

Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Etil Asetat Daun Pulai (*Alstonia scholaris* (L.) R. Br.) berdasarkan Sifat Toksisitas dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)

Emil Salim¹, Suryati¹, Rini Ramadani¹, Winni Sukrila¹

¹Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang, Indonesia

*alamat email korespondensi : emilsalim@sci.unand.ac.id

Abstract

*This study aims to isolate secondary metabolite from ethyl acetate extract of *Alstonia scholaris* leaves based on its cytotoxic properties against *Artemia salina*. Isolation of the active compound was carried out using column chromatography, petroleum ether:ethyl acetate (10:0-0:10) and ethyl acetate:methanol (10:0-9:1) as eluents, yielded 8 fractions (F₁-F₈). Fraction 6 was the most active with LC₅₀ 9.47 mg/L, then recolumn with petroleum ether:ethyl acetate (7:3), obtained 5 sub-fractions (F_{6.1}-F_{6.5}). The highest toxicity was indicated by F_{6.5} with LC₅₀ 7,694 mg/L. F_{6.5} was purified and characterized by UV and FTIR. The isolated compound is known as alkaloid compound.*

Keywords: *Alstonia scholaris* (L.) R.Br.), toxicity, *Artemia salina* leach

Abstrak

*Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi senyawa metabolit sekunder dari ekstrak etil asetat daun pulai (*Alstonia scholaris*) berdasarkan sifat sitotoksik terhadap larva udang *Artemia salina*. Pemisahan senyawa aktif dilakukan menggunakan kromatografi kolom, eluen petroleum eter:etil asetat (10:0-0:10) dan etil asetat:metanol (10:0-9:1), dan menghasilkan 8 fraksi (F₁-F₈). Fraksi 6 paling aktif dengan nilai LC₅₀ 9,47 mg/L, kemudian direkromatografi dengan eluen petroleum eter:etil asetat (7:3), diperoleh 5 sub-fraksi (F_{6.1}-F_{6.5}). Sifat toksisitas tertinggi ditunjukkan oleh subfraksi F_{6.5} dengan LC₅₀ 7,694 mg/L. Subfraksi F_{6.5} kemudian dimurnikan dan dikarakterisasi dengan UV dan FTIR. Senyawa hasil isolasi diketahui merupakan senyawa alkaloid.*

Kata kunci: *Alstonia scholaris* (L.) R.Br.), toksisitas, *Artemia salina* leach

I. PENDAHULUAN

Tumbuhan merupakan salah satu sumber bahan kimia yang memiliki banyak manfaat bagi kehidupan [1]. Komponen bahan kimia

yang terdapat pada tumbuhan menjadikan tumbuhan sebagai ramuan obat tradisional [2]. Baru-baru ini, adanya fenomena kembali ke alam dimana masyarakat gemar

mengonsumsi dan melakukan pengobatan menggunakan bahan dari alam [1]. Hal ini dikarenakan tumbuhan obat yang digunakan masyarakat dipercaya memiliki keunggulan dan kelebihan dibandingkan obat hasil sintesis yang banyak memiliki efek samping terhadap kesehatan [3].

Salah satu tanaman lokal yang sering digunakan masyarakat sebagai obat tradisional adalah tanaman pulai (*Alstonia scholaris* (L.)R.Br). Pulai termasuk kedalam suku Apocynaceae yang diketahui memiliki khasiat sebagai obat. Secara tradisional daun tumbuhan pulai digunakan untuk mengobati penyakit beri-beri dan sesak hati, sedangkan getahnya untuk mengobati luka, tumor dan rematik [4]. Penggunaan tanaman pulai yang umumnya berupa daun secara tradisional dilakukan melalui perendaman atau ekstraksi manual oleh masyarakat, sehingga kandungan senyawa kimia aktif yang terdapat didalam ekstrak tersebut memiliki efektifitas yang masih rendah dan memiliki kandungan senyawa kimia yang banyak [5].

Dhruti (2016) melaporkan tumbuhan pulai memiliki kandungan kimia seperti alkaloid, saponin, terpenoid, flavonoid, fenolik, tanin, dan glikosida pada kulit batang, daun dan bunga. Senyawa-senyawa tersebut berdasarkan beberapa penelitian diketahui memiliki aktivitas sebagai antioksidan dan antikanker [6]. Berdasarkan data penelitian

yang dilakukan oleh Annisa Wulandari (2017), ekstrak daun pulai dengan 3 pelarut yang berbeda kepolaran yaitu metanol, etil asetat dan heksana menunjukkan bahwa ekstrak metanol dan ekstrak etil asetat memiliki potensi sebagai senyawa toksik dikarenakan nilai toksisitasnya lebih kecil dari 1000 mg/L, dimana metanol (883,3639 mg/L) dan etil asetat (954,7155 mg/L) [7].

Sifat Toksisitas dari suatu senyawa dapat ditentukan menggunakan metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) dengan melakukan uji pada hewan uji larva udang (*Artemia Salina* Leach). Metode BSLT merupakan metode yang umum digunakan sebagai tahap preskrining terhadap senyawa aktif yang terdapat pada suatu ekstrak tumbuhan dikarenakan hasil yang didapat cukup akurat, pengerjaan yang mudah, cepat dan murah [8]. Sifat toksisitas yang didapat dari preskrining menggunakan metode BSLT ini dapat dibandingkan dengan uji kultur sel kanker yang mana dapat diasosiasikan dengan aktifitas antikanker [9]. Oleh karena itu, peneliti ingin melakukan uji toksisitas ekstrak dan fraksi hasil isolasi dari daun pulai.

II. METODE PENELITIAN

2.1 Bahan

Sampel ekstrak etil asetat daun pulai didapat dari penelitian terdahulu oleh Annisa Wulandari (2017), dengan hasil identifikasi

menunjukkan bahwa spesies daun pulai yang digunakan adalah *Alstonia scholaris*(L.)R.Br. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah pelarut organik yang sudah didestilasi (n-heksana, etil asetat, dan metanol), petroleum eter, akuades, asam klorida pekat, kloroform, kloroform-amoniak 0,05 M, asam sulfat 2 N, bubuk Mg dan pereaksi besi (III) klorida. Anhidrida asetat dan asam sulfat pekat untuk membuat pereaksi *Liebermann Burchard* (LB). Sedangkan kalium iodida dan raksa (II) klorida sebagai pembuatan pereaksi Mayer. Fasa diam yang digunakan untuk kromatografi kolom yaitu silika gel (0,063 - 0,200 mm). Pada analisis kromatografi lapis tipis digunakan plat KLT (silika gel 60 F₂₅₄). Bahan yang digunakan sebagai penunjang percobaan, yaitu kapas dan aluminium voil. Sedangkan bahan untuk uji aktivitas toksisitas adalah air laut, larva udang, dan DMSO (dimetil-sulfoksida).

2.2 Alat

Peralatan yang digunakan pada penelitian adalah kolom kromatografi (panjang kolom 40 cm dan diameter kolom 6 cm), botol vial 10 mL dan 100 mL, plat kromatografi lapis tipis (KLT), spektrofotometer UV (Thermo Scientific), spektrofotometer FT-IR (Parkin Elmer “Front Tail”), neraca analitik, tabung reaksi, rak tabung reaksi, chamber, pipet tetes,

spatula, pipa kapiler, lampu UV (λ 254 nm dan 365 nm) sebagai penampak noda, dan peralatan gelas lainnya yang umum digunakan di Laboratorium. Uji toksisitas menggunakan wadah penetes, wadah pengembangbiakan larva dan lampu LED sebagai sumber cahaya.

2.3 Uji Profil Fitokimia Ekstrak Etil

Asetat Daun Pulai (*Alstonia scholaris* (L.)R.Br.

Uji profil fitokimia ekstrak etil asetat daun pulai dilakukan mengikuti prosedur oleh Sudarmi, 2017. Fraksi etil asetat sebanyak 0,1 gram dilarutkan dengan pelarut etil asetat. Selanjutnya ditambahkan reagen spesifik untuk menguji adanya golongan metabolit sekunder berupa flavonoid, fenolik dan saponin, triterpenoid, steroid, alkaloid dan kumarin [10].

2.4 Fraksinasi dan isolasi ekstrak etil asetat daun pulai

Sebanyak 380 gram silika gel 60 GF₂₅₄ (0,063-0,200 mm *for column chromatography*) (Merck) yang telah diaktivasi pada suhu 110°C selama ± 1 jam. Setelah itu, didiamkan ± 24 jam sebelum digunakan untuk pemisahan [11]. Ekstrak etil asetat sebanyak 20 gram ditambahkan 20 gram silika gel dan digerus dalam lumpang hingga homogen. Sampel yang telah dipreadsorpsi dimasukkan kedalam kolom yang sudah berisi bubuk silika menggunakan corong dan dialiri

dengan pelarut petroleum eter, kemudian dilakukan elusi dengan meningkatkan kepolaran pelarut dimulai dari petroleum eter:etil asetat (10:0–0:10) dan etil asetat:metanol (10:0–9:1). Eluat yang diperoleh ditampung dengan botol vial 10 mL dan dikumpulkan, setiap eluat yang diperoleh dilakukan uji kromatografi lapis tipis (KLT). Eluat yang memiliki pola pemisahan noda yang sama dari hasil KLT digabung menjadi satu fraksi. Fraksi dengan aktifitas toksisitas tertinggi dilakukan re-kromatografi menggunakan kromatografi kolom grafitasi dengan cara yang sama untuk mendapatkan sub-fraksi. Subfraksi dengan nilai toksisitas tertinggi dilakukan pemurnian dengan cara rekristalisasi sampai didapatkan senyawa murni. Uji kemurnian senyawa hasil isolasi dilakukan dengan kromatografi lapis tipis menggunakan penampak noda *Liebermann Burchard* dibawah cahaya lampu UV pada panjang gelombang 254 nm dan 365 nm dan juga dilakukan uji titik leleh.

2.5 Uji toksisitas ekstrak etil asetat daun pulai

Pengujian toksisitas dari ekstrak daun pulai menggunakan larva udang (BSLT) mengacu pada prosedur kerja yang dilakukan oleh Meyer dengan beberapa modifikasi ataupun berdasarkan penelitian terdahulu. Metode ini dilakukan untuk skrining awal toksisitas ekstrak yang didapatkan [12][13].

Sebanyak 5 mL dari masing-masing variasi konsentrasi (1000; 500; 250; 125; 62,5 dan 31,25 mg/L) larutan uji dimasukkan ke dalam botol vial dan diuapkan pelarutnya. Setelah menguap ditambahkan 50 µL DMSO, 3 mL air laut dan 10 ekor larva udang ke dalam masing-masing botol vial, selanjutnya volume dicukupkan 5 mL dengan air laut. Dibiarkan selama 24 jam kemudian larutan sampel diamati dengan menghitung jumlah larva udang yang mati. Pengerjaan yang sama juga dilakukan dalam larutan kontrol tanpa penambahan larutan uji. Jumlah udang yang mati pada masing-masing konsentrasi larutan uji digunakan untuk menghitung nilai LC_{50} melalui Finney's probit analysis method analisa probit dan persamaan regresi.

2.6 Karakterisasi senyawa hasil isolasi

Identifikasi golongan senyawa dilakukan dengan uji profil fitokimia menggunakan pereaksi spesifik senyawa metabolit sekunder. Karakterisasi struktur senyawa hasil isolasi dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-VIS (*Thermo Scientific*) dan spektrofotometer FT-IR (*Parkin Elmer "Front Tail"*).

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Profil Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Daun Pulai

Uji profil fitokimia merupakan cara sederhana untuk melakukan analisa kualitatif kandungan senyawa metabolit sekunder yang

terdapat dalam tumbuhan [14]. Hasil uji profil fitokimia ekstrak etil asetat daun pulai tertera pada Tabel 3.1.

Berdasarkan Tabel 3.1, ekstrak etil asetat daun pulai positif mengandung senyawa metabolit sekunder fenolik, triterpenoid, steroid dan alkaloid. Metabolit sekunder yang terdapat pada daun pulai ini sesuai dengan studi literatur yang dilaporkan oleh Dhruvi et al, 2016 dan Swasriatu C, 2015 yang menyebutkan terdapat senyawa alkaloid, triterpenoid, steroid dan fenolik pada daun pulai [6]; [15].

3.2 Hasil Fraksinasi dari Ekstrak Etil

Asetat Daun Pulai

Ekstrak etil asetat daun pulai dilakukan KLT pendahuluan dengan tiga perbandingan eluen heksana:etil asetat dan petroleum eter:etil asetat yaitu (8:2; 7:3; 6:4) dan pola noda pemisahan dilihat pada lampu UV

dengan λ 254 nm dan 365 nm. Pada perbandingan eluen petroleum eter:etil asetat (8:2; 7:3; 6:4), terdapat pola noda dengan pemisahan yang lebih baik dari pada eluen heksana:etil asetat. Oleh karena itu pemisahan ekstrak dilakukan dengan metoda SGP (*Step Gradient Polarity*) dengan eluen petroleum eter:etil asetat (10:0-0:10) dan etil asetat:metanol (9:1) untuk mendapatkan pemisahan senyawa yang lebih baik. Sebanyak 20 gram ekstrak etil asetat difraksinasi dengan kolom kromatografi silika gel dan didapatkan eluat sebanyak 552 vial menggunakan volume total eluen yaitu 6000 mL. Berdasarkan pola noda dan nilai Rf yang sama pada plat KLT di dapatkan 8 fraksi. Penggabungan hasil kolom berdasarkan pola noda yang hampir sama pada plat KLT. Jumlah masing-masing fraksi dapat dilihat pada Tabel 3.2.

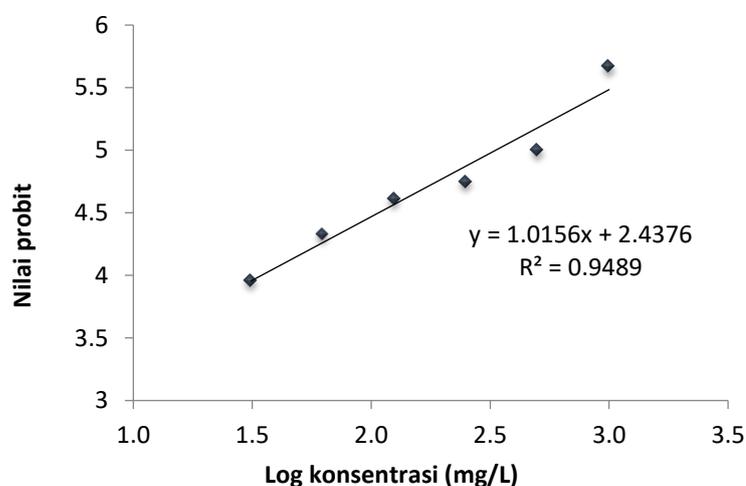
Tabel 3.1. Hasil uji profil fitokimia ekstrak etil asetat daun pulai

No.	Kandungan Kimia	Pereaksi	Hasil
1	Fenolik	Besi (III) klorida	+
2	Flavonoid	Sianidin Tes (HCl/bubuk Mg)	-
3	Saponin	HCl	-
4	Triterpenoid	Liebermenn-Burchard	+
5	Steroid	Liebermenn-Burchard	+
6	Alkaloid	Mayer	+
7	Kumarin	Natrium hidroksida 1%	-

Keterangan : (+) Ada (-) Tidak ada

Tabel 3.2 Hasil fraksinasi dari ekstrak etil asetat daun pulai

Fraksi	Nomor Vial	Massa (gram)
F.1	1-16	3,2532
F.2	17-28	1,1473
F.3	29-42	0,2234
F.4	43-76	9,0388
F.5	77-135	1,4611
F.6	136-340	6,4747
F.7	341-420	1,3106
F.8	421-552	0,7837



Gambar 3.1 Kurva regresi penentuan nilai LC₅₀

3.3. Hasil Uji Toksisitas Ekstrak Etil Asetat Daun Pulai

Uji toksisitas dari ekstrak etil asetat daun pulai (*Alstonia scholaris*(L.)R.Br.) dilakukan dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) secara duplo (dua kali pengulangan). Pada metode BSLT ini sifat toksisitas masing-masing fraksi ditentukan melalui penentuan nilai LC₅₀ pada beberapa variasi konsentrasi larutan uji, yaitu jumlah dosis atau konsentrasi ekstrak uji yang dapat

menyebabkan kematian larva udang sejumlah 50% setelah masa inkubasi 24 jam. Persamaan regresi diperoleh dari grafik hubungan log konsentrasi sampel dengan nilai probit yang dapat dilihat pada Gambar 3.1.

Berdasarkan Gambar 3.1 terlihat bahwa terjadi peningkatan kematian seiring dengan meningkatnya konsentrasi. Kedua variabel (nilai probit dan log konsentrasi) memiliki korelasi satu sama lain hal ini terlihat dari nilai koefisien determinasi (R²) yang mendekati

satu. Nilai LC_{50} diperoleh dari presentase kematian larva udang dari berbagai variasi konsentrasi yang dikonversikan menjadi nilai probit berdasarkan persentase kematian. Nilai LC_{50} dihitung berdasarkan nilai persamaan regresi antara log konsentrasi dengan nilai probit. Nilai LC_{50} dari ekstrak etil asetat daun pulai tertera pada Tabel 3.3.

Tabel 3.3 Hasil uji toksisitas ekstrak etil asetat daun pulai

Sampel Uji	LC_{50} (mg/L)
Ekstrak etil asetat	333,529

Berdasarkan nilai toksisitas dalam tumbuhan dapat dikatakan tidak toksik apabila nilai LC_{50} di atas 1000 mg/L, LC_{50} dari 500 - 1000 mg/L merupakan toksik rendah, nilai LC_{50} dari 100 - 500 mg/L bersifat toksik sedang, sedangkan nilai LC_{50} dari 0 - 100 mg/L sangat toksik. Hasil dari nilai LC_{50} yang didapatkan dari fraksi etil asetat daun pulai dapat disimpulkan bersifat toksik sedang. Sifat toksik ini diduga karena adanya potensi dari senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak etil asetat daun pulai. Senyawa toksik yang berdifusi kedalam sel *Artemia salina leach* menyebabkan perubahan konsentrasi didalam dan luar sel, sehingga merusak membran sel dan menyebabkan kerusakan fungsional dan metabolisme sel. Efek yang ditimbulkan terjadi secara cepat

dalam waktu 24 jam, hingga menyebabkan 50% kematian larva udang [13].

3.4. Hasil Uji Toksisitas Fraksi Daun Pulai

Uji toksisitas dari fraksi ekstrak etil asetat daun pulai (*Alstonia scholaris*(L.)R.Br.) dilakukan dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) secara duplo (dua kali pengulangan). Fraksi F.1, F.2, F.3, F.4, dan F.7 dibuat dengan variasi konsentrasi 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25 mg/L. Fraksi F.5 dan F.8 dibuat dengan variasi konsentrasi 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,6 mg/L, dan fraksi F.6 dibuat dengan variasi konsentrasi 125; 62,5; 31,25; 15,6; 7,8; 3,9 mg/L serta kontrol negatif dengan konsentrasi 0 mg/L yaitu hanya DMSO dan tanpa sampel. Nilai LC_{50} diperoleh dari presentase kematian larva udang dari berbagai variasi konsentrasi yang dikonversikan menjadi nilai probit berdasarkan persentase kematian. Nilai LC_{50} dihitung berdasarkan nilai persamaan regresi antara log konsentrasi dengan nilai probit dapat dilihat pada Tabel 3.4.

Dari nilai LC_{50} yang didapatkan pada fraksi hasil isolasi, fraksi F.1, F.3 dan F.4 tidak bersifat toksik sedangkan untuk F.2, F.5, F.6, F.7, dan F.8 bersifat toksik terhadap hewan uji larva *Artemia salina leach* karena memiliki nilai LC_{50} kurang dari 1000 mg/L. Fraksi F.6 merupakan fraksi yang paling toksik dengan nilai LC_{50} 9,391 mg/L sehingga

dilakukan pemisahan kembali menggunakan kromatografi kolom [16].

3.5. Hasil Rekromatografi Kolom dari

Fraksi F.6

Fraksi F.6 sebanyak 6 g diisolasi kembali menggunakan kromatografi kolom silika gel dengan sistem isokratik menggunakan eluen petroleum eter:etil asetat (7:3). Isolasi fraksi F.6 menghasilkan eluat sebanyak 163 vial dengan total volume eluen yang dialirkan sebanyak 1700 mL. Berdasarkan pola noda dan nilai Rf yang sama pada plat KLT di dapatkan 5 subfraksi dengan massa yang tertera pada Tabel 3.5. Masing-masing subfraksi yang didapatkan dilakukan uji toksisitas.

3.6. Hasil Uji Toksisitas Subfraksi F.6.-

F.6.5

Uji toksisitas pada subfraksi F.6.1-6.5 dilakukan dengan metode *Brine Shrimp*

Lethality Test (BSLT) secara duplo (dua kali pengulangan). Subfraksi F.6.1, F.6.2, F.6.3, F.6.4 dibuat dengan variasi konsentrasi 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,2 mg/L. Dan subfraksi F.6.5 dibuat dengan variasi konsentrasi 250; 125; 62,5; 31,2; 15,6; 7,8 mg/L serta kontrol negatif [17]. Hasil penentuan nilai LC₅₀ subfraksi tertera pada Tabel 3.6.

Hasil dari nilai LC₅₀ yang didapatkan pada subfraksi F.6.1 tidak bersifat toksik dikarenakan nilai LC₅₀ yang lebih dari 1000 mg/L, sedangkan subfraksi F.6.2, F.6.3, F.6.4 dan F.6.5 bersifat toksik terhadap hewan uji larva *Artemia salina leach* dengan nilai LC₅₀ kurang dari 1000 mg/L. Dan dari subfraksi diatas yang memiliki aktivitas sitotoksik tertinggi adalah subfraksi F.6.5 dengan nilai LC₅₀ 7,694 mg/L dan dilanjutkan pemurnian.

Tabel 3.5 Hasil kromatografi kolom fraksi 6

Subfraksi	Nomor Vial	Massa (gram)
F.6.1	1-2	0,0125
F.6.2	3-25	1,8712
F.6.3	26-55	3,8947
F.6.4	56-100	4,6585
F.6.5	101-163	0,3025

Tabel 3.6 Hasil penentuan nilai LC₅₀ masing-masing subfraksi

Subfraksi	Persamaan	R ²	LC ₅₀ (mg/L)
F.6.1	$y = 0,9667x + 1,842$	0,9202	1848,811
F.6.2	$y = 0,9833x + 2,6168$	0,9784	265,279
F.6.3	$y = 1,0972x + 2,7475$	0,9399	112,977
F.6.4	$y = 0,9206x + 3,1609$	0,9708	99,449
F.6.5	$y = 0,7859x + 4,407$	0,9542	7,694

3.7 Hasil Pemurnian Subfraksi F.6.5

Subfraksi F.6.5 (0,3025 g) dimurnikan menggunakan 2 pelarut yang tidak saling melarutkan, dimana pelarut yang digunakan adalah heksana dan metanol. Kedua lapisan pelarut dipisahkan dengan metode dekantasi dan dikeringkan, pada lapisan metanol didapatkan senyawa 6.5 berupa padatan berwarna putih kekuningan dengan massa 0,2542 g.

3.7.1 Uji Kemurnian

Uji kromatografi lapis tipis

Uji kemurnian senyawa hasil isolasi berupa padatan berwarna putih kekuningan diuji dengan KLT yang dielusi menggunakan berbagai perbandingan pelarut. Hasil KLT dilihat dibawah lampu UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 365 nm. Hasil uji KLT senyawa hasil isolasi dengan berbagai perbandingan pelarut tertera pada Tabel 3.7.

Pengujian senyawa hasil isolasi menggunakan eluen dengan tingkat kepolaran yang berbeda dilakukan untuk menentukan kemurnian senyawa yang diperoleh dengan tampaknya noda tunggal. Berdasarkan Tabel 3.7 menunjukkan bahwa senyawa hasil isolasi telah murni yang ditandai dengan adanya pola noda tunggal pada perbandingan eluen yang berbeda. Hasil uji KLT dapat dilihat Gambar 3.2.

Uji titik leleh

Titik leleh suatu senyawa padatan dapat memberikan petunjuk derajat kemurnian suatu senyawa. Senyawa dapat ditentukan kemurniannya berdasarkan jarak titik leleh yang sempit ($\leq 2^\circ\text{C}$) [18]. Berdasarkan hasil pengujian, senyawa hasil isolasi terdekomposisi pada suhu 227°C - 228°C , dan hal ini mengindikasikan bahwa senyawa hasil isolasi yang didapatkan sudah murni dikarenakan memiliki range suhu 1°C .

Tabel 3.7 Hasil monitor senyawa hasil isolasi dengan berbagai perbandingan pelarut

No	Perbandingan Eluen			Rf	Jumlah Noda
	Petroleum eter	Heksana	Etil asetat		
1	0	8	2	0,5	1
2	8	0	2	0,35	1
3	5	0	5	0,875	1

Identifikasi Golongan Senyawa Hasil Isolasi

Identifikasi golongan senyawa hasil isolasi dilakukan untuk menentukan golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada senyawa hasil isolasi. Hasil uji fitokimia terhadap senyawa hasil isolasi positif menunjukkan terbentuknya endapan putih dengan penambahan pereaksi Mayer, yang mengindikasikan bahwa golongan senyawa metabolit sekunder senyawa hasil isolasi merupakan alkaloid, yang dapat dilihat pada Gambar 3.3.



Gambar 3.3. Hasil uji profil fitokimia senyawa hasil isolasi

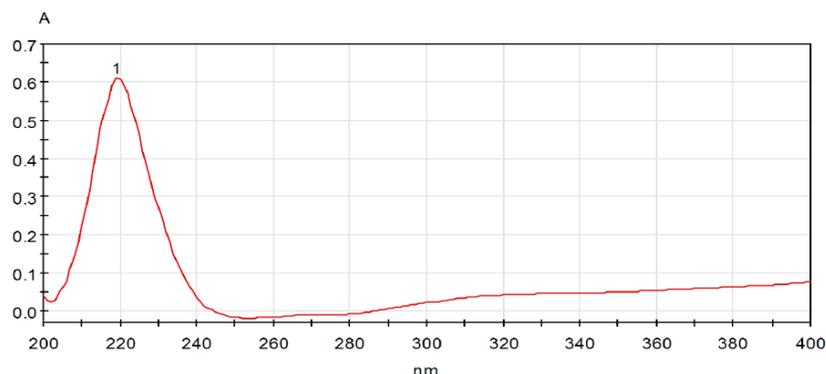
Karakterisasi senyawa dengan spektroskopi UV digunakan untuk mengetahui ada atau tidaknya ikatan rangkap berkonjugasi pada senyawa hasil isolasi dan menganalisis senyawa organik yang mengandung gugus kromofor dan ausokrom. Prinsip dasar dari spektrofotometer UV adalah

penyerapan sinar tampak atau ultra violet oleh suatu molekul yang dapat menyebabkan terjadinya eksitasi molekul tersebut dari tingkat energi dasar ketingkat yang lebih tinggi. Hasil karakterisasi senyawa dengan spektrofotometer UV-Vis dapat dilihat pada Gambar 3.4.

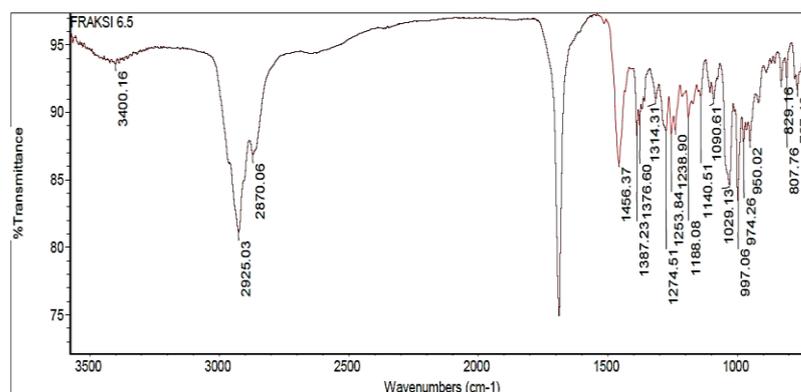
Berdasarkan Gambar 3.3, dari hasil analisis spektrum Ultraviolet (UV) senyawa hasil isolasi menunjukkan serapan maksimum pada panjang gelombang 219 nm. Serapan pada panjang gelombang 219 nm diduga menunjukkan adanya ikatan rangkap dan elektron bebas yang berkonjugasi dengan kemungkinan strukturnya adalah (-C=N-), hal ini dikarenakan terjadinya transisi elektron dari $n \rightarrow \pi^*$ yang mengabsorpsi cahaya pada panjang gelombang 200-400 nm [19].

3.2 Spektrofotometer FTIR (*Fourier Transform Infrared*)

Karakterisasi senyawa hasil isolasi dengan spektrofotometer FTIR bertujuan untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat pada senyawa hasil isolasi. Hasil pengukuran spektrofotometer FTIR pada senyawa hasil isolasi berupa spektrum dapat dilihat pada Gambar 3.5.



Gambar 3.4 Spektrum UV-Vis senyawa hasil isolasi



Gambar 3.5 Spektrum FTIR senyawa hasil isolasi ekstrak etil asetat daun pulai

Berdasarkan spektrum *Infrared* dapat diketahui bahwa senyawa hasil isolasi memiliki serapan lemah pada daerah 3400,16 cm⁻¹ menunjukkan NH *stretch* sekunder. Puncak serapan pada daerah 2925,03 cm⁻¹ menunjukkan daerah serapan C-H *stretch* pada metil dan 2870,06 cm⁻¹ menunjukkan C-H *stretch* pada metilen (-CH₂-). Puncak serapan pada daerah 1686,87 cm⁻¹ adanya vibrasi C=C *stretch*, serapan pada daerah 1456,37 cm⁻¹ menunjukkan vibrasi C-H *bending*, dan pada daerah 1029,13 cm⁻¹ menunjukkan daerah serapan C-N *stretch*. Hal ini menunjukkan adanya kemungkinan besar senyawa yang terdapat pada sampel adalah senyawa alkaloid

yang sesuai dengan uji fitokim sampel hasil isolasi [20].

4. KESIMPULAN

Berdasarkan dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa senyawa hasil isolasi ekstrak etil asetat daun pulai, yaitu senyawa 6.5 merupakan senyawa golongan alkaloid (titik leleh 227-228 °C) yang menunjukkan hasil positif dengan penambahan pereaksi Mayer dimana menunjukkan adanya endapan putih. Karakterisasi struktur senyawa hasil isolasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis menunjukkan bahwa senyawa hasil isolasi mengandung ikatan π berkonjugasi dengan

serapan maksimum pada daerah λ 219 nm. Untuk hasil karakterisasi menggunakan spektrofotometer FTIR, didapatkan puncak serapan untuk gugus fungsi: N-H ($3400,16\text{ cm}^{-1}$), C-H *stretch* pada metil ($2925,03\text{ cm}^{-1}$), C-H *stretch* pada metilen ($-\text{CH}_2-$) ($2870,06\text{ cm}^{-1}$), C=C ($1686,87\text{ cm}^{-1}$), C-H *bending* ($1456,37\text{ cm}^{-1}$), dan C-N ($1029,13\text{ cm}^{-1}$). Hasil uji toksisitas senyawa hasil isolasi dengan metode BSLT menunjukkan bahwasanya senyawa hasil isolasi F.6.5 bersifat toksik dengan nilai LC_{50} 5,68 mg/L.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis menyampaikan terimakasih kepada Universitas Andalas yang telah mendanai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] M. T. El-Saadony *et al.*, “Nutritional Aspects and Health Benefits of Bioactive Plant Compounds against Infectious Diseases: A Review”, *Food Rev. Int.*, vol 00, no 00, bll 1–23, 2021.
- [2] A. S. Alqahtani, R. Ullah, en A. A. Shahat, “Bioactive Constituents and Toxicological Evaluation of Selected Antidiabetic Medicinal Plants of Saudi Arabia”, *Evidence-based Complement. Altern. Med.*, bl 23, 2022.
- [3] G. Mustafa, R. Arif, A. Atta, S. Sharif, en A. Jamil, “Bioactive Compounds from Medicinal Plants and Their Importance in Drug Discovery in Pakistan”, *Matrix Sci. Pharma*, vol 1, no 1, bll 17–26, 2017, doi: 10.26480/msp.01.2017.17.26.
- [4] S. Arulmhozi, P. Mazumder, S. Lohidasan, en P. Thakurdesai, “Antidiabetic and Antihyperlipidemic Activity of Leaves of *Alstonia scholaris* L.R.Br.”, *Eur. J. Integr. Medicine*, vol 2, no 1, bll 23–32, 2010.
- [5] Pankti, K., G. Payal, C. Manodeep, en K. Jagadish, “A Phytopharmacological Review of *Alstonia scholaris*: a Panoramic Herbal Medicine”, *IJRAP*, vol 3, no 3, bll 367–371, 2012.
- [6] M. Dhruvi, P. Bhavika, en P. Meonis, “Studies on Phytochemical Constituents and Antioxidant Activity of *Alstonia scholaris*”, *Int. J. Life Sci.*, vol 4, no 4, bll 529–538, 2016.
- [7] A. Wulandari, “Toksistas dan Kandungan Fenolik Total dari Ekstrak Daun Pulau (*Alstonia scholaris* (L.)R.Br.)”, Universitas Andalas, 2017.
- [8] P. Astuti, G. Alam, A. Tahir, en S. Wahyuno, “Toxicity Studies of Sponges Collected from Barrang Lompo Island Against *Artemia salina* Leach”, *J. Trad Med*, vol 7, no 21, bll 19–23, 2002.
- [9] S. Wahyuni, F. Zakaria, A. Witarto, D. Syah, en M. Suhartono, “Aktifitas Antikanker Senyawa-senyawa Kitoooligomer”, *Tekno. dan Ind. Pangan*, vol 18, no 1, 2006.
- [10] K. Sudarmi, I. B. G. Darmayasa, en I. K. Muksin, “Uji Fitokimia Dan Daya Hambat Ekstrak Daun Juwet (*Syzygium cumini*) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus* ATCC”, *SIMBIOSIS J. Biol. Sci.*, vol 5, no 2, bl 47, 2017.
- [11] Frengki, Roslizawaty, en D. Pertiwi, “Toxicity Test of Ethanol Extract Ant Plant Local Aceh (*Mymercodia* Sp) Method of Bslt Larvae Shrimp *Artemia salina* leach”, *J. Med. Vet.*, vol 8, no 1, bll 60–62, 2014.
- [12] Parwati en Ni Kadek Fina, “Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Binahing (*Anredera cordifolia* (Tenore) steenis) dengan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) Menggunakan

- Spektrofotometer UV-VIS”, *J. Akad. Kim.*, vol 3, no 3, bll 143–149, 2014.
- [13] A. Ningdyah, A. Alimuddin, en A. Jayuska, “Uji Toksisitas dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) Terhadap Hasil Fraksinasi Ekstrak Kulit Buah Tampoi (*Baccaurea macrocarpa*)”, *Univ. Tanjungpura*, vol 4, no 1, bll 75–83, 2015.
- [14] Abd.Malik, E. Ferawati, en W. Risda, “Skrining Fitokimia dan Penetapan Kandungan Flavonoid Total Ekstrak M etanolik Herba Boroco (*Celosia argentea* L.) Laboratorium Farmakognosi Fitokimia”, *J. Fitofarmaka Indones.*, vol 1, no 1, bll 1–5, 2014.
- [15] C. Swastiratu, “Inhibisi Ekstrak Pulai (*Alstonia Scholaris*) terhadap Aktivitas Siklooksigenase-2 secara In Vitro”, Institut Pertanian Bogor, 2015.
- [16] N. Haryati, C. Saleh, en Erwin, “Uji Toksisitas dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Merah Tanaman Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*”, *J. Kim. Mulawarman*, vol 13, no 1, bll 35–40, 2015.
- [17] M. Moshi *et al.*, “Brine shrimp toxicity of some plants used as traditional medicines in Kagera Region, north western Tanzania”, *Tanzan. J. Health Res.*, vol 12, no 1, bll 7–63, 2010.
- [18] Firdaus, *Teknik dalam Laboratorium Kimia Organik*. Makassar: Unhas, 2011.
- [19] C. J. Creswel, A. R. Olaf, en M. C. Malcolm, *Analisis Spektrum Senyawa Organik*. Bandung: ITB, 2005.
- [20] Y. . Sharma, *Elementry Organic Spectroscopy Principles and Chemical Application Multicolour Edition*. S.Chand and Company LTD. New Delhi, 2007.