

TOKSISITAS EKSTRAK N-HEKSANA DAN METANOL DAUN KELOPAK TAMBAHAN TUMBUHAN PERMOT (*Passiflora foetida* L)

TOXICITY OF N-HEXANE AND METHANOL EXTRACT OF BRACETS *Passiflora foetida* L PLANT

Maria Dewi Astuti*, Dewi Umaningrum, Kamilia Mustikasari

PS Kimia FMIPA Universitas Lambung Mangkurat
Email: astuti_md17@yahoo.co.id

Abstrak

Telah dilakukan penelitian tentang skrining fitokimia dan uji toksisitas ekstrak *n*-heksana dan metanol dari daun kelopak tambahan tumbuhan permot (*Passiflora foetida* L). Skrining fitokimia dilakukan berdasarkan uji kualitatif dengan pereaksi spesifik untuk fitokimia tertentu dan uji toksisitas dilakukan berdasarkan metode BSLT (*Brine Shrimps Lethality Test*). Hasil penelitian tentang skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak *n*-heksana mengandung alkaloid, flavonoid, dan steroid sedangkan ekstrak metanol mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, triterpenoid, steroid, dan saponin. Uji toksisitas memperlihatkan bahwa ekstrak metanol lebih toksik (LC50 546,56 ppm) daripada ekstrak *n*-heksana (LC50 821,41 ppm).

Kata kunci: skrining fitokimia, uji toksisitas, permot, *Passiflora foetida* L, daun kelopak tambahan

Abstract

Phytochemical screening and toxicity assay of n-hexane and methanol extract of bracts Passiflora foetida L plant has been done. Phytochemical screening was done based on qualitative test with specific reagent for phytochemical compound and toxicity assay was done based on BSLT (Brine Shrimps Lethality Test) methode. Phytochemical screening test showed alkaloid, flavonoid, and steroid in n-hexane extract, while alkaloid, flavonoid, triterpene, steroid, and saponin in methanol extract. Toxicity assay showed methanol extract more toxic (LC50 546,56 ppm) than n-hexane extract (LC50 821,41 ppm).

Key words: *phytochemical screening, toxicity assay, Passiflora foetida L, bracts*

PENDAHULUAN

Genus *Passiflora* terdiri atas lebih dari 400 spesies. Salah satunya adalah *Passiflora foetida* L atau dikenal dengan nama permot. Tumbuhan ini digunakan untuk mengobati koreng bemanah, scabies, borok pada kaki, batuk, radang kelenjar getah bening, insomnia, darah tinggi, dan edema (Dalimartha, 2003).

Menurut Dhawan *et al.* (2004) genus *Passiflora* memiliki kandungan kimia diantaranya flavonoid, glikosida, alkaloid,

fenol, dan cyanogen. Echeverri *et al.* (2001) melaporkan terdapat passifloricins, suatu poliketida α -piron pada *P. foetida* L. Sasikala (2011) melaporkan adanya aktivitas analgetik dan anti-inflamasi dari herba *P. foetida* L. Anam dan Dewi (2005) melakukan uji aktivitas antibakteri dari daun *P. foetida* L. terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Basillus cereus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. D'Incao *et al.* (2012) melaporkan saponin dari *P. alata* dapat

mengontrol perkembangbiakan serangga *Spodoptera frugiperda*. Lima jenis saponin (satu saponin tipe steroid dan 4 saponin tipe triterpenoid) telah diisolasi dari daun *P. alata* (Reginatto *et al* (2001). Tetapi belum pernah dilakukan penelitian terhadap daun kelopak tambahan permot baik kandungan fitokimia maupun bioaktivitasnya.

Daun kelopak tambahan permot telah digunakan oleh masyarakat Kapuas Kalimantan Tengah sebagai sabun untuk mencuci perabot rumah tangga karena berbusa bila terkena air. Hal ini mengindikasikan adanya saponin pada daun kelopak tambahan *P. foetida*. Saponin memiliki manfaat sebagai antimikroba, hipokolesterolemik, imunostimulator, dan anti karsinogenik (Almira, 2008). Saponin aman untuk mamalia, tetapi dapat bersifat racun bagi hewan berdarah dingin termasuk golongan serangga (Prihatman, 2001) sehingga saponin berpotensi juga sebagai insektisida.

Berdasarkan uraian di atas maka perlu dilakukan skrining kandungan fitokimia (triterpenoid, steroid, saponin, tannin, alkaloid dan flavonoid) dari daun kelopak tambahan *P. foetida* L yang terekstrak pada pelarut *n*-heksana dan metanol. Selain itu dilakukan pula uji toksisitas terhadap ekstrak *n*-heksana dan metanol dengan metode *Brine Shrimps Lethality Test* (BSLT). Uji ini memiliki spektrum farmakologi yang luas, mudah dalam pengerjaannya, murah, dan cepat.

METODE PENELITIAN

Ekstraksi

Daun kelopak tambahan permot dikumpulkan, dibersihkan dari kotoran, dikeringanginkan lalu dihaluskan sehingga diperoleh serbuk daun kelopak tambahan permot. Selanjutnya dimaserasi dengan *n*-heksana selama 24 jam dan disaring. Maserasi diulangi 3x. Ampas dikeringanginkan hingga pelarut *n*-heksana habis lalu ampas dimaserasi kembali dengan metanol, disaring. Ekstraksi diulangi sebanyak 3x. Filtrat *n*-heksana dan metanol masing masing dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator*, dilanjutkan dengan pemanasan di atas penangas air sehingga diperoleh ekstrak *n*-heksana dan metanol.

Skrining Fitokimia

- Uji terpenoid dan steroid

Ekstrak *n*-heksana atau metanol yang diperoleh diambil sedikit dan dikeringkan di atas papan *spot test*, ditambahkan tiga tetes anhidrida asetat (Ac_2O) dan kemudian satu tetes asam sulfat pekat (H_2SO_4 pekat). Adanya senyawa terpenoid ditandai dengan timbulnya warna merah, sedangkan steroid ditandai dengan munculnya warna biru.

- Uji Flavonoid

Ekstrak *n*-heksana atau metanol yang diperoleh diambil sedikit kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 0,5 ml asam klorida

pekat (HCl pekat) dan 3-4 pita logam Mg atau serbuk Mg secukupnya. Adanya flavonoid ditandai dengan warna merah, jingga, dan hijau.

- Uji Saponin

Ekstrak *n*-heksana atau metanol yang diperoleh diambil sedikit kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi, panaskan tabung dan kocok tabung reaksi didiamkan selama 15 menit. Adanya saponin ditandai dengan muncul busa yang stabil.

- Uji Alkaloid

Ekstrak *n*-heksana atau metanol yang diperoleh diambil kemudian dimasukkan kedalam 3 tabung reaksi. Pada masing-masing tabung tambahkan dua tetes pereaksi Mayer, pereaksi Wagner, dan pereaksi dragendorf. Adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan putih, endapan coklat dan endapan jingga pada masing-masing tabung reaksi.

Uji Tanin

Ekstrak *n*-heksana atau metanol yang diperoleh diambil kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi, tambahkan dua tetes larutan FeCl₃1%. Adanya tanin ditandai dengan warna coklat kehijauan atau biru kecoklatan.

Uji Toksisitas

- Pembuatan Air Laut Buatan

Sebanyak 38 gram garam laut dilarutkan dalam 1 L akuades.

- Penetasan Telur Udang (*Artemia salina*)

Telur udang ditetaskan dalam wadah berisi air laut. Selama penetasan wadah diberi *aerator* untuk sirkulasi udara dalam wadah. Telur mulai menetas setelah 24 jam dan bergerak aktif pada umur 36-48 jam. Umur *A. salina* 48 jam ini yang dikenal sebagai *nauplii Artemia* yang digunakan pada uji BSLT.

Pembuatan Larutan Ekstrak dan Pengujian Toksisitas

Sebanyak 10 mg ekstrak metanol dilarutkan dalam air laut sampai volume 5 mL (2.000 ppm) sebagai larutan A. Sebanyak 0,5 mL larutan A dipipet dan diencerkan menjadi 5 mL (200 ppm) sebagai larutan B. Sebanyak 0,5 mL larutan B dipipet dan diencerkan menjadi 5 mL (20 ppm) sebagai larutan C. Sebanyak 10 mg ekstrak *n*-heksana dilarutkan dalam 50 µL DMSO dan air laut sampai volume 5 mL. Selanjutnya ekstrak *n*-heksana diperlakukan sama seperti ekstrak metanol. Selanjutnya dari larutan A, B, dan C masing-masing dipipet sebanyak 100 µL dan ditambahkan 10 ekor larva udang dan air laut hingga volume total 200 µL. Setiap konsentrasi dibuat dalam 3 kali ulangan. Sebagai blanko digunakan air laut sebanyak 200 µL dan 10 ekor larva udang. Campuran dibiarkan selama 24 jam. Setelah 24 jam dihitung jumlah larva udang yang mati pada masing-masing wadah. Nilai LC50 ditentukan menggunakan analisis probit.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi

Ekstraksi daun kelopak tambahan dilakukan secara berurutan. Pertama digunakan *n*-heksana sebagai pengekstrak selanjutnya ampasnya diekstraksi kembali dengan metanol. Perbedaan polaritas pelarut diharapkan dapat mengekstraksi sempurna semua senyawa kimia yang ada dalam sampel. Penggunaan *n*-heksana diharapkan akan mengekstraksi senyawa-senyawa yang bersifat non polar, sedangkan metanol yang bersifat polar akan mengekstraksi semua senyawa yang belum terekstraksi oleh pelarut *n*-heksana. Dengan memperoleh hampir semua senyawa kimia yang ada maka diharapkan hasil uji toksisitas dengan metode BSLT dapat menjadi acuan untuk menentukan golongan senyawa kimia yang paling toksik dan menentukan ekstrak yang paling toksik atau aktif terhadap larva *A. salina* sehingga dapat memberikan gambaran bioaktivitas yang dimiliki oleh tumbuhan ini. Hasil ekstraksi dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rendemen ekstrak *n*-heksana dan metanol

Ekstrak	Jumlah ekstrak kasar (gram)	Rendemen (%)
<i>n</i> -heksana	18,28	1,22
metanol	178,86	11,92

Nilai rendemen pada Tabel 1 memperlihatkan bahwa pelarut metanol memiliki kemampuan mengekstraksi lebih baik daripada *n*-heksana. Ini menunjukkan

bahwa senyawa fitokimia golongan polar lebih banyak terdapat pada ekstrak daun kelopak tambahan dibandingkan senyawa yang bersifat non polar. Penggunaan pelarut yang berbeda ini juga memperlihatkan bentuk ekstrak yang berbeda. Ekstrak *n*-heksana berupa padatan berwarna coklat kehitaman sedangkan ekstrak metanol berupa pasta berwarna coklat kehitaman.

Skrining Fitokimia

Hasil skrining fitokimia pada serbuk daun kelopak tambahan dan ekstrak *n*-heksana dan metanol disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil skrining fitokimia pada serbuk daun kelopak tambahan dan ekstrak

Fitokimia yang diuji	Hasil Pengujian		
	Serbuk	Ekstrak <i>n</i> -heksana	Ekstrak Metanol
Ikaloid			
Pereaksi Mayer	+	-	-
Pereaksi Wagner	+	+	-
Pereaksi Dragendorf	+	+	+
Flavonoid anin	+	+	+
	+	-	+
Saponin	+	-	+
Triterpenoid	+	-	+
Steroid	-	+	+

Keterangan: + = ada; - = tidak ada

Hasil skrining fitokimia pada Tabel 2 menunjukkan bahwa serbuk daun kelopak tambahan permot mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan triterpenoid. Ketika daun kelopak tambahan diekstraksi dengan *n*-heksana terlihat bahwa tidak semua senyawa fitokimia yang terdapat pada serbuk daun kelopak tambahan terekstraksi pada pelarut yang digunakan. Pada ekstrak *n*-heksana terdapat alkaloid, flavonoid, dan steroid, sedangkan pada ekstrak metanol terdapat alkaloid, tanin, flavonoid, saponin, triterpenoid, dan steroid. Hal ini berkaitan dengan struktur senyawa fitokimia yang diuji sehingga mempengaruhi kelarutannya dalam pelarut tertentu. Terlihat bahwa tanin tidak terekstrak pada pelarut *n*-heksana, karena perbedaan sifat polaritas tanin dengan *n*-heksana. Tanin merupakan senyawa polifenol (Harborne, 1996) yang cenderung lebih mudah larut dalam pelarut polar seperti metanol. Saponin tidak terdapat pada ekstrak *n*-heksana dan menunjukkan hasil positif pada ekstrak metanol. Saponin merupakan glikosida dari triterpenoid atau steroid karena adanya gugus gula (karbohidrat) dalam struktur saponin, sehingga kelarutan senyawa ini dalam pelarut polar besar. Menurut Harborne (1996) saponin larut dalam air tetapi tidak larut dalam eter. Saponin bersifat polar sehingga dapat diekstraksi dengan menggunakan pelarut air dan pelarut organik jenis alkohol yang merupakan pelarut polar, dimana kepolaran air lebih besar

dibandingkan dengan alkohol. Triterpenoid dan steroid terekstrak pada pelarut metanol dan hanya steroid yang terekstrak dalam *n*-heksana. Penggunaan metanol sebagai pengeksrak dapat mengekstraksi semua senyawa fitokimia yang ada pada serbuk daun kelopak tambahan permot (*P. foetida*).

Penelitian tentang *Passiflora foetida* L telah dilakukan oleh Anam dan Kusri (2005). Berdasarkan penapisan fitokimia ekstrak etanol herba *P. foetida* mengandung flavonoid, kuinon, tanin, dan triterpenoid dan steroid, namun tidak ditemukan adanya alkaloid dan saponin. Jika dibandingkan hasil skrining fitokimia pada ekstrak metanol dengan hasil yang dilaporkan oleh Anam dan Kusri (2005) terlihat bagian tumbuhan yang berbeda akan menghasilkan uji fitokimia yang berbeda pula. Saponin terdapat pada daun kelopak tambahan dan tidak ditemukan pada herba menunjukkan kemungkinan tempat penyimpanan saponin ada di daun kelopak tambahan. Asumsi ini diperkuat oleh penelitian Reginatto *et al.* (2001) yang melaporkan bahwa ekstrak etanol air daun dari beberapa spesies *Passiflora* yang diuji seperti *P. actinia*, *P. alata*, *P. caerulea*, *P. edulis* var. *Flavicarpa*, *P. elegans*, *P. foetida*, *P. misera* dan *P. tenuifila* tidak terdapat saponin kecuali pada *P. alata*.

Uji Toksisitas

Uji toksisitas dengan BSLT merupakan skrining awal terhadap

senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak tanaman. Suatu ekstrak dianggap toksik bila memiliki nilai $LC_{50} < 1.000$ ppm (Meyer *et al.*, 1982). Nilai LC_{50} ekstrak *n*-heksana dan ekstrak metanol diperoleh menggunakan program SPSS 13,0 dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Nilai LC_{50} ekstrak *n*-heksana dan metanol.

Ekstrak	LC_{50} (ppm)	Kesimpulan
<i>n</i> -heksana	821,41	Toksik
metanol	546,56	Toksik

Tabel di atas menunjukkan bahwa ekstrak *n*-heksana dan metanol bersifat toksik terhadap larva *A. salina*. Ekstrak metanol memiliki LC_{50} yang lebih kecil daripada ekstrak *n*-heksana, artinya ekstrak metanol lebih toksik atau lebih aktif secara biologi daripada ekstrak *n*-heksana. Hasil kontrol dengan air laut menunjukkan bahwa tidak ada kematian larva *A. salina*. Hal ini berarti bahwa kematian larva *A. salina* disebabkan oleh senyawa-senyawa yang terdapat pada ekstrak tersebut dan bukan karena faktor lainnya. Menurut Restasari (2000) ekstrak dengan LC_{50} 0-30 ppm memiliki potensi sebagai antikanker, LC_{50} 30-200 ppm memiliki potensi sebagai antibakteri, sedangkan LC_{50} di atas 200 ppm memiliki potensi sebagai larvasida. Berdasarkan parameter di atas maka bisa dikatakan kalau ekstrak *n*-heksana dan metanol dapat dikembangkan lebih lanjut sebagai bahan larvasida.

KESIMPULAN

Skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak *n*-heksana mengandung alkaloid, flavonoid, dan steroid sedangkan ekstrak metanol mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, triterpenoid, steroid, dan saponin. Uji toksisitas dengan metode BSLT memperlihatkan bahwa ekstrak metanol lebih toksik atau aktif secara biologi (LC_{50} 546,56 ppm) daripada ekstrak *n*-heksana (LC_{50} 821,41 ppm).

DAFTAR PUSTAKA

- Anam, K. & K. Dewi, 2005, *Telaah Aktivitas Antibakteri Tumbuhan Obat Passiflora foetida L.* Laporan Penelitian FMIPA Universitas Diponegoro.
- Dalimartha, S., 2003, *Atlas Tumbuhan Indonesia* Jilid 3, Trubus Agriwidya, Jakarta.
- Dhawan, K., S. Dhawan, A. Sharma, 2004, *Passiflora: a review update*, *J. Ethnopharmacol*, **94**: 1-23.
- Dhawan, K., S. Dhawan, A. Sharma, 2002, *Suppression of Alcohol cessation oriented hyperanxiety by the benzoflavone moiety of Passiflora incarnate Linneaus in mice*. *J. ethnopharmacol*, **8** (1-2):239-244.
- D'Incao, M.P., G. Gosmann, V. Machado, L.M. Fiuza, G.R.P. Moreira. 2012. *Effect of Saponin Extracted from Passiflora alata Dryander (Passifloraceae) on development of the Spodoptera frugiperda (J.E. Smith) (Lepidoptera, Noctuidae)*. *International Journal of Plant Research*. **2** (5): 151-159.

- Echeverri, F. Arango, V. Quinones, W. Torres, F. Escobar, G. Rosero, Y. Archbold, R. 2001. Passifloricins, polyketides alpha-pyrone from *Passiflora foetida* resin. *Phytochemistry* 56: 881-885.
- Harborne, J.B. 1996. *Metode Fitokimia. Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Penerbit ITB, Bandung.
- Ingale, A.G & A.U. Hivrale. 2010. Pharmacological Studies of *Passiflora* sp. And Their bioactive Compounds. *African Journal of Plant Scienc*, 4 (10): 417-426
- Meyer, B.N., N.R. Feerigni, J.E. Putman, L.B. Jacobson, D.E. Nichols, J.L. McLaughlin, 1982, *Planta Medica*, 45: 31-34.
- Patil, A.S & H. M. Paikrao, 2012, Bioassay Guided Phytometabolites Extraction for Screening of Potent Antimicrobials in *Passiflora foetida* L. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, ISSN. Vol. 2: 137-142.
- Prihatman, K.. 2001, *Saponin untuk Pembasmi Hama Udang*, Laporan Hasil Penelitian, Pusat Penelitian Perkebunan Gembung, Bandung.
- Reginatto, F.H., C. Kauffmann, J. Schripsema, D. Guillaume, G. Gosmann and E. P. Schenkel, 2001, Steroidal and Triterpenoidal Glucosides from *Passiflora alata*. *J. BrazChemSoc*, 12: 32-36.
- Reginatto, F. H., G. Gosmann, J. Schripsema and E. P. Schenkel, 2004, HPLC/UV Assay of quadranguloside, the major saponin from *Passiflora alata* leaves. *Phytochemical Analysis*, 15: 195-197
- Sasikala, V. Saravanan, S. Parimelazhagan, T, 2011, Analgesic and Anti inflammatory Activities of *Passiflora foetida* L. *Asian Pasific Journal of Tropical Medicine Elsevier*. 600-603.
- Simirgiotis, M.J., G. Schmeda-Hirschmann, J. Borquez, E. J. Kennely. 2013. The *Passiflora* tripartite (Banana Passion) Fruit: A Source of Bioactive Flavonoid C-glikosydes Isolated by HSCCC and Characterized by HPLC-DAD-ESI/MS/MS, *Molecules*, 18: 1672-1692.