

DOI: 10.30644/rik.v8i2.522

Komposisi metabolit sekunder dan uji toksisitas fraksi etil asetat daun leban (*Vitex pinnata* Linn)

Sabarudin^{1*}, Dewi Kurniasih²

¹ Program Studi D3 Farmasi Jurusan Farmasi, Poltekkes Kemenkes Jambi, Indonesia.

² Program Studi D3 Teknologi Laboratorium Medik (TLM) Jurusan Analis Kesehatan, Poltekkes Kemenkes Jambi, Indonesia.

*Email korespondensi : sabarudin6kadipan@gmail.com

Accepted: 10 Juni 2021; revision: 15 Juni 2021; published: 30 Juni 2021

Abstrak

Latar Belakang: Leban (*Vitex Pinnata* Linn) adalah tumbuhan tinggi yang dikenal sebagai salah satu bahan ramuan obat tradisional untuk luka, demam dan sakit perut. (Tujuan) untuk mengetahui komposisi kandungan metabolit sekunder dan potensi toksisitas akut beberapa fraksi dari ekstrak pucuk leban, sehingga penggunaannya oleh masyarakat memiliki pondasi ilmiah.

Metode: penelitian diawali dengan penyediaan sampel yaitu bagian pucuk atau daun muda yang dipanen dari pohon leban yang tumbuh liar disekitar perkebunan penduduk di Desa Pudak. Pengolahan sampel melalui tahapan seleksi pucuk segar, dicuci dengan air bersih mengalir, dianginkan untuk pengeringan dan seleksi sampel setelah kering serta dijadikan serbuk simplisia. Sediaan serbuk simplisia diekstraksi dingin dengan pelarut n-heksana selama 3 x 24 jam dengan tiga kali pengulangan. Maserat selanjutnya dipisahkan menggunakan corong kaca dan kertas saring, kemudian diuapkan dengan alat *vacuum rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental difraksinasi berdasarkan tingkat kepolaran pelarut dimulai dengan petroleum eter, kemudian etil asetat selanjutnya dengan metanol. Masing-masing filtrat diuapkan dan dikeringkan untuk memperoleh fraksi petroleum eter, fraksi etil asetat dan fraksi methanol. Setiap fraksi kemudian diidentifikasi kandungan metabolit sekundernya dan dilakukan uji toksisitas akutnya terhadap larva udang.

Hasil : Hasil pengamatan terhadap perubahan warna dalam uji fitokimia dan berapa jumlah larva udang yang mati setelah 1 x 24 jam diberikan bahan uji untuk setiap perlakuan dicatat. Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa didalam ekstrak kental terdapat golongan saponin dan flavonoid serta tidak teridentifikasi adanya golongan alkaloid. Fraksi etil asetat hanya mengandung golongan flavonoid dan golongan saponin. Uji toksisitas menunjukkan hanya fraksi etil asetat yang tergolong toksik akut, analisis probit uji toksisitas memberikan hasil perhitungan dengan nilai $LC_{50} = 218$ ppm.

Kesimpulan : Pucuk *Vitex pinnata* Linn memiliki komposisi metabolit sekunder yaitu golongan triterpenoid, golongan flavonoid dan golongan saponin. Tingkat toksisitas akut dari fraksi etil asetat tergolong sedang.

Kata kunci: Ekstraksi, fraksinasi dan toksisitas, metabolit sekunder, *Vitex Pinnata* Linn

Abstract

Background: Leban (*Vitex Pinnata* Linn) is a tall plant known as one of the ingredients of traditional medicine for wounds, fever and stomach pain. (Purpose) to determine the composition of secondary metabolites and potential acute toxicity of several fractions of leban shoot extract, so that their use by the public has a scientific foundation.

Methods: the research begins with the provision of samples, namely the shoots or young leaves harvested from the leban tree that grows wild around the plantations of residents in Pudak Village. Processing of samples through the stages of selection of fresh shoots, washed with clean running water, aerated for drying and selection of samples after drying and made into simplicia powder. The simplicia powder preparation was cold extracted with n-hexane solvent for 3 x 24 hours with three repetitions. The macerate was then separated using a glass funnel and filter paper, then evaporated

using a vacuum rotary evaporator to obtain a thick extract. The viscous extract was fractionated based on the level of solvent polarity starting with petroleum ether, then ethyl acetate followed by methanol. Each filtrate was evaporated and dried to obtain petroleum ether fraction, ethyl acetate fraction and methanol fraction. Each fraction was then identified its secondary metabolite content and tested for its acute toxicity to shrimp larvae.

Results: The results of observations of color changes in the phytochemical test and the number of shrimp larvae that died after 1 x 24 hours of being given the test material for each treatment were recorded. The results of the phytochemical screening showed that in the thick extract there were groups of saponins and flavonoids and no alkaloids were identified. The ethyl acetate fraction only contains flavonoids and saponins. Toxicity test showed that only the ethyl acetate fraction was classified as acutely toxic, probit analysis of the toxicity test gave the calculation result with $LC_{50} = 218$ ppm.

Conclusion: The shoots of *Vitex pinnata* Linn have secondary metabolite composition, namely the triterpenoid group, the flavonoid group and the saponin group. The acute toxicity level of the ethyl acetate fraction is moderate.

Key words: *Vitex Pinnata* Linn; secondary metabolite; extraction; fractionation and toxicity.

PENDAHULUAN

Vitex Pinnata Linn yang juga dikenali dengan nama *Vitex Pubescens* Linn(1). Di pulau Sumatera tumbuhan ini dikenali dengan berbagai nama antara lain leban, halban, halaban, kayu bagak, dan akar leban. Tumbuhan ini dijumpai hampir diseluruh tempat di Asia Tenggara, di tanah rendah, di hutan-hutan lebat, hutan sekunder, di pinggiran sungai, ditempat terbuka seperti di tepi-tepi jalan dan di tepi pantai(2). Pohon leban juga dilaporkan lebih banyak tumbuh dan ditemukan pada lahan-lahan bekas ladang atau lahan sekunder(3) dan disekitar perkebunan penduduk(4).

Beberapa bagian dari tumbuhan ini dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional, daunnya digunakan sebagai obat demam, perangsang makan, dan obat luka. Air rebusan kulit batang *Vitex Pinnata* dapat menghilangkan sakit perut, dan daunnya digunakan sebagai obat demam dan luka(5). Kulit batang dilaporkan dapat menyembuhkan sakit perut, luka, dan juga digunakan sebagai bahan pewarna sedangkan akar digunakan sebagai obat sakit perut(6), penelitian lain melaporkan kulit batang juga berkhasiat sebagai obat sakit perut, obat masuk angin, dan penyegar badan(3). Masyarakat Desa Jembayan Kabupaten Kutai Kalimantan Timur biji leban digunakan sebagai obat demam, kulit batang

dan daunnya digunakan untuk mengobati luka, meredakan nyeri dan demam(7).

Sampai saat ini baru terdapat beberapa laporan ilmiah yang telah mempublikasikan hasil penelitian yang berkaitan kandungan kimia dan aktivitas biologi leban (*Vitex Pinnata* Linn). Sebuah ecdisteroid baru yaitu pinnatasterone, bersama 20-hydroxyecdysone dan turkesterone dari ekstrak kulit batang *Vitex pinnata*(8). Sementara itu juga dari ekstrak kulit batang *Vitex pinnata*, di temukan glukosida iridoid baru, pinnatoside dan tiga flavonoid yang diketahui, viscioside, apigenin, dan luteolin(9).

Terbaru dalam Prosiding Seminar Nasional Kimia 2017, di Universitas Mulawarman, Samarinda, Kalimantan Timur dilaporkan berhasil diisolasi senyawa turunan fenol dari ekstrak daun *Vitex pinnata* yaitu 4-hidroksil metil benzoate(10). Bersamaan dengan itu juga dilaporkan bahwa uji antioksidan terhadap ekstrak metanol, etil asetat dan air memberikan persentase (%) hambatan pada konsentrasi 100 ppm paling tinggi yaitu masing-masing 95,47; 95,79; dan 96,22 ppm dengan rata-rata aktivitas sebagai antioksidan IC_{50} 41.08 ppm(11).

Di daerah pedesaan masyarakat Provinsi Jambi juga menggunakan rebusan kulit batang dan rebusan kulit akar dari

tumbuhan leban (*Vitex Pinnata* Linn) sebagai ramuan untuk obat sakit perut. Secara entnomedisin diketahui masyarakat pedesaan menggunakan air rebusan pucuk atau daun muda leban sebagai ramuan obat untuk penderita kencing manis.

Penelusuran terhadap pustaka digital dan publikasi ilmiah melalui teknologi informasi digital belum ditemukan penelitian lokal Jambi tentang kandungan komponen kimia dan aktifitas biologi ramuan obat yang terbuat dari bagian tumbuhan leban. Untuk itu dilakukan penelitian agar dapat mengetahui komposisi kandungan metabolik sekunder dan aktivitas toksik akut fraksi dari ekstrak kental n-heksana pucuk *Vitex Pinnata* Linn.

Tujuan Penelitian untuk mengidentifikasi komposisi metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak n-heksana pucuk *Vitex Pinnata* Linn dan untuk mengukur potensi serta tingkat toksisitas akut fraksi dari ekstrak n-heksana. Diharapkan dengan penelitian ini maka konsumsi rebusan pucuk leban sebagai ramuan obat tradisional oleh masyarakat memiliki dukungan kajian ilmiah.

METODE

Jenis Penelitian

Penelitian ini tergolong eksperimen observasi laboratorium dengan metode kualitatif untuk mengetahui golongan metabolit sekunder yang terkandung dalam masing-masing sampel penelitian dan aktifitas toksik akutnya.

Alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain *vacuum rotary evaporator* (Model : HS 2005S-N), Oven, beker gelas (Iwaki®), gelas ukur (Pyrex®), vial, spatel, batang pengaduk, pisau, corong pisah kaca (Pyrex®), botol berwarna gelap untuk maserasi, corong kaca, tabung reaksi, rak tabung reaksi, labu ukur (Iwaki®), pipet ukur, timbangan digital (Durascale DPB2000), lemari asam (Model FH-1500), kertas saring, waterbath (Faithful Dk-2000), blender (Philips Tipe HR 2115), alumunium foil,

cawan penguap, freeze dryer (Mini Vacuum Lab CE), lampu UV, Fortable 5 Watt (12), kaca pembesar (LUV.100mm).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : daun muda atau pucuk leban (*Vitex Pinnata* Linn), n-heksana (Merck), petroleum eter (Merck), etil asetat, metanol teknis, kloroform (Merck), amonia (Merck), asam klorida (Merck), pereaksi Meyer, pereaksi Dragendrof, pereaksi Wagner, serbuk magnesium (Mg), asam sulfat (Merck), asam asetat anhidrat, feriklorida, metanol (Merk) asam asetat, reagen DPPH, asam galat, akuades dan larva udang (13).

Preparasi Sampel

Sampel yang diteliti diperoleh dari pohon leban yang cukup tua dengan ketinggian pohon 5-7 meter tumbuh liar disekitar perkebunan masyarakat Dusun I Desa Pudak Kumpeh Ulu Kabupaten Muaro Jambi Provinsi Jambi. Sampel dibersihkan dari kotoran yang melekat, dicuci bersih dengan air mengalir, lalu dipotong kecil-kecil. Selanjutnya dikeringkan dengan mengangin-anginkannya didalam ruangan. Sampel yang sudah kering selanjutnya dihaluskan dengan menggunakan blender hingga berbentuk serbuk dan ditimbang (12).

Ekstraksi

Serbuk pucuk atau daun muda leban sebanyak 3000 g, dimasukkan kedalam 6 buah botol gelap @ 500 g, lalu direndam (maserasi) dengan masing-masing 500 mL n-heksana. Perendaman dilakukan selama 3 x 24 jam, setiap 8-12 jam dilakukan pengadukan menggunakan batang pengaduk dari kaca atau porselen. Perendaman serbuk dengan pelarut dilakukan pengulangan sampai pelarut tidak berwarna atau sekurang-kurangnya tiga kali pengulangan (12).

Maserat yang dihasilkan disaring dengan menggunakan corong kaca yang dipasang kertas saring dipermukaannya untuk mendapatkan filtrat. Selanjutnya masing-masing filtrat yang diperoleh dipisahkan zat terlarutnya dengan cara

menguapkan pelarutnya dengan memanfaatkan perbedaan titik didihnya secara evaporasi yang menggunakan alat *vacuum rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental n-heksana (14).

Fraksinasi

Ekstrak kental kemudian dilarutkan dengan air (1:1) untuk difraksinasi dengan berbagai pelarut berdasarkan tingkat kepolarannya. Sampel dimasukkan dalam corong pisah, ditambahkan dengan pelarut non polar yaitu petroleum eter secukupnya. Terbentuk dua lapisan, zat terlarut non polar terperangkap dalam lapisan pelarut petroleum eter yang lain masih berada dalam lapisan air. Langkah ini dilakukan tiga kali pengulangan, sehingga akan di dapat fraksi petroleum eter dan fraksi air. Fraksi air dilanjutkan dengan penambahan pelarut semi polar yaitu etil asetat secukupnya dilakukan 3 kali pengulangan, sehingga di dapat fraksi etil asetat dan fraksi air. Fraksi air dilanjutkan dengan penambahan pelarut polar yaitu metanol sehingga diperoleh fraksi metanol dan fraksi sisa (residu). Masing-masing filtrat kemudian dikeringkan menggunakan metode evaporator, untuk dilakukan skrining fitokimia dan uji toksisitas akut.

Rendemen dihitung dengan rumus(15) :

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat total simplisia}} \times 100\%$$

Uji Triterpenoid

Pemeriksaan triterpenoid dilakukan dengan reaksi Liebermann-Burchard. Larutan uji sebanyak 2 mL diuapkan dalam cawan porselin. Residu penguapan dilarutkan dengan 0,5 mL kloroform, dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Asam sulfat pekat sebanyak 2 mL selanjutnya ditambahkan melalui dinding tabung. Terbentuk cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan larutan menunjukkan adanya triterpenoid(16).

Uji Flavonoid.

Larutan ekstrak sebanyak 2 mL ditambah dengan sedikit serbuk Mg dan 2 mL HCl 2N. Senyawa flavonoid akan menimbulkan warna jingga sampai merah(16).

Uji Saponin.

Larutan ekstrak ditambahkan akuades dan digoncang dengan kuat, adanya senyawa saponin ditandai dengan terbentuknya busa 1-10 cm yang stabil dan busa bertahan tidak kurang dari 10 menit(16).

Uji Alkaloid.

Sejumlah larutan ekstrak ditambahkan 3 tetes H₂SO₄, 2N kemudian dipanaskan selanjutnya diuji dengan reagen Dragendorff, Meyer dan Wagner. Hasil uji positif diperoleh bila terbentuk endapan merah hingga jingga pada penambahan reagen Dragendorff dan endapan putih kekuningan pada penambahan reagen Mayer. Serta terbentuk endapan kecoklatan pada penambahan reagen Wagner(16).

Uji Toksisitas dengan Metode BSLT

Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) merupakan salah satu metode untuk menguji bahan-bahan yang bersifat toksik dan digunakan sebagai suatu bioassay yang pertama untuk penelitian bahan alam. Metode ini menggunakan larva *Artemia salina* Leach sebagai hewan coba. Uji toksisitas dengan metode BSLT ini merupakan uji toksisitas akut dimana efek toksik dari suatu senyawa ditentukan dalam waktu singkat, yaitu rentang waktu selama 24 jam setelah pemberian dosis uji.

Prosedurnya dengan menentukan nilai LC₅₀ dari aktivitas komponen aktif tanaman terhadap larva anak udang. Suatu ekstrak dikatakan toksik berdasarkan metode BSLT jika harga LC₅₀ < 1000 µg/ mL. Hasil penelitian menunjukkan adanya hubungan yang konsisten antara toksisitas dan letalitas *Brine shrimp* pada ekstrak tanaman(17).

Metode BSLT dapat dipercaya untuk menguji aktivitas farmakologis dari bahan-bahan alami(18). Suatu ekstrak tanaman bersifat toksik menurut harga LC_{50} dengan metode BSLT, maka tanaman tersebut dapat dikembangkan sebagai obat anti kanker(19).

Air laut buatan dengan cara melarutkan 40 g NaCl dalam 2000 ml akuades, kemudian disaring untuk memisahkan kotoran dan material tidak larut. Air laut sebanyak dimasukkan ke dalam 2 wadah yang berbeda dan dibatasi dengan sekat yang telah diberi lubang. Salah satu bagian ditutup dengan aluminium foil, sedangkan bagian yang lain dibiarkan terbuka yang pada bagian atasnya dipasang lampu pijar listrik.

1. Penyiapan larva *Artemia Salina Leach*

Penyiapan larva dilakukan dengan mengambil telur *Artemia Salina Leach* sebanyak 1 g, dimasukkan kedalam wadah yang tertutup. Penetasan dilakukan dengan cara merendam telur tersebut dalam air laut buatan dan diberi penerangan dengan lampu pijar 40-60 watt serta diaerasi selama 48 jam. Dalam waktu 48 jam, telur akan menetas menjadi larva (nauplis) dan siap digunakan untuk penelitian(18).

2. Penyiapan Larutan Stok

Ditimbang masing-masing fraksi kental sebanyak 0,5 g dan dilarutkan dengan air laut buatan hingga volumenya mencapai 250 mL untuk membuat konsentrasi sampel 2000 ppm. Dari larutan uji 2000 ppm, selanjutnya dibuat lagi larutan dengan konsentrasi 1000 ppm, 100 ppm dan 10 ppm dengan cara pengenceran. Apabila terdapat fraksi yang sukar larut dalam air laut buatan, dapat ditambahkan DMSO 1% sebanyak tiga tetes(18).

3. Pelaksanaan Uji Toksisitas

Masing-masing larutan fraksi dengan konsentrasi masing-masing 10 ppm; 100 ppm; 1000 ppm dipipet 6 mL dimasukkan ke dalam botol vial, kemudian ditambah 4 ml air laut buatan yang berisi 10 ekor nauplis. Satu botol vial digunakan sebagai kontrol 10 ml air

laut buatan dan 10 ekor nauplis. Setiap perlakuan dibuat sebanyak tiga kali pengulangan. Jumlah nauplis yang mati dihitung setelah 24 jam dan dianalisa untuk menentukan nilai LC_{50} . Selanjutnya dihitung persen kematian larva udang setelah 24 jam perlakuan menggunakan rumus dibawah ini(18).

$$\% \text{ Larva} = \frac{\text{Jumlah larva yang mati}}{\text{Jumlah total larva uji}} \times 100\%$$

Analisis Data

Data mortalitas pada uji utama/definitive merupakan angka acuan untuk menghitung nilai *lethal concentration* dengan analisa probit. Hubungan nilai logaritma dari konsentrasi bahan uji dengan nilai probit dari persentase mortalitas hewan uji merupakan fungsi linier dari $y = a + bx$. Nilai LC_{50} didapat dari hasil antilog nilai uji m. Nilai m merupakan nilai x pada persamaan dan nilai y merupakan probit mortalitas sebesar 50%. Secara matematis, perhitungan untuk menentukan nilai LC_{50} adalah sebagai berikut(20):

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

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

Persamaan regeresinya adalah(20):

$$y = a + bx , \quad m = \frac{(5-a)}{b}$$

Keterangan : x=probit kematian hewan uji, y=logaritma konsentrasi uji, a=konsentrasi regresi, b=slope/kemiringan regresi, dan logaritma konsentrasi (x) pada probit mortalitas (y) 50% ($y = 5$)(20).

HASIL Rendemen

Rendemen adalah istilah untuk menyatakan perbandingan dalam persen antara ekstrak atau fraksi yang diperoleh dengan berat total simplisia. Rendemen pucuk *Vitex Pinnata* Linn dihasilkan sebagaimana disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Rendemen Ekstrak Dan Fraksi

No	Sediaan	Berat (g)	Rendemen (%)
1	simplicia	3000,0	
1.1	ekstrak kental	376,0	12,53
1.2	fraksi p.eter	06,7	0,22
1.3	fraksi e. asetat	21,3	0,71
1.4	fraksi metanol	50,8	1,69
1.5	fraksi air	297,2	9,91

Preparasi

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah pucuk atau daun muda leban (*Vitex Pinnata* Linn.). Preparasi sampel melalui serangkaian tahapan berikut yaitu pengumpulan, pencucian dengan air yang mengalir, pengeringan tanpa cahaya matahari langsung, dan penghalusan sampel hingga menjadi serbuk.

Ekstraksi adalah suatu teknik pemisahan zat atau komponen aktif dari suatu sampel menggunakan pelarut tertentu(21). Ekstraksi dengan metode maserasi adalah metode perendaman bahan dengan pelarut yang sesuai dengan senyawa aktif yang akan diambil dengan tanpa adanya proses pemanasan. Metode maserasi dipilih untuk menghindari terjadinya kerusakan terhadap senyawa kimia yang terkandung dalam sampel. Pemilihan n-heksana sebagai pelarut pertama dalam ekstraksi karena merupakan pelarut non-polar yang bersifat stabil, mudah menguap dan cukup selektif. Selain itu n-heksana dinilai lebih efektif mengekstrak pewangi dalam jumlah besar berbanding pelarut etanol(11).

Ekstrak n-heksana selanjutnya dilarutkan dengan air kemudian dimasukkan kedalam corong pisah dan difraksinasi berturut-turut menggunakan pelarut petroleum eter, etil asetat dan metanol, dengan perolehan rendemen sesuai Tabel 1. Masing-masing fraksi kemudian dilakukan uji skrining fitokimia.

PEMBAHASAN Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia ekstrak organik sampel untuk mengidentifikasi kehadiran triterpenoid, saponin, flavonoid dan alkaloid telah dilakukan. Hasil uji triterpenoid menunjukkan bahwa fraksi petroleum eter dan fraksi etil asetat adalah positif. Pengamatan terhadap uji Liebermann-Burchard memperlihatkan perubahan warna menjadi hijau kekuning-kuningan dan biru, tetapi tidak terjadi perubahan warna terhadap fraksi metanol. Perubahan warna mengindikasikan bahwa positif (++) terdapat golongan triterpenoid.

Uji flavonoid memperlihatkan perubahan positif terhadap fraksi etil asetat dan fraksi metanol, tetapi negatif terhadap fraksi petroleum eter. Fraksi etil asetat dan fraksi etanol setelah ditambah dengan sedikit serbuk Mg dan 2 ml HCl 2N terjadi perubahan warna menjadi kuning jingga. Perubahan tersebut mengindikasikan adanya golongan flavonoid.

Uji saponin menunjukkan hanya fraksi petroleum eter yang hasil positif (++) , kandung golongan saponin ditandai dengan terbentuknya buih yang stabil dan bertahan sampai 60 menit setelah ditambahkan akuades dan diguncang searah kuat-kuat. Perlakuan yang sama untuk fraksi etil asetat dan fraksi metanol tidak terbentuk buih yang stabil.

Dari seluruh fraksi pucuk leban (*Vitex Pinnata* Linn), menggunakan tiga macam reagent spesifik untuk alkaloid memperlihatkan tidak satupun fraksi yang diuji menunjukkan tanda-tanda adanya kandungan alkaloid. Hasil pengamatan skrining uji fitokimia terhadap masing-masing fraksi diperlihatkan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Nilai Skrining Fitokimia

Fraksi	Skrining Fitokimia					
	1	2	3	4.a	4.b	4.c
p. eter	++	-	++	-	-	-
e. asetat	++	++	-	-	-	-
metanol	-	++	-	-	-	-

Keterangan :

- 1 = uji triterpenoid
- 2 = uji flavonoid
- 3 = uji saponin
- 4.a = uji alkaloid (reagen Dragendroff)
- 4.b = uji alkaloid (reagen Meyer)
- 4.c = uji alkaloid (reagen Wagner)

Uji Toksisitas

Preparasi Hewan Uji. Air laut buatan dimasukkan ke dalam wadah yang telah dibagi menjadi dua bagian, yaitu sebagian ditutup dan bagian lainnya dibiarkan terbuka dan diletakkan lampu pijar. Pemasangan lampu pijar dilakukan untuk memberikan cahaya yang dapat merangsang penetasan telur *Artemia Salina Leach*. Selanjutnya telur dimasukkan ke dalam wadah yang telah berisi air laut buatan pada bagian yang tertutup. Kedalamnya ditambahkan oksigen dengan memberikan gelembung-gelembung halus udara ke dalam air menggunakan aerator. Setelah 48 jam telur akan menetas membentuk naupli dan bergerak ke bagian yang terkena cahaya, naupli yang sehat dengan anggota tubuh lengkap akan dijadikan hewan coba.

Hasil uji menunjukkan beban konsentrasi masing-masing fraksi dalam media dapat membunuh larva secara berturut-turut dengan konsentrasi 1000, 100, dan 10 ppm. Jumlah larva tiap gelas uji adalah 10 ekor dan tiap konsentrasi dilakukan tiga kali pengulangan. Jumlah total larva yang digunakan adalah 120 ekor. Untuk bantu dalam mengamati pertumbuhan dan perkembangan larva sampai pada pengujian toksisitas akut digunakan kaca pembesar.

Hasil uji toksisitas menunjukkan bahwa terdapat hewan coba yang mengalami kematian setelah 24 jam dalam fraksi etil asetat, dan tidak didapati hewan coba yang mati untuk fraksi petroleum eter dan fraksi metanol. Analisis probit dengan menggunakan SPSS 15.0 for windows menunjukkan harga LC_{50} dari seluruh ekstrak diperoleh nilai LC_{50} pada rentang antara 218 ppm sampai dengan > dari 1000

ppm. Fraksi etil asetat pucuk leban memberikan nilai LC_{50} 218 ppm, fraksi petroleum eter dan fraksi metanol menghasilkan nilai LC_{50} >1000 ppm. Hasil analisis nilai LC_{50} masing-masing fraksi sebagaimana dalam Tabel 3.

Tabel 3. Perolehan Nilai LC_{50} setiap fraksi.

No	Fraksi	LC_{50} (ppm)
1.2	petroleum eter	> 1000
1.3	etil asetat	218
1.4	Metanol	> 1000

KESIMPULAN

Skrining fitokimia terhadap fraksi petroleum eter, fraksi etil asetat dan fraksi methanol dari ekstrak n-heksana pucuk leban (*Vitex Pinnata* Linn) hanya memperlihatkan adanya kandungan golongan triterpenoid, saponin dan flavonoid, dan tidak terdapat golongan alkaloid. Sementara uji toksisitas terhadap semua fraksi menunjukkan hanya fraksi etil asetat yang memiliki tingkat toksisitas akut tergolong sedang. Analisis probit toksisitas akut fraksi etil asetat dari ekstrak n-heksana pucuk leban (*Vitex pinnata* Linn) dengan nilai LC_{50} = 218 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

1. Uphof. Dictionary of Economic Plant. New York: J.Cramer; 1968. 545 p.
2. Keng H. Order And Families of Malayan Seed Plants. III. Singapura: Singapore University Press; 1983.
3. Adelina K, Wardenaar E, Sisillia L. Kajian Etnobotani dan Fisiko Kimia Kulit Kayu Leban (*Vitex pubescens* Vahl) di Desa Lape Kecamatan Kapuas Kabupaten Sangau Kalimantan Barat. J Hutan Lestari. 2014;2(1):92–9.
4. Corner. Wayside Tree of Malaya. II. Kuala Lumpur: United Selangor Press; 1988. 754 p.
5. Burkill. A Dictionary of The Economic Product of The Malay Peninsula. V. London; 1968. 198–200 p.
6. Mastura, Barus T, Marpaung L,

- Simanjuntak P. Aktivitas Antioksidan Dan Toksisitas Fraksi Etil Asetat Dari Daun Halban (*Vitex Pinnata* Linn) Asal Aceh. *Talent Conf Ser Sci Technol*. 2019;2(1):45–51.
7. Setiawati. Utilization Of Laban Wood (*Vitex Pubescens* Vahl) As Raw Materials Traditional Charcoal By Communitis ' : A Case Study At Jembayan Village East Kalimantan. *Int J Sci Technol Res*. 2017;6(02).
 8. Suksamrarn A. ECDYSTEROIDS FROM VIZ ' EX PINNATA. *Phytochemistry*. 1993;32(2):303–6.
 9. Ataa A, Mbonga N, Iversona CD, Samarasekera R. Minor Chemical Constituents of *Vitex pinnata*. *Nat Prod Commun*. 2009;4:10–3.
 10. Mastura, Barus T, Marpaung L, Simanjuntak P. SENYAWA FENOLIK DARI DAUN HALBAN (*Vitex pinnata* Linn) SEBAGAI ANTIOKSIDAN. *Pros Semin Nas Kim*. 2017;(1966).
 11. MASTURA, TONEL BARUS, LAMEK MARPAUNG PS. Isolation and Identification of Iridoid from Water Extract of Leaves of *Vitex pinnata* Linn. as Antioxidant. *Asian J Chem*. 2018;30(4):814–6.
 12. Yulianis, Hadriyati A, Sanuddin M, Putriani N, Cahyani IS, Fitriani E. Uji Kadar Polifenol , Uji Aktivitas Antioksidan Dan Tabir Surya Kulit Buah Pinang. *J Ipteks Terap*. 2020;14(2):51–9.
 13. Faskalia, Wibowo MA. SKRINING FITOKIMIA, UJI AKTIVITAS, ANTIOKSIDAN DAN UJI SITOTOKSIK EKSTRAK METANOL PADA AKAR DAN KULIT BATANG SOMA (*Ploiarium alternifolium*). *J Kim Khatulistiwa*. 2014;3(3):1–6.
 14. Julianto TS. *Fitokimia - Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia*. Yogyakarta: UII Press; 2019.
 15. Dewatisari WF, Rumiyaniti L, Rakhmawati I. Rendemen dan Skrining Fitokimia pada Ekstrak Daun *Sansevieria* sp. *J Penelit Pertan Terap*. 2017;17(3):197–202.
 16. Harbone. *Metode Fitokimia*. 1987.
 17. Carballo JL, Hernández-inda ZL, Pérez P, García-grávalos MD. A comparison between two brine shrimp assays to detect in vitro cytotoxicity in marine natural products. *BMC Biotechnol*. 2002;5:1–5.
 18. Meyer BN, Ferrigni NA, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE, Mclaughlin JL. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *J Med Plant Res*. 1982;45:31–4.
 19. Mclaughlin JL, Rogers LL, Anderson JE. THE USE OF BIOLOGICAL ASSAYS TO EVALUATE BOTANICALS. *Drug Inf J*. 1998;
 20. Hendri M, Diansyah G, Tampubolon J. Konsentrasi Letal (LC 50 -48 jam) Logam Tembaga (Cu) dan Logam Kadmium (Cd) Terhadap Tingkat Mortalitas Juwana Kuda Laut (*Hippocampus* spp). *J Penelit Sains*. 2008;13(D):26–30.
 21. Munawaroh S, Astuti P. Ekstraksi Minyak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D . C .) Dengan Pelarut Etanol dan N-Heksana. *J Kompetensi Tek*. 2010;2(1):73–8.