

**TOXICITY TEST AND PHYTOCHEMICAL FOR HERBAL  
PREPARATION (ETHANOL 70% EXTRACT, DECOCTA & TEA) OF  
MORINGA LEAF (*Moringa oleifera* Lam.) BY USING METHOD OF *BRINE  
SHRIMP LETHALITY TEST (BSLT)***

**Moh. Ali, Eny Yulianti, Abdul Hakim,  
Tri Kustono Adi, Ahmad Hanapi and Ahmad Barizi**

Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi,  
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, Jalan Gajayana 50, Malang 65144,  
Jawa Timur, Indonesia  
Correspondence: enyyulianti@kim.uin-malang.ac.id

**ABSTRACT**

Moringa (*Moringa oleifera* Lam) Is a clump plant species having a stem height of 7-11 meters. Moringa has become one of the most studied herbs in abroad, particularly in the Philippines, India, Africa, Europe and USA. In Indonesia, the study on bioactivity of Moringa in the field of pharmacology has not been studied extensively, so it is necessary to study its potential as a herbal medicine. The purpose of this research is to determine the toxicity level of each extract herbal preparation (ethanol 70% extract, decocta, tea and ethanol 70% extract hydrolyzate) leaf of moringa (*Moringa oleifera* Lam) and for determining the group of active compounds contained in the extract of the herbal preparations which having the potential bioactivity.

Extraction was underwent by the method of herbal preparation extraction (ethanol 70% extract, decocta, tea and ethanol 70% extract hydrolyzate). Extracted result was concentrated by rotary evaporator vacuum. Concentrated extract of herbal preparation that obtained was tested its level of toxicity against shrimp larvae *Artemia salina* Leach with *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)* method and Phytochemical test with reagent test. Mortality data of shrimp larva *Artemia salina* Leach was analyzed by probit analysis to know the LC<sub>50</sub> value of each herbal preparation extract.

The result of this research indicates that herbal preparation extract (ethanol 70% extract, decocta, tea and ethanol 70% extract hydrolyzate) leaf of Moringa (*Moringa oleifera* Lam) is toxic to shrimp larva *Artemia salina* Leach which was indicated by LC<sub>50</sub> value less than 1000 ppm. Toxicity of ethanol 70% extract of Moringa leaf is greater (LC<sub>50</sub> is smallest) than the toxicity of three other herbal preparation extracts. The LC<sub>50</sub> value of thanol 70% extract is 154,512 ppm, LC<sub>50</sub> value of decocta extract is 437,752 ppm, LC<sub>50</sub> value of tea extract is 198,835 ppm and LC<sub>50</sub> value of ethanol 70% extract hydrolyzate is 293,137 ppm. The contents of compound group based on phytochemical test to extract herbal preparation (ethanol 70% extract, decocta and tea) are flavonoid, tanin and triterpenoid whereas in ethanol 70% extract hydrolyzate, the contents are flavonoid, tanin and steroid.

**Keywords:** Moringa leaf (*Moringa oleifera* Lam), herbal preparation, *Artemia salina* Leach, toxicity test and phytochemical test

## تجريب السمية ومواد الكيمياء النباتية في تحضير العشبي (مستخرج الإيثانول ٧٠٪ والديكوك والشاي) من ورق المورينجا (المورينجا أوليفيرا لامك) بطريقة إختبار فتك القريدس (BSLT)

محمد علي وإيني يوليانتى و عبد الحكيم وتيركوستونوا أدي وأحمد حنافي و أحمد بارزي

شعبة الكيمياء, كلية العلوم والتكنولوجيا, جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية بمالانج  
شارع غجايانا نمر ٥٠ بمالانج, جو الشرقية, إندونيسيا  
Email: [ennyulianti@kim.uin-malang.ac.id](mailto:ennyulianti@kim.uin-malang.ac.id)

### ملخص البحث

المورينجا (المورينجا أوليفيرا لامك) هو من أنواع الشجيرات الذي يبلغ إرتفاع ساقه إلى ٧-١١ مترا. أصبح المورينجا واحدة من عُشْبِيّ الذي يدرس في خارج البلاد أغلبيًا, خاصة في الفلبين, الهند, أفريقيا, أوروبا والولايات المتحدة الأمريكية. وأما في إندونيسيا, كان البحث عن النشاط الحيوي من المورينجا في مجال الصيدلة لم يبحث على نطاق واسع, حتى يلزم البحث عن قُوَّته كالدواء العشبي. الهدف من هذا البحث هو لمعرفة منسوب السمية من كل مستخرج تحضير العشبي (مستخرج الإيثانول ٧٠٪ والديكوك والشاي وهيدرووليسيس مستخرج الإيثانول ٧٠٪) من ورق المورينجا (المورينجا أوليفيرا لامك) ولمعرفة مجموعة المستحضر الناشط التي لها قُوَّة النشاط الحيوي الكامن في مستخرج تحضير العشبية.

يؤدى الإستخراج بطريقة إستخراج تحضير العشبي (مستخرج الإيثانول ٧٠٪ والديكوك والشاي وهيدرووليسيس مستخرج الإيثانول ٧٠٪). ويكتف المستخرج بالدوار المبخر. مستخرج تحضير العشبي الخاثر المحصول يجَرَّبُ منسوب سميته إلى يرقة القريدس *أرتيميا سلينا* لياج بطريقة إختبار فتك القريدس (BSLT) ويجَرَّبُ مواد الكيمياء النباتية باختبار الكاشف. تحلل بيانات موت يرقة القريدس *أرتيميا سلينا* لياج بتحليل الإحتمال لمعرفة قيمة  $LC_{50}$  على كل مستخرج تحضير العشبي.

مُحَصَّلَة هذا البحث تظهُرُ على أن مستخرج تحضير العشبي (مستخرج الإيثانول ٧٠٪ والديكوك والشاي وهيدرووليسيس مستخرج الإيثانول ٧٠٪) من ورق المورينجا (المورينجا أوليفيرا لامك) سُمِّي على يرقة القريدس *أرتيميا سلينا* لياج الذي يظهر بقيمة  $LC_{50}$  أقل من ١٠٠٠ ppm. سمية مستخرج الإيثانول ٧٠٪ من ورق المورينجا أكبر من ثلاثة مستخرج تحضير العشبي الأخر. حصل مستخرج الإيثانول ٧٠٪ على قيمة  $LC_{50}$  ٥١٢,١٥٤ ppm ; حصل مستخرج الديكوك على قيمة  $LC_{50}$  ٧٥٢,٤٣٧ ; حصل مستخرج الشاي على قيمة  $LC_{50}$  ٨٣٥,١٩٨ وحصل هيدرووليسيس مستخرج الإيثانول ٧٠٪ على قيمة  $LC_{50}$  ٢٩٣,١٣٧ ppm. مَحْتَوِيَّات مجموعة الإتحاد الكلي باسناد إلى إختبار مواد الكيمياء النباتية باختبار الكاشف في مستخرج تحضير العشبي (مستخرج الإيثانول ٧٠٪ والديكوك والشاي) هي فلافونويد و عصف وتيرترفينويد, وأما في هيدرووليسيس مستخرج الإيثانول ٧٠٪ هي فلافونويد و عصف وستيرويد.

**الكلمات المفتاحية:** ورق المورينجا (المورينجا أوليفيرا لامك), تحضير العشبي, *أرتيميا سلينا* لياج, تجريب السمية, تجريب مواد الكيمياء النباتية

**UJI TOKSISITAS DAN FITOKIMIA SEDIAAN HERBAL  
(EKSTRAK ETANOL 70%, DEKOK & TEH) DAUN KELOR (*Moringa  
oleifera* Lamk.) DENGAN METODE *BRINE SHRIMP LETHALITY TEST*  
(BSLT)**

**Moh. Ali, Eny Yulianti, Abdul Hakim,  
Tri Kustono Adi, Ahmad Hanapi dan Ahmad Barizi**

Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi,  
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, Jalan Gajayana 50, Malang 65144,  
Jawa Timur, Indonesia

Correspondence: enyyulianti@kim.uin-malang.ac.id

**ABSTRAK**

Kelor (*Moringa oleifera* Lamk) merupakan jenis tanaman perdu yang memiliki ketinggian batang 7-11 meter. Kelor telah menjadi salah satu herbal yang paling banyak dipelajari di luar negeri, khususnya di Filipina, India, Afrika, Eropa dan Amerika Serikat. Di Indonesia kajian tentang bioaktivitas kelor dalam bidang farmakologi belum diteliti secara luas sehingga perlu adanya penelitian akan potensinya sebagai obat herbal. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui tingkat toksisitas masing-masing ekstrak sediaan herbal (ekstrak etanol 70%, dekok, teh dan hidrolisat ekstrak etanol 70%) daun kelor (*M. oleifera* Lamk) dan untuk mengetahui golongan senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak sediaan herbal daun kelor (*M. oleifera* Lamk) yang memiliki potensi bioaktifitas.

Ekstraksi dilakukan dengan metode ekstraksi sediaan herbal (ekstrak etanol 70%, dekok, teh dan hidrolisat ekstrak etanol 70%). Hasil ekstraksi dipekatkan dengan *rotary evaporator vacum*. Ekstrak pekat sediaan herbal yang diperoleh dilakukan uji tingkat toksisitas terhadap larva udang *Artemia salina* Leach dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dan uji fitokimia dengan uji reagen. Data kematian larva udang *A. salina* Leach dianalisis dengan analisis probit untuk mengetahui nilai LC<sub>50</sub>-nya pada masing-masing ekstrak sediaan herbal.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak sediaan herbal (ekstrak etanol 70%, dekok, teh dan hidrolisat ekstrak etanol 70%) daun kelor (*M. oleifera* Lamk) bersifat toksik terhadap larva udang *A. salina* Leach yang ditunjukkan dengan nilai LC<sub>50</sub> kurang dari 1000 ppm. Toksisitas ekstrak etanol 70% daun kelor lebih besar (LC<sub>50</sub> paling kecil) dari pada toksisitas ketiga ekstrak sediaan herbal yang lainnya. Ekstrak etanol 70% menghasilkan nilai LC<sub>50</sub> 154,512 ppm, ekstrak dekok menghasilkan nilai LC<sub>50</sub> 437,752 ppm, ekstrak teh menghasilkan nilai LC<sub>50</sub> 198,835 ppm dan hidrolisat ekstrak etanol 70% menghasilkan nilai LC<sub>50</sub> 293,137 ppm. Kandungan golongan senyawa berdasarkan uji fitokimia terhadap ekstrak sediaan herbal (ekstrak etanol 70%, dekok dan teh), yaitu flavonoid, tanin dan triterpenoid, sedangkan pada hidrolisat ekstrak etanol 70% yaitu flavonoid, tanin dan steroid.

**Kata Kunci:** Daun kelor (*Moringa oleifera* Lamk), sediaan herbal, *Artemia salina* Leach, uji toksisitas dan uji fitokimia

## I. PENDAHULUAN

Kanker adalah suatu penyakit yang disebabkan oleh pertumbuhan sel-sel jaringan tubuh yang tidak normal. Sel-sel kanker akan berkembang dengan cepat, tidak terkendali dan akan terus membelah diri melebihi jumlah normalnya. Sel-sel tersebut lalu menyusup ke jaringan sekitarnya dan terus menyebar melalui jaringan ikat, darah, serta menyerang organ-organ penting dan saraf tulang punggung (Maharani, 2009). Data badan kesehatan dunia atau *World Health Organization* (WHO) tahun 2010 menyebutkan, kanker merupakan penyebab kematian penduduk nomor 2 setelah penyakit kardiovaskuler, sedangkan berdasarkan Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2007, kanker menempati urutan ke-6 penyebab kematian terbesar di Indonesia (Sukardja, 2000).

Metode terapi yang lazim dilakukan selama ini untuk mengatasi kanker adalah pembedahan, radiasi dan kemoterapi (Nafrinaldi dan Gan, 1995). Pembedahan umumnya tidak efektif lagi untuk sel yang telah mengalami metastasis, penyinaran seringkali tidak efektif dan tidak aman untuk sel-sel yang normal, sedangkan penggunaan kemoterapi belum memberikan hasil yang optimal karena obat tersebut bekerja tidak spesifik sehingga perlu dikembangkan upaya penemuan obat baru dari alam (Pamilih, 2009). Efek samping yang lainnya adalah munculnya sel kanker yang bersifat *Multidrug resistance* (MDR) atau tahan terhadap berbagai obat kanker (Tanaka, dkk., 2002 dan NCI, 2004 dalam Trianto, 2004).

Pengobatan secara modern dirasa sangat mahal, efek samping cukup tinggi dan hasilnya pun belum tentu memuaskan. Keadaan semacam ini memacu pemanfaatan bahan alami untuk memperoleh bahan obat alternatif, salah satunya obat tradisional (Soedibyo, 1998). Di Indonesia banyak sekali tanaman yang dikenal berkhasiat obat, khususnya obat antikanker (Sudarsono, 1996). Obat-obatan antikanker banyak didapatkan dari berbagai macam tanaman, salah satu contohnya adalah tanaman obat dari ekstrak daun *M. oleifera*

Lamk.

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Fahey (2005) menunjukkan bahwa kelor dapat menghambat pertumbuhan tumor dan dapat mencegah pertumbuhan kanker di dalam tubuh. Hal ini diperkuat dengan penelitian Anwar dkk., (2007) yang menunjukkan bahwa pada bagian-bagian dari kelor (*M. oleifera* Lamk) mempunyai kandungan senyawa yang berfungsi sebagai antitumor. Hasil penelitian Shanker, dkk., (2006) dengan menggunakan variasi konsentrasi etanol, dihasilkan konsentrasi 60% dapat mengekstrak senyawa niazinin terbanyak yang berfungsi sebagai antikanker.

Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach sebagai hewan uji merupakan salah satu metode yang banyak digunakan untuk pencarian senyawa antikanker baru yang berasal dari tanaman. Hasil uji toksisitas dengan metode ini telah terbukti memiliki korelasi dengan daya sitotoksik senyawa antikanker. Metode uji potensi hayati BSLT memiliki beberapa keunggulan diantaranya waktu pelaksanaan cepat, biaya relatif murah, cukup akurat, sederhana, tidak memerlukan teknik aseptik, tidak memerlukan peralatan khusus, dan hanya membutuhkan sedikit sampel uji (Meyer, dkk., 1982). Selain itu telur *A. salina* juga memiliki kemampuan untuk mengatasi perubahan tekanan osmotik dan regulasi ionik yang tinggi (Croghan 1957 dalam Kurniawan, 2011).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui tingkat toksisitas masing-masing ekstrak sediaan herbal (ekstrak etanol 70%, dekok, teh dan hidrolisat ekstrak etanol 70%) daun kelor (*M. oleifera* Lamk) dan untuk mengetahui golongan senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak sediaan herbal daun kelor (*M. oleifera* Lamk) yang memiliki potensi bioaktivitas. Pada penelitian ini juga akan dilakukan hidrolisis (reaksi peruraian senyawa dengan penambahan asam) untuk memutus ikatan glikosida pada ekstrak polarnya (Tensiska, dkk., 2007).

## II. METODE PENELITIAN

### A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei sampai Juni 2013 yang bertempat di Laboratorium Kimia Organik, Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

### B. Alat dan Bahan

#### 1. Alat

Alat-alat yang digunakan adalah blender, cawan penguap, oven, mortar, panci, *hot plate*, *magnetic stirrer*, termometer, kain flanel, kertas saring, spatula, kaca arloji, neraca analitik, desikator, pH-meter, corong kaca, gelas ukur 100 mL, erlenmeyer 500 mL, *beaker glass* 100 mL, pengaduk kaca, *aluminium foil*, corong *buchner*, *shaker*, kertas saring, pipet tetes, labu ukur 10 mL, pipet ukur 5 mL, pipet mikro ukuran 10-100  $\mu$ L, pipet mikro ukuran 100-1000  $\mu$ L, bola hisap, tabung reaksi, *vortex*, bunsen burner, penjepit, pinggan porselin, lempeng tetes, botol aquades, *rotary evaporator vacuum*, bejana penetasan, aerator dan botol vial.

#### 2. Bahan

Sampel yang digunakan adalah daun kelor (*M. oleifera* Lamk) dengan hewan uji larva udang *A. salina* Leach. Bahan-bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: pelarut etanol p.a, dan akuades, air laut, ragi roti, asam sulfat ( $H_2SO_4$ ) p.a, asam klorida (HCl) p.a, asam asetat anhidrat, etil asetat, natrium bikarbonat ( $NaHCO_3$ ), metanol p.a, kloroform, larutan besi(III) klorida heksahidrat ( $FeCl_3$  1%), serbuk logam Mg, reagen Mayer dan reagen Dragendroff.

### C. Prosedur Penelitian

#### 1. Preparasi Sampel

Preparasi sampel daun kelor meliputi pemisahan daun kelor dari tangkainya, penimbangan, pembersihan, pengeringan dan penghalusan. Daun kelor dipisahkan dari tangkainya, selanjutnya ditimbang, kemudian dibersihkan dengan cara dibilas dengan air. Pencucian dilakukan dengan air kran yang mengalir, ditiriskan, dikeringkan dengan cara diangin-anginkan di udara terbuka.

Selanjutnya dikeringkan dalam oven pada suhu 30-37 °C selama  $\pm$  24 jam. Sampel yang telah kering dihaluskan dengan menggunakan blender, kemudian diayak dengan menggunakan ayakan berukuran lolos 60 *mesh*. Diperoleh serbuk kering daun kelor yang lolos ayakan 60 *mesh* dan siap untuk diekstraksi.

#### 2. Analisis Kadar Air

Analisis kadar air dilakukan dengan metode *thermogravimetri* yaitu dengan pemanasan. Analisis ini dilakukan pada daun kelor (*M. oleifera* Lamk) segar dan daun serbuk kering yang dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan dengan beberapa kali penimbangan hingga didapatkan berat konstan. Cawan yang digunakan mula-mula dipanaskan dalam oven pada suhu 100-105 °C sekitar 15 menit untuk menghilangkan kadar airnya, kemudian cawan disimpan dalam desikator sekitar 10 menit. Cawan tersebut selanjutnya ditimbang dan dilakukan perlakuan yang sama sampai diperoleh berat cawan yang konstan. Sampel daun kelor (*M. oleifera* Lamk) dibuat menjadi dua bentuk, yaitu daun segar dan daun serbuk kering, selanjutnya masing-masing sampel dimasukkan ke dalam cawan yang telah diketahui beratnya. Tiap bentuk sampel ditriplo, selanjutnya masing-masing ditimbang sekitar 5 gr, selanjutnya dikeringkan di dalam oven pada suhu 100-105 °C selama sekitar 30 menit. Sampel kering didinginkan dalam desikator sekitar 10 menit dan ditimbang. Sampel tersebut dipanaskan kembali dalam oven selama sekitar 30 menit, selanjutnya didinginkan dalam desikator dan ditimbang kembali. Perlakuan ini diulangi sampai tercapai berat konstan. Kadar air dalam tanaman dihitung menggunakan rumus berikut:

$$\text{Kadar air} = \frac{(b - c)}{(b - a)} \times 100\%$$

Keterangan:

$a$  = berat konstan cawan kosong

$b$  = berat konstan cawan + sampel sebelum dikeringkan

$c$  = berat konstan cawan + sampel setelah dikeringkan

$$\text{Faktor koreksi} = \frac{100}{100 - \% \text{ kadar air}}$$

% Kadar air = Kadar air – Faktor koreksi  
Terkoreksi

### 3. Ekstraksi Komponen Aktif dengan Metode Sediaan Herbal

#### a) Ekstrak Etanol 70%

Ekstraksi komponen aktif terhadap daun kelor dilakukan dengan metode maserasi/perendaman menggunakan pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:10. Serbuk kering daun kelor ditimbang sebanyak 35 gr dan diekstraksi menggunakan 350 mL pelarut etanol 70% sambil dishaker, selanjutnya didiamkan selama 24 jam, kemudian disaring. Ampas yang diperoleh dimaserasi kembali dengan pelarut etanol 70% hingga diperoleh filtrat yang cukup bening. Maserasi dilakukan hingga tiga kali maserasi terhadap 35 gr serbuk kering daun kelor selama tiga hari, dimana pada hari pertama serbuk kering daun kelor dimaserasi dengan 150 mL etanol 70%, sedangkan hari kedua dimaserasi dengan 100 mL etanol 70% begitu juga pada hari ketiganya dengan 100 mL etanol 70%, sehingga jumlah pelarut etanol 70% sebanyak 350 mL.

Ekstrak yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator vacuum* hingga diperoleh ekstrak pekat etanol 70% dan dihitung rendemennya, kemudian dibuat sediaan larutan ekstrak dengan konsentrasi 1,6 – 400 ppm. Perlakuan di atas dilakukan hingga 3 kali pengulangan.

Khusus untuk ekstrak pekat etanol 70% dilakukan hidrolisis dengan HCl yang bertujuan untuk memutus ikatan glikosidanya. Dimana prosedurnya, yaitu sebanyak 5 gr ekstrak pekat etanol 70% dimasukkan dalam *beaker glass* 250 mL, kemudian dihidrolisis dengan menambahkan 10 mL asam klorida (HCl) 2 N ke dalam ekstrak pekat tersebut. Proses hidrolisis dilakukan selama 1 jam dan mengaduknya dengan menggunakan *magnetic*

*stirrer* dan *hot plate* pada suhu ruang (Tensiska dkk., 2007). Hidrolisat yang diperoleh ditambahkan dengan natrium bikarbonat hingga pH-nya netral yang diukur menggunakan pH-meter. Cairan hidrolisat dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator vacuum*, selanjutnya dialiri dengan gas N<sub>2</sub>, kemudian ekstrak pekat yang diperoleh ditimbang dan dihitung rendemennya, selanjutnya dibuat sediaan larutan ekstrak dengan konsentrasi 1,6–400 ppm.

#### b) Dekokta (Dekok)

Mula-mula serbuk simplisia daun kelor ditimbang sebanyak 35 gram dan dicampur dengan 350 mL air ke dalam panci dekokta, selanjutnya dipanaskan di atas tangas air hingga mencapai suhu 90 °C. Panci ditutup rapat selama 30 menit dengan suhu konstan 90 °C sambil diaduk 2-3 kali. Kemudian dekokta disaring (diserkai) dalam keadaan panas dengan menggunakan kain flanel rangkap dua, selanjutnya ampasnya didekok ulang hingga diperoleh volume dekok yang dikehendaki yang sedikit bening (BPOM RI, 2010). Hasil saringan (ekstrak) dijadikan satu dan dimasukkan ke dalam labu alas bulat yang telah ditimbang sebelumnya, kemudian labu ditutup dengan aluminium foil.

Hasil dekokta yang diperoleh kemudian dikeringkan (dipekatkan) dengan *rotary evaporator vacuum* di atas penangas air bersuhu 60°C. Sebelum *rotary*, penangas (*heating bath*) dan vakum dinyalakan, air di dalam tabung destilasi harus dipastikan bergerak. Setelah ketiga alat dinyalakan, *rotary* diputar dengan kecepatan sebesar dua kali kecepatan minimal. Vakum diturunkan terus-menerus secara perlahan selama larutan di dalam labu stabil (tidak berbuih) hingga 50 mBar. Sebelum larutan dalam labu mengering maksimal, larutan dalam labu dipindahkan ke dalam labu kecil yang sudah ditimbang. Labu yang berisi ekstrak kental ditimbang untuk dihitung rendemennya, kemudian dibuat sediaan larutan ekstrak dengan konsentrasi 0,78 – 400 ppm. Perlakuan di atas dilakukan hingga 3 kali pengulangan.

### c) Teh

Mula-mula serbuk simplisia daun kelor ditimbang sebanyak 35 gram dan dicampur dengan 350 mL air mendidih (100 °C) ke dalam panci/wadah. Panci ditutup rapat dan didiamkan selama 5-10 menit sambil diaduk 2-3 kali, kemudian disaring dan ampasnya ditambahkan air mendidih (100 °C) lagi secukupnya hingga warna ampas agak bening (BPOM RI, 2010).

Ekstrak teh herbal yang diperoleh kemudian dikeringkan (dipekatkan) dengan *rotary evaporator vacum* hingga diperoleh ekstrak pekat teh herbal dan dihitung rendemennya, kemudian dibuat sediaan larutan ekstrak dengan konsentrasi 0,78–400 ppm. Perlakuan di atas dilakukan hingga 3 kali pengulangan.

Masing-masing konsentrasi dari ekstrak pekat sediaan herbal yang diperoleh tersebut selanjutnya diuji toksisitasnya terhadap larva udang *A. salina* Leach dan dilanjutkan dengan uji fitokimia menggunakan uji reagen terhadap semua ekstrak pekat sediaan herbal.

## 4. Uji Toksisitas terhadap Larva Udang *A. salina* Leach

### a) Penetasan Telur

Air laut sebanyak 250 mL dimasukkan dalam bejana penetasan yang diberi sekat menjadi 2 bagian (bagian gelap dan terang) dan dimasukkan juga 25 mg telur *A. salina* Leach ke bagian gelap dari bejana yang berisi air laut. Selanjutnya diaerasi dengan cara memberikan aerator ke dalam bejana penetasan dibawah cahaya lampu neon 18 watt (Sukandar, dkk., 2009). Pada bagian telur ditutup dengan alumunium foil sehingga ruangan menjadi gelap dan lampu dinyalakan selama 48 jam untuk menetas telur. Larva yang menetas akan menuju daerah yang lebih terang meselanjutnyai sekat. Larva yang sehat akan mendekati cahaya (bersifat fototropik) dan siap dijadikan hewan uji setelah berumur 48 jam (Panjaitan, 2011). Larva udang *A. salina* Leach yang akan diuji diambil dengan menggunakan pipet.

### b) Uji Toksisitas

Perlakuan uji toksisitas dilakukan sebanyak 3 kali ulangan pada masing-masing konsentrasi dari ketiga ekstrak pekat sediaan herbal dan hidrolisat ekstrak etanol 70%. Botol disiapkan untuk pengujian, masing-masing ekstrak membutuhkan  $\pm 27$  botol dan 3 botol sebagai kontrol. Ekstrak pekat etanol 70% dan hidrolisat ekstrak etanol 70%, masing-masing ditimbang sebanyak 10 mg dan dilarutkan dengan menggunakan air laut sebanyak 10 mL, sehingga didapatkan larutan stok 1000 ppm. Larutan stok yang diperoleh selanjutnya dipipet masing-masing sebanyak 4000  $\mu\text{L}$ ; 2000  $\mu\text{L}$ ; 1000  $\mu\text{L}$ ; 500  $\mu\text{L}$ ; 250  $\mu\text{L}$ ; 125  $\mu\text{L}$ ; 62,5  $\mu\text{L}$ ; 32  $\mu\text{L}$  dan 16  $\mu\text{L}$ , kemudian dimasukkan ke dalam botol vial. Selanjutnya dimasukkan setetes larutan ragi roti, 2 mL air laut, kemudian dikocok sampai ekstrak dapat larut dalam air laut. Kemudian dimasukkan 10 ekor larva udang *A. salina* Leach. dan ditambahkan air laut sampai volumenya menjadi 10 mL, sehingga konsentrasinya masing-masing larutan menjadi 400 ppm; 200 ppm; 100 ppm; 50 ppm; 25 ppm; 12,5 ppm; 6,25 ppm; 3,2 ppm dan 1,6 ppm. Masing-masing ekstrak diulang sebanyak 3 kali, sehingga terdapat 27 botol vial untuk tiap ekstrak.

Demikian juga untuk pengujian dua sediaan herbal daun kelor yang lainnya, yakni dekok dan teh herbal dengan terlebih dahulu membuat larutan stok sebanyak 1000 ppm dengan cara melarutkan 10 mg ekstrak pekat dalam 10 mL air laut. Larutan stok yang diperoleh dari masing-masing sediaan herbal, dekok dan teh herbal selanjutnya dipipet masing-masing sebanyak 4000  $\mu\text{L}$ ; 2000  $\mu\text{L}$ ; 1000  $\mu\text{L}$ ; 500  $\mu\text{L}$ ; 250  $\mu\text{L}$ ; 125  $\mu\text{L}$ ; 62,5  $\mu\text{L}$ ; 31,25  $\mu\text{L}$ ; 15,6  $\mu\text{L}$  dan 7,8  $\mu\text{L}$ , kemudian dimasukkan ke dalam botol vial. Selanjutnya dimasukkan setetes larutan ragi roti, 2 mL air laut, kemudian dikocok sampai ekstrak dapat larut dalam air laut. Kemudian dimasukkan 10 ekor larva udang *A. salina* Leach. dan ditambahkan air laut sampai volumenya menjadi 10 mL, sehingga konsentrasinya masing-masing larutan menjadi 400 ppm; 200 ppm; 100 ppm; 50 ppm; 25 ppm; 12,5 ppm; 6,25 ppm; 3,125 ppm; 1,56 ppm dan 0,78 ppm.

Masing-masing ekstrak diulang sebanyak 3 kali, sehingga terdapat 30 botol vial untuk tiap ekstrak.

Kontrol digunakan sebagai pembanding yang dibuat dengan cara yang sama kecuali penambahan ekstrak atau larutan hasil sediaan herbal, yaitu memasukkan 2 mL air laut dan setetes larutan ragi roti sebagai sumber makanannya ke dalam botol vial serta dimasukkan juga 10 ekor larva udang *A. salina* Leach ke dalamnya menggunakan pipet tetes, kemudian ditambahkan air laut hingga volumenya menjadi 10 mL. Pengamatan dilakukan selama 24 jam terhadap kematian larva udang. Parameter larva udang yang mati pada perlakuan adalah larva udang yang tidak menunjukkan pergerakan selama 10 detik, tenggelam ke dasar botol vial, mengalami gerakan tidak teratur yakni *A. salina* Leach tetap aktif bergerak tetapi tetap berputar-putar pada satu titik atau diamati dengan kaca pembesar (Nurhayati, dkk., 2006). Selanjutnya dihitung *survival rate* dari *A. salina* Leach pada masing-masing konsentrasi dan ulangan dalam botol vial, menggunakan rumus Nurhayati dalam Sanjayasari (2011), sebagai berikut:

$$\% \text{ kematian } A. \text{ salina} = \frac{T - K}{10} \times 100\%$$

Keterangan:

T = jumlah larva uji yang mati

K = jumlah larva kontrol yang mati

Setelah memperoleh % kematian, kemudian dianalisis dengan analisis probit menggunakan program MINITAB 16 untuk mendapatkan nilai  $LC_{50}$ .

## 5. Uji Fitokimia dengan Uji Reagen

### a) Uji Alkaloid (Lestari, 2012)

Ekstrak pekat sediaan herbal daun kelor sebanyak 1 mg dimasukkan dalam tabung reaksi dan dilarutkan dengan 1 mL pelarutnya, kemudian ditambah 0,5 mL HCl 2 % dan larutan dibagi dalam dua tabung. Tabung I ditambahkan 2-3 tetes reagen Dragendroff dan tabung II ditambahkan 2-3 tetes reagen Meyer. Hasil positif alkaloid apabila terbentuk endapan berwarna merah bata, merah, jingga (dengan reagen Dragendroff) dan endapan putih

atau kekuning-kuningan (dengan reagen Mayer).

### b) Uji Flavonoid (Lestari, 2012)

Ekstrak pekat sediaan herbal daun kelor sebanyak 1 mg dimasukkan dalam tabung reaksi dan dilarutkan dengan 1 mL pelarutnya, kemudian ditambah 1-2 mL metanol panas 50%. Kemudian ditambah sedikit logam Mg dan 4-5 tetes HCl pekat. Adanya flavonoid ditandai dengan terbentuknya larutan yang berwarna jingga (flavon), merah tua (flavonol/flavonon), orange, merah, kuning dan hijau sampai biru (aglikon/glikosida).

### c) Uji Tanin (Lestari, 2012)

Ekstrak pekat sediaan herbal daun kelor sebanyak 1 mg dimasukkan dalam tabung reaksi dan dilarutkan dengan 1 mL pelarutnya, kemudian ditambahkan larutan  $FeCl_3$  1% sebanyak 1 sampai 2 tetes. Adanya tanin ditandai dengan berubahnya warna larutan menjadi hitam, hijau coklat atau biru hitam.

### d) Uji Saponin (Lestari, 2012)

Ekstrak pekat sediaan herbal daun kelor sebanyak 1 mg dimasukkan dalam tabung reaksi dan dilarutkan dengan 1 mL pelarutnya, kemudian ditambah air (1:1) sambil dikocok selama 1 menit. Apabila menimbulkan busa, maka ditambahkan HCl 1 N. Adanya saponin ditandai dengan terbentuknya busa pada larutan yang dapat bertahan selama 10 menit dengan ketinggian 1-3 cm.

### e) Uji Triterpenoid dan Steroid

Ekstrak pekat sediaan herbal daun kelor sebanyak 1 mg dimasukkan dalam tabung reaksi dan dilarutkan dengan 1 mL pelarutnya, kemudian ditambah 0,5 mL kloroform selanjutnya ditambahkan pereaksi Liebermann-Burchard (0,5 mL asam asetat anhidrat dan 1-2 mL asam sulfat pekat) meselanjutnyaai dinding tabung tersebut. Adanya triterpenoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, merah jambu, orange, kuning, ungu atau terbentuknya cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarutnya, sedangkan adanya steroid ditandai dengan terbentuknya

warna hijau, hijau kebiruan atau biru (Farnsworth, 1966; Ditjen POM, 1989).

## 6. Analisis Data

Data yang diperoleh dibuat dalam bentuk tabel dan grafik, kemudian dideskripsikan hasilnya. Tingkat toksisitas larva udang *A. salina* Leach dapat diketahui dengan melakukan uji *Letal Concertation* 50% (LC<sub>50</sub>) menggunakan analisis probit pada program MINITAB 16 dengan tingkat kepercayaan 95%.

## III. HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. Analisis Kadar Air

Analisis kadar air dalam penelitian ini dilakukan dengan metode pemanasan (*thermogravimetri*) yaitu dengan mengeringkan bahan di dalam oven pada suhu 105-110 °C selama 2 jam atau sampai diperoleh berat yang konstan (Winarno, 2002). Analisis kadar air pada penelitian ini dilakukan pada sampel daun kelor (*M. oleifera* Lamk) dalam bentuk daun segar dan daun serbuk kering. Penentuan kadar air berguna untuk menyatakan kandungan zat dalam tumbuhan sebagai persen bahan kering. Kadar air juga berkaitan dengan ukuran ketahanan suatu bahan dalam penyimpanan (Harjadi 1993).

Adapun hasil analisis kadar air sampel daun kelor segar dan daun kelor serbuk kering, sebagaimana pada Tabel 4.1

Tabel 4.1 Kadar air yang terkandung dalam daun kelor (*M. oleifera* Lamk)

Sampel	Kadar air (%)
Daun kelor segar	71,80
Daun kelor serbuk kering	7,32

Daun kelor serbuk kering mengandung kadar air sebesar 7,32 %, sampel tersebut telah memenuhi standart aturan penyimpanan yang aman terhadap pertumbuhan jamur/mikroba. Soetarno dan Soediro, (1997) menyatakan bahwa sampel dikatakan baik dan dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama apabila memiliki kadar air kurang dari 10 %, karena pada tingkat kadar air tersebut sampel

dapat terhindar dari pertumbuhan jamur yang cepat.

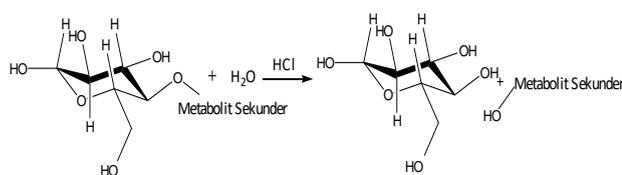
## B. Ekstraksi Komponen Aktif dengan Metode Sediaan Herbal

### 1. Ekstraksi Maserasi dengan Etanol 70%

Ekstraksi adalah proses penarikan komponen atau zat aktif suatu simplisia dengan menggunakan pelarut tertentu. Ekstraksi yang dilakukan dalam penelitian ini adalah ekstraksi maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70%. Maserasi merupakan proses perendaman sampel dengan pelarut organik dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan dalam temperatur ruangan. Ibtisam (2008) menyebutkan bahwa pemilihan cairan penyari harus memenuhi beberapa kriteria, antara lain murah, mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, selektif, tidak mempengaruhi zat yang berkhasiat dan diperbolehkan dalam aturan. Purwatresna, (2012) menyebutkan bahwa adanya peraturan yang dikeluarkan oleh BPOM RI (2010) mengenai cairan penyari untuk keperluan farmakologi hanya memperbolehkan menggunakan air atau etanol.

Hasil ekstrak pekat ditimbang sebanyak 5 gram lalu dihidrolisis dengan menambahkan 10 mL HCl 2N, kemudian dilakukan pengadukan di atas *hot plate* menggunakan *magnetic stirrer*. Hidrolisis adalah suatu reaksi antara suatu senyawa dengan air agar senyawa tersebut pecah atau terurai. Penelitian ini dimaksudkan untuk menghidrolisis ikatan glikosida antara glikon (senyawa gula) dengan aglikon (metabolit sekunder). Penambahan larutan asam klorida (HCl) 2 N ini sebagai katalisator (penyedia H<sup>+</sup>) yang akan mempercepat reaksi hidrolisis. Hal ini sesuai dengan apa yang dinyatakan oleh Saifudin, dkk (2006) bahwa reaksi hidrolisis yang menggunakan air berlangsung sangat lambat sehingga memerlukan bantuan katalisator (asam).

Adapun reaksi pemutusan ikatan glikosida pada proses hidrolisis ini ditunjukkan pada Gambar 4.1:



Gambar 4.1 Reaksi hidrolisis ikatan *O*-glikosida

Selanjutnya hidrolisat dinetralkan dengan natrium bikarbonat sampai pH 7 dengan menggunakan pH meter. Reaksi yang terjadi pada saat penambahan natrium bikarbonat ditunjukkan pada gambar 4.2:



Gambar 4.2 Reaksi antara HCl dan natrium bikarbonat

Larutan hidrolisat dipekatkan dengan *rotary evaporator vakum* hingga pelarut teruapkan semua, kemudian dialiri dengan gas  $\text{N}_2$  untuk mendapatkan ekstrak yang lebih pekat. Rendemen yang diperoleh pada ekstrak hidrolisat sebesar 96 %.

Tabel 4.2 Hasil hidrolisis ekstrak etanol 70%

Ekstrak etanol 70%	Warna filtrat	Warna ekstrak pekat	Rendemen (%) (b/b)
Hidrolisis	coklat pekat	Coklat agak kehitaman	96

## 2. Ekstraksi dengan Metode Dekok

Mula-mula serbuk daun kelor (*M. oleifera* Lamk) ditimbang sebanyak 35 gr dan dicampur dengan 300 mL air ke dalam panci dekokta, lalu dipanaskan di atas *hot plate* hingga mencapai suhu 90 °C, kemudian panci ditutup rapat selama 30 menit dengan suhu konstan 90 °C sambil diaduk 2-3 kali. Suhu larutan dekok diukur dengan menggunakan termometer. Kemudian setelah mencapai 30 menit dekokta disaring (diserkai) dalam keadaan panas dengan menggunakan corong *buchner vacum* dan kain flanel, lalu ampasnya didekok ulang hingga diperoleh volume dekok yang dikehendaki yang sedikit bening sampai tiga kali pengulangan. Pengulangan dekok

kedua ditambah dengan 250 mL air sedangkan pengulangan ketiga ditambah dengan 150 mL air. Pengulangan proses dekok ini bertujuan untuk memaksimalkan hasil ekstraknya. Hasil saringan (ekstrak) yang diperoleh pada dekok pertama berwarna hijau agak kecoklatan, sedangkan hasil dari dekok kedua dan ketiga warnanya mulai kuning dan agak bening. Hasil saringan (ekstrak) yang diperoleh tersebut dijadikan satu dan dimasukkan ke dalam labu alas bulat yang telah ditimbang sebelumnya untuk menguapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator vacum* hingga diperoleh ekstrak pekat.

## 3. Ekstraksi dengan Metode Teh Herbal

Pertama serbuk daun kelor (*M. oleifera* Lamk) ditimbang sebanyak 35 gr dan dicampur dengan 300 mL air mendidih (100 °C) ke dalam panci/wadah, lalu panci ditutup rapat dan didiamkan selama 10 menit sambil diaduk 2-3 kali. Kemudian setelah mencapai 10 menit ekstrak teh disaring dalam keadaan panas dengan menggunakan corong *buchner vacum* dan kain flanel, lalu ampasnya ditambahkan air mendidih (100 °C) lagi secukupnya hingga warna ampas agak bening. Pengulangan kedua ditambah dengan 250 mL air sedangkan pengulangan ketiga ditambah dengan 150 mL air. Pengulangan ini bertujuan untuk memaksimalkan hasil ekstraknya. Hasil saringan (ekstrak) yang diperoleh pada pembuatan teh herbal yang pertama berwarna hijau agak kecoklatan, sedangkan hasil dari pembuatan teh herbal kedua dan ketiga warnanya mulai kuning dan agak bening. Hasil saringan (ekstrak) yang diperoleh tersebut dijadikan satu dan dimasukkan ke dalam labu alas bulat yang telah ditimbang sebelumnya untuk menguapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator vacum* hingga diperoleh ekstrak pekat.

Tabel 4.3 Hasil ekstraksi komponen aktif dengan metode sediaan herbal daun kelor (*M. oleifera* Lamk) dan rendemen

Pelarut		Volum e (mL)	Perubah an filtrat	Warna ekstrak pekat	Rende men (%) (b/b)
Etanol 70%		350	Hijau agak kehitaman hingga kecoklata n dan agak bening	coklat kehitama n lebih pekat	23,24
Aquad es	Deko k	700	Hijau agak kecoklata n hingga kuning dan agak bening	coklat kehitama n	36,95
	Teh Herba l	700	Hijau agak kecoklata n hingga kuning dan agak bening	coklat kehitama n	52,29

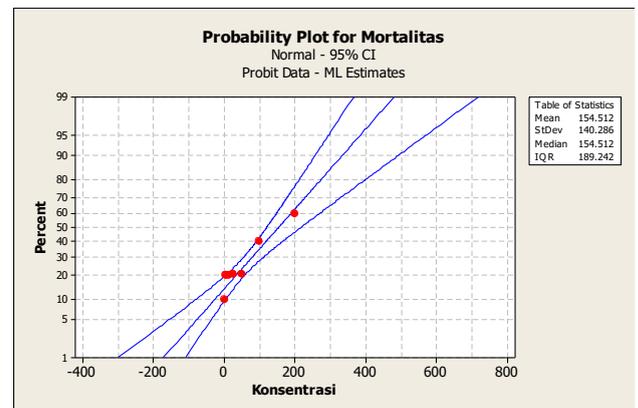
Rendemen ekstrak pekat akuades dengan metode teh herbal lebih besar dibandingkan dengan ekstrak etanol dan dekok, hal ini dikarenakan pada ekstrak akuades metode teh herbal dilakukan proses pemanasan pada suhu tinggi (100 °C) dalam waktu yang relatif cepat (10 menit), sehingga menyebabkan senyawa aktif dapat terekstrak lebih banyak ke dalam pelarutnya, sedangkan waktu pemanasannya lebih cepat dibandingkan metode dekok (30 menit), sehingga lebih meminimalisir terjadinya penguapan ekstrak. Suhu semakin tinggi akan memperbesar energi kinetik pada sistem, sehingga pergerakan molekul-molekul lebih cepat dalam proses pengambilan senyawa aktif pada sampel. Arlene, dkk., (2010) menyatakan bahwa semakin tinggi temperatur, maka rendemen minyak biji kemiri yang didapat juga semakin besar, hal ini disebabkan makin tinggi temperatur, viskositas fasa cair makin kecil sehingga kelarutan ekstrak dalam pelarut makin besar.

**C. Uji Toksisitas terhadap Larva Udag A. salina Leach**

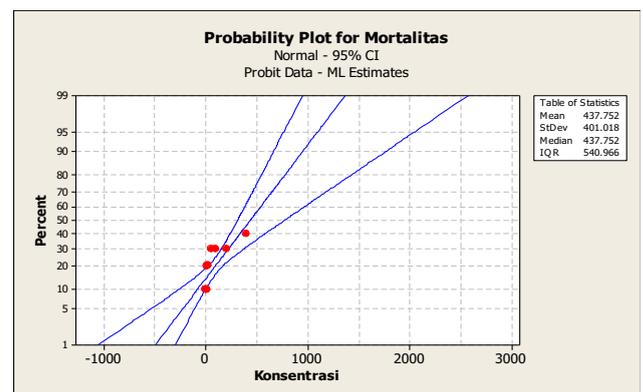
Uji toksisitas dengan menggunakan larva *A. salina* Leach atau metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) merupakan salah satu metode untuk menguji bahan-bahan yang

bersifat sitotoksik. *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dapat digunakan sebagai uji pendahuluan pada penelitian yang mengarah pada uji sitotoksik. Toksisitas suatu senyawa dapat diketahui dengan menghitung jumlah kematian *A. salina* Leach dengan parameter *lethal concentration 50* (LC<sub>50</sub>). LC<sub>50</sub> merupakan konsentrasi zat yang menyebabkan terjadinya kematian pada 50% hewan percobaan yaitu larva *A. salina* Leach. Menurut Meyer, dkk., (1982) suatu senyawa dikatakan toksik jika mempunyai harga LC<sub>50</sub> kurang dari 1000 µg/mL.

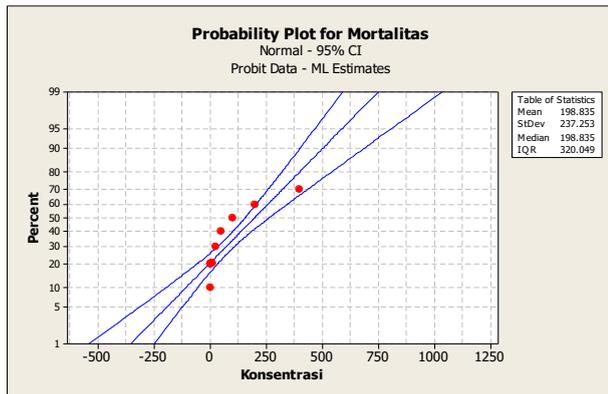
Kurva hasil analisis probit dengan minitab 16 dengan tingkat kepercayaan 95% ditunjukkan pada gambar 4.3, 4.4, 4.5 dan 4.6:



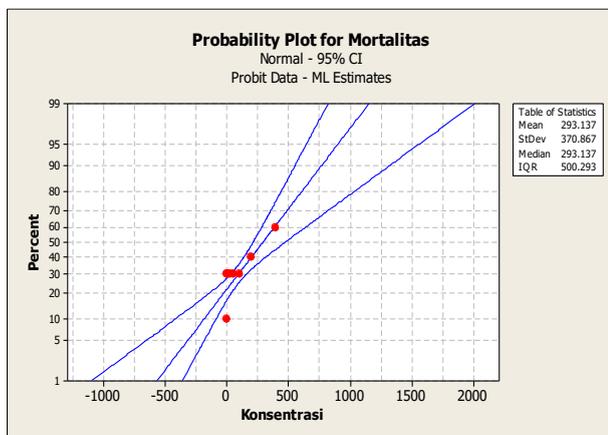
Gambar 4.3 Kurva mortalitas larva udang *A. salina* Leach pada ekstrak etanol 70% daun kelor (*M. oleifera* Lamk)



Gambar 4.4 Kurva mortalitas larva udang *A. salina* Leach pada ekstrak dekok daun kelor (*M. oleifera* Lamk)



Gambar 4.5 Kurva mortalitas larva udang *A. salina* Leach pada ekstrak teh herbal daun kelor (*M. oleifera* Lamk)



Gambar 4.6 Kurva mortalitas larva udang *A. salina* Leach pada hidrolisat ekstrak etanol 70% daun kelor (*M. oleifera* Lamk)

Hasil uji toksisitas ekstrak pekat etanol 70%, dekok, teh herbal dan hidrolisat ekstrak etanol 70% daun kelor (*M. oleifera* Lamk) ditunjukkan pada tabel 4.4:

Tabel 4.4 Hasil uji toksisitas ekstrak etanol 70%, dekok, teh herbal dan hidrolisat ekstrak etanol 70% daun kelor (*M. oleifera* Lamk)

Ekstrak	LC <sub>50</sub> (ppm)
Etanol 70%	154,512
Dekok	437,752
Teh herbal	198,835
Hidrolisat ekstrak etanol 70%	293,137

Meyer (1982) dalam Fariyah (2008) melaporkan bahwa suatu ekstrak menunjukkan aktivitas ketoksikan dalam BSLT jika ekstrak

dapat menyebabkan kematian 50% hewan uji pada konsentrasi kurang dari 1000 ppm. Pernyataan di atas menunjukkan bahwa keempat ekstrak sediaan herbal daun kelor bersifat toksik terhadap larva udang *A. salina* Leach., karena memiliki nilai LC<sub>50</sub> < 1000 ppm.

Berdasarkan tabel hasil uji toksisitas terhadap larva udang *A. salina* Leach menunjukkan bahwa tingkat toksisitas ekstrak etanol 70% daun kelor lebih besar (nilai LC<sub>50</sub> paling kecil) dari pada tingkat toksisitas ekstrak teh herbal, sedangkan tingkat toksisitas ekstrak teh herbal lebih besar (nilai LC<sub>50</sub> lebih kecil) dibandingkan hidrolisat ekstrak etanol 70% dan tingkat toksisitas hidrolisat ekstrak etanol 70% lebih besar (nilai LC<sub>50</sub> lebih kecil) dibandingkan ekstrak dekok (nilai LC<sub>50</sub> paling besar). Hal itu karena senyawa aktif lebih banyak terekstrak oleh pelarut etanol 70% dan pelarut aquades dengan suhu yang lebih tinggi (ekstrak teh herbal).

Hasil analisis probit dengan minitab 16 menunjukkan bahwa nilai LC<sub>50</sub> dari ekstrak etanol 70% (154,512 ppm) lebih kecil dari pada nilai LC<sub>50</sub> dari hidrolisat ekstrak etanol 70% (293,137 ppm), hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% mempunyai tingkat toksisitas yang lebih tinggi dibandingkan hidrolisat ekstrak etanol 70%. Hidrolisis pada penelitian ini dimaksudkan untuk memecah ikatan glikosida antara gugus gula (glikon) dengan metabolit sekunder (aglikon), sehingga hidrolisat ekstrak etanol 70% ini merupakan senyawa metabolit sekunder yang sudah terpisahkan dari gugus gulanya. Dengan demikian, dapat dikatakan bahwa gugus gula (glikon) juga mempengaruhi terhadap tingkat toksisitas dari senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak sediaan herbal daun kelor, yakni senyawa metabolit sekunder yang terikat pada gugus gula mempunyai tingkat toksisitas yang lebih tinggi dibandingkan senyawa metabolit sekunder yang terpisah dari gugus gulanya. Hasil penelitian ini senada dengan penelitian yang dilakukan oleh Anwar, dkk (2007) yang berhasil mengidentifikasi senyawa-senyawa aktif yang berpotensi sebagai antibiotik dan antikanker pada bagian tanaman kelor yang diekstraksi dengan etanol, dimana sebagian besar dari senyawa tersebut terikat pada gugus

gula (glikon). Senyawa-senyawa aktif tersebut diantaranya, yaitu 4-(-*L-rhamnopyranosyloxy*) *benzyl isothiocyanate*, merupakan senyawa aktif untuk antibiotik; *Niazimicin*, merupakan senyawa aktif untuk antikanker dan 4-(4'-*O-acetyl- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyloxy*) *benzyl isothiocyanate*, merupakan senyawa aktif untuk antikanker.

#### D. Uji Fitokimia dengan Uji Reagen

Uji fitokimia merupakan uji kualitatif kandungan golongan senyawa aktif pada ekstrak suatu tanaman, sehingga dapat diketahui senyawa yang terdapat di dalamnya. Biasanya uji golongan senyawa aktif dilakukan dalam tabung reaksi dengan jumlah sampel yang relative sedikit.

Pada penelitian ini uji fitokimia dilakukan dengan uji reagen terhadap semua ekstrak sediaan herbal (ekstrak etanol 70%, dekok, teh herbal dan hidrolisat ekstrak etanol 70%) daun kelor (*M. oleifera* Lamk) yang mempunyai bioaktivitas. Uji fitokimia dilakukan terhadap golongan senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid dan steroid. Hasil pengamatan uji fitokimia secara keseluruhan dapat dilihat pada table 4.5:

Tabel 4.5 Hasil pengamatan uji fitokimia

Golongan Senyawa	Ekstrak Etanol 70%, Dekok & Teh Herbal	Hidrolisis Ekstrak Etanol 70%
Alkaloid	-	-
Flavonoid	+	+
Tanin	+	+
Saponin	-	-
Triterpenoid	+	-
Steroid	-	+

Keterangan: tanda + : terkandung senyawa/warna muda  
tanda - : tidak terkandung senyawa/tidak terbentuk senyawa

Tiga ekstrak sediaan herbal (ekstrak etanol 70%, dekok dan teh herbal) daun kelor (*M. oleifera* Lamk) mempunyai kandungan golongan senyawa metabolit sekunder yang sama, yaitu flavonoid, tanin dan triterpenoid, sedangkan hidrolisat ekstrak etanol 70%

mengandung flavonoid, tanin dan steroid. Steroid hanya teridentifikasi pada hidrolisat ekstrak etanol 70%, hal ini dimungkinkan karena adanya reaksi pembentukan senyawa kompleks antara metabolit sekunder yang sudah terpisah dari gugus gulanya (glikon) dengan reagen Liebermann-Burchard, sehingga menghasilkan warna hijau sebagai indikator adanya senyawa steroid.

#### VI. KESIMPULAN

1. Nilai LC<sub>50</sub> yang diperoleh pada ekstrak etanol 70%, dekok, teh herbal dan hidrolisat ekstrak etanol 70% daun kelor (*M. oleifera* Lamk) yaitu masing-masing 154,512 ppm; 437,752 ppm; 198,835 ppm dan 293,137 ppm. Semua ekstrak memberikan efek toksik terhadap larva udang *A. salina* Leach dengan nilai LC<sub>50</sub> lebih kecil dari pada 1000 ppm.
2. Kandungan golongan senyawa yang terdapat dalam ketiga ekstrak sediaan herbal (ekstrak etanol 70%, dekok dan teh herbal) daun kelor (*M. oleifera* Lamk) antara lain flavonoid, tanin dan triterpenoid, sedangkan pada hidrolisat ekstrak etanol 70% mengandung flavonoid, tanin dan steroid.

#### SARAN

1. Hasil uji pendahuluan dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) pada ekstrak sediaan herbal daun kelor (*Moringa oleifera* Lamk) ini menunjukkan adanya potensi bioaktivitas, sehingga perlu untuk dilakukan pengujian lanjutan efikasi terhadap ekstrak sediaan herbal daun kelor (*Moringa oleifera* Lamk).
2. Perlu dilakukan penelitian toksisitas terhadap sampel daun kelor (*Moringa oleifera* Lamk) dengan metode ekstraksi yang lainnya dan perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan memisahkan golongan senyawa aktif pada ekstrak sediaan herbal daun kelor (*Moringa oleifera* Lamk).

## DAFTAR PUSTAKA

- Anwar, F., Latif, S., Ashraf, M. dan Gilani, A.H. 2007. *Moringa oleifera*: A Food Plant with Multiple Medicinal Uses. *Phytotherapy Research*. 21: 17-25
- Arlene, A., Kristanto, S. dan Suharto, I. 2010. Pengaruh temperatur dan f/s terhadap ekstraksi minyak dari biji kemiri sisa penekanan mekanik. *Seminar rekayasa kimia dan proses*. Semarang: Jurusan teknik kimia fakultas teknik Universitas Diponegoro Semarang
- B POM RI. 2010. *Acuan sediaan Herbal*. Jakarta: Direktorat OAI, Deputi II, Badan POM RI
- Fahey, J.W. 2005. *Moringa oleifera*: A Review of the Medical Evidence for Its Nutritional, Therapeutic, and Prophylactic Properties, Part 1: Trees for Life, *Journal*, 1: 5
- Fariyah. 2006. Uji Toksisitas Ekstrak Daun *Ficus benjamina* L. Terhadap *Artemia salina* Leach dan Profil Kromatografi Lapis Tipis. *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Farnsworth, N.R. 1996. Biological and Phytochemical Screening of Plants. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 5: 225-236 dan 55: 245-265
- Harjadi, W. 1993. *Ilmu Kimia Analitik Dasar*. Jakarta: Gramedia
- Ibtisam. 2008. Optimasi Pembuatan Ekstrak Daun Dewandaru Menggunakan Metode Perlokasi dengan Parameter Kadar Total Senyawa Fenolik dan Flavonoid, *skripsi*. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Kurniawan, H. 2011. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Daun Kesum (*Polygonum minus* Huds.) Terhadap Larva *Artemia salina* Leach dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Jurnal Skripsi Farmasi*. Pontianak: *FKIK UNTAN 2011*
- Lestari, S.M. 2012. Uji Penghambatan Ekstrak Daun Sidaguri (*Sida rhombifolia* L.) Terhadap Aktivitas *Xantin Oksidase* dan Identifikasi Golongan Senyawa pada Fraksi yang Aktif. *Skripsi*. Jakarta: Farmasi, FMIPA, Universitas Indonesia
- Maharani, S. 2009. *Kanker: Mengenal 13 Jenis Kanker dan Pengobatannya*. Yogyakarta: Katahati
- Meyer, B.N, Ferrigni, Putnam, J.E, Jacobsen, L.B, Nichols dan McLaughlin. 1982. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Journal of Medical Planta Medica*. 45: 31-34
- Nafrinaldi dan Gan, S. 1995. *Antikanker dan Imunosupresan*. Jakarta: Bagian Farmakologi FKUI
- Nurhayati, A.P., Abdulgani, N. dan Febrianto, R. 2006. Uji Toksisitas Ekstrak *Eucheuma alvarezii* terhadap *Artemia salina* sebagai Studi Pendahuluan Potensi Antikanker. Surabaya: Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember. *Akta Kimindo*, Vol. 2 No. 1 Oktober 2006: 41-46
- Pamilih, H. 2009. *Uji Sitotoksik Ekstrak Etil Asetat Herba Bandotan (Ageratum conyzoides L.) Terhadap Sel Kanker Payudara (T47D) dan Profil Kromatografi Lapis Tipis*. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Panjaitan, R.B. 2011. *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Kulit Batang Pulasari (Alixiae cortex) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BST)*. *Skripsi*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Program Studi Farmasi Universitas Sanata Dharma
- Purwatresna, E. 2012. Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Air dan Etanol Daun Sirsak Secara *In Vitro* Melalui Inhibisi Enzim  $\alpha$ -Glukosidase. *Skripsi*. Bogor: Departemen Biokimia, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor Bogor
- RISKESDAS (Riset Kesehatan Dasar). 2007. *Kanker*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Departemen Kesehatan, Republik Indonesia
- Sanjayasari, D, Wiranda, G. P. 2011. Skrinig Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak

- Daun Katuk (*saoropus androgenus (l.) Merr.*) Terhadap Larva Udang *Artemia salina*: Potensi Fitofarmaka Pada Ikan. *Berkala Perikanan Terubuk*. Vol 39 No 1 (91-100)
- Shanker, K., Gupta, M.M., Srivastava, S.K., Bawankule, D.U., Pal, A., Khanuja, S.P.S. 2006. Determination of bioactive nitrile glycoside (s) in drumstick (*Moringa oleifera*) by reverse phase HPLC. *Food Chemistry*. vol 105, 376–382
- Soedibyo, M. 1998. *Alam Sumber Kesehatan, Manfaat dan Kegunaan*. Jakarta: Balai Pustaka
- Sudarsono. 1996. *Daftar Tanaman Obat dan Khasiatnya*. Jakarta: UI Press
- Sukandar, D., Hermanto, S. dan Lestari, E. 2009. *Uji Potensi Aktivitas Antikanker Ekstrak Daun Pandan Wangi (Pandanus amarillifolius Roxb.) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*. Jakarta: UIN Syahid
- Sukardja. 2000. *Onkologi Klinik Edisi 2*. Surabaya: Airlangga University Press
- Tanaka, J., Trianto, A., Musman, M., Issa, H.H., Ohtani, I.I., Iciba, T., Higa, T., Yoshida, W.Y. dan Scheuer, P.J. 2002. New Polyoxygenated steroids exhibiting reversal of multidrug resistance from the gorgonian *Isis hippuris*, *Tetrahedron*. 58:62596266.
- Trianto, A., Ambariyanto dan Murwani, R. 2004. Skrining Bahan Anti Kanker pada Berbagai Jenis Sponge dan Gorgonian Terhadap L1210 *Cell Line*. *Ilmu Kelautan*, Vol. 9 (3): 120-124
- Tensiska, Marsetio dan Silvia, O.N.Y. 2007. Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar Isoflavon Dari Ampas Tahu. *Hasil Penelitian Dosen Jurusan Teknologi Industri Pangan*. Bandung: Universitas Padjadjaran.
- Winarno, F.G. 2002. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: PT.Gramedia Pustaka.