

**DETEKSI KANDUNGAN KIMIA DAN UJI AKTIVITAS EKSTRAK KULIT BATANG MAHONI
(*Swietenia. mahagoni* Jacq) TERHADAP *Artemia Salina* Leach DENGAN METODE BRINE
SHRIMP LETHALITY TEST**

Eka Prasasti Nur Rachmani, Tuti Sri Suhesti, Nuryanti

Jurusan Farmasi Universitas Jenderal Soedirman

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang deteksi kandungan kimia dan uji aktivitas ekstrak kulit batang mahoni (*Swietenia. mahagoni* Jacq) terhadap *Artemia Salina* Leach dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test*. Penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan nilai komoditi kulit batang mahoni, agar dapat digunakan sebagai antikanker. Penelitian ini dilakukan dalam tiga tahap, yaitu: penyediaan sampel dan ekstraksi kulit batang mahoni menggunakan pelarut metanol dan kloroform, uji kandungan senyawa bioaktif, dan uji sitotoksitas ekstrak terhadap *Artemia Salina* Leach.

Hasil uji BST terhadap *Artemia Salina* Leach, diperoleh: fraksi kloroform tidak mengandung senyawa yang bersifat sitotoksik, dengan harga LC 50 = 1034,246 ppm. Fraksi metanol mengandung senyawa yang bersifat sitotoksik, dengan harga LC 50 sebesar 609,910 ppm. Hasil analisis dengan GCMS diperoleh kandungan senyawa aktif ekstrak kloroform dari kulit batang mahoni adalah Asam palmitat, Asam linoleat, n-heneikosana, 1-oktadekanol, Tetrakontana, (3 α , 5 α)-3-tiosianat koleston, stigmasterol, F-sitosterol, sitostenon dan ekstrak metanol dari kulit batang mahoni adalah o-metoksi fenol, 1,2-benzenadiol, 4-metil-1,2-benzenadiol, 2,6-dimetoksi fenol, 1,2,3-benzenatriol, 1,3,5 benzenatriol, 4-propil-1,3-benzenadiol, 1,3,4,5-tetrahidroksi sikloheksana karboksilat, 2-hidroksi-4-metil benzaldehid.

Hal itu menunjukkan bahwanya ekstrak metanol kulit batang mahoni bersifat toksik akut terhadap larva *Artemia Salina* Leach, yang ini berkorelasi dengan aktifitasnya sebagai antikanker.

Kata kunci: kulit batang mahoni (*Swietenia mahahoni* Jacq.), *Artemia Salina* Leach, GCMS.

PENDAHULUAN

Beberapa penelitian menyebutkan bahwa biji mahoni (*S. mahagoni* Jacq) memiliki kandungan senyawa bioaktif berupa flavonoid, alkaloid, saponin dan fenol. (Anonim, 2000). Menurut Sugiyanto (2003) golongan senyawa bioaktif tersebut berkaitan dengan aktifitas antikanker dan antioksidan. Hal

tersebut menunjukkan bahwa biji mahoni mengandung senyawa yang berpotensi sebagai antikanker.

Beberapa penelitian menyebutkan bahwa biji mahoni (*S. mahagoni* Jacq) memiliki kandungan senyawa bioaktif berupa flavonoid, alkaloid, saponin dan fenol. (Ahmad, 2004). Menurut Sugiyanto (2003) golongan senyawa

bioaktif tersebut berkaitan dengan aktifitas antikanker dan antioksidan. Hal tersebut menunjukkan bahwa biji mahoni mengandung senyawa yang berpotensi sebagai antikanker.

Bagian lain dari mahoni yang belum dimanfaatkan adalah bagian kulit batang. Dalam satu spesies tanaman akan mengandung senyawa kimia yang sama dengan kuantitas berbeda, sehingga kulit batang mahoni diperkirakan mengandung senyawa bioaktif yang sama dengan bagian biji. Kandungan senyawa bioaktif tersebut menunjukkan kulit batang mahoni berpotensi sebagai bahan obat antikanker. Sejauh ini belum dilakukan penelitian potensi kulit batang mahoni sebagai sumber bahan obat dan sumber bahan kimia berguna.

Uji toksisitas terhadap *Artemia salina* Leach pada metode Brime Shrimp Letality Test (BST) telah banyak digunakan karena metode ini mempunyai beberapa keuntungan antara lain biaya murah, prosedur yang sederhana, cepat (24 jam) dan hasilnya dapat dipercaya. (Mc Laughlin et al, 1998). Metode ini sering dikaitkan dengan metode pencarian senyawa anti hama atau berkorelasi positif dengan potensinya sebagai antikanker (Mc

Laughlin et al, 1998; Harwig & Scott,1971).

Berdasarkan hal tersebut, maka dilakukan penelitian Deteksi Kandungan Kimia dan Uji Aktivitas Ekstrak Kulit Batang Mahoni (*Swietenia sp.*) terhadap *Artemia Salina* Leach dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test*.

METODE PENELITIAN

Bahan

Kulit batang mahoni, larva udang, aquades, air laut, SiO₂GF-254, n-heksana, etil asetat, amoniak, kloroform dan metanol, butanol, as asetat glacial, pereaksi dragendorf, KMnO₄., pereksi mayer. Pereaksi sitoborat.

Alat

Alat gelas, mikroskop, evaporator, obyek glass, pinset, flakon, water bath, seperangkat soklet, tustel, kertas saring, pompa vakum, corong burner, oven, dan deksikator, lempeng KLT.

Cara Kerja

Penyediaan sampel

Kulit batang mahoni yang diperoleh dikeringkan, ditumbuk halus dan diayak dengan ayakan B-40 hingga didapat serbuk simplisia yang siap untuk diekstraksi.

Ekstraksi kulit batang mahoni

Serbuk kulit batang mahoni diekstrak dengan pelarut klororoform dan metanol

menggunakan alat soxhlet sampai kandungan senyawa dalam ekstrak tertarik semuanya ke dalam pelarut. Ekstrak yang diperoleh diuapkan sampai kering dan ditimbang hingga didapat ekstrak dalam jumlah tertentu.

Uji toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST) (McLaughlin et al., 1998)

Ekstrak yang akan diuji sebanyak 20 mg dilarutkan dalam 5 ml kloroform : metanol (1 : 1). Sejumlah larutan diencerkan dan dimasukkan kedalam tabung uji (gambar 3), sehingga diperoleh konsentrasi akhir ekstrak sebagai berikut :

KB₁ : Ekstrak kulit batang dengan kadar 1000 ppm

KB₂ : Ekstrak kulit batang dengan kadar 500 ppm

KB₃ : Ekstrak kulit batang dengan kadar 100 ppm

KB₄ : Ekstrak kulit batang dengan kadar 10 ppm

K : 0,5 ml pelarut sebagai kontrol
Tiap perlakuan dilakukan tiga pengulangan (triplo)

Telur *Artemia Salina* Leach ditetaskan dalam kotak bersekat (gelap dan terkena cahaya) yang berisi air laut yang telah disaring selama 48 jam. Air laut berisi 10 ekor larva sebanyak 4 ml dimasukkan ke

dalam tiap –tiap tabung uji. Volume air laut dalam tabung uji ditepatkan sampai 5 ml. ke dalam tiap- tiap tabung dimasukkan satu tetes larutan ragi (3 mg/ml air laut) sebagai nutrisi. Tabung uji diinkubasi dalam keadaan terbuka mendapat cahaya selama 24 jam. Jumlah larva yang masih hidup dihitung dan ditentukan persentase kematian larva untuk mengetahui MLD (*Median Lethal Dosis*).

Analisis GCMS pada ekstrak kulit batang mahoni

Ekstrak kloroform dan metanol kulit batang mahoni dilarutkan pada pelarut yang sesuai kemudian dianalisis dengan menggunakan GCMS (*Gas Chromatography Massa Spektrum*).

Variabel dan pengukuran

Variabel yang diamati dalam penelitian ini meliputi variabel bebas dan variabel tergantung. Variabel bebasnya adalah ekstrak kulit batang mahoni sedangkan variabel tergantungnya adalah jumlah larva udang *Artemia salina* Leach yang hidup. Parameter yang diukur adalah persentase kematian larva udang *Artemia salina* Leach.

Metode Analisis (Mursyidi, 1985)

Analisis data yang direncanakan menggunakan uji toksisitas (*Toxicity Test*) untuk mencari MLD (*median lethal*

dose). Persentase kematian larva udang *Artemia salina* Leach dicatat, kemudian dicari harga probitnya menggunakan tabel. Nilai probit (sumbu y) dilotkan terhadap log dosis (sumbu x) yang digunakan. Selanjutnya ditarik garis lurus yang paling baik melalui titik-titik yang ada (garis A). dari sumbu y pada nilai probit 5 ditarik garis horisontal memotong garis A, kemudian ditarik garis vertikal dari perpotongan tersebut sehingga diperoleh nilai x (log dosis), apabila nilai ini di antilogkan, akan diperoleh nilai dosis yang menyatakan 50% kematian larva udang *Artemia salina* Leach.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kulit batang tanaman mahoni (*S. Mahagoni* Jacq.) diambil dan dikumpulkan dari daerah Cilongok Purwokerto. Hasil penyarian dengan sokletasi kulit batang mahoni dengan kloroform dan metanol didapat berat ekstrak masing-masing 9,25 g dan 8,66 g. Uji sitotoksitas dilakukan untuk memastikan sifat toksik ekstrak kloroform dan ekstrak metanol kulit batang mahoni dengan metode BST untuk mengetahui nilai LC₅₀. Dari hasil uji Brine Shrimp Lethality test dari ekstrak kloroform diperoleh hasil sebagai berikut:

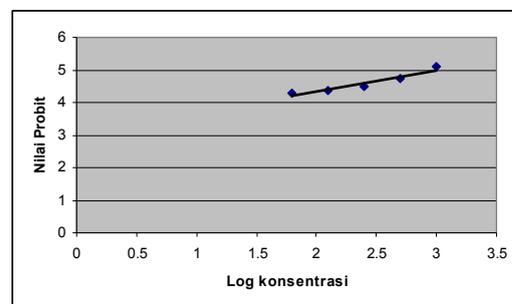
Tabel 1. Prosentase kematian larva udang ekstrak kloroform kulit batang mahoni

No	Kosentra si (ppm)	Ulangan			% kema tian
		1	2	3	
1.	1000	5	5	4	53,4
2.	500	6	7	5	40,0
3.	250	7	6	8	30,0
4.	125	8	7	7	26,7
5.	62,5	8	8	7	23,4

Tabel 2. Hubungan prosentase kematian dengan probit ekstrak kloroform kulit batang mahoni

No	Konse ntrasi (ppm)	Log konsen trasi	% kemati an	Probi t
1.	1000	3	53.4	5,09
2.	500	2.6989	40	4,74
3.	250	2.3979	30	4,48
4.	125	2.0969	26.7	4,37
5.	62,5	1.795	23.4	4,27

Ekstrak kloroform kulit batang mahoni dengan berbagai konsentrasi diuji toksisitasnya terhadap larva *Arthemia salina* Leach. Hasil uji BST diperoleh hubungan log konsentrasi dan nilai probit dengan persamaan $0,6633x + 3,0004$ dengan $r = 0,963$. dari persamaan grafik, diperoleh $LC_{50} = 1034,246$ ppm.



Gambar 1. hubungan log konsentrasi ekstrak kloroform dan nilai probit

Dari hasil uji *Brine Shrimp Lethality Test* dari ekstrak metanol diperoleh hasil sebagai berikut:

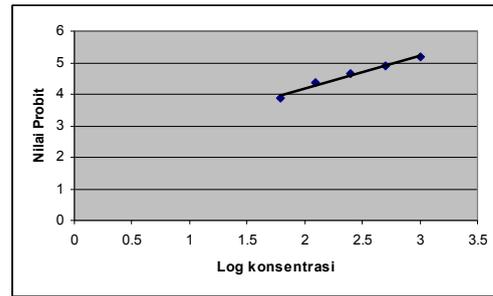
Tabel 3. Prosentase kematian larva udang ekstrak metanol kulit batang mahoni

No	Kosentrasi (ppm)	Ulangan			% kematian
		1	2	3	
1.	1000	5	4	4	56,7
2.	500	5	5	6	46,7
3.	250	5	7	7	36,7
4.	125	7	8	7	26,7
5.	62,5	9	9	8	13,3

Tabel 4. Hubungan prosentase kematian dengan probit ekstrak methanol kulit batang mahoni

No	Konsentrasi (ppm)	Log konsentration	% kematian	Probit
1.	1000	3	56.7	5,17
2.	500	2.6989	46.7	4,91
3.	250	2.3979	36.7	4,65
4.	125	2.0969	26.7	4,37
5.	62,5	1.795	13.3	3,89

Ekstrak kloroform kulit batang mahoni dengan berbagai konsentrasi diuji toksisitasnya terhadap larva *Arthemia salina* Leach. Hasil uji BST diperoleh hubungan log konsentrasi dan nilai probit dengan persamaan $1,0333x + 2,122$ dengan $r = 0,989$. dari persamaan grafik, diperoleh $LC_{50} = 609,910$ ppm.



Gambar 2. hubungan log konsentrasi ekstrak metanol dan nilai probit

Berdasarkan data yang diperoleh menunjukkan bahwa persentase kematian larva *A. salina* Leach., menurun dengan semakin kecilnya kadar konsentrasi ekstrak metanol kulit batang *S. mahagoni* Jacq. yang diberikan. Hal tersebut menunjukkan bahwa potensi ketoksikan ekstrak etanol kulit batang *S. mahagoni* Jacq. adalah *dose dependent* (tergantung dosis). Menurut Mc. Laughlin et al. (1998), jika harga $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/ml}$ dikatakan bahwa ekstrak tersebut bersifat toksik akut terhadap larva *A. salina* Leach. Dengan demikian, ekstrak methanol kulit batang *S. mahagoni* Jacq mengandung senyawa bioaktif yang dapat membunuh (toksik akut) terhadap larva udang *A. salina* Leach. Sementara itu fraksi kloroform karena mempunyai nilai $LC_{50} > 1000$ ppm, kandungan senyawa yang ada, tidak mempunyai aktivitas sitotoksik. Kandungan utama ekstrak kulit batang mahoni ditentukan berdasar jumlah

puncak-puncak tertinggi yang terbentuk pada kromatogram. Jika suatu komponen berada dalam prosentase tinggi dalam campuran yang dianalisis, maka puncak yang tampil pada kromatogram juga memiliki luas area yang besar. Jenis dan jumlah fragmen molekul yang terbentuk dari suatu senyawa kimia dari masing-masing puncak pada kromatogram ditentukan berdasarkan spektrum-spektrum massanya. Spektrum massa komponen kimia ekstrak yang diperoleh dari hasil analisis diidentifikasi dengan cara dibandingkan dengan spektrum massa yang terdapat dalam suatu bank data (*Library* dalam instrumen GCMS).

Hasil analisis dengan metode kromatografi gas menunjukkan banyak puncak kromatogram, dengan 9 puncak utama. Puncak utama yang dianalisis adalah puncak-puncak yang memiliki

kelimpahan relatif lebih dari 1,20 %. Kromatogram dari GCMS memberi informasi mengenai mengenai berat molekul dan fragmentasinya.

Hasil analisis GCMS dari ekstrak kloroform diperoleh kromatogram dengan waktu retensi dan kelimpahan relatif sebagai berikut:

Tabel 5. Waktu retensi dan kelimpahan relatif sembilan komponen utama ekstrak kloroform kulit batang mahoni.

No	No. Puncak	Waktu Retensi (menit)	Kelimpahan Relatif (%)
1.	15	23,11	5,33
2.	22	24,94	13,14
3.	48	29,73	2,26
4.	49	29,87	2,25
5.	59	33,00	1,51
6.	69	35,73	2,93
7.	73	39,08	2,24
8.	74	40,45	16,03
9.	79	44,28	2,53

Hasil fragmentasi dari berat molekul dari masing-masing kromatogram di atas adalah sebagai berikut:

Tabel 2. Berat molekul dan fragmentasi komponen utama ekstrak kloroform kulit batang mahoni.

No.	No. Puncak	BM	Karakter Spektrum Massa dan Kelimpahan Relatif ion (m/z)	Jenis Senyawa
1.	15	256	41(77), 43(100), 60(90), 73(98), 85(22), 98(15), 115(11), 129(33), 143(2), 157(10), 171(9), 185(8), 213(16), 227(2), 256(49)	Asam palmitat
2.	22	280	41(82), 55(80), 67(100), 81(75), 95(51), 109(19), 123(8), 136(4), 150(2), 164(1), 182(1), 207(0,5), 227(1), 264(1), 280(3)	Asam linoleat
3.	48	296	41(26), 43(58), 57(100), 71(68), 85(50), 99(15), 113(10), 127(6), 141(4), 155(3), 169(1), 183(1), 197(1), 211(1), 225(0,5), 239(0,5), 296(1)	n-heneikosana
4.	49	270	41(50), 43(79), 55(82), 57(100), 83(90), 97(78), 111(42), 125(20), 139(5), 154(4), 168(3), 224(2), 253(2)	1-oktadekanol

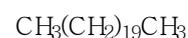
5.	59	619	41(13), 43(67), 57(100), 71(70), 85(46), 99(28), 113(12), 127(10), 141(5), 155(4), 169(2), 183(2), 197(2), 211(2), 225(1), 239(1)	Tetratetra kontana
6.	69	429	41(40), 43(100), 57(48), 81(50), 91(30), 105(42), 121(28), 133(20), 147(56), 165(90), 177(5), 190(2), 205(8), 227(2), 241(1), 255(14), 275(12), 288(12), 302(2), 354(2), 381(12), 396(50), 430(80)	(3 α , 5 α)-3-tiosianat koleston
7.	73	412	41(42), 55(100), 69(56), 83(72), 97(34), 123(24), 145(24), 159(28), 173(10), 213(18), 255(39), 271(29), 300(20), 351(18), 364(18), 412(32)	stigmasterol
8.	74	414	41(40), 43(100), 57(52), 81(42), 95(42), 107(44), 119(30), 133(26), 145(34), 161(21), 173(10), 185(6), 199(8), 213(19), 231(16), 241(2), 255(18), 273(15), 283(1), 303(20), 329(30), 341(1), 354(2), 371(1), 381(15), 396(20), 414(38)	Γ - sitosterol
9.	79	412	41(26), 43(56), 57(22), 81(20), 95(25), 107(20), 124(100), 135(18), 147(18), 159(5), 173(3), 187(4), 203(2), 229(28), 271(4), 389(15), 314(1), 327(1), 355(2), 370(6), 397(4), 412(16)	sitostenon



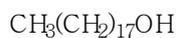
puncak nomor 15



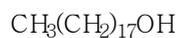
puncak nomor 22



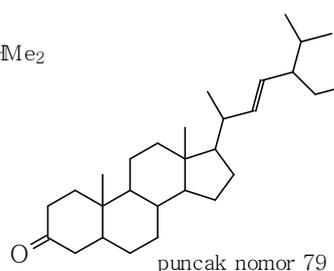
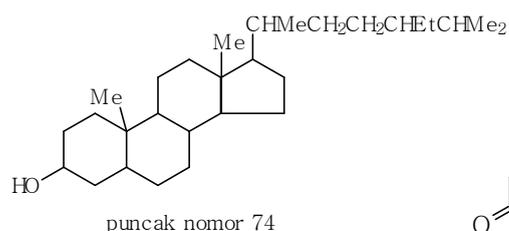
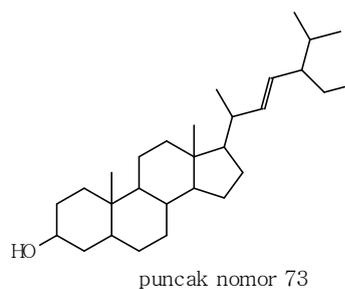
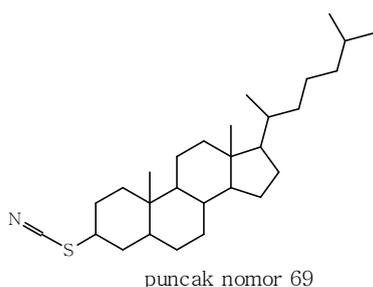
puncak nomor 48



puncak nomor 49



puncak nomor 59



Gambar 3. Komponen utama ekstrak kloroform kulit batang mahoni

Hasil analisis dengan GCMS diperoleh kandungan senyawa aktif ekstrak kloroform dari kulit batang mahoni adalah Asam palmitat, Asam linoleat, n-heneikosana, 1-oktadekanol, Tetratetra kontana, (3 α , 5 α)-3- tiosianat koleston, stigmasterol, Γ - sitosterol, sitostenon

Hasil analisis GCMS dari ekstrak metanol diperoleh kromatogram dengan waktu retensi dan kelimpahan relatif sebagai berikut:

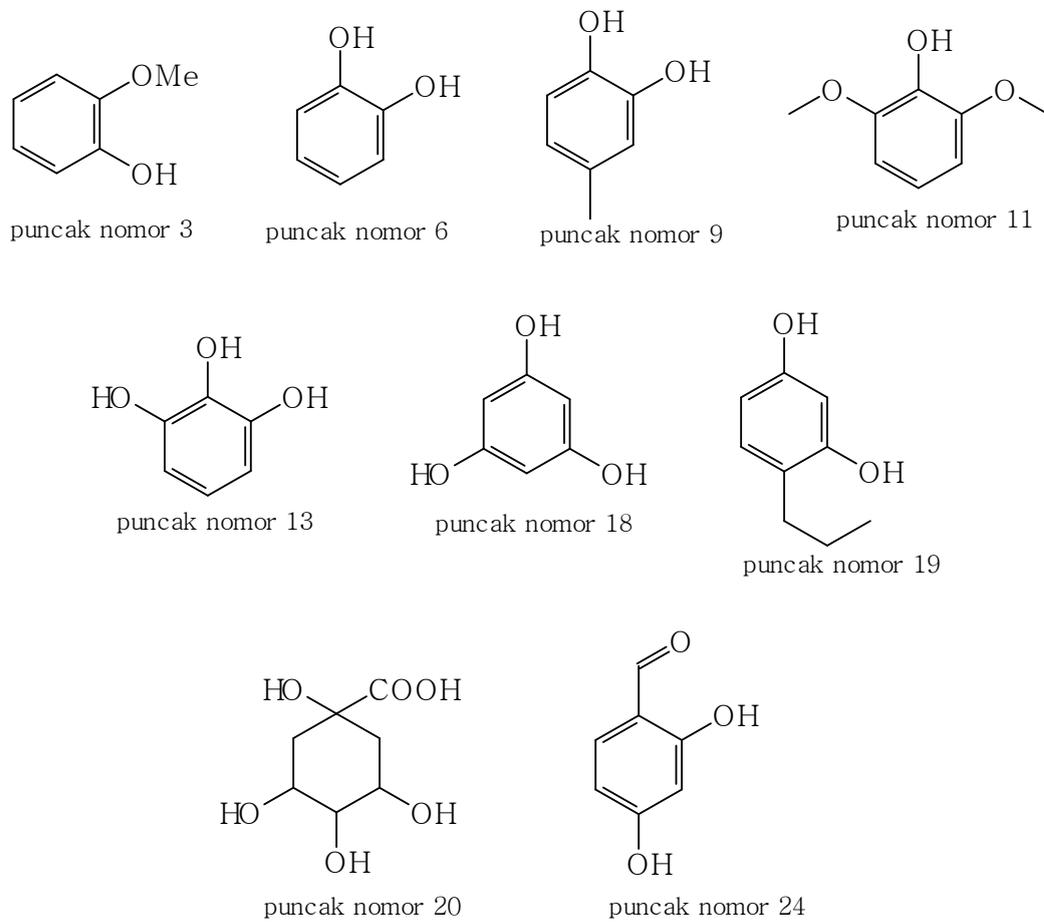
Tabel 5. Waktu retensi dan kelimpahan relatif sembilan komponen utama ekstrak metanol kulit batang mahoni

No	No. Puncak	Waktu Retensi (menit)	Kelimpahan Relatif (%)
1.	3	10,92	1,38
2.	6	13,02	67,92
3.	9	14,68	1,20
4.	11	15,64	2,51
5.	13	16,1	3,88
6.	18	19,1	2,82
7.	19	19,22	2,31
8.	20	19,43	4,46
9.	24	21,73	2,30

Hasil fragmentasi dari berat molekul dari masing-masing kromatogram di atas adalah sebagai berikut:

Tabel 6. Berat molekul dan fragmentasi komponen utama ekstrak metanol kulit batang mahoni.

No.	No. Puncak	BM	Karakter Spektrum Massa dan Kelimpahan Relatif ion (m/z)	Jenis Senyawa
1.	3	124	39(10), 53(26), 57(10), 81(74), 109(100), 124(82)	o-metoksi fenol
2.	6	110	39(10), 53(14), 64(36), 81(14), 92(10), 110(100)	1,2-benzenadiol
3.	9	124	39(13), 51(20), 67(10), 78(70), 95(10), 106(16), 124(100)	4-metil-1,2-benzenadiol
4.	11	154	39(25), 51(18), 65(30), 79(11), 93(46), 111(34), 139(54), 154(100)	2,6-dimetoksi fenol
5.	13	126	39(12), 52(42), 63(3), 80(40), 97(10), 108(20), 123(30), 126(100)	1,2,3-benzenatriol
6.	18	126	41(21), 69(33), 80(19), 85(20), 98(10), 126(100)	1,3,5-benzenatriol
7.	19	152	39(2), 51(20), 67(6), 77(23), 94(2), 105(6), 123(100), 152(22)	4-propil-1,3-benzenadiol
8.	20	192	39(11), 43(90), 60(100), 71(71), 84(20), 100(14), 112(38), 150(2), 156(2)	1,3,4,5-tetrahidroksi sikloheksana karboksilat
9.	24	136	39(20), 51(10), 67(11), 79(10), 89(12), 107(10), 118(1), 136(100)	2-hidroksi-4-metil benzaldehida



Gambar 4. Komponen utama ekstrak metanol kulit batang mahoni

KESIMPULAN DAN

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh

kesimpulan :

1. Hasil uji BST terhadap *Artemia salina*

Leach, diperoleh :

- a. Fraksi kloroform tidak mengandung senyawa yang bersifat sitotoksik
- b. Fraksi metanol mengandung senyawa yang bersifat sitotoksik,

dengan nilai LC_{50} sebesar 609,910 ppm.

2. Hasil analisis dengan GCMS diperoleh kandungan senyawa aktif

- a. Ekstrak kloroform dari kulit batang mahoni adalah Asam palmitat, Asam linoleat, n-heneikosana, 1-oktadekanol, Tetratetra kontana, (3 α , 5 α)-3-tiosianat koleston, stigmasterol, Γ - sitosterol, sitostenon.

- b. Ekstrak metanol dari kulit batang mahoni adalah o-metoksi fenol, 1,2-benzenadiol, 4-metil-1,2-benzenadiol, 2,6-dimetoksi fenol, 1,2,3-benzenatriol, 1,3,5-benzenatriol, 4-propil-1,3-benzenadiol, 1,3,4,5-tetrahidroksi sikloheksana karboksilat, 2-hidroksi-4-metil benzaldehida.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S. A. 2004. *Kimia Bahan Alam – Suatu Pendekatan untuk Memahami Potensi Keanekaragaman Hayati dalam Bioindustri*. Prosiding Seminar Nasional Tanggal 5 September 2004 di Surabaya pp1-25.
- , 2000. *Profil Kesehatan Indonesia*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Pusat Data Kesehatan. Jakarta. Pp 21- 25.
- Harwig, J., and Scott, P.M., 1971, Brine Shrimp (*Artemia salina* L), Larvae as a screening System for Fungal Toxin, American Society for Microbiology, 21(1971): 1011-1016.
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*, Badan Litbang Kehutanan.Jakarta.
- Mc Laughlin, J.L., Lingling L., Rogers, John E., Anderson, 1998, The Use Of Biological Assays to Evaluate Botanicals, *Drugs Information Journal*, 32: 513-524.
- Mursyidi, A. 1985. *Statistika Farmasi dan Biologi*. Ghalia Indonesia. Jakarta.
- Sugiyanto, B., Sdarta, E., Meyanto dan Nugroho, A. E., 2003, Aktivitas Karsinogenik Senyawa yang berasal dari Tumbuhan, *Tumbuhan Farmasi Indonesia*, 14(4): 132-141.
- Wagner H.Bladt S, 1984. *Plant Drug Analysis A thin Layer Chromatography atlas*. springer Verlag, berlin, 292 – 293.