

AKTIVITAS TOKSISITAS DAN ANTIBAKTERI METABOLIT SEKUNDER EKSTRAK ETIL ASETAT DAGING BIJI TUMBUHAN KLUWAK (*Pangium edule* Reinw)

Rani Ismar¹, Hilwan Yuda Teruna², Jasril²

¹Mahasiswa Program Studi S1 Kimia FMIPA Universitas Riau

²Dosen Jurusan Kimia FMIPA Universitas Riau

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau

Kampus Binawidya, Pekanbaru, 28293, Indonesia

ranniismar@gmail.com

ABSTRACT

Kluwak (*Pangium edule* Reinw) is a plant that has a lot of potential but has not been widely studied. Kluwak seeds consist 33.16% methyl linoleate and 44.93% methyl oleate that can be used as source of essential oil. The extraction of kluwak oil was carried out by maceration using ethyl acetate because the extraction's temperature was below the solvent's boiling point so that the degradation of oil component as the effect of heat can be avoided. Our finding showed that 12.03% kluwak oil consist 4.68% patchouli alcohol; 12.26% methyl palmitate; 33.16% methyl linoleate; 44.93% methyl oleate and 4.97% methyl stearate. Toxicity activity assay using BSLT method showed that kluwak oil was not toxic against *Artemia salina* with LC₅₀ values more than 1000 ppm. The antibacterial activity determined by agar diffusion method in concentration of 30; 60; 90 and 150 µg/disk. Bacteria that have been used for this evaluation were *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. This antibacterial assay indicated that the kluwak oil has activity against both bacterial tested.

Keywords : Toxicity, antibacterial and kluwak (*Pangium edule* Reinw)

ABSTRAK

Kluwak (*Pangium edule* Reinw) merupakan jenis tumbuhan yang memiliki banyak potensi tetapi belum banyak diteliti. Daging biji kluwak dapat menghasilkan minyak dengan komposisi 33,16% metil linoleat dan 44,93% metil oleat yang dapat dijadikan sumber minyak esensial. Ekstraksi minyak kluwak menggunakan etil asetat secara maserasi karena suhu ekstraksi yang digunakan di bawah titik didih pelarut sehingga terdegradasinya komponen minyak akibat panas dapat dihindari. Hasil penelitian ini menghasilkan rendemen 12,03% minyak kluwak dengan komposisi 4,68% patchouli alkohol; 12,26% metil palmitat; 33,16% metil linoleat; 44,93% metil oleat dan 4,97% metil stearat. Uji toksisitas metode BSLT menunjukkan minyak kluwak tidak memiliki aktivitas toksisitas terhadap telur udang *Artemia salina* dengan nilai LC₅₀ > 1000 ppm. Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi agar terhadap bakteri *Escherichia*



coli dan *Bacillus subtilis* pada konsentrasi ekstrak 30, 60, 90 dan 150 $\mu\text{g}/\text{disk}$ mengindikasikan minyak kluwak memiliki aktivitas antibakteri terhadap kedua bakteri.

Kata kunci : Toksisitas, Antibakteri dan kluwak (*Pangium edule* Reinw)

PENDAHULUAN

Tumbuhan memiliki kemampuan untuk mensintesis metabolit sekunder. Metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, terpenoid/steroid, saponin dan senyawa fenol merupakan senyawa kimia yang memiliki kemampuan bioaktivitas. Selain itu tumbuhan dapat menghasilkan senyawa model dalam proses sintesis total maupun sintesis parsial menjadi senyawa yang lebih efektif atau kurang toksik (Wiryo widagdo, 2007).

Tumbuhan *P. edule* dikenal dengan nama daerah tumbuhan kluwak. Kluwak merupakan jenis tumbuhan yang memiliki banyak potensi. Hampir semua bagian tumbuhan kluwak dapat dimanfaatkan. Beberapa manfaat dari pohon kluwak yang dikenal oleh masyarakat umum adalah sebagai obat-obatan, racun ikan, pengawet dan fermentasi dari daging yang terdapat dalam daging biji kluwak digunakan sebagai bumbu masakan khas Indonesia yaitu rawon. Selain itu sebagian masyarakat Indonesia juga memanfaatkan minyak yang dihasilkan dari daging biji kluwak sebagai pengganti minyak kelapa (Heyne, 1987).

Hasil penelitian Widyasari (2005) melaporkan bahwa daging biji kluwak mengandung senyawa antioksidan dan golongan flavonoid yang memiliki aktivitas antibakteri yakni asam hidnokarpat, asam khaulmograd, asam gorlat dan tannin. Namun peneliti tidak melakukan uji toksisitas dan uji antibakteri terhadap daging biji kluwak,

oleh sebab itu pada penelitian ini dilakukan identifikasi dan uji antibakteri daging biji kluwak terhadap bakteri Gram negatif *E.coli* dan bakteri Gram positif *B. subtilis* serta uji toksisitas daging biji kluwak terhadap larva udang *A. salina*.

METODE PENELITIAN

a. Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian adalah peralatan destilasi, lumpang, neraca analitik, peralatan *rotary evaporator* Heidolph 2000, ultrasonikator Kerry Pulsatron, *chamber*, vial, pipa kapiler, termometer, lampu ultraviolet (Model UVL-56), GC-MS Shimadzu QP 2010, autoklaf, inkubator, kertas cakram, pipet mikro, vial, cawan petri dan peralatan gelas lainnya yang sesuai prosedur kerja.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daging biji dari tumbuhan *P. edule*. Bahan yang digunakan adalah etil asetat, n-heksana, metanol, dimetil sulfoksida, kloroform, diklorometan, kloroform beramoiak, pereaksi meyer, reagen penampak noda Dragendorff, pereaksi serum sulfat, Libermann-Burchard, logam Mg, plat KLT GF₂₅₄, asam sulfat pekat, natrium sulfat anhidrat, aluminium foil, telur udang *A. salina*, *nutrient agar*, *nutrient broth*, alkohol 70%, antibiotik Amoxsan®. Bakteri yang digunakan adalah bakteri Gram negatif (*E. coli*), dan bakteri Gram positif (*B. subtilis*).

b. Penanganan sampel

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daging dari biji *P. edule* yang diperoleh dari Teluk Kuantan, Kabupaten Kuantan Singingi. Daging biji dikering anginkan dan dijaga agar tidak terkena sinar matahari secara langsung. Selanjutnya bahan siap untuk diekstraksi.

c. Ekstraksi

Serbuk kering sampel daging biji tumbuhan *P. edule* sebanyak 690 g dimaserasi dengan etil asetat selama 3x24 jam, sebanyak tiga kali pengulangan, lalu diultrasonikasi, kemudian disaring. Maserat yang diperoleh ditampung dan pelarutnya diuapkan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental etil asetat berupa minyak.

Minyak yang diperoleh di KLT untuk menentukan jumlah komponen dalam ekstrak tersebut. Komponen yang banyak ditandai dengan banyak noda pada plat KLT. Kemudian minyak diesterifikasi untuk selanjutnya dikarakterisasi menggunakan metode GC-MS.

d. Karakterisasi

Minyak kluwak yang telah di esterifikasi dikarakterisasi melalui analisis GC-MS untuk mengetahui komponen senyawa kimia penyusun minyak *P. edule*.

e. Uji Toksisitas

Uji toksisitas tahap awal dilakukan pada ekstrak etil asetat dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Sebanyak 20 mg minyak kluwak dilarutkan dalam 2 mL metanol (larutan

induk, konsentrasi 10000 $\mu\text{g/mL}$), kemudian dari larutan induk dibuat konsentrasi berbeda yaitu 1000 $\mu\text{g/mL}$, 100 $\mu\text{g/mL}$ dan 10 $\mu\text{g/mL}$ dengan cara pengenceran bertingkat. Kemudian disiapkan vial 5 mL yang sudah dikalibrasi untuk masing-masing konsentrasi. Sampel dipipet kedalam masing-masing vial sebanyak 0,5 mL, lalu pelarut diuapkan hingga mengering. Selanjutnya, kedalam masing-masing vial ditambahkan 50 μL DMSO. Sebanyak 10 ekor larva udang dimasukkan kedalam vial tersebut dan ditambah air laut hingga batas kalibrasi 5 mL. Tingkat toksisitas diukur dengan cara menghitung jumlah larva udang yang masih hidup dalam selang waktu 24 jam. Pengujian dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan dengan perlakuan yang sama untuk masing-masing konsentrasi. Data yang diperoleh dianalisis untuk menentukan nilai LC_{50} dengan metode kurva menggunakan tabel analisis probit.

f. Uji Antibakteri

Uji antibakteri dilakukan pada minyak kluwak dengan metode difusi agar dengan bakteri uji adalah bakteri Gram negatif *E. coli* dan bakteri Gram positif *B. subtilis*. *Optical Density* dari larutan *Nutrien Broth* (NB) yang berisi biakan bakteri diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Jika absorbansi yang diperoleh lebih dari 0,1 maka perlu dilakukan pengenceran menggunakan air salin (NaCl) 0,85%. Sebanyak 1 mL air salin yang berisi bakteri dimasukkan ke dalam 15 mL *Nutrient Agar* (NA) kemudian divorteks agar bakteri tersuspensi merata. Media NA dituangkan ke dalam cawan petri yang sudah disterilisasi lalu dibiarkan memadat. Minyak kluwak dengan

konsentrasi 30, 60, 90 dan 150 µg/disk dibuat dengan melarutkan dalam etil asetat. Sebanyak 10 µL dari masing-masing konsentrasi minyak kluwak dipipet ke kertas cakram (diameter 6 mm) yang telah diletakkan di plat tetes menggunakan pipet mikro. Amoxsan® yang digunakan sebagai kontrol positif dibuat dengan konsentrasi 30 µg/disk. Etil asetat digunakan sebagai kontrol negatif. Kertas cakram diletakkan di atas media NA yang telah memadat sebanyak 5 buah kemudian diinkubasi di dalam inkubator pada suhu 37°C. Diameter zona bening di sekitar kertas cakram diukur setelah inkubasi selama 24 jam.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Serbuk kering daging biji *P. edule* yang dimaserasi dengan pelarut etil asetat menghasilkan ekstrak berupa minyak berwarna kuning kecoklatan sebanyak 83 g. Hasil pengujian fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak kasar

sampel memiliki kandungan metabolit sekunder golongan terpenoid, flavonoid, saponin, alkaloid, dan fenolik.

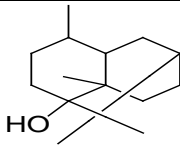
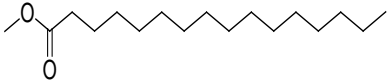
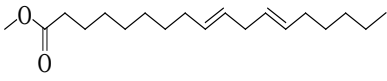
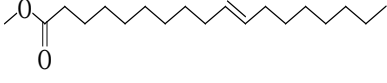
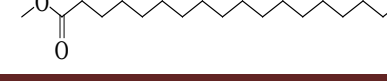
Karakterisasi senyawa ekstrak etil asetat *P. edule* dilakukan analisis GC-MS untuk mengetahui komponen-komponen yang terkandung dalam ekstrak tersebut. Berdasarkan hasil analisis ekstrak etil asetat merupakan minyak/lemak (Tabel 1).

Hasil uji aktivitas toksisitas minyak kluwak dilakukan dengan metode BSLT. Data hasil uji LC₅₀ minyak kluwak terhadap telur *A. salina* diolah dengan metode analisis probit. Hasil dari analisis data menghasilkan

nilai LC₅₀ sebesar 2.387 µg/mL yang menunjukkan bahwa ekstrak tersebut bersifat tidak toksik karena nilai LC₅₀ ≥ 1000 µg/mL (Meyer, 1982).

Uji aktivitas antibakteri dalam penelitian ini dilakukan menggunakan metode difusi *agar* terhadap bakteri Gram positif *B. subtilis* dan bakteri

Tabel 1. Komponan Senyawa Minyak Kluwak

Puncak	Waktu Retensi	Persentase (%)	Nama Senyawa	Struktur Senyawa
1	36,643	4,68	Patchouli alkohol	
2	41,756	12,26	Metil Palmitat	
3	45,294	33,16	Metil Linoleat	
4	45,388	44,93	Metil Oleat	
5	45,813	4,97	Metil Stearat	

Tabel 2. Diameter zona hambatan minyak kluwak

Konsentrasi ($\mu\text{g}/\text{disk}$)	Diameter Zona Hambatan (mm)	
	Gram (-) <i>E.coli</i>	Gram (+) <i>B.subtilis</i>
30	-	-
60	9,2	-
90	11,1	7,8
150	13,3	8,5
Amoxsan® (30 $\mu\text{g}/\text{disk}$)	9,2	19,3
Etil asetat	-	-

Gram negatif *E. coli* pada variasi konsentrasi 30, 60, 90 dan 150 $\mu\text{g}/\text{disk}$. Kontrol positif yang digunakan adalah antibiotik sistesis Amoxsan® dengan konsentrasi 30 $\mu\text{g}/\text{disk}$.

Penentuan efektivitas antibakteri dilakukan berdasarkan pengukuran diameter zona bening yang muncul disekitar kertas cakram yang berisi antibakteri. Semakin luas zona hambat yang terbentuk maka semakin efektif zat tersebut sebagai antibakteri. Hasil menunjukkan bahwa minyak kluwak yang dihasilkan bersifat sebagai antibakteri (Tabel 2).

Aktivitas antibakteri minyak kluwak terhadap bakteri *E. coli* lebih besar dibandingkan aktivitas terhadap bakteri *B. subtilis*, karena menghasilkan diameter zona bening yang lebih besar. Perbedaan zona hambat yang dihasilkan diduga karena masing-masing bakteri memiliki perbedaan struktur dan komponen dinding sel dan efek sinergis senyawa aktif yang terdapat dalam sampel minyak kluwak terhadap kedua jenis bakteri. Senyawa aktif yang berperan sebagai antibakteri diduga adalah patchouli alkohol yang merupakan senyawa sesquiterpen alkohol yang mempunyai gugus -OH dan 4 buah gugus metil. Senyawa ini

dapat menentukan aktivitas dan permeabilitas membran.

Pada bakteri Gram positif seperti *B. subtilis*, bagian sel yang diserang oleh senyawa aktif adalah dinding sel peptidoglikan yang tebal dengan kandungan lipid yang rendah. Untuk membunuh *B. subtilis*, zat aktif masuk ke dalam membran sel melalui dinding sel, dengan demikian dinding sel rusak dan menghambat sintesis dinding sel dan menyebabkan lisis pada sel bakteri (Siswadono dan Soekardjo,1995). Sementara pada bakteri Gram negatif seperti *E. coli*, bagian sel yang diganggu adalah membran sel terluar yang merupakan komponen penyusun dinding sel selain peptidoglikan. Membran sel ini tersusun atas tiga lapisan tipis lipopolisakrida, lipoprotein dan fosfolipid. Senyawa aktif menyerang bagian fosfolipid yang dapat mengganggu permeabilitas membran sel dan dapat menghambat pertumbuhan sel yang akhirnya menyebabkan lisis pada sel bakteri (Siswadono dan Soekardjo,1995).

KESIMPULAN

Ekstraksi *P. edule* menggunakan pelarut etil asetat menghasilkan ekstrak kental berupa minyak sebanyak 83 g dengan rendemen 12,03%. Hasil karakterisasi dengan spektroskopi GC-MS diketahui bahwa komposisi minyak adalah patchouli alkohol, metil palmitat, metil linoleat, metil oleat, metil stearat.

Hasil uji toksisitas menunjukkan bahwa ekstrak *P. edule* bersifat tidak toksik karna tidak memiliki aktivitas terhadap telur udang *A. salina*

Senyawa pada ekstrak/minyak memiliki aktivitas antibakteri yang tergolong sedang pada konsentrasi 30, 60, 90 dan 150 µg/disk dengan diameter daya hambat 7,8-13,2 mm.

DAFTAR PUSTAKA

Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Balitbang Kehutanan, Jakarta.

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

Siswandono dan Soekardjo, B. 1995. *Kimia Medicinal*. Universitas Airlangga. Surabaya.

Widyasari, R.A.H.E. 2005. Teknologi Pengawetan Ikan Kembung (*Rastreliger brachysoma*) Segar Dengan Menggunakan Bahan Bioaktif Alami Daging biji Kluwak (*Pangium edule* Reinw). *Tesis*. Institut Pertanian Bogor.

Wirjowidagdo, S. 2007. *Kimia dan Farmakologi Bahan Alam*. EGC, Jakarta



