

UJI FENOLIK DAN UJI TOKSISITAS EKSTRAK METANOL KULIT JENGKOL (*Archidendron jiringa*)

Misri Yanty Lubis¹, Lamek Marpaung², M. Pandapotan Nasution², Partomuan Simanjuntak³

¹Mahasiswa Pascasarjana Program Doktor Ilmu Kimia USU, Medan

¹ Staff pengajar Universitas Graha Nusantara, Padangsidimpuan

²Staff pengajar Universitas Sumatera Utara

³LIPI Cibinong

e-mail: misriyanty@gmail.com

ABSTRAK

*Selama ini kulit jengkol tidak dimanfaatkan, merupakan barang yang terbuang dan menjadi sampah. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah kulit jengkol dapat dimanfaatkan sebagai alternatif obat herbal dengan terlebih dahulu dilakukan uji fenolik untuk melihat kandungan senyawa fenoliknya. Uji fenolik ekstrak dilakukan dengan menggunakan FeCl₃. Senyawa fenolik yang terkandung dalam tumbuhan mempunyai aktivitas biologi yang beragam, seperti anti-inflamasi, antimikroba, antikanker dan lain-lain. Efek toksik ekstrak metanol dari kulit jengkol (*Archidendron jiringa*) telah diamati dengan menggunakan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Ekstrak dibuat dengan cara maserasi menggunakan metanol selama 1 x 24 jam. Ekstrak diuji toksisitasnya menggunakan larva udang *Artemia salina* yang berumur 24 jam. Efek toksik ekstrak diidentifikasi dengan persentasi kematian larva udang menggunakan analisis probit (LC₅₀). Hasil menunjukkan ekstrak metanol dari kulit jengkol bersifat toksik, dengan LC₅₀ = 39,27. Hasil ini dapat dijadikan dasar untuk menggunakan kulit jengkol sebagai alternatif obat herbal.*

Kata kunci: Toksisitas, uji fenolik, BSLT, LC₅₀, analisis probit.

PENDAHULUAN

Indonesia dikenal memiliki *megabiodiversity*, sehingga sangat kondusif untuk dilakukan eksplorasi. Pada saat ini diketahui kurang lebih 40.000 spesies berasal dari daerah tropis yang ada di dunia dan sebanyak 30.000 spesies tanaman terdapat di Indonesia. Kurang lebih 1.000 spesies tanaman sudah digunakan sebagai obat tradisional. Potensi yang dimiliki Indonesia ini belum semuanya tereksplorasi maupun terdokumentasi dengan baik untuk pengembangan obat bagi manusia. Perlu dikembangkan inventarisasi bahan alam yang berpotensi sebagai penghasil obat, serta pengetahuan tentang bahan aktif yang terdapat pada tanaman, fungsinya, dan struktur kimianya (Widyastuty, 2013).

Tumbuhan yang dapat dimakan kaya akan sumber senyawa fenolik, dimana molekulnya dapat berperan sebagai antioksidan, anti-inflamasi dan antidiabetes (Sawadogo, 2012). Senyawa fenolik yang ada pada tumbuhan juga sudah pernah dilaporkan dapat berperan sebagai anti kanker (Anna, 2015).

Salah satu tumbuhan yang dapat dimakan adalah jengkol. Jengkol (*Archidendron jiringa*) adalah salah satu tumbuhan tropis yang ditemukan di Indonesia, Malaysia dan juga Thailand. Tumbuhan ini termasuk dalam famili *Fabaceae* (Lim, 2012). Daun

jengkol memiliki sifat farmakologi yang dapat digunakan untuk mengobati penyakit kulit. Selain itu, dapat juga digunakan sebagai pestisida organik pengganti sintetis (Muslim, 2011). Jengkol dapat membersihkan darah dan mengobati disentri (Aswuhunu, 2012). Ekstrak etanol buah jengkol memiliki aktivitas antioksidan (Nahdzaatul, 2012). Biji jengkol dapat dimakan sebelum diolah ataupun terlebih dahulu diolah dengan cara merebus, menggoreng, ataupun dicampur dengan bumbu. Jengkol ini biasanya dimakan bersamaan dengan nasi (Ruzilawati, 2012).

Kulit jengkol masih sedikit pemanfaatannya. Biasanya menjadi sampah dan terbuang. Kulit jengkol dapat dimanfaatkan sebagai bahan pewarna coklat pada pakaian berbahan sutra (Sarinya, 2011). Kulit jengkol mengandung senyawa flavonoid (Min-Won, 1991). Senyawa flavonoid adalah salah satu senyawa fenolik. Senyawa Flavonoid memiliki aktivitas yang beraneka ragam. Senyawa flavonoid dapat berperan sebagai anti-inflamasi, antibakteri dan antivirus (Guangming, 2016).

Dari uraian di atas, Peneliti tertarik untuk menguji toksisitas ekstrak metanol kulit jengkol sebagai dasar untuk menguji aktivitas senyawa flavonoid yang ada pada kulit jengkol. Adapun metode yang dipilih adalah metode *Brine Shrimp Lethality Test* (*BSLT*) menggunakan larva udang *Artemia salina* yang berumur 24 jam.

METODOLOGI PENELITIAN

Sampel

Sampel diambil dari desa Namurambe, Kecamatan Deli Serdang, Sumatera Utara.

Preparasi Sampel

Kulit jengkol dibersihkan, dipotong kecil-kecil dan dihaluskan dengan menggunakan blender. Sampel yang sudah berbentuk serbuk dikering angin-anginkan selama 1 x 24 jam.

Ekstraksi

Sampel berupa kulit jengkol berbentuk serbuk yang sudah kering ditambahkan dengan metanol (Khoddami, 2013) sampai seluruh sampel terrendam. Dimaserasi selama 1 x 24 jam pada suhu kamar. Ekstrak diambil, selanjutnya ampas ditambahkan metanol kembali sampai ekstrak negatif senyawa fenolik dengan melakukan test menggunakan FeCl_3 . Ekstrak yang diperoleh dikumpulkan dan dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* dan *waterbath* sampai diperoleh ekstrak kental metanol dari kulit jengkol.

Uji Fenolik

Sebanyak 5 ml ekstrak metanol yang belum dipekatkan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditetesi dengan 3 tetes larutan FeCl_3 1%, hasilnya positif mengandung senyawa fenolik jika terbentuk warna hitam (Tiwari, 2011).

Persiapan Larva Udang

Sebanyak 38 g garam dapur dilarutkan dalam 1 L aquadest untuk membuat air laut buatan sebagai media biakan telur udang. Dimasukkan sebanyak 20 mg telur *Artemia salina* ke dalam wadah yang berisi air laut buatan dan diberi cahaya lampu. Telur-telur *Artemia salina* akan menetas menjadi larva dalam waktu 24-48 jam (Imran, 2015).

Persiapan larutan uji

Sebanyak 100 mg ekstrak metanol pekat dari kulit jengkol ditetesi dengan 3 tetes Dimetilsulfoksida (DMSO) untuk melarutkan ekstrak yang sudah pekat, kemudian ditambahkan dengan air laut buatan sampai volume 10 ml. Diperoleh konsentrasi larutan induk 10.000 mg/l (10.000 ppm). Larutan induk diencerkan menjadi 1.000 ppm, 100 ppm dan 10 ppm. Larutan dengan konsentrasi 1.000 ppm dibuat dengan mengambil larutan induk sebanyak 2,5 ml yang dimasukkan ke dalam labu takar volume 25 ml dan ditambahkan dengan air laut buatan sampai tanda batas. Larutan dengan konsentrasi 100 ppm dibuat dengan mengambil larutan induk sebanyak 0,1 ml yang dimasukkan ke dalam labu takar volume 10 ml dan ditambahkan dengan air laut buatan sampai tanda batas. Larutan dengan konsentrasi 10 ppm dibuat dengan mengambil larutan induk sebanyak 0,01 ml yang dimasukkan ke dalam labu takar volume 10 ml dan ditambahkan dengan air laut buatan sampai tanda batas.

Uji Toksisitas

Larutan uji 1.000 ppm, 100 ppm dan 10 ppm dimasukkan masing-masing ke dalam 3 botol vial. Larutan air laut buatan dimasukkan ke dalam 3 botol vial sebagai kontrol negatif. Larutan air laut yang ditambahkan 3 tetes DMSO dimasukkan ke dalam 3 botol vial sebagai kontrol positif. Ada 5 jenis larutan uji yang masing-masing dibuat 3 kali pengamatan. Ke dalam masing-masing larutan uji dalam botol vial dimasukkan 10 ekor larva udang. Setelah 24 jam, diamati jumlah larva yang mati dalam botol vial berisi larutan uji.

PEMBAHASAN

Uji Fenolik

Ekstrak metanol kulit jengkol setelah ditetesi dengan 2 tetes FeCl₃ berubah warna dari warna coklat menjadi warna hitam. Hasil test ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol kulit jengkol mengandung senyawa fenolik.

Uji Toksisitas

Uji toksisitas dilakukan dengan metode BSLT menggunakan larva udang *Artemia salina* yang merupakan metode uji toksisitas yang cepat, simpel, sederhana dan murah (Mentor, 2014)

Perhitungan pengenceran larutan uji dari larutan induk 10.000 ppm menjadi 1.000 ppm, 100 ppm dan 10 ppm.

- Untuk membuat larutan uji 1.000 ppm dari 10.000 ppm digunakan labu takar ukuran 25 ml. Dihitung volume larutan yang diambil dari 10.000 ppm menggunakan rumus pengenceran sebagai berikut:

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \cdot 10.000 \text{ ppm} = 25 \text{ ml} \cdot 1.000 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{25 \text{ ml} \cdot 1.000 \text{ ppm}}{10.000 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = \frac{25.000}{10.000} \text{ ml}$$

$$V_1 = 2,5 \text{ ml}$$

- Untuk membuat larutan uji 100 ppm dari 10.000 ppm digunakan labu takar ukuran 10 ml. Dihitung volume larutan yang diambil dari 10.000 ppm menggunakan rumus pengenceran sebagai berikut:

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \cdot 10.000 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} \cdot 100 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{10 \text{ ml} \cdot 100 \text{ ppm}}{10.000 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = \frac{1.000}{10.000} \text{ ml}$$

$$V_1 = 0,1 \text{ ml}$$

- c. Untuk membuat larutan uji 10 ppm dari 10.000 ppm digunakan labu takar ukuran 10 ml. Dihitung volume larutan yang diambil dari 10.000 ppm menggunakan rumus pengenceran sebagai berikut:

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \cdot 10.000 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} \cdot 10 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{10 \text{ ml} \cdot 10 \text{ ppm}}{10.000 \text{ ppm}}$$

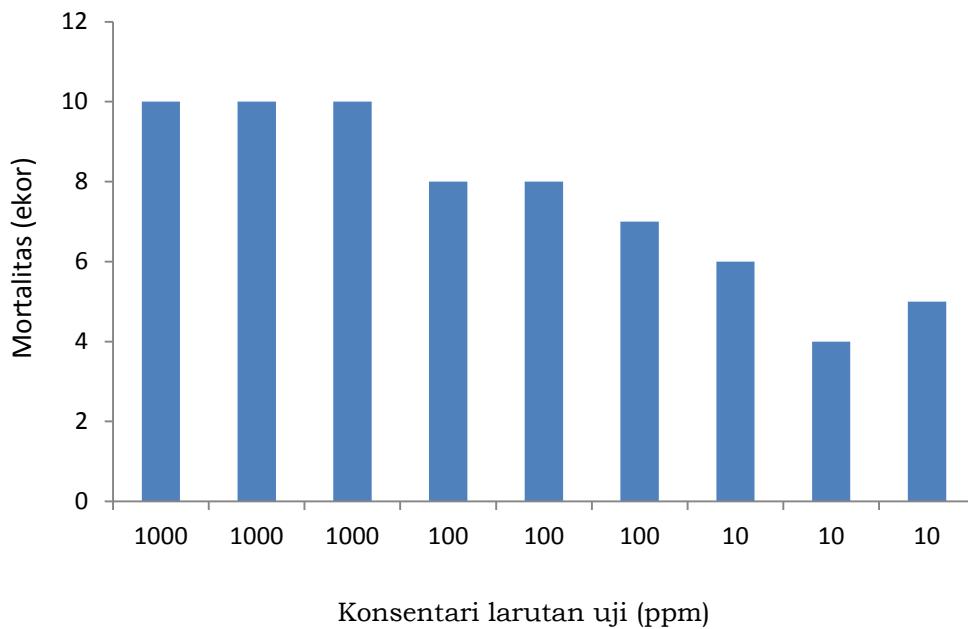
$$V_1 = \frac{100}{10.000} \text{ ml}$$

$$V_1 = 0,01 \text{ ml}$$

Hasil pengamatan uji toksisitas ekstrak metanol kulit jengkol (*Arcidendron jiringa*) dengan metode BSLT disajikan pada table di bawah ini:

Tabel 1. Hasil Pengamatan Uji Toksisitas

No.	Larutan uji (ppm)	Jumlah larva Hidup Mul-mula	Jumlah larva hidup Setelah 24 jam	Jumlah larva mati Setelah 24 jam
1.	1000	10	0	10
2.	1000	10	0	10
3.	1000	10	0	10
4.	100	10	2	8
5.	100	10	2	8
6.	100	10	3	7
7.	10	10	4	6
8.	10	10	6	4
9.	10	10	5	5
10.	Kontrol positif	10	10	0
11.	Kontrol positif	10	10	0
12.	Kontrol positif	10	10	0
13.	Kontrol negatif	10	10	0
14.	Kontrol negatif	10	10	0
15.	Kontrol negatif	10	10	0

**Grafik 1.** Konsentrasi larutan uji vs mortalitas

Dari grafik di atas terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi larutan uji yang mengandung ekstrak untuk diuji dengan larva udang *Artemia salina* maka semakin tinggi toksisitasnya. Pada konsentrasi 1.000 ppm dilakukan 3 kali pengujian dengan rata-rata mortalitas 10. Pada konsentrasi 100 ppm juga dilakukan 3 kali pengujian dengan rata-rata mortalitas 7,67. Sedangkan pada konsentrasi 10 ppm diperoleh rata-rata mortalitas adalah 5

Tabel 2. Perhitungan Data Hasil Pengamatan

Konsentrasi Larutan Uji	Jumlah Hewan Uji	Mortalitas	% Mortalitas	X (log konsentrasi)	y (nilai probit % Mortalitas)	x.y	x^2
1000	10	10	100	3	8,09	24,27	9
1000	10	10	100	3	8,09	24,27	9
1000	10	10	100	3	8,09	24,27	9
100	10	8	80	2	5,84	11,68	4
100	10	8	80	2	5,84	11,68	4
100	10	7	70	2	5,52	11,04	4
10	10	6	60	1	5,25	5,25	1
10	10	4	40	1	4,75	4,75	1
10	10	5	50	1	5,00	5	1
Jumlah (Σ)				18	56,47	122,21	42

y diperoleh dari tabel nilai probit persentase Mortalitas yang disajikan di bawah ini:

Tabel 3. Nilai Probit Persentase Mortalitas

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.36	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
-	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
99	7.33	7.37	7.41	7.46	7.51	7.58	7.65	7.75	7.88	8.09

Perhitungan nilai LC₅₀ Metode Hubert (regresi linier)

$$b = \frac{\sum x \cdot y - \frac{1}{n} (\sum x \cdot \sum y)}{\sum x^2 - \frac{1}{n} (\sum x)^2}$$

$$a = \frac{1}{n} (\sum y - b \sum x)$$

Untuk mencari nilai LC₅₀, digunakan persamaan linier y=ax+b

$$LC_{50} = \text{anti log } x$$

$$b = \frac{122,21 - \frac{1}{10} (18 \times 56,47)}{42 - \frac{1}{10} (18)^2}$$

$$= \frac{122,21 - 101,646}{42 - 32,4}$$

$$= \frac{20,564}{9,6}$$

$$= 2,142$$

$$a = \frac{1}{10} (56,47 - 2,142(18))$$

$$= \frac{1}{10} (56,47 - 38,556)$$

$$= \frac{1}{10} (17,914)$$

$$= 1,7914$$

Substitusi nilai y, a dan b ke persamaan linier y=ax+b untuk memperoleh nilai x, dimana
anti log x = LC₅₀

Nilai y yang digunakan disini adalah nilai probit dari 50 %, yaitu 5,00 (dari tabel 3)

$$5 = 1,7914x + 2,145$$

$$1,7914x = 5 - 2,145 \\ x = 1,594082$$

$$\text{anti log } x = 39,27 \\ LC_{50} = 39,27 \text{ ppm}$$

Kriteria nilai LC_{50} untuk uji toksisitas menurut Meyer adalah sebagai berikut:

$LC_{50} < 1.000$ ppm bersifat toksik

$LC_{50} > 1.000$ ppm bersifat non toksik (Meyer, 1982)

Kriteria nilai LC_{50} untuk uji toksisitas menurut Clarkson adalah sebagai berikut:

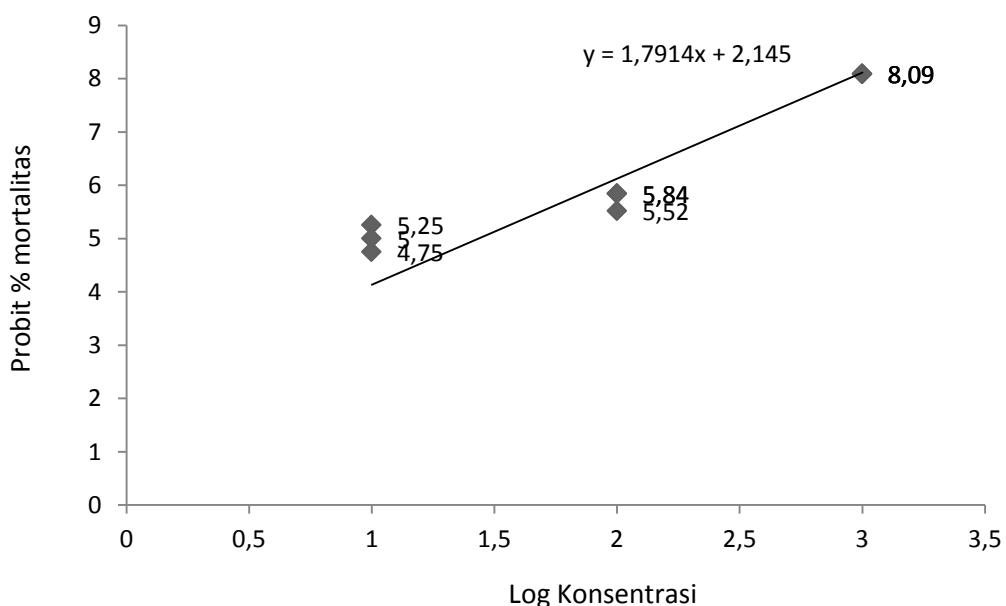
$LC_{50} > 1.000$ ppm bersifat non toksik

LC_{50} 500-1.000 ppm bersifat toksik rendah

LC_{50} 100-500 ppm bersifat toksik sedang

LC_{50} 0-100 ppm bersifat sangat toksik (Clarkson, 2004).

Dari kriteria di atas, nilai LC_{50} ekstrak metanol kulit jengkol yang diperoleh sebesar 39,27 ppm termasuk dalam kategori toksik menurut Meyer dan sangat toksik menurut Clarkson.



Gambar 2. Grafik log konsentrasi vs probit % mortalitas dan persamaan liniernya

KESIMPULAN

Hasil uji toksisitas ekstrak metanol kulit jengkol menggunakan metode BSLT diperoleh nilai $LC_{50} = 39,27$. Nilai ini mengindikasikan bahwa ekstrak methanol dari kulit jengkol dikategorikan bersifat toksik. Nilai LC_{50} ini dapat dijadikan sebagai acuan untuk menjadikan ekstrak kulit jengkol sebagai alternatif obat herbal dengan terlebih dahulu dilakukan uji aktivitasnya seperti antimikroba, antikanker, anti-inflamasi, antioksidan, antidiabetes, antikanker dan lain-lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Anna Maria Mileo and Stefania Miccadei. 2015. *Polyphenols as Modulator of Oxidative Stress in Cancer Disease: New Therapeutic Strategies*. Rewew Article.
- Ashuwini Sridaran, Alias A. Karim, Rajeev Bhat. 2012. *Pithecellobium jiringa legume flour for potential food applications: Studies on their physico-chemical and functional properties*
- Clarkson, C., Maharaj, V.J., Crouch, N.R., Grace, O.M., Pillay, P., Matsabisa, M. G., Bhagwandin, N., Smith, P.J., Folb, P.I. 2004. *In vitro antiplasmodial activity of medicinal plants native to or naturalized in South Africa*. J Ethnopharm. 92, 177-191.
- Guangming Xu, Zheming Wang, Binqing Zhao, Nianzheng Liu, Shenghui Yang, Yonghong Liu, Junfeng Wang, Xiaojiang Zhou. 2016. *Saniculamins A and B, Two New Flavonoids from Sanicula lamelligera Hance inhibiting LPS-Induced Nitric Oxide Relese*.
- Imran Khan, Kafeel Ahmad, Ali Talha Khalil, Jangrez Khan, Yusra Ali Khan, Muhammad Shahab Saqib, Muhammad Naveed Umar, Hilal Ahmad. 2015. *Evaluation of antileishmanial, antibacterial and brine shrimp cytotoxic potential of crude methanolic extract of Herb Ocimum basilicum (Lamiaceae)*
- Khoddami, A, Meredith A, Wilkes dan Thomas. 2013. *Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds*. Journal molecul
- Lim, T, K. 2012. *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants*, volume 2, fruits, Springer Dordrecht Heidelberg London New York. Hal: 544-548.
- Mentor, R. Hamidi, Blagica Jovanova, Tatjana Kadifkova Panovska. 2014. *Toxicological Evaluation of The Plant Products Using Brine Shrimp (Artemia salina L.) model*.
- Meyer, B.N., Ferrigni, N.R., Putnam, J.E., Jacobsen, L.B., Nichols, D.E., McLaughlin, J.L. 1982. *Brine Shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents*. Planta Medica. 45, 31-34.
- Min Won Lee, Satoshi Morimoto, Gen-Ichiro Nonaka and Itsuo Nishioka. 1991. *Flavan-3-ol Gallates and Proanthocyanidins From Pithecellobium Labatum*.
- Muslim N dan Abdul Majid A. 2011. *Pithecellobium jiringa: A Traditional Medicinal Herb*.
- Nahdzatul Syima Muslim, Zeyad D Nassar, Abdalrahim FA Aisha, Armaghan Shafaei, Norshirin Idris, Amin Malik Shah Abdul Majid and Zhari Ismail. 2012. *Antiangiogenesis and antioxidant activity of ethanol extracts of Pithecellobium jiringa*
- Ruzilawati Abu Bakar, Imran Ahmad and Shaida Fariza Sulaiman. 2012. *Effect of Pithecellobium jiringa as antimicrobial agent*.
- Sarinya Charungchitrak, Amorn Petsom, Polkit Sangvanich, Aphichart Karnchanatat. 2011. *Antifungal and antibacterial activities of lectin from the seeds of Archidendron jiringa Nielsen*.
- Sawadogo, W. R., Maciuk, A., Banzouzi, J. T., Champy, P., Figadere, B., Guissou, I. P., Nacoulma, O. G. 2012. *Mutagenic effect, Antioxidant and anticancer activities of six medicinal Plants from Burkina Faso*. Nat. Prod. Res, 26, 575-579.

Tiwari, P, Bimlesh Kumar, Mandeep Kaur, Gurpreet Kaur, Harleen Kaur. 2011. *Phytochemical screening and Extraction: A Review*

Widyastuty. 2013. *Sistematika Produk Metabolit Sekunder, Alami Indonesia Sebagai Bahan Obat Herbal Menggunakan Pendekatan Metabolomik.*,
<http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/13356>