dan ditimbang (FH), sedangkan residu hasil ekstraksi dengan n-heksana dipekatkan. Residu hasil ekstraksi dengan n-heksana diekstraksi kembali menggunakan pelarut etil asetat, dan didapatkan fraksi etil asetat ekstrak metanol dan residu. Ekstrak hasil ekstraksi dengan etil asetat dievaporasi juga untuk mendapatkan fraksi etil asetat ekstrak metanol yang pekat (FE) kemudian ditimbang. Residu etil asetat dipekatkan dan disimpan sebagai residu etil asetat ekstrak metanol (FR).

Uji toksisitas dengan metode BSLT (Mc Laughlin dan Lingling, 1998)

Telur *A. salina* Leach ditetaskan dalam kotak yang terdiri dari dua bagian yaitu ruangan yang pertama ditutup dengan kain hitam sedangkan ruangan yang kedua dibiarkan terbuka atau diberi lampu pijar untuk menarik udang yang telah menetas melalui lubang sekat, sehingga anak udang yang disebut *nauplii* dapat terpisahkan dari bagian telur atau kulit telur. Kotak penetasan juga dilengkapi dengan aerator sebagai sumber O₂. Kotak tersebut berisi air laut yang telah disaring, telur yang akan ditetaskan dimasukkan ke dalam kotak tersebut dan diinkubasi selama 48 jam.

Ekstrak kulit batang ketapang EM, FE, FH dan FR yang akan diuji, masing-masing sebanyak 30 mg dilarutkan dalam 3 mL air laut (khusus untuk FE dan FH ditambah dengan 2 tetes tween) membentuk larutan stok

sampel 10.000 µg/mL (10.000 ppm). Masing-masing ekstrak diencerkan sehingga diperoleh larutan 5 mL dengan variasi konsentrasi untuk tiap ekstrak sebagai berikut :

- a. Ekstrak metanol (EM)
 - P1 : ekstrak kulit batang ketapang dengan kadar 150 ppm
 - P2 : ekstrak kulit batang ketapang dengan kadar 100 ppm
 - P3 : ekstrak kulit batang ketapang dengan kadar 50 ppm
 - P4 : ekstrak kulit batang ketapang dengan kadar 30 ppm
- b. Fraksi n-heksan ekstrak metanol (FH)
 - P1 : ekstrak kulit batang ketapang dengan kadar 1000 ppm
 - P2 : ekstrak kulit batang ketapang dengan kadar 900 ppm
 - P3 : ekstrak kulit batang ketapang dengan kadar 800 ppm
 - P4 : ekstrak kulit batang ketapang dengan kadar 700 ppm
- c. Fraksi etil asetat ekstrak metanol (FE)
 - P1 : ekstrak kulit batang ketapang dengan kadar 150 ppm
 - P2 : ekstrak kulit batang ketapang dengan kadar 100 ppm
 - P3 : ekstrak kulit batang ketapang dengan kadar 50 ppm
 - P4 : ekstrak kulit batang ketapang dengan kadar 10 ppm
- d. Fraksi residu etil asetat ekstrak metanol (FR)
 - P1 : ekstrak kulit batang ketapang dengan kadar 750 ppm
 - P2 : ekstrak kulit batang ketapang dengan kadar 600 ppm
 - P3 : ekstrak kulit batang ketapang dengan kadar 500 ppm
 - P4 : ekstrak kulit batang ketapang dengan kadar 250 ppm
- e. Kontrol
 - K1 : 5 mL pelarut yang terdiri dari air laut dan 1 tetes larutan ragi dengan konsentrasi 30

mg/mL air laut sebagai kontrol 1

K2 : 5 mL pelarut yang berisi air laut, 1 tetes larutan ragi dengan konsentrasi 30 mg/mL air laut dan 2 tetes tween sebagai kontrol 2

Sepuluh ekor larva dimasukkan ke dalam tiap-tiap tabung uji yang telah diberi sedikit air laut dan ditambahkan satu tetes larutan ragi dengan konsentrasi 3 mg/mL air laut sebagai nutrisi, kemudian ekstrak ditambahkan kedalam masing-masing tabung uji dan volume air laut ditepatkan sampai 5 mL, sedangkan larutan kontrol 1 hanya berisi air laut, satu tetes larutan ragi dan larva udang dan kontrol 2 berisi larutan tween, air laut, satu tetes ragi dan larva udang. Tabung uji didiamkan dengan suhu kamar dan mendapat cahaya selama 24 jam. Setiap perlakuan diulang tiga kali (*triplo*). Jumlah larva yang hidup dihitung dan ditentukan persentase kematian larva untuk mengetahui harga LC₅₀. Ekstrak yang mempunyai nilai LC₅₀ kurang dari 1000 ppm dapat dikatakan toksik. Persentase kematian larva udang dihitung sebagai berikut:

$$\% \text{ kematian larva udang} = \frac{\sum \text{larva hidup kontrol} - \sum \text{larva hidup perlakuan}}{\sum \text{larva hidup kontrol}} \times 100\%$$

Uji Metabolit Sekunder (Harborne, 1987)

1. Uji senyawa flavonoid

Uji flavonoid dilakukan dengan KLT menggunakan fasa diam silika gel GF₂₅₄ dan fasa geraknya eluen yang sesuai. Adanya flavonoid ditunjukkan oleh terbentuknya bercak yang terlihat berwarna ungu setelah disemprot dengan pereaksi vanilin-HCl. Pereaksi ini spesifik untuk flavonoid jenis

katekin, proantosianidin, dan atau flavanon.

2. Uji senyawa alkaloid

Uji alkaloid dilakukan dengan KLT menggunakan fasa diam silika gel GF₂₅₄ dan fasa geraknya eluen yang sesuai. Bercak yang terelusi disemprot dengan pereaksi Dragendorff. Hasil positif akan memberikan bercak berwarna jingga pada plat KLT.

3. Uji senyawa saponin

Fraksi paling aktif dilarutkan dengan 10 mL akuades kemudian dikocok kuat-kuat. Apabila terbentuk busa yang stabil selama tidak kurang dari 10 menit menunjukkan adanya senyawa saponin.

4. Uji senyawa terpenoid

Uji terpenoid dilakukan dengan KLT menggunakan fasa diam silika gel GF₂₅₄ dan fasa geraknya eluen yang sesuai. Bercak yang terelusi dideteksi menggunakan uap I₂. Adanya terpenoid ditunjukkan oleh terbentuknya bercak berwarna coklat oleh uap I₂.

5. Uji fenol

Uji fenol dengan KLT dilakukan dengan menggunakan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak menggunakan eluen yang sesuai. Bercak yang terelusi dideteksi dengan penyemprotan menggunakan FeCl₃ 5% (b/v). Adanya fenol ditunjukkan dengan terbentuknya bercak berwarna biru tua dan hijau kehitaman.

6. Uji steroid

Uji steroid dilakukan dengan KLT menggunakan fasa diam silika gel GF₂₅₄ dan fasa geraknya eluen yang sesuai. Bercak yang terelusi disemprot

dengan pereaksi Liebermann-Burchard. Hasil positif akan memberikan bercak berwarna biru kehijauan pada plat KLT.

Analisis Data (Mursyidi, 1985)

Analisis data hasil uji toksisitas (*Toxicity Test*) untuk mencari LC₅₀ (*Lethal Concentration*). Persentase kematian larva udang *A. salina* Leach dicatat, kemudian dicari harga probitnya menggunakan tabel probit. Nilai probit pada sumbu Y diplotkan dengan log konsentrasi pada sumbu X, kemudian ditarik garis lurus melalui titik-titik yang ada. Sumbu Y pada nilai probit 5 ditarik memotong kurva. Titik perpotongan tersebut ditarik suatu garis vertikal dan garis ini akan memotong absis pada titik LC₅₀.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi Sampel Kulit Batang Ketapang

Kulit batang ketapang dikeringkan dengan cara diangin-anginkan tanpa terpapar sinar matahari secara langsung bertujuan untuk menghindari kerusakan senyawa bioaktif dari sampel. Pengeringan sampel itu sendiri bertujuan untuk menghilangkan kadar air dalam sampel yang dapat menyebabkan reaksi enzimatik. Reaksi enzimatik dapat mengakibatkan rusaknya sampel, karena susunan senyawa dalam sampel telah berubah (Harborne, 1987).

Sampel kering dihaluskan dengan cara diblender, bertujuan untuk memperkecil ukuran sampel sehingga akan memperluas bidang permukaan sampel yang dapat mempermudah interaksi sampel dengan pelarut sehingga proses ekstraksi berlangsung lebih optimal dan menghasilkan ekstrak yang maksimal.

Ekstraksi Kulit Batang Ketapang

Metode ekstraksi yang digunakan untuk mengekstraksi senyawa yang terdapat dalam kulit batang ketapang adalah maserasi. Pemilihan metode ini dikarenakan maserasi mempunyai beberapa keuntungan dibanding dengan metode lain seperti metode soxhletasi. Keuntungan metode maserasi yaitu mampu mengurangi rusaknya senyawa yang terkandung dalam sampel akibat pemanasan dan tidak memerlukan alat khusus dibandingkan dengan metode soxhletasi. Metode ini sangat sederhana namun mampu memisahkan senyawa kimia yang diinginkan hanya dengan menggunakan pelarut tertentu (Harborne, 1987). Prinsip dari metode maserasi adalah perendaman sampel. Cairan penyari (pelarut) akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif yang terkandung di dalam sel akan terekstrak keluar karena adanya perbedaan konsentrasi zat aktif di dalam dan di luar sel. Peristiwa tersebut akan terus berlangsung sampai terjadi kesetimbangan konsentrasi antara larutan di dalam dan di luar sel (Fathiyawati, 2008).

Serbuk kulit batang ketapang dimaserasi dengan pelarut metanol, hal ini bertujuan mengekstrak senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam kulit batang ketapang. Menurut Harborne (1987), pelarut metanol diduga mempunyai sifat yang dapat melarutkan semua jenis komponen yang berupa senyawa polar, non polar dan semi polar. Proses maserasi dilakukan selama 24 jam dan diulang sampai larutan berwarna bening. Larutan yang berwarna bening ini menunjukkan bahwa senyawa metabolit

sekunder telah terekstrak secara maksimum.

Ekstrak metanol yang telah diperoleh kemudian dipisahkan dan difraksinasi menggunakan pelarut n-heksana dan etil asetat. Fraksinasi menggunakan pelarut n-heksana bertujuan untuk menarik senyawa-senyawa non polar, sedangkan etil asetat bertujuan untuk menarik senyawa-senyawa semi polar. Hasil ekstraksi dari 550 gram kulit batang ketapang ditunjukkan pada Tabel 1.

Uji Toksisitas dengan Metode BSLT

Uji toksisitas dengan metode BSLT pada penelitian ini dilakukan secara *triplo*, hal ini bertujuan agar data yang diperoleh lebih akurat dan dapat dipercaya. Hasil uji toksisitas ekstrak dan fraksi ekstrak metanol kulit batang ketapang dengan metode BSLT diperoleh data primer berupa jumlah larva udang *Artemia salina* Leach hidup dan jumlah larva mati yang disebabkan oleh senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak. Menurut Hamburger dan Hastettman (1991), larva udang memiliki kulit yang tipis dan peka terhadap lingkungannya sehingga banyak digunakan dalam uji toksisitas. Zat atau senyawa asing yang ada di lingkungan akan terserap ke dalam tubuh secara difusi dan langsung mempengaruhi kehidupannya. Larva udang yang sensitif ini akan mati apabila zat atau senyawa asing tersebut bersifat toksik. Menurut Carballo *et. al* (2002), untuk meyakinkan bahwa kematian larva udang *A. salina* Leach disebabkan oleh pemaparan komponen-komponen bioaktif dari ekstrak bukan disebabkan kelaparan, maka dilakukan perbandingan antara perlakuan dengan kontrol.

Tabel 1. Hasil ekstraksi 550 gram kulit batang ketapang

Ekstrak	Warna	Berat (gram)	Rendemen (% b/b)
EM	Coklat kehitaman	116,85	21,24
FH	Hijau pekat kekuningan	4,22	0,76
FE	Coklat kehitaman	41,12	7,48
FR	Coklat kehitaman	38,21	6,98

Tabel 2. Data LC₅₀ untuk EM, FH, FE, dan FR dari kulit batang ketapang

Ekstrak	Persamaan regresi	Nilai R ²	LC ₅₀ (ppm)
EM	$y = 2,717x - 0,324$	0,985	91,099
FH	$y = 7,317 x - 16,26$	0,981	804,567
FE	$y = 2,144 x + 1,162$	0,920	61,675
FR	$y = 4.606 x - 7,104$	0,972	424,499

Persentase kematian larva udang *Artemia salina* Leach digunakan untuk menentukan nilai probit. Nilai probit ini kemudian diplotkan dengan log konsentrasi dalam sebuah grafik untuk menentukan nilai LC₅₀. Persamaan regresi beserta nilai R² dan nilai LC₅₀ ekstrak kulit batang ketapang disajikan dalam Tabel 2.

Menurut Meyer *et al.* (1982), rata-rata kematian atau mortalitas meningkat seiring meningkatnya konsentrasi tiap sampel dan hampir semua komponen bioaktif bersifat toksik pada dosis tinggi. Menurut McLaughlin and Lingling (1998), tingkat toksisitas ekstrak suatu bahan dapat ditentukan dengan melihat nilai LC₅₀nya, apabila nilai LC₅₀nya kurang dari 1000 ppm maka bahan tersebut dikatakan bersifat toksik dan sebaliknya jika nilai LC₅₀nya lebih besar dari 1000 ppm maka bahan tersebut dikatakan bersifat tidak toksik. Berdasarkan hal tersebut, maka ekstrak dan fraksi ekstrak kulit batang ketapang dapat dikatakan bersifat toksik terhadap larva udang *A. salina* Leach. Ekstrak yang mempunyai toksisitas terkecil yaitu ekstrak n-heksana dengan nilai LC₅₀

sebesar 804,567 ppm dan ekstrak yang mempunyai toksisitas terbesar adalah ekstrak etil asetat dengan nilai LC₅₀ sebesar 61,675 ppm. Ekstrak yang mempunyai toksisitas terbesar yaitu ekstrak etil asetat yang selanjutnya diuji senyawa metabolit sekunder dengan uji KLT dan diidentifikasi senyawanya menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan FT-IR.

Penentuan Eluen Terbaik pada KLT dari FE

Penentuan eluen terbaik yang akan digunakan pada uji senyawa metabolit sekunder dengan pereaksi warna pada plat KLT dilakukan dengan berbagai variasi perbandingan pelarut. Jenis eluen yang digunakan dalam penentuan eluen terbaik ini adalah campuran etil asetat, n-heksan, dan asam asetat glasial dengan variasi perbandingan yang berbeda. Variasi komposisi eluen yang digunakan dalam penentuan eluen terbaik dengan plat KLT dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil pencarian eluen terbaik dengan berbagai variasi pelarut

Eluen (etil asetat : n-heksana : asam asetat glasial)	Noda	Keterangan	RF
2 : 8 : 0,2	3	Dua bercak tidak memisah sempurna , bercak ke tiga bersatu dengan titik awal	0,875; 0,2; dan 0,1
3 : 7 : 0,2	4	Dua noda jaraknya terlalu berdekatan	0,25; 0,625; 0,724 dan 0,875
4 : 6 : 0,2	4	Pemisahan noda cukup baik	0,65; 0,5; 0,325; dan 0,225
6 : 4 : 0,2	5	Bercak terpisah dengan baik	0,875; 0,5; 0,675,;0,4; dan 0,175

Hasil penentuan eluen terbaik untuk FE dengan plat KLT menunjukkan bahwa pemisahan komponen senyawa terbaik adalah eluen etil asetat : n-heksana : asam asetat glasial (6 : 4 : 0,2). Eluen dengan perbandingan ini dianggap terbaik dikarenakan hasil elusi menunjukkan jumlah spot yang paling banyak yaitu sebanyak 5 spot dan juga hasil pemisahan yang cukup baik dimana spot terpisah dengan baik. Eluen ini kemudian digunakan untuk uji senyawa metabolit sekunder menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT).

Uji Metabolit Sekunder

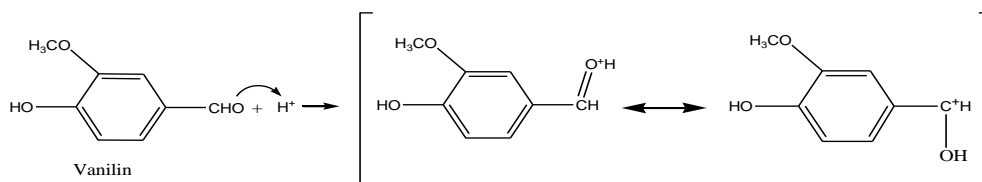
Uji senyawa metabolit sekunder pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa golongan flavonoid, alkaloid, terpenoid, steroid, saponin, dan polifenol. Uji golongan-golongan senyawa tersebut menggunakan uji warna menggunakan plat KLT. Uji golongan senyawa saponin dilakukan dalam tabung reaksi yang berisi akuades dan ekstrak dengan cara pengocokan. Hasil uji senyawa metabolit sekunder FE disajikan dalam Tabel 4.

Tabel 4. Data hasil uji metabolit sekunder dengan KLT dari FE.

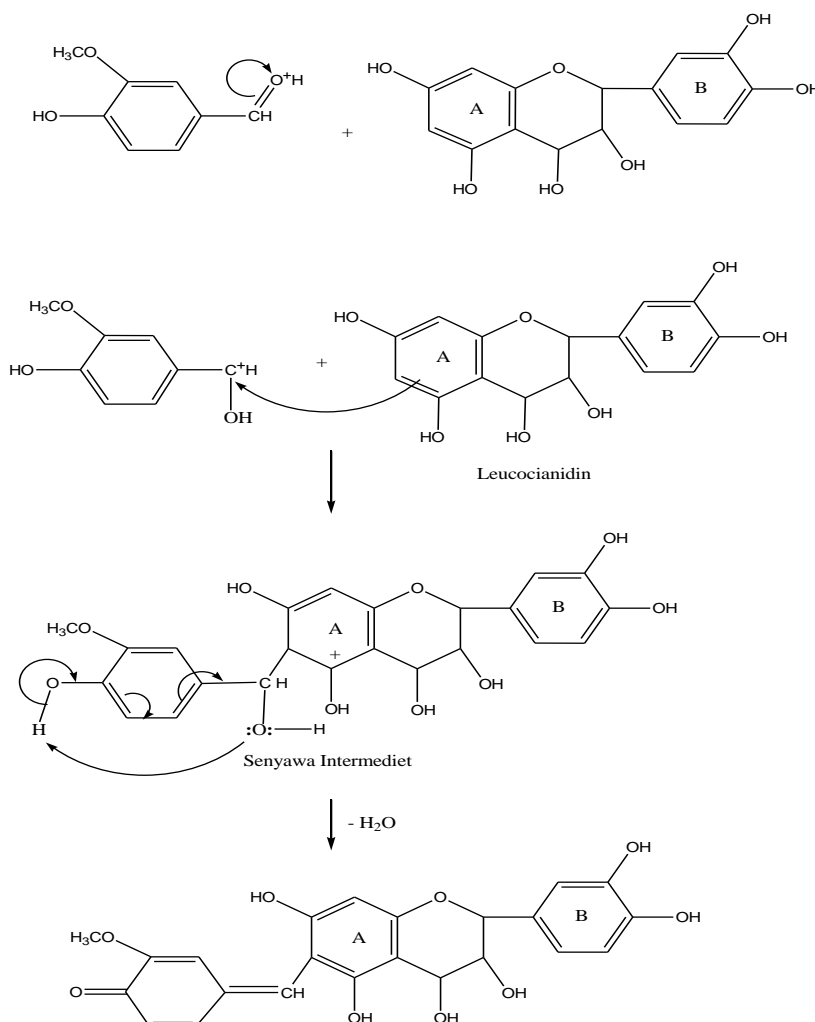
Uji Senyawa	Pereaksi	Pengamatan Visual	Ket.	Rf
Flavonoid	Vanilin-HCl	Ungu	+	0,22
Fenolat	FeCl ₃	Biru pekat	+	0
Terpenoid	Uap I ₂	Coklat	+	0,24 ; 0,42 dan 0,52
Alkaloid	Dragendorff	Coklat	-	-
Steroid	Lieberman-Burchard	Coklat	-	-

Berdasarkan Tabel 4, FE menunjukkan uji positif terhadap senyawa golongan flavonoid, terpenoid, dan fenolat. Pereaksi vanilin-HCl merupakan pereaksi untuk mengidentifikasi flavonoid terutama jenis katekin dan proantosianidin dan terbentuk lebih lambat oleh flavanol

dan dihidroflavanol. Pereaksi ini bereaksi dengan semua flavonoid yang mempunyai pola oksidasi lingkaran floroglusinol dan lingkaran C jenuh. Uji positif flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya bercak berwarna ungu pada plat KLT setelah disemprot dengan vanilin-HCl.



Gambar 1. Reaksi protonasi vanilin dalam larutan asam (Salunkhe *et al.*, 2002)



Gambar 2. Reaksi kondensasi vanilin dengan flavonoid (Salunkhe *et al.*, 2002).

Prinsip uji vanilin-HCl yaitu vanilin terprotonasi dalam larutan asam dan menghasilkan karbokation

(Gambar 1). Karbokation bereaksi dengan flavonoid. Senyawa antara yang dihasilkan mengalami reaksi dehidrasi

dan menghasilkan senyawa berwarna ungu atau merah (Salunkhe *et al.*, 2002), yang reaksinya dapat dilihat pada Gambar 2.

Uji metabolit sekunder golongan terpenoid menunjukkan uji positif yang ditandai dengan terbentuknya bercak berwarna coklat pada plat KLT setelah diberi uap I₂. Halogenasi ikatan rangkap merupakan tes kualitatif yang spesifik untuk mendeteksi adanya ikatan rangkap pada terpenoid. Uji positif senyawa fenolat ditunjukkan dengan terbentuknya bercak warna merah bata setelah disemprot FeCl₃ 5% (b/v). Penambahan FeCl₃ 5% hanya dapat menunjukkan keberadaan senyawa fenolat secara umum, namun tidak dapat membedakan golongan polifenolnya. Reaksi yang terjadi dapat dilihat pada Gambar 3.

Uji metabolit sekunder golongan saponin menunjukkan uji positif berupa terbentuknya busa setinggi 1,5 cm yang tetap setabil selama 15 menit setelah dicampur dengan air dan dikocok selama 10 menit.

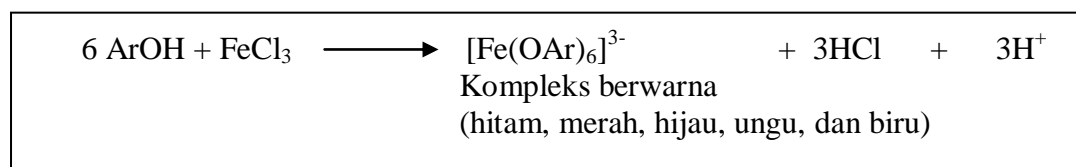
KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini diperoleh simpulan sebagai berikut: Ekstrak kulit batang ketapang yang memiliki toksisitas tertinggi terhadap larva udang *Artemia salina* Leach

adalah fraksi etil asetat ekstrak metanol (FE) dengan nilai LC₅₀ sebesar 61,675 ppm, sedangkan untuk ekstrak metanol, fraksi heksana dan residu etil asetat ekstrak metanol dengan nilai LC₅₀ masing-masing sebesar 91,099; 804,567; dan 424,499 ppm. Hasil uji metabolit sekunder FE mengandung senyawa flavonoid, terpenoid, polifenol, dan saponin

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, S. M., V. Swamy, P. G. R. Dhanapal, dan V. M. Chandrashekara, 2005, "Anti-Diabetic Activity of *Terminalia catappa* Linn Leaf Extracts in Alloxan- Induced Diabetic Rats", *Iranian Journal of Pharmacology and Therapeutics* 4 (1): 36. Diakses tanggal 26 September 2011.
- Babayi, H., I. Kolo, J. I. Okogun, dan U. J. J. Ijah, 2004, "The Antimicrobial Activities of Methanolic Extracts of *Eucalyptus camaldulensis* and *Terminalia catappa* Against Some Pathogenic Microorganisms", *Nigerian Society for Experimental Biology, Biochemistry* 16 (2): 110. Diakses tanggal 26 September 2011.



Gambar 3. Reaksi antara polifenol dengan pereaksi FeCl₃ (Robinson, 1995)

- Carballo, J.L., L.H. Zaira, P. Pilar, and D.G. Maria. 2002. A Comparism Between Two Brine Shrimp Assays to Detect *in Vitro* Cytotoxicity in Marine Natural Products. *BMC Biotechnology*
- De Padua, L. S., Bunyaphatsara, N. and Lemmens, R. H. M. S. 1999. Plant Resources of South East Asia No 12(1). Medical and Poisonous Plants 1. Printed in Bogor Indonesia (PROSEA). Leiden, the Netherlands, Backhuys Publishers,
- Fathiyawati, 2008, Uji Toksisitas Ekstrak Daun *Ficus racenosa* L. terhadap *Artemia salina* Leach dan Profil Kromatografi Lapis Tipis, *skripsi* (on line) <http://etd.eprints.ums.ac.id/3484/1/K100040049.pdf>,
- Fessenden, R.J dan J.S. Fessenden, 1986, *Kimia Organik* Jilid 1, Erlangga, Jakarta.
- Gao, J., X. Tang, H. Dou, Y. Fan, X. Zhao, dan Q. Xu, 2004, "Hepatoprotective Activity of *Terminalia catappa* L. Leaves and Its Two Triterpenoids". *Jurnal* (online), <http://etd.eprints.undip.ac.id/2876/1/JURNAL.pdf>,
- Harborne, J. B, 1987, *Metode Fitokimia : Cara Menganalisa Tanaman*, Terjemahan K. Padmawinata Z I Sudiro, ITB, Bandung.
- Hamburger N., dan Hostattman K., 1991, Bioactivity in Plant : The Link between Phytochemistry and Medicine
- Jaziroh, S., 2008, "Isolasi dan Identifikasi Senyawa Aktif dalam Ekstrak n-Heksana Daun Ketapang (*Terminalia cattapa* L.)", *Skripsi* (tidak dipublikasikan), Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Diponegoro, Semarang
- Lambert, J.B., H.F. Shurvell, D.A. Lightner, dan R.G. Cooks. 1998. *Organic Structural Spectroscopy*. Prentice Hall, Inc. New Jersey.
- Lin, Y., Y. Kuo, M. Shiao, C. Chen, dan J. Ou, 2000, "Flavonoid Glycocides from *Terminalia catappa* L.", *Journal of the Chinese Chemical Society* 47 (1): 253-256.
- Mandasari, I., 2006, "Isolasi dan Identifikasi Senyawa Alkaloid dalam Ekstrak Kloroform Daun Ketapang (*Terminalia cattapa* L.)", *Skripsi* (tidak dipublikasikan), Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Diponegoro
- Mc Laughlin, J. L. and L. R. Lingling, 1998, *The use of Biological Assay to Evaluate Botanical*, Drug Information Association Inc, USA. (on line), <Http://Diahome.Org/Content/Abstract/1998/Dij991.Pdf>
- Meyer, B.N., N.R. Ferregni, J.E. Putman, L.B. Jacobsen, D.E. Nicholas, dan Mc Laughlin J.L., 1982, Brine Shrimp LA conviment General Bioassay for Active Plant Constituent, *Plant Medica*.
- Mursyidi, A, 1985, *Statistika Farmasi dan Biologi*, Ghalia Indonesia, Jakarta.

- Pauly, G., 2001, *Cosmetic, Dermatological and Pharmaceutical Use of An Extract of Terminalia catappa*, United State Patent Application no. 200100022665.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. ITB. Bandung.
- Salunkhe, D. K, J. K. Chavan, dan S. S. Kadam, 1990, Dietary tannins: consequences and remedies, http://books.google.co.id/books?id=E9yNljnw0kC&dq=vanilin+test+for+flavanols&source=gbs_navlinks_s
- Sastrohamidjojo, H, 1990, *Spektroskopi Inframerah*. Liberty. Yogyakarta.
- Sastrohamidjojo, H, 2001, *Kromatografi*, Liberty, Yogyakarta.
- Zuhrotun A. , Suganda A. G., dan Nawawi A., 2010, phytochemical Study OF Ketapang Bark (*terminalia catappa L.*), *International Conference on Medicinal Plants*, Bandung (online), <http://pustaka.unpad.ac.id/wp-content/uploads/201108/ade-z-terminalia-full-paper-finale-1.pdf>., diakses tanggal 1 januari 2011