

## BAB 6

### PEMBAHASAN

Simplisia daun dan bunga kembang sepatu diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan menggunakan alkohol 96 %. Metode maserasi merupakan cara ekstraksi yang mudah dikerjakan dan dalam tahapannya tidak diperlukan pemanasan sehingga menghindari terjadinya kerusakan dari zat aktif yang dikandung dalam simplisia (Goeswin, 2007 dalam Reskianingsih, 2014) . Proses maserasi dilakukan dengan cara merendam simplisia dalam etanol 96 % selama 3 hari disertai dengan pengadukan. Kemudian disaring untuk memisahkan ampas dan filtratnya. Filtrat yang didapatkan selanjutnya dievaporasi dengan *vacum rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental yang akan digunakan untuk uji skrining fitokimia dan uji toksisitas akut menggunakan metode BSLT (*Brine shrimp lethality test*).

Skrining fitokimia dilakukan menggunakan metode kualitatif dengan melihat perubahan warna yang terbentuk pada ekstrak bunga dan daun kembang sepatu setelah penambahan reagen pemeriksaan. Pemeriksaan flavonoid dengan penambahan reagen NaOH 10% terbentuk warna merah bata (+) pada ekstrak bunga kembang sepatu dan pada ekstrak daun kembang sepatu terbentuk warna coklat (+). Pemeriksaan saponin dengan penambahan reagen HCl 2N menghasilkan buih yang konsisten pada ekstrak bunga dan daun kembang sepatu (+). Pemeriksaan tanin dengan penambahan reagen FeCl<sub>3</sub> 1% terbentuk warna hijau kehitaman pada ekstrak bunga dan daun kembang sepatu (+). Dan pada pemeriksaan alkaloid dengan penambahan pereaksi mayer tidak menghasilkan endapan putih pada ekstrak bunga dan daun kembang sepatu (-).

Penelitian terkait uji toksisitas akut dari ekstrak bunga dan daun kembang sepatu dilakukan menggunakan metode BSLT. Uji BSLT merupakan salah satu metode untuk menentukan toksisitas suatu senyawa. Metode ini menggunakan larva *Artemia salina* sebagai hewan coba dikarenakan memiliki membran kulit yang tipis sehingga kematian larva akibat efek sitotoksik dari senyawa bioaktif dapat dianalogikan dengan kematian sebuah sel dalam organisme. Uji toksisitas terhadap larva *Artemia salina* Leach dapat digunakan sebagai uji pendahuluan dalam penelitian yang mengarah pada uji sitotoksik (Meyer, et al., 1982 dalam Millati, 2016). Larva *Artemia salina* yang digunakan dalam penelitian ini berumur 48 jam dikarenakan sudah mempunyai mulut dan saluran pencernaan yang telah terbentuk sempurna. Sehingga ekstrak yang ada di lingkungan larva masuk ke dalam tubuh larva dan mengalami kematian (Reskianingsih, 2014).

Ekstrak dari bunga dan daun kembang sepatu yang diperoleh dari hasil maserasi selanjutnya dibuat larutan konsentrasi. Larutan pertama yang dibuat yaitu larutan induk 20.000 ppm sebanyak 100 mL, kemudian larutan induk yang telah dibuat diencerkan menjadi 6 seri konsentrasi, yaitu konsentrasi 500 ppm, 250 ppm, 125 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 12,5 ppm. Konsentrasi ini yang digunakan sebagai uji toksisitas akut terhadap larva *Artemia salina* dan disertai kontrol negatif yang hanya berisi air laut dan larva *Artemia salina* tanpa penambahan ekstrak. Sehingga dapat dipastikan bahwa kematian larva berdasarkan pengaruh ekstrak yang ditambahkan. Penelitian ini dilakukan dengan 3 kali replikasi untuk memperoleh keakuratan data dan mengurangi kesalahan dalam penelitian.

Sebelum melakukan pengujian terlebih dahulu melakukan penetasan telur *Artemia salina* dengan menggunakan air laut. Penetasan telur *Artemia salina*

dilakukan pada wadah berbentuk kotak yang terbagi menjadi 2 bagian, yaitu bagian terang dan bagian gelap. Kedua bagian ini dipisahkan oleh sekat dan diberi lubang sedikit. Pada bagian gelap dimasukkan telur *Artemia salina*, dan pada bagian terang diberi penerangan dengan cahaya lampu. Selama proses penetasan, larva akan berpindah ke daerah yang terang melalui sekat yang berlubang karena larva *artemia* bersifat fototaksis. Larva yang telah berumur 48 jam dimasukkan kedalam mikroplate masing-masing 10 ekor larva dalam 1 mL air laut dan ditambahkan 1 mL konsentrasi dari masing-masing ekstrak bunga maupun daun kembang sepatu kemudian didiamkan selama 24 jam. Setelah 24 jam pasca penambahan ekstrak kemudian dilakukan pengamatan kematian larva *Artemia salina* dan dihitung persentase kematian larvanya.

Penelitian uji toksisitas akut ekstrak daun kembang sepatu menunjukkan bahwa konsentrasi tertinggi yang mematikan larva *Artemia salina* yaitu pada konsentrasi 500 ppm dengan rata-rata kematian larva dalam 3 kali replikasi yaitu 9 larva dengan persentase kematian larva sebesar 90 % dan konsentrasi terendah yang mematikan larva *Artemia salina* pada konsentrasi 12,5 ppm dengan rata – rata kematian larva dalam 3 kali replikasi yaitu 1,3 larva dengan persentase kematian 13 %. Sedangkan hasil uji toksisitas akut dari ekstrak bunga kembang sepatu menunjukkan bahwa konsentrasi tertinggi yang mematikan larva *Artemia salina* yaitu pada konsentrasi 500 ppm dengan rata-rata kematian larva dalam 3 kali replikasi yaitu 8,7 larva dengan persentase kematian sebesar 87 %. Dan konsentrasi terendah yang mematikan larva *Artemia salina* yaitu pada konsentrasi 12,5 ppm dengan rata – rata kematian larva dalam 3 kali replikasi yaitu 1 larva dengan persentase kematian 10 %. Tabel rata-rata kematian larva dengan konsentrasi 500

ppm dapat dilihat pada tabel 5.2 dan rata-rata kematian larva pada konsentrasi 12,5 ppm dapat dilihat pada tabel 5.7. Peningkatan kematian larva *Artemia salina* selaras dengan peningkatan konsentrasi dari ekstrak bunga dan daun kembang sepatu.

Dalam hal ini menunjukkan bahwa besarnya konsentrasi ekstrak mempengaruhi tingkat kematian larva. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan semakin tinggi pula tingkat kematiannya. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Ajrina (2013) bahwa semakin tinggi konsentrasi zat yang diberikan, semakin besar pula jumlah larva *Artemia salina* yang mati. Juhaeri (2013) dalam penelitiannya menyebutkan ada pengaruh terkait berbagai konsentrasi ekstrak terhadap kematian larva *Artemia salina*.

Berdasarkan analisa data yang diperoleh dalam penelitian ini diketahui nilai  $LC_{50}$  yang didapatkan pada ekstrak daun kembang sepatu yaitu 87,8998 ppm dan nilai  $LC_{50}$  pada ekstrak bunga kembang sepatu didapatkan hasil 112,5841 ppm, sehingga dapat dikatakan bahwa ekstrak bersifat toksik karena nilai  $LC_{50} < 1000$  ppm. Menurut Fatimatuzzahra (2013) bahwa suatu ekstrak dikatakan bersifat toksik jika nilai  $LC_{50} < 1000$  ppm. Hal ini tercantum dalam tabel 2.1 terkait kategori toksisitas menurut nilai  $LC_{50}$ . Dalam penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Tulangow, dkk (2016) terkait uji toksisitas dengan metode BSLT ekstrak etanol bunga ubu-ubu (bunga sepatu) dari Maluku Utara didapatkan nilai  $LC_{50}$  pada bunga ubu-ubu akehuda sebesar 76,913 dan bunga ubu-ubu wayafli dengan nilai  $LC_{50}$  sebesar 71,779 ppm. Hasil dari penelitian tersebut memiliki perbedaan dengan hasil yang didapatkan pada penelitian ini. Pada penelitian tersebut menggunakan ekstraksi dengan metode ultrasonikasi. Gelombang dari ultrasonikasi yang digunakan dalam metode ekstraksi tersebut dapat menggetarkan sampel sehingga

senyawa kimia yang terdapat dalam bunga ubu-ubu wayafli dan bunga ubu-ubu akehuda akan keluar dan larut dalam pelarut yang digunakan, yang bertujuan untuk memperbesar kelarutan senyawa kimia kedalam pelarut. Sehingga ekstrak yang dihasilkan mengandung lebih banyak senyawa aktif. Sedangkan dalam penelitian ini ekstraksi yang dilakukan menggunakan metode maserasi. Metode maserasi dilakukan dengan cara merendam simplisia dalam cairan penyari selama beberapa hari dalam suhu ruang dan tidak terkena sinar matahari, sambil sesekali dilakukan pengadukan. Metode ini digunakan untuk menarik kandungan kimia yang mudah larut dalam zat cair.

Dari perhitungan  $LC_{50}$  diketahui bahwa ekstrak daun dan bunga kembang sepatu mempunyai potensi toksisitas akut. Hasil tersebut menunjukkan bahwa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak bunga dan daun kembang sepatu terbukti signifikan mempengaruhi tingkat perkembangbiakan larva *Artemia salina*. Senyawa yang terkandung dalam ekstrak bunga dan daun kembang sepatu yaitu flavonoid, saponin dan tanin.

Menurut Wardani, dkk (2010) dalam Febriyani (2020) peran flavonoid dalam kematian larva yaitu dengan menjadi inhibitor pernafasan. Senyawa flavonoid ini akan masuk melalui sistem pernafasan dan mengganggu sistem pernafasan sehingga saraf menjadi kelayuan. Flavonoid kemudian akan merusak pernafasan sehingga larva tidak dapat bernafas dan menyebabkan kematian pada larva *Artemia salina*.

Senyawa lain yang berperan dalam kematian larva *Artemia salina* yaitu tanin dan saponin. Senyawa tanin ini berperan sebagai pengganggu sistem pencernaan melalui penghambatan sistem enzim pencernaan, hal ini yang

mempengaruhi kemampuan larva dalam mencerna makanan (Koneri, 2016 dalam Febriyani, 2020). Senyawa toksik yang terdapat pada ekstrak dapat masuk melalui bagian mulut *Artemia salina* dan diabsorpsi kedalam saluran pencernaan terjadi proses absorpsi melalui membrane sel. Selanjutnya setelah proses absorpsi dilanjutkan dengan proses distribusi senyawa toksik kedalam tubuh *Artemia salina*, sehingga terjadi kerusakan reaksi metabolisme. Perubahan gradient konsentrasi yang drastis antara di dalam dengan diluar sel yang menyebabkan senyawa toksik mampu menyebar dengan baik ke tubuh artemia. Efek kerusakan metabolisme terjadi secara cepat sehingga menyebabkan kematian *Artemia salina* (Jelita, dkk, 2020).

Senyawa saponin dalam ekstrak bunga dan daun kembang sepatu juga berperan dalam kematian larva *Artemia salina*. Kerja senyawa metabolit sekunder Saponin adalah dengan cara mengikat oksigen dalam air, hal ini disebabkan saponin mengandung glikosida dalam tanaman yang sifatnya menyerupai sabun dan larut dalam air dan dapat mengikat oksigen yang terlarut dalam air sehingga kadar oksigen di dalam air menurun dan dapat mematikan larva *Artemia salina* karena kekurangan oksigen (Rolliana 2010).

Penelitian ini memiliki keterbatasan dalam pelaksanaannya. Keterbatasan dalam penelitian ini yaitu tidak dilakukan penimbangan terhadap sampel segar bunga dan daun kembang sepatu serta tidak dilakukan penimbangan terhadap ekstrak kental yang diperoleh setelah proses ekstraksi, sehingga tidak dapat diketahui besar daun segar dan bunga segar yang dibutuhkan dalam menimbulkan efek toksik pada konsentrasi tertentu.