

**PHYTOCHEMICAL AND TOXICITY ASSAY EXTRACT CHLOROFORM OF STEM BARK OF *MELOCHIA UMBELLATA* (HOULT.) STAPF VAR. VISENIA BY USING *BHRINE SHRIMP LETHALITY TEST* METHOD**

**Uji Fitokimia dan Toksisitas Ekstrak Kloroform Kulit Batang *Melochia umbellata* (Houtt.) Stapf var. Visenia dengan Metode *Bhrine Shrimp Lethality Test* (BSLT)**

**Nur Aeni HM\*, Nunuk Hariani Soekamto, Firdaus**

*Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Hasanuddin Jl. Perintis Kemerdekaan 90245, Makassar-Indonesia*

\*Corresponding author, email: hmnuraeni@gmail.com

Received: Dec. 2016 Published: Jan. 2017

**ABSTRACT**

Paliase plants *Melochia umbellata* (Houtt.) Stapf var. Visenia is classified into species *M.umbellata* (Houtt.) Stapf which was potent to heal various of illness. The aim of this research to know secondary metabolites and its toxicity from extract chloroform stem bark of *M. umbellata* (Houtt.) Stapf var. Visenia. The step in this research were: maceration to obtain extract chloroform, phitotochemical assay to identify the group of secondary metabolites, and toxicity assay by using *Bhrine Shrimp Lethality Test* method. It was obtained 46 g of green concentrated exctract of chloroform. The result of phytochemical assay show that the extract contain steroid and alkaloid groups. The crude extract chloroform is toxic against *Artemia salina* with LC<sub>50</sub> value is 53,57 µg/ml.

**Keywords:** *Melochia umbellata*, BSLT, steroid, alkaloid, *Artemia salina*.

**PENDAHULUAN**

Berawal dari penggunaan bahan alam secara tradisional yang dipercaya dapat menyembuhkan berbagai macam penyakit sehingga menjadi kebiasaan masyarakat memanfaatkannya untuk pengobatan. Sampai saat ini, eksplorasi tumbuhan untuk pengobatan masih terus dilakukan (Rahmaniar, 1996). Salah satu tumbuhan yang dimanfaatkan secara etnobotani yaitu tumbuhan dari famili *Malvaceae*.

*Malvaceae* adalah suatu famili tumbuhan tropis Indonesia yang cukup besar dan banyak digunakan oleh masyarakat. Beberapa spesies dari tumbuhan ini telah diteliti dan diketahui mengandung banyak senyawa kimia dari berbagai golongan, antara lain minyak atsiri, fenilpropanoid, flavonoid, alkaloid, saponin, dan antrakuinon (Lalo dan Tayeb, 2003).

Paliase adalah salah satu tumbuhan yang termasuk dalam famili *Malvaceae*. Tumbuhan paliase terbagi menjadi dua spesies. Kedua spesies yang termasuk dalam famili *Malvaceae* yaitu *K. hospita* Linn dan *M. umbellata* (Houtt) Stapf. Spesies *M. umbellata* (Houtt.) Stapf terdiri atas dua varitas yaitu *M. umbellata* (Houtt.) Stapf

var. Degrabrata K dan *M. umbellata* (Houtt.) Stapf var. Visenia (Nuvita, 2006).

Menurut Erwin, dkk., (2014) ekstrak metanol dari kayu batang *M. umbellata* (Houtt.) Stapf var. Degrabrata K menghasilkan senyawa dari golongan alkaloid yang bersifat toksik terhadap *A.salina* dengan nilai LC<sub>50</sub> sebesar 1,80 µg/ml. Ekstrak metanol pada bagian jaringan kulit akar, kayu akar, kulit batang, kayu batang, dan daun dari *M. umbellata* (Houtt) stapf var.degrabrata memperlihatkan LC<sub>50</sub> masing-masing sebagai berikut: 66,22; 37,343; 30,27; 1,80 dan 84,26 µL/mL (Usman dkk., 2015).

Berdasarkan uraian tersebut, dilakukan penelitian terhadap tumbuhan visenia. *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. Visenia adalah salah satu varitas dari *M. umbellata* (Houtt) Stapf. Penelitian ini tentang uji fitokimia dan toksisitas ekstrak kloroform kulit batang *melochia umbellata* (houtt.) stapf var. visenia dengan metode *Bhrine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Uji toksisitas ini dilakukan terhadap larva udang *A. salina* (Mayer dkk., 1982). Metode ini digunakan untuk skrining awal senyawa bioaktif bahan alam karena menunjukkan adanya kolerasi dengan metode sitotoksik *in vitro* lainnya (Carballo dkk., 2002).

## METODOLOGI

### Alat dan Bahan Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah corong, corong *Buchner*, *rotary evaporator*, timbangan digital, mikropipet, mikroplate, wadah penetes, alat KLT (chambers, pipa kapiler, pensil, *cutter*, dan mistar), lampu UV.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 5 kg serbuk kulit batang tumbuhan *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia*, beberapa pelarut organik seperti metanol teknis, *n*-heksana teknis, kloroform p.a, etil asetat teknis, aseton teknis, pereaksi Liebermann-Buchard, Dragendorff, Wagner, besi (III) klorida, Cerium sulfat 2%, plat KLT (Merk Kieselgel 60 F254 0,25 mm), NaCl laut (Sigma, no. katalog S-9883), DMSO (Merck, no. katalog 802912), telur udang *A. salina* Leach.

### Prosedur Kerja

#### Preparasi Sampel

Kulit Batang *M. umbellata* (Houtt.) Stapf var. *Visenia* diperoleh dari desa Baring, Kecamatan Sigeri, kabupaten Pangkep, Sulawesi Selatan. Sampel dipotong kecil-kecil kemudian diangin-anginkan pada tempat yang tidak terkena sinar matahari. Sampel yang kering digiling hingga halus.

#### Ekstraksi

Serbuk kering Kulit Batang *M. umbellata* (Houtt.) Stapf var. *Visenia* sebanyak 5 Kg dimaserasi dengan *n*-heksana selama 1 x 24 jam beberapa kali. Kumpulan maserat yang diperoleh selanjutnya dipekatkan, sedangkan residu dimaserasi lebih lanjut dengan pelarut kloroform sehingga diperoleh ekstrak kloroform. Ekstrak kasar selanjutnya dilakukan uji fitokimia.

#### Uji Toksisitas

Ekstrak kloroform yang diperoleh diuji aktivitasnya terhadap larva udang *A. salina* dengan metode BSLT.

##### a. Penyemaian Benur Udang *A. salina*

Sebanyak 15 mg telur udang *A. salina* dimasukkan ke dalam wadah yang berisi air laut dan diaerasi dibawah cahaya lampu pijar 40-60

watt. Lampu dinyalakan selama 48 jam hingga telur *A. salina* menetas menjadi larva.

##### b. Penyiapan sampel

Sebanyak 1,0 mg sampel dilarutkan dengan 100  $\mu$ L DMSO kemudian diencerkan dengan 150  $\mu$ L aquades sehingga volume total menjadi 250  $\mu$ L. Pengenceran dan pengukuran dilakukan triplo dalam mikroplate dengan deret konsentrasi 500  $\mu$ g/mL; 125  $\mu$ g/mL; 31,25  $\mu$ g/mL; dan 7,81  $\mu$ g/mL.

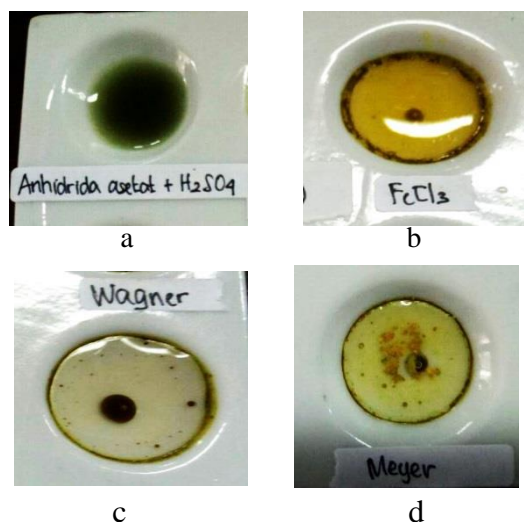
##### c. Pelaksanaan Uji Toksisitas

Larva *A. salina* sebanyak 7-15 ekor yang sudah menetas dimasukkan kedalam lubang baris mikroplate dengan konsentrasi yang berbeda dan diinkubasikan selama 24 jam. Setelah 24 jam, jumlah *A. salina* yang mati dan hidup pada mikroplate dihitung untuk memperoleh data LC<sub>50</sub>.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Tumbuhan *M. umbellata* (Houtt.) Stapf var. *Visenia* merupakan tumbuhan yang memiliki bentuk daun berlekuk, daun berwarna hijau tua, berbulu halus rapat, dan warna bunga merah kecubung. Tumbuhan *Visenia* adalah salah satu varitas dari *M. umbellata* (Houtt) Stapf yang termasuk famili Malvaceae. Tumbuhan ini memiliki nama daerah yang berbeda beda yakni masyarakat Sulawesi Selatan dengan sebutan daun Pali. Umumnya digunakan sebagai obat penyakit dalam, hipertensi, diabetes dan penyakit liver.

Berdasarkan hasil pengujian beberapa pereaksi, maka diperoleh beberapa pengujian yang positif. Ekstrak kental diuji dengan pereaksi Liebermann-Burchard menunjukkan hasil yang positif yang memberikan hasil berwarna hijau. Hal ini menunjukkan bahwa dalam ekstrak kental ini terdapat senyawa golongan steroid yang memberikan perubahan menjadi hijau, pereaksi Wagner untuk menguji adanya senyawa golongan alkaloid yang memberikan hasil positif dengan terbentuknya endapan coklat, dan pereaksi Wagner untuk mengidentifikasi alkaloid juga memberikan hasil positif dengan terbentuknya endapan putih. Sedangkan pereaksi FeCl<sub>3</sub> 1% menunjukkan hasil yang negatif karena tidak terjadinya perubahan warna pada sampel.



Gambar 1. Uji Fitokimia Ekstrak Kloroform; (a). Liebermann-Burchard, (b). FeCl<sub>3</sub>, (c). Wagner, (d). Meyer.

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Kloroform Kulit Batang *M. umbellata* (Houtt.) Stapf var. *Visenia*

| Pereaksi            | Hasil                   | Keterangan  |
|---------------------|-------------------------|-------------|
| Liebermann-Burchard | Warna hijau tua         | + Steroid   |
| FeCl <sub>3</sub>   | Warna kuning kecoklatan | - Flavonoid |
| Wagner              | Endapan coklat          | + Alkaloid  |
| Meyer               | Endapan putih           | + Alkaloid  |

Berdasarkan pengujian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak kloroform kulit batang *M. umbellata* (Houtt.) Stapf var. *Visenia* positif mengandung beberapa jenis senyawa metabolit sekunder diantaranya, golongan steroid dan alkaloid yang dapat dilihat dalam Tabel 1.

Tabel 2. Hasil Uji Toksisitas Ekstrak Kloroform Kulit Batang *M. umbellata* (Houtt.) Stapf var. *Visenia*

| Sampel            | Konsentrasi (µg/mL) | Log Kons | Replika 1 |      | Replika 2 |      | Replika 3 |      | % Mortalitas | Probit | LC50  |
|-------------------|---------------------|----------|-----------|------|-----------|------|-----------|------|--------------|--------|-------|
|                   |                     |          | Hidup     | Mati | Hidup     | Mati | Hidup     | Mati |              |        |       |
| Ekstrak kloroform | 500                 | 2.70     | 0         | 12   | 0         | 10   | 0         | 9    | 100          | 8.09   |       |
|                   | 250                 | 2.40     | 2         | 12   | 2         | 9    | 1         | 11   | 91           | 6.34   |       |
|                   | 125                 | 2.10     | 1         | 6    | 2         | 8    | 2         | 8    | 81           | 5.88   | 53.57 |
|                   | 62.5                | 1.80     | 3         | 5    | 4         | 6    | 5         | 2    | 59           | 5.23   |       |
|                   | 31.25               | 1.49     | 5         | 3    | 7         | 3    | 5         | 2    | 32           | 4.53   |       |

Ekstrak kloroform yang diuji terhadap *A. salina* dilakukan dengan tiga kali pengulangan pada masing-masing konsentrasi yang berbeda. Hasil pengujian menunjukkan efek kematian sebesar 100 % pada konsentrasi 500 µg/mL, 91% pada konsentrasi 250 µg/mL, 81%, dan 59% pada konsentrasi 125 µg/mL dan 62,5 µg/mL,

serta efek kematian sebesar 32% pada konsentrasi 31,25 µg/mL.

Ekstrak kloroform selanjutnya diuji toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Metode ini digunakan sebagai skrining awal terhadap senyawa bioaktif yang terdapat dalam ekstrak tumbuhan. Pengujian ini dilakukan terhadap larva *A. salina*. Hasil uji toksisitas ekstrak kloroform kulit batang *M. umbellata* (Houtt.) Stapf var. *Visenia* dapat dilihat pada tabel 2.

Hasil analisa probit menunjukkan ekstrak kloroform bersifat toksik dengan nilai LC<sub>50</sub> sebesar 53,57 µg/mL. Menurut Anderson, dkk., (1990) ekstrak atau senyawa yang tergolong aktif (toksik) terbagi menjadi dua kategori, yaitu toksisitas tinggi dengan nilai LC<sub>50</sub> < 100 µg/mL dan toksisitas rendah dengan nilai LC<sub>50</sub> >100 µg/mL. Hal ini membuktikan adanya kandungan metabolit sekunder pada ekstrak kloroform kulit batang *M. umbellata* (Houtt.) Stapf var. *Visenia* yang aktif terhadap *A. salina*.

## KESIMPULAN

Ekstrak kloroform kulit batang *M. umbellata* (Houtt.) Stapf var. *Visenia* mengandung senyawa steroid dan alkaloid serta bersifat toksik terhadap *A. salina* dengan nilai LC<sub>50</sub> sebesar 53,57 µg/mL.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anderson, J.E., Goetz, C.M., McLaughlin, J.L., 1990, A Blind Comparison of Simple Bench-top Bioassays and Human Tumour Cell Cytotoxicities as Antitumor Prescreen, *Phytochemical Analysis* 6, 107-111.
- Carballo, J.L., Hernandez-Inda, Z.L., Perez, P., Garcia-Gravalos, M.D., 2002, A Comparison Between Two Brine Shrimp Assays to Detect in Vitro Cytotoxicity in Marine Natural Products, *BMC Biotechnology*, 2(17), 1-5.
- Erwin, Alfian, N., Soekamto, N.H., Altena. I.V., and Syah, Y.N., 2014, Waltherton C and Cleomiscosin From *Melochia umbellata* var *Degrabrata* K. (*Malvaceae*), Biosynthetic and Chemotaxonomic, Significance, *Biochemical Systematic and Ecology*, 55, 358-361.
- Lalo dan Tayeb, 2003., Efek Ekstrak Methanol Paliasa Jenis *Kleinhovia hospita*, *Melochia umbellata* var. *Degrabrata* dan *Melochia umbellata* var. *Visenia* terhadap Fungsi Hati

- Mencit yang Diinduksi dengan Karbon Tetraklorida, *Majalah Farmasi dan Framakologi*, 8(2), 25-32.
- Mayer, B.N., Ferrigny, N.R., and Putnam, J.L., 1982, Brine Shrimp, A Convenient Generan Bioassay for Actpive Plant Constituent, *Journal of Medical Plant Research*, 45, 31-34.
- Nuvita, T., 2006, *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Paliasa Terhadap Radikal Bebas Penyebab Penyakit Degeneratif*, Tesis tidak diterbitkan, Program Studi Biomedik/farmakologi PPS UNHAS, Makassar,
- Rahmaniar, 1996. *Produk Alam Laut Sebagai Lead Compound untuk Farmasi dan Pertanian*. Makalah pada Seminar Perspektif Baru dalam Drug Discovery. Ujung Pandang 26 Oktober 1996.
- Usman, Soekamto, N.H., Usman, H., Ahmad, A., 2015, Senyawa Turunan Oleanan dan Kulit Batang *Melochia umbellata* (Houut) Stapf var. *Degrabrata* K. dan Bioaktivitasnya. *Seminar Nasional Kimia Dan Pendidikan Kimia VII*, Surakarta 18 April.