

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN TOKSISITAS
EKSTRAK *n*-HEKSANA DAGING BIJI KLUWAK
(*Pangium edule* Reinw)**

Herna Listaty¹, Hilwan Yuda Teruna², Jasril²

¹**Mahasiswa Program Studi S1 Kimia**

²**Bidang Kimia Organik Jurusan Kimia**

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Kampus Bina Widya Pekanbaru, 28293, Indonesia

herna_listaty01@yahoo.com

ABSTRACT

Kluwak (*Pangium edule* Reinw) is a plant found in Asia, especially in Indonesia. It has not been studied comprehensively. The results of phytochemical test from seed flesh (endosperm) of kluwak showed that this plant contains secondary metabolites alkaloids, terpenoids, saponins, flavonoid, and phenolic. *n*-Hexane extract the endosperm separated as oil seeds and analyzed using Gas Chromatography-Mass Spectroscopy (GC-MS). The results of the analysis using gas chromatography showed 7 peaks and mass spectroscopy analysis revealed a number of major constituents of oil compound in the form of diethyl phthalate (2.49%), methyl palmitate (10.85%), cycloocta pyran-1,3,5,6,7,8,9,10-hexahydro-4-isopropyl-1-phenyl (1,45%), methyl oleate (66.05%), and methyl stearate (10.85%). The antibacterial activity were determined by agar diffusion method against *Bacillus subtilis* (Gram-positive bacteria) and *Escherichia coli* (Gram-negative bacteria). Biological data indicated that the extract has activity against both bacterial test with 7,1 mm of diameter inhibition zone against the bacteria *Bacillus subtilis* and 6,9 -11,0 mm against the bacteria *Escherichia coli*. Toxicity test was conducted using Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). The toxicity results showed that the *n*-hexane extract of the endosperm of kluwak did not show potential as anticancer compounds proven with $LC_{50} > 1000$ ppm.

Keywords: Bacterial test, Brine Shrimp Lethality Test (BSLT), GC-MS, kluwak (*Pangium edule* Reinw)

ABSTRAK

Kluwak (*Pangium edule* Reinw) merupakan salah satu tumbuhan yang banyak terdapat di Asia khususnya di Indonesia tetapi belum banyak diteliti oleh masyarakat. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa kluwak mengandung metabolit sekunder golongan alkaloid, terpenoid, saponin, flavonoid, dan fenolik. Ekstrak *n*-heksana daging biji kluwak berupa minyak dan dianalisis menggunakan *Gas Chromatography-Mass Spectroscopy* (GC-MS).



Hasil analisis menggunakan instrumen *Gas Chromatography* (GC) menunjukkan adanya 7 puncak waktu retensi dan hasil analisis dengan *Mass Spectroscopy* (MS) menghasilkan beberapa komponen utama penyusun minyak dalam bentuk dietil phtalat (2,49%), siklookta piran-1,3,5,6,7,8,9,10-heksahidro-4-isopropil-1-fenil (1,45%), metil palmitat (10,85%), metil oleat (66,05%), dan metil stearat (10,85%). Aktivitas antibakteri ditentukan dengan metode difusi agar terhadap *Bacillus subtilis* (bakteri Gram-positif) dan *Escherichia coli* (bakteri Gram negatif). Data biologis menunjukkan bahwa ekstrak memiliki aktivitas terhadap kedua bakteri uji dengan diameter zona hambat 7,1 mm terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dan 6,9-11,0 mm terhadap bakteri *Escherichia coli*. Uji toksisitas dilakukan dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Hasil uji toksisitas menunjukkan bahwa ekstrak *n*-heksana daging biji kluwak tidak memiliki potensi sebagai senyawa antikanker terbukti dengan nilai $LC_{50} > 1000$ ppm.

Kata kunci: Uji antibakteri, *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), *GC-MS*, Kluwak (*Pangium edule* Reinw)

PENDAHULUAN

Tanaman kluwak adalah sejenis pohon besar dengan ketinggian 10-1000 m di atas permukaan laut dan biasanya tumbuh di hutan dan di tepi sungai, mulai berbuah pada umur 6-10 tahun (Yuningsih dan Damayanti, 2008). Namun kehadiran tumbuhan ini mulai jarang dijumpai, terutama di Jawa dan Sumatera (Partomihardjo, 1989). Pohon kluwak diketahui sebagai pohon yang banyak mengandung racun yaitu asam sianida. Meskipun banyak mengandung racun, tumbuhan ini memiliki banyak manfaat untuk berbagai keperluan di tiap daerah penyebarannya. Biji kluwak mentah dapat digunakan sebagai pengawet ikan dan dapat memperpanjang masa simpan ikan hingga 2 minggu (Wulandari, 2011). Hal ini mengindikasikan bahwa biji kluwak memiliki aktivitas sebagai antibakteri sehingga mampu mengawetkan ikan (Mangunwardoyo dkk., 2008). Oleh

karena itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang kandungan ekstrak daging biji kluwak dengan menggunakan pelarut *n*-heksana dan uji aktivitas antibakteri serta uji toksisitas. Hasil penelitian ini diharapkan menjadi bahan informasi mengenai manfaat ekstrak *n*-heksana daging biji kluwak sebagai antibakteri terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* serta toksisitas ekstrak terhadap larva *Artemia salina* Leach.

METODE PENELITIAN

a. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah lampu UV, timbangan analitik, oven, plat KLT, bejana maserasi, batang pengaduk, *rotary vacum evaporator*, *water bath*, *hotplate*, *stirrer*, pengaduk magnet, kertas *Whatman* 42, botol plastik, cawan petri, inkubator, box steril, autoklaf, pipet mikro, jarum ose,



vortex, jangka sorong, aluminium foil, stopwatch dan peralatan gelas yang umum digunakan di laboratorium.

Bahan-bahan yang digunakan adalah biji kluwak yang diperoleh dari Taluk Kuantan, kecamatan Indragiri Hulu, Riau, *n*-heksana, metanol, etil asetat, bakteri *Escherichia coli*, bakteri *Bacillus subtilis*, alkohol 70 %, air salin, *Nutrient Broth* (NB), *Nutrient Agar* (NA), kertas cakram (diameter 6 mm), telur *Artemia salina* Leach, air laut, HCl 2N, HCl pekat, bubuk Mg, kloroform, asam asetat anhidrat, selenium sulfat, DMSO, dan akuades.

b. Ekstraksi Senyawa

Kulit biji kluwak dipecah dengan palu untuk mengambil daging bijinya, kemudian daging biji dikering anginkan pada suhu ruang tanpa dijemur langsung pada sinar matahari. Biji kluwak yang telah kering ditumbuk hingga halus menggunakan lumpang kemudian ditimbang beratnya.

Serbuk biji atau hancuran biji kluwak yang telah dihaluskan tersebut kemudian dimasukkan ke dalam botol gelap dan dimaserasi dengan ditambah pelarut *n*-heksana sebanyak 500 mL. Campuran ini kemudian dikocok-kocok dan diultrasonifikasi supaya tercampur rata dan didiamkan selama 1 x 24 jam dan dilakukan tiga kali pengulangan. Filtrat hasil proses maserasi dari tahap 1 hingga tahap 3 yang telah diperoleh dipindahkan ke dalam labu erlenmeyer khusus yang akan digunakan pada *rotary evaporator* dan siap dilakukan proses evaporasi pada suhu 40⁰C untuk menghilangkan pelarutnya sehingga didapatkan ekstrak

pekat biji kluwak yaitu ekstrak *n*-heksana biji kluwak. Hasil ekstraksi tersebut kemudian dianalisis menggunakan plat KLT.

c. Uji Fitokimia

Pada penelitian ini dilakukan uji fitokimia yaitu uji alkaloid, terpenoid/steroid, saponin, flavonoid, dan uji fenolik untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder pada daging biji kluwak.

d. Analisis Senyawa

Hasil ekstraksi kemudian diesterifikasi dan dianalisis dengan menggunakan GC-MS. Senyawa yang terdapat pada sampel tersebut dapat ditentukan berdasarkan spektrum yang muncul dari pembacaan alat tersebut.

e. Uji Aktivitas Antibakteri

Bakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah bakteri *Bacillus subtilis* (bakteri Gram-positif) dan *Escherichia coli* (bakteri Gram negatif). Metode yang digunakan adalah Difusi Agar (Sundaraj dkk., 2004). Konsentrasi sampel yang digunakan adalah 30, 60, 90, 120, dan 150 µg/disk dan sebagai kontrol negatif adalah kertas cakram yang ditetaskan dengan pelarut etil asetat yang dibiarkan selama lebih kurang 30 menit dan kontrol positif adalah antibiotik amoxan kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37 °C dengan membalikkan cawan petri. Setelah diinkubasi selama 24 jam, perhatikan zona



bening yang dihasilkan dan diukur diameternya menggunakan jangka sorong.

f. Uji toksisitas ekstrak dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

uji aktivitas toksisitas berdasarkan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) (Meyer dkk., 1982). Konsentrasi yang digunakan adalah 10, 100, dan 1.000 ppm dan masing-masing perlakuan diulang 3 kali. Pengujian dilakukan dengan memasukkan 10 ekor larva *Artemia salina* berumur 48 jam ke dalam toples kaca yang telah berisi 1 mL larutan ekstrak dan 4 mL air laut. Setelah 24 jam, jumlah larva yang mati dihitung dengan bantuan alat kaca pembesar. Untuk kontrol dilakukan tanpa penambahan sampel. Larutan dibiarkan selama 24 jam, kemudian dihitung jumlah larva yang mati dan masih hidup. Hitung nilai LC_{50} dengan memasukkan angka probit (50% kematian larva uji).

HASIL DAN PEMBAHASAN

a. Ekstraksi Senyawa dan Uji Fitokimia Kluwak

Hasil ekstrak *n*-heksana daging biji kluwak yang diperoleh berupa minyak berwarna kuning cerah sebanyak 210 mL dari berat sampel kering sebanyak 690 gram. Pemeriksaan komponen yang dikandung ekstrak total *n*-heksana yang diperoleh dilakukan dengan uji KLT. Hal ini dilakukan untuk mendapatkan perkiraan jumlah senyawa yang terdapat dalam ekstrak tersebut. Hasil uji KLT menggunakan eluen *n*-heksana : etil asetat (7 : 2) diperoleh adanya 3 noda sehingga

dapat disimpulkan bahwa minyak hasil ekstraksi menggunakan pelarut *n*-heksana mengandung sekitar 3 senyawa.

Hasil pengujian fitokimia kandungan metabolit sekunder dari biji kluwak memperlihatkan adanya senyawa alkaloid, terpenoid, flavonoid, saponin dan fenolik dalam kadar yang sedikit.

b. Analisis Hasil *Gas Chromatography–Mass Spectrometry* (GC-MS)

Hasil Ekstrak *n*-heksana daging biji kluwak dilanjutkan dengan proses esterifikasi, kemudian dianalisis menggunakan GC-MS dan diperoleh adanya 7 puncak waktu retensi. Komponen senyawa yang terdapat pada ekstrak *n*-heksana daging biji kluwak dapat dilihat pada Tabel 1.

c. Uji Aktivitas Antibakteri

Hasil uji antibakteri terhadap sampel ekstrak *n*-heksana daging biji kluwak memperlihatkan aktivitas antibakteri terhadap *Escherechia coli* dan *Bacillus subtilis*. Hasil uji aktivitas antibakteri terhadap ekstrak *n*-heksana daging biji kluwak dapat dilihat pada Tabel 2.

Hasil uji aktivitas antibakteri dari ekstrak *n*-heksana daging biji kluwak menunjukkan bahwa sampel mengandung senyawa aktif. Kemungkinan senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak yaitu senyawa Siklookta piran-1,3,5,6,7,8,9, 10-heksahidro-4-isopropil-1-fenil yang merupakan golongan terpenoid.

Diameter daya hambat terhadap bakteri *Escherechia coli* lebih besar dibandingkan dengan bakteri *Bacillus*



subtilis yaitu 7,1 mm terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dan 6,9-11 mm terhadap bakteri *Escherichia coli*. Hal ini dikarenakan perbedaan komponen penyusun dinding sel bakteri tersebut. Bakteri Gram negatif memiliki dinding sel yang mengandung peptidoglikan yang

tipis (satu atau beberapa lapis saja), sedangkan untuk bakteri Gram positif yang memiliki dinding sel yang cukup tebal dibandingkan dengan bakteri Gram negatif, terdiri dari 60-100% peptidoglikan (Pratiwi, 2008).

Tabel 1. Komponan senyawa ekstrak *n*-heksana daging biji kluwak

No. Puncak	Waktu Retensi	Persentasi (%)	Nama Senyawa	Struktur Senyawa
1	2,168	1,25	<i>n</i> -Heksana	
2	2,333	7,07	Etil asetat	
3	18,816	2,49	Dietil phtalat	
4	20,784	1,45	Siklookta piran-1,3,5,6,7,8,9, 10-heksahidro-4-isopropil-1-fenil	
5	22,133	10,85	Metil palmitat	
6	23,782	66,05	Metil oleat	
7	23,990	10,85	Metil stearat	

Tabel 2. Hasil uji antibakteri terhadap ekstrak *n*-heksana daging biji kluwak

Bakteri uji	Diameter zona bening (mm)						
	Konsentrasi sampel (µg/disk)					Konsentasi Amoxan (µg/disk)	Etil asetat (kontrol negatif)
	30	60	90	120	150	30	
<i>B. subtilis</i>	0	0	0	0	7,1	20,8	0
<i>E. coli</i>	0	6,9	8,2	9,1	11	7,4	0

d. Uji Toksisitas Ekstrak dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Hasil uji aktivitas toksisitas dapat dilihat pada Tabel 3 berikut. Berdasarkan

jumlah larva udang yang masih hidup dan yang mati dapat dihitung nilai probit sehingga diperoleh nilai LC_{50} .

Tabel 3. Hasil uji toksisitas ekstrak *n*-heksana biji kluwak

Konsentrasi (ppm)	Jumlah larva per vial	Jumlah larva udang mati				% Kematian	Log konsentrasi (x)	Nilai probit (y)
		I	II	III	Jlh			
1000	10	2	1	1	4	13,3	3	3,874
100	10	1	0	0	1	3,3	2	3,119
10	10	0	0	0	0	0	1	0

Berdasarkan hasil uji aktivitas toksisitas dengan metode BSLT, dapat dikatakan bahwa ekstrak *n*-heksana daging biji kluwak tidak memiliki potensi sebagai

senyawa antikanker terbukti dengan nilai $LC_{50} > 1000$ ppm yaitu memiliki nilai LC_{50} sebesar 2.387 ppm.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian terhadap ekstrak *n*-heksana daging biji kluwak dapat diambil kesimpulan bahwa :

1. Hasil analisis GC-MS menunjukkan adanya beberapa senyawa utama penyusun minyak hasil ekstrak *n*-heksana daging biji kluwak yaitu berupa dietil phtalat (2,49%), Siklookta piran - 1, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10-heksahidro - 4 - isopropyl - 1 - fenil (1,45%), metil palmitat (10,85%), metil oleat (66,05%), dan metil stearat (10,85%).
2. Hasil uji aktivitas antibakteri terhadap ekstrak *n*-heksana daging biji kluwak menggunakan metode Difusi Agar menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap kedua bakteri uji dengan diameter zona hambat 7,1 mm terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dan

6,9-11,0 mm terhadap bakteri *Escherichia coli*.

3. Hasil uji toksisitas menggunakan metode BSLT menunjukkan bahwa ekstrak *n*-heksana daging biji kluwak tidak memiliki potensi sebagai senyawa antikanker terbukti dengan nilai $LC_{50} > 1000$ ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Mangunwardoyo, W., Ismaini, L., dan Heruwati, E.S. 2008. Uji Antibakteri dari Fraksi Ekstrak Biji Picung (*Pangium edule* Reinw.) Segar. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*. **6** (4) : 163-168.
- Meyer, B.N., Ferrigni, N.R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. E. McLaughlin, J. L. 1982. *Brine Shrimp : A Convenient General*



- Bioassay for Active Plant Constituents. *Journal of Medicinal Plant Research*. 45 : 31-34.
- Partomihardjo, T dan Rugayah. 1989. Pangi (*Pangium edule* Reinw.) dan Potensinya yang Mulai Dilupakan. *Media Konservasi*. 2 (2) : 45-50.
- Pratiwi, S.T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Erlangga, Jakarta.
- Sundararaj, T., Anthoniraj, S., Kannan, N., Muthukaruppan, S. M. 2004. *Microbiology*. Tamil Nadu Text Book Corporation, Chennai.
- Wulandari. D. 2011. *Pangium edule* Reinw. *Direktorat Bina Perbenihan Tanaman Hutan (BPTH) Sulawesi*. 124 :1-2.
- Yuningsih., Damayanti, R. Efektivitas Ekstrak Air Biji Picung (*Pangium edule*) Terhadap Mencit dan Anjing Sebagai Pengganti Racun *Strychnine* Dalam Upaya Eliminasi Anjing Liar. *Balai Besar Penelitian Veteriner*. 19 (1) : 86-94.

