

**IDENTIFIKASI FRAKSI DAN UJI TOKSISITAS
EKSTRAK METANOL BATANG KELOR
(*Moringa oleifera Lamk.*)**

**Pince Salempa¹, Mohammad Wijaya², Sitti Faika³,
Sulfikar⁴, Gusma Harfiana Abbas⁵**

Kimia, Universitas Negeri Makassar, Indonesia

Email: pince_salempa@yahoo.com¹

Abstrak. Tumbuhan kelor (*Moringa oleifera Lamk.*) termasuk dalam famili Moringaceae yang memiliki banyak manfaat, salah satunya yaitu anti bakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan fraksi ekstrak metanol dan uji toksisitasnya. Batang kelor yang sudah di haluskan di maserasi dengan metanol, kemudian di evaporasi untuk menghasilkan ekstrak kental. Ekstrak kental yang dihasilkan kemudian di fraksinasi menggunakan keomatografi kolom cair vakum. Fraksi yang dihasilkan kemudian di analisis menggunakan GC-MS dan BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). Hasil yang diperoleh yaitu, fraksi mengandung senyawa utama Hexadecanoid acid dan 6-octadecanoid acid. Adapun nilai LC₅₀ yang dihasilkan yaitu sebesar 90.012 ppm yang menunjukkan bahwa fraksi bersifat toksik.

Kata Kunci: *M. oleifera Lamk*, *Artemia selina Leach*, toksisitas

**INDONESIAN
JOURNAL OF
FUNDAMENTAL
SCIENCES**

E-ISSN: 2621-6728

P-ISSN: 2621-671X

Submitted: June, 10th 2023

Revised: July 30th, 2023

Accepted: August, 2nd 2023



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

PENDAHULUAN

Indonesia dikenal sebagai salah satu Negara pemilik hutan tropis yang terdapat didunia dengan luas 118,7 juta hektar atau lebih 65% dari seluruh daratan dan menempati urutan ke 3 setelah brazil dan Zeire (Zuhud, 1994). Hutan tropis kaya akan keanekaragaman tumbuh-tumbuhan yang menjadi sumber daya hayati sekaligus sebagai gudang senyawa kimia yang dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Obat tradisional adalah obat yang digunakan oleh masyarakat berdasarkan pengalaman secara turun temurun dan sangat erat hubungannya dengan tradisi dan budaya kelompok etnik masyarakat bersangkutan. Bahan obat tradisional yang digunakan berasal dari bahan alam yang mempunyai khasiat dan sangat bermanfaat sebagai bahan dasar pembuatan obat karena mengandung senyawa alami.

Salah satu tumbuhan yang berpotensi sebagai obat tradisional adalah kelor (*Moringa Oleifera* Lamk.). Kelor merupakan spesies dari famili *moringaceae*, dimana *moringaceae* merupakan family monogeneric satu genus yaitu *moringa* yang memiliki 33 *species* (Purba 2020). Kelor sendiri telah digunakan dalam pengobatan tradisional untuk antihipertensi, antioksidan, antimikroba, antibakteri antispasmodik, antijamur, antiinflamasi, menurunkan kolesterol, dan meningkatkan kekebalan tubuh (Berawi et al., 2019).

Penelitian yang dilakukan oleh (Dima, dkk. 2016) diketahui bahwa kelor memiliki sifat sebagai antibakteri, dimana diperoleh hasil bahwa Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) memiliki aktivitas antibakteri mulai dari sedang sampai kuat terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi terbesar yaitu konsentrasi 80%. Kelor mengandung senyawa senyawa metabolit sekunder seperti tanin, saponin, flavonoid dan terpenoid (Berawi et al., 2019). Dimana menurut (Muaja, dkk.2013) bahwa fenolik, flavonoid dan tanin pada kadar tertentu memiliki potensi toksisitas dan dapat menyebabkan kematian larva. Mekanisme kematian larva berhubungan dengan fungsi senyawa fenolik, flavonoid dan tanin yang dapat menghambat daya makan larva (antifedant). Kemampuan bioaktivitas dari metabolit sekunder dapat ditentukan menggunakan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). BSLT merupakan metode yang digunakan dalam mengetahui kemampuan toksik terhadap sel dari suatu senyawa yang dihasilkan oleh ekstrak tanaman menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach (Kanwar,2007). Berdasarkan latar belakang diatas, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa dan bioaktivitas fraksi metanol *M.oleifera* menggunakan GC-MS dan BSLT

METODE PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan yaitu seperangkat alat gelas, corong *Buchner*, pompa vakum, *rotary evaporator*, dan *Gas Chromatography-Mass Spectroscopy* (GC-MS).

Bahan

Bahan yang digunakan yaitu, metanol teknis, n-heksa, etil asetat, aseton, reagen wagner, FeCl_3 1%, *Lieberman-Buchart*, *Dragendroff*, telur udang *Artemia salina* Leach

Prosedur Kerja

a. Ekstraksi

Sampel *M. oleifera* yang telah di haluskan ditimbang sebanyak 3 kg. kemudian dimaserasi dengan metanol selama 3 x 24 jam. Hasil dari maserasi kemudian di saring menggunakan coreng buchner dan di evaporator sehingga dihasilkan ekstrak kental.

b. Uji Fitokimia

Ekstrak kental yang dihasilkan kemudian di uji fitokimia untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam ekstrak menggunakan beberapa reagen antara lain reagen Wagner untuk mengetahui kandungan senyawa flavonoid, Dragendorf untuk mengetahui kandungan senyawa alkaloid, Liebermann-Burchard untuk mengetahui kadungan senyawa steroid/terpenoid dan FeCl_3 1% untuk mengetahui senyawa alkaloid

c. Fraksinasi

Ekstrak kental yang dihasilkan di fraksinasi menggunakan KKC. Sebelum itu dilakukan KLT untuk mengetahui perbandingan eluen yang baik. Setelah itu, dilakukan kromatografi kolom cair vakum dengan menggunakan perbandingan eluen yang kepolarannya ditingkatkan secara bergradien. Hasil yang didapatkan yaitu sebanyak 21 fraksi. Selanjutnya dilakukan KLT, dimana fraksi yang memiliki profil noda yang sama digabungkan dan menghasilkan 8 fraksi utama. Kemudian Fraksi 2 dilakukan uji GC-MS dan uji toksitas.

d. Uji Toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

1 mg sampel fraksi 2 dalam tabung Ependorf dilakukan dengan DMSO sebanyak 100 μL kemudian diencerkan dengan akuabides. Pengenceran tersebut diambil 200 μL diencerkan kembali dengan konsentrasi 600 μL akuabides sehingga konsentrasi sampel menjadi 1000 $\mu\text{L}/\text{mL}$.

Selanjutnya pengenceran dilakukan dalam mikroplate dengan konsentrasi yang bervariasi dan volume sampel tiap lubang 100 μL , secara triplo. Benur udang yang berumur 24 jam dipipet sebanyak 100 μL dengan jumlah benur 7-15 ekor, dimasukkan dalam mikroplate yang berisi sampel kemudian diinkubasi. Untuk control perlakuan sama tanpa menggunakan sampel. Selanjutnya dihitung udang yang mati dan yang hidup serta ditentukan LC_{50} -nya menggunakan rumus:

$$\% \text{ kematian} = \frac{\sum \text{Jumlah larva yang mati}}{\sum \text{larva awal}} \times 100\%$$

Menurut mayer (1982) ekstrak yang mempunyai nilai $\text{LC}_{50} \leq 1000 \mu\text{g}/\text{mL}$ termasuk dalam kategori aktif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa yang terdapat pada fraksi hasil KKC *M.oleifera*. Sampel yang telah menjadi serbuk dimaserasi menggunakan metanol selama 3x24 jam. Setelah itu dilakukan penyaringan untuk memisahkan maserat dari residunya. Maserat yang dihasilkan di evaporasi sehingga diperoleh ekstrak kental *M. oleifera*. Ekstrak kental yang dihasilkan di KLT terlebih dahulu untuk mengetahui eluen yang baik yang di tandai dengan pemisahan noda yang

baik, kemudian di lakukan fraksinasi dengan kromatografi kolom cair vakum menggunakan eluen dengan berbagai perbandingan yang konsentrasinya telah ditingkatkan secara bergradien yang selanjutnya dilakukan penggabungan fraksi. Berdasarkan hasil dari KLT yang memiliki profil noda yang sama dan dihasilkan 8 fraksi gabungan. fraksi 2 kemudian dilanjutkan dengan analisis GC-MS untuk mengetahui kandungan senyawa yang terdapat didalamnya dan uji BSLT menggunakan *Artemia Salina*.

Uji Kandungan Senyawa Kimia

Uji fitokimia merupakan pengujian yang dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa kimia yang terdapat pada fraksi metanol *M.oleifera*. Menurut Harbone (1987) dengan pereaksi Wagner, jika terbentuk endapan coklat menunjukkan bahwa ekstrak mengandung alkaloid, dengan pereaksi Dragendroff jika terbentuk warna jingga menunjukkan adanya senyawa alkaloid, dengan pereaksi Lieberman-Burchard membentuk warna merah hingga ungu jika positif terpenoid dan warna biru atau hijau jika positif steroid . Dan dengan pereaksi FeCl_3 1%, positif fenolik/flavonoid jika terbentuk warna hijau kehitaman atau biru kehitaman. Berdasarkan hasil, diketahui bahwa ekstrak metanol batang kelor positif mengandung senyawa flavonoid, alkaloid dan negatif mengandung senyawa steroid. Adapun hasilnya dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji fitokimia Ekstrak metanol batang kelor

Pereaksi	Hasil	keterangan
FeCl_3 1%	Hijau	+ Flavonoid
Wagner	Endapan merah	+ Alkaloid
Lieberman-Burchard	Coklat	- Steroid
Dragendroff	Orange	+ Alkaloid

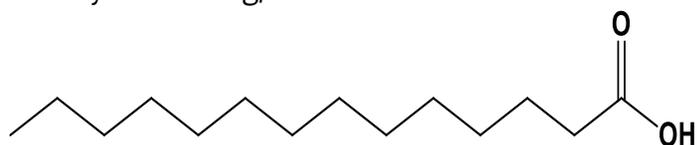
Analisis GC-MS

GC-MS (Gas Chromatography-Mass Spectrometry) merupakan salah satu teknik analisis yang paling umum yang digunakan untuk menganalisis senyawa organik yang mudah menguap. Analisis GC-MS dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa yang terdapat pada fraksi. dimana hasil yang didapatkan terdapat pada Tabel 2

Tabel 2. Hasil analisis GC-MS Fraksi KKC

No	Waktu Retensi (detik)	Luas Area (%)	Nama Komponen	Similariti Index
1	13.349	0.39	2,4-bis (1,1-dimethylethyl)	97
2	14.138	0.26	5-Oktadecene	91
			1-Octadecanol ; Stenol	91
3	15.733	0.40	Tetradecanoic acid ; Myristic acid	99
4	16.039	0.36	1-Octadecene	99
5	16.622	0.89	Pentadecanoid acid	99
6	17.190	0.36	Hexadecanoid acid ; methyl ester	99
7	17.328	0.95	Cis-9-Hexadecanoid acid	99
			z-11-Hexadecanoid acid	93
8	17.542	36.10	n-Hexadecanoid	99
			Hexadecanoid acid ; palmitid acid	99
9	17.744	0.43	Cycloeicosane	99
			Carbonic acid	94
10	18.285	0.78	Octadecanoic acid ; stearic acid	98
11	18.944	32.711	6-octadecanoid acid	99
			9-octadecanoid acid (Z)-	99
			Cis-vaccenic acid	99
12	19.082	5.38	Octadecanoid acid	98
13	19.296	0.64	1-Docosone	99
			Carbonic acid	94
			Nonadecyl trifluoroacetate	87
14	20.772	0.28	Cyclotetracosane	99
			1-Nonadecene	98
15	21.387	0.26	Behenic alcohol	93
			1-Docosanol	93
			n-Tetracosanol	93
16	21.810	1.30	Di-n-octyl phthalate	92
			Di-(2-ethylhexyl)phthalate	90
			1,2-Benzenedicarboxylic acid	87
17	22.041	0.28	Cis-9-Tricosane	99
			1-Tetracosanol	90
18	22.685	0.54	n-Tetracosanol-1	93
			1-Heptacosanol	93
19	24.147	0.38	Mediaglycol	91
20	30.020	4.19	(24R)-4-Ergosten-3-one	81
21	32.256	8.18	Stigmast-4-en ₃ -one	92

Berdasarkan hasil analisis GC-MS, terlihat bahwa fraksi metanol *M. oleifera* terdiri dari asam lemak seperti asam palmitat, asam miristat dan asam stearat. Berdasarkan data yang diperoleh, Senyawa utama yang terdapat pada fraksi 2 yaitu Hexadecanoid acid dan 6-octadecanoid acid. Menurut Panggua (2015) senyawa Hexadecanoid acid memiliki tingkat toksisitas yang kuat yang menandakan bahwa senyawa tersebut memiliki bioaktivitas yang sangat tinggi dimana dihasilkan nilai LC_{50} terhadap *Artemia salina* yaitu 100 mg/mL.



Gambar 1. Struktur Hexadecanoid acid

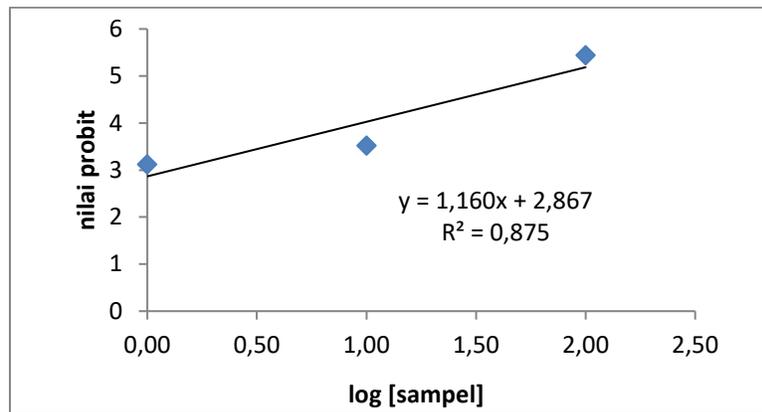
Uji Toksisitas dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) merupakan suatu metode yang dilakukan unruk memeriksa aktivitas sitotoksik ekstrak tumbuhan dengan menggunakan Benur udang. Setelah 24 jam perlakuan, benur yang mati dan hidup di hitung dan ditentukan presentasi kematian dengan menghitung nilai LC_{50} (Emran, dkk. 2011). Hasil uji toksisitas terhadap larva udang terhadap ekstrak metanol batang *M. oleifera* Lamk. dapat dilihat dalam Tabel berikut ini.

Tabel 3. Hasil Uji Larva Udang (*Artemia Salina* Leach) terhadap fraksi metanol batang kelor (*M. oleifera* Lamk.)

Kode sampel	[sampel] (ppm)	Sumbu x (log [sampel])	% kematian larva – kontrol	Sumbu y (nilai probit)
Sampel	1	0.00	3	3.12
	10	1.00	7	3.52
	100	2.00	67	5.44

Hasil grafik hubungan antara probit dengan log konsentrasi terhadap ekstrak metanol batang kelor dapat dilihat pada gambar di bawah ini



Gambar 2. Hubungan Antara Probit Dengan Log Konsentrasi Terhadap Ekstrak Metanol Batang Kelor

Dari grafik diatas diperoleh persamaan regresi $y = 1.160x + 2.867$. Sehingga nilai LC_{50} dihitung berdasarkan persamaan tersebut, maka:

$$(y - 2.867)/1.160 = x$$

$$(5 - 2.733)/1.160 = 1.9543$$

$$\text{Jadi log } x = 1.9543$$

$$x = \text{antilog } 1.9543$$

$$x = 90.012 \text{ ppm}$$

Jadi LC_{50} fraksi metanol *M.oleifera* terhadap larva *Artemia salina* Leach adalah 90.012 ppm. Menurut Anderson, dkk., (1990) ekstrak atau senyawa yang tergolong aktif (toksik) terbagi menjadi dua kategori, yaitu toksisitas tinggi dengan nilai $LC_{50} < 100 \mu\text{g/mL}$ dan toksisitas rendah dengan nilai $LC_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil analisis GC-MS, diperoleh kandungan utama Fraksi metanol adalah Hexadecanoid acid dan 6-octadecanoid acid dan hasil uji toksisitas LC_{50} diperoleh nilai sebesar 90.012 ppm yang menunjukkan bahwa fraksi bersifat toksik.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson, J.E., Goetz, C.M. and Mc Laughlin, J. L. 1990. A Blind Comparison of Simple Bench-top Bioassay and Human Tumor Cell Cytotoxicities as Antitumor Prescreen. *Phytochemical analysis*. 6. 107-111.
- Berawi, K. N., Wahyudo, R., & Pratama, A. A. (2019). Potensi Terapi Moringa oleifera (Kelor) pada Penyakit Degeneratif Therapeutic Potentials of Moringa oleifera (Kelor) in Degenerative Disease. *Jurnal Kedokteran Universitas Lampung*, 3, 210–214.
- Dima, Lusi., Fatmawati., dan Widya Astuty Lolo. (2016). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) terhadap Bakteri *eschericha coli* dan *Istaphylococcus aureus*. *PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi*. ISSN 2302 – 2493

- Emran, Abdullah-Al., S.M Shahed. , Farzana Ahmed., Sajal Kumar Saha., Sreedam Chandra Das dan Sitesh Chandra Bachar. (2011) Evaluation of Brine shrimp lethality and Antimicrobial activity of Azadirachta indica leaf extract on some drug resistance bacteria in Bangladesh. *Pharmacognosy Journal*. Vol 3 Issue 20
- Harborne, J. B., 1987, *Metode Fitokimia*, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, Penerjemah: K. Padmawinata dan I. Soediro, terbitan ke-2, Penerbit ITB, Bandung.
- Julianto, Tatang Sabur. (2019) *FITOKIMIA Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia*. Yogyakarta: Universitas Islam Indonesia
- Kanwar, AS. 2007. Brine Shrimp (*Artemia Salina*) a Merine Animal for Simple and Rapid Biological Assays. *Chinese Clinical Medicine* Vol.2, No.4.
- Meyer, B.N., Ferrigny, N.R., Putnam, J.E., Jacobbsen, L.8., Nicols, D.E., Mc Laughlin, J.L. 1982. Brine Shrimp, A. Covenient General Bioassay for Active Plant Contituent. *Medical Plant Research* .45. 31-34.
- Muaja, A. D., Koleangan, H. S. J., & Runtuwene, M. R. J. (2013). Uji Toksisitas dengan Metode BSLT dan Analisis Kandungan Fitokimia Ekstrak Daun Soyogik (*Saurauia bracteosa* DC) dengan Metode Soxhletasi. *Jurnal MIPA*, 2(2),
- Panggua, D.M., Johannes, E., Natsir, H., Litaay, M. 2015. Bioactivity and Antioxidant Test of Hexadecanoic Acid and β -Sitosterol Isolated from Hydroid *Aglaophenia Cupressina* Lamoureux. *International Journal of Engineering and Science Applications*. 2 (2).
- Purba, E. C. (2020). KELOR (*Moringa oleifera* Lam.): Pemanfaatan dan Bioaktivitas. *Pro-Life*, 7(1), 1–12.