Skrining fitokimia dan uji toksisitas ekstrak daun balik angin (*Mallotus* Sp) terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan metode *brine shrimp lethality test* (BSLT)

Anderson Arnold Aloanis^{*a}, Fahriana^b, Haryadi^b

^a Ilmu Kimia FMIPA, Universitas Negeri Manado, Tondano, 95619, Indonesia

^b Farmasi, Universitas Kristen Indonesia, Tomohon, 95441, Indonesia

INFO ARTIKEL

Diterima 8 September 2017
Disetujui 9 Oktober 2017

Key word:

Balik angin (*Mallotus* sp),
phytochemical screening,
BSLT.

Kata kunci:

Balik angin (*Mallotus* sp),
Skrining fitokimia,
BSLT.

ABSTRACT

One of the plants that are used to regular treatment is behind the wind (Mallotus sp.). Traditionally this is used for the relief of pain and increase stamina by way of boiling the seven pieces of young leaves and drink once a day in the morning. This research aims to know the acute toxicity of ethanol extracts of leaves behind the wind (Mallotus sp) against larvae of Artemia salina Leach BSLT method. The research method used is qualitative analysis of chemical compound and Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method with post-test-only control group design. The results of research on ethanol extracts of leaves behind the wind showed the value of LC₅₀ of 32.061 ppm, so can be said of ethanol extracts of leaves behind the wind on this experiment of acute toxicity has on the larvae of Artemia salina Brine Shrimp method using Leach Lethality Test (BSLT).

ABSTRAK

Salah satu tanaman yang biasa di manfaatkan untuk pengobatan adalah Balik angin (*Mallotus* sp). Secara tradisional tanaman ini biasa dimanfaatkan untuk menghilangkan nyeri dan menambah stamina dengan cara merebus tujuh lembar daun muda dan diminum sekali sehari di pagi hari. Penelitian ini bertujuan Untuk mengetahui kandungan kimia dan toksisitas akut dari ekstrak etanol daun balik angin (*Mallotus* sp) terhadap larva *Artemia salina* Leach menggunakan metode BSLT. Metode penelitian yang digunakan adalah analisis kualitatif kandungan kimia senyawa dan Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) dengan pendekatan *post-test-only control group design*. Hasil penelitian terhadap ekstrak etanol daun balik angin menunjukkan nilai LC₅₀ sebesar 32,061 ppm, sehingga dapat dikatakan ekstrak etanol daun balik angin pada percobaan ini memiliki toksisitas akut pada larva *Artemia salina* Leach menggunakan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT).

*e-mail:

andersonaloanis@unima.ac.id

*Telp:

Pendahuluan

Masyarakat Indonesia sering memanfaatkan tanaman herbal untuk pengobatan tradisional. Hal ini dikarenakan tanaman herbal memiliki keuntungan, antara lain lebih murah, lebih mudah diproduksi, serta lebih mudah diperoleh dan memiliki efek samping yang rendah.

Salah satu tanaman yang biasa di manfaatkan untuk pengobatan adalah Balik angin (*Mallotus* sp). Secara tradisional tanaman ini biasa dimanfaatkan untuk menghilangkan nyeri dan menambah stamina dengan cara merebus tujuh lembar daun muda dan diminum sekali sehari di pagi hari [1].

Hasil penelitian pendahuluan yang telah dilakukan oleh peneliti yaitu berupa skrining fitokimia, diketahui bahwa tanaman balik angin (*Mallotus* sp) mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder antara lain tanin, alkaloid, flavonoid, dan steroid.

Salah satu tumbuhan dari genus *Mallotus*, yaitu *Mallotus Philippinensis* mengandung senyawa golongan, kardenolida, triterpenoid, steroid, dan komponen fenolik [2]. *M. Philippinensis* berpotensi sebagai antivirus, antifertilitas, antibakteri dan antijamur, anti-inflamasi dan immunoregulator, antioksidan dan anti radikal bebas, inhibisi protein pada proses terjadi kanker, hepatoprotektif, antikestodal, pencahar dan obat cacing, anti-TBC, antileukimia, antiproliferatif, anti-HIV, antialergi, antitumor, dan toksisitas.

Dalam mempelajari toksisitas yang paling awal dilakukan adalah dengan menggunakan kematian dari hewan percobaan sebagai suatu respon dari pengaruh suatu senyawa yang diuji. Uji toksisitas larva udang merupakan salah satu pengujian toksisitas yang cepat, aman, praktis dan ekonomis untuk skrining, fraksinasi, dan penentuan bioaktivitas senyawa bahan alam.

Bahan dan Metode

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah daun balik angin yang diperoleh dari Ternate kec. Jailolo Desa Tedeng, telur *Artemia Salina*, air laut, dan etanol 70 %, kloroform amoniakal, FeCl₃, serbuk Mg, CH₃COOH glasial, H₂SO₄ pekat, NaOH, HCl 2N, Reagen Wagner.

Penelitian ini merupakan eksperimental dengan pendekatan *posttest-only control group design* di Laboratorium dengan perlakuan pemberian ekstrak etanol daun balik angin (*Mallotus* sp) terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

Ekstraksi

Sampel daun balik angin dibersihkan dan dikering anginkan kemudian Sampel daun balik angin yang sudah kering dihaluskan sampai menjadi serbuk. Serbuk kering daun balik angin dimaserasi dengan etanol 70%. Proses maserasi dilakukan selama 3 x 24 jam. Ekstrak kemudian

disaring untuk mendapatkan filtrat dan residu. Maserat yang dihasilkan disaring, dikumpulkan dan diuapkan dengan *rotary evaporator*, sehingga diperoleh ekstrak kental daun balik angin.

Skrining fitokimia

Sampel yang digunakan untuk skrining fitokimia adalah ekstrak etanol daun balik angin.

1. Uji Alkaloid

Sebanyak 2 gram sampel diekstraksi dengan kloroform amoniakal sebanyak 5 mL. Ekstrak dimasukan kedalam tabung reaksi sebanyak 10 tetes. Kemudian tabung reaksi ditambahkan - H₂SO₄ 2N sebanyak 2 tetes lalu dikocok kuat. Kemudian di tambahkan pereaksi wagner pada tabung reaksi. Pada pereaksi wagner akan terbentuk endapan kuning yang menandakan positif adanya alkaloid [3].

2. Uji Flavonoid

Sebanyak 2 mL ekstrak ditambahkan dengan air panas secukupnya, kemudian dididihkan selama 5 menit lalu disaring. Filtrat sebanyak 5 mL ditambahkan 0,05 mg serbuk Mg dan 1 mL HCl pekat, kemudian dikocok kuat-kuat. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga [3].

3. Uji Tanin

Sebanyak 1 mL ekstrak ditambahkan dengan beberapa tetes larutan besi(III)klorida 10%. Jika terjadi warna biru tua atau hitam kehijauan menunjukkan adanya tannin [4].

4. Uji Steroid dan Triterpenoid

Sebanyak 2 mL ekstrak ditambahkan CH₃COOH glasial sebanyak 10 tetes dan H₂SO₄ pekat sebanyak 2 tetes. Larutan dikocok perlahan dan dibiarkan selama beberapa menit. Adanya steroid ditunjukkan oleh warna biru atau hijau, sedangkan triterpenoid memberikan warna merah atau ungu [3].

5. Uji Saponin

Sebanyak 2-3 mL ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 mL air panas lalu didinginkan, kemudian dikocok

kuat-kuat selama 10 detik lalu ditambahkan 1 tetes HCl 2N. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil setinggi 1-10 cm selama tidak kurang dari 10 menit [4].

Uji Toksisitas Menggunakan Metode BSLT

Sampel yang digunakan untuk uji toksisitas adalah ekstrak etanol daun balik angin. Masing-masing pengujian dibuat dua kali pengulangan.

Penyiapan Larva Artemia Salina

Penyiapan larva udang dilakukan dengan mengambil telur *Artemia Salina* ditimbang sebanyak 100 mg. Penetasan dilakukan dengan cara merendam telur tersebut dalam air laut sebanyak 500 mL dan diberi penerangan serta diaerasi.

Penyiapan Larutan Stok

Untuk pembuatan larutan stok, ekstrak ditimbang sebanyak 200 mg kemudian dilarutkan sampai 100 mL dengan air garam, kemudian dari larutan stok 2000 ppm dibuat pengenceran 100, 50, 25, dan 12,5 µg/mL. Untuk Kontrol (0 ppm) dilakukan tanpa penambahan ekstrak.

Uji Toksisitas

Perlakuan uji toksisitas dilakukan pada ekstrak kental daun balik angin. Disiapkan 6 wadah dan 1 wadah sebagai kontrol. Selanjutnya pada tiap konsentrasi larutan dimasukkan 10 ekor larva udang *Artemia salina*. Pengamatan dilakukan selama 1 x 24 jam terhadap kematian larva udang dimana setiap konsentrasi dilakukan dua kali pengulangan dan dibandingkan dengan kontrol [5].

Analisis Data

Data hasil penelitian uji toksisitas diolah dengan analisis probit menggunakan SPSS 20.0 untuk mengetahui harga LC₅₀.

Hasil dan Pembahasan

Pada penelitian ini simplisia daun balik angin sebanyak 990 gram dimaserasi selama 3 x 24 jam dengan menggunakan pelarut etanol 70%, dan didapatkan filtrat sebanyak 9.790 mL. Filtrat kemudian disaring menggunakan kertas saring

lalu dimasukkan kedalam alat *rotary evaporator* untuk memisahkan ekstrak yang masih tercampur dengan pelarut sehingga didapatkan ekstrak kental yang akan digunakan untuk uji BSLT terhadap larva *Artemia salina* Leach. Pada proses evaporasi menggunakan *rotary evaporator* digunakan vacuum sebesar 175 Mbar, rotasi 60 rpm dan suhu 40°C. lalu didapatkan ekstrak kental etanol daun balik angin (*Mallotus* sp) sebanyak 146,9 gram.

Dari hasil ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi didapatkan rendemen ekstrak dengan cara sebagai berikut:

1. Skrining Fitokimia

Hasil uji alkaloid dari ekstrak daun balik angin menandakan positif pada pereaksi wagner dengan adanya endapan berwarna kecoklatan. Alkaloid mengandung atom nitrogen yang bersifat basa dan merupakan bagian dari cincin heterosiklik. Alkaloid mempunyai kegiatan fisiologis yang menonjol dan sering digunakan secara luas dalam bidang pengobatan. Alkaloid merupakan senyawa yang mempunyai satu atau lebih atom nitrogen biasanya dalam gabungan dan sebagian dari sistem siklik [3]. Hasil uji tanin ekstrak etanol daun balik angin positif tanin karena terbentuk warna hijau kehitaman. Tanin mampu mengikat protein, selain mampu mengikat protein tanin juga bersifat melindungi protein dari degradasi enzim mikroba maupun enzim protease pada tanaman [6]. Pada uji flavonoid diketahui ekstrak etanol daun balik angin terbentuk warna merah yang menandakan positif adanya flavonoid. Hasil uji triterpenoid pada ekstrak etanol daun balik angin tidak terbentuk warna merah, sedangkan pada uji steroid positif karena terbentuk warna hijau. Senyawa golongan steroid digunakan luas dalam dunia pengobatan dan kontrasepsi antara lain: androgen merupakan hormon steroid yang dapat menstimulasi organ seksual jantan, estrogen dapat menstimulasi organ seksual betina, adrenokortikoid dapat mencegah peradangan dan rematik [7]. Hasil uji saponin pada ekstrak daun balik angin negatif karena tidak terbentuk busa.

Tabel 1. Hasil skrining ekstrak etanol daun balik angin (*Mallotus* sp)

Kandungan Kimia	Metode Pengujian	Hasil	Ket.
Alkaloid	Pereaksi Wagner	Terbentuk endapan	+
Tanin	FeCl ₃	Terbentuk warna hijau kehitaman	+
Flavonoid	NaOH	Terbentuk warna merah	+
Triterpenoid	Uji LB	Tidak terbentuk warna merah atau ungu	-
Steroid	Uji LB	Terbentuk warna hijau	+
Saponin	HCl 2N	Tidak terbentuk busa	-

2. Uji Toksisitas Metode BSLT

Total larva yang digunakan pada tiap-tiap konsentrasi sebanyak 10 ekor dengan 2 kali pengulangan. Sehingga total larva yang digunakan pada seluruh percobaan adalah 100 ekor. Total kematian diperoleh dengan menjumlah kematian larva pada setiap konsentrasi. Berdasarkan Tabel 2, maka terdapat hubungan antara konsentrasi ekstrak dengan total kematian larva. Berikut disajikan dalam bentuk grafik.

Berdasarkan grafik diatas, menunjukkan bahwa jumlah kematian larva pada konsentrasi 12,5 µg/mL adalah 35% sedangkan pada konsentrasi 25 µg/mL sebanyak 50%, hal ini menunjukkan peningkatan kematian larva sebesar 15%. Lalu pada konsentrasi 50 µg/mL, total kematian larva yaitu 60%. Lalu pada konsentrasi 100 µg/mL angka kematiannya sebesar 85%, sehingga terdapat peningkatan kematian larva sebesar 25%. Sehingga dapat disimpulkan bahwa peningkatan konsentrasi

yang semakin tinggi akan meningkatkan kematian larva.

Tabel 2. pengaruh berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun balik angin(*Mallotus* sp) terhadap larva *Artemia salina* Leach.

Replikasi	Jumlah Kematian larva Tiap Konsentrasi (µg/mL)				Kon (-)
	100	50	25	12,5	0
1	9	6	5	3	0
2	8	6	5	4	0
Total Kematian	17	12	10	7	0
Rata-rata	8,5	6,0	5,0	3,5	0
Persentase Kematian	85%	60%	50%	35%	0%

Gambar 1. Grafik Persentase Kematian Larva *Artemia Salina* Leach Pada Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Balik Angin (*Mallotus* sp).

Berdasarkan Gambar 1, jumlah kematian larva terbanyak terdapat pada konsentrasi 100 µg/ml hal ini sesuai dengan teori dimana semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin tinggi pula tingkat kematian larva [8].

3. Penetapan LC_{50}

Berdasarkan Gambar 2, dapat dikatakan bahwa data tersebut linear berdasarkan penarikan garis lurus dan didapatkan nilai R^2 sebesar 0.928. Hasil analisis probit menunjukkan nilai LC_{50} dari ekstrak etanol daun balik angin sebesar 32,061 $\mu\text{g/mL}$.

Gambar 2. Grafik analisis probit uji toksisitas ekstrak etanol daun balik angin (*Mallotus* sp) terhadap larva *Artemia salina* Leach.

Hasil pengujian terhadap ekstrak etanol daun balik angin menunjukkan nilai LC_{50} sebesar 32,061, sehingga dapat dikatakan ekstrak etanol daun balik angin pada percobaan ini memiliki toksisitas akut pada larva *artemia salina* Leach menggunakan metode BSLT.

Kesimpulan

Ekstrak etanol daun balik angin (*Mallotus* sp) memiliki toksisitas akut pada larva *artemia salina* Leach menggunakan metode BSLT dengan nilai LC_{50} sebesar 32,061 $\mu\text{g/mL}$.

Daftar Pustaka

1. Moumou, F.; Thomas, A. A.; Kainde, R. P.; Nurmawan, W., Pemanfaatan tumbuhan obat oleh masyarakat Desa Toliwang Kecamatan Kao Barat Kabupaten Halmahera Utara. *COCOS* **2015**, 6, (12).
2. Gangwar, M.; Goel, R.; Nath, G., *Mallotus philippinensis* Muell. Arg (Euphorbiaceae): ethnopharmacology and phytochemistry

review. *BioMed research international* **2014**, 2014.

3. Harborne, J., Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, Terbitan Kedua. *Institut Teknologi Bandung* **1987**.
4. Kumar, R. S.; Venkateshwar, C.; Samuel, G.; Rao, S. G., Phytochemical screening of some compounds from plant leaf extracts of *Holoptelea integrifolia* (planch.) and *Celestrus emarginata* (Grah.) used by Gondu tribes at Adilabad District, Andhrapradesh, India. *International Journal of Engineering Science Invention* **2013**, 2, (8), 65-70.
5. Iestari, M. S.; Himawan, T.; Abadi, A. L.; Retnowati, R., Toxicity and phytochemistry test of methanol extract of several plants from Papua using Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* **2015**, 7, (4), 866-872.
6. Oliveira, A. C. P.; Shinobu, C. S.; Longhini, R.; Franco, S. L.; Svidzinski, T. I. E., Antifungal activity of propolis extract against yeasts isolated from onychomycosis lesions. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **2006**, 101, (5), 493-497.
7. Nogrady, T., Kimia Medisinal Pendekatan Secara Biokimia. *Bandung: Institut Teknologi Bandung. Hlm* **1992**, 19-21.
8. Meyer, B.; Ferrigni, N.; Putnam, J.; Jacobsen, L.; Nichols, D. J.; McLaughlin, J. L., Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Med* **1982**, 45, (05), 31-34.