

**PHYTOCHEMICAL AND TOXICITY ASSAY EXTRACT ETHYL ACETATE OF
Melochia umbellata (Houtt) Stapf. var. *Visenia* BY *Brine Shrimp Lethality*
Test METHOD**

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

Fauziah Ahmad*, Nunuk Hariani Soekamto, Firdaus

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

*Corresponding author, phone: 085239686637, email: auzhyahmad@gmail.com

Received: Dec.2016 Published: Jan. 2017

ABSTRACT

Melochia umbellata (Houtt) Stapf. var. *Visenia* is plant species included in Malvaceae family. This species is known as paliasa and used as traditional medicine by the people of South Sulawesi. This study aimed to determine the secondary metabolites by reagents and toxicity characteristic testing from bark extract of *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf. var. *Visenia* using *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) method. The extract was prepared by maceration ethyl acetate. Phytochemical test result showed that the ethyl acetate extract was containing the steroid compound, alkaloids and terpenoids. Toxicity test performed by shrimp *Artemia salina* Leach larvae was at 48 hours. The toxic effects of the extract were identified by the percentage of the number of shrimp larvae mortality using probit value analysis (LC₅₀). The toxicity test of bark *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf. var. *Visenia* extract showed that the ethyl acetate extract is toxic to *A. salina* LC₅₀ = 54,55 mg / mL.

Keywords: *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf. var. *Visenia*, alkaloid, terpenoid, steroid, *Artemia salina* Leach

PENDAHULUAN

Salah satu tanaman yang biasa digunakan sebagai obat tradisional oleh masyarakat Sulawesi Selatan adalah paliasa. Tumbuhan paliasa merupakan salah satu tumbuhan yang termasuk dalam famili Malvaceae (Raflizar, dkk., 2006). Tumbuhan ini terdiri atas tiga jenis tumbuhan yang berbeda yaitu *Kleinhovia hospita* Linn dari genus *Kleinhovia*, *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Degrabrata* dan *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia* dari spesies *M. umbellata* (Houtt) Stapf dan genus *Melochia* (Tayeb, dkk., 2008).

Semua bagian dari tumbuhan paliasa yang terdiri atas jaringan kulit akar, kayu akar, kulit batang, kayu batang, dan daun telah banyak diteliti. Secara umum kulit tumbuhan paliasa mengandung minyak atsiri, triterpenoid, senyawa sianogenik, asam lemak, skopoletin, kuersetin, dan keampferol (*Philippine Medicinal Plants*, 2013). Sementara ekstrak metanol kulit batang tumbuhan *M. umbellata* mengandung senyawa golongan alkaloid, flavonoid, terpenoid, fenolik, dan saponin (Usman, dkk., 2012).

Hasil uji toksisitas ekstrak metanol pada bagian jaringan kulit akar, kayu akar, kulit

batang, kayu batang, dan daun dari *M. umbellata* (Houtt) stapf var. *Degrabrata* terhadap benur udang *A. salina* memperlihatkan nilai LC₅₀ masing-masing sebagai berikut; 66,22; 37,343; 30,27; 1,80 dan 84,26 µg/mL. Hasil ini menunjukkan ekstrak kayu batang dan kulit batang *M. umbellata* (Houtt) stapf var. *Degrabrata* merupakan bagian yang paling aktif dibandingkan bagian jaringan lainnya (Erwin, dkk., 2009). Hal tersebut mendasari sehingga salah satu jaringan tumbuhan *M. umbellata* yang akan dipilih pada penelitian ini adalah jaringan kulit batang.

Penelitian terhadap ekstrak n-heksan kulit batang *M. umbellata* (Houtt) stapf var. *Degrabrata* memiliki bioaktivitas antibakteri terhadap *Bacillus subtilis* dan antijamur terhadap *Candida albicans* (Usman, dkk., 2014). Ekstrak etil asetat kulit batang *M. umbellata* (Houtt) stapf var. *Degrabrata* sangat aktif terhadap larva udang *A. salina* Leach dengan nilai LC₅₀ 405,58 µg/mL juga memiliki bioaktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (Usman, dkk., 2014). Senyawa turunan steroid telah diisolasi dari kayu akar *M. umbellata* yaitu stigmasterol (5,22-stigmastadien-3β-ol) dari fraksi n-heksan

yang aktif terhadap jamur *Aspergillus niger* dengan zona penghambatan sebesar 13,03 mm pada konsentrasi 50 mg/mL (Ridhay, dkk., 2012), sedangkan ekstrak metanol kulit akar *M. umbellata* (Houtt.) Stapf var. *degrabrata* bersifat toksik terhadap *A. salina* dengan nilai LC_{50} sebesar 66,22 ppm. Ekstrak etil asetat daun *M. umbellata* aktif terhadap *A. salina* L. dengan nilai LC_{50} 0,9517 $\mu\text{g/mL}$. (Ahmad, A., 2013). Beberapa penelitian terhadap ekstrak tertentu dari tumbuhan *M. umbellata* (Houtt) stapf var. *Degrabrata* serta berbagai bioaktivitasnya telah dilaporkan, tetapi penelitian terhadap *M. umbellata* (Houtt) stapf var. *Visenia* belum pernah dilakukan.

Pada penelitian telah dilakukan penelitian tentang toksisitas ekstrak dari jaringan kulit batang *M. umbellata* (Houtt) stapf var. *Visenia* dengan menggunakan metode BSLT yaitu, suatu metode uji toksisitas terhadap larva *A. Salina* yang dianalogikan dengan kemampuan suatu bahan obat yang memiliki efek antikanker. Metode ini digunakan untuk skrining awal senyawa bioaktif bahan alam karena menunjukkan adanya korelasi dengan metode sitotoksik in vitro lainnya (Carballo, dkk., 2002).

METODOLOGI

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan di dalam penelitian ini adalah 5 kg serbuk kulit batang tumbuhan *M. umbellata* var. *Visenia*, pelarut etil asetat digunakan untuk ekstraksi dan kromatografi, plat KLT (merk Kieselgel 60 F254 0,25 mm), NaCl laut (Sigma, no. katalog S-9883), DMSO (Merk, no. katalog 802912), dan telur udang *A. salina* Leach serta beberapa pereaksi untuk uji fitokimia.

Alat

Alat yang digunakan adalah alat-alat gelas, plat tetes, corong Buchner, rotary evaporator, timbangan digital, pompa vakum, lampu UV 254 nm, dan wadah penetasan.

Prosedur Kerja

Preparasi Sampel

Kulit batang tumbuhan *M. umbellata* (Houtt) stapf var. *Visenia* diperoleh dari desa Baring, kecamatan Sigeri, kabupaten Pangkep, Sulawesi Selatan dipotong kecil-kecil kemudian

dikeringkan dengan cara diangin-anginkan di tempat yang tidak terkena sinar matahari. Setelah kering sampel digiling hingga halus.

Ekstraksi

Sebanyak 5 kg kulit batang *M. umbellata* (Houtt) stapf var. *Visenia* dimaserasi dengan pelarut etil asetat selama tiga kali 24 jam. Ekstrak etil asetat yang diperoleh kemudian dipekatkan. Selanjutnya dilakukan uji fitokimia terhadap ekstrak yang diperoleh.

Uji Toksisitas

Ekstrak etil asetat kulit batang *M. umbellata* (Houtt) stapf var. *Visenia* selanjutnya 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 μL DMSO kemudian diencerkan dengan 150 μL aquades hingga volume total menjadi 250 μL . Pengenceran dan pengukuran dilakukan triplo dalam mikropate dengan deret konsentrasi 500, 250, 125, 62.5, dan 31.25 $\mu\text{g/mL}$.

c. Pelaksanaan Uji Toksisitas

Larva *A. Salina* sebanyak 7-15 ekor yang sudah menetas dimasukkan kedalam lubang baris mikropate dengan konsentrasi yang berbeda dan diinkubasi selama 24 jam. Setelah 24 jam, jumlah *A. Salina* yang mati dan hidup pada mikropate dihitung untuk memperoleh nilai LC_{50}

HASIL DAN PEMBAHASAN

Melochia umbellata (Houtt) stapf var. *Visenia* merupakan salah satu tumbuhan yang termasuk dalam famili Malvaceae yang biasa digunakan sebagai obat tradisional oleh masyarakat Sulawesi Selatan yang dikenal dengan nama tumbuhan paliasa. Tumbuhan ini terdiri atas tiga jenis tumbuhan yang berbeda yaitu *Kleinhovia hospita* Linn dari genus

Kleinhovia, *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Degrabrata* dan *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia* dari spesies *M. umbellata* (Houtt) Stapf dan genus *Melochia*.



Gambar 1. Tumbuhan *M. umbellata* (Houtt) stapf var. *Visenia*

Pada penelitian ini yang diambil sebagai sampel adalah bagian kulit batang. Berdasarkan hasil uji toksisitas ekstrak metanol pada bagian jaringan kulit akar, kayu akar, kulit batang, kayu batang, dan daun dari *M. umbellata* (Houtt) stapf var. *Degrabrata* terhadap benur udang *Artemia salina* Leach memperlihatkan nilai LC_{50} masing-masing sebagai berikut; 66,22; 37,343; 30,27; 1,80 dan 84,26 $\mu\text{g/mL}$.

Hasil ini menunjukkan ekstrak kulit batang *M. umbellata* (Houtt) stapf var. *Degrabrata* merupakan bagian kedua yang paling aktif dibandingkan bagian jaringan lainnya (Erwin, dkk., 2009). Ekstrak etil asetat yang diperoleh dari maserasi kulit batang *M. umbellata* (Houtt) stapf var. *Visenia* sebanyak 8,51 g. Selanjutnya ekstrak diuji fitokimia dengan beberapa pereaksi yaitu pereaksi Libermann-Burchard untuk mengetahui golongan senyawa steroid dan terpenoid, pereaksi Meyer untuk mengetahui

golongan senyawa alkaloid sedangkan pereaksi FeCl_3 untuk mengetahui golongan senyawa flavonoid.

Tabel 1. Hasil Uji fitokimia ekstrak kulit batang *M. umbellata* (Houtt) stapf var. *Visenia*.

Ekstrak	Steroid	Terpenoid	Flavonoid	Alkaloid
Etil asetat	+	+	-	+

Adapun hasil uji fitokimia ekstrak kulit batang seperti yang terlihat pada Tabel 1. Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat mengandung senyawa golongan terpenoid, steroid dan alkaloid. Pereaksi Libermann Burchard merupakan uji positif golongan senyawa steroid/terpenoid yaitu perubahan warna merah (terpenoid) dan hijau tua (steroid).



Libermann-Burchard

Mayer

FeCl_3

Gambar 2. Hasil uji fitokimia ekstrak kulit batang *M. umbellata* (Houtt) stapf var. *Visenia*

Pereaksi Mayer uji positif senyawa golongan alkaloid adanya endapan putih sedangkan FeCl_3 untuk uji positif golongan flavonoid berwarna hijau kehitaman, tetapi pada hasil uji berwarna kuning menunjukkan bahwa negatif mengandung flavonoid.

Uji toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) merupakan praskrining

Tabel 2. Hasil uji toksisitas ekstrak kulit batang *M. umbellata* (Houtt) stapf var. *Visenia* dengan metode *BSLT*

Sampel	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Log Kons	Replika 1		Replika 2		Replika 3		% Mortalitas	Probit	LC_{50}
			Hidup	Mati	Hidup	Mati	Hidup	Mati			
Ekstrak etil asetat	500	2.70	0	8	0	7	0	11	100	8.09	
	250	2.40	1	8	0	7	0	8	96	6.75	
	125	2.10	4	7	3	10	2	6	72	5.59	54.55
	62.5	1.80	5	7	4	4	5	6	55	5.13	
	31.25	1.49	5	2	5	3	5	3	35	4.61	

terhadap senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak tanaman. Hasil uji toksisitas ekstrak kulit batang *M. umbellata* (Houtt) stapf var. Visenia dengan metode BSLT terlihat pada Tabel 2.

Uji *A. salina* dengan ekstrak etil asetat dilakukan dengan tiga kali pengulangan pada masing-masing konsentrasi 500, 250, 125, 62.5, dan 31.25 µg/mL. Pada Tabel 2 diketahui bahwa semakin rendah konsentrasi ekstrak maka semakin kecil pula efek kematian pada *A. Salina* yakni 34,78 % dan pada kematian 100% ditunjukkan pada konsentrasi 500 µg/mL.

Hasil analisa probit pengujian toksisitas ekstrak etil asetat diperoleh nilai $LC_{50} = 54,55$ µg/mL. Menurut Meyer (1982), ekstrak dianggap toksik apabila memiliki nilai $LC_{50} < 1000$ µg/mL. Berdasarkan batasan tersebut maka dapat dinyatakan bahwa ekstrak etil asetat bersifat toksik.

KESIMPULAN

Ekstrak etil asetat dari kulit batang *M. umbellata* (Houtt) stapf var. Visenia mengandung senyawa golongan steroid, terpenoid dan alkaloid serta bersifat toksik terhadap *Artemia Salina* dengan nilai $LC_{50} = 54,55$ µg/mL.

DAFTAR PUSTAKA

Ahmad, asbullah. 2013. *Isolasi Metabolit Sekunder Dari Fraksi Ekstrak Etil Asetat Daun Melochia Umbellata Yang Aktif Terhadap Larva Udang Artemia Salina Leach*. Skripsi tidak diterbitkan. Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin; Makassar.

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, Noor, A., Soekamto, N.H., Harlim T. 2009, β-Sitosterol sebagai Komponen Utama pada Fraksi Heksan Kayu Batang *Melochia umbellata* (Houtt). Stapf var. Degabrata K. (Paliasa), *Journal Kimia Mulawarman*, Vol. 6, No. 2, Mei 2009. Kimia FMIPA Unmul.

Meyer, B.N., Ferrigni, N.R., Putnam, J.E., Jacobson, L.B., Nichols, D.E., McLaughlin, J.L., 1982, Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents, *Plant. Med.* 45, 31-4

Rafliizar, Adimunca, C., dan Tuminah, S., 2006, Dekok Daun Paliasa (*Kleinhovia hospita* Linn.) Sebagai Obat Radang Hati Akut, *Cermin Dunia Kedokteran*, 50, 10-14

Philippine Medicinal Plants, "Tan-nag/*Kleinhovia hospita* Linn. Guest Tree, Alternative Medicine in the Philippines", available at <http://www.stuartxchange.com/Tan-ag.html>, April, 1, 2013.

Ridhay, A., Noor, A., Soekamto, N. H., et al., 2012, A Stigmasterol Glycoside from the Root Wood of *Melochia umbellata* (Houtt) stapf var. degrabrata K., *Indonesian Journal of Chemistry*, 12(1), 100-103.

Tayeb, R., Rahim, A., Alam, G., Wahyuono, S., dan Hartati, M.S. 2007, Fraksinasi Senyawa Antikanker Daun Paliasa (*Melochia umbellata* (Houtt) Staff Var. Deglabrata, *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, 11, 61-71.

Usman, Soekamto, N.H., Usman, H., dan Ahmad, A., 2012, Uji Fitokimia dan Antibakteri dari Ekstrak Metanol Kulit Batang *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. Degabrata Terhadap Bakteri Patogen, *Jurnal Kimia Sains*, 6(1), 30-33.