

ANALISIS KUALITATIF DAN UJI TOKSISITAS AKAR PEDADA (*Sonneratia ovata*)

Maria Dewi Astuti^{1*}, Mahrita Wulandari², Ratna Ardiyanti², Caroline Cenia Dwina Lila Novista², Kholifatu Rosyidah¹

¹Dosen PS Kimia FMIPA Universitas Lambung Mangkurat

²Mahasiswa PS Kimia FMIPA Universitas Lambung Mangkurat

Jalan A Yani km 36 Banjarbaru, Kalimantan Selatan

*Corresponding author: mdastuti@ulm.ac.id

Abstrak. Tumbuhan pedada merupakan salah satu tumbuhan mangrove yang banyak ditemukan di daerah pesisir pantai Kotabaru. Analisis kualitatif yang dilakukan meliputi skrining fitokimia, analisis kromatografi lapis tipis, dan analisis spektra infra merah dari akar pedada. Uji toksisitas dilakukan berdasarkan metode *Brine Shrimps Lethality Test* (BSLT). Hasil skrining fitokimia menunjukkan akar pedada mengandung senyawa tanin, saponin, flavonoid, alkaloid, dan senyawa pereduksi serta menunjukkan hasil yang negatif terhadap uji phlobotanin, karotenoid, antrakuionon bebas, antrakuinon gabungan, dan triterpenoid. Analisis KLT ekstrak metanol akar di dalam eluen kloroform:metanol (8:2) menunjukkan terdapat beberapa noda dengan Rf1 0,87 dan Rf2 0,25. Spektra infra merah menunjukkan adanya gugus -OH yang berikatan hidrogen pada bilangan gelombang 3422,53 cm⁻¹, C=O (1685,27 cm⁻¹), -C-H alifatik (2930,57 cm⁻¹ dan 2868,93 cm⁻¹), C=O (1685,27 cm⁻¹), C=C (1637,78 cm⁻¹, 1515,06 cm⁻¹, 1458,99 cm⁻¹) dan C-O (1238,58 cm⁻¹). Uji toksisitas menunjukkan keaktifan yang tinggi terhadap larva udang dengan nilai LC50 ekstrak akar sebesar 2,9597 ppm.

Kata kunci: pedada, *Sonneratia ovata*, uji toksisitas, fitokimia, KLT

1. PENDAHULUAN

Pedada adalah nama umum untuk tumbuhan dari genus *Sonneratia*, nama lainnya yaitu berembang (Malaysia), perepat, bogem (Jawa), pedada, rambai (Banjar) dan lain-lain. Genus *Sonneratia* terdiri atas 9 spesies (Wang & Chen, 2002), diantaranya *S. caseolaris* (pedada merah), *S. alba* (pedada putih), *S. apetala.*, *S. griffithi*, dan *S. ovata* (Gooutham-Bharathi *et al.*, 2012). Tumbuhan pedada (*Sonneratia ovata*) merupakan salah satu tumbuhan mangrove yang banyak ditemukan di pesisir pantai Kotabaru.

Tumbuhan ini telah dimanfaatkan masyarakat sebagai sumber pangan dan obat-obatan. Fermentasi air buah digunakan sebagai obat untuk menghentikan pendarahan, ekstrak air buah digunakan untuk mengobati batuk, bubur buah dipercaya mengobati kejang-kejang atau salah urat (Soeroyo, 1989). Buah, kulit, dan daun dari tumbuhan pedada telah digunakan dalam pengobatan tradisional untuk mengobati asma, demam, sariawan, hepatitis, keseleo, dan pendarahan (Bandaranayake, 2002). Kulit batangnya digunakan secara empiris sebagai penurun panas oleh masyarakat setempat. Khasiat ini berkaitan dengan senyawa-senyawa yang ada di kulit batang pedada. Akar pedada sering digunakan masyarakat sebagai gabus karena ringan dan berongga.

Walaupun akar pedada tidak digunakan oleh masyarakat dalam pengobatan, akan tetapi tidak menutup kemungkinan di dalam akar pedada terdapat senyawa-senyawa fitokimia yang bermanfaat bagi pengobatan. Berdasarkan hal itu maka perlu dilakukan analisis kualitatif fitokimia dan uji toksisitas ekstrak akar pedada asal Kotabaru Kalimantan Selatan.

Uji toksisitas yang digunakan berdasarkan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). Metode ini memiliki kolerasi dengan adanya daya sitotoksik senyawa-senyawa antikanker (Carballo *et al.*, 2002). Metode ini dilakukan dengan menentukan besarnya LC50 selama 24 jam. Suatu ekstrak tanaman dikatakan toksik jika nilai LC50 <1000 µg/mL (Meyer *et al.*, 1982).

2. METODE

2.1 Bahan dan Alat.

Bahan-bahan yang digunakan yaitu kulit batang tumbuhan pedada yang diperoleh dari desa Pantai Kotabaru, logam Mg, metanol, akuades, pereaksi Lieberman Buchard, pereaksi Wagner, pereaksi Dragendorff, pereaksi Mayer, plat KLT silika gel, dan lain-lain. Alat yang digunakan yaitu tabung reaksi, pipet tetes, penangas air, chamber, dan lain-lain.

2.2 Metode Penelitian

2.2.1 Skrining fitokimia (Ajayi *et al.*, 2011)

Uji Tanin. Sebanyak 1 gram sampel bubuk dididihkan dengan 20 mL air suling selama 5 menit di atas penangas air dan disaring selagi panas. Kemudian sebanyak 1 mL filtrat yang telah dingin diencerkan hingga volumenya menjadi 5 mL dan ditambahkan larutan FeCl₃ 10% sebanyak 2-3 tetes. Terbentuknya endapan berwarna hijau kebiruan atau endapan berwarna hijau kecoklatan menandakan adanya tanin.

Uji Saponin. Sebanyak 1 gram masing-masing sampel bubuk dididihkan dengan 10 mL air suling di atas penangas air selama 10 menit. Campuran kemudian disaring selagi hangat dan dibiarkan dingin. Sebanyak 2,5 mL filtrat diencerkan hingga volumenya menjadi 10 mL dengan air suling dan dikocok dengan kuat selama 2 menit. Terbentuknya busa yang banyak menandakan adanya saponin dalam filtrat.

Uji Phlobatanin. Setiap sampel dididihkan dengan menggunakan larutan HCl 1%. Terbentuknya endapan merah menandakan adanya phlobatanin.

Uji Terpenoid. Sebanyak 5 mL setiap ekstrak sampel dicampurkan dengan 2 mL larutan kloroform. Kemudian sebanyak 3 mL H₂SO₄ ditambahkan agar campuran membentuk lapisan. Terbentuknya endapan berwarna coklat kemerahan menandakan adanya terpenoid.

Uji Flavonoid. Sebanyak 1 gram masing-masing sampel bubuk digerus dengan 10 mL metanol dan disaring. Kemudian sebanyak 1 mL filtrat ditambahkan serbuk Mg dan beberapa tetes HCl pekat. Terbentuknya warna kuning, oranye, merah menandakan adanya flavonoid.

Uji Glikosida Jantung. Sebanyak 5 mL dari masing-masing ekstrak sampel ditambahkan 2 mL larutan asam asetat glasial yang mengandung 1 tetes larutan FeCl₃. Kemudian sebanyak 1 mL asam sulfat ditambahkan ke dalam larutan. Terbentuknya suatu cincin coklat pada permukaan menandakan adanya kardenolida (glikosida jantung). Suatu cincin yang berwarna ungu mungkin akan nampak di bawah cincin yang berwarna coklat. Sementara pada saat berada dalam lapisan asam asetat, secara berangsur-angsur akan terbentuk lapisan yang berwarna kehijau-hijauan di bawah cincin yang berwarna ungu sebelumnya.

Uji Antrakuinon Gabungan. Sebanyak 1 gram masing-masing sampel bubuk dididihkan dengan 2 mL larutan HCl 10% selama 5 menit. Campuran kemudian disaring selagi panas dan dibiarkan dingin. Filtrat yang telah dingin dipartisi terhadap volume yang sama dengan menggunakan kloroform. Lapisan kloroform dipindahkan ke dalam tabung reaksi yang kering dan bersih dengan menggunakan pipet. Larutan amoniak 10% dengan volume yang sama ditambahkan ke dalam lapisan kloroform, dikocok dan dibiarkan terpisah. Terbentuknya larutan berwarna merah muda menandakan adanya antrakuinon.

Uji Antrakuinon Bebas. Sebanyak 5 mL kloroform ditambahkan ke dalam 0,5 gram masing-masing sampel. Campuran dikocok selama 5 menit dan disaring. Filtrat kemudian ditambahkan larutan amoniak 10% dengan volume yang sama. Terbentuknya larutan berwarna merah muda cerah dalam lapisan berair menandakan adanya antrakuinon bebas.

Uji Karotenoid. Sebanyak 1 gram masing-masing sampel diekstraksi dengan 10 mL larutan kloroform dalam tabung uji dan dikocok dengan kuat. Campuran yang dihasilkan kemudian disaring dan ditambahkan larutan H₂SO₄ 85%. Terbentuknya larutan berwarna biru pada permukaan menandakan adanya karotenoid.

Uji Senyawa Pereduksi. Sebanyak 1 gram masing-masing sampel dalam tabung uji ditambahkan 10 mL air suling dan campuran dididihkan selama 5 menit. Campuran kemudian disaring selagi panas. Filtrat yang telah dingin dibuat alkali dengan menambahkan larutan NaOH 20%. Larutan kemudian dididihkan dengan menggunakan larutan benedict kualitatif dengan volume yang sama di atas penangas air. Terbentuknya endapan berwarna merah bata menunjukkan adanya keberadaan senyawa pereduksi.

Uji Alkaloid. Sebanyak 1 gram sampel bubuk dididihkan dengan menggunakan air suling dan 10 mL asam HCl di atas penangas air dan disaring. Larutan amoniak ditambahkan untuk menyesuaikan pH filtrat hingga menjadi 6-7. Kemudian sebanyak 0,5 mL filtrat ditambahkan pereaksi reagen Mayer, reagen Wagner dan reagen Dragendorf ditambahkan dalam jumlah yang sedikit. Terbentuknya endapan putih pada pereaksi Mayer, endapan coklat pada pereaksi Wagner, dan endapan jingga muda pada pereaksi Dragendorf menandakan bahwa sampel positif terdapat alkaloid.

2.2.2 Analisis KLT

Ekstrak metanol kulit batang ditotolkan pada plat KLT ukuran 1,5 x 5 cm. Plat KLT dielusi menggunakan eluen kloroform:metanol (8:2) dan eluen butanol:air:asam asetat (4:1:5).

2.2.3 Analisis spektra infra merah

Ekstrak metanol dianalisis dengan spektrofotometer infra merah pada bilangan gelombang 400-4000 cm^{-1} .

2.2.4 Uji toksisitas

Penetasan telur larva udang dilakukan pada air laut buatan dan dibantu dengan menggunakan aerator selama 24 jam. Air laut buatan dibuat dari garam laut sebanyak 20 gram yang dilarutkan dalam 1 L akuades. Ekstrak akar, tumbuhan pedada ditimbang sebanyak 100 mg dan dilarutkan dalam 100 mL air laut buatan. Ekstrak n-heksana dan etil asetat tumbuhan pedada ditambahkan terlebih dahulu dengan larutan DMSO sebanyak 1 mL. Larutan kemudian diencerkan sehingga mendapatkan konsentrasi 10 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 500 ppm, dan 1000 ppm. Larutan kontrol negatif dibuat dengan menggunakan air laut buatan tanpa penambahan ekstrak dan larutan kontrol negatif menggunakan air laut buatan yang ditambahkan larutan DMSO. Sebanyak 20 ekor larva udang yang berumur 24 jam dimasukkan ke dalam botol vial yang telah berisi ekstrak tumbuhan pedada dan kontrol negatif. Uji toksisitas ini dilakukan dengan membandingkan dengan larutan kontrol dan diulangi sebanyak 3 kali. Uji toksisitas dilakukan selama 24 jam dan diamati persen kematian larva udang.

Data yang diperoleh dari penelitian ini berupa nilai LC50 yang didapatkan dari perhitungan statistik menggunakan analisis probit. Uji toksisitas dilihat dengan mengamati jumlah kematian dari larva udang dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Kematian} = (\text{Jumlah larva mati}) / (\text{Jumlah larva uji}) \times 100\% \quad \dots(1)$$

Nilai LC50 diperoleh dengan analisis probit berdasarkan rumus regresi linier dengan cara membuat grafik hubungan antara log konsentrasi ekstrak (x) dengan nilai probit (y). Nilai LC50 didapatkan dengan memasukkan nilai y = 5. Nilai x dihitung dengan persamaan sebagai berikut:

$$y = a + bx \quad \dots(2)$$

Keterangan :

y : nilai probit

a : konsentrasi regresi

b : slope

x : logaritma konsentrasi uji

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Skrining Fitokimia

Tabel 1. Hasil skrining fitokimia akar pedada

Fitokimia	Hasil pengamatan	Kesimpulan
Tanin	Terbentuk endapan biru kehitaman	+
Phlobotanin	Tidak menghasilkan endapan merah bata	-
Saponin	Menghasilkan busa stabil	+
Flavonoid	Larutan berwarna merah kecoklatan	+
Karotenoid	Tidak menghasilkan warna biru di lapisan atas. Larutan berwarna coklat kemerahan	-
Antrakuinon bebas	Tidak menghasilkan warna merah muda cerah di lapisan atas. Larutan terbentuk 2 lapisan tidak berwarna.	-
Antrakuinon gabungan	Tidak menghasilkan warna merah muda. Larutan berwarna kuning minyak.	-
Alkaloid	Menghasilkan endapan putih pada pereaksi Mayer, menghasilkan endapan jingga muda pada pereaksi dragendorf dan menghasilkan endapan coklat pada pereaksi wagner.	+
Terpenoid	Tidak menghasilkan endapan coklat kemerahan. Endapan berwarna coklat muda	-
Glikosida jantung	Tidak terdapat cincin berwarna coklat di permukaan larutan dan tidak terbentuk cincin berwarna ungu di bawah cincin berwarna coklat. Larutan berwarna coklat kemerahan	-



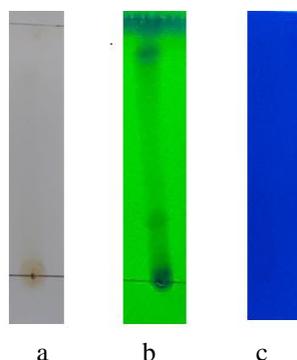
Gula pereduksi	Menghasilkan endapan merah bata. Larutan berwarna hijau tua	+
----------------	---	---

Tabel 1 menunjukkan pada akar pedada (*S. ovata*) terdapat tannin, saponin, flavonoid, alkaloid, dan gula pereduksi. Keberadaan saponin, flavonoid, dan alkaloid pada akar pedada juga telah dilaporkan oleh Srinengri *et al.*, (2019) pada akar pidada (*S. caseolaris*). Antrakuinon, baik antrakuinon bebas atau gabungan tidak teridentifikasi di dalam *S. ovata*, walaupun dilaporkan kuinon teridentifikasi di *S. caseolaris* (Srinengri *et al.* 2019). Antrakuinon dan karotenoid merupakan pigmen tumbuhan yang berwarna coklat kemerahan untuk antrakuinon dan warna kuning, jingga hingga merah untuk karotenoid. Secara visual akar pedada tidak berwarna kemerahan atau jingga. Penelitian Niken *et al.* (2019) menunjukkan keberadaan golongan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, fenolat, tannin dan steroid pada buah pedada merah (*S. caseolaris*). Pada akar *S. ovata* tidak teridentifikasi triterpenoid dan steroid, walaupun pada spesies yang lain yaitu *S. caseolaris* bagian akar dan buahnya mengandung steroid (Srinengri *et al.*, 2019; Niken *et al.*, 2019).

Pada dasarnya produksi metabolit sekunder tertentu pada tumbuhan telah diatur secara genetik, akan tetapi perbedaan tempat tumbuh spesies-spesies *Sonneratia* dapat mempengaruhi produksi metabolit sekunder yang bisa diidentifikasi berdasarkan hasil skrining fitokimia yang dapat berbeda pula. Senyawaan fitokimia seperti flavonoid, alkaloid, saponin, tannin dan lain-lain yang diproduksi oleh tumbuhan dapat berpotensi toksik terhadap herbivora atau mikroorganisme yang selanjutnya dapat berperan dalam mekanisme perlindungan diri tumbuhan (Wittstock & Gershenzon, 2002).

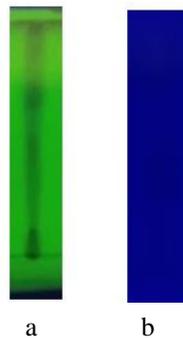
3.2. Analisis Kromatografi Lapis Tipis

Ekstrak metanol akar dianalisis dengan kromatografi lapis tipis dengan fase diam Silika gel. Eluen yang digunakan adalah Kloroform:metanol (8:2). Kromatogram KLT ekstrak metanol akar (Gambar 1) di bawah lampu UV 254 menunjukkan bahwa terdapat 2 noda dengan Rf yang cukup jauh, yaitu Rf1 0,87 dan Rf2 0,25. Dengan melihat pola KLT ini maka pemisahan ekstrak metanol akar pedada lebih mudah dilakukan dengan cara partisi cair-cair. Selain itu pada kromatogram juga terlihat masih ada noda yang tertahan di garis start artinya masih ada senyawa yang tertahan pada silika gel bila digunakan eluen tersebut. Kromatogram KLT ekstrak akar menunjukkan tidak adanya senyawa-senyawa yang berflouresensi di bawah lampu UV 366.



Gambar 1. Kromatogram KLT ekstrak akar di bawah sinar tampak (a), sinar UV 254 (b), sinar UV 366 (c)

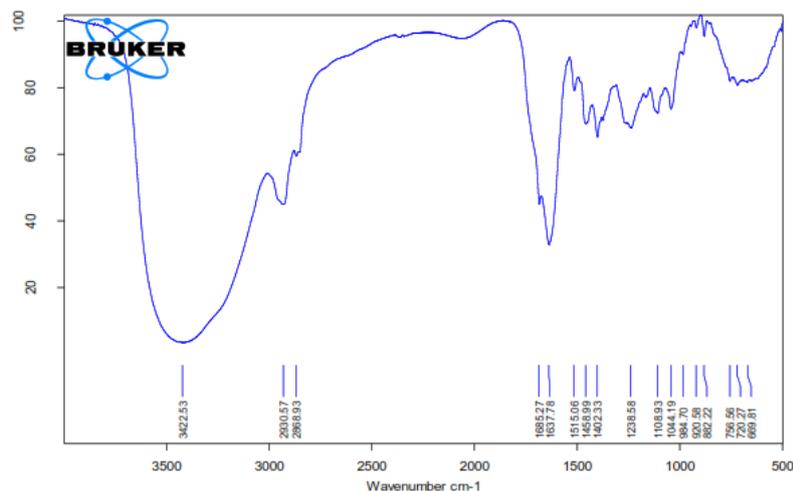
Karena masih ada senyawa tertahan pada kromatogram KLT menggunakan eluen kloroform: metanol (8:2) maka dilakukan elusi KLT dengan eluen yang lebih polar, yaitu butanol:air:asam asetat (4:1:5). Kromatogram KLT pada Gambar 2 menunjukkan noda yang lebih banyak dibandingkan kromatogram KLT dengan eluen kloroform:metanol (8:2) walaupun pemisahannya tidak terlalu baik.



Gambar 2. Kromatogram KLT ekstrak akar pedada di bawah lampu UV 254 (a) dan UV 366 (b)

3.3. Analisis Spektra Infra Merah

Spektra infra merah akar pedada (Gambar 2) menunjukkan gugus -OH yang berikatan hidrogen pada bilangan gelombang $3422,53\text{ cm}^{-1}$, C=O ($1685,27\text{ cm}^{-1}$), -C-H alifatik ($2930,57\text{ cm}^{-1}$ dan $2868,93\text{ cm}^{-1}$), C=O ($1687,27\text{ cm}^{-1}$), C=C ($1637,78\text{ cm}^{-1}$, $1515,06\text{ cm}^{-1}$, $1458,99\text{ cm}^{-1}$) dan C-O ($1238,58\text{ cm}^{-1}$). Adanya vibrasi khas C=C aromatis mendukung identifikasi adanya senyawa fenolat pada akar pedada seperti flavonoid dan tannin.



Gambar 3. Spektra infra merah ekstrak akar pedada

3.4. Uji Toksisitas

Uji toksisitas ekstrak akar pedada berdasarkan metode BSLT. Metode ini merupakan prskrining untuk uji antikanker. Menurut Meyer (1982), suatu ekstrak dikatakan memiliki efek toksik apabila memiliki $LC_{50} < 1000$ ppm. Data penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol akar pedada menunjukkan keaktifan yang tinggi terhadap larva udang, dengan LC_{50} 2, 9597 ppm. Dengan LC_{50} kurang dari 10 ppm, maka ekstrak akar pedada memiliki potensi sebagai antikanker.

4. SIMPULAN

Skrining fitokimia, analisis KLT dan analisis gugus fungsi memberikan informasi keberadaan senyawa fitokimia pada akar pedada (*S. ovata*) dan uji toksisitas menunjukkan keaktifan yang tinggi terhadap larva udang *Artemia salina*.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh Dana DIPA PNBPN ULM tahun anggaran 2020 melalui Program Penelitian Dosen Wajib Meneliti.

6. DAFTAR PUSTAKA

- Ajayi, I.A., O. Ajibade & R.A. Oderinde. (2011). Preliminary Phytochemical Analysis of Some Plant Seeds. *Research Journal of Chemical Sciences*. 1(3): 58-62.
- Bandaranayake, W.M. (2002). *Wetl. Eco. Manag.* 10: 421
- Carballo, J.L., Z.L. Hernandez, P. Perez, & M.D. Garcia. (2002). Comparison between two brine shrimp assays to detect in vitro cytotoxicity in marine natural products. *BMC Biotechnology*. 2:1472-6570
- Goutham-Bharathi, M.P, M. Kaliyamoorthy, S. D. Roy, P. Krishnan, G. George, and C. Murugan. (2012). *Sonneratia ovata* (Sonneratiaceae) — A New Distributional Record for India from Andaman and Nicobar Islands. *Taiwania*. 57(4): 406-409
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nicholas, D. E. & Mc Laughlin, J. L. (1982). "Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituent". *Drug Information Journal*. (45): 31-34
- Niken, I. L. E. Putri, F. R. Gusti. (2019). Uji Senyawa Fitokimia Buah Pedada Merah (*Sonneratia caseolaris*) di Kawasan Hutan Mangrove Mangguang Kota Pariaman. *Jurnal Kesehatan Saintika Meditory*. 1 (2): 44-49.
- Srinengri, L., H. Arryati, & Yuniarti. (2019). Identifikasi Kandungan Fitokimia Tumbuhan Pidada (*Sonneratia caseolaris*) dari Hutan Mangrove. *Jurnal Sylva Scienteeae*. 2 (4): 605-611
- Wang, R. J. & Z. Y. Chen.(2002). Systematics and biogeography study on the family Sonneratiaceae. *Guihaia*. 22: 214-219
- Wittstock U, & Gershenzon J. (2002). Constitutive plant toxins and their role in defense against herbivores and pathogens. *Curr Opin Plant Biol*. 5:1-8.

