

# UJI FITOKIMIA DAN TOKSISITAS FRAKSI EKSTRAK AKAR TAMBOLEKAR (*Coptosapelta flavescens* Korth) DENGAN REAKSI WARNA DAN BRINE SHRIMP LETHALY TEST

**Khemasili Kosala**

Lab. Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Mulawarman, Samarinda  
E-mail: khemasili\_kosala@yahoo.com

Diterima 12 Oktober 2014/Disetujui 14 Desember 2015

## **Abstract**

The roots of Tambolekar (*Coptosapelta flavescens* Korth) have long been used by people for a variety of medicinal purposes. Pharmacological effects of medicinal plants are induced by secondary metabolites contained within the plants, but scientifically there is no known safe consumption data for it. The aimed study was determine the type of secondary metabolites in the tambolekar root and to study the safety of hexane, ethyl acetate and methanol fraction of this extract. Phytochemical test by color reactions to test for alkaloid, flavonoid, polyphenol, steroid/ terpenoid, anthraquinone, saponin and tannins; toxicity test by Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Results showed in alkaloid test, there was no brown precipitate formed; in flavonoid test, red/yellow/orange precipitate was not formed; the polyphenols test on hexane fraction obtained brown precipitate, on ethyl acetate and methanol fraction it produced brown-black precipitate; steroid/ terpenoid test on hexane fraction obtained green precipitate, while on ethyl acetate and methanol extract it obtained reddish brown precipitate; saponin test on methanol fraction formed foams that persisted for more than 15 minutes; anthraquinone test on hexane fraction obtained pale pink color while on ethyl acetate fraction it obtained bright pink color; tannin test on ethyl acetate fraction obtained light green precipitate while on methanol fraction it obtained brown precipitate. BSLT test obtained average LC<sub>50</sub> at 2108 ppm of hexane fraction, 3465 ppm of ethyl acetate fraction and 3733 ppm of methanol fraction. Polyphenols, steroids and anthraquinone were detected in the hexane fraction of tambolekar root's extract; polyphenols, terpenoid, anthraquinone and tannin were detected in the ethyl acetate fraction; polyphenols, terpenoid and saponin were detected in the methanol fraction. All three fractions of the tambolekar root's extract were found to be non-toxic towards the larvae of *Artemia salina*.

**Keywords:** Tambolekar, secondary metabolites, color reactions, toxicity, BSLT.

## **Abstrak**

Akar tanaman Tambolekar (*Coptosapelta flavescens* Korth) sudah lama digunakan oleh masyarakat untuk berbagai tujuan pengobatan. Adanya efek farmakologi dari tanaman obat ini disebabkan oleh metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya, namun secara ilmiah data keamanannya belum diketahui. Tujuan penelitian untuk mengetahui jenis metabolit sekunder yang terkandung dan keamanan fraksi heksan, etil asetat, metanol ekstrak akar Tambolekar. Uji fitokimia dengan reaksi warna meliputi uji alkaloid, flavonoid, polifenol, steroid/terpenoid, anthraquinon, saponin dan uji tanin. Uji toksisitas menggunakan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Hasil menunjukkan uji alkaloid tidak terbentuk

endapan coklat; uji flavonoid tidak terbentuk warna merah, kuning atau jingga; uji polifenol pada fraksi heksan berwarna coklat, fraksi etil asetat dan metanol berwarna coklat hitam; uji steroid/terpenoid fraksi heksan berwarna hijau, fraksi etil asetat dan metanol berwarna merah coklat; uji saponin fraksi metanol terbentuk busa yang bertahan selama lebih dari 15 menit; uji anthraquinon fraksi heksan berwarna pink lemah, fraksi etil asetat berwarna pink kuat; uji tanin fraksi etil asetat berwarna hijau muda, fraksi metanol berwarna coklat. Uji BSLT diperoleh  $LC_{50}$  rata-rata fraksi heksan 2108 ppm, fraksi etil asetat 3465 ppm dan fraksi metanol 3733 ppm. Disimpulkan bahwa fraksi heksan ekstrak akar Tambolear terdeteksi polifenol, steroid dan anthraquinon; fraksi etil asetat terdeteksi polifenol, terpenoid, anthraquinon dan tanin; fraksi metanol terdeteksi polifenol, terpenoid dan saponin. Pada fraksi heksan, etil asetat dan metanol ekstrak akar Tambolear tidak toksik terhadap larva *Artemia salina*.

**Kata kunci:** Tambolear, metabolit sekunder, reaksi warna, toksisitas, BSLT.

## PENDAHULUAN

Sudah sejak lama berbagai penduduk asli (etnis) yang hidup di daerah pedalaman, memanfaatkan berbagai spesies tumbuhan dari hutan secara turun temurun untuk mengobati berbagai macam penyakit (Supriadi, *et al.*, 2001). Di Kabupaten Paser Provinsi Kalimantan Timur, akar tanaman tambolear (*Coptosapelta flavescens* Korth) masih digunakan untuk mengobati pilek dan demam (Kosala, *et al.*, 2012), di daerah Lampung air perasan dari akar yang telah ditumbuk tanpa dimasak diminum untuk mengobati cacangan (Heyne, 1987), di Malaysia tanaman ini digunakan juga sebagai obat cacing, di Vietnam digunakan untuk mengobati rematik, pencuci luka agar terhindar dari infeksi, atau sebagai tonikum (Tran and Tran, 2010). Metabolit sekunder yang terkandung di dalam tanaman inilah yang dapat menimbulkan efek farmakologi pada mamalia, sehingga dikenal sebagai bahan aktif tanaman. Metabolit sekunder meliputi alkaloid, flavonoid, polifenol, steroid/terpenoid, saponin (Meyer, *et al.*, 1982). Data metabolit sekunder apa saja yang terkandung dalam tanaman tambolear belum ditemukan, sehingga dilakukan uji fitokimia dengan reaksi warna. Walaupun tanaman tambolear sudah dimanfaatkan oleh masyarakat sejak lama, namun data ilmiah tentang keamanan akar tanaman

tersebut juga belum ada. Metode yang sesuai untuk menguji toksisitas suatu ekstrak tanaman obat adalah *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Metode pengujian BSLT dengan menggunakan *Artemia salina* dianggap memiliki korelasi dengan daya sitotoksik senyawa-senyawa antikanker, sehingga sering dilakukan untuk penyaringan awal pencarian senyawa antikanker. Metode ini dikenal sebagai metode yang cepat, mudah, murah, dan hasilnya dapat dipertanggungjawabkan (Meyer, *et al.*, 1982). Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui jenis metabolit sekunder apa saja yang terdapat di dalam fraksi heksan, etil asetat dan metanol ekstrak akar tambolear (*Coptosapelta flavescens* Korth) dan untuk mengetahui tingkat keamanan fraksi heksan, etil asetat dan metanol ekstrak tanaman ini terhadap larva *Artemia salina* (udang) dengan metode BSLT

## MATERI DAN METODE PENELITIAN

Uji fitokimia menggunakan metode reaksi warna

Uji Alkaloid:

Sebanyak 0,5 g ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 5 mL kloroform didiamkan

selama 30 menit lalu disaring dan diambil filtratnya. Kemudian filtrat ditambahkan 2,5 mL amoniak 0,05N dan 2,5 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2N, selanjutnya dikocok dan akan terbentuk 2 lapisan. Fraksi asam diambil kemudian ditambahkan pereaksi Dragendorf. Adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan merah pada pereaksi Dragendorf (Harborne, 2006).

#### Uji Flavonoid:

Ekstrak ditambahkan 2 mg serbuk Mg dan 3 tetes HCl pekat. Uji positif bila terbentuk warna merah, kuning atau jingga (Sitorus, 2012).

#### Uji Polifenol:

FeCl<sub>3</sub> 5% dilarutkan dalam air atau etanol, bila ada polifenol akan timbul endapan coklat (Cannell, 1998).

#### Uji Steroid / Terpenoid:

Ekstrak ditambahkan 3 tetes pereaksi *Liebermann-Burchard*. Larutan dikocok perlahan dan dibiarkan beberapa menit. Steroid memberikan warna biru atau hijau sedangkan Triterpenoid memberikan warna merah atau violet (Sitorus, 2012).

#### Uji Terpenoid (Salkowski test):

5 ml Larutan ekstrak dalam kloroform ditambahkan 3 ml asam sulfat pekat, bila pada batas antara kedua fase terbentuk warna merah kecoklatan menandakan adanya terpenoid (Onuekwusi *et al.*, 2014).

#### Uji Anthraquinon (Borntrager's test):

5 ml larutan ekstrak dalam kloroform ditambahkan 5 ml larutan amonia 10%, kocok, bila pada fase amonia timbul warna pink/ungu atau merah menandakan adanya anthraquinon (Onuekwusi *et al.*, 2014)

#### Uji Saponin:

Ekstrak ditambahkan air panas lalu dikocok, bila terbentuk busa yang bertahan selama 15

menit menandakan adanya saponin (Cannell, 1998).

#### Uji Tanin:

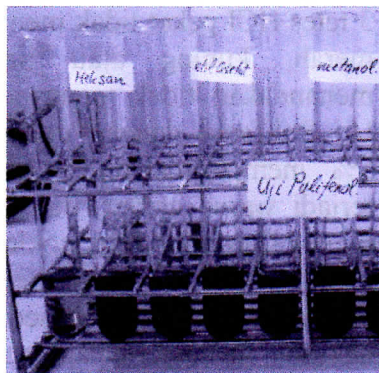
Ekstrak dididihkan dalam 10 ml air, filtrat ditambahkan larutan 0,1% FeCl<sub>3</sub>, bila timbul warna hijau atau biru hitam menandakan adanya tannin (Onuekwusi *et al.*, 2014).

Uji toksisitas menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) *Brine shrimp* (*Artemia salina*) ditetaskan dengan menggunakan telur *Brine shrimp* dalam wadah berbentuk kerucut (1L), yang diisi dengan air laut steril buatan (dengan menggunakan garam laut 38g/ L dan disesuaikan pH8,5 menggunakan NaOH1N) di bawah aerasi konstan selama 48 jam. Setelah menetas, larva aktif bebas dari kulit telur dikumpulkan dari bagian terang ruang penetasan dan digunakan untuk pengujian. Sepuluh larva diambil melalui kapiler kaca dan ditempatkan di masing-masing tabung reaksi yang berisi 4,5 ml larutan air garam. Pada setiap percobaan, 0,5 ml dari ekstrak tanaman ditambahkan dengan 4,5 ml larutan air garam dan dipertahankan pada suhu kamar selama 24 jam di bawah cahaya, larva yang masih hidup dihitung. Percobaan dilakukan bersama dengan kontrol (air laut yang tidak diberi ekstrak), konsentrasi yang berbeda (1-5000 mg/ml) dari zat uji dilakukan 3 kali pengulangan. Penentuan konsentrasi *Lethality* dengan menggunakan program probit. Persentase mematikan ditentukan dengan membandingkan rata-rata larva yang bertahan dari uji dan kontrol. Nilai LC<sub>50</sub> diperoleh dari garis regresi yang diperoleh dengan memplot konsentrasi terhadap persentase mematikan (Indrayani *et al.*, 2006). Menurut Mayer *et al.* (1982) suatu ekstrak dinyatakan toksik jika memiliki nilai LC<sub>50</sub> kurang dari 1000 ppm.

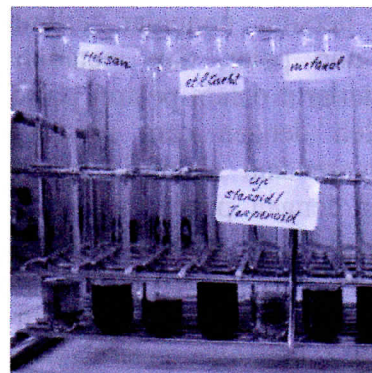
**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Fraksi Ekstrak Akar Tambolear (*Coptosapelta flavescens* Korth).**

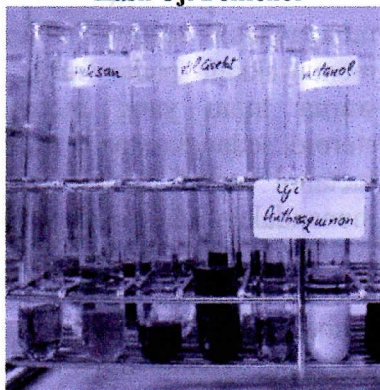
Metabolit sekunder	Fraksi Heksan	Fraksi Etil Asetat	Fraksi Metanol
Alkaloid	-	-	-
Flavonoid	-	-	-
Polifenol	coklat	coklat hitam	coklat hitam
Steroid/terpenoid	hijau	merah coklat	merah coklat
Saponin	-	-	Busa
Anthraquinon	pink lemah	pink kuat	-
Tanin	-	hijau muda	coklat



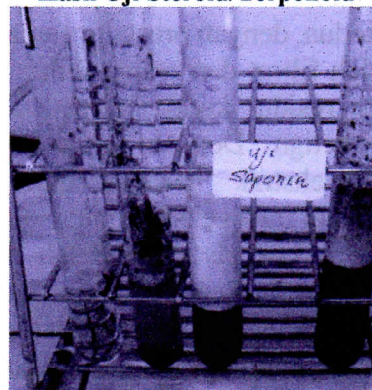
**Gambar 1.**  
**Hasil Uji Polifenol**



**Gambar 2.**  
**Hasil Uji Steroid/Terpenoid**



**Gambar 3.**  
**Hasil uji Anthraquinon**



**Gambar 4.**  
**Hasil Uji Saponin**

**Tabel 2. Hasil Analisis Probit Mortalitas *A. salina* antar berbagai konsentrasi fraksi ekstrak akar tambolear.**

Pengulangan	LC <sub>50</sub> (ppm)		
	Fraksi heksan	Fraksi etil asetat	Fraksi metanol
I	1846	5541	3815
II	1707	3123	3461
III	2772	1733	3924
Rata2	2108	3465	3733

Fraksinasi ekstrak akar tambolear (*Coptosapelta flavescens* Korth) dilakukan dengan menggunakan pelarut nonpolar (heksan), semipolar (etil asetat) dan polar (metanol) dengan tujuan agar metabolit sekunder yang bersifat nonpolar terlarut dalam pelarut non polar, dan metabolit sekunder polar terlarut dalam pelarut polar. Ekstrak diperoleh dengan cara maserasi yakni dengan merendam simplisia serbuk akar tambolear dengan pelarut selama 5 hari sambil diaduk-aduk. Kemudian filtrat disaring dan dipekatkan dengan alat rotary evaporator. Sementara residu diangin-anginkan selama 2 hari agar pelarut yang tersisa pada residu menguap. Fraksinasi dilakukan dengan merendam residu pertama dengan pelarut kedua, dengan prosedur sama sehingga diperoleh filtrat dan residu. Filtrat dipekatkan dan residu kedua direndam dengan pelarut ketiga. Dengan demikian diperoleh fraksi ekstrak heksan, fraksi ekstrak etil asetat dan fraksi ekstrak metanol. Pelarut yang digunakan pertama adalah heksan yang bersifat non polar, sehingga metabolit sekunder yang nonpolar tertarik duluan ke dalam pelarutnya. Dilanjutkan dengan pelarut kedua, yaitu etil asetat yang semipolar agar metabolit semipolar yang tertarik. Pelarut ketiga adalah metanol yang polar sehingga metabolit sekunder yang polar tertarik ke dalam pelarut metanol. Hasil uji fitokimia pada tabel 1 menunjukkan uji alkaloid pada fraksi heksan, etil asetat dan

metanol akar tambolear dengan reagen Dragendorff tidak terbentuk endapan merah, hal ini mengindikasikan bahwa akar tidak mengandung alkaloid. Uji Flavonoid yang menggunakan serbuk magnesium (Mg) dan 3 tetes HCl pekat tidak menunjukkan warna merah, kuning atau jingga, hal ini menandakan tidak mengandung flavonoid. Uji Polifenol dengan menggunakan FeCl<sub>3</sub> 5% memperlihatkan pada fraksi heksan terjadi warna coklat, fraksi etil asetat dan metanol terjadi warna coklat hitam, hal ini menandakan adanya polifenol pada fraksi etil asetat dan metanol, sedang pada fraksi heksan juga terdapat polifenol namun jenisnya berbeda atau jumlahnya lebih sedikit. Uji steroid/terpenoid yang menggunakan reagen *Liebermann-Burchard* menunjukkan pada fraksi heksan terjadi warna hijau yang menandakan adanya steroid, sedangkan pada fraksi etil asetat dan metanol terjadi warna merah coklat, ini menandakan adanya terpenoid. Uji saponin dengan mengocok larutan fraksi ekstrak dengan air panas, hanya pada fraksi metanol timbul busa yang bertahan selama lebih dari 15 menit, sedangkan pada fraksi heksan dan etil asetat tidak terbentuk busa, ini menandakan adanya saponin pada fraksi metanol. Uji anthraquinon yang menggunakan kloroform sebagai pelarut fraksi ekstrak dan dikocok dengan larutan ammonia, pada lapisan ammonia fraksi heksan terlihat warna pink lemah sedangkan

lapisan amonia pada fraksi etil asetat terlihat warna pink yang kuat, ini menandakan adanya anthraquinon pada fraksi heksan dan etil asetat. Pada Uji tanin yang mendidihkan larutan ekstrak dengan air, filtrat ditetesi FeCl<sub>3</sub> 0,1% terlihat pada fraksi etil asetat timbul warna hijau yang menandakan adanya tanin, sedangkan fraksi metanol timbul warna coklat yang menandakan adanya polifenol lain namun bukan tanin.

Metode pengujian BSLT dengan menggunakan *Artemia salina* dianggap memiliki korelasi dengan daya sitotoksik senyawa-senyawa antikanker, sehingga sering dilakukan untuk penyaringan awal pencarian senyawa antikanker. Metode ini dikenal sebagai metode yang cepat, mudah, murah, dan hasilnya dapat dipertanggungjawabkan. Suatu ekstrak dinyatakan toksik jika memiliki nilai LC<sub>50</sub> kurang dari 1000 ppm (Meyer, *et al.*, 1982). Dari hasil analisis probit pada tabel 2 diperoleh nilai LC<sub>50</sub> dari fraksi heksan adalah 2108 ppm, fraksi etil asetat 3465 ppm dan fraksi metanol 3733 ppm, semuanya menunjukkan > 1000 ppm, sehingga dapat dinyatakan ketiga fraksi ekstrak akar tambolekar (*Coptosapelta flavescens* Korth) tidak toksik terhadap larva *Artemia salina*.

## KESIMPULAN

1. Pada fraksi heksan ekstrak akar tambolekar (*Coptosapelta flavescens* Korth) terdeteksi adanya polifenol, steroid dan anthraquinon. Pada fraksi etil asetat terdeteksi adanya polifenol, terpenoid, anthraquinon dan tanin. Pada fraksi metanol terdeteksi adanya polifenol, terpenoid, dan saponin.
2. Fraksi heksan, etil asetat dan metanol ekstrak akar tambolekar tidak toksik

(Print): 2319 – 670X. Diunduh dari [www.ijpsi.org](http://www.ijpsi.org). Volume 3 Issue 9

terhadap larva Brine shrimp (*Artemia salina*)

## DAFTAR PUSTAKA

- Cannell R.J.P. 1998. Natural Products Isolation, Methods in Biotechnology. Totowa New Jersey: Humana Press.
- Harborne J.B. 2006. *Phytochemical Methods*. diterjemahkan oleh Padmawinata K. dan Sudiro I. Metode Fitokimia. Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Terbitan kedua. Bandung: Penerbit ITB.
- Heyne K. 1987. Tumbuhan Berguna Indonesia. Jilid III. Diterjemahkan oleh Badan Litbang Kehutanan Jakarta. hal 1763
- Indrayani L., Soetjipto H., dan Sihasale L. 2006. Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* L. Vahl) terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach. *Berk. Penel. Hayati*: 12 (57–61)
- Kosala K., Sahid, Rosita, Jufriah, Saidah. 2012. Laporan RISTOJA 2012 Kabupaten Paser Provinsi Kalimantan Timur.
- Meyer B. N., Ferigni N. R., Putnam J.E., Jacobsen L. B., Nichols D. E., McLaughlin J. L. 1982. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituent. *PlantaMedica*, 45: 31-45.
- Onuekwusi E.C., Akanya H.O., Evans E.C. 2014. Phytochemical Constituents of Seeds of Ripe and Unripe *Blighia Sapida* (K. Koenig) and Physicochemical Properties of the Seed Oil, *International Journal of Pharmaceutical Science Invention* ISSN (Online): 2319 – 6718, ISSN September 2014 pp. 31-40 [www.ijpsi.org](http://www.ijpsi.org).

- Sitorus R.A.R. 2012. Uji Fitokimia dan Aktivitas Hepatoprotektor Ekstrak Etanol Kulit Batang Sirsak (*Annona muricata* Linn.) Terhadap Kerusakan Hati Tikus Putih Jantan Dengan Induksi CCl<sub>4</sub> Secara Invitro. Program Studi Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Mulawarman Samarinda.
- Supriadi, *et al.* 2001. Tumbuhan Obat Indonesia, Penggunaan Dan Khasiatnya. Jakarta: Pustaka Populer Obor.
- Tran T. V. A. and Tran H. 2010. Study Chemical Constituents in Anti Inflammatory Extracts of *Coptosapelta tomentosa*, *\*Y Hoc TP. Ho Chi Minh\** Vol. 14 - Supplement of No 1 - 2010: 116-122.