

Profil Fitokimia dan Uji Toksisitas Daun Tumbuhan *Aglaia Odorata* dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test*

Mai Efdi^{a*}, Ridho Sahary Adha^a, Adlis Santoni^a

^aDepartemen Kimia, Universitas Andalas, Padang 25156, Indonesia

*Corresponding author: maiefdi@sci.unand.ac.id

Abstract

Toxicity and phytochemistry assay have been conducted on extracts and fractions of *Aglaia odorata* leaves using *brine shrimp lethality test*. *Aglaia odorata* is one of the plants that are found in Indonesia. To investigate *Aglaia odorata* leaves potential as anticancer, air-dried and powdered leaves were extracted with n-hexane, ethyl acetat, and metanol by using maceration method. Extract of ethyl acetat showed the highest toxicity with LC₅₀ value is 125.89 mg/L

Keywords

Aglaia odorata
toxicity
brine shrimp lethality test
anticancer
secondary metabolites

1. Pendahuluan

Seiring dengan slogan *back to nature*, penggunaan obat tradisional di kalangan masyarakat sebagai alternatif pengobatan semakin meningkat. WHO menyatakan sekitar 80% penduduk di dunia menggunakan obat tradisional yang berasal dari tumbuhan[1]. Selain itu, kombinasi obat tradisional dan modern memiliki peran penting dalam meningkatkan sistem perawatan kesehatan. Di banyak negara, tumbuhan dan obat herbal kembali banyak digunakan dan dunia kedokteran telah menggunakan senyawa murni dan obat herbal secara bersamaan. Agar pengobatan secara tradisional dapat dipertanggungjawabkan maka diperlukan penelitian ilmiah seperti penelitian di bidang farmakologi, toksikologi, identifikasi, dan isolasi zat kimia aktif yang terdapat dalam tumbuhan[2].

Salah satu tumbuhan yang banyak digunakan sebagai obat tradisional adalah pacar cina (*Aglaia odorata*)[3]. Tumbuhan ini merupakan salah satu tumbuhan yang memiliki manfaat sebagai obat tradisional, seperti mengobati perut kembung, batuk, pusing, diare, bisul, dan memar[4]. Hampir semua bagian dari tumbuhan ini memiliki khasiat sebagai sumber obat-obatan. Berdasarkan penelitian, sebelumnya dilaporkan bahwa *Aglaia odorata* memiliki kandungan seskuiterpenoid dan aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker hati[5]. *Aglaia odorata* banyak

ditemukan di pulau Sumatera, Kalimantan, Jawa, Sulawesi, Bali dan Flores[6]. Tumbuhan ini dapat tumbuh liar di ladang-ladang yang cukup mendapat sinar matahari, atau ditanam di kebun dan pekarangan sebagai tumbuhan hias. *Aglaia odorata* mengandung alkaloid, saponin, flavonoida, tanin, serta minyak atsiri[7].

Penelitian ini dilakukan untuk dapat membuktikan sifat toksisitas yang terkandung dalam tumbuhan pacar cina, serta mengetahui seberapa besar pengaruhnya terhadap larva udang *Artemia salina*, dan mengetahui senyawa metabolit sekunder apa yang menghasilkan toksisitas.

2. Bahan dan Metoda

2.1. Bahan Kimia

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah sampel daun tumbuhan *Aglaia odorata*, pelarut teknis yang telah didistilasi yaitu n-heksana, etil asetat, dan metanol. Untuk analisis kromatografi lapis tipis (KLT) digunakan plat KLT, kertas saring dan aluminium foil. Bahan yang digunakan untuk uji fitokimia yaitu pereaksi Mayer untuk identifikasi alkaloid, pereaksi *Liebermann-Burchard* (anhidrida asetat dan asam sulfat pekat) untuk identifikasi triterpenoid dan *steroidsianidin* test bubuk magnesium dan asam klorida

pekat) untuk identifikasi flavonoid, besi (III) klorida untuk identifikasi fenolik, ammonia, natrium hidroksida untuk identifikasi kumarin dan akuades. Untuk uji toksisitas digunakan DMSO, air laut, larva udang *Artemia salina*

2.2. Peralatan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini alat distilasi, *rotary evaporator*, kromatografi kolom, botol vial, neraca analitik, *chamber*, pipa kapiler, plat KLT, dan Lampu UV (λ 365 nm) sebagai pengungkap noda, dan alat-alat gelas lainnya yang lazim digunakan dalam penelitian kimia organik. Untuk uji toksisitas digunakan wadah pembiakan

2.3. Prosedur Penelitian

2.3.1 Preparasi Sampel

Tumbuhan *Aglaia odorata* (*Aglaia Odorata*) diperoleh dari Kawasan Lubuk Minturun dan di sekitar pekarangan rumah masyarakat. Bagian tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun. Sampel dipotong-potong dan dikeringanginkan sampai rapuh (tidak lagi mengandung air), kemudian dihaluskan dengan mesin *grinder* dan ditimbang. Sampel yang telah berupa bubuk $\pm$ 4500 gram digunakan untuk percobaan selanjutnya. Identifikasi tumbuhan dilakukan di Herbarium Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas.

2.3.2 Uji Profil Fitokimia Daun Pacar Cina

Pengujian dilakukan dengan mengikuti metode studi sebelumnya[1,8] dengan sedikit modifikasi. Dimasukkan sampel yang akan diuji ke dalam tabung reaksi, ditambahkan dengan kloroform dan air suling perbandingan 1:1 sebanyak 5 mL, dilakukan pengocokan, kemudian didiamkan hingga terbentuk dua lapisan kloroform-air lapisan bawah merupakan lapisan kloroform, lapisan atas merupakan lapisan air. Dipisahkan lapisan air dengan cara dekantasi ke dalam tabung reaksi yang lain. Lapisan kloroform digunakan untuk pemeriksaan senyawa triterpenoid dan steroid. Lapisan air digunakan untuk pemeriksaan flavonoid, saponin, dan fenolik.

a. Pemeriksaan Kumarin

Untuk menguji adanya senyawa kumarin dalam sampel dirajang halus dan diekstrak dengan pelarut etanol. Hasil ekstrak ditotolkan pada garis awal plat KLT denggan menggunakan pipa kapiler, dibiarkan kering di udara terbuka. Setelah itu dielusi dalam bejana yang berisi 10 mL eluen etil asetat 100%. Noda dimonitor dibawah lampu UV 365 nm.

b. Pemeriksaan Alkaloid

Pemeriksaan alkaloid dilakukan menurut metode Culvenor-Fitzgerald. Sampel segar seberat 4 gram dipotong kecil-kecil, digerus dalam lumpang dengan bantuan pasir bersih, dibasahi dengan 10 mL Kloroform, kemudian tambahkan 10 mL kloroform amonia 0,05 M, ditambah asam sulfat 2 N, dikocok perlahan dan biarkan sehingga terbentuk pemisahan lapisan asam dan kloroform. Ambil lapisan asam sulfat dan pindahkan ke dalam tabung reaksi lain kemudian tambahkan beberapa tetes pereaksi Mayer. Reaksi positif ditandai dengan endapan putih.

c. Pemeriksaan Steroid, Triterpenoid, Saponin, Flavonoid dan senyawa Fenolik

Pemeriksaan dilakukan menurut metode Simens dan kawan-kawan yang telah dimodifikasi. Seberat 4 gram sampel segar dipotong kecil-kecil, dihaluskan dan dimasukkan ke dalam sebuah Erlenmeyer 100 mL, dididihkan dengan 25 mL metanol selama 15 menit, saring ke dalam Erlenmeyer 50 mL dan biarkan seluruh etanol menguap sampai kering. Tambahkan kloroform dan air suling (1:1) sebanyak 5 mL masing-masingnya. Kocok dengan baik, kemudian pindahkan ke dalam sebuah tabung reaksi, biarkan beberapa lama sehingga terbentuk dua lapisan kloroform- air. Lapisan kloroform di bagian bawah digunakan untuk pemeriksaan senyawa terpenoid dan steroid. Sedangkan lapisan air untuk pemeriksaan kandungan flavonoid, fenolik dan saponin.

- Lapisan air
 - Sebanyak 1mL lapisan air dimasukkan kedalam tabung reaksi. Kemudian dikocok kuat-kuat, apabila terbentuk busa yang tidak hilang dalam 5 menit, menunjukkan adanya busa, hal ini menunjukkan positif saponin.
 - Beberapa tetes ditempatkan dalam tabung reaksi, tambahkan FeCl_3 5% timbul warna hijau sampai ungu menandakan adanya fenolik.
 - Beberapa tetes ditempatkan dalam tabung reaksi, tambahkan asam klorida pekat dan serbuk magnesium. Timbulnya warna merah menunjukkan adanya flavonoid

Lapisan kloroform

Lapisan kloroform diteteskan pada plat tetes dan biarkan kering. Lubang pertama ditambahkan beberapa tetes asam sulfat pekat. Ke dalam lobang kedua tambahkan setetes anhidrida asetat dan setetes asam sulfat pekat (pereaksi Liebermann- Burchard). Terbentuknya Warna merah atau pink atau violet menandakan positif untuk triterpenoid. Warna hijau menandakan positif untuk steroid.

2.3.3 Ekstraksi Senyawa dari Daun Pacar Cina

Proses ekstraksi daun pacar cina dilakukan dengan metode maserasi. Sampel pertama kali direndam dengan pelarut heksan, proses maserasi dilakukan hingga maserat yang didapatkan telah bewarna bening. Maserat disaring untuk selanjutnya dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak pekat heksan. Ampas yang tersisa dari hasil maserasi direndam kembali dengan pelarut etil asetat, dan dilanjutkan dengan pelarut metanol.

2.3.4 Uji Aktivitas Toksisitas

a. Persiapan *Artemia Salina*

Air laut yang telah disaring dimasukkan ke dalam wadah pembiakan yang terdiri atas dua bagian yaitu bagian terang dan bagian gelap. Telur *Artemia salina* dimasukkan ke dalam wadah pembiakan pada bagian gelap dan dibiarkan selama 48 jam hingga terbentuk larva *Artemia salina*. Selanjutnya larva *Artemia salina* ini digunakan untuk uji toksisitas.

b. Pengujian Toksisitas

Sebanyak 10 mg masing-masing ekstrak n- heksana, etil asetat, dan kontrol dilarutkan dalam kontrol sampai volume 10 mL, diperoleh konsentrasi larutan induk 1000 mg/L. Dari larutan induk ini dibuat bermacam variasi konsentrasi, yaitu 50, 100, 150, 200, 250 mg/L serta satu vial untuk kontrol. Selanjutnya pelarut metanolnya diuapkan. Setelah itu ditambahkan 50 mL DMSO dan 2 mL air laut. Setelah itu sebanyak 10 ekor larva udang yang telah ditetaskan tadi dimasukkan ke dalam larutan uji. Setelah itu, volume masing- masing larutan dicukupkan hingga 5 mL dengan air laut. Sebagai kontrol digunakan 50 mL DMSO ditambah dengan air laut sampai volume 5 mL. Jumlah larva yang mati dihitung setelah 24 jam. Nilai LC_{50} dihitung menggunakan uji probit dan persamaan regresi.

3. Hasil dan Diskusi

3.1 Uji Profil Fitokimia

Hasil uji kandungan senyawa metabolit sekunder daun pacar cina dapat dilihat pada Tabel Hasil uji kandungan metabolit sekunder terhadap daun pacar cina.

No	Kandungan Kimia	Sampel Segar
1	Alkaloid	+
2	Fenolik	+
3	Flavonoid	-
4	Kumarin	+
5	Triterpenoid	+

6	Steroid	+
7	Saponin	-

Keterangan : (+) = Ada, (-) = Tidak ada

3.2 Ekstraksi Senyawa dari Daun Pacar Cina

Hasil ekstrak dari daun pacar cina dapat dilihat pada Tabel Hasil ekstraksi daun pacar cina dengan pelarut Heksan, Etil asetat, dan Metanol

No	Ekstrak	Berat (g)
1	Heksan	131,538
2	Etil Asetat	159,632
3	Metanol	42,158

Dari tabel diatas dapat diketahui bahwa di dalam daun pacar cina, kandungan senyawa yang bersifat semi polar paling banyak terekstrak dengan pelarut etil asetat, kemudian dilanjutkan oleh senyawa yang bersifat non polar yang diekstrak dengan pelarut heksan, dan ekstrak paling sedikit terdapat pada senyawa bersifat polar yang diekstrak menggunakan pelarut metanol[9].

3.3 Uji Toksisitas Setiap Ekstrak

Hasil pengukuran toksisitas dari setiap ekstrak dapat dilihat pada Tabel Uji toksisitas ekstrak heksan, etil asetat, dan metanol.

No	Sampel uji	LC_{50} (mg/L)
1	Ekstrak n-heksana	227,614
2	Ekstrak etil asetat	125,890
3	Ekstrak metanol	208,930

Nilai LC_{50} dapat ditentukan dengan membuat persamaan regresi antara konsentrasi setiap larutan uji yang merupakan sumbu X, dan nilai probit sebagai sumbu Y. Tingkat toksisitas digolongkan sangat aktif jika nilai $LC_{50} < 100$ mg/L, digolongkan sedang apabila nilai LC_{50} 101-200 mg/L, dan digolongkan lemah apabila nilai $LC_{50} > 200$ mg/L, jika nilai LC_{50} besar dari 1000 mg/L maka sampel dikatakan tidak aktif terhadap toksisitas[8]. Ekstrak etil asetat memiliki kandungan yang paling aktif terhadap toksisitas, sehingga dapat dilanjutkan dengan proses isolasi untuk memisahkan senyawa-senyawa terdapat dalam fraksi aktif tersebut[10].

4. Kesimpulan

Ekstrak Heksan, etil asetat, dan metanol dari daun tumbuhan pacar cina diketahui aktif terhadap toksisitas

dengan nilai LC₅₀ secara berurutan yaitu 227,614 mg/L; 125,890 mg/L; 208, 930 mg/L. Toksisitas paling aktif terdapat pada ekstrak etil asetat karena semakin rendah nilai LC₅₀ maka semakin aktif terhadap toksisitas. Dan hasil uji toksisitas pada ekstrak etil asetat menunjukkan bahwa ekstrak ini mengandung senyawa alkaloid, fenolik, triterpenoid, steroid, dan kumarin.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada Ibu Mitralena selaku analis Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam yang telah membantu selama penelitian ini.

Kontribusi Penulis

Konseptualisasi: M.E

Kurasi data: R.S.A, A.S

Analisis Formal: M.E., A.S

Akuisisi pendanaan: M.E

Investigasi: R.S.A

Metodologi: M.E

Administrasi proyek: R.S.A

Sumber: M.E

Perangkat lunak: R.S.A

Pengawasan: A.S

Validasi: M.E

Visualisasi: R.S.A., A.S

Penulisan – draf asli: M.E

Menulis – mengulas & menyunting: A.S., R.S.A

Konflik Kepentingan

Penulis tidak ada konflik kepentingan dengan pihak manapun selama melakukan penelitian dan penulisan

Daftar Pustaka

- [1] M. Efdi, D. Pratama, A. Itam, T. Okselni, Antioxidant Flavonoid Glycoside from Leaves of Cacao Mistletoe (*Scurrula ferruginea* (Jack) Danser), *Indones. J. Chem.* 22 (2022) 944–952. <https://doi.org/10.22146/ijc.72133>.
- [2] L.. An, F.L., Wang, J.S., Wang, H., Wang, X.B., Yang, M.H., Guo, Q.L., Dai, Y., Luo, J. and Kong, Cytotoxic Flavonol-Diamide [3+2] Adducts from the Leaves of *Aglaia Odorata*, *Tetrahedron*. 71 (2015) 2450–2457.
- [3] B. Liu, Y.K. Xu, Cytotoxicity and Synergistic Effect of the Constituents from Roots of *Aglaia odorata* (Meliaceae), *Nat. Prod. Res.* 30 (2016) 433–437.
- [4] A. Dharma, D.D., Efdi, M. and Santoni, Research Article Isolation and Elucidation Structure Major Compounds from the Leaves of *Aglaia Odorata* Lour, 7 (2015) 121–123.
- [5] N.T.N. Ngo, N.T.D.D.T. Lai, H.C. Le, L.T.T. Nguyen, B.T.D. Trinh, H.D. Nguyen, P.D. Pham, S. V. Dang, L.H.D. Nguyen, Chemical constituents of *Aglaia elaeagnoidea* and *Aglaia odorata* and their cytotoxicity, *Nat. Prod. Res.* 36 (2022) 1494–1502. <https://doi.org/10.1080/14786419.2021.1893723>.
- [6] J.K. Wang, Q. Guo, X.W. Zhang, L.C. Wang, Q. Liu, P.F. Tu, Y. Jiang, K.W. Zeng, *Aglaia odorata* Lour. extract inhibit ischemic neuronal injury potentially via suppressing p53/Puma-mediated mitochondrial apoptosis pathway, *J. Ethnopharmacol.* 248 (2020) 112336. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112336>.
- [7] M. Efdi, A. Pardede, A. Kakumu, H. Hara, Syafrizayanti, D. Arisanti, M. Ninomiya, M. Koketsu, Chemical Constituents of *Aglaia odorata* Leaves and Their Anti-inflammatory Effects, *Nat. Prod. Commun.* 12 (2017) 1717–1720.
- [8] T. Okselni, A. Santoni, A. Dharma, M. Efdi, Determination of antioxidant activity, total phenolic content, and total flavonoid content of roots, stem bark, and leaves of *Elaeocarpus mastersii* King, *Rasayan J. Chem.* 11 (2018) 1211–1216. <https://doi.org/10.31788/RJC.2018.1133058>.
- [9] X. Yang, Y. Yu, P. Wu, J. Liu, Y. Li, L. Tao, R. Tan, X. Hao, C. Yuan, P. Yi, Phenolic and bisamide derivatives from *Aglaia odorata* and their biological activities, *Nat. Prod. Res.* (2022) 14786419. <https://doi.org/10.1080/14786419.2022.2162514>.
- [10] H. Kato-Noguchi, M. Suzuki, K. Noguchi, O. Ohno, K. Suenaga, C. Laosinwattana, A Potent Phytotoxic Substance in *Aglaia odorata* Lour., *Chem. Biodivers.* 13 (2016) 549–554. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201500175>.