

Uji Toksisitas dan Identifikasi Fitokimia Ekstrak Ranting Leban (*Vitex Pinnata*) dari Putussibau, Kalimantan Barat

Muhammad Alfarabi,* Genoveva M. Lenny

Departemen Biokimia, Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Indonesia, Jakarta, Indonesia

Abstrak

Genus *Vitex* telah dikenal masyarakat pada beberapa negara memiliki efek farmakologi, contohnya tumbuhan leban (*Vitex pinnata*) di Kalimantan Barat, Indonesia. Tumbuhan tersebut tidak dibudidayakan dan daunnya telah digunakan secara tradisional sebagai obat antikanker. Namun, sampai saat ini penggunaannya hanya terbatas pada daun saja, bagian lain dari tumbuhan seperti ranting masih sedikit dikaji secara ilmiah. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui efek toksisitas dan mengidentifikasi kandungan senyawa ekstrak ranting leban. Metode yang digunakan untuk mengetahui efek toksisitasnya adalah *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dan uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan dari ekstrak ranting leban. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak ranting leban memiliki efek toksisitas pada setiap konsentrasinya terhadap larva udang dan nilai LC_{50} yang didapat adalah 283,33 ppm. Senyawa yang terkandung pada ekstrak adalah alkaloid, tanin, dan saponin.

Kata Kunci: *Vitex pinnata*, leban, toksisitas, BSLT

Toxicity Test and Phytochemical Identification of *Vitex pinnata* Branch Extract from Putussibau, West Kalimantan

Abstract

In some countries, *Vitex* genus is well known of its pharmacologic effect, such as *Vitex pinnata* in West Kalimantan, Indonesia. This plant is not cultivated and the leaf of this plant was used in traditional medicine as anticancer. However, there is scarce scientific studies on the other part of *V. pinnata*, such as its branch. Therefore, the aim of this study was analyze the toxicity effect and identify the phytochemical of the *V. pinnata* branch extract. Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method was used to determine the toxicity and phytochemical tests were used to identify the *V. pinnata* branch extract contents. The results showed that the *V. pinnata* branch extract has toxicity effect. The LC_{50} of this extract was 283,33 ppm. The extract contains alkaloid, tannin, and saponin

Keywords: *Vitex pinnata*, leban, toxicity, BSLT

*MA: Penulis Koresponden; E-mail: muhammad.alfarabi@uki.ac.id

Pendahuluan

Tumbuhan selain sebagai sumber pangan dapat digunakan untuk keperluan kesehatan. Berbagai peradaban telah mencatat bahwa tumbuhan dapat digunakan untuk keperluan di bidang kesehatan. Saat ini, di beberapa negara termasuk Indonesia ada budaya lokal dan pengetahuan tradisional penggunaan tumbuhan untuk pengobatan. Pengetahuan tersebut mulai menghilang akibat kemajuan teknologi, namun masih terdapat beberapa daerah di Indonesia yang memelihara pengetahuan pengobatan tradisional tersebut. Hal itu didukung oleh kekayaan hayati yang dimiliki oleh wilayah tersebut.¹ Salah satu tumbuhan yang dapat digunakan dalam pengobatan tradisional di Indonesia adalah *Vitex pinnata*.

Genus *Vitex* terdiri dari atas 270 spesies dan merupakan tumbuhan tinggi yang penyebarannya di daerah tropis hingga subtropis. Kegunaan genus ini sangat luas di bidang kesehatan dan pertanian. Pada bidang kesehatan, *Vitex pubescens*, *Vitex agnus-castus* dan *Vitex gaumeri* telah diketahui memiliki aktivitas sebagai antidisentri, antiinflamasi, dan analgesik.² Di India, *Vitex glabrata*, *Vitex leucoxydon*, *Vitex penduncularis*, *Vitex pinnata*, dan *Vitex trifolia* memiliki aktivitas sebagai insektisida.³ Di Indonesia terutama di wilayah Kalimantan Timur, suku Dayak Tunjung menggunakan *Vitex pinnata* (daun leban) sebagai obat tradisional antidisentri.¹ Di daerah Putussibau, Kalimantan Barat, tumbuhan ini tidak dibudidayakan dan tidak memiliki nilai komersial, namun daunnya digunakan untuk pengobatan kanker secara tradisional.

Secara ilmiah, daun leban memiliki banyak kandungan alkaloid, antosianidin, flavonoid, iridoid, senyawa fenol, saponin, dan terpenoid.⁴ Senyawa-senyawa tersebut secara ilmiah dapat menghambat pertumbuhan sel kanker, contohnya adalah senyawa glikoalkaloid yaitu tomatin. Senyawa tersebut

dapat menghambat proliferasi sel kanker paru dan prostat,⁵ namun hingga kini, sangat sedikit informasi ilmiah mengenai kegunaan ranting dari leban terutama kegunaannya pada bidang kesehatan. Hal itu dapat berpotensi untuk pengembangan sumber sediaan obat di Indonesia. Oleh karenanya penelitian ini bertujuan untuk mengetahui nilai toksisitas dan kandungan fitokimia ranting leban.

Bahan dan Cara

Ranting tumbuhan leban merupakan bahan utama yang digunakan pada penelitian ini dan didapatkan dari daerah Putussibau, Kalimantan Barat. Ranting yang digunakan merupakan ranting segar dan posisinya dekat dengan daun dan buah.

Ekstraksi ranting leban

Proses ekstraksi ini menggunakan akuabides sebagai pelarutnya.⁶ Sebelum proses ekstraksi dilakukan, 500 g ranting leban dibersihkan lalu dipotong-potong kecil. Setelah itu, ranting dihomogenasi dengan akuabides sebagai pelarut dengan perbandingan antara ranting dan pelarut adalah 1:2 (b/v). Selanjutnya, campuran tersebut disaring dan dijadikan larutan stok dengan konsentrasi 5000 ppm, lalu disimpan di freezer (- 5 °C) sampai siap diujikan.

Uji Toksisitas dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

Uji ini mengacu pada metode Meyer *et al.*⁷ dengan beberapa modifikasi. Larva udang yang digunakan adalah *Artemia* sp. berumur 48 jam sejak menetas dengan media air garam (20 g garam di dalam 600 mL akuabides). Ekstrak dengan beberapa konsentrasi (150 ppm, 200 ppm, dan 400 ppm) dicampur dengan larva pada tabung uji (10 larva pada setiap tabung uji). Volume total setiap tabung uji adalah 10 ml.

Campuran tersebut diinkubasi selama 24 jam pada suhu kamar dengan penyinaran cahaya. Jumlah larva udang yang mati diamati dan dianalisis nilai LC_{50} .

Uji Fitokimia

Prosedur identifikasi fitokimia ini mengacu pada metode Harborne⁸ dengan beberapa modifikasi. Uji yang dilakukan adalah sebagai berikut:

Uji Alkaloid

Sebanyak 2 mL ekstrak dicampur dengan 2 mL kloroform dan 5 tetes amonia pekat. Pada fraksi kloroform ditambahkan H_2SO_4 pekat sebanyak 3 tetes. Selanjutnya, pada campuran tersebut ditetaskan pereaksi Dragendorf. Bahan uji dinyatakan memiliki senyawa alkaloid, apabila setelah ditetaskan pereaksi Dragendorf terbentuk warna merah.

Uji Tanin

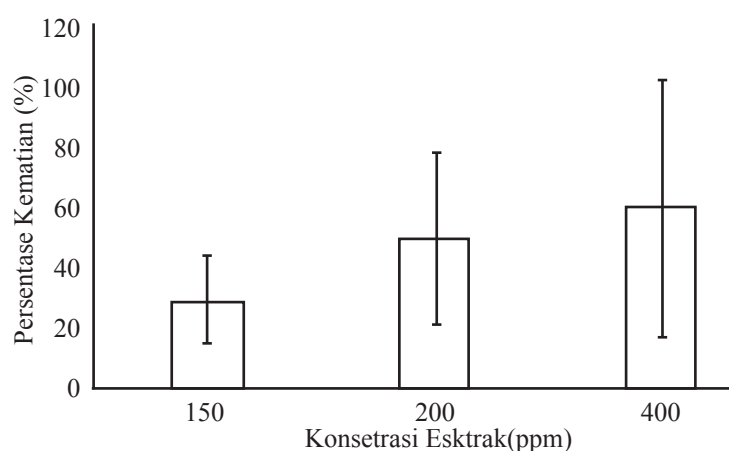
Sebanyak 2 mL ekstrak dicampur 2 mL akuades dan dipanaskan $100\text{ }^{\circ}C$. Setelah itu larutan didinginkan dan disaring, filtrat yang didapat ditetesi $FeCl_3$ 1%. Larutan yang berubah warna menjadi biru tua atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin.

Uji Saponin

Sebanyak 2 mL ekstrak ditambah 2 mL akuades dan dipanaskan pada suhu $70^{\circ}C$. Setelah itu dikocok selama 5 menit. Bahan uji yang mengandung saponin akan menunjukkan adanya buih setelah dilakukan proses pemanasan dan pengocokan selama 10 menit.

Hasil

Hasil uji toksisitas menunjukkan bahwa semua konsentrasi ekstrak ranting leban memiliki efek toksik terhadap larva udang. Kematian larva udang meningkat sebanding peningkatan konsentrasi. Persentase kematian larva udang terendah pada ekstrak ranting leban didapatkan pada konsentrasi ekstrak 150 ppm, yaitu sebesar 30%. Sedangkan pada konsentrasi ekstrak 200 ppm, kematian larva udang terjadi sebanyak 50%. Persentase kematian larva udang tertinggi terjadi pada konsentrasi ekstrak 400 ppm sebanyak 60% (Gambar 1). Berdasarkan hasil-hasil tersebut, nilai LC_{50} ekstrak ranting leban yang didapatkan adalah 283,33 ppm. Senyawa fitokimia yang terdeteksi pada ekstrak ranting leban adalah alkaloid, tanin, dan saponin.



Gambar1. Pengaruh Ekstrak Kayu Leban Terhadap Mortalitas Larva Udang

Diskusi

Berdasarkan hasil penelitian ini, nilai LC_{50} ekstrak ranting leban didapatkan kurang dari 1000 ppm. Hal itu menunjukkan bahwa ekstrak tersebut memiliki bioaktivitas dan efek toksik pada larva udang. Suatu bahan alam atau ekstrak tumbuhan dikatakan memiliki bioaktivitas atau memiliki efek toksik bila memiliki nilai LC_{50} di bawah 1000 ppm.⁷ Metode BSLT dirancang untuk mengetahui efek toksik suatu bahan alam dengan cara mematikan larva udang yang ditambahkan pada tabung uji. Senyawa aktif tersebut berperan sebagai racun bagi larva sehingga ketika terserap oleh larva, akan terjadi gangguan pada pencernaan larva tersebut.⁹

Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah akuabides steril. Hal itu bertujuan untuk memudahkan aplikasi proses ekstraksi ranting leban pada masyarakat. Selain itu, berdasarkan pengetahuan tradisional pada masyarakat Puttusibau, rebusan daun leban dapat menjadi obat alternatif kanker sehingga penggunaan akuabides sebagai pelarut pada penelitian ini dapat merepresentasikan secara ilmiah proses ekstraksi yang dilakukan di masyarakat.

Senyawa-senyawa yang terdeteksi pada ekstrak ranting leban merupakan senyawa metabolit sekunder tumbuhan yang memiliki efek farmakologi pada manusia. Bagi tumbuhan leban, senyawa tersebut merupakan bagian sistem pertahanan tumbuhan dan memiliki efek toksik bagi organisme pengganggu seperti mikroba, serangga, dan herbivora.¹⁰ Alkaloid merupakan metabolit sekunder tumbuhan yang mengandung atom nitrogen dan dapat ditemukan di berbagai bagian tumbuhan seperti biji, daun, ranting, dan kulit batang. Salah satu efek farmakologi alkaloid adalah antikanker. Contohnya kausantin dan girinimbis merupakan alkaloid genus *Clausena* memiliki aktivitas antiproliferasi terhadap sel kanker MCF-7 sehingga dapat

disimpulkan golongan alkaloid memiliki efek sitotoksik.¹¹ Alkaloid tersebut dapat juga memiliki aktivitas sebagai antibakteri, seperti ekstrak *Carapa procera* dan *Moringa oleifera* yang mengandung alkaloid dapat menghambat pertumbuhan koloni *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi*, *Escherichia coli*, dan *Bacillus cereus*.¹²

Selain alkaloid, senyawa tanin juga terdeteksi pada ekstrak ranting leban. Tanin merupakan senyawa golongan fenol yang memiliki aktivitas antikanker. Senyawa tersebut merupakan senyawa yang umum ditemukan di tumbuhan. Tanin dari *Carissa spinarum*, *Debregeasia saeneb*, dan *Smilax chinensis* memiliki aktivitas sebagai antikanker dan telah diuji secara *in vitro* dan *in vivo*.^{13, 14, 15}

Selain itu, ekstrak ranting leban mengandung saponin dan senyawa tersebut juga memiliki aktivitas sebagai antikanker. Senyawa saponin dan senyawa kompleks saponin-fosfolipid memiliki aktivitas menghambat sel kanker BT474 secara *in vitro*. Secara *in vivo*, kedua senyawa tersebut mampu menekan pertumbuhan kanker payudara pada tikus dengan cara menurunkan volume tumor, menurunkan kadar peroksidasi lipid, menaikkan bobot tikus, menaikkan kadar enzim antioksidan seperti katalase, glutathion peroksidase, superoksida dismutase pada jaringan payudara tikus tersebut.¹⁶ Berdasarkan data-data ilmiah tersebut, ekstrak ranting leban yang mengandung alkaloid, tanin, dan saponin sangat berpotensi untuk dikembangkan menjadi salah satu sumber fitofarmaka antikanker.

Kesimpulan

Ekstrak ranting leban memiliki efek toksik terhadap larva udang. Nilai LC_{50} ekstrak ranting leban sebesar 283,33 ppm dan mengandung senyawa alkaloid, tanin serta saponin.

Daftar Pustaka

1. Setyowati FM. Etnofarmakologi dan pemakaian tanaman obat suku Dayak Tunjung di Kalimantan Timur. *Media Litbang Kesehatan*. 2010; 3: 104-12.
2. Meena AK, Niranjana US, Rao MM, Padhi MM, Babu R. A review of the important chemical constituents and medicinal uses of *Vitex* genus. *Asian J Traditional Med*. 2011; 6: 54-60.
3. Rahman MS, Bhattacharya GN. Effects of leaf extract of *Vitex negundo* on *Lathyrus sativus* Linn. used to protect stored grains from insects. *Curr Sci*. 1982; 51: 434-5.
4. Ramesh S, Rajasekar K, Raju RRV. Preliminary phytochemical studies on leaves of *Vitex* species (Verbenaceae), used by the local adivasi communities of Andhra Pradesh. *W J Pharm Pharmaceut Sci*. 2013; 2: 6143-50.
5. Habli Z, Toumeh G, Fatfat M, Rahal ON, Muhtasib HG. Emerging cytotoxic alkaloids in the battle against cancer: overview of molecular mechanisms. *Molecules*. 2017; 22: 250.
6. Alfarabi M, Fauziyuningtias A. Analisis nilai toksisitas ekstrak biji pepaya (*Carica papaya*) dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Nat Sci J Sci Tech*. 2017; 6: 153-8.
7. Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE, McLaughlin JL. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *J Med Plant Res*. 1982; 45: 31-4.
8. Harborne JB. Metode Fitokimia: penuntun cara modern menganalisis tumbuhan. Edisi ke 2. Terjemahan Padmawinata K dan Sudiro I. Bandung: ITB Press, 1987.
9. Prasetia R, Intan IW. Uji toksisitas akut ekstrak etanol buah lakum (*Cayratia tryfolia*) terhadap larva *Artemia salina* leach dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Prosiding Seminar Nasional Kimia*, Samarinda, 2013: 155-7.
10. Hans, Heldt W. *Plant biochemistry*. 3th ed. San Diego (US): Elsevier Academic Press, 2005. Hlm 399-407.
11. Li H, Zhe-Ling F, Yi-Tao W, Li-Gen L. Anticancer carbazole alkaloids and coumarins from *Clausena* plants: a review. *Chinese J Nat Med*. 2017; 15: 881-8.
12. Dongmo NA, Nganso DYO, Nkwengoua TE, Boda M, Voundi OS, Etoa FX *et al*. *In-vitro* testing of extracts and fractions from two Cameroonian medicinal plants on bacteria gastroenteritis. *American J Phytomed Clin Therapeutics*. 2015; 3: 575-88.
13. Merina N, Chandra KJ, Jibon K. Medicinal plants with potential anticancer activities: a review. *Int Rese J Pharm*. 2012; 3: 26-30.
14. Iqbal J, Abbasi BA, Mahmood T, Kanwal S, Ali B, Shah SA *et al*. Plant-derived anticancer agents: a green anticancer approach. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2017; 7: 1129-50.
15. Tariq A, Sadia S, Pan K, Ullah I, Mussarat S, Sun F *et al*. A systematic review on ethnomedicines of anti-cancer plants. *Phytotherapy Res*. 2017; 31: 202-64.
16. Kim TD, Thanh HN, Thuy DN, Duc LV, Thi TV, Manh HV *et al*. Anticancer effects of saponin and saponin-phospholipid complex of *Panax notoginseng* grown in Vietnam. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2016; 6: 795-800.