

SKRINING FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS SITOTOKSIK PADA KULIT BATANG TAMPOI (*Baccaurea macrocarpa*) TERHADAP *Artemia Salina Leach* DENGAN METODE BSLT

Eka Dwijayanti^{1*}, Andi Hairil Alimuddin¹, Muhamad Agus Wibowo¹

¹Program Studi Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura, Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi, email: ekha.dwijayanti@yahoo.com

ABSTRAK

Tampoi (*Baccaurea macrocarpa*) merupakan salah satu tanaman dari genus *Baccaurea*. Beberapa informasi ilmiah tentang aktivitas dari tanaman genus ini diantaranya antioksidan, antimikroba dan sitotoksik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas sitotoksik ekstrak metanol kulit batang tampoi dan hasil fraksinasinya. Penelitian diawali dengan penyediaan ekstrak metanol kental melalui maserasi sampel menggunakan pelarut metanol. Ekstrak metanol dipartisi dengan pelarut *n*-heksana, kloroform dan etil asetat yang diikuti dengan uji fitokimia kemudian dilakukan uji toksisitas ekstrak kental metanol dan hasil partisi terhadap *Artemia Salina L* dengan metode *Brine Shrimp Lethality test* (BSLT). Hasil uji fitokimia ekstrak kulit batang tampoi dan fraksinasinya positif mengandung metabolit sekunder yaitu ekstrak metanol dan fraksi etil asetat positif mengandung flavonoid, steroid, polifenol dan alkaloid sedangkan pada fraksi kloroform dan fraksi *n*-heksana positif mengandung alkaloid dan pada fraksi metanol positif mengandung flavonoid, polifenol, dan alkaloid. Data kematian *Artemia salina* dianalisis dengan analisis probit untuk mengetahui nilai LC_{50} . Hasil penelitian ini menunjukkan nilai LC_{50} dari ekstrak kental metanol kulit batang tampoi adalah 318,150 ppm dan fraksinasinya adalah fraksi etil asetat 310,443 ppm, fraksi *n*-heksana 500,160 ppm, fraksi metanol 602,869 ppm dan fraksi kloroform 640,471 ppm. Berdasarkan hasil uji aktivitas sitotoksik yang dilakukan, kulit batang tampoi mempunyai aktivitas sitotoksik dengan tingkat aktivitas yang tergolong sedang.

Kata kunci: *Tampoi*, *Baccaurea macrocarpa*, Fitokimia, Sitotoksik, *Artemia Salina*, BSLT.

PENDAHULUAN

Kalimantan Barat merupakan wilayah Indonesia dengan keanekaragaman hayati yang tinggi, salah satunya adalah tanaman dari genus *Baccaurea*. Beberapa spesies dari tanaman genus *Baccaurea* menunjukkan aktivitas biologi yang menarik diantaranya adalah tanaman rambai (*Baccaurea ramiflora*) sebagai zat hipoglikemik, hipolipidemik dan antioksidan (Ullah *et al.*, 2012). Selain itu, fraksi *n*-heksana, kloroform dan karbon tetraklorida dari ekstrak etanol daun dan kulit batang *B. ramiflora* menunjukkan aktivitas sitotoksik yang memiliki nilai LC_{50} sebesar 7,79 mg / ml (95% interval kepercayaan 6,48-9,37), 29,94 mg / ml (95% CI, 27,98-32,04) dan 5,78 mg / ml (95% interval kepercayaan 4,76-6,99) menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality bioassay* (Howlader, *et al.*, 2012). Sisilia (2012) melaporkan potensi ekstrak kulit batang buah rambai (*Baccaurea motleyana*) yang telah diuji secara *in vitro* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

Salah satu spesies dari genus *Baccaurea* adalah tampoi (*Baccaurea macrocarpa*).

Tanaman tampoi banyak digemari karena buahnya yang manis. Batang tampoi digunakan sebagai bahan bangunan rumah dikalangan masyarakat (Haegens., 2000). Hasil penelitian yang dilakukan oleh Tirtana, dkk (2013) menunjukkan bahwa tanaman tampoi memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder, diantaranya adalah saponin, flavonoid dan alkaloid. Senyawa metabolit sekunder banyak dimanfaatkan sebagai antioksidan, terutama golongan senyawa alkaloid, fenolik dan flavonoid. Biji buah tampoi juga mengandung nutrisi seperti serat (2,2%), lemak (1,1%), abu (0,9%), karbohidrat (34,6%), protein (1,5%), air (61,9%) dan vitamin C (1,5%).

Publikasi tentang tanaman tampoi yang telah diperoleh baru sebatas aktivitas antioksidan biji dan kulit buah tampoi. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lanjut tentang aktivitas biologi lainnya dari tanaman tampoi seperti aktivitas sitotoksik. Pada penelitian ini akan dikaji aktivitas sitotoksik dari kulit batang tampoi menggunakan udang *Artemia salina leach*. Kulit batang tampoi diekstraksi menggunakan metanol untuk memperoleh ekstrak kental metanol, lalu difraksinasi menjadi fraksi *n*-heksana, kloroform, etil asetat dan metanol. Ekstrak kental metanol

dan hasil fraksinasi akan diuji fitokimia dan diuji aktivitas sitotoksiknya menggunakan metode *Brine shrimp lethality test* dengan parameter LC_{50} pada berbagai variasi konsentrasi. Metode pengujian aktivitas sitotoksik menggunakan *Brine shrimp lethality test* merupakan metode bioassay sederhana untuk penelitian produk alami. Keunggulan metode ini adalah dapat dilakukan dengan cepat, handal dan telah digunakan selama lebih dari tiga puluh tahun dalam studi toksikologi (Nasir *et al*, 2013).

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan Uji

Bahan uji yang digunakan adalah kulit batang tampoi yang berasal dari Desa kandang, Kecamatan Bengkayang, Kabupaten Bengkayang, Kalimantan Barat.

Bahan Kimia

Bahan kimia yang digunakan adalah air laut buatan, akuades (H_2O), asam klorida (HCl), asam sulfat (H_2SO_4), besi (III) klorida heksahidrat ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$), *Artemia Salina Leach*, dimetil sulfoksida (DMSO), etil asetat (CH_3COOCH_3), kloroform ($CHCl_3$), metanol (CH_3OH), natrium oksida (NaOH), *n*-heksana (C_6H_{14}) reagen Dragendroff, Mayer, Wagner dan serbuk Mg.

Alat

Alat-alat yang digunakan adalah peralatan *glassbeaker* (250 mL; 100 mL), peralatan penetasan *Artemia salina leach*, , botol vial, lampu 25 watt, plat tetes, pipet tetes.

Ekstraksi dan Partisi

Sampel kulit batang tampoi dibersihkan dan dikering anginkan kemudian Sampel kulit batang tampoi yang sudah kering dihaluskan sampai menjadi serbuk. Serbuk kering kulit batang tampoi sebanyak 3,3 kg dimaserasi dengan metanol pada suhu kamar. 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 metanol. Ekstrak metanol dengan berat sekitar 58,28 g kemudian dilakukan partisi menggunakan pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda. Pertama menggunakan pelarut *n*-heksana. Fraksi metanol kemudian dilakukan partisi kembali dengan pelarut kloroform dan diperoleh fraksi kloroform. Fraksi metanol dipartisi dengan

etil asetat dan diperoleh fraksi etil asetat hasil partisi yang diperoleh, selanjutnya dipekatkan menggunakan *evaporator* (Tirtana *et.al*, 2013).

Uji Fitokimia

- Identifikasi Alkaloid (Marliana, 2005)
Sampel diteteskan pada plat tetes. Masing-masing filtrat diambil dan diuji dengan pereaksi Meyer dan Dragendorf. Terbentuknya endapan cokelat menunjukkan adanya alkaloid.

- Identifikasi Flavonoid (Harborne, 1987)
Sampel diteteskan pada plat tetes. Pada masing-masing filtrat kemudian ditambahkan NaOH, H_2SO_4 pekat dan Mg-HCl. Apabila terjadi perubahan warna hingga sampai kemerahan maka positif adanya flavonoid.

- Identifikasi Polifenol (Harborne, 1987)
Sampel diteteskan pada plat tetes ditambah larutan $FeCl_3$. Apabila timbul warna biru sampai kehitaman maka positif mengandung senyawa polifenol.

- Identifikasi Steroid (Marliana, 2005)
Sampel diteteskan pada plat tetes ditambah Liebermann-Buechard, lalu dibiarkan selama 5 menit. Apabila terbentuk cincin kehijauan pada larutan maka positif adanya senyawa steroid.

Pembuatan Larutan Induk dan Uji (McLaughlin, 1998)

Larutan induk 2000 ppm dibuat dengan melarutkan 200 mg ekstrak kental kulit batang tampoi dan fraksinasinya dalam 100 mL air laut buatan (jika tidak larut ditambahkan DMSO), kemudian diencerkan menjadi tiga variasi konsentrasi 10, 100 dan 1000 ppm.

Persiapan Larva Udang (Erma, 2004)

Air laut dimasukkan ke dalam media penetasan yang terbagi menjadi 2 ruangan. Antara ruangan yang satu dengan ruangan yang lain dihubungkan melalui sebuah sekat yang sebelumnya diberi lubang terlebih dahulu. Salah satu bagian dari ruangan tersebut ditutup dengan menggunakan aluminium foil. Air laut dimasukkan ke dalam media penetasan. Kemudian telur *Artemia salina* dimasukkan ke bagian ruangan yang tertutup. Sisi yang lain dibiarkan terbuka. Setelah 48 jam, telur *Artemia salina* akan menetas menjadi udang laut kecil yang disebut *nauplii* dan siap digunakan untuk penelitian.

Uji Toksisitas dengan *Metode Brine Shrimp lethality test (BSLT) (McLaughlin, et al 1998)*

Sebanyak 10 *nauplii* dimasukkan ke dalam masing-masing vial yang telah diisi larutan uji dengan konsentrasi masing-masing 10, 100 dan 1000 ppm dalam tiga kali ulangan. Tiga vial masing-masing berisi 10 mL air laut murni (0 ppm) dan 10 ekor *nauplii* sebagai kontrol. Setelah 24 jam, diamati jumlah *nauplii* yang hidup dan yang mati untuk tiap-tiap konsentrasi. Digunakan analisis probit untuk menentukan nilai LC₅₀.

$$\% \text{ Kematian} = \left(\frac{\text{Jumlah larva mati}}{\text{jumlah larva total awal}} \right) \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi Sampel dan Uji Fitokimia

Tanaman tampoi mempunyai pohon yang berumah dua, tinggi 10 - 15 m, dengan garis tengah batang mencapai 40 cm. Daun berseling, bundar telur terbalik sampai lonjong, kaku seperti kulit dan gundul. Perbungaan memiliki panjang sampai 20 cm, menempel di batang dan percabangan. Perbungaan betina lebih pendek dari pada yang jantan. Buah tampoi memiliki buah yang sangat manis dengan daging buah berwarna kuning (Haegens, 2000).



Gambar 1 Tanaman Tampoi

Kulit batang tampoi yang kering dihaluskan dan dimaserasi selama 3x24 jam dengan pelarut metanol yang bertujuan menaikkan permeabilitas dinding sel. Maserat yang didapat dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dengan tujuan memperoleh ekstrak metanol kental. Berat ekstrak kental metanol dari kulit batang tampoi 58,28 gr dengan rendemen 1,76 %. Hasil dari ekstrak metanol kulit batang tampoi dipartisi dengan larutan *n*-heksana, kloroform, etil asetat maka akan didapat fraksi *n*-heksana, kloroform, etil asetat dan metanol.

Dari hasil partisi masing-masing dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dengan berat pada fraksi *n*-heksana 1,41 g, fraksi kloroform 1,09 g, fraksi etil asetat 1,0 g dan fraksi metanol 11,06

g dan rendemen tiap-tiap dari fraksi yaitu fraksi *n*-heksana 6,85 %, fraksi kloroform 5,29 %, fraksi etil asetat 4,86 % dan pada fraksi metanol 53,76 %. Hasil ekstrak dan partisi kulit batang tampoi selanjutnya diuji fitokimia dan efek sitotoksiknya.

Uji Fitokimia

Hasil uji fitokimia terhadap ekstrak kental kulit batang tampoi dan fraksi etil asetat positif mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, steroid dan polifenol sedangkan pada fraksi metanol positif mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, dan polifenol dan pada fraksi kloroform dan fraksi *n*-heksana positif mengandung senyawa alkaloid. Hasil uji fitokimia disajikan pada tabel 1.

Tabel 1 Uji Fitokimia Ekstrak Metanol dan fraksinasi kulit batang tampoi

Gol. senyawa	Ekstrak Metanol	Fraksi	
		<i>n</i> -heksan	Kloroform
Flavonoid	+	-	-
Steroid	+	-	-
Polifenol	+	-	-
Alkaloid	+	+	+

Gol. senyawa	Fraksi	
	Etil asetat	Metanol
Flavonoid	+	+
Steroid	+	-
Polifenol	+	+
Alkaloid	+	+

Uji Sitotoksitas dengan Metode *BSLT (Brine Shrimp Lethality Test)*

Uji sitotoksik yang digunakan pada penelitian ini adalah metode *Brine shrimp lethality test (BSLT)*. Metode ini dilakukan sebagai uji pendahuluan antikanker untuk mengetahui sitotoksik suatu senyawa dari ekstrak kental metanol dan fraksinasi kulit batang tampoi yang diujikan dengan *Artemia salina leach*. Sampel yang digunakan adalah kulit batang tampoi. Ekstrak kental dan fraksinasi tersebut akan dilihat toksisitasnya dalam mematikan larva

udang dewasa (*nauplii*). Ekstrak dan fraksinaskulit batang tampoi bersifat toksik apabila mempunyai harga LC_{50} (konsentrasi yang dapat mematikan 50% larva udang laut) < 1000 ppm (Erma., 2004).

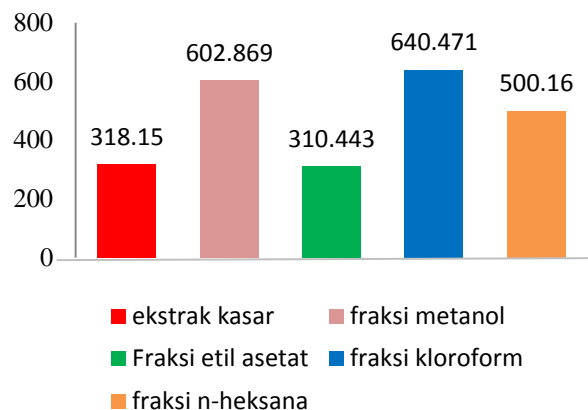
Beberapa kelebihan dari uji *Brine shrimp lethality test*(BSLT) menggunakan *Artemia salinaleach* adalah waktu ujinya cepat, mudah, tidak memerlukan peralatan khusus, sederhana (tanpa teknik aseptik), murah (tidak perlu serum hewan), jumlah organisme banyak, memenuhi kebutuhan validasi statistik dengan sedikit sampel, hasilnya representatif dan dapat dipercaya (Mayer., *et al* 1982).

Pengamatan dilakukan terhadap *Artemia* yang telah diberi perlakuan dengan konsentrasi 0, 10, 100, 1000 ppm. Data pengamatan tingkat kematian *Artemia* yang diujikan terhadap ekstrak kental metanol, fraksi n-heksana, etil asetat dan metanol dicantumkan pada Tabel 2.

Tabel 2 Rata-rata % Kematian Ekstrak Metanol dan fraksi kulit batang tampoi

Sampel	Bagian	Konsentrasi (ppm)	Persen kematian (%)
Ekstrak kasar	Kulit batang Tampoi	10	36,66
		100	56,66
		1000	90
Fraksi methanol		10	33,33
		100	23,33
		1000	70
Fraksi etil Asetat		10	43,33
		100	50
		1000	90
Fraksi Kloroform		10	20
		100	26,66
		1000	70
Fraksi n-heksan		10	26,66
		100	43,33
		1000	76,66

Berdasarkan nilai persentase kematian pada tabel 2, terlihat bahwa semakin besar nilai konsentrasi ekstrak, kematian pada *Artemia* juga semakin besar. Tingkat kematian dapat ditemukan secara langsung melalui perbandingan konsentrasi yang berkisar dari konsentrasi terendah hingga konsentrasi tertinggi. Dengan kata lain, kematian *Artemia* disebabkan oleh peningkatan konsentrasi dalam sampel (Apu, 2013).



Gambar 2 Grafik Sitotoksik ekstrak dan Fraksi Dari Kulit Batang Tampoi

Gambar 2 menunjukkan aktivitas sitotoksik ekstrak metanol dan fraksi kulit batang tampoi (*Baccaurea macrocarpa*). Sampel uji yang memiliki kekuatan sitotoksik paling tinggi berturut-turut adalah ekstrak metanol LC_{50} 318,150 ppm, kemudian diikuti dengan fraksi etil asetat 310,443 ppm, fraksi n-heksana 500,160 ppm, fraksi metanol 602,869 ppm dan fraksi kloroform 640,471 ppm. Sedangkan kekuatan sitotoksik paling rendah dimiliki oleh ekstrak metanol dengan nilai 318,150 ppm. Hasil uji aktivitas sitotoksik menunjukkan bahwa ekstrak kulit batang tampoi memiliki potensi sebagai antikanker. Hal ini didukung oleh penelitian Mayer (1982) yang menyatakan bahwa suatu ekstrak menunjukkan aktivitas ketoksikan dalam *Brine shrimp lethality test*(BSLT) jika ekstrak dapat menyebabkan kematian 50 % hewan uji pada konsentrasi LC_{50} < 1000 ppm.

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak kasar dan fraksi etil asetat kulit batang tampoi positif mengandung alkaloid, flavonoid, steroid dan polifenol sedangkan pada fraksi metanol positif mengandung alkaloid, flavonoid dan polifenol pada fraksi n-heksana dan fraksi kloroform positif mengandung alkaloid.
2. Nilai LC_{50} ekstrak metanol kulit batang tampoi (*Baccaurea macrocarpa*) adalah 318,150 ppm sedangkan pada fraksinasi adalah fraksi etil asetat 310,443 ppm, fraksi n-heksana 500,160 ppm, fraksi metanol

3. 602,869 ppm dan fraksi kloroform 640,471 ppm.
4. Ekstrak metanol kulit batang tampoi (*Baccaurea macrocarpa*) dan fraksinya bersifat toksik terhadap larva *Artemia Salina* Leach karena menghasilkan nilai $LC_{50} < 1000$ ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Apu A.S., Bhuyan, S.H., Khatun, F., Liza, M.S., Matin, M., Hossain, F.M., 2013., *Assessment of Cytotoxic Activity of Two Medicinal Plants Using Brine Shrimp (Artemia Salina) As an Experimental Tool.*, *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*.
- Erma N.N.S., Sundari, T., Susanty, A.I., Octavia, D.R., Isnaeni, Sukardiman., 2004., *Kajian Pendahuluan Uji Toksisitas Ekstrak Air Miselia dan Tubuh Buah Jamur Shittake (Lentinus edodes) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*, *Berk. Penel. Hayati*.
- Haegens, R.M.A.P. 2000., *Taxonomy, Phylogeny, and Biogeography of Baccaurea, Distichirhops, and Nothobaccaurea (Euphorbiaceae)*.
- Harborne, J. B., 1987, *Metode Fitokimia*, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, Penerjemah: K. Padmawinata dan I. Soediro, terbitan ke-2, Penerbit ITB, Bandung.
- Howlader Md. A., Apu A. Sarker., Saha R. Kumer., Rizwan F., Nasrin N., Asaduzzaman M., 2012., *Cytotoxic Activity Of N-Hexane, Chloroform And Carbon Tetrachloride Fractions Of The Ethanolic Extract Of Leaves And Stems Of Baccaurea Ramiflora.*, *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*.
- Marliana, D.S., Suryanti, V dan Suyono, 2005, *Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (Sechum edule Jacq. Swartz) dalam Ekstrak Etanol*, *Journal*.
- Mayer B.N., Ferrigni N.R., Putnam J.E., Jacobsen L.B., Nichols D.E and McLaughlin J.L., 1982, *Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents.*, *Planta Medica*.
- McLaughlin. J. L and Roggers. L. L., 1998, *The Use Of Biological Assays to Evaluate Botanicals*, *Drug Information Journal*.
- Sisillia, L., 2010. *Aktifitas Antibakteri Zat Ekstraktif Kulit Kayu Rambai (Baccaure Motleyana Muell. Arg)*. *The Philippine Agricultural Scientist*.
- Tirtana Endra., Idiawati Nora., Warsida., Jayuska Afghani., 2013., *Analisa Proksimat, Uji Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Pada Buah Tampoi (Baccaurea Macrocarpa)*, JKK.
- Ullah M. O., Urmi K. F., Howlader Md. A., Hossain Md. K., Ahmed M. T., Ahmed Kaiser., 2012., *Hypoglycemic, Hypolipidemic and Antioxidant Effects of Leaves Methanolic Extract of (Baccaurea Ramiflora)*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*.