

# PENENTUAN TOKSISITAS FRAKSI EKSTRAK ETANOL BIJI BUAH SALAK (*Salacca zalacca* (Gaert.) Voss) ASAL KABUPATEN ENREKANG TERHADAP LARVA *Artemia salina* Leach DENGAN METODE *BRINE SHRIMP LETHALITY TEST*

Surya Ningsi, A.Armisman Edy P., Hamida

Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar

Email: surya.ningsi@uin-alauddin.ac.id

## ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk menentukan efek toksik dari fraksi ekstrak etanol biji buah salak (*Salacca zalacca* (Gaert.) Voss) terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) serta menentukan golongan senyawa yang terkandung dalam fraksi dengan nilai  $LC_{50}$  terkecil. Biji buah salak diekstraksi dengan pelarut etanol menggunakan metode refluks. Fraksinasi ekstrak etanol dilakukan dengan menggunakan kromatografi cair vakum dan diperoleh tiga fraksi gabungan yaitu fraksi A, B dan C. Uji toksisitas dilakukan dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach dan efek toksik diidentifikasi dengan persentase kematian larva udang menggunakan analisis probit. Dari Hasil penelitian diperoleh bahwa ketiga fraksi A, B dan C memiliki nilai  $LC_{50}$  masing-masing sebesar 0,170  $\mu\text{g/ml}$ ; 0,988  $\mu\text{g/ml}$ ; dan 2,654  $\mu\text{g/ml}$ . Hasil identifikasi fraksi A dengan efek toksik terbesar menunjukkan adanya kandungan senyawa aktif golongan triterpen dan steroid. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ketiga fraksi bersifat toksik dan berpotensi sebagai antikanker dimana fraksi A menunjukkan efek toksik yang lebih besar dibandingkan fraksi lainnya.

**Kata Kunci :** Biji buah salak, fraksinasi, BSLT,  $LC_{50}$

## PENDAHULUAN

Tanaman berkhasiat obat telah banyak ditelaah dan dipelajari secara ilmiah dan terbukti bahwa tanaman obat memang memiliki kandungan zat atau senyawa yang secara klinis terbukti bermanfaat bagi kesehatan, namun diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kadar toksisitasnya (Muchlisah, 2001; Hyeronimus, 2006).

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), dengan menggunakan cara Meyer. Metode

ini ditunjukkan dengan tingkat mortalitas larva udang *Artemia salina* Leach yang disebabkan oleh ekstrak uji. Hasil yang diperoleh dihitung sebagai nilai  $LC_{50}$  (*Lethal Concentration*) 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 berdasarkan Meyer (Colegate, 1993; Meyer, 1982).

Salak (*Salacca zalacca* (Gaert.) Voss) adalah salah satu tanaman asli Indonesia yang memiliki kandungan gizi yang baik untuk kesehatan dan diketahui

mengandung tanin, quinon, monoterpen, sesquiterpen, alkaloid dan polifenol (Scuilling dan Moge, 1992; Purwanto, dkk., 2015).

Penelitian yang telah dilakukan oleh Purwanto, dkk., 2015 yang berjudul *Uji Sitotoksik Ekstrak Biji Salak (Salacca zalacca (Gaert.) Voss) dengan menggunakan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)* diketahui bahwa ekstrak etanol biji buah salak bersifat toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan nilai LC<sub>50</sub> sebesar 80,728 ppm.

Dari uraian di atas maka dilakukan uji *BSLT* lanjutan terhadap fraksi ekstrak etanol biji buah salak (*Salacca zalacca* (Gaert.) Voss) untuk mengetahui potensi sitotoksiknya serta kandungan golongan senyawa yang terdapat didalamnya.

## **METODE PENELITIAN**

### **A. Pengolahan dan Ekstraksi Sampel**

Sampel biji buah salak (*Salacca zalacca* (Gaert.) Voss) diperoleh dari daerah Buntu Mondong, Kabupaten Enrekang, Sulawesi Selatan. Biji buah salak (*Salacca zalacca* (Gaert.) Voss) yang telah diambil, dicuci hingga bersih dengan air mengalir, dirajang, diserbukkan, dikeringkan dengan cara dimasukkan ke dalam lemari pengering dengan sirkulasi udara yang baik dan tidak terkena sinar matahari langsung, diayak menggunakan pengayak dengan nomor Mesh 10.

Sebanyak 50 g sampel biji buah salak (*Salacca zalacca* (Gaert.) Voss) dimasukkan ke dalam labu alas datar lalu ditambahkan pelarut etanol hingga 500 ml kemudian diekstraksi dengan cara refluks selama 4 jam pada suhu 80°C. Filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan pelarutnya hingga diperoleh ekstrak kental.

### **B. Fraksinasi Komponen Kimia**

#### **1. Penyiapan Kolom Kromatografi Cair Vakum**

Kolom kromatografi cair vakum dibersihkan kemudian dipasang tegak lurus. Ditimbang silika gel 60 PF<sub>254</sub> sebanyak 13 g. Pompa vakum dijalankan dan adsorben (silika gel 60 PF<sub>254</sub>) dimasukkan ke dalam kolom lalu dimampatkan hingga adsorben menjadi rapat. Preparasi fase diam dilakukan dengan cara kering dengan mencampurkan sampel dengan sebagian kecil fase diam yang digunakan hingga berbentuk serbuk. Campuran kemudian dimasukkan dalam kolom yang telah terisi dengan fase diam.

#### **2. Pemisahan Komponen Kimia**

Ekstrak difraksinasi menggunakan kromatografi cair vakum dengan fase diam silika gel 60 PF<sub>254</sub> dan fase gerak dengan gradien kepolaran pelarut yang meningkat yaitu berturut-turut etil asetat:metanol (9:1); (6:1); (3:1); (1:1); (1:4); (1:7); (1:10); (1:13); (1:16); (1:19); metanol. Hasil fraksinasi diperoleh 11 fraksi. Masing-masing fraksi dimonitor komponen kimianya dengan KLT menggunakan fase

diam silika gel F254 dan fase gerak etil asetat:metanol (1:4). Fraksi yang memiliki profil KLT yang sama digabung hingga diperoleh 3 fraksi, yaitu fraksi A ( $1 \cdot \times 100\%$  fraksi B (4-6), dan fraksi C (7-11). Masing-masing fraksi kemudian diuji toksisitasnya dengan metode BSLT.

#### C. Uji Toksisitas

Pengujian aktivitas toksisitas ekstrak etanol dilakukan dengan 3 variasi konsentrasi yaitu 10, 100, dan 1000 ppm, sedangkan untuk fraksi digunakan 4 variasi konsentrasi yaitu 1, 10, 100, dan 1000 ppm. Setiap konsentrasi dibuat 3 replikasi. Untuk kontrol negatif disiapkan larutan uji etanol untuk ekstrak dan metanol untuk fraksi.

Air laut sebanyak 2 ml dimasukkan ke dalam masing-masing *vial* lalu dimasukkan 10 ekor larva udang *Artemia salina* Leach yang telah berumur 48 jam lalu dicukupkan volumenya dengan air laut hingga 5 ml. Masing-masing *vial* ditambahkan 1 tetes suspensi ragi (3 mg/5 ml) sebagai sumber makanan larva. Untuk kontrol positif, digunakan 5 *vial* yang hanya berisi air laut dan larva. Selanjutnya, disimpan di tempat yang cukup mendapatkan sinar lampu. Pengamatan larva yang mati dihitung setelah 24 jam.

Persen kematian larva dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{ kematian larva} = \frac{\sum \text{larva uji yang mati} - \sum \text{larva kontrol yang mati}}{\text{jumlah larva uji}}$$

#### D. Identifikasi Komponen Kimia

Fraksi dengan  $LC_{50}$  yang paling rendah ditotolkan pada lempeng KLT kemudian dielusi. Selanjutnya, kromatogram disemprot dengan menggunakan pereaksi penampak noda yaitu: pereaksi  $H_2SO_4$  10%, Dragendorf,  $FeCl_3$  5%, Liebermann-Bouchard,  $AlCl_3$  5%, dan KOH etanolik (Harborne, 1987).

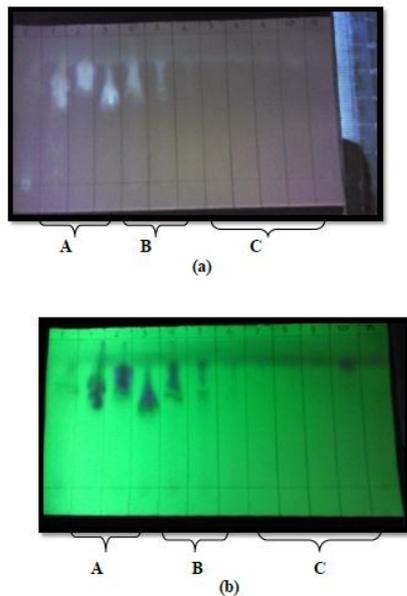
#### E. Teknik Pengolahan dan Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan diolah dengan analisis probit. Dihitung jumlah hewan uji yang mati lalu dianalisis dengan analisis probit terhadap data probit persentase dan log konsentrasi.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Komponen kimia biji buah salak (*Salacca zalacca* (Gaert) Voss) dipisahkan secara bertahap yang dimulai dengan proses ekstraksi secara refluks dan fraksinasi menggunakan metode kromatografi cair vakum (KCV) sehingga diperoleh komponen senyawa yang lebih spesifik.

Dari hasil fraksinasi diperoleh sebanyak 11 fraksi yang kemudian digabung berdasarkan kesamaan profil KLT menjadi 3 fraksi gabungan, yaitu fraksi A (fraksi 1-3), B (fraksi 4-6), dan C (fraksi 7-11) yang dapat dilihat pada gambar 1.



**Gambar 1.** Profil kromatogram lapis tipis ekstrak etanol biji buah salak (*Salacca zalacca*) (Gaert Voss) pada (a) UV 366 nm dan (b) UV 254 nm.

Ekstrak etanol dan ketiga fraksi gabungan kemudian diuji toksisitasnya dengan metode BSLT dan diperoleh hasil yang ditunjukkan pada tabel 1 dan 2.

**Tabel 1.** Hasil uji toksisitas ekstrak etanol biji buah salak

Sampel	% kematian larva pada konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )			$\text{LC}_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )	Persamaan regresi
	1000	100	10		
Ekstrak etanol	100	60	36	26,54	$y=2,543+1,725x$

**Tabel 2.** Hasil uji toksisitas fraksi ekstrak etanol biji buah salak

Fraksi	% kematian larva pada konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )				$\text{LC}_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )	Persamaan regresi
	1000	10	10	1		
		0				
A	100	93	86	80	0,170	$y=2,543+1,725x$
B	100	93	73	63	0,988	$y=5,005+0,915x$
C	100	83	66	46	2,654	$y=4,571+1,011x$

Metode BSLT digunakan untuk mendeteksi keberadaan senyawa toksik sehingga yang dapat dipakai untuk memonitor senyawa dari tumbuhan yang berefek toksik dengan menentukan nilai  $\text{LC}_{50}$  dari senyawa aktif. Suatu ekstrak dikatakan toksik ketika nilai  $\text{LC}_{50} < 1000 \mu\text{g/ml}$ , tidak toksik ketika nilai  $\text{LC}_{50} > 1000 \mu\text{g/ml}$ , dan memiliki potensi sebagai pestisida ketika nilai  $\text{LC}_{50}$  200-1000  $\mu\text{g/ml}$ , memiliki potensi sebagai antimikroba ketika nilai  $\text{LC}_{50}$  30-200  $\mu\text{g/ml}$ , dan memiliki potensi sebagai antikanker (sitotoksik) ketika nilai  $\text{LC}_{50} < 30 \mu\text{g/ml}$  (Meyer, 1982; McLaughin, 1991). Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji buah salak bersifat toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan nilai  $\text{LC}_{50}$  sebesar 26,54  $\mu\text{g/ml}$  dan berpotensi sebagai antikanker.

Hasil yang diperoleh pada ketiga fraksi A, B, dan C memiliki nilai  $\text{LC}_{50}$  yang lebih kecil daripada ekstrak etanol dengan nilai masing-masing sebesar 0,170  $\mu\text{g/ml}$ , 0,988  $\mu\text{g/ml}$ , dan 2,654  $\mu\text{g/ml}$ . Hasil ini memperlihatkan bahwa ketiga fraksi bersifat toksik dan memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai antikanker.

Fraksi A dengan nilai toksisitas paling besar (ditunjukkan dengan nilai  $\text{LC}_{50}$  terkecil) selanjutnya diidentifikasi golongan kandungannya dengan pereaksi penampak noda seperti  $\text{H}_2\text{SO}_4$  10% sebagai pereaksi penampak umum, Dragendorff untuk senyawa golongan alkaloid,  $\text{FeCl}_3$  5% untuk senyawa

golongan fenol,  $\text{AlCl}_3$  5% untuk senyawa golongan flavonoid, Lieberman-Bouchard untuk senyawa triterpen dan steroid, dan pereaksi KOH etanolik untuk senyawa golongan kumarin. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa fraksi A positif mengandung golongan senyawa triterpen dan steroid.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa fraksi ekstrak etanol biji buah salak (*Salacca zalacca* (Gaert) Voss) bersifat sitotoksik, dimana fraksi A memiliki nilai  $\text{LC}_{50}$  terkecil yaitu 0,170  $\mu\text{g/ml}$  dan mengandung golongan senyawa triterpen dan steroid.

## KEPUSTAKAAN

Colegate SM, and J.M Russel. 1993. *Bioactive Natural Products, Detection, Isolation, and Structural Determination*. Boca Raton USA: CRC Press.

Hyeronimus SB. 2006. *Ragam dan Khasiat Tanaman Obat, 1st Edition*. Jakarta: Agro Media.

McLaughin, J.L., Chang, C.J., dan Smith, D.L. 1991. *Bench-Top, Bioassay for The Discovery of Biactive Natural Product, An Update, Natural Product Chemistry*. Elsevier. Amsterdam.

Meyer, B. N., N. R. Ferrigni, J. E. Putnam, L. B. Jacobsen, D. E. Nichols & J. L. McLaughin. 1982. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituent. *Planta Medica*. 45:31-34.

Muchlisah, F. 2001. *Tanaman Obat Keluarga, Jilid I*. Jakarta: Penebar Swadaya.

Purwanto, dkk. 2015. *Uji Sitotoksik Ekstrak Biji Salak (*Salacca zalacca* (Gaert.) Voss) dengan Menggunakan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*. Bandung: Prodi Farmasi, Fakultas MIPA, Unisba.

Scuiling, D. L., dan Mogeia, J. P. 1992. *Plant Resources of South-East Asia. Edible Fruit and Nuts*. Prosea Bogor Indonesia.