

## Aktivitas Toksik Buah Gwang (*Corypha utan* Lamk.) Dengan Metode BSLT

**Leny Heliawati<sup>1</sup>, Tri Mayanti<sup>2</sup>, Agus Kardinan<sup>3</sup>, Rukmiati K Cokronegoro<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Leny Heliawati, Universitas Pakuan, Bogor ([Leny\\_heliawati@yahoo.com](mailto:Leny_heliawati@yahoo.com))

<sup>2</sup>Tri Mayanti, Universitas Padjadjaran, Bandung

<sup>3</sup>Agus Kardinan, Balai Penelitian Obat dan Aromatik, Bogor

<sup>4</sup>Rukmiati K Cokronegoro, Universitas Padjadjaran, Bandung

### ABSTRAK

Buah *Corypha utan* Lamk. yang dikenal dengan tanaman gwang oleh masyarakat pulau Timor Nusa Tenggara Timur biasa digunakan untuk meracuni ikan. Buah ini diduga dapat membuat ikan mabuk sehingga lebih mudah ditangkap nelayan. Fakta empiris ini mengindikasikan adanya senyawa toksik dalam buah gwang. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui fraksi buah gwang yang beraktivitas toksik terhadap larva udang. Metode penelitian yang digunakan adalah biji dan daging buah gwang dimaserasi dengan metanol secara terpisah, ekstrak metanol kemudian dipartisi menggunakan n-heksana, etil asetat dan air. Keempat ekstrak yang dihasilkan dari biji dan daging buah gwang diuji toksitasnya dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) pada konsentrasi 300 dan 1000 ppm. Hasil uji toksisitas menunjukkan fraksi n-heksana, etilasetat, air dan metanol biji gwang dan ekstrak metanol dan etil asetat daging buah pada konsentrasi 300 dan 1000 ppm memiliki nilai mortalitas 100%. Ekstrak n-heksana dan air pada konsentrasi 1000 ppm pun memiliki mortalitas 100%. Namun pada konsentrasi 300 ppm, ekstrak n-heksana dan air memiliki mortalitas 80 dan 93%. Hasil penelitian ini menunjukkan biji gwang lebih toksik dibandingkan dengan daging buah.

Kata Kunci: *Corypha utan* Lamk, BSLT, ekstraksi.

### ABSTRACT

*Fruit of Corypha utan Lamk known as gwang plants by the community of Timor island of Nusa Tenggara Timur used to as poison fish. This fruit can make fish drunk allegedly making it easier by fishermen. This empirical fact indicates toxic compounds in the fruit of gwang. The purpose of this research to know which fraction of gwang fruit have toxic activity against shrimp larvae. The research method is used seed and flesh of fruit gwang are macerated with methanol, methanol extracts separately then partitioned using n-hexane, ethyl acetate and water. The fourth extract produced from seed and flesh of fruit gwang tasted toxicity with BSLT method (Brine Shrimp Lethality Test) at concentrations of 300 and 1000 ppm. The results of toxicity test showing the fraction extract of n-hexane, ethyl acetate, water and methanol seed gwang and methanol and ethyl acetate extract of flesh fruit on concentration 300 and 1000 ppm have mortality rate of 100%. However, in the concentration of 300 ppm, extract of n-hexane and water has mortality rate of 80 and 93%. The result of this research shows the more toxic than gwang seeds with fruit's flesh*

*Key Word: Corypha utan Lamk, BSLT, extraction.*

### 1. Pendahuluan

Buah Gwang (*Corypha utan* Lamk.) secara tradisional digunakan sebagai racun ikan oleh masyarakat di Pulau Timor. Penelusuran literatur belum menemukan penjelasan mengenai senyawa toksik dari buah tumbuhan ini. Oleh karena itu penelitian mengenai senyawa toksik dari tumbuhan ini perlu dilakukan.

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui toksisitas ekstrak buah gwang menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) melalui uji bioindikator terhadap larva udang (*Artemia salina* Leach.). Manfaat penelitian ini adalah mengetahui senyawa toksik dari ekstrak buah gwang dan mengetahui toksisitasnya sehingga dapat diketahui potensi efek farmakologinya ataupun potensinya sebagai pestisida alami.

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan pendekatan *Post Test-Only Control Group Design* yang menggunakan teknik pengambilan sampel *Simple Random Sampling* terhadap larva *Artemia salina Leach*.

Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) merupakan salah satu metode skrining untuk menentukan aktivitas toksik suatu ekstrak ataupun senyawa. Metode BST juga sering digunakan untuk bioassay dalam usaha mengisolasi senyawa toksik tersebut dari ekstrak. Metode ini seringkali dimaknai lebih dari sekedar uji toksisitas. Bila bahan yang diuji memberikan efek toksik terhadap larva udang, maka hal ini merupakan indikasi awal dari efek farmakologi yang terkandung dalam bahan tersebut. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa *A. salina* memiliki korelasi positif terhadap ekstrak yang bersifat bioaktif [1], Metode ini juga banyak digunakan dalam berbagai analisis biosistem seperti analisis terhadap residu pestisida, mikotoksin, polusi, senyawa turunan morfin, dan karsinogenik dari phorbol ester.

Penelitian Carballo dkk menunjukkan adanya hubungan yang konsisten antara toksisitas dan letalitas Brine shrimp pada ekstrak tanaman. Metode BST dapat dipercaya untuk menguji aktivitas farmakologis dari bahan-bahan alami. Apabila suatu ekstrak tanaman bersifat toksik menurut harga  $LC_{50}$  dengan metode BST, maka tanaman tersebut dapat dikembangkan sebagai obat anti kanker. Namun, bila tidak bersifat toksik maka tanaman tersebut dapat diteliti kembali untuk mengetahui khasiat lainnya dengan menggunakan hewan coba lain yang lebih besar dari larva *Artemia salina* seperti mencit dan tikus secara *in vivo* [2].

## **2. Metode Penelitian**

### **2.1 Pengambilan Sampel dan Ekstraksi**

Pengambilan sampel buah Gewang dilakukan di Daerah Buat, Soe Kabupaten Timor Tengah Selatan, Provinsi Nusa Tenggara Timur. Sebanyak 3,9 kg buah Gewang segar dipotong kemudian dipisahkan antara biji dan daging buahnya. Biji dan daging buahnya dihancurkan dengan menggunakan mesin penggiling dan dimaserasi dengan menggunakan masing-masing 4 dan 3 liter pelarut metanol. Maserasi dilakukan selama 3 hari. Setelah 3 hari maserat dipisahkan dari ampas dengan cara penyaringan. Maserat dipisahkan dengan menggunakan *rotary evaporator* dengan tekanan vakum pada suhu  $\pm 40^{\circ}\text{C}$  sehingga diperoleh ekstrak pekat metanol. Ekstrak ini kemudian dipartisi dengan pelarut *n*-heksana, etil asetat sehingga diperoleh ekstrak *n*-heksana, etilasetat dan air.

### **2.2 Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)**

#### **2.2.1 Pembuatan Media Air Laut**

Garam laut ditimbang sebanyak 28 gram, kemudian ditambahkan dengan akuades sebanyak 1 L dan diaduk hingga larut. Larutan garam laut 2,8% (b/v) ini kemudian disimpan sebagai larutan *stock* medium air laut atau yang lebih dikenal sebagai *artificial sea water*.

### 2.2.2 Pembibitan Larva Udang

Larutan *stock* dilarutkan dengan akuades dengan perbandingan 1:2 (v/v) pada gelas kimia 2 L. Larutan yang dihasilkan, kemudian ditambahkan telur *A. salina*. Selanjutnya, medium pembibitan disinari cahaya lampu yang cukup dan dialirkan udara dengan menggunakan alat tiup udara. Setelah 24-48 jam larva udang akan menetas dari telurnya dan berkumpul pada bagian yang paling dekat dengan sumber cahaya.

### 2.2.3 Pengujian Sampel

Sampel yang akan diuji dilarutkan dengan menggunakan pelarut metanol sehingga didapatkan larutan uji dengan berbagai variasi konsentrasi yang dikehendaki. Kemudian sampel-sampel uji tersebut diupkan pelarutnya. Setiap sampel uji ditambahkan larva udang (*A. salina*) sebanyak 15 ekor dan ditambahkan larutan pemeliharaan sebanyak 2 mL. Larutan pemeliharaan yaitu larutan *stock* yang dilarutkan akuades dengan perbandingan 1:3 (v/v). Setiap variasi konsentrasi uji dilakukan tiga kali pengulangan. Setelah 24 jam, jumlah larva udang (*A. salina*) yang mati dihitung pada setiap botol vial uji [3]. Analisis Hasil Efek toksisitas dianalisis dari pengamatan dengan persen kematian.

$$\% \text{ larva} = \frac{\text{jumlah larva yang mati}}{\text{jumlah larva uji}} ;$$

## 3. Hasil dan Pembahasan

### 3.1 Ekstraksi sampel

Buah tumbuhan *Corypha utan* Lamk yang didapat dari daerah Bu'at So'e Kabupaten Timor Tengah Selatan, Provinsi Nusa Tenggara Timur dihancurkan dengan mesin penggiling dan diperoleh sebanyak 3,9 kg. Biji dan daging buahnya dipisahkan dan dimaserasi secara terpisah. Massa biji 1,3 kg sedangkan buah 2,6 kg. Pemotongan sampel dilakukan agar dapat memperbesar luas permukaan dan memecah dinding sel sampel sehingga senyawa-senyawa kimia yang terkandung di dalamnya dapat terekstraksi secara maksimal.

Sampel yang telah dihancurkan kemudian diekstraksi dengan cara maserasi dengan pelarut metanol selama 3x24 jam pada suhu ruang. Pengekstraksian dilakukan untuk memaksimalkan ekstraksi sampel karena dengan jangka waktu tersebut filtrat metanol sudah berkurang warnanya, artinya pelarut maksimal dalam mengambil senyawa-senyawa dalam sampel. Penggunaan metanol dalam proses maserasi dikarenakan metanol dapat melarutkan senyawa-senyawa polar dan nonpolar

sehingga sangat baik untuk mengekstrak kandungan metabolit sekunder dalam tanaman (Cordell, 1981)<sup>4</sup>. Adapun pemilihan teknik maserasi sebagai metode ekstraksi dikarenakan

senyawa-senyawa yang akan diisolasi belum diketahui karakteristik senyawanya, sehingga penggunaan ekstraksi bersuhu tinggi seperti sokletasi dihindari untuk mencegah terdekomposisi atau rusaknya senyawa-senyawa yang tidak tahan panas. Namun, maserasi memiliki kekurangan, yaitu prosesnya memerlukan waktu yang cukup lama dan pelarut yang lebih banyak bila dibandingkan dengan metode sokletasi.

Maserat kemudian disaring dan dipekatan menggunakan *rotatory evaporator* pada tekanan rendah dan suhu 40°C sehingga diperoleh ekstrak pekat metanol biji dan buah. Teknik penguapan pelarut dengan evaporator ini dilakukan untuk mendapatkan ekstrak *n*-heksana, etil asetat, dan metanol pekat dengan cepat dan efisien. Evaporator dilengkapi pompa vakum atau *aspirator*, sehingga tekanan dalam sistem menjadi rendah. Pada tekanan yang rendah, titik didih suatu senyawa menjadi lebih rendah, sehingga waktu yang dibutuhkan untuk menguapkan pelarut menjadi lebih cepat. Penggunaan suhu 40°C bertujuan untuk mencegah dekomposisi senyawa yang terkandung dalam ekstrak.

Selanjutnya ekstrak pekat metanol dilarutkan dalam akuades dan dipartisi dalam corong pisah dengan menggunakan pelarut *n*-heksana sehingga didapatkan fraksi *n*-heksana dan fraksi air. Fraksi air dipartisi kembali menggunakan etil asetat sehingga dihasilkan fraksi etil asetat dan fraksi air. Penggunaan metode partisi dengan berbagai pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda-beda dalam isolasi senyawa bertujuan untuk memisahkan senyawa-senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya [5]. Fraksi-fraksi hasil partisi (*n*-heksana etil asetat dan air) diuapkan pelarutnya dengan menggunakan *rotary evaporator*. Hasil ekstraksi buahgewang seperti tertera dalam tabel 1

Table 1 Hasil ekstraksi dari buah gewang

Sampel (kg)	Massa Ekstrak Metanol (g)	Massa Fraksi (g)		
		<i>n</i> -heksana	etilasetat	air
Biji (1,3)	21,99	1,57	0,83	14,08
Daging buah (2,6)	261,51	12,89	0,95	243,68

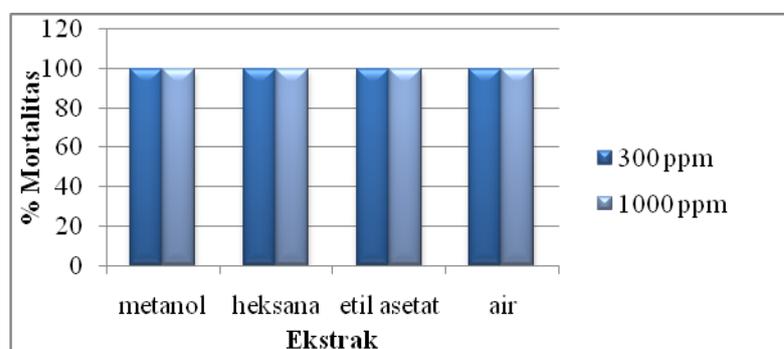
### 3.2 *Bhrine Shrimp Lethality Test (BSLT)*

Metode *BSLT* ini digunakan untuk memantau adanya aktivitas toksik dari suatu ekstrak tanaman. Larva udang (*A. salina*) merupakan hewan avertebrata yang sangat sensitif dengan lingkungan sekitarnya, sehingga sangat cocok sebagai hewan uji aktivitas toksik. Selain itu, permukaan kulit *A. salina* yang sangat tipis sehingga mudah dimasuki oleh zat-zat tertentu. Senyawa yang bersifat toksik akan masuk ke dalam tubuh *A. salina* melalui kulitnya, karena kulitnya yang begitu halus dan berfungsi sebagai alat pernapasannya.

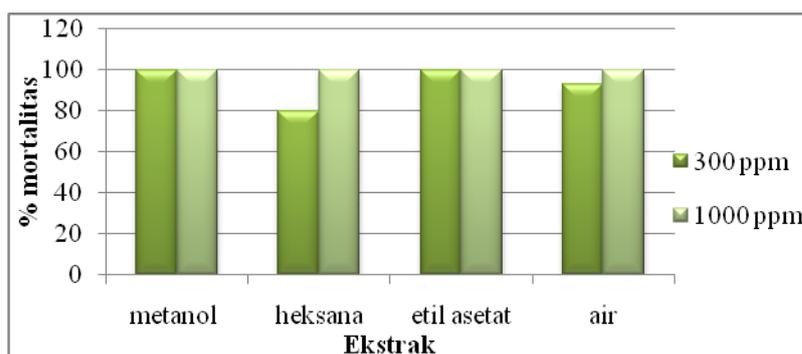
Sebagai panduan untuk tahapan selanjutnya, maka dilakukan uji toksisitas terhadap ekstrak ekstrak *n*-heksana, etil asetat, dan ekstrak metanol, sehingga diketahui ekstrak mana yang

mengandung senyawa aktif yang bersifat toksik. Aktivitas toksik diukur dengan metode *BSLT*. Bioindikator yang digunakan adalah *A. salina*. Metode *BSLT* dipilih sebagai pemandu bioaktivitas karena metodenya cepat, sederhana dan efektif [6]. Selain itu juga, pada penelusuran literatur didapatkan informasi tentang korelasi aktivitas toksik terhadap larva udang (*A. salina*) dengan beberapa aktivitas farmakologi lainnya seperti antibakteri, antijamur, antikanker dan beberapa aktivitas lainnya [7].

Ekstrak metanol, *n*-heksana, etilasetat dan air dibuat dengan konsentrasi 300 dan 1000 ppm untuk uji toksisitas. Pelarutnya diuapkan hingga kering kemudian dimasukkan larva udang yang sudah berumur 24 jam sebanyak 15 ekor. Setelah itu dimasukkan larutan pemeliharaan sampai 2 ml. Larutan uji dibiarkan selama 24 jam, kemudian dihitung jumlah larva udang yang mati dan dihitung persentase mortalitasnya dari setiap ekstrak. Hasil penelitian toksisitas dalam berbagai ekstrak dari biji dan buah gewang diperlihatkan dalam gambar 1 dan 2



Gambar 1. Diagram toksisitas ekstrak biji gewang



Gambar 2. Diagram toksisitas ekstrak daging buah gewang

Berdasarkan analisis hasil uji toksisitas, ekstrak biji gewang lebih toksik dibandingkan daging buah. Hal ini bisa menjadi jawaban mengapa para nelayan di daerah Timor selalu menghancurkan buah gewang *sebelum* dilemparkan ke perairan untuk menangkap ikan.

#### 4. Simpulan

Ekstrak biji gewang lebih toksik dibandingkan daging buahnya.

## Ucapan terimakasih

Penulis mengucapkan banyak terimakasih kepada Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi yang telah mendanai penelitian ini.

## Referensi

- <sup>1</sup>Meyer, B.N., N.R. Ferrighni, J.E. Putnam, L.B. Jacobson, D.E. Nichols and J.L McLaughlin, 1982. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituent. *Planta Medica*. 45 : 31-34.
- <sup>2</sup>Carballo JL, Hernandez-Inda ZL, Perez P, Garcia-Gravaloz MD. 2002. Comparison between two brine shrimp assays to detect in vitro cytotoxicity in marine natural products. *BMC Biotechnology*, 2:1472-6570.
- <sup>3</sup>Finney, D.J. 1971. *Probit Analysis*. 3<sup>rd</sup> edition. Cambridge University Press.
- <sup>4</sup>Cordell, G.A. 1981. *Introduction to Alkaloid A Biogenetic Approach*. Jhon Willey and Sons, Inc. New York. 890-907.
- <sup>5</sup>Harborne, J. B., 1996. *Metode Fitokimia*, ITB, Bandung.
- <sup>6</sup>Steven, M.C. 1993. *Bioactive Natural Product : Detection, isolation, anti Structural Determination*, CRC Press.
- <sup>7</sup>Babajide, O.J., Babajide, O.O., Daramola, A.O., & Mabusela, W.T. 2008. Flavonols sand an oxychromonol from *Piliostigma reticulatum*. *Phytochemistry*, **69**, 2245-2250