

# UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK PARTISI AKAR PARANG ROMANG (*Boehmeria virgata* (Forst) Guill) TERHADAP LARVA *Artemia salina* Leach DENGAN METODE BRINE SHRIMPS LETHALITY TEST

M. Rusdi<sup>1</sup>, Kurnia Ayu<sup>2</sup>, Sitti Fauziah Noer<sup>2</sup>, Hasyim Bariun<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Farmasi FKIK, Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar

<sup>2</sup>Jurusan Farmasi FMIPA, Universitas Islam Makassar

Email : muhammad.rusdi@uin-alauddin.ac.id

## ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang uji toksisitas akut ekstrak partisi akar parang romang (*Boehmeria virgata* (Forst) Guill) terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan metode Brine Shrimps Lethality Test. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi toksisitas dari ekstrak n-Hexan, Etil asetat dan Etanol 70% akar parang romang terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan menentukan nilai LC<sub>50</sub>-nya dan mengidentifikasi golongan senyawa yang terkandung didalamnya. Simplisia akar parang romang diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Selanjutnya ekstrak kental dipartisi dengan menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat, dan etanol 70%. Masing-masing ekstrak diuji aktivitasnya terhadap larva *Artemia salina* Leach. Selanjutnya pada ekstrak yang terbukti aktif dilakukan identifikasi golongan senyawa yang terkandung didalamnya menggunakan kromatografi lapis tipis dan penyemprotan pereaksi golongan senyawa. Hasil analisis data menunjukkan nilai LC<sub>50</sub> ekstrak n-heksan, etil asetat dan etanol 70% akar *Boehmeria virgata* (Forst) Guill berturut-turut sebesar 7,7321; 6,3212 dan 5,2432 µg/mL. Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak partisi akar parang romang bersifat toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach. Hasil identifikasi senyawa aktif menunjukkan ekstrak n-heksan dan etil asetat mengandung senyawa golongan terpenoid dan alkaloid. Ekstrak etanol 70% mengandung senyawa golongan fenolik, flavonoid dan alkaloid.

**Kata Kunci** : Uji Toksisitas, Akar Parang Romang, Brine Shrimp Letality Test, Identifikasi

## PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara beriklim tropis yang memiliki sumber daya alam hayati yang sangat beranekaragam. Sumber daya alam hayati ini merupakan sumber senyawa kimia yang tak terbatas jenis maupun jumlahnya. Keanekaragaman kimiawi ini mampu menghasilkan bahan-bahan kimia, baik untuk kebutuhan manusia maupun organisme lain salah satunya sebagai sumber obat-obatan (Achmad,1986).

Salah satu tumbuhan endemik yang dimanfaatkan masyarakat sebagai bahan obat adalah Parang romang

(*Boehmeria virgata* (Forst) Guill). Marianti Manggau, dkk (2011), menyatakan bahwa masyarakat Tana Toraja (Sulawesi Selatan) menggunakan tanaman ini terutama bagian daunnya sebagai obat kanker. Tumbuhan ini tumbuh di daerah-daerah pegunungan seperti Sinjai, Malino, Maros dan Enrekang (Rusdi, 2014). Manfaat daunnya telah banyak dibuktikan secara ilmiah dan terbukti aktif terhadap sel kanker, bahkan sudah dibuat menjadi gel anti kanker serviks untuk dioleskan di vagina (Manggau, 2011). Sedangkan pemanfaatan bagian lain dari tanaman ini

terutama akarnya masih terbatas yang dilaporkan. M. Rusdi (2014), melakukan penelitian terhadap akar tanaman ini yang menunjukkan hasil bahwa ekstrak etanol 96% akar *Boehmeria virgata* (Forst) Guill memiliki efek toksisitas terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan nilai LC<sub>50</sub> sebesar 13,095 µg/mL.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi toksisitas ekstrak partisi (n-Hexan, Etil asetat dan Etanol 70%) akar *Boehmeria virgata* (Forst) Guill terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan metode BSLT dan mengidentifikasi golongan senyawa yang terdapat dalam ekstrak partisi yang aktif.

Penelitian menggunakan *Artemia salina* Leach memiliki beberapa keuntungan antara lain cepat, murah, mudah dan sederhana (Wibowo,2013). Metode pengujian BST dengan menggunakan *Artemia salina* Leach dianggap memiliki korelasi dengan daya sitotoksik senyawa-senyawa antikanker, sehingga sering dilakukan untuk skrining awal pencarian senyawa antikanker (Meyer, 1982). Pengujian menggunakan BSLT diterapkan dengan menentukan nilai Lethal Concentration 50% (LC<sub>50</sub>) setelah perlakuan 24 jam (Wibowo, 2013).

## METODE PENELITIAN

### A. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah aerator, chamber, corong buchner, lampu pijar, lampu UV

254 dan 366 nm, mikropipet, *rotary evaporator*, Seperangkat alat maserasi, seperangkat alat uji BSLT, seperangkat alat sentrifuge, timbangan analitik dan vial 10 ml.

Bahan-bahan yang digunakan adalah air laut, akar Parang Romang (*Boehmeria virgata*), etanol 70%, etil asetat, kertas saring whatmen, lempeng silica gel F<sub>254</sub>, metanol, n-heksan, pereaksi AlCl<sub>3</sub> 5%, dragendorf, FeCl<sub>3</sub> 5%, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10%, Lieberman Bouchard, ragi, dan larva *Artemia salina* Leach.

### B. Ekstraksi

Sampel akar Parang romang (*Boehmeria virgata* (Forst) Guill) diperoleh di Desa Ale Kappang (Camba) Kabupaten Maros. Ditimbang 250 g simplisia akar *Boehmeria Virgata* (Forst) Guill, dimasukkan dalam wadah maserasi kemudian ditambahkan etanol 96 % dan dibiarkan selama 2 hari pada temperatur kamar terlindung dari cahaya sambil sesekali diaduk, lalu disaring. Perlakuan maserasi diulang hingga 3 kali dengan menggunakan pelarut yang sama. Ekstrak yang diperoleh dikumpulkan lalu diuapkan dengan *rotaryevaporator* sampai diperoleh ekstrak pekat, selanjutnya diuapkan sampai kental. Ekstrak etanol 96% kental yang diperoleh kemudian disimpan dalam desikator hingga diperoleh ekstrak kering. Ekstrak kering tersebut kemudian ditimbang untuk mengetahui rendamennya.

### C. Partisi

Ditimbang ekstrak sebanyak 4 g didalam Erlenmeyer 250 mL dan ditambahkan pelarut n-heksan sebanyak 100 mL, dilarutkan dengan cara pengadukan menggunakan bantuan alat stirer. Setelah itu dipisahkan antara residu (ekstrak yang tidak larut dengan n-heksan) dan filtrat yang didapatkan. Filtrat dituang dan dienaptuangkan, kemudian disentrifuse. Sisa ekstrak ditambahkan lagi pelarut n-heksan dan proses tersebut diulang sebanyak 5 kali. Setelah proses partisi untuk pelarut n-heksan selesai, dilakukan proses partisi untuk pelarut etil asetat. Pelarut etil asetat ditambahkan pada sisa ekstrak yang tidak larut dengan n-heksan dengan volume yang sama dan prosedur kerja yang sama. Prosedur yang sama juga dilakukan untuk pelarut etanol 70%. Seluruh ekstrak cair untuk masing-masing pelarut disatukan dan pelarutnya dibiarkan menguap hingga diperoleh ekstrak kental yang selanjutnya disimpan dalam desikator hingga didapatkan ekstrak kering untuk masing-masing pelarut. Ekstrak kering yang diperoleh ditimbang beratnya..

### D. Penyiapan Larva Uji

Disiapkan sebuah bejana penetas yang disekat sehingga memiliki dua sisi ruang, yaitu satu bagian dibuat gelap dan satu bagian dibuat terang. Telur *Artemia salina* Leach dimasukkan dalam wadah tersebut dan ditetaskan selama 48 jam sebelum dilakukan uji, penetasan

dilakukan dengan cara merendam telur tersebut dalam air laut yang telah dibebas protozoakan dengan penyaringan dan telah disterilkan menggunakan autoklaf. Digunakan air laut  $\pm$  1000 mL pada kondisi ph 7-8 dibawah cahaya lampu pijar 60 watt dan pada suhu kamar yang dilengkapi dengan aerator.

### E. Uji toksisitas

Ekstrak n-heksan, etil asetat dan etanol 70% masing-masing ditimbang sebanyak 40,6 mg, 32,5 mg, dan 48,3 mg. Untuk membuat larutan stok dengan konsentrasi 10000 ppm masing-masing ekstrak dilarutkan dengan DMSO sebanyak 200  $\mu$ L yang ditambahkan 3.860  $\mu$ L n-heksan untuk ekstrak n-heksan, 3.050  $\mu$ L etil asetat untuk ekstrak etil asetat dan 4.630 etanol 70% untuk ekstrak etanol 70%. Kemudian dari setiap larutan stok tersebut dipipet sebanyak 500  $\mu$ L, 50  $\mu$ L, dan 5  $\mu$ L untuk mendapatkan konsentrasi 1000, 100, dan 10 ppm dalam 5 mL larutan. Untuk konsentrasi 1 ppm diperoleh dari larutan yang dipipet sebanyak 50  $\mu$ L dari larutan stok 100 ppm yang dibuat dengan mengambil larutan stok awal sebanyak 10  $\mu$ L dan ditambahkan dengan tiap pelarut ekstrak hingga 1 mL dan masing-masing dimasukkan dalam vial, diuapkan pelarutnya selama 24 jam. Setelah pelarut habis menguap, ke dalam masing-masing vial ditambahkan 50  $\mu$ L DMSO dan 1 mL air laut. Selanjutnya dimasukkan 10 ekor larva *Artemia salina* Leach yang diambil

secara acak dan 3 tetes suspensi ragi fermipan ke dalam masing-masing vial dan ditambahkan lagi air laut sampai volumenya 5 mL, sebagai kontrol digunakan air laut ditambah dengan DMSO 50  $\mu$ L. Kemudian vial-vial ini disimpan ditempat yang cukup mendapat cahaya lampu selama 24 jam. Dilakukan pengamatan setelah 24 jam terhadap kematian larva udang. Kriteria standar untuk menilai kematian larva udang adalah bila larva udang tidak menunjukkan pergerakan selama beberapa detik observasi. Dihitung jumlah larva yang mati untuk tiap ekstrak. Dilakukan replikasi atau pengulangan sebanyak 3 kali

#### F. Identifikasi Golongan Senyawa

Kromatogram atau lempeng diamati di bawah UV 254 dan 366 nm kemudian disemprot dengan menggunakan pereaksi penampak noda antara lain sebagai berikut (Harborne,1984) :

##### Alkaloid

Pereaksi yang digunakan yaitu Dragendorf, jika sampel positif mengandung alkaloid, maka timbul warna jingga dengan latar belakang kuning.

##### Terpenoid

Pereaksi yang digunakan Liebermann-Burchard atau pereaksi Salkowski. Kromatogram terlebih dahulu dipanaskan, kemudian diamati di lampu UV 366 nm, munculnya noda berfluoresensi coklat atau biru

menunjukkan adanya triterpen, sedangkan munculnya warna hijau kebiruan menunjukkan adanya steroid.

##### Flavanoid

Pereaksi yang digunakan yaitu *Aluminium Klorida* diamati di lampu UV 366 nm, jika sampel mengandung senyawa flavanoid maka noda akan berfluoresensi kuning.

##### Fenol

Pereaksi yang digunakan Besi (III) Klorida, jika sampel positif mengandung fenol akan dihasilkan warna hijau atau biru.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil rendemen ekstrak etanol akar *Boehmeria virgata* (Forst) Guill) dilihat pada tabel 1 di bawah ini:

**Tabel 1.** Hasil perhitungan rendemen ekstrak etanol akar *Boehmeria virgata* (Forst) Guill).

Sampel	Berat Sampel (g)	Berat Ekstrak (g)	Persen Rendemen (%)
Akar Parang romang	250	12,5165	5,007

Hasil penimbangan berat ekstrak hasil partisi ekstrak etanol akar *Boehmeria virgata* (Forst) Guill) dilihat pada tabel 2 di bawah ini:

**Tabel 2.** Hasil penimbangan berat ekstrak hasil partisi ekstrak etanol akar *Boehmeria virgata* (Forst) Guill).

Ekstrak Partisi	Berat Total (g)	Berat untuk Pengujian (mg)
n-Heksan	1,8750	40,6
Etil Asetat	0,1418	32,5
Etanol 70%	1,9327	48,3

Hasil analisis data efek toksisitas akut masing-masing ekstrak partisi akar *Boehmeria virgata* (Forst) Guill) terhadap larva *Artemia salina* Leach setelah 24 jam perlakuan dapat dilihat pada tabel 3, 4 dan 5 di bawah ini :

**Tabel 3.** Hasil analisis data efek toksisitas akut ekstrak n-heksan akar *Boehmeria virgata* (Forst) Guill) terhadap larva *Artemia salina* Leach setelah 24 jam perlakuan.

Konsentrasi (µg/mL)	Log Konsentrasi	Jumlah Kematian Larva			Total Larva		% Kematian	Nilai Probit
		V1	V2	V3	Uji	Mati		
1000	3	10	10	10	30	30	100	8,09
100	2	7	9	8	30	24	80	5,84
10	1	5	4	6	30	15	50	5,00
1	0	2	2	2	30	6	20	4,16
Pers. Regresi		$y = 1,263x + 3,878 ; R^2 = 0,930$						
Nilai LC <sub>50</sub>		7,7321 µg/mL						

Keterangan: V = Vial

**Tabel 4.** Hasil analisis data efek toksisitas akut ekstrak etil asetat akar *Boehmeria virgata* (Forst) Guill terhadap larva *Artemia salina* Leach setelah 24 jam perlakuan.

Konsentrasi (µg/mL)	Log Konsentrasi	Jumlah Kematian Larva			Total Larva		% Kematian	Nilai Probit
		V1	V2	V3	Uji	Mati		
1000	3	10	10	9	30	29	97	6,88
100	2	9	10	8	30	27	90	6,28
10	1	5	7	6	30	18	60	5,25
1	0	2	2	2	30	6	20	4,17
Pers. Regresi		$y = 0,919x + 4,264 ; R^2 = 0,984$						
Nilai LC <sub>50</sub>		6,3212 µg/mL						

Keterangan: V = Vial

**Tabel 5.** Hasil analisis data efek toksisitas akut ekstrak etanol 70% akar *Boehmeria virgata* (Forst) Guill) terhadap larva *Artemia salina* Leach setelah 24 jam perlakuan.

Konsentrasi (µg/mL)	Log Konsentrasi	Jumlah Kematian Larva			Total Larva		% Kematian	Nilai Probit
		V1	V2	V3	Uji	Mati		
1000	3	9	10	10	30	29	97	6,88
100	2	8	9	10	30	27	90	6,28
10	1	8	7	4	30	19	3	5,25
1	0	3	2	2	30	7	23	4,17
Pers. Regresi		$y = 0,881x + 4,366 ; R^2 = 0,985$						
Nilai LC <sub>50</sub>		5,2432 µg/mL						

Keterangan: V = Vial

Hasil identifikasi golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak partisi yang aktif dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT) dan penyemprotan larutan pereaksi Lieberman-Buchard, Dragendorff, FeCl<sub>3</sub> dan AlCl<sub>3</sub> dapat dilihat pada tabel 6 di bawah ini:

**Tabel 6.** Hasil identifikasi golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak n-heksan, etil asetat, etanol 70% akar parang romang (*Boehmeria virgata* (Forst) Guill).

Gol. Senyawa	Pereaksi	Ekstrak Partisi		
		n-Hexan	Etil asetat	Etanol 70%
Terpenoid	Lieberman-Buchard + pemanasan	(+)	(+)	(-)
Alkaloid	Dragendorff	(+)	(+)	(+)
Fenolik	FeCl <sub>3</sub>	(-)	(-)	(+)
Flavonoid	AlCl <sub>3</sub> + UV 366 nm	(-)	(-)	(+)

Keterangan: (+) = mengandung golongan senyawa tersebut  
 (-) = tidak mengandung golongan senyawa tersebut

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi toksisitas dari ekstrak partisi akar parang romang (*Boehmeria virgata* (Forst) Guill) menurut metode Brine Shrimps Lethality Test (BST) dan mengidentifikasi golongan senyawa yang terdapat dari ekstrak partisi yang aktif dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT).

Uji toksisitas akut merupakan uji dengan pemberian suatu senyawa pada hewan uji tertentu pada suatu saat yang diberikan dengan dosis tunggal dan pengamatan dilakukan selama 24 jam (Katzung, B.G.,: 1990). Brine Shrimp Lethality Test (BST) adalah suatu metode pengujian dengan menggunakan hewan uji yaitu *Artemia salina* Leach, yang dapat digunakan sebagai bioassay yang sederhana untuk meneliti toksisitas akut suatu senyawa, dengan cara menentukan nilai LC<sub>50</sub> dari komponen aktif suatu

*JF FIK UINAM Vol.5 No.3 2017*

simplisia maupun bentuk sediaan ekstrak dari suatu tanaman. LC<sub>50</sub> (Lethal Concentration 50) merupakan konsentrasi zat atau senyawa yang menyebabkan terjadinya kematian pada 50% hewan uji. Suatu senyawa memiliki potensi toksisitas akut jika memiliki nilai LC<sub>50</sub> kurang dari 1000 µg/mL (Meyer :1982).

Metode ekstraksi yang digunakan yaitu metode maserasi. Metode ini tidak menggunakan pemanasan pada prosesnya sehingga aman untuk senyawa yang terkandung dalam sampel yang rusak dengan suhu. Pelarut yang digunakan yaitu etanol. Etanol mampu menarik senyawa dengan kepolaran tinggi maupun rendah dari akar parang romang (*Boehmeria virgata* (Forst) Guill).

Proses ekstraksi dengan pelarut organik seperti etanol menghasilkan ekstrak kasar (crude extract) sehingga dalam beberapa penelusuran senyawa

aktif perlu dilakukan partisi atau pemisahan untuk memisahkan komponen-komponen kimia bahan alam berdasarkan tingkat kepolarannya. Ekstrak etanol yang didapatkan dari proses ekstraksi sebelumnya, dipartisi dengan menggunakan pelarut n-heksan yang memiliki kepolaran rendah untuk mendapatkan senyawa dengan kepolaran rendah dari ekstrak awal, lalu dipartisi lagi dengan pelarut etil asetat untuk mendapatkan senyawa dengan kepolaran sedang, dan terakhir dipartisi dengan menggunakan pelarut etanol 70% untuk mendapatkan senyawa dengan kepolaran tinggi yang tersisa dalam ekstrak yang tidak larut dengan pelarut-pelarut sebelumnya.

Efek toksisitas akut diperoleh dari pengamatan dengan menghitung % kematian larva *Artemia salina* Leach setelah 24 jam pada tiap konsentrasi. Melalui persen kematian, dicari nilai probit tiap konsentrasi melalui tabel probit, menentukan log konsentrasi uji kemudian dibuat grafik dengan persamaan garis lurus hubungan antara nilai probit dengan log konsentrasi,  $y = bx + a$ . Dimana y: angka probit dan x: log konsentrasi, kemudian ditarik garis dari harga probit 5 (= 50% kematian) menuju sumbu X, didapatkan log konsentrasi. Log konsentrasi diantilogkan untuk mendapatkan harga  $LC_{50}$  atau  $LC_{50}$  dapat juga dihitung dari persamaan garis lurus tersebut dengan memasukkan nilai 5

(probit dari 50 % kematian hewan coba) sebagai y sehingga dihasilkan x sebagai nilai log konsentrasi.  $LC_{50}$  dihitung dan diperoleh dari antilog nilai x tersebut (Priyanto, 2009).

Hasil analisis data menunjukkan nilai  $LC_{50}$  ekstrak n-Hexan, Etil asetat, etanol 70% akar *Boehmeria virgata* (Forst) Guill berturut-turut sebesar 7,7321; 6,3212 dan 5,2432  $\mu\text{g/mL}$  (lihat tabel 3,4,5). Nilai ini menunjukkan bahwa ekstrak partisi akar parang romang memiliki potensi toksisitas akut terhadap larva *Artemia salina* Leach menurut metode BST dan dikategorikan ekstrak partisi tersebut bersifat toksik pada konsentrasi  $LC_{50}$  1-10  $\mu\text{g/mL}$ .

Selanjutnya dilakukan identifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak partisi akar parang romang yang terbukti aktif dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) dengan penyemprotan pereaksi kimia untuk identifikasi golongan senyawa.

Hasil identifikasi didapatkan pada ekstrak n-heksan dan etil asetat akar parang romang mengandung golongan senyawa terpenoid dan alkaloid. Sedangkan untuk ekstrak etanol 70% akar parang romang mengandung golongan senyawa fenolik, flavonoid dan alkaloid (lihat tabel 6).

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak partisi (ekstrak n-Hexan, etil asetat, etanol 70%) akar parang romang (*Boehmeria virgata* (Forst) Guill) memiliki potensi toksisitas akut terhadap larva *Artemia salina* Leach pada kategori toksik dengan nilai LC<sub>50</sub> berturut-turut 7,7321; 6,3212 dan 5,2432 µg/mL.
2. Ekstrak n-heksan dan etil asetat akar *Boehmeria virgata* (Forst) Guill) mengandung golongan senyawa terpenoid dan alkaloid. Ekstrak etanol 70% akar *Boehmeria virgata* (Forst) Guill) mengandung golongan senyawa fenolik, flavonoid dan alkaloid.

## KEPUSTAKAAN

- Achmad. S.A. *Kimia Organik Bahan Alam*. Universitas Terbuka. Jakarta. 1986
- Katzung, B.G. *Farmakologi Dasar dan Klinis*. Unair Press. Surabaya. 1990.
- Manggau, M.A., Hasan, H., Wahyudin, E., Haryono, K., Mufidah, dan Lukman. *Efek Farmakologi Tanaman Antikanker yang Digunakan oleh Masyarakat Sulawesi Selatan*. Balitbanda Sulawesi Selatan. 2011.
- Meyer B.N., Ferigni N.R., Putnam J.E., Ja Cobsen L.B., Nichols D.E., dan McLaughlin J.L. *Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituent*. Planta Medica. 1982.
- Priyanto. *Toksikologi: Mekanisme, Terapi Antidotum, dan Penilaian Resiko*. Lembaga Studi dan Konsultasi Farmakologi. Jakarta. 2009.
- Rusdi, M. *Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Akar Parang Romang (*Boehmeria virgata* (Forst) Guill.) terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach*. Jurnal FARBAL Vol. II no. 2. 2014.
- Wibowo, S. *Artemia*. Penebar Swadaya. Jakarta. 2013.