UJI FITOKIMIA DAN TOKSISITAS EKSTRAK METANOL KULIT KAYU TUMBUHAN CEP-CEPEN (*Castanopsis costata* BL.) TERHADAP LARVA UDANG (*Artemia salina* Leach)

OLEH :

DRS. TATA BINTARA KELANA, M.Si.
DRS. KHAIRUL SALEH

Dosen Kopertis Wilayah I Sumatera Utara
dpk. Universitas Medan Area

FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS MEDAN AREA
MEDAN
2006

UNIVERSITAS MEDAN AREA

LAPORAN PENELITIAN

UJI FITOKIMIA DAN TOKSISITAS EKSTRAK METANOL KULIT KAYU TUMBUHAN CEP-CEPEN (*Castanopsis costata* BL.) TERHADAP LARVA UDANG (*Artemia salina* Leach)

UNIVERSITAS MEDAN AREA
PERPUSTAKAAN PUSAT

OLEH :

DRS. TATA BINTARA KELANA, M.Si.
DRS. KHAIRUL SALEH

Dosen Kopertis Wilayah I Sumatera Utara
dpk. Universitas Medan Area

FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS MEDAN AREA
M E D A N
2 0 0 6

LAPORAN PENELITIAN

I.Judul Penelitian	: Uji Fitokimia dan Toksisitas Ekstrak methanol Kulit K
	Tumbuhan Cep-cepen(*Castanopsis costata* BL)
II.Bidang Ilmu	: Kimia Organik Bahan Alam
III. Jenis Pelitian	: Penelitian Dasar
IV. Identitas Peneliti	
Ketua Peneliti	
Nama	: Drs Tata Bintara Kelana MSi
N I P	: 131 967 679
Universitas	: Universitas Medan Area
Anggota Peneliti	
Nama	: Drs Khairul Saleh
NIP	: 131675581
Universitas	: Universitas Medan Area
V.Lokasi Penelitian	: Lab.Kimia Universitas Medan Area dan Lab.Mikrobiologi FMIPA - Universitas Sumatra Utara
VI Lama Penelitian	: 3 bulan
VII. Jumlah Dana	: Rp 4.000.000,- (Empat Juta Rupiah)
VIII. Sumber Dana	: DirJen Dikti

Medan , Desember – 2006

Mengetahui,
Ketua Lembaga Penelitian

Ir Rodswendy

Ketua Peneliti,

Drs. Tata Bintara Kelana MSi.

Mengetahui,
Dekan.

Ir. E.Harso Kardhinata MSc.

RINGKASAN

Hutan tropis Indonesia kaya dengan sumber daya alam hayati yang merupakan sumber senyawa-senyawa kimia seperti terpenoida, steroida, alkaloida, dan lain-lainnya yang pada umumnya mempunyai bioaktivitas. Berdasarkan inventarisasi, dan survey etnobotani yang dilakukan di hutan Tangkahan Taman Nasional Gunung Leuser Kabupaten Langkat, Sumatera Utara yang banyak dihuni oleh suku Karo yang telah mengenal dan sekaligus memanfaatkan beberapa jenis tumbuhan yang berpotensi sebagai obat tradisional, dijumpai jenis tumbuhan obat yang dikenal dengan nama daerah Cep-cepen (*Castanopsis costata* BL) yang dimanfaatkan sebagai obat sakit .perut(obat mag).

Tumbuhan Cep-cepen (*Castanopsis costata* BL) yang dalam pemanfaatannya secara tradisional memanfaatkan bagian kulit batang maupun bagian daun, diharapkan dapat dibudidayakan oleh masyarakat , dan bila potensi tumbuhan ini sebagai obat tradisional sangat baik, maka tumbuhan ini akan memiliki nilai ekonomis yang tinggi dan dapat menjadi komoditas yang penting di masa depan bagi masyarakat di sekitar hutan Tangkahan. Nasional Gunung Leuser Kabupaten Langkat, Sumatera Utara

Penelitian terhadap ekstrak kulit batang tumbuhan yang pemeriksaannya dilaksanakan dengan 100g kulit batang tumbuhan Cep-cepan (*Castanopsis costata* BL) yang dimaserasi dengan methanol sebanyak 1200 ml dan diulang 5 kali maserasi. Maserat dipekatkan dengan vacum, dan

UNIVERSITAS MEDAN AREA

diperoleh berat ekstrak pekat methanol = 5,7 g. Uji pendahuluan fitokimia memperlihatkan adanya senyawa kelompok flavonoida. Uji toksisitas ekstrak methanol kulit batang tumbuhan tumbuhan Cep-cepan (C.costata BL) dengan metode *"Brine shrimp Lethality Assays"* diperoleh LC_{50} = 72,36 ug/mL, data dianalisis dengan mengunakan program Finney. Dari hasil tersebut dapat dinyatakan bahwa ekstrak methanol kulit batang tumbuhan Cep-cepan (*Costanopsis Costata* BL), aktif terhadap uji " *Brine Shrimp Lethality Assays* ".

Kata kunci : *Brine Shrimp Lethality Assays, Costanopsis costata.*BL, LC_{50}. Toksisitas.

UNIVERSITAS MEDAN AREA

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah penulis panjatkan puji syukur ke hadirat Allah SWT, atas Rahmat dan Karunianya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan laporan penelitian yang berjudul" **Uji Fitokimia Dan Toksisitas Ekstrak Metanol Kulit Kayu Tumbuhan Cep-cepen(*Castanopsis costata*.BL) terhadap Larva Udang(*Artemia salina* Leach)"**

Laporan ini merupakan hasil penelitian yang dilakukan di Laboratorium Kimia Universitas Medan Area Medan dan di Laboratorium Mikrobiologi Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan AlamUniversitas Sumatera Utara Medan, hasil survey di lapangan dan hasil studi pustaka.

Penulis menyadari dalam menyelesaikan penelitian ini banyak mendapat bantuan dari beberapa pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. DR. Dwi Suryanto selaku Ketua Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sumatera Utara yang telah membantu memberikan arahan selama penelitian ini dilaksanakan.
2. Bapak Dekan Fakultas Biologi Universitas Medan Areayang telah memberikan bantuan moril kepada penulis selama pelaksanaan penelitian ini.

UNIVERSITAS MEDAN AREA

3. Ibu Koordinator Kopertis Wilayah I Sumut - NAD yang telah memberi kesempatan dan bantuan dana untuk terlaksananya penelitian ini hingga selesai.

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi yang bermanfaat untuk pengembangan ilmu kimia bahan alam dan menambah informasi tentang bio aktivitas tumbuhan Cepcepen(*Castanopsis costata*.BL).

Akhirnya penulis berharap semoga penelitian ini dapat bermanfaat bagi semua pembaca sekalian.

Medan, Desember 2006

Penulis

UNIVERSITAS MEDAN AREA

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR i

DAFTAR ISI iii

DAFTAR TABEL v

DAFTAR LAMPIRAN vii

BAB I. PENDAHULUAN 1

1.1. Latar Belakang 1

1.2. Perumusan Masalah 2

1.3. Tujuan Penelitian 3

1.4. Manfaat Penelitian 3

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA 4

2.1. Klasifikasi Tumbuhan 4

2.2. Morfologi Tumbuhan *Castanopsis costata* BL 4

2.3. Tempat tumbuh dan Beberapa Pemanfaatan 5

2.4. Penelitian Tumbuhan Obat 5

2.5 Metabolit Sekunder 7

BAB III. METODA PENELITIAN 11

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian 11

3.2. Pemeriksaan Alkaloida 12

3.3. Pemeriksaan Triterpenoida/ Steroida 13

3.4. Pemeriksaan Flavonoida 13

3.5. Pemeriksaan Fenolik 14

UNIVERSITAS MEDAN AREA

3.6. Pemeriksaan Kumarin 14

3.7. Uji Toksisitas 15

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN 17

4.1. Hasil 17

4.2. Pembahasan 18

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN 19

5.1. Kesimpulan 19

5.2. Saran 19

DAFTAR PUSTAKA 21

LAMPIRAN 23

UNIVERSITAS MEDAN AREA

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Metanol Kulit Batang Tumbuhan Cep-cepen *Castanopsis costata* BL

Tabel 2. Hasil Uji Toksisitas Ekstrak Metanol Kulit Batang Tumbuhan Cep-cepen *Castanopsis costata* BL

UNIVERSITAS MEDAN AREA

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Isolasi Ekstrak Metanol Kulit Batang Tumbuhan Cep-cepen (*Castanopsis costata* BL)

Lampiran.2 . Skema Kerja Uji " Brine Shrimp "

Lampiran 3. Tabel 1.Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Metanol Kulit Batang Tumbuhan Cep-cepen *Castanopsis costata* BL

Lampiran 4. Tabel 2. Hasil Uji Toksisitas Ekstrak Metanol Kulit Batang Tumbuhan Cep-cepen *Castanopsis costata* BL

UNIVERSITAS MEDAN AREA PERPUSTAKAAN PUSAT

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Hutan tropika kaya akan kelompok tumbuhan jenis menjalar, herba dan terutama sekali dari jenis berkayu. Menurut perkiraan tumbuh – tumbuhan tropika terdapat di daerah luas seluas 9 juta km^2 atau 7% dari luas daratan bumi, diantaranya 5 juta km^2 berada didaerah tropika Amerika, dan masing – masing 2 juta km^2 di Asia dan Afrika (Achmad, 2001).

Inventarisasi yang sistematik, survey etnobotani dan fitokimia dari tumbuhan Sumatera sudah dimulai dua dekade yang lalu. Hal ini disertai dengan studi kimia khususnya mengenai metabolit sekunder antara lain : alkaloid, terpenoid dan flavonoid. Selama 5 tahun terakhir, dari 4534 tumbuhan berbunga yang berbeda yang dikoleksi dari hutan Sumatera dan uji metabolit sekunder yang utama, lebih dari 700 tanaman yang dikoleksi memiliki nilai tradisional sesudah diekstraksi dan telah dilakukan uji pendahuluan terhadap aktifitas antimikroba dan jamur (Arbain, 2001).

Keberadaan senyawa – senyawa kimia yang dijumpai pada tumbuh – tumbuhan merupakan hasil dari proses biosintesis. Yang dilakukan tumbuh –

UNIVERSITAS MEDAN AREA

tumbuhan, dan senyawa tersebut banyak yang memiliki khasiat antara lain sebagai pelindung terhadap penyakit atau pemangsa (Achmad, 2001).

Bervariasinya kandungan senyawa yang terdapat di dalam tumbuhan dapat disebabkan oleh pengaruh perbedaan letak geografis, perubahan iklim, perbedaan morfologis, dan berbedanya bagian tumbuhan yang digunakan (Collegate and Molyneux, 1993).

Pada masyarakat yang tinggal di sekitar hutan Tangkahan Taman Nasional Gunung Leuser Kabupaten Langkat, Sumatera Utara yang banyak dihuni oleh suku Karo, telah mengenal dan sekaligus memanfaatkan beberapa jenis tumbuhan yang berpotensi sebagai obat tradisional. Tumbuhan yang biasa digunakan antara lain dikenal dengan nama daerah Cep-cepen (*C. costata)* yang dimanfaatkan sebagai obat sakit perut bagian dalam atau mag yang mungkin berpotensi untuk dikembangkan menjadi obat anti kanker. Penggunaan beberapa jenis tumbuhan obat oleh masyarakat di daerah Tangkahan masih berdasarkan informasi yang turun temurun, dan belum diteliti secara ilmiah (Mumpuni, 2004).

1.2. Perumusan Masalah

Metabolit sekunder yang terdapat pada tumbuhan beraneka ragam jenisnya, begitu juga dengan kandungan kimianya. Hal ini dapat disebabkan oleh pengaruh letak geografis, perubahan iklim, perbedaan morfologis, perbedaan varitas dan perbedaan bagian tumbuhan yang diteliti. Aktivitas ekstrak dan zat

UNIVERSITAS MEDAN AREA

murni dari daun tumbuhan dipengaruhi oleh kandungan metabolit sekunder yang dikandungnya.

Berdasarkan hal tersebut penulis tertarik untuk meneliti bagaimana kandungan metabolit sekunder dan toksisitas ekstrak metanol kulit kayu tumbuhan Cep-cepen (*C. costata)* yang berpotensi sebagai obat tradisional yang berasal dari kawasan Hutan Tangkahan Taman Nasional Gunung Leuser Kabupaten Langkat, Sumatera Utara.

1.3. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder dan toksisitas ekstrak metanol kulit kayu tumbuhan Cep-cepen (*C. costata)* yang berasal dari Hutan Tangkahan Taman Nasional Gunung Leuser Kabupaten Langkat, Sumatera Utara, dengan metoda "Brine Shrimp Lethality Assays".

1.4. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan memberikan informasi tentang kandungan kimia dan toksisitas ekstrak metanol kulit kayu tumbuhan Cep-cepen (*C. costata)* dari Hutan Tangkahan Taman Nasional Gunung Leuser Kabupaten Langkat, sumatera Utara, memberikan sumoangan berarti dalam pengembangan pengetahuan tanaman obat serta berguna dalam pengembangan obat – obatan terutama senyawa anti kanker yang berasal dari tumbuh – tumbuhan.

UNIVERSITAS MEDAN AREA

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Klasifikasi Tumbuhan

Tumbuhan Cep-cepen(*Castanopsis costata* BL)dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Divisio	: Magnoliophyta.
Kelas	: Magnoliopsida.
Ordo	: Fagales
Famili	: Fagaceae
Genus	: Castanopsis.
Species	: *Castanopsis costata* BL

2.2. Morfologi Tumbuhan *Castanopsis costata* BL

Pohon besar maupun kecil, tidak berduri, kulit abu-abu, tidak bergetah, berbulu, daun berseling, bentuk daun seragam, kulit daun berlilin dan ada yang tidak berlilin, tulang daun menjulur dari tulang tengah. Bunga berkelompok di ujung ranting, bunga jantan dan betina dijumpai pada satu pohon yang sama, benang sari 10–15, jumlah biji 100 biji per buah (Jarvie, 1996).

UNIVERSITAS MEDAN AREA

2.3. Tempat tumbuh dan Beberapa Pemanfaatan

Tumbuhan Cep-cepen(*Castanopsis costata* BL) merupakan tumbuhan yang dijumpai juga di daerah Lundayeh (Sabah), yang mana buah dari tumbuhan ini dapat dimakan dan memiliki nama daerah berangan.

Tumbuhan cep-cepen (C.*costata* BL) merupakan tumbuhan yang berfungsi sebagai tumbuhan pelindung, tumbuhan ini bisa dijumpai di daerah berair, meliputi pinggiran sungai, tanah tempat tumbuhan – tumbuhan ini merupakan tanah liat berpasir, ketinggian tempat tumbuh tumbuhan ini dari permukaan laut antara 30 – 70 m dari permukaan laut . Beberapa tumbuhan *C.costata* BL yang lain dapat juga dijumpai sebagai tumbuhan pelindung dan tubuh di hutan sekunder.

Jumlah species yang ada menurut pustaka yang diperloleh ada di jumpai sekitar 120. Tumbuhan ini merupakan tumbuhan asli kawasan tropis dan sub tropis asia. (Jarvie, 1996).

2.4. Penelitian Tumbuhan Obat

Penelitian untuk mendapatkan senyawa aktif biologi atau yang berkhasiat sebagai obat dari tumbuh – tumbuhan dapat dilakukan secara bertahap dengan menggunakan beberapa pendekatan antara lain :

1.Dimulai dengan mengamati bagaimana penggunaannya sebagai obat tradisional pada masyarakat

UNIVERSITAS MEDAN AREA

2.Melakukan seleksi secara random terhadap sejumlah species tumbuhan

3.Melakukan studi kemotaksonomi yaitu menghubungkan antara kandungan metabolit sekunder dari suatu species atau genus yang saling berhubungan dalam klasifikasi taksonominya

4.Melakukan penelitian terhadap sejumlah tumbuhan yang berasal dari suatu daerah atau lokasi yang sama dan diuji aktivitasnya dan diupayakan mencari senyawa aktifnya.

5.Melakukan studi terhadap species atau jenis tertentu yang mengandung senyawa golongan metabolit sekunder tertentu saja.

Penelitian tentang senyawa anti kanker pada tumbuh – tumbuhan dilakukan sejak tahun 1950. Dan sampai tahun 1980-an telah ditemukan 4 senyawa penting yang secara klinis telah teruji sebagai senyawa anti kanker anatar lain : vincristine dan vinblastine. Sedangkan Nasional Cancer Institute (NCI) telah melakukan penelitian terhadap *Podoplylluni peltatum* dan didapatkan senyawa anti kanker tenoposide dan etoposide (Cordell, 1993).

Pengujian yang bertahap untuk mendapatkan senyawa anti kanker merupakan proses yang tidak mudah dan seringkali ekstrak atau hasil fraksinasi bahkan senyawa murni yang pada pengujian awal bersifat sitotoksik, ternyata pada pengujian selanjutnya tidak memenuhi syarat sebagai obat kanker (Cordell, 1993).

UNIVERSITAS MEDAN AREA

2.5 Metabolit Sekunder

Beberapa metabolit sekunder yang dapat dijumpai dalam tumbuhan antara lain alkaloid, terpenoid, kumarin, dan steroid.

Alkaloid merupakan senyawa bahan alam yang heterogen sehingga sukat didefenisikan secara akurat (Miller, 1973). Alkaloid mempunyai tipe struktur, biosintesis, dan aktifitas farmakologi yang beranekaragam oleh karena itu sampai saat ini belum ada kesepakatan para ahli tentang batasan alkaloid (Cordell,1981).

Pada tahun 1819, Messner untuk pertama kalinya memperkenalkan istilah alkaloid yang berasal dari kata "Alkali" berarti basa dan "oid" berarti bersifat atau menyerupai, sehingga diperoleh pengertian bahwa alkaloid merupakan kelompok senyawa organik yang bersifat mirip alkali (Pelletier, 1983).

Menurut Harborne (1973), alkaloid adalah senyawa basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen, biasanya sistem siklik. Berdasarkan batasan yang diberikan oleh beberapa ahli dapat diambil gambaran umum bahwa alkaloid merupakan senyawa heterosiklik yang mempunyai aktifitas dan banyak digunakan dalam bidang pengobatan (Ikan, 1976).

Sumber alkaloid terbesar adalah tumbuh – tumbuhan tingkat tinggi, namun alkaloid juga didapat pada hewan dan mikroorganisme. Alkaloid tumbuhan umumnya terdapat pada sub division Angiospermae klas Dicotyledonae serta pada famili Solanaceae, Papaveraceae, Apocynaceae, Rubiaceae, dan kecuali Amarylidace dan Liliaceae yang berasal dari klas monocotyledonae. Dari

UNIVERSITAS MEDAN AREA

sejumlah famili tumbuhan yng mengandung alkaloid tidak seluruh genusnya mengandung alkaloid kecuali Papaveraceae (Cordell, 1981).

Kumarin, senyawa kumarin merupakan senyawa lakton asam o-hidroksisinama atau mempunyai rumus molekul $C_9H_6O_2$. Kebanyakan kumarin alam telah diisolasi dari tumbuhan tinggi, khususnya famili umbeliferae dan Rutaceae. Pada tumbuhan tinggi kumarin ditentukan pada semua bagian tumbuhan (Murray *et al*, 1985).

Penelitian senyawa bioaktif di Laboratorium sering dihambat oleh prodesur skrining yang kurang cocok, tidak sederhana dan tidak cepat. Salah satu prodesur yang paling sederhana untuk melakukan skrining bioaktivitas ini adalah dengan menggunakan metoda Brine Shrimp Lethality Assays, baik terhadap ekstrak kasar ataupun senyawa murni.

Prosedur Brine Shrimp ini merupakan suatu prosedur tahap awal dalam menentukan bioaktivitas. Prosedurnya sederhana, menggunakan larva udang air laut (*Artemia salina* Leach) yang telah berumur 48 jam. Brine Shrimp merupakan kelompok *Crustaceae* dalam subklas *Branchiopoda* dari *ordo Anostraca*, yang hidup dan terbesar luas dalam air payau sampai ultrasalina dan mempunyai toleransi yang tinggi dalam kadar garam dari 10 – 20 sampai 180 – 220 g/L sehingga membuat Brine Shrimp relatif mudah dibiakkan dan dipelajari.

UNIVERSITAS MEDAN AREA

cepat, sederhana, tidak mahal dan reproducible. Metoda yang digunakan adalah modifikasi dari metoda Zillioux *et al* menggunakan nauplii yang baru menetas (berumur 48 jam) (Collegate, 1993).

Untuk menguji toksisitas suatu senyawa, salah satu parameter yang bisa ditentukan adalah nilai LC_{50}, yaitu dengan menghitung jumlah nauplii yang mati setelah diberi perlakuan tertentu. Jumlah yang mati dihitung dengan program Finey dan didapatkan nilai LC_{50} suatu senyawa uji (Kelana , 2003).

UNIVERSITAS MEDAN AREA

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Jenis penelitian ini adalah bersifat Eksperimental dan pengamatan dilakukan di laboratorium, sementara pengambilan sample dilakukan di hutan Tangkahan dimana sampel yang digunakan merupakan kulit pohon tumbuhan Cep-cepan (*C. costata)* yang biasa digunakan secara tradisional sebagi obat yang penggunaannya dilakukan dengan merebus atau menyeduh serbuk kulit cep cepen (*C. costata)* dan meminum air rebusannya.

Kulit pohon tumbuhan Cep-cepen (*C. costata)* dikering anginkan, dimaserasi dengan menggunakan methanol teknis, dan dipekatkan dengan cara penguapan vakum. Maserat yang sudah pekat langsung diujikan terhadap larva udang *(Artemia salina* Leach) (lampiran 2.).

Penelitian ini dilaksanakan selama 3 bulan di laboratorium Kimia Universitas Medan Area dan Laboratorium Mikrobiologi Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sumatera Utara.

Bahan –bahan yang diperlukan adalah kulit kayu tumbuhan Cep-cepen (*C. costata)*, metanol teknis, asam sulfat, asam asetat, air suling, pereaksi Mayer, asetat anhidrida, asam klorida (Merck), NaOH, logam magnesium, besi (III)

UNIVERSITAS MEDAN AREA

klorida, iodium, air laut, DMSO (dimetil sulfoksida), kista *Arthemia salina* leach, plat kromatografi lapis tipis.

Peralatan yang digunakan adalah : alat-alat gelas, pipet mikro, alat destilasi, alat rotary evaporator, plat kromatografi lapis tipis, oven, lampu UV, neraca analitik, kertas saring, alat penetas udang, alat aerator, vial,mikro pipet,lampu pijar, dan desikator.

Sampel dalam penelitian ini adalah Kulit kayu tumbuhan Cep-cepen (*C. costata)*, yang berasal dari kawasan hutan Tangkahan Taman Nasional Gunung Leuser Kabupaten Langkat, Sumatera Utara yang secara Geografis terletak pada koordinat $03^0\ 40^I\ 41^{II}$ Lintang Utara dan $98^0\ 04^I\ 28^{II}$ Bujur Timur, terletak pada ketinggian 150 – 800 m di atas permukaan laut.

3.2. Pemeriksaan Alkaloid

Uji Pendahuluan fitokimia dilakukan seperti berikut ini; Pemeriksaan alkaloid dilakukan terhadap contoh segar kurang lebih 4 g dipotong-potong, dan dihaluskan dalam lumpang bersama sedikit pasir dan kurang lebih 10 ml kloroform. Dipindahkan sebagian ekstrak kloroform ke dalam dua lubang plat tetes untuk uji triterpenoid/ steroid. Ke dalam sisa ekstrak kloroform tambahkan kloroform amoniak 0.05 N (± 5 ml) sambil digerus beberapa saat, ekstrak kloroform amoniak disaring dengan kapas ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan asalm sulfat 2 N (10-20 tetes) dan kocok perlahan dengan cara

UNIVERSITAS MEDAN AREA

membalik tabung reaksi, biarkan sejenak dan pipet lapisan asam ke dalam dua tabung reaksi kecil dan uji dengan pereaksi Mayer, tidak ada endapan berarti negatif alkaloid. (Culvenor and Fitzgerald, 1963).

3.3. Pemeriksaan triterpenoid /steroid

Pemeriksaan triterpenoid /steroid dilakukan dengan pereaksi lieberman Buchard dengan cara menambahkan anhidrida asetat kurang lebih 3 tetes ke dalam salah satu plat tetes dan pada lubang yang lain ditambahkan asam sulfat pekat 2 tetes sebagai pembanding. Pada bagian yang ditambahkan asam asetat anhidrida diaduk perlahan beberapa saat sampai kering, kemudian ditambahkan asam sulfat dan amati pewarnaan yang timbul. Pewarnaan merah atau merah ungu memberikan indikasi positif triterpenoid sementara warna hijau atau hijau biru memberikan indikasi positif steroid (Harborne, 1987).

3.4. Pemeriksaan flavonoid

Pemeriksaan flavonoid dilakukan dengan memotong – motong kurang lebih 4 g sampel segar dan dimasukan ke dalam tabung reaksi, direndam dengan air dan dididihkan dengan api langsung. Air rebusan dipindahkan selagi masih panas ke dalam tabung reaksi lain dan selanjutnya dilakukan pemeriksaan untuk flavonoid, fenolik dan juga saponin. Pengujian flavonoid dilakukan pemeriksaan dengan memipet air rebusan ke dalam tabung reaksi kecil lalu ditambahkan asam klorida kurang lebih 0,5 volume air dan beberapa butir serbuk magnesium.

UNIVERSITAS MEDAN AREA

Pewarnaan orange sampai merah memberikan indikasi positif flavonoid .(Harborne, 1987).

3.5.Pemeriksaan fenolik

Pemeriksaan fenolik dilakukan dengan menggunakan besi (III) klorida dimana pewarna biru atau biru ungu memberikan indikasi positif fenolik dan hasil pengamatan menunjukkan hasil positif adanya senyawa fenolik dan hasil pengujian terhadap sampel positif fenolik. Pemeriksaan saponin dapat dilakukan dengan menggunakan air rebusan dalam tabung reaksi dikocok beberapa saat dan bila terbentuk busa permanen kurang lebih 15 menit tidak hilang dengan penambahan satu tetes asam klorida menunjukkan uji positif saponin (Harborne, 1987).

3.6.Pemeriksaan kumarin

Pemeriksaan kumarin dilakukan dengan melakukan maserasi 5 g sampel dengan CH_3OH selam 5 hari. Hasil maserasi disaring dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian tabung reaksi dipanaskan dengan pemanas air dan mulut tabung reaksi ditutup dengan kertas saring yang dibasahi dengan NaOH 10%. Biarkan pemanas berlangsung selama 10 menit. Kemudian keringkan dalam oven, lihat warna fluoresensi dengan lampu UV 365 nm. Adanya kumarin ditandai oleh warna fluoresensi kuning kehijauan. Cara lain untuk mengidentifikasi kumarin dengan memakai plat kromatografi lapis tipis. Noda sampel yang ditotolkan dan dielusi dengan pelarut organik diamati fluoresensinya di bawah lampi UV 365

UNIVERSITAS MEDAN AREA

nm, kemudian noda diolesi larutan NaOH 10 % dalam metanol dan pengamatan dilakukan kembali dengan UV 365 nm. Adanya kumarin ditandai fluoresensi biru terang dan hasil pengujian menunjukkan positif kumarin (Feigl, 1960).

Maserasi dilakukan terhadap 100 g sampel kulit kayu tumbuhan Cepcepen yang telah dikering anginkan selama beberapa hari dihaluskan, ditimbang, dan direndam dalam 500 ml metanol selama 5 hari, kemudian dilakukan penyaringan, filtrat dipisahkan dan ampasnya direndam kembali dengan yang baru. Maserasi dilakukan 6 x 5 hari. Ekstrak methanol dipekatkan *in vacuo*, dan selanjutnya dipekatkan *in vacuo* dan ditimbang. Skema kerja isolasi dapat dilihat pada lampiran 1.

3.7. Uji Toksisitas

Uji Toksisitas dilakukan seperti sebagai berikut;

1. Persiapan Hewan Uji, hewan uji yang digunakan adalah larva udang (*Arthemia salina* Leach) karena pertumbuhan sel larva udang dianggap sama dengan pertumbuhan sel kanker (Collegate and Molyneux, 1993). Kista *Arthemia salina* Leach ditetaskan di dalam bejana yang sudah diisi air laut. Bejana terbagi dua bagian yang saling berhubungan, dimana ada bagian yang terang dan ada bagian yang gelap. Bejana dilengkapi dengan alat aerasi dan kista dimasukkan ke dalam bagian yang gelap dan dibiarkan menetas, setelah 48 jam hewan uji siap untuk digunakan 2. Persiapan Sampel Larutan induk setiap uji dengan melarutkan 20 mg sampel dalam 2 ml metanol. Larutan uji 1000 ppm dibuat dengan memipet

UNIVERSITAS MEDAN AREA

larutan induk sebanyak 500 µl, sedangkan larutan uji 100 ppm dan 10 ppm dibuat dengan memipet 50 µl dan 5 µl dari larutan induk, vial larutan uji dimasukkan ke dalam desikator sampai kering.

Uji Toksisitas dilakukan terhadap ekstrak metanol kulit kayu Cep-cepen (*C. costata*). Konsentrasi larutan uji adalah 1000 ppm, 100 ppm dan 10 ppm, masing – masing konsentrasi dibuat 3 vial untuk kontrol, kemudian ke dalam setiap vial ditambahkan dimetilsulfoksida sebanyak 50 µl dan ditambahkan air laut kurang lebih 2 ml. Masukkan 10 ekor anak udang ke dalam vial dan cukupkan volumenya sampai 5 ml dengan air laut. Kemudian anak udang diamati setelah 24 jam data yang diperoleh diolah dengan menggunakan program Finney dan LC_{50} ditentukan. Skema kerja uji Toksisitas untuk ekstrak metanol, dapat dilihat pada lampiran 2.

UNIVERSITAS MEDAN AREA

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

Kulit batang Cep-cepen (*C.costata* BL)yang telah kering dihaluskan dan ditimbang, maserasi dilakukan dengan menggunakan methanol teknis yang sudah didestilasi, 100 g sampel kulit batang Cep-cepen(*C.costata* BL) yang dimaserasi menghasilkan 5,7 g ekstrak kental methanol .

Pada pemeriksaan pendahuluan Fitokimia tentang kandungan metabolit sekunder terhadap kulit batang tumbuhan Cep-cepen(*C.costata* BL) memperlihatkan adanya kandungan senyawa flavonoida yang positif, yakni dengan adanya pembentukan warna larutan kuning kemerahan yang diamati dengan menggunakan reagen Mg-HCl, hasil yang diperoleh dari uji fitokimia dapat dilihat pada table 1.

Dari hasil uji toksisitas ekstrak methanol yang diperoleh dengan menggunakan metode Brine Shrimp Lethality Assay terhadap larva udang memperihatkan hasil seperti diperlihatkan pada table 2.

Data yang diperoleh pada table 1. yang merupakan hasil dari uji toksisitas dihitung nilai LC_{50} dengan menggunakan program Finney dan diperoleh hasil LC_{50} = 72,36 ppm.

UNIVERSITAS MEDAN AREA

4.2. Pembahasan

Uji bioaktivitas yang merupakan uji toksisitas ekstrak methanol kulit batang tumbuhan Cep-cepen (*Castanopsis costata* BL) terhadap larva udang *Artemia salina* Leach, merupakan cara pengujian bioaktivitas yang sederhana, cepat, tidak membutuhkan kondisis aseptis dan hasil yang diperoleh dapat dipertanggungjawabkan, sehingga hasil yang diperoleh dapat dijadikan acuan untuk melakukan langkah penelitian lanjutan.

Berdasarkan hasil uji fitokimia terhadap adanya kandungan metabolit sekunder pada kulit batang tumbuhan Cep-cepen, memperlihatkan adanya kandungan senyawa flavonoida yang dominan, Tetapi kandungan senyawa metabolit sekunder yang lainnya bukan berarti tidak ada, karena bila dilakukan isolasi dan pemurnian terhadap senyawa murni bukan tidak mungkin dijumpai senyawa dari kelompok senyawa lain yang tidak tampak pada uji pendahuluan fitokimia.

Hasil uji toksisitas ekstrak methanol kulit batang tumbuhan cep-cepen menunjukkan bahwa hasil LC_{50} = 72,36 ppm dan ini memperlihatkan bahwa ekstrak methanol kulit batang tumbuhan cep-cepen aktif, karena menurut literature yang ada menyatakan bahwa bila nilai LC_{50} hasil uji ekstrak nilainya berada di bawah 1000 ppm, maka ekstrak tersebut dinyatakan aktif dalam menghambat pertumbuhan larva udang *Artemia salina* Leach.

UNIVERSITAS MEDAN AREA

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulam

Dari hasil penelitian yang dilakukan dengan melakukan uji fitokimia dan uji toksisitas terhadap ekstrak methanol kulit kayu tumbuhan cep-cepen (*C. costata* BL) dapat disimpulkan bahwa:

1. Kandungan senyawa metabolit sekunder yang ditemukan pada ekstrak methanol kulit batang tumbuhab Cep-cepen (*C.costata* BL) adalah kelompok senyawa flavonoida,sementara senyawa kelompok lainnya tidak menunjukkan hasil positif.
2. Uji toksisitas ekstrak methanol kulit batang tumbuhan *C.costata* BLdengan metode Brine Shrimp Lethality Assay dinyatakan aktif dengan nilai LC.50 = 72,36 ppm.

5.2 Saran

Untuk penelitian selanjutnya, diharapkan dapat dilakukan pengujian aktivitas biologinya terhadap ekstrak hasil fraksinasi dengan beberapa pelarut berdasarkan kepolaran pelarut yang berubah sesuai dengan step gradient polarity , misalnya dengan menggunakan pelarut heksana dan etilasetat. Selain itu , dpat dilakukan isolasi senyawa murni dari ekstrak kulit batang tumbuhan Cep-cepen

UNIVERSITAS MEDAN AREA

(*C.costata*.BL) dengan metode kromatografi dan juga dilakukan uji aktivitas biologisnya terhadap senyawa murni yang diperoleh..

UNIVERSITAS MEDAN AREA

DAFTAR PUSTAKA

Achmad, S.A. 2001 Prospek Kimia Bahan Alam Konservasi Hutan Tropika Indonesia. Makalah Seminar Nasional VI Kimia Dalam Industri dan Lingkungan. Padang.

Arbain, D. 2001. Two Decades of Chemical Study on the Constituents of Some Sumatra Plant. Abstract International Seminar on Tropical Rainforest Plant and the Utilizatin for Development. Padang.

Collegate, S.M. and R.J. Molyneux. 1993. Bioactive Natural Product Detection, Isolation and Structural Determination CRC, Boca Raton, Ann Arbor, London. 14-23, 441-455.

Cordell, G.A. 1981 Introduction to Alkaloids. A Wiley Interscience Publication, John Wiley & Son, New York, Chicester, Brisbane, Toronto.

Cordell, G.A. 1993. The Discovery of Plant Anticancer Agents, 841-844

Culvenor C.C.J. and J.S. Fitzgerald, 1963. A Field Methods for Alkaloids Screening of Plants. *J. Pharm. Sci*, 52, 303-304.

Farnsworth, N.R. Biological and Phytochenical Screening of Plant . Journal of Pharmaceutical Sciences, 1966, 55.

Harborne, J.B 1987 Phytochemical Method (Metode Fitokimia), Terjemahan oleh Kosasih Patmawinata dan Iwang Soediro, Terbitan II, ITB, Bandung.

Harborne, J.B. 1973. Phytochemistry Methods, Chapman and Hall, Landon

Ikan, R. 1969, Nat.Prod. A Laboratory Guide, Academic Press, London, New York, San Fransisco, 104-144.

Ikan R. 1976. Natural Products, a Laboratory Guide. Academic Press, London, New York.

Jarvie,J.K and Ermayanti. 1996, Tree Genera of Borneo- Descritions and Illustrations (http : // django. Harvard.edu/users/jjarvie/borneo.htm.)

UNIVERSITAS MEDAN AREA

Kelana. T.B. 2003. Isolasi, Elusidasi Struktur dan Uji "Brine Shrimp" Kandungan Kimia Utama Daun *Ficus deltoideus* Jack Var *bilobata*. Tesis Program Pascasarjana Universitas Andalas Padang.

McLaughlin, J.L. 1991. Crown Gall Tumours on Potato Discs and Brine Shrimp Lethality, Two Simple Bioassays for Higher Plant Screenning and Fractionation. *Assays for Bioactive. Method in Plant Bioactive*, London. 6:8-9

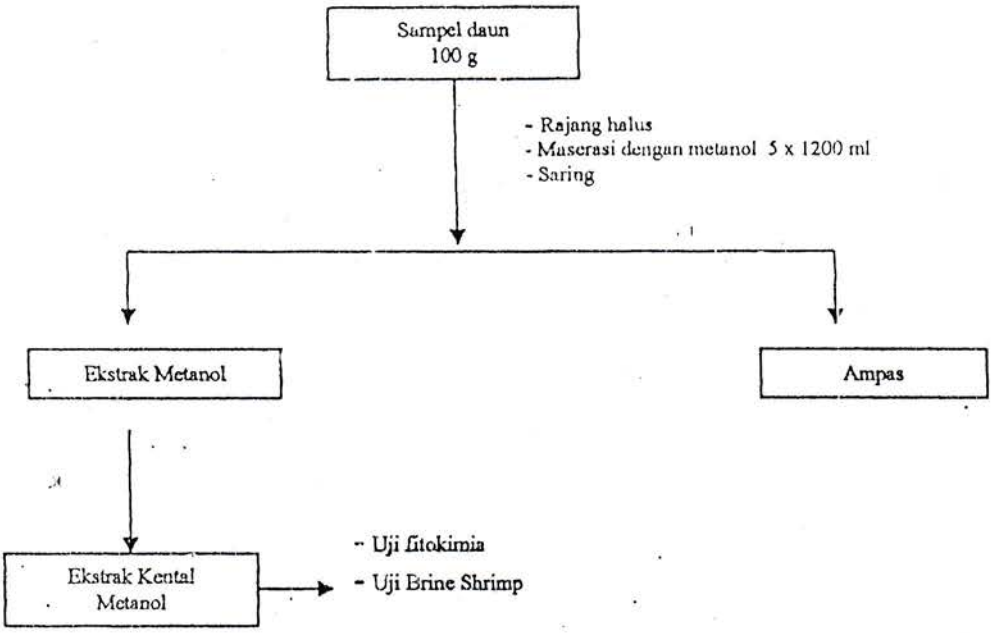
Miller, L.P. 1973. Phytochemistry of Organic Chemistry. D. Van Nostran Reinhold. Co. New York, Cincinati, Toronto, London, Melbourne.

Miller, L.P. 1973, Phytochemistry, Organic Metabolit, Vol 2, Van Nostrand Reinhold Company, New York.

Mumpuni. 2004. Inventarisasi Tumbuhan Obat di Kawasan Hutan Tangkahan Taman Nasional Gunung Leuser Kabupaten Langkat. Skripsi Jurusan FMIPA Universitas Sumatera Utara Medan.

UNIVERSITAS MEDAN AREA

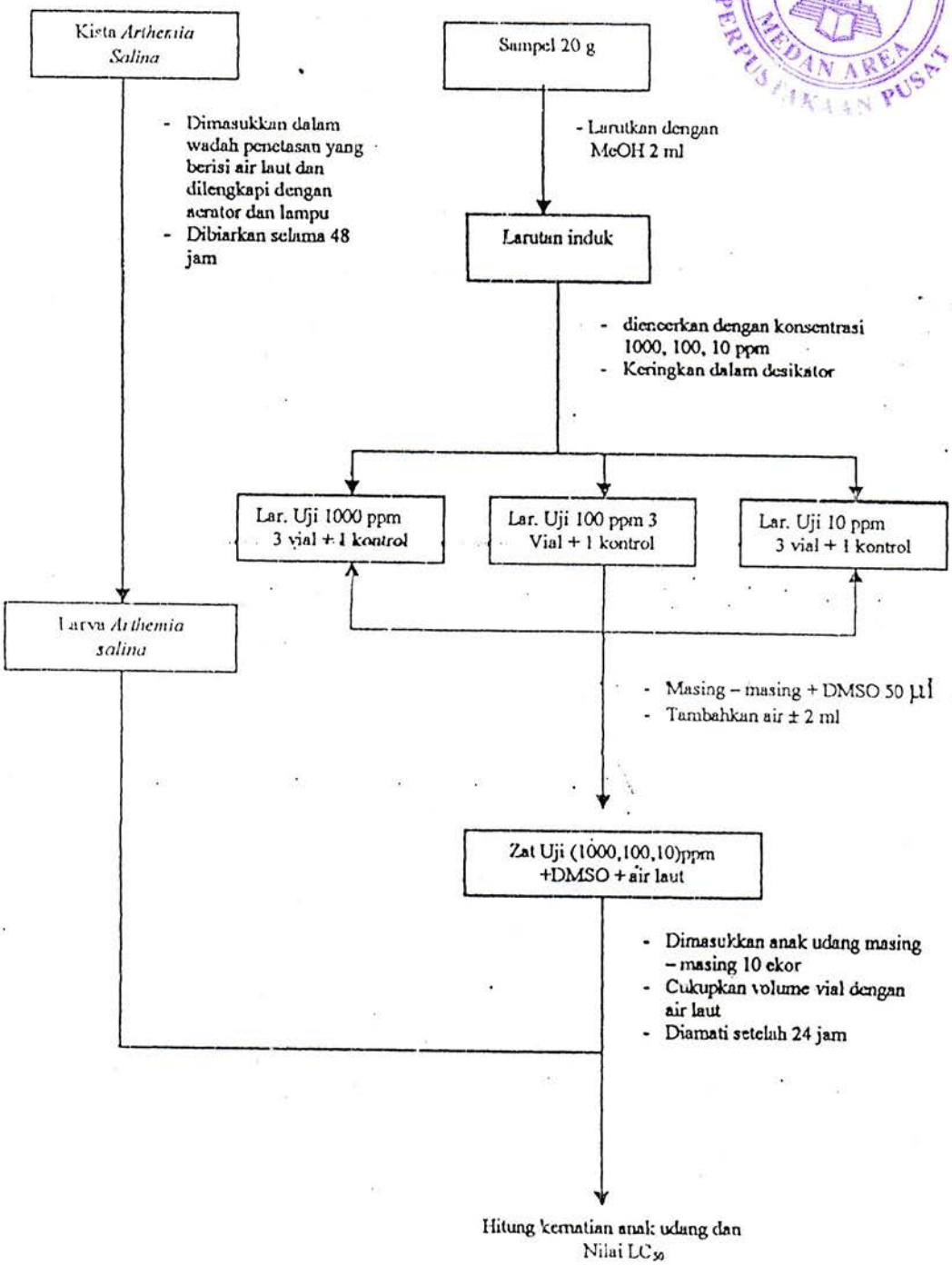
Lampiran 1. **Skema Isolasi Ekstrak Metanol kulit kayu dari Tumbuhan Cepcepen (*Castanopsis costata*.BL)**



UNIVERSITAS MEDAN AREA

Lampiran 2. Skema Kerja Uji "*Brine Shrimp*"

UNIVERSITAS MEDAN AREA PERPUSTAKAAN PUSAT



UNIVERSITAS MEDAN AREA

Lampiran 3.

Tabel 1. Hasil uji fitokimia Ekstrak metanol kulit batang tumbuhan Cep-cepen(*Castanopsis costata* BL)

No	Golongan Kimia	Pereaksi	Hasil reaksi
1	Alkaloid	Mayer/Dragendorff	-
2	Fenolik	Besi(III) klorida	-
3	Flavonoid	Logam Mg – HCl	+
4	Steroid	Lieberman-Burchard	-
5	Saponin	Tes busa	-
6	Kumarin	NaOH 10 %	-

UNIVERSITAS MEDAN AREA

Lampiran 4

Tabel. 2 Hasil Uji Toksisitas Ekstrak metanol kulit batang tumbuhan Cep-cepen(*Castanopsis costata* BL)

No. Vial	Jumlah larva yang mati tiap konsentrasi (µg/ml)			
	10	100	1000	kontrol
1	2	7	9	0
2	1	6	8	0
3	2	6	8	0
Jumlah Kematian	6	19	25	0
Jumlah Larva	30	30	30	30
% kematian	20 %	63,3 %	83 %	-
Nilai LC_{50}	72,36µg/ml = 72,36ppm			

UNIVERSITAS MEDAN AREA