

SKRINING FITOKIMIA DAN UJI TOKSISITAS EKSTRAK DAUN BUAH HITAM (*Haplolobus cf. Monticola* Husson) DENGAN METODE BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BSLT)

Photochemical Screening And Toxicity Test of Black Fruit (Haplolobus Cf. Monticola Husson) Leaves Extract Using Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) Method

Aisyah Ayu Indarsari¹, Evelina Somar^{1*}, Sabir Sumarna¹

Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Papua, Manokwari, 98314, Indonesia
Jalan Gunung Salju Amban, Manokwari
Email korespondensi : e.somar@unipa.ac.id

ABSTRACT

Indonesia is a country with the second highest terrestrial biodiversity wealth in the world. Some areas have endemic types of flora and fauna. One of the endemic flora found in Papua and widely found in Teluk Wondama district is piarawi or black fruit (*Haplolobus cf. monticola* Husson). The results showed that black fruit plants, both fruit and leaves, contain secondary metabolites that can cause pharmacological effects. The effectiveness of these active components as herbal medicines can be determined through a preliminary analysis in the form of a toxicity analysis. So far there has been no research on the content of secondary metabolites in the methanol extract of black fruit leaves. Thus, in this study, phytochemical and toxicity tests were carried out on the methanol extract of black fruit leaves (*Haplolobus cf. monticola* Husson) using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method. This test provides an overview of the toxicity level of black fruit leaf extract on *Artemia salina* Leach shrimp larvae. The test results can be used to identify bioactive metabolites contained in black fruit leaves. Based on the results of the study, it can be concluded that the methanolic extract of black fruit leaves contains secondary metabolites such as alkaloids, flavonoids, saponins and tannins. Meanwhile, the results of the toxicity test showed that the LC₅₀ value of the methanol extract of black fruit leaves was 102.5473779 ppm 102.53, so it could be categorized as moderately toxic.

Keyword : Phytochemical, LC₅₀, piarawi.

PENDAHULUAN

Indonesia menjadi negara dengan kekayaan biodiversitas terestrial tertinggi kedua di dunia (Handoko, 2020). Pada umumnya kekayaan alam tersebut memiliki ciri khasnya sendiri, bahkan di beberapa wilayah mempunyai jenis flora dan fauna yang endemik. Salah satu flora endemik yang terdapat di Papua yaitu buah hitam (*Haplolobus cf. monticola* Husson) atau disebut oleh masyarakat dengan nama piarawi.

Buah hitam (*Haplolobus cf. monticola* Husson) merupakan salah satu tumbuhan endemik Papua yang tumbuh di

dataran rendah hingga dataran tinggi, dan cukup banyak terdapat di kabupaten Teluk Wondama. Masyarakat lokal mencampurkan aci sagu dengan buah hitam sehingga menjadi sagu buah hitam yang merupakan salah satu makanan adat etnis Wandamen dan dapat bertahan lebih dari 2 bulan (Lekitoo *et al.*, 2012).

Hasil penelitian Siahaan *et al.*, (2021), Somar dan Rahman (2020) menunjukkan bahwa tumbuhan buah hitam baik buah ataupun daun mengandung senyawa metabolit sekunder. Senyawa metabolit sekunder yang

terkandung di dalam buah hitam seperti alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin. Sedangkan, pada daun diketahui mengandung tanin dengan kadar sebesar 42,16%.

Menurut Einhellig dalam Angin *et al.* (2019), terdapat beberapa senyawa metabolit sekunder tertentu yang dimanfaatkan manusia sebagai bahan baku obat ataupun antioksidan. Senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada tumbuhan dapat menyebabkan efek farmakologis. Analisis toksisitas digunakan sebagai analisis awal untuk melihat khasiat dari suatu zat aktif yang dapat dikonsumsi sebagai obat herbal (Zuraida, 2018).

Beberapa uji toksisitas telah dilakukan dengan menggunakan ekstrak tumbuhan. Menurut penelitian yang dilakukan Maukar *et al.*, (2013) ekstrak metanol daun soyogik (*Sauraula bracteosa* DC) terkandung senyawa fenolik seperti flavonoid dan tanin. Hasil uji toksisitas menunjukkan nilai LC_{50} sebesar 37,30 ppm yang artinya daun soyogik bersifat toksik. Menurut Mappasomba *et al.*, (2020) ekstrak metanol daun nanas (*A. comocus* L.) terkandung senyawa metabolit sekunder seperti saponin, alkaloid, tanin dan flavonoid. Ekstrak daun nanas memiliki sifat toksik karena mempunyai nilai LC_{50} sebesar 221,46 ppm. Dari kedua penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekstrak daun dapat bersifat toksik karena adanya senyawa metabolit sekunder.

Sejauh ini penelitian tentang kandungan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak metanol daun buah hitam belum dilakukan. Maka, penelitian ini akan dilakukan uji fitokimia dan uji toksisitas pada ekstrak metanol daun buah hitam (*Haplolobus cf. monticola* Husson) dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Pengujian ini memberi sedikit gambaran mengenai tingkat toksisitas ekstrak daun buah hitam terhadap larva udang *Artemia salina* Leach. Hasil pengujian ini juga dapat

dimanfaatkan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder di dalam daun buah hitam.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah gelas beker, gelas ukur, batang pengaduk, termometer, corong, kaki tiga, pipet volume, pipet tetes, vial, tabung reaksi, wadah botol bekas, plastik hitam, pompa akuarium, lampu, selotip, selang, rak tabung reaksi, *rotary evaporator* EYELA, timbangan analitik, penangas air dan blender.

Bahan-bahan yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah daun buah hitam, metanol, kertas saring, aluminium foil, air garam 1%, larutan ragi 0,06% , DMSO (dimetil sulfoksida) 1%, larva udang *Artemia salina* Leach, HCl 2N, akuades, pereaksi mayer, pereaksi dragendorff, pereaksi wegner, etanol, H_2SO_4 pekat, serbuk magnesium, NaCl 10%, dan $FeCl_3$ 1%.

Prosedur Penelitian

Ekstraksi Daun Buah Hitam

Daun buah hitam yang sudah dicuci bersih lalu dikeringkan. Daun buah hitam yang telah dikeringkan kemudian dihaluskan menggunakan blender dan dilakukan ekstraksi maserasi dengan pelarut metanol, kemudian didiamkan selama 3 hari dengan setiap 1×24 jam disaring dan diberikan pelarut yang baru. Hasil filtrat dari setiap penyaringan ditampung dalam satu wadah lalu dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* EYELA. Hasil ekstraksi dibuat dalam variasi konsentrasi 10, 50, 100, 105, 110, 115, 250, 500, dan 1000 dalam satuan ppm dengan air garam 1% sebagai pelarut lalu tambahkan DMSO 1% untuk melarutkan ekstrak yang tidak larut dalam air garam. Larutan ragi 0.06% ditambahkan setetes pada setiap larutan

konsentrasi sebagai makanan untuk larva udang *Artemia salina* L.

Uji Skrining Fitokimia

1. Uji Alkaloid

Sebanyak 3 mL ekstrak metanol daun buah hitam ditambahkan 6 mL akuades dan 5 mL HCl 2 N, lalu selama 15 menit dipanaskan pada suhu 70°C dengan penangas air kemudian didinginkan. Larutan tersebut dibagi ke dalam 4 tabung reaksi. Tabung yang pertama diberikan pereaksi mayer jika positif maka akan terbentuk endapan berwarna merah. Tabung yang kedua diberi pereaksi dragendorff jika positif akan terdapat endapan berwarna coklat keputihan. Tabung ketiga diberi pereaksi wagner jika positif akan terbentuk endapan warna coklat. Tabung keempat sebagai blanko.

2. Uji Flavonoid

Sebanyak 1 mL ekstrak metanol daun buah hitam ditambahkan dengan 5 mL etanol, kemudian selama 10 menit dipanaskan dengan penangas air kemudian didinginkan. Larutan dibagi ke dalam 3 tabung reaksi. Tabung pertama ditambahkan 3 tetes H₂SO₄ pekat jika positif akan mengalami perubahan warna menjadi merah sampai jingga. Tabung kedua ditambahkan 0,5 mL HCl pekat dan serbuk magnesium jika positif akan mengalami perubahan warna menjadi merah sampai ungu, hijau, atau biru muda. Tabung ketiga sebagai blanko.

3. Uji Saponin

Sebanyak 2 mL ekstrak metanol daun buah hitam ditambahkan 10 mL akuades, dikocok dan masukkan satu tetes larutan HCl 2N. Didiamkan dan diamati jika positif akan terdapat busa dengan ketinggian 1-3 cm selama 30 detik.

4. Uji Tanin

Sebanyak 3 mL ekstrak metanol daun buah hitam ditambahkan 5 mL akuades, lalu selama 30 menit dipanaskan dengan penangas air kemudian didinginkan. Ditambahkan 5 tetes NaCl 10% lalu larutan dibagi ke dalam 2 tabung reaksi. Tabung yang pertama ditambahkan

5 tetes FeCl₃ 1% jika positif akan terjadi perubahan warna hijau kehitaman hingga biru kehitaman. Tabung kedua sebagai blanko.

Penetasan Telur Larva Udang *Artemia salina* L.

Telur udang *Artemia salina* L. ditimbang sejumlah 10 mg. Telur udang ditetaskan dalam air garam sebanyak 1 L dan ditempatkan pada wadah yang memiliki dua bagian, satu bagian gelap untuk menghidrasi kista dan sebagian lainnya dibiarkan mendapat cahaya lampu untuk merangsang kembali perkembangan kista. Telur udang tersebut kemudian dimasukkan ke dalam wadah yang diberikan tutup gelap. Telur udang diaerasi dan dibiarkan selama 2×24 jam untuk berubah menjadi larva udang kemudian siap digunakan dalam uji toksisitas.

Uji Toksisitas dengan Metode BSLT

Pengujian BSLT dilakukan dengan digunakannya larva udang *Artemia salina* L. sebanyak 10 ekor sebagai observasi terhadap mortalitas dan LC₅₀. Vial disiapkan untuk pengujian masing-masing ekstrak. Masing-masing vial dimasukkan 10 ekor larva udang. Ekstrak daun buah hitam dengan konsentrasi yang telah dibuat kemudian dimasukkan ke dalam vial sebanyak 6 mL. Pada vial blanko yang sudah terdapat 10 ekor larva ditambahkan air garam dengan campuran DMSO 1% dan larutan ragi roti sebanyak 6 mL. Pengamatan dilakukan setelah 1×24 jam dan dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan.

Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan menghitung jumlah kematian larva udang *Artemia salina* L. pada setiap perlakuan lalu dibuat dalam bentuk persentase. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan metode regresi yang mengacu pada nilai probit untuk menghitung nilai LC₅₀

dengan menggunakan aplikasi *Microsoft Office Excel*.

Persamaan mencari persentase kematian larva

$$\% \text{ Kematian} = \frac{\sum \text{larva mati}}{\sum \text{larva uji}} \times 100\%$$

Persamaan mencari persentase kematian larva apabila pada kontrol terdapat larva yang mati :

$$\% \text{ Kematian} = \frac{\text{larva hidup kontrol} - \text{larva hidup perlakuan}}{\text{larva hidup kontrol}} \times 100\%$$

Sumber : (Abbott, 1925)

Persamaan regresi sederhana :

$$y = a + bx$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Ekstraksi Daun Buah Hitam (*Haplolobus cf. Monticola* Husson)

Ekstrak terbuat dari daun buah hitam (*Haplolobus cf. Monticola* Husson) atau dengan nama lain *piairawi*. Daun buah hitam yang digunakan berasal dari Wasior, Teluk Wondama, Papua Barat. Daun yang telah dipetik lalu dibersihkan dan dikeringkan dengan kering angin di dalam ruangan yang bertujuan untuk menurunkan kadar air dalam daun. Simplisia yang telah kering berwarna coklat muda dan teksturnya agak sedikit renyah. Setelah itu, dihaluskan menggunakan blender yang bertujuan memudahkan masuknya pelarut ke dalam simplisia untuk menyerap senyawa-senyawa yang terkandung dalam simplisia (Husni *et al.*, 2018)

Dimaserasi selama 3×24 jam dengan setiap 1×24 diganti dengan pelarut yang baru. Dipilih metode ekstraksi maserasi karena tidak memerlukan pemanasan sehingga kerusakan senyawa akibat panas pada suatu bahan alam dapat diminimalisir. Penggunaan metanol sebagai pelarut dikarenakan dapat mengekstrak senyawa metabolit sekunder baik polar ataupun non-polar. Maka metanol dapat melarutkan senyawa seperti

flavonoid, alkaloid, dan tanin yang bersifat polar dan saponin yang bersifat semipolar karena metanol memiliki gugus hidroksil (-OH) yang bersifat polar dan gugus metil (-CH₃) yang bersifat non-polar. Setiap pergantian pelarut, ekstrak disaring menggunakan kertas saring untuk meminimalisir residu. Hasil filtrat yang didapatkan, diambil secukupnya untuk dipisahkan menggunakan *rotary evaporator*. Hasil pemekatan berupa pasta hitam yang pekat.

Ekstrak metanol daun buah hitam yang telah dipisahkan lalu terlebih dahulu dibuat larutan induk dengan konsentrasi 2000 ppm. Larutan induk adalah larutan yang dibuat dalam konsentrasi tinggi untuk digunakan dalam membuat larutan dengan konsentrasi yang lebih kecil. Ekstrak yang telah ditimbang lalu dilarutkan dengan 10 tetes larutan DMSO 1% lalu ditambahkan air garam. Larutan DMSO ialah pelarut polar aprotik yang baik dalam melarutkan senyawa non-polar ataupun polar seperti ekstrak metanol daun buah hitam sebelum dilarutkan dengan air garam yang tidak dapat melarutkan ekstrak secara merata (Nurul 2019). Setelah itu, diterakan dalam labu tentukur 50 mL dengan air garam 1%. Penggunaan air garam sebagai pelarut karena air garam merupakan tempat hidup dari larva udang *Artemia salina* L.

Hasil Uji Fitokimia

1. Uji Alkaloid

Uji alkaloid dikerjakan dengan 3 pengujian menggunakan pereaksi mayer, pereaksi wagner dan pereaksi dragendrof. Sebelum diuji pada setiap pereaksi, ditambahkan HCl 2 N untuk menaikkan kelarutan alkaloid, karena alkaloid akan bereaksi dengan asam yang akan membentuk garam. Selain itu, digunakan untuk mengekstraksi senyawa yang bersifat basa seperti alkaloid (Ergina *et al.*, 2014).

Pemanasan yang dilakukan pada uji alkaloid bertujuan agar membentuk garam yang lebih stabil (Novitasari dan Putri,

2016). Senyawa yang ditambahkan pereaksi akan membentuk warna dan endapan. Endapan yang dihasilkan dikarenakan adanya pembentukan kompleks kalium-alkaloid. Ion K^+ dalam pereaksi alkaloid akan bereaksi dengan pasangan elektron bebas pada atom nitrogen yang dimiliki oleh alkaloid (Oktavia dan Sutoyo 2021).

Hasil pengujian, penambahan pereaksi mayer tidak terdapat endapan berwarna merah sedangkan pada penambahan pereaksi dragendorff terdapat endapan berwarna cokelat dan wagner terdapat endapan berwarna cokelat. Sehingga dapat dipastikan ekstrak metanol daun buah hitam mengandung senyawa alkaloid.

2. Uji Flavonoid

Uji flavonoid dikerjakan dengan dua pengujian, yang pertama dengan penambahan H_2SO_4 dan yang kedua dengan ditambahkan HCl pekat dan serbuk magnesium. Flavonoid dan H_2SO_4 pekat akan bereaksi membentuk warna yang disebabkan oleh sistem konjugasi pada gugus kalkon (Asih, 2009). Sedangkan tujuan penambahan HCl pekat-serbuk magnesium adalah membuat gram dari hasil reduksi senyawa flavonoid berupa garam flavilium yang merubah warna menjadi merah atau jingga (Ergina *et al.*, 2014).

Hasil pengujian menunjukkan perbedaan warna dengan blanko yang berwarna hijau bening. Penambahan H_2SO_4 pekat membuat perubahan warna yang awalnya berwarna hijau bening menjadi kuning kecoklatan sedangkan penambahan HCl pekat dan serbuk magnesium membuat perubahan warna yang awalnya berwarna hijau bening menjadi warna hijau tua. Terjadinya perubahan warna dapat diindikasikan bahwa ekstrak metanol daun buah hitam mengandung senyawa flavonoid.

3. Uji Saponin

Saponin memiliki sifat seperti sabun yang gugus hidrofil dan hidrofobiknya

dapat berperan dalam pembentukan busa (Novitasari dan Putri, 2016). Pembentukan buih yang disebabkan penurunan tegangan permukaan air oleh saponin karena rusaknya ikatan hidrogen pada air (Dyck *et al.*, 2010). Jika saponin direaksi dengan air akan membentuk aglikol dan glikol. Penambahan HCl 2N yang bertujuan untuk melihat ketahanan busa atau buih (Sulistyarini *et al.*, 2019). Dari hasil pengujian, menunjukkan adanya busa dengan ketinggian < 1 cm selama lebih dari 30 detik. Hal ini mengindikasikan ekstrak metanol daun buah hitam mengandung senyawa saponin.

4. Uji Tanin

Tanin merupakan senyawa fenolik yang larut dalam air maka ekstrak ditambahkan akuades terlebih dulu untuk melarutkan tanin (Sanjayasari dan Piliang, 2011). Lalu dipanaskan selama 30 menit untuk memecah ikatan sehingga berubah menjadi bentuk monomer-monomer yang bebas. Penambahan NaCl bertujuan untuk menghilangkan protein. Tujuan penambahan $FeCl_3$ adalah sebagai pereaksi untuk memastikan adanya gugus fenol pada suatu sampel. Keberadaan gugus fenol pada ekstrak akan ditunjukkan dengan warna hijau kehitaman hingga biru tua. Hasil percobaan menunjukkan adanya perubahan warna akibat penambahan $FeCl_3$ 1% dari hijau keruh ke hijau kehitaman (Ergina *et al.*, 2014). Hal tersebut membuktikan bahwa terdapat senyawa tanin pada ekstrak metanol daun buah hitam.

Hasil Uji Toksisitas dengan Metode BSLT

Menurut BPOM (2014), uji toksisitas merupakan suatu percobaan untuk mengetahui pengaruh zat tertentu pada sistem biologi dan untuk mendapatkan informasi mengenai dosis-respon pada suatu bahan. Uji toksisitas diaplikasikan untuk melihat adanya reaksi biokimia, fisiologik dan patologik pada

hewan uji yang ditimbulkan oleh bahan uji terhadap manusia. Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) merupakan metode yang menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach sebagai hewan percobaannya (Mayer *et al.*, 1982).

Uji/toksisitas dimulai dengan penetasan telur larva udang *Artemia salina* L. Telur udang. diaerasi dan dibiarkan selama 2x24 jam. Aerasi bertujuan untuk memenuhi kebutuhan oksigen (Panggabean, 1984). Telur udang yang telah siap digunakan lalu dimasukkan ke dalam vial yang masing-masingnya berisi 10 ekor larva udang dewasa. Lalu ditambahkan larutan ragi roti berfungsi

sebagai makanan bagi larva. Dilakukan pengulangan sebanyak sebanyak 3 kali yang bertujuan untuk mendapatkan ketepatan data dan mengurangi kekeliruan dalam proses penelitian.

Pengamatan dilakukan setelah 1x24 jam sesudah penambahan konsentrasi ekstrak. Perhitungan kematian larva udang dilakukan dengan cara mengamati mobilitas larva selama beberapa detik. Larva dinyatakan mati apabila tidak adanya aktivitas dari larva udang. Hasil uji toksisitas yang dilakukan pada larva udang dari ekstrak metanol daun buah hitam yang disajikan dalam Tabel 4.2

Tabel 4.2 Hasil uji toksisitas ekstrak metanol daun buah hitam

Vial	Kontrol negatif	Angka kematian Larva <i>Artemia salina</i> L. dari 10 larva Konsentrasi ekstrak metanol daun buah hitam (ppm)					
		0	10	50	100	250	500
1	0	1	3	4	10	10	10
2	0	1	3	5	10	10	10
3	1	1	2	5	10	10	10
Total	1	3	8	14	30	30	30
Rata-rata kematian	0,333	1,000	2,667	4,667	10,000	10,000	10,000
Rata-rata Larva hidup	9,667	9,000	7,333	5,333	0,000	0,000	0,000
%kematian	100	6,897	24,1379	44,8276	100	100	100

Total kematian merupakan jumlah keseluruhan dari larva yang mati pada setiap konsentrasinya. Rata-rata kematian merupakan total larva yang mati dibagi banyaknya pengulangan. Rata-rata hidup merupakan rata-rata kontrol hidup dikurang rata-rata kematian. Persentase kematian merupakan rata-rata kematian pada setiap konsentrasi dikalikan 100%.

Berdasarkan Tabel 4.2 terdapat kematian pada kontrol maka untuk menghitung persentase kematian digunakan persamaan dari Abbott (1925) bahwa jumlah larva hidup pada kontrol dikurang jumlah larva hidup pada pengujian dibagi jumlah larva hidup pada

kontrol dikali dengan 100%. Dari hasil uji toksisitas tersebut didapatkan hasil pada konsentrasi 10 ppm persentasi kematian sebesar 6,897%, konsentrasi 50 ppm persentasi kematian sebesar 24,1379%, konsentrasi 100 ppm persentasi kematian sebesar 44,8276% dan pada konsentrasi 1000 ppm, 500 ppm dan 250 ppm memperlihatkan persentase kematian 100%. Hal ini menunjukkan pemberian konsentrasi yang tinggi, akan meningkatkan jumlah persentase kematian larva udang.

Dari hasil yang didapatkan memperlihatkan semakin tinggi konsentrasi yang diujikan maka persentasi kematian juga akan semakin tinggi. Hal ini

sama seperti yang dikemukakan oleh Harbone Sehingga, dapat diartikan bahwa pada konsentrasi 250 ppm sudah memberikan efek toksik terhadap larva udang.

Hasil pengujian ini memberi gambaran bahwa 50% kematian pada hewan uji berada pada kisaran 100 ppm

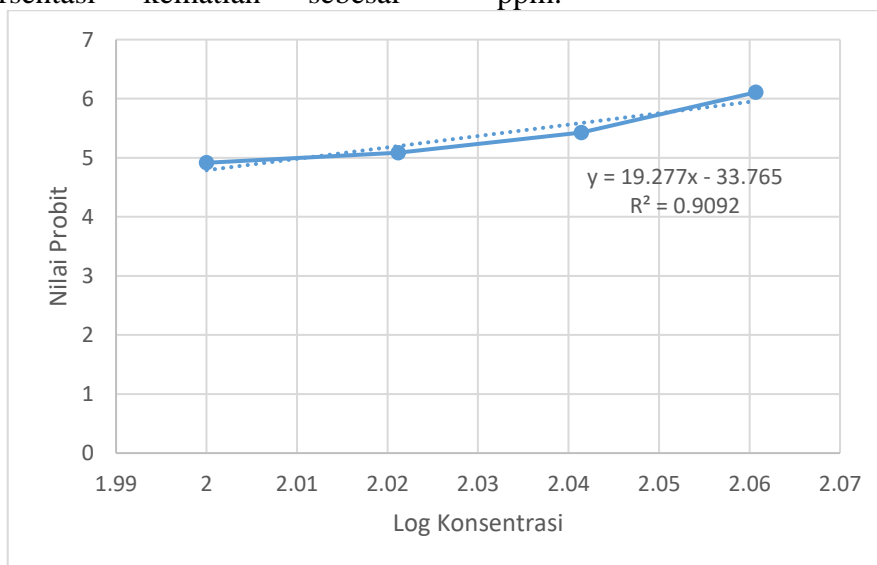
sampai 250 ppm. Maka dilakukan kembali pengujian ulang pada konsentrasi 100 ppm, 105 ppm, 110 ppm dan 115 ppm untuk mendapatkan nilai yang lebih mendekati 50% kematian atau LC₅₀. Hasil dari pengujian ulang dapat dilihat pada Tabel 4.3

Tabel 4.3 Hasi pengujian ulangan uji toksisitas ekstrak metanol daun buah hitam

Vial	Kontrol negatif	Angka kematian Larva Artemia salina L. dari 10 larva			
		Konsentrasi ekstrak metanol daun buah hitam (ppm)			
		0	100	105	110
1	0	5	5	7	8
2	0	4	5	7	9
3	0	5	6	6	9
Total	0	14	16	20	26
Rata-rata kematian	0	4,66667	5,33333	6,66667	8,66667
%kematian	0	46,6667	53,3333	66,6667	86,6667

Pada Tabel 4.3 menunjukkan tidak terdapat kematian pada kontrol maka menghitung persentase kematian yakni jumlah larva mati dibagi jumlah larva uji yang digunakan dikali dengan 100%. Dari hasil uji toksisitas yang dilakukan didapatkan hasil pada konsentrasi 100 ppm persentasi kematian sebesar

46,6667%, konsentrasi 105 ppm persentasi kematian sebesar 53,3333%, konsentrasi 110 ppm persentasi kematian sebesar 66,6667% dan konsentrasi 115 ppm persentasi kematian sebesar 86,6667%. Dari hasil tersebut LC₅₀ terdapat pada kisaran 100 ppm dan 105 ppm.



Gambar 4.12 Grafik hubungan log konsentrasi dan nilai probit

Dari Gambar 4.12 didapatkan perhitungan persamaan regresi linier $y = 19,277x - 33,765$. Koefisien determinasi (R^2) digunakan untuk memberitahukan seberapa besar hubungan antar variabel bebas dan variabel terikat. Nilai R^2 dengan kisaran 0,8-1 dapat dikategorikan sangat kuat (Halin *et al.*, 2017). Nilai koefisien determinasi sebesar 0,9092 yang artinya kedua variabel saling berhubungan. Berdasarkan persamaan linier tersebut didapatkan nilai LC_{50} :

$$y = 19,277x - 33,765$$

$$5 = 19,277x - 33,765$$

$$x = 2,01092456$$

$$\text{Antilog } x = 102,5473779$$

Dengan y adalah LC_{50} (*Lethal Concentration 50*) dengan nilai probit dari 50 yakni 5. Jadi, nilai LC_{50} dari ekstrak metanol daun buah hitam adalah 102,5473779 ppm \approx 102,53 ppm yang menurut Meyer *et al.*, (1982) apabila $LC_{50} < 1000$ ppm untuk ekstrak maka dapat dikategorikan toksik yang bersifat toksik sedang. Toksisitas adalah suatu potensi dari suatu toksikan yang dapat menimbulkan efek negatif bagi organisme yang dipengaruhi oleh beberapa faktor yakni komposisi dan jenis toksikan, konsentrasi, waktu dan frekuensi, kondisi lingkungan, dan spesies hewan yang diujikan.

Kematian larva tidak lepas dari peran senyawa yang terkandung dalam daun buah hitam. Dari hasil pengujian fitokimia yang dilakukan pada ekstrak metanol daun buah hitam, senyawa metabolit sekunder yang terkandung diantaranya adalah saponin, alkaloid, tanin, dan flavonoid. Senyawa yang terdapat pada ekstrak metanol diduga bersifat sebagai toksik bagi larva udang *Artemia salina* L.

Senyawa alkaloid akan bekerja sebagai racun perut (*stomach poisoning*) karena akan mencegah reseptor

perasa pada mulut larva. Larva tidak mendapatkan rangsangan rasa yang disebabkan oleh terganggunya sistem kerja dari enzim asetilkolin yang menyebabkan penumpukan asetilkolin (Kumara, 2021). Hal ini menyebabkan kegagalan mengenal makanan dan pada akhirnya larva akan mati kelaparan.

Senyawa fenol dan turunannya seperti flavonoid dan tanin bekerja sebagai antioksidan dan mempercepat apoptosis sel yang berdampak pada kematian sel. Menurut Gilman *et al.*, (1991) dalam (Sari dan Sari, 2011) mekanisme kerjanya ialah dengan merusak dinding sel, yang diakibatkan oleh ion H^+ yang dimiliki oleh senyawa fenol dan turunannya akan menyerang kepala dari molekul fosfolipid yakni gugus fosfat yang bersifat polar yang terurai menjadi asam karboksilat, gliserol dan asam fosfat. Hal ini dapat menyebabkan molekul fosfolipid tidak dapat mempertahankan bentuk dari dinding sel, sehingga dinding sel akan pecah dan berdampak pada kematian sel.

Senyawa saponin akan berdifusi melalui kulit ke dalam tubuh larva. Senyawa akan mengalir ke dalam hemolimfa yang mengalir keseluruhan bagian tubuh larva. Senyawa saponin akan bereaksi dengan dinding sel sehingga akan menyebabkan lisis dan terjadinya gangguan pada proses respirasi sel yang berujung kematian larva (Wahyuni dan Loren, 2015).

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan ekstrak metanol daun buah hitam mengandung alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin yang merupakan senyawa metabolit sekunder. Sedangkan hasil dari uji toksisitas menunjukkan nilai LC_{50} dari ekstrak metanol daun buah hitam sebesar 102,5473779 ppm \approx 102,53 maka dapat dikategorikan toksik yang bersifat toksik sedang.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbott, W S. 1925. *The Value of the Dry Substitutes for Liquid Lime. Journal of Economic Entomology* 18: 265–67.
- Angin, Y.P., Purwaningrum, Y., Asbur, Y., Rahayu, M.S., Nurhayati. 2019. Pemanfaatan Kandungan Metabolit Sekunder yang Dihasilkan Tanaman pada Cekaman Biotik. *Agriland* 7(1): 39-47.
- Asih, I.A.R.A.. 2009. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Isoflavon Dari Kacang Kedelai (*Glycine Max*). *Jurnal Kimia* 3: 33–40.
- Dyck, S.V., Gerboux, P., dan Flammang, P.. 2010. *Qualitative and Quantitative Saponin Contents in Five Sea Cucumbers from the Indian Ocean. Marine Drugs* 8(1): 173–89.
- Ergina, S.N., dan Pursitasari, I.D.. 2014. Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder pada Daun Palado yang Diekstraksi dengan Pelarut Air dan Etanol. *Jurnal Akademika Kimia* 3(3): 165–72.
- Halin, H., Wijaya, H., dan Yusilpi, R.. 2017. Pengaruh Harga Jual Kaca Patri Jenis Silver Terhadap Nilai Penjualan Pada Cv. Karunia Kaca Palembang Tahun 2004-2015. *Jurnal Ecoment Global* 2(2): 49.
- Handoko, L.T.. 2020. Potensi Keanekaragaman Hayati Indonesia Untuk Bioprospeksi dan Bioekonomi. *LIPi*. <http://lipi.go.id/berita/potensi-keanekaragaman-hayati-indonesia-untuk-bioprospeksi-dan-bioekonomi-/22154> [11 Maret 2022].
- Kumara, Candrama Jalu. 2021. Efektivitas Flavonoid, Tanin, Saponin Dan Alkaloid Terhadap Mortalitas Larva *Aedes Aegypti*. *Program Studi Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Surakarta*: 116.
- Lekitoo, K., Batorinding, E., Dimomonmau, P.A., Rumbiak, W.F., Heatubun C.D., Lekitoo H.Y.. 2012. Re-Diversifikasi Pangan di Tanah Papua Bagian-1 Pemanfaatan Enam Jenis Tumbuhan Hutan Penghasil Buah Sebagai Sumber Bahan Pangan Di Tanah Papua. Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan. Jakarta Pusat.
- Markham, K.R. 1988. Cara mengidentifikasi flavonoid. Bandung: Penerbit ITB.
- Mappasomba, M., Bayu, W., Muhammad, M., Wahyuni, Sahidin. 2020. Penapisan Fitokimia Dan Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Beberapa Tanaman Obat Terhadap Larva Udang *Artemia Salina* Leach. *Jurnal Farmasi, Sains, dan Kesehatan* 5(1): 30–34.
- Maukar, M.A., Runtuwene, M.R.J., Pontoh, J.. 2013. Analisis Kandungan Fitokimia Dari Uji Toksisitas Ekstrak Metanol Daun Soyogik (*Sauraula Bracteosa* DC) Dengan Menggunakan Metode Maserasi. *Jurnal Ilmiah Sains* 13(2): 98.
- Novitasari, A. E., dan Putri, D.Z.. 2016. Isolasi Dan Identifikasi Saponin Pada Ekstrak Daun Mahkota Dewa Dengan Ekstraksi Maserasi. *Jurnal Sains* 6(12): 10–14.
- Nurul, Askarani S. 2019. “Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi N-Heksana Kulit Buah Citrus *Reticulata* Terhadap *Propionibacterium Acnes* Dengan Menggunakan Metode Difusi Cakram. Universitas Muhammadiyah Malang. Thesis (Undergraduate (S1)).
- Sanjayasari, D., dan Pliliang, W.G.. 2011. Skrining Fitokimia Dan Uji Toksisitas Ekstrak Daun Katuk *Saoropus Androgenus* (L.) Merr

- Terhadap Larva Udang Artemia Salina : Potensi Fitofarmaka Pada Ikan. *Berkala Perikanan Terubuk* 39(1): 91–100.
- Sari, F.P., dan Sari, S.M.. 2011. (*Jatropha Multifida Linn*) Sebagai Bahan Baku Alternatif Antibiotik Alami. *Jurusan Teknik Kimia Universitas Diponegoro*: 2–8.
- Siahaan, E.M.I., Santoso, B.B., Somar, E., Massora, M.. 2021. Uji Aktivitas Antibakteri Dan Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Buah Hitam (*H. monticola* .) Asal Kabupaten Teluk Wondama. *Jurnal Natural* 17(2): 72–84.
- Somar, E. dan Rahman, L.A.. 2020. Ekstrak Tannin Daun Buah Hitam (*Haplolobus Sp*) Sebagai Inhibitor Alami Korosi Besi Dalam Larutan Asam. *Jurnal Natural* 16(1): 61–65.
- Sulistiyarini, I., Sari, D.A., dan Wicaksono, T.A.. 2019. Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Batang Buah Naga (*Hylocereus Polyrhizus*). *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*: 56–62.
- Wahyuni, D., dan Loren, I.. 2015. Perbedaan Toksisitas Ekstrak Daun Sirih (*Piper Betle L.*) Dengan Ekstrak Biji Srikaya (*Annona Squamosa L.*) Terhadap Larva Nyamuk *Aedes Aegypti L.* *Saintifika* 17(1): 38–48. <http://jurnal.unej.ac.id/index.php/STF>.
- Zuraida, Zuraida. 2018. Analisis Toksisitas Beberapa Tumbuhan Hutan Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Jurnal Penelitian Hasil Hutan* 36(3): 239–46.