

UJI BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BSLT) FRAKSI EKSTRAK ETANOL 70% AKAR PARANG ROMANG (*Boehmeria virgata* (Forst) Guill.)

M. Rusdi, Mukhriani, Baso Arwan

Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar

Jalan H. M. Yasin Limpo No. 36 Samata, Gowa-Sulawesi Selatan, Indonesia

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

ABSTRAK

Boehmeria virgata (Forst) Guill berasal dari keluarga Urticaceae, spesies ini mengandung metabolit sekunder dalam bentuk alkaloid, terpenoid, fenolik dan flavonoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui toksisitas fraksi fraksi ekstrak etanol Akar Parang Romang (*Boehmeria virgata* (Forst) Guill.) dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* terhadap *Artemia salina* Leach. dan mengidentifikasi golongan senyawa dari fraksi aktif. Sampel akar diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut Metanol. Ekstrak kemudian dipekatkan dengan *Rotary evaporator*. Ekstrak yang diperoleh selanjutnya dipartisi terlebih dahulu dengan menggunakan pelarut n-Heksan sehingga diperoleh ekstrak larut n-Heksan dan ekstrak tidak larut n-Heksan, selanjutnya ekstrak yang tidak larut n-Heksan dipartisi kembali menggunakan pelarut Etil Asetat sehingga diperoleh ekstrak larut Etil Asetat dan tidak larut Etil Asetat, kemudian ekstrak tidak larut Etil Asetat dipartisi dengan pelarut Etanol 70% sehingga diperoleh ekstrak larut Etanol 70%. Ekstrak Etanol 70% kemudian difraksinasi dengan kromatografi kolom cair vakum sehingga diperoleh 4 fraksi gabungan yaitu fraksi A, B, C, D. Masing-masing fraksi diuji toksisitasnya dan diperoleh hasil fraksi B yang memiliki tingkat toksik yang lebih besar di dibandingkan fraksi lainnya dengan nilai LC_{50} sebesar 16,21 $\mu\text{g/ml}$, selanjutnya fraksi B difraksinasi kembali menggunakan kolom kromatografi cair vakum dan diperoleh 3 fraksi gabungan yakni fraksi B1, B2 dan B3, setelah masing-masing fraksi diuji toksisitasnya maka diperoleh hasil fraksi B1 yang memiliki toksisitas yang lebih besar dengan nilai LC_{50} sebesar 2,19 $\mu\text{g/ml}$. Hasil identifikasi fraksi B1 menunjukkan adanya golongan senyawa Alkaloid dan terpen.

Kata Kunci : *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), Akar *Boehmeria virgata* (Forst) Guill.), Golongan senyawa

PENDAHULUAN

Kanker merupakan pembentukan jaringan baru yang abnormal dan bersifat ganas. Suatu kelompok sel dengan mendadak menjadi liar dan memperbanyak diri secara pesat dan terus menerus. Akibatnya adalah pembengkakan atau benjolan yang disebut tumor atau neoplasma. Sel kanker ini menginfiltrasi jaringan sekitarnya dan memusnahkannya (Tjay, 2006).

Penderita kanker di Indonesia semakin meningkat, sehingga kebutuhan obat semakin meningkat. Pengobatan dengan cara radioterapi dan kemoterapi memerlukan biaya yang cukup tinggi. Pengobatan kanker dengan tanaman merupakan cara yang sangat murah bagi

Jurnal Farmasi FKIK UINAM Vol.2 2019

penduduk Indonesia yang kaya dengan tanaman obat (Aryanti, 2005).

Salah satu metode awal yang sering dipakai untuk mengamati toksisitas senyawa dan merupakan metode penapisan untuk aktivitas antikanker senyawa kimia dalam ekstrak tanaman adalah *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Metode ini ditujukan terhadap tingkat mortalitas larva udang *Artemia salina* Leach. yang disebabkan oleh ekstrak uji. Hasil yang diperoleh dihitung sebagai nilai LC_{50} ekstrak uji, yaitu jumlah dosis atau konsentrasi ekstrak uji yang dapat menyebabkan kematian larva udang sejumlah 50% setelah masa inkubasi 24 jam. Senyawa dengan $LC_{50} < 1000$ $\mu\text{g/ml}$ dapat dianggap sebagai suatu senyawa aktif

yang bersifat toksik dan dapat dikembangkan menjadi agen antikanker (Meyer, 1982).

Pengujian menggunakan BSLT diterapkan dengan menentukan nilai Lethal Concentration 50% (LC₅₀) setelah perlakuan 24 jam. Nilai LC₅₀ merupakan angka yang menunjukkan konsentrasi suatu bahan penyebab kematian sebesar 50% dari jumlah hewan coba (Wibowo, 2013).

Toksisitas merupakan metode uji yang digunakan untuk mengetahui tingkat toksik dari suatu senyawa yang ditentukan dalam waktu singkat setelah pemberian suatu sediaan. Uji toksisitas dengan metode BSLT ini memiliki spektrum aktifitas farmakologi yang luas, prosedurnya sederhana, cepat dan tidak membutuhkan biaya yang besar, serta hasilnya dapat dipercaya (Khrisnaraju, 2006).

Penelitian sebelumnya yang telah dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak akar Parang Romang (*Boehmeria virgata* (Forst) Guill) mengandung golongan alkaloid, terpenoid, fenolik, flavanoid dan memberikan LC₅₀ sebesar 13,095 µg/ml terhadap larva udang *Artemia salina* L. (Rusdi, 2014).

Penelitian selanjutnya menunjukkan hasil LC₅₀ 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 etanol 70% akar parang romang lebih toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach (Rusdi, M dkk, 2017)

Dari uraian diatas dapat diketahui bahwa ekstrak dari akar *Boehmeria virgata* (Forst) Guill) bersifat toksik terhadap larva udang *Artemia salina* L, maka dari itu perlu dilakukan penelitian lanjutan yaitu uji toksisitas fraksi-fraksi ekstrak etanol 70% akar *Boehmeria virgata* (Forst) Guill.) terhadap Larva Udang (*Artemia Salina* Leach) dengan

menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

METODE PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah aerator (*Whale*®), chamber, corong buchner, lampu pijar, lampu UV 254 dan 366 nm, mikropipet (*Nesco*®), pipa kapiler (*Nesco*®), rotavapor (*IKA*®), seperangkat alat uji BSLT, seperangkat alat kromatografi cair vakum, seperangkat alat sentrifuge, timbangan analitik (*Precisa*®), timbangan kasar (*O' Hauss*®) dan vial 10 ml.

Bahan-bahan yang digunakan adalah air laut, akar Parang Romang (*Boehmeria virgata*), etanol 70%, etil asetat, kertas saring whatman, lempeng silika gel F₂₅₄, metanol, n-heksan, pereaksi AlCl₃ 5%, dragendorf, FeCl₃ 5%, H₂SO₄ 10%, Lieberman Bouchard, ragi, silika gel 60 GF₂₅₄, dan larva udang (*Artemia salina* Leach).

B. Ekstraksi

Serbuk Simplisia akar parang romang (*Boehmeria virgata* (Forst.) Guill.) yang diperoleh dari daerah Malino, Kab. Gowa ditimbang sebanyak 2,7 kg untuk diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol. Penyarian dilakukan sebanyak 2 kali. Ekstrak metanol yang diperoleh kemudian diuapkan cairan penyarinya dalam rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak metanol kental, lalu dikeringkan diatas *Water bath* dengan suhu 45 °C hingga kering. Ditimbang ekstrak kering dan dihitung persen rendamennya.

C. Partisi

Ekstrak metanol kering sebanyak 30 gram yang diperoleh dipartisi cair-padat menggunakan

pelarut n-heksan dan diulangi sebanyak tujuh kali, tiap pengulangan menggunakan 100 ml pelarut n-heksan, kemudian ekstrak tidak larut n-heksan dipartisi kembali menggunakan 100 ml etil asetat sebanyak tujuh kali, ekstrak yang tidak larut etil asetat dipartisi menggunakan pelarut etanol 70%, kemudian ekstrak tersebut dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*.

D. Fraksinasi

Ekstrak etanol 70% ditimbang sebanyak 6 gram. Kemudian ditimbang silika gel sebanyak 60g. Ekstrak dilarutkan dengan sedikit metanol., silika gel ditambahkan sedikit demi sedikit kemudian diaduk hingga homogen, dibiarkan hingga kering. Setelah kering dimasukkan ke dalam sinter glass dan bagian atasnya ditutup dengan kertas saring. Ekstrak difraksinasi menggunakan kromatografi kolom cair vakum (KCV) memakai fase diam silika gel 60 GF₂₅₄ dan fase gerak dengan gradien kepolaran yang meningkat berdasarkan profil KLT yang diperoleh. Hasil fraksinasi yang diperoleh masing masing diuji toksisitasnya dengan uji BSLT.

E. Penyiapan Larva Uji

Ditimbang telur udang sebanyak 5 gram per liter air. Telur dimasukkan pada wadah kerucut khusus yang telah dilengkapi aerator dan penerangan, kista akan menetas kira-kira 24 jam setelah ditaburkan. Selanjutnya larva dipindahkan dalam kotak kecil berisi 300 ml air laut yang telah terbagi menjadi dua ruang yang dihubungkan oleh lubang-lubang kecil. Ruang penetasan diberi kondisi gelap sedangkan yang lain diberi penerangan dan aerator, larva yang baik akan berenang menuju ruang yang terang karena mereka bersifat fototropik. Larva udang akan siap untuk digunakan dalam pengujian setelah berumur 48 jam.

F. Penyiapan Sampel

Hasil fraksi akar Parang Romang (*Boehmeria virgata*) ditimbang sebanyak 50 mg, dilarutkan dalam pelarut etanol sebanyak 5 ml sehingga diperoleh konsentrasi 10000 µg/ml sebagai larutan stok. Untuk membuat konsentrasi 1 µg/ml, 10 µg/ml, 100 µg/ml dan 1000 µg/ml, maka dari larutan stok tersebut dipipet ke dalam vial masing-masing 0,5 µl, 5 µl, 50 µl, dan 500 µl menggunakan mikropipet, kemudian diuapkan dengan diangin-anginkan hingga pelarutnya menguap.

G. Uji Toksisitas

Tiap konsentrasi dibuat dalam 3 replikasi, selanjutnya vial diisi air laut 1 ml, lalu dimasukkan 10 ekor *Artemia salina* Leach. ditambahkan satu tetes suspensi ragi *Saccharomyces cereviceae* ke dalamnya sebagai makanan *Artemia salina* Leach. dicukupkan volume vial hingga 5 ml. Vial diletakkan di bawah lampu penerangan selama 24 jam. Setelah 24 jam jumlah larva yang hidup dihitung dengan bantuan kaca pembesar

H. 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 terpenoid

Flavanoid

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

Fenolik

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

Kumarin

Pereaksi yang digunakan KOH etanolik, jika sampel positif mengandung senyawa kumarin akan dihasilkan warna merah terang.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Serbuk Simplisia akar parang romang (*Boehmeria virgata* (Forst.) Guill.) ditimbang sebanyak 2,7 kg untuk diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol. Penyarian dilakukan sebanyak 2 kali. Ekstrak metanol yang diperoleh kemudian diuapkan cairan penyaringnya dalam rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak metanol kental, lalu dikeringkan diatas *Water bath* dengan suhu 45 °C hingga

kering. Diperoleh 30,5 gram ekstrak kering, sehingga persen rendamennya sebanyak 1,1 %. Dari hasil partisi diperoleh 12,3 gram ekstrak larut etanol 70%.

Hasil profil KLT Ekstrak Etanol 70% Akar Parang Romang dengan eluen Etil Asetat : Metanol (5 :1), pada penampakan noda UV 254 nm noda yang diperoleh tidak terlalu jelas terlihat sedangkan pada UV 366 nm diperoleh 3 noda dengan nilai Rf masing-masing yaitu 0,88; 0,72 dan 0,24, perbandingan eluen ini kemudian dijadikan profil KLT yang selanjutnya akan dijadikan rujukan dalam pemilihan eluen pada saat proses fraksinasi.

Selanjutnya ekstrak etanol 70% difraksinasi menggunakan metode KCV dengan perbandingan eluen yang memiliki gradien kepolaran yang meningkat, yaitu berturut-turut n-Heksan : Etil Asetat {(1:10), (1:20), (1:50), (0:1)}, Etil Asetat : Metanol {(50:1), (25:1), (10:1), (5:1), (1:1), (1:10), (0:1)}, Metanol : Aquades {(4:1), (1:1)}. Hasil fraksinasi tersebut selanjutnya diamati penampakan noda dan nilai Rf-nya. Diperoleh 4 fraksi gabungan siap diujikan yaitu Fraksi A, B, C dan D

Hasil uji toksisitas 4 fraksi akar *Boehmeria virgata* menggunakan metode BSLT diperoleh hasil seperti pada tabel 1 dibawah ini

Tabel 1. Hasil uji toksisitas fraksi akar *Boehmeria virgata*

Fraksi	Kematian larva (%) Konsentrasi (µg/ml)				LC ₅₀ (µg/ml)	Persamaan Regresi	R ²
	1000	100	10	1			
A	70%	43%	6%	6%	257.04	y = 0.758x + 3.173	0,8968
B	93%	80%	50%	10%	16.21	y = 0.912x + 3.892	0,9753
C	90%	77%	27%	0%	69.18	y = 2.181x + 0.966	0,8839
D	93%	77%	40%	3%	30.20	y = 1.107x + 3.362	0,9675

Selanjutnya fraksi teraktif di fraksinasi kembali dengan metode KCV untuk memisahkan senyawa senyawa yang terkandung dalam fraksi aktif, proses fraksinasi menggunakan eluen berturut-turut n-Heksan : Etil Asetat {(1:5), (1:10), (1:10), (1:20), (1:20), (1:30), (1:50), (1:50), (0:1)}, Etil Asetat : Metanol {(50:1)}. Hasil fraksinasi tersebut selanjutnya diamati penampakan noda dan ditentukan nilai Rf-nya. Berdasarkan hal tersebut maka diperoleh 3 fraksi gabungan yaitu fraksi B1 (fraksi 1), fraksi B2 (fraksi 2), fraksi B3 (fraksi 3,4,5,6,7,8,9,10). Selanjutnya semua Fraksi

yang telah digabungkan kemudian dilakukan uji BSLT untuk mengetahui toksisitas ekstrak hasil fraksinasi.

Tiga fraksi yang didapat kemudian diuji toksisitas dengan menggunakan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) dengan konsentrasi 1 µg/ml, 10 µg/ml dan 100 µg/ml. Hal ini dilakukan untuk mengetahui nilai LC₅₀ dari hasil fraksinasi sehingga diperoleh fraksi yang paling toksik.

Hasil uji toksisitas Fraksinasi fraksi B akar *Boehmeria virgata* menggunakan metode BSLT diperoleh hasil seperti pada tabel 2 dibawah ini

Tabel 2. Uji toksisitas hasil fraksinasi dari fraksi B akar *Boehmeria virgata*

Fraksi	Kematian larva (%) Konsentrasi (µg/ml)			LC ₅₀ (µg/ml)	Persamaan Regresi	R ²
	100	10	1			
B1	100%	80%	33%	2.1928	y = 1.765x + 4.3983	0,9754
B2	96%	66%	20%	4.5706	y = 1.295x + 4.145	0,9996
B3	36%	26%	16%	1273.503	y = 0.315x + 4.0217	0,9959

Dari data diatas menunjukkan bahwa fraksi B1 merupakan fraksi teraktif dengan nilai LC₅₀ sebesar 2,1928 µg/ml. Menurut Meyer (1982) suatu ekstrak dinyatakan sangat toksik bila memiliki nilai LC₅₀ dibawah 30 µg/ml. Maka dari itu diketahui bahwa hasil fraksi dari akar *Boehmeria virgata* bersifat sangat toksik.

Selanjutnya fraksi aktif B1 dilakukan identifikasi golongan senyawa dengan cara *Jurnal Farmasi FKIK UINAM Vol.2 2019*

ditotolkan pada lempeng KLT kemudian dielusi dengan eluen Etil Asetat : metanol (50 : 1). Lempeng kemudian disemprot dengan menggunakan pereaksi penampak noda seperti H₂SO₄ 10% sebagai pereaksi penampak noda secara umum, dragendorf untuk golongan alkaloid atau komponen kimia yang mengandung senyawa nitrogen, FeCl₃ 5% untuk senyawa golongan fenol, pereaksi Lieberman-Bouchard untuk golongan

senyawa terpenoid, pereaksi AlCl_3 5% untuk senyawa golongan flavonoid dan KOH etanolik untuk senyawa kumarin.

Pada uji menggunakan H_2SO_4 menunjukkan 2 noda. Fraksi B1 memberikan hasil positif terhadap pereaksi Dragendorf dengan adanya noda berwarna jingga dengan latar kuning sedangkan pereaksi Liebermann-Burchard memberikan hasil positif dengan adanya noda berwarna kecoklatan menunjukkan adanya komponen kimia golongan terpenoid. Fraksi B1 menunjukkan hasil negatif terhadap pereaksi FeCl_3 5%, selain itu juga memberikan hasil negatif terhadap pereaksi AlCl_3 yang menunjukkan tidak adanya senyawa golongan flavonoid.

KESIMPULAN

1. Fraksi B1 akar Parang Romang (*Boehmeria virgata* (Forst) Guill.) bersifat toksik terhadap larva udang *Artemia salina* Leach dengan nilai LC_{50} 2,193 $\mu\text{g/ml}$.
2. Golongan senyawa yang terkandung dalam fraksi B1 merupakan golongan senyawa alkaloid dan terpenoid

DAFTAR PUSTAKA

Aryanti. *Isolasi Senyawa Antikanker dari Akar Berambut Artemisia cina dan Aktifitas*

Inhibisinya terhadap Sel Kanker Mulut Rahim. Bogor. Majalah Farmasi Indonesia. 2005.

Harborne, J.B. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: Penerbit ITB. 1984.

Krishnaraju AV, Rao TV, Sundararaju D, Vanisree M, Tsay H-S, Subbaraju GV. Assessment of bioactivity of Indian medicinal plants using Brine shrimp (*Artemia salina*) lethality assay. *International Journal of Applied Science and Engineering*, 2006.

Meyer, H.N. *Brine Shrimp Lethality Test*. Plant Research. Vol. 45. Amsterdam. Hipokrates Verlag. 1982.

Rusdi, M. *Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Akar Parang Romang (Boehmeria virgata* (Forst) Guill.) terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach. Makassar : Jurnal FARBAL, Vol. II no. 2. 2014.

M. Rusdi, Kurnia Ayu, Sitti Fauziah Noer, Hasyim Bariun. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Partisi Akar Parang Romang (*Boehmeria virgata* (Forst) Guill) Terhadap Larva *Artemia salina* Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test. Makassar : Jurnal Farmasi FKIK UIN Alauddin Vol. 5 No.3 Tahun 2017.

Tjay, T.H. Rahardja, K. *Obat-obat Penting. Khasiat, Penggunaan dan Efek Samping*, edisi VI, Jakarta: Gramedia. 2006

Wibowo, Singgih. *Artemia*. Jakarta: Penebar Swadaya, 2013.

