

ANALISIS FITOKIMIA DAN UJI TOKSISITAS EKSTRAK DAUN NIPAH (*Nypa fruticans*) DENGAN METODE BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BSLT)

*Phytochemical Analysis and Toxicity Test of Nipah Leaf Extracts (*Nypa fruticans*) by Brine Shrimp Lethality Test (Bslt) Methods*

Anggi Ayuni¹⁾, Azwin Apriandi^{1*)}, R. Marwita Sari Putri¹⁾

¹⁾Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Maritim Raja Ali Haji, Tanjungpinang, 29115, Indonesia

*korespondensi: azwinapriandi@gmail.com

ABSTRACT

*Nipah leaves are widely used as raw materials for processed foods, handicrafts, and traditional medicine for diseases such as heatiness and stomach pain. This study aims to determine the level of toxicity and the amount of active ingredient content in nipah (*Nypa fruticans*) leaves. The active compounds were identified by phytochemical testing, and the findings were verified by KLT testing. *A. salina* Leach larvae were used to evaluate the extract for toxicity. To obtain LC₅₀ values, *A. salina* Leach mortality data were analyzed using Microsoft Excel probit. The results of the phytochemical study showed that the active ingredients alkaloids, flavonoids, triterpenoids, saponins, and tannins were present in the nipah leaf extract in methanol solvent. Chlorophomous components in nipah (*Nypa fruticans*) leaf extract include flavonoids and triterpenoids. KLT using the best eluent on AA2 with 15 dpot to confirm the results. The LC₅₀ value of nipah (*Nypa fruticans*) leaf extract in methanol solvent was 100.34 ppm, in accordance with the toxicity test results. In contrast, 481.87 ppm was the LC₅₀ value of nipah (*Nypa fruticans*) leaf extract in chloroform solvent.*

Keywords: *Nypa fruticans*, phytochemical analysis, thin layer chromatography, toxicity

ABSTRAK

Daun nipah banyak digunakan sebagai bahan baku makanan olahan, kerajinan tangan, dan obat tradisional untuk penyakit seperti panas dalam dan sakit perut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat toksisitas dan jumlah kandungan bahan aktif pada daun nipah (*Nypa fruticans*). Senyawa aktif diidentifikasi dengan pengujian fitokimia, dan temuan diverifikasi dengan pengujian KLT. Larva *A. salina* Leach digunakan untuk mengevaluasi ekstrak untuk toksisitas. Untuk mendapatkan nilai LC₅₀, data mortalitas *A. salina* Leach dianalisis menggunakan probit Microsoft Excel. Hasil penelitian fitokimia menunjukkan bahwa bahan aktif alkaloid, flavonoid, triterpenoid, saponin, dan tanin terdapat pada ekstrak daun nipah dalam pelarut metanol. Komponen klorofom pada ekstrak daun nipah (*Nypa fruticans*) antara lain flavonoid dan triterpenoid. KLT menggunakan eluen terbaik pada AA2 dengan 15 dpot untuk mengkonfirmasi hasil. Nilai LC₅₀ ekstrak daun nipah (*Nypa fruticans*) dalam pelarut metanol adalah 100,34 ppm, sesuai dengan hasil uji toksisitas. Sebaliknya, 481,87 ppm adalah nilai LC₅₀ ekstrak daun nipah (*Nypa fruticans*) dalam pelarut kloroform.

Kata kunci: *Nypa fruticans*, Analisis fitokimia, kromatografi lapis tipis, toksisitas

PENDAHULUAN

Provinsi Kepulauan Riau memiliki luas wilayah 251.810,71 km² dimana 241.2153 km² merupakan wilayah laut. Potensi kelautan dan perikanan di Provinsi Riau relatif

tinggi, karena sekitar 96% dari luas wilayah Kepulauan Riau adalah lautan. Hutan mangrove yang melimpah di lingkungan alam Kepulauan Riau sangat beragam, salah satunya jenis tanaman bakau yang dapat ditemukan di daerah pesisir yaitu tumbuhan

nipah (*Nypa fruticans*) yang sering kali dimanfaatkan oleh masyarakat diantaranya sebagai pembuatan atap, sapu lidi, kayu bakar, serta berbagai produk pangan seperti sari gula, tepung, dan makanan olahan lainnya.

Tanaman bakau nipah (*Nypa fruticans*) adalah tanaman yang ditemukan di hutan mangrove di beberapa wilayah Indonesia seperti Sumatera, Kalimantan, Sulawesi, Maluku dan Papua (Imra et al., 2016). Tanaman ini dikenal dengan batang yang besar dan daun yang besar pula. Daun nipah (*Nypa fruticans*) digunakan oleh masyarakat di sekitar pesisir Aceh sebagai obat alami untuk mengobati sariawan dan sakit gigi (Mangrove Information Centre, 2009). Para ilmuwan juga telah menemukan bahwa ekstrak daun Nipah memiliki sifat antibakteri yang kuat terhadap beberapa mikroorganisme, termasuk *Escherichia coli* dan *Bacillus cereus* pada konsentrasi tertentu, hal ini menunjukkan bahwa daun nipah memiliki potensi sebagai sumber antibakteri alami yang dapat digunakan dalam pengobatan (Lestari et al. 2016).

Daun Nipah (*Nypa fruticans*) yang digunakan sebagai obat sebagai obat alami adalah daun nipah (*Nypa fruticans*) yang sudah tua. Namun, perlu dilakukan lebih banyak penelitian pada daun nipah untuk mengetahui tingkat toksisitasnya, juga untuk mengetahui seberapa efektif daun nipah dalam pengobatan dan bagaimana cara pemanfaatannya yang paling baik. Penelitian lebih lanjut diperlukan karena belum diketahui seberapa berbahaya berbagai spesies tanaman yang berbeda. Oleh karena itu, penelitian lebih lanjut harus dilakukan pada hewan laboratorium untuk memastikan tidak ada konsekuensi negatif. Setyowati dan Cahyanto (2016), menyatakan pengujian toksikologi diperlukan untuk menilai keamanan zat-zat yang ditemukan dalam makanan, suplemen, dan obat-obatan. Uji kematian udang air asin, atau BSLT, adalah salah satu metode untuk menilai aksi toksikologi dari zat atau ekstrak alami.

Pada penelitian ini, bahan kimia bioaktif dari daun nipah (*Nypa fruticans*) dipisahkan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT), dan uji toksisitas dilakukan untuk mengetahui sejauh mana daun nipah (*Nypa fruticans*) dapat membunuh larva *Artemia salina* Leach.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada tahun 2023 antara bulan Maret dan Juni. Pengambilan bahan baku daun nipah (*Nypa fruticans*) berlokasi di Kampung Bugis, Kota Tanjungpinang, Kepulauan Riau. Sementara itu, untuk analisis laboratorium dilakukan di *laboratorium Marine Biology* dan *Marine Chemistry* Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Maritim Raja Ali Haji (UMRAH).

Bahan dan Alat

Bahan utama untuk penelitian ini adalah daun nipah (*Nypa fruticans*). Asam sulfat dua N (*H₂SO₄ Merck Pro Analisis 2,5 Liter*) diperlukan untuk pengujian bioaktif, reagen Wagner, reagen Meyer, reagen Dragendorff (*Nitra Kimia*) (uji alkaloid), kloroform (*cloroform 50 ml CHCl₃ pro analisa merck*), anhidrat asetat (*Catalogue*), asam sulfat pekat (uji steroid), serbuk magnesium (*EMSURE, Magnesium perchlorate hydrate, [about 83% Mg(clo₄)₂*), amil alkohol (*Catalogue*), alkohol (uji flavonoid), air panas, larutan HCl 2 N (uji saponin), larutan FeCl₃ (uji tanin). Ekstrak daun Nipah (*Nypa fruticans*), metanol dan kloroform digunakan untuk membedakan komponen-komponen ekstrak dengan kromatografi lapis tipis (KLT). Bahan untuk uji brine shrimp lethality test (BSLT) adalah ekstrak daun Nipah (*Nypa fruticans*), telur *A. salina* Leach (*Supreme plus*), air laut dan ragi roti (*mauri-pan*).

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari blender (*Philips*), oven (*seka*), ember, timbangan analitik (*OHAUS Pioneer PA214C*), hot plate (*BioSan Magnetic Stirrer MSH-300*), kaca arloji, batang pengaduk, penjepit, plat silika GF₂₅₄ (*TLC Silica gel 60 F₂₅₄, 25 aluminium sheets 20x20 cm*), lampu, wadah penetasan, botol, aerator, dan tabung kapiler, ayakan, kertas saring (*Whatman 1001-150*), pipet tetes, cutter, aluminium foil (*Klinpak Aluminium Foil 7,6cm x 45m*), mikropipet (*Micropipette H 5 - 50 UL*), tabung reaksi, rak tabung, corong, labu *Erlenmeyer* (*Iwaki*) dan *beaker glass* (*Iwaki*).

Pengambilan Sampel dan Karakterisasi

Sampel yang digunakan pada penelitian adalah daun nipah (*Nypa fruticans*) yang berasal dari Kampung Bugis, Kota

Tanjungpinang, Kepulauan Riau. Karakteristik daun nipah (*Nypa fruticans*) terdiri dari morfologi dan rendemen.

Daun dapat diamati secara morfologi untuk mengetahui ukuran, warna, dan bentuknya. Panjang dan lebar rata-rata dari tiga puluh daun nipah (*Nypa fruticans*) diukur setelah sampel diperoleh. Angka rendemen yang tinggi berarti lebih banyak hasil pemisahan dibandingkan dengan bagian sampel yang tidak terpakai yang digunakan sebagai sampel. Rendemen daun nipah (*Nypa fruticans*) dapat dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Rendemen(\%)} = \frac{\text{Berat yang digunakan (g)}}{\text{Berat utuh (g)}} \times 100\%$$

Ekstraksi Daun Nipah (*Nypa fruticans*)

Ekstraksi bahan aktif dilakukan menurut prosedur Quinn (1988). Ekstraksi yang digunakan adalah ekstraksi tunggal dengan pelarut metanol dan klorofom. Sampel daun nipah (*Nypa fruticans*) sebanyak 25 g dimaserasi dengan pelarut metanol dan klorofom dilarutkan sebanyak 100 mL (1:4) (b/v), kemudian dihomogenkan selama 48 jam (2 hari). Setelah maserasi kedua sampel, residu dan filtrat diperoleh dengan menyaringnya. Selanjutnya, filtrat diuapkan untuk mendapatkan ekstrak kasar. Hasil ekstraksi dikonfirmasi dengan mengevaporasi filtrat dalam oven pada suhu 50°C sampai berbentuk pasta. Kemudian ekstrak yang dihasilkan dihitung nilai rendemennya. Nilai rendemen yang tinggi menunjukkan bahwa jumlah ekstrak yang dihasilkan lebih besar dibandingkan dengan simplisia awal yang digunakan. Rendemen dinyatakan dalam satuan persen (%) (Wijaya et al., 2018). Ekstrak daun nipah dihitung rendemennya dengan rumus :

$$\text{Rendemen(\%)} = \frac{\text{Berat yang diperoleh (g)}}{\text{Berat sebelum diekstrak (g)}} \times 100\%$$

Uji Fitokimia Ekstrak Daun Nipah (*Nypa fruticans*) (Harbone, 1987)

a. Uji Alkaloid

Dalam tes ini, sampel 0,05 g dilarutkan dalam beberapa tetes asam sulfat 2N dan diperiksa menggunakan reagen *Wagner*, *Meyer*, dan *Dragendorff*. Jika terbentuk endapan merah hingga oranye sebagai hasil dari penggunaan reagen *Dragendorff*, maka

dianggap positif. Endapan yang berwarna putih kekuningan menunjukkan bahwa pereaksi *Meyer* positif. Jika endapan berwarna coklat terbentuk sebagai hasil dari pereaksi *Wagner*, reaksi berhasil.

b. Uji Flavonoid

Campuran dikocok setelah menambahkan 0,05 g sampel, 0,1 mg bubuk magnesium, 0,4 mL amil alkohol (4 mL alkohol, larutan asam klorida 37% dan etanol 95% dengan perbandingan yang sama). Flavonoid hadir ketika lapisan amil alkohol menghasilkan warna merah, kuning, atau oranye.

c. Uji Triterpenoid/Steroid

0,05 g dilarutkan dalam 2 mL kloroform, dan 10 tetes asam asetat anhidrat dan 3 tetes asam sulfat murni ditambahkan. Steroid/triterpenoid hadir ketika larutan merah pada awalnya terbentuk, kemudian berubah menjadi biru dan kemudian hijau.

d. Uji Tanin

Penentuan tanin dilakukan dengan mereaksikan 1 mL larutan ekstrak uji dengan FeCl₃ 10%. Tanin positif jika warnanya berubah menjadi hijau kehitaman atau biru tua.

e. Uji Saponin

Uji busa dalam air panas digunakan untuk mengidentifikasi saponin. Menunjukkan adanya saponin karena busa tetap stabil selama setengah jam dan tidak hilang setelah penambahan 1 tetes HCl 2N.

Pemisahan Ekstrak Daun Nipah (*Nypa fruticans*) menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) (Jannah, 2014)

Plat silika gel F₂₅₄ adalah fase diam yang sering digunakan dalam metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) untuk menganalisis komponen kimia dari ekstrak daun nipah (*Nypa fruticans*). Dalam proses preparasi, plat silika gel diaktivasi dengan cara dipanaskan untuk menghilangkan air, panggang di suhu 60° sampai 70°C selama sepuluh menit. Ukuran plat yang digunakan adalah 1x10 cm. Pada uji fitokimia, ekstrak diencerkan dengan menambahkan 1 mL pelarut positif. Kemudian ditotolkan dengan tabung kapiler sekitar 1 cm dari batas bawah pelat silika gel F254 dan dilakukan tiga

sampai lima kali. Plat KLT dimasukkan ke dalam wadah kromatografi yang diisi dengan larutan pengembang, dikeringkan dan eluen pengembang dijenuhkan dalam wadah tertutup. Proses dihentikan ketika fase gerak mencapai garis batas elusi. Noda diamati dan nilai *Rentetion Factor* (Rf) ditentukan pada masing-masing noda.

Uji Toksisitas dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) (Modifikasi Sharo et al. 2013)

Satu liter air laut dan satu gram telur *A. salina* Leach ditambahkan ke dalam wadah induk untuk menetas larva. Wadah tersebut kemudian diaerator dan diberi pencahayaan. Dalam waktu $\pm 1 \times 24$ jam telur menetas dan siap dijadikan sasaran uji toksisitas setelah berumur 2×24 jam.

Uji toksisitas dilakukan dengan metode agar dilution dengan menggunakan 2 botol vial sebagai kontrol.

Ekstrak metanol daun nipah diperoleh dengan cara mengekstrak daun nipah dengan pelarut metanol. Ekstrak tersebut kemudian di pipet masing-masing sebanyak 0 μ L, 5 μ L, 25 μ L, 50 μ L, 100 μ L, 150 μ L dan 200 μ L dan diletakkan ke dalam botol vial. Sepuluh ml air laut dan satu tetes larutan ragi roti ditambahkan setelah pelarut metanol dikeringkan dan diaduk hingga ekstrak larut dalam air garam. Setiap botol berisi sepuluh larva *A. salina* Leach, dan mortalitas larva diamati selama 1×24 jam.

Analisis Data

Setelah penyajian data berbentuk tabel dan grafik, hasilnya dijelaskan. Analisis probit pada Microsoft Excel dapat digunakan untuk melakukan uji LC_{50} dan menentukan toksikologi terhadap larva udang *A. salina* Leach.

Identifikasi hasil uji warna yang menghasilkan masing-masing ekstrak dengan indikasi sebagai berikut dapat digunakan untuk mengklasifikasikan senyawa aktif: + = mengandung senyawa (Positif), - = tidak mengandung senyawa (Negatif).

Kemurnian senyawa aktif dapat dipastikan dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT), yang menggunakan nilai parameter Rf (*Rentetion factor*) untuk mengukur jarak yang

ditempuh dan bentuk bercak senyawa pada dua fase yang terpisah.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik dan Rendemen Daun Nipah (*Nypa fruticans*)

Daun Nipah (*Nypa Fruticans*) yang digunakan dalam penelitian ini diambil di Kampung Bugis, Tanjungpinang, Kepulauan Riau. Di antara spesies mangrove, tanaman nipah (*Nypa fruticans*) sangat penting karena tumbuh dalam jumlah besar di lingkungan mangrove. nipah biasanya tumbuh di daerah pasang surut pada suhu terendah 20° C dan tertinggi 32-35° C (Subiandono et al., 2011). Nipah memiliki batang merambat di atas tanah, daun majemuk (seperti palem lainnya) dengan tangkai daun setinggi 9 meter dan panjang sekitar 1-1,5 meter bertunas dari rimpang tanaman, berbentuk rimpang terendam lumpur, sehingga nampak seperti tak memiliki batang, akar berserabut panjangnya mencapai belasan meter, daun tua berwarna hijau sedangkan daun muda berwarna kuning (Hossain et al. 2015). Karakteristik daun nipah (*Nypa fruticans*) ditampilkan pada Tabel 1.

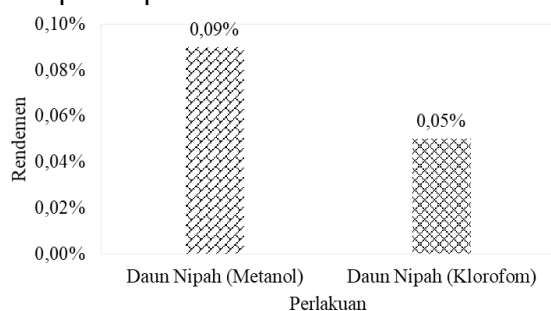
Tabel 1. Karakteristik Daun Nipah (*Nypa fruticans*)

No.	Karakteristik	Keterangan
1.	Bentuk	Daun menyirip tegak dan panjang, memiliki tulang daun yang sangat keras menyerupai lidi dan memiliki ujung yang runcing.
2.	Warna	Daun yang lebih tua berwarna hijau, sedangkan daun muda berwarna kuning.
3.	Tekstur	Tebal dan keras
4.	Panjang dan Lebar	Panjang 1-1,5 meter dan lebar 4-6 cm.

Rendemen adalah selisih antara berat total bahan dan berat yang dapat digunakan. Ketika nilai rendemen tinggi, ini berarti lebih banyak produk pemisahan yang disampel daripada yang tidak. Pengukuran rendemen daun nipah (*Nypa fruticans*) menunjukkan daun yang digunakan 43% dan berat utuh daun terdapat 57% dan hasil perhitungan rendemen pada daun nipah (*Nypa fruticans*) yaitu 0,75%.

Ekstraksi Daun Nipah (*Nypa fruticans*)

Hasil ekstrak adalah persentase yang dihitung dengan membagi jumlah sampel awal dengan jumlah ekstrak yang dihasilkan yang dikumpulkan sebelum ekstraksi (Nurjanah et al., 2011). Prosedur pertama yang harus dilakukan sebelum menganalisis hasil ekstrak daun nipah (*Nypa fruticans*) adalah proses ekstraksi. Daun nipah (*Nypa fruticans*) diekstraksi dengan menggunakan teknik maserasi tunggal. Maserasi adalah teknik ekstraksi yang merendam serbuk simplisia dalam pelarut cair. Proses maserasi ini menggunakan sampel daun nipah (*Nypa fruticans*) sebanyak 25g simplisia dengan menggunakan pelarut metanol dan kloroform yang menghasilkan ekstrak kental sebanyak 0,09% dengan menggunakan pelarut metanol. Sedangkan maserasi daun nipah (*Nypa fruticans*) pada pelarut kloroform yaitu menghasilkan ekstrak kental sebanyak 0,05%. Rendemen ekstrak daun nipah ditampilkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Rendemen Ekstrak Daun Nipah (*Nypa fruticans*)

Menurut Putri et al. (2013) rendemen tertinggi ekstrak metanol daun nipah adalah 6,6% jika dibandingkan dengan tanaman lainnya. Fenomena ini disebabkan oleh zat non-polar yang memiliki kecenderungan untuk mengekstrak dan zat polar yang larut dalam pelarut polar. Banyak jenis pelarut yang berdampak pada hasil ekstrak. Jenis pelarut yang digunakan, teknik ekstraksi, ukuran partikel sampel, lama proses ekstraksi, dan rasio pelarut terhadap sampel, semuanya mempengaruhi jumlah ekstrak yang dihasilkan. Hal ini dikarenakan sedikitnya larutan kloroform menunjukkan sedikitnya pula senyawa non polar yang ada pada daun nipah (*Nypa fruticans*) tersebut (Rudianto et al. 2019).

Kandungan Fitokimia Daun Nipah (*Nypa fruticans*)

Ekstrak daun nipah (*Nypa fruticans*) dengan menggunakan pelarut metanol dan kloroform yang diperoleh kemudian diuji kandungan fitokimia nya yaitu uji flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, triterpenoid/steroid dengan menggunakan metode dari Harborne (1987). Adapun hasil analisis fitokimia ekstrak daun nipah (*Nypa fruticans*) dapat ditampilkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Analisis Fitokimia Daun Nipah (*Nypa fruticans*)

Parameter	Daun Nipah (<i>Nypa fruticans</i>)	
	Metanol	Kloroform
Alkaloid		
(Wagner)	+	-
(Meyer)	-	-
(Dragendrof)	+	-
Flavonoid	+	+
Triterpenoid	+	+
Saponin	+	-
Tanin	+	-

Keterangan :

(-) = Negatif

(+) = Positif

Hasil uji fitokimia pada penelitian ini menunjukkan setelah perlakuan dengan pereaksi warna, warna ekstrak dari daun nipah (*Nypa fruticans*) berubah. Perubahan warna menjadi kuning menunjukkan adanya senyawa flavonoid. Senyawa tanin dapat diamati sebagai struktur dengan warna hitam kehijauan. Jika endapan dari pereaksi Meyer, pereaksi Wagner, dan pereaksi Dragendorff masing-masing berwarna putih kekuningan, coklat, atau merah, maka senyawa alkaloid positif. Munculnya larutan berwarna biru kehijauan menunjukkan adanya bahan kimia triterpenoid. (Jelly et al. 2016).

Hasil Pemisahan Senyawa Ekstrak Daun Nipah (*Nypa fruticans*) menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Pemisahan ekstrak daun nipah (*Nypa fruticans*) menggunakan lempeng silika gel F254 dan teknik KLT. Ekstrak daun nipah (*Nypa fruticans*) mengandung eluen AA1, AA2, AA3, AA4, AA5, dan AA6. Tabel 3 menampilkan hasil dari proses pemisahan senyawa dengan bantuan KLT dari ekstrak daun nipah (*Nypa fruticans*).

Tabel 3. Perbandingan nilai Rf pada daun nipah (*Nypa fruticans*) dengan pelarut metanol dan klorofom

Nilai Rf	Ekstrak daun nipah (<i>Nypa fruticans</i>)					
	AA 1	AA 2	AA 3	AA 4	AA 5	AA 6
Rf1	0,063	0,025	0,213	0,063	0,25	0,063
Rf2	0,188	0,05	0,225	0,438	0,5	0,625
Rf3	0,375	0,125	0,688	0,625	0,75	0,875
Rf4	0,688	0,138		0,688	0,875	
Rf5	0,750	0,15				
Rf6	0,938	0,213				
Rf7		0,238				
Rf8		0,375				
Rf9		0,5				
Rf10		0,663				
Rf11		0,788				
Rf12		0,825				
Rf13		0,938				
Rf14		0,95				
Rf15		0,963				

Keterangan :

AA1 : Ekstrak metanol pelarut metanol

AA2 : Ekstrak klorofom pelarut metanol

AA3 : Ekstrak metanol pelarut klorofom

AA4 : Ekstrak klorofom pelarut klorofom

AA5 : Ekstrak metanol pelarut klorofom:metanol

AA6 : Ekstrak klorofom pelarut klorofom:metanol

Tabel 3 menampilkan hasil dari metode kromatografi lapis tipis (KLT) yang digunakan untuk memisahkan bahan kimia yang ditemukan dalam ekstrak daun nipah (*Nypa fruticans*). Daun nipah AA1 menghasilkan enam fraksi yaitu 0,063; 0,188; 0,375; 0,688; 0,750; 0,938, AA2 menghasilkan 15 fraksi yaitu 0,025; 0,05; 0,125; 0,138; 0,15; 0,213; 0,238; 0,375; 0,5; 0,663; 0,788; 0,825; 0,938; 0,95; 0,963, AA3 menghasilkan 3 fraksi yaitu 0,213; 0,225; 0,688, AA4 menghasilkan 4 fraksi yaitu 0,063; 0,438; 0,625; 0,688, AA5 menghasilkan 4 fraksi yaitu 0,25; 0,5; 0,75; 0,875, dan AA6 menghasilkan 3 fraksi yaitu 0,063; 0,625; 0,875.

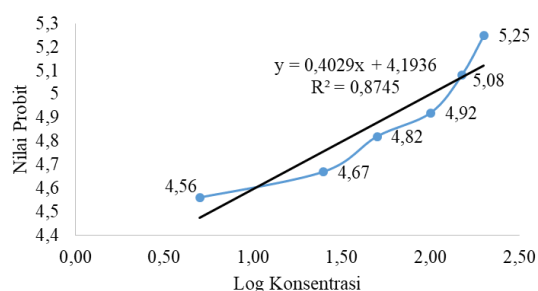
Pada table 3 menyatakan bahwa hasil dari Kromatografi Lapis Tipis (KLT) digunakan untuk memisahkan ekstrak daun nipah, dan hasilnya menunjukkan bahwa terdapat 15 fraksi yang semuanya berasal dari ekstrak kloroform dengan pelarut metanol, yang di mana eluen terbaik yaitu metanol. Hasil pemisahan menunjukkan bahwa daun nipah dengan ekstrak kloroform dalam pelarut metanol dapat mencakup

hingga 15 bahan kimia yang telah diidentifikasi.

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

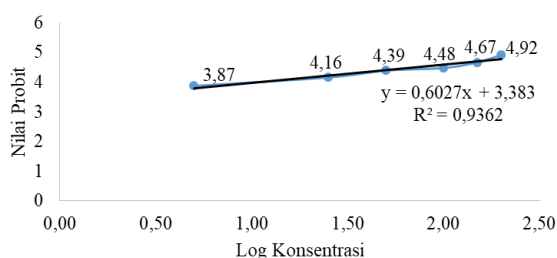
Larva udang *A. salina* Leach yang digunakan dalam penelitian ini masih dalam tahap telur, maka larva tersebut harus ditetaskan terlebih dahulu. Caranya, isi wadah penetasan sebanyak satu liter dengan air asin, tambahkan satu gram telur *A. salina* Leach, angin-anginkan, dan berikan cahaya. Setelah 48 jam, telur siap untuk diuji toksisitasnya, setelah menetas dalam waktu $\pm 1 \times 24$ jam.

Nilai LC_{50} adalah angka yang mewakili konsentrasi suatu zat yang mengakibatkan kematian sebesar 50% hewan yang diuji (Arwan, 2017). Jadi, jika nilai LC_{50} suatu sampel lebih rendah, maka sifat toksiknya lebih kuat. Menurut Tekha *et al.* (2015) tiga kategori toksisitas untuk zat tertentu adalah sebagai berikut: $LC_{50} < 30$ ppm (sangat berbahaya), $31 \text{ ppm} \leq LC_{50} \leq 1000$ ppm (beracun), dan $LC_{50} > 1000$ ppm (tidak beracun). Hasil uji toksisitas *A. salina* Leach disusun dalam konsentrasi 0 μL , 5 μL , 25 μL , 50 μL , 100 μL , 150 μL , dan 200 μL , dengan 10 ekor *A. salina* Leach pada setiap konsentrasi. Gambar 2 dan 3 menunjukkan hasil uji toksisitas yang dilakukan terhadap ekstrak daun nipah (*Nypa fruticans*).



Gambar 2. Grafik Uji Toksisitas (LC_{50}) ekstrak daun nipah (*Nypa fruticans*) Metanol

Persamaan garis lurus $Y = 0,4029x + 4,1936$ ditunjukkan pada Gambar 2. Nilai LC_{50} ekstrak daun nipah (*Nypa fruticans*) dalam pelarut metanol adalah 100,34 ppm, seperti yang terlihat pada grafik regresi linier di atas.



Gambar 3. Grafik Uji Toksisitas (LC_{50}) ekstrak daun nipah (*Nypa fruticans*) Klorofom

Persamaan garis lurus $Y = 0,6027x + 3,383$ ditunjukkan pada Gambar 3. Nilai LC_{50} ekstrak daun nipah (*Nypa fruticans*) dengan pelarut kloroform adalah 481,87 ppm, seperti yang terlihat pada grafik regresi linier di atas.

Nilai LC_{50} pada Gambar 2 dan 3 menunjukkan hasil uji toksisitas ekstrak daun nipah (*Nypa fruticans*) dengan pelarut metanol 100,34 ppm dan pelarut kloroform 481,87 ppm berdasarkan percobaan tersebut. Imra et al., (2016) menyatakan bahwa toksisitas beberapa ekstrak kasar daun nipah yang dipilih dievaluasi dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Ekstrak tersebut terbukti berbahaya, dengan nilai LC_{50} dalam pelarut metanol sebesar 663,60 $\mu\text{g/mL}$. Berdasarkan data dari ekstrak daun nipah (*Nypa fruticans*) berbahan dasar metanol dan kloroform, zat ini tergolong beracun karena suatu bahan kimia dianggap berbahaya jika nilai LC_{50} kurang dari 1000 ppm. (Cahyanto dan Setyowati, 2016).

Nilai LC_{50} untuk uji toksisitas yang dilakukan pada ekstrak daun nipah (*Nypa fruticans*) didapatkan sebesar 100,34 ppm untuk ekstrak daun nipah dalam metanol dan 481,87 ppm untuk ekstrak daun nipah dalam pelarut kloroform. Menurut Imra et al., (2016), toksisitas beberapa ekstrak kasar daun nipah yang dipilih dievaluasi dengan menggunakan teknik *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Ekstrak tersebut terbukti berbahaya, dengan nilai LC_{50} dalam pelarut metanol sebesar 663,60 $\mu\text{g/mL}$. Ekstrak daun nipah (*Nypa fruticans*) yang dibuat dengan pelarut metanol dan kloroform dikategorikan sebagai senyawa berbahaya berdasarkan data yang terkumpul, karena suatu senyawa yang dikatakan bersifat toksik jika nilai LC_{50} kurang dari 1000 ppm (Setyowati dan Cahyanto, 2016).

Senyawa metabolit sekunder berkaitan erat dengan toksisitas tanaman. Ekstrak daun nipah dengan metanol mengandung zat aktif pelarut seperti penelitian fitokimia sebelumnya telah mengidentifikasi triterpenoid, alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin. Jika dikonsumsi secara berlebihan, bahan-bahan aktif ini dianggap berbahaya. Fungsi senyawa tersebut, yang mencegah larva makan (*Antifedant*), bertanggung jawab atas kematian larva *Artemia salina* Leach. Zat-zat ini memiliki gejala yang sebanding dengan keracunan perut. Akibatnya, sistem pencernaan larva terganggu ketika zat-zat ini masuk ke dalam tubuhnya. Zat-zat ini mencegah reseptor perasa di bagian mulut larva untuk menerima sensasi rasa, sehingga larva tidak dapat mendeteksi makanannya. Akibatnya, larva tidak dapat mencapai ambang batas yang diperlukan untuk perkembangannya dan mati kelaparan. Metabolit sekunder tanaman dapat digunakan untuk mengobati berbagai penyakit manusia, meskipun bahan aktifnya biasanya bersifat toksik dalam dosis tinggi (Tomayahu et al. 2013).

KESIMPULAN

Analisis fitokimia ekstrak daun nipah (*Nypa fruticans*) dengan pelarut metanol mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, triterpenoid, saponin, dan tanin. Flavonoid dan triterpenoid terdeteksi pada ekstrak daun nipah dengan pelarut kloroform. Ekstrak daun nipah (*Nypa fruticans*) dipisahkan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) dengan pelarut metanol menghasilkan 15 fraksi. Uji toksikologi ekstrak daun nipah (*Nypa fruticans*) menunjukkan bahwa ekstrak daun nipah (*Nypa fruticans*) memberikan efek toksik pada larva *Artemia salina* Leach. Agar daun nipah (*Nypa fruticans*) dapat digunakan dalam pengobatan penyakit, maka diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai penggunaan daun nipah yang berpotensi toksik, dan menguji aktivitas antioksidan daun nipah (*Nypa fruticans*).

DAFTAR PUSTAKA

- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia*. Edisi ke-2. Padmawinata K, Soediro I, Penerjemah. Bandung: ITB.

- Terjemahan dari: Phytochemical Methods.
- Imra, I., Tarman, K., Desniar, D. 2016. Aktivitas antioksidan dan antibakteri ekstrak nipah (*Nypa fruticans*) terhadap vibrio sp. Isolat kepiting bakau (*Scylla* sp.). *JPHPI*. 19(3): 241-25.
- Jannah, M. 2014. *Uji Toksisitas dan Fitokimia Ekstrak Kasar Metanol, Kloroform dan n-Heksana Alga Coklat (Sargassum vulgare) dari Pantai Kapong Pamekasan Madura*. Skripsi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Lestari, Y., Ardiningsih P., dan Nurlina. 2016. Aktivitas antibakteri gram positif dan negatif dari ekstrak dan fraksi daun nipah (*Nypa fruticans*) asal pesisir sungai kakap Kalimantan Barat. *Jurnal Kimia dan Kemasan*. 5(4): 1-8.
- Mangrove Information Center [MIC]. 2009. *Nypa fruticans*. Bali. Denpasar.
- Nurjanah., Abdullah, A., Apriandi, A. 2011. Aktivitas antioksidan dan komponen bioaktif keong ipong-ipong (*Fasciolaris salmo*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 14(1): 22-29.
- Quinn, R.J. 1988. *Chemistry of Aqueous Marine Extract: Isolation Techniques in Bioorganic Marine Chemistry*. Springer. 2: 1-41.
- Rahmatullah, M., Saedak, Bachar, S. C., Hossain, A, I., Mamun, A., Montaha, Jahan, N., Chowdhury, M. H., Nasrin, N., Rahman, M. 2010. *Brine Shrimp Toxicity Study of Different Bangladesh Medical Plants*. American Eurasian Network for Scientific Information.
- Rudianto., Putri, R.M.S., Apriandi, A. 2019. Aktivitas Antioksidan dari Tanaman "Beruas Laut" (*Scaevola taccada*), *Jurnal Marinade*. 02(1): 29-38.
- Setyowati, W. A. E., Cahyanto, M. A. S. 2016. Kandungan kimia dan uji aktivitas toksik menggunakan metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) dari ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura*). *Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia*. 1(2): 41-47.
- Sharo, N. M., Ningsih, R., Nasichuddin, A., Hanapi, A. 2013. Uji toksisitas dan identifikasi senyawa ekstrak alga merah (*Eucheuma cottonii*) terhadap larva udang artemia salina leach. *Jurnal Alchemy*. 2(3): 170-177.
- Tomayahu R, Bialang N. Salimi YK. 2014. Identifikasi senyawa aktif dan uji toksisitas ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) dengan metode BSLT. *Jurnal Fakultas MIPA*. Universitas Negeri Gorontalo.
- Vitalia, N., Najib, A., Ahmad, A.R. 2016. Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pletakan (*Ruellia tuberosa* L.) dengan Menggunakan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 3(1): 124-129.
- Wijaya, H., Novitasari., Jubaidah, S. 2022. Perbandingan Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Ekstrak Daun Rambai Laut (*Sonneratia caseolaris* L. Engl). *Jurnal Ilmiah Manuntung*. 4(1):79-83.