

UJI TOKSISITAS EKSTRAK ETIL ASETAT DAN METANOL KULIT BUAH MUNDAR (*Garcinia forbesii*)

Kholifatu Rosyidah*, Muhammad Alfian Rizki, Maria Dewi Astuti

PS Kimia ULM, Jl. A Yani KM 36, Banjarbaru, Indonesia

*Corresponding author: krosyidah@ulm.ac.id

Abstrak. Buah mundar atau *Garcinia forbesii* merupakan tumbuhan yang masih satu kerabat dengan tumbuhan manggis, tumbuh di Kalimantan Selatan dan banyak ditemukan di Kabupaten Banjar, Hulu Sungai Tengah (HST) dan Hulu Sungai Selatan (HSS). Tujuan penelitian ini yaitu mengetahui aktivitas toksisitas ekstrak kulit buah mundar terhadap larva udang (*A. Salina*) pada ekstrak etil asetat dan metanol. Metode ekstraksi yang digunakan yaitu metode maserasi bertahap. Uji toksisitas dilakukan dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Analisis KLT menggunakan fase gerak *n*-heksan:etil asetat (5:5), (6:4) dan (7:3) dengan penampak noda serum sulfat menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat dan metanol mengandung senyawa fenolat. Analisis HPLC menunjukkan ekstrak metanol mengandung senyawa kuersetin sedangkan ekstrak etil asetat tidak tetapi kedua ekstrak menunjukkan puncak serapan dengan detektor UV 368 nm yang menunjukkan bahwa kedua ekstrak mengandung senyawa flavonoid. Hasil penelitian diperoleh rendemen ekstrak etil sebesar 14,00% dan rendemen ekstrak metanol sebesar 39,27%. Ekstrak etil asetat dan metanol bersifat aktif terhadap *A. salina* dengan nilai LC₅₀ masing-masing sebesar 5,70 ppm dan 8,04 ppm.

Kata kunci: kulit buah, mundar, BSLT, etil asetat, metanol

1. PENDAHULUAN

Genus *Garcinia* merupakan tumbuhan yang banyak digunakan masyarakat Indonesia sebagai tanaman obat. Buah mundar (*G. forbesii*) merupakan tumbuhan khas Kalimantan Selatan yang telah digunakan oleh masyarakat untuk pengobatan dan kosmetik (Noor & Ningsih, 2017). Golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam genus *Garcinia* yaitu flavonoid, tanin dan saponin yang mempunyai bioaktivitas sebagai antibakteri, antikanker, dan antiinflamasi serta memiliki sifat sitotoksik terhadap larva udang (Latief *et al.*, 2007).

Uji toksisitas menggunakan metode BSLT merupakan *bioassay* yang mampu mendeteksi adanya efek sitotoksik dan sebagai skrining awal untuk mengetahui senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak tumbuhan (Wulandari, 2014). Hasil penelitian menggunakan uji BSLT terhadap tumbuhan *Garcinia* menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat, ekstrak metanol, dan fraksi etil asetat memiliki aktivitas sitotoksik berdasarkan nilai LC₅₀ (Aliya *et al.*, 2016).

Penelitian sebelumnya ekstrak *n*-heksana kulit buah mundar memiliki rendemen 5,10 % dengan nilai LC₅₀ 9,753 ppm terhadap uji BSLT (Rosyidah, *et al.*, 2019). Makalah ini akan melaporkan uji BSLT ekstrak etil asetat dan metanol kulit buah mundar serta pola kromatogram ekstrak *n*-heksana, etil asetat dan metanol.

2. METODE

2.1 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas, bejana maserasi, bejana KLT, lampu UV 254 nm, pengaduk kaca, *rotary evaporator*, *waterbath*, neraca analitik O'haus, cawan petri, *blender*, kertas saring Whatman No. 1, botol semprot, botol vial, aerator, plat KLT 60GF₂₅₄.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah serbuk kulit buah mundar, *n*-heksana teknis, metanol teknis, etil asetat teknis, *n*-heksana p.a, etil asetat p.a, metanol p.a, asetonitril, H₂SO₄, Ce(SO₄)₂.4H₂O 2%, garam, air laut buatan, telur udang, dan akuades.

2.2 Ekstraksi Kulit Buah Mundar

Metode yang digunakan pada proses ekstraksi yaitu metode maserasi. Sampel kulit buah mundar sebanyak 5 kg diambil kulitnya, dikeringkan dan dihaluskan sehinggga menjadi serbuk. Ekstraksi dilakukan terhadap serbuk kering kulit buah mundar (405,64 gram). Proses ekstraksi dilakukan secara bertahap dengan tiga pelarut yang berbeda, yaitu *n*-heksana, etil asetat, dan metanol dengan perbandingan 1:2. Maserasi

dilakukan selama 24 jam dan dilakukan beberapa kali pengadukan. Ekstrak hasil maserasi diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40-50°C, selanjutnya dipekatkan dengan *waterbath* hingga didapat ekstrak kental.

2.3 Analisis kromatografi lapis tipis ekstrak kulit buah mundar

Ekstrak kulit buah mundar dilakukan analisis kromatografi lapis tipis (KLT). Ekstrak yang digunakan yaitu ekstrak *n*-heksana, etil asetat, dan metanol. Sebanyak 2 mg masing-masing ekstrak *n*-heksana, etil asetat, dan metanol ditimbang dan dilarutkan dengan beberapa mL pelarutnya masing-masing. Ekstrak yang sudah diencerkan kemudian ditotolkan pada plat KLT dengan jarak 1 cm dari garis bawah dan 1 cm dari garis atas. Fase diam yang digunakan berupa plat silika gel 60GF₂₅₄. Plat KLT selanjutnya dielusi menggunakan eluen dari pelarut *n*-heksana dan etil asetat dengan perbandingan 5:5, 6:4 dan 7:3. Apabila eluen sudah mencapai garis batas atas, maka elusi dihentikan dan selanjutnya dikeringkan untuk dilakukan analisis menggunakan sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm. Plat KLT kemudian disemprot dengan larutan serum sulfat 2% sampai merata lalu dimasukkan ke dalam oven sampai berubah warna, sehingga diperoleh noda-noda dengan pola yang beragam. Noda yang terbentuk kemudian dihitung nilai *R_f* nya.

2.4 Uji BSLT ekstrak kulit buah mundar

Telur udang ditetaskan di dalam air laut buatan yang dilengkapi dengan aerator selama 1 x 24 jam. Air laut buatan yang digunakan dibuat dari 20 g garam laut ke dalam 1 L akuades. Sebanyak 10 mg ekstrak kulit buah mundar ditimbang dan dilarutkan dalam 100 mL air laut buatan. Ekstrak *n*-heksana dan etil asetat dilarutkan terlebih dahulu menggunakan larutan DMSO sebanyak 1 mL. Larutan ekstrak diambil menggunakan pipet masing-masing 2,5 mL, 5 mL, 7,5 mL, 12,5 mL dan 17,5 mL lalu dilakukan pengenceran menggunakan labu pengenceran 50 mL sehingga didapat variasi konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 25 ppm dan 35 ppm. Larutan kontrol negatif berisi air laut buatan dan DMSO tanpa ditambahkan ekstrak kulit buah mundar. Sebanyak 20 ekor larva udang kemudian ditambahkan pada setiap botol vial yang berisi larutan ekstrak kulit buah mundar dan kontrol negatif. Jumlah larva udang yang mati setelah 24 jam diamati dan dihitung persen kematiannya. Analisis probit dilakukan untuk menentukan nilai LC₅₀.

2.5 Analisis HPLC ekstrak kulit buah mundar

Detektor Uv-Vis dioptimasi pada panjang gelombang 368 nm, waktu retensi 10 menit dengan komposisi fase gerak metanol:asetonitril:akuades (40:15:45, v/v/v) dengan flow rate 1mL/menit. Apabila semua parameter dipastikan tepat, fase gerak mulai dialirkan. Tunggu sampai sistem (kolom dan detektor) stabil baru injeksi sampel dilakukan dan tunggu beberapa menit agar software dapat membaca data dari instrumen. Kromatogram akan otomatis dicetak ketika analisis sudah selesai.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Ekstraksi Kulit Buah Mundar

Ekstraksi yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan maserasi bertahap, bertujuan untuk mengelompokkan senyawa berdasarkan kepolarannya. Senyawa nonpolar akan terekstrak pada pelarut *n*-heksana, senyawa semipolar terekstrak pada pelarut etil asetat, dan senyawa polar terekstrak pada pelarut metanol. Kandungan senyawa metabolit yang tinggi pada sampel ditunjukkan oleh nilai rendemen yang dihasilkan, semakin tinggi nilai rendemen semakin banyak senyawa metabolit yang tersari. Hasil ekstraksi dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil ekstraksi kulit buah mundar

Pelarut	Bobot Serbuk	Bobot Ekstrak	Persen Rendemen (%)
etil asetat	405,64 g	56,80 g	14,00
metanol		159,31 g	39,27

3.2 Uji Toksisitas Ekstraksi Kulit Buah Mundar

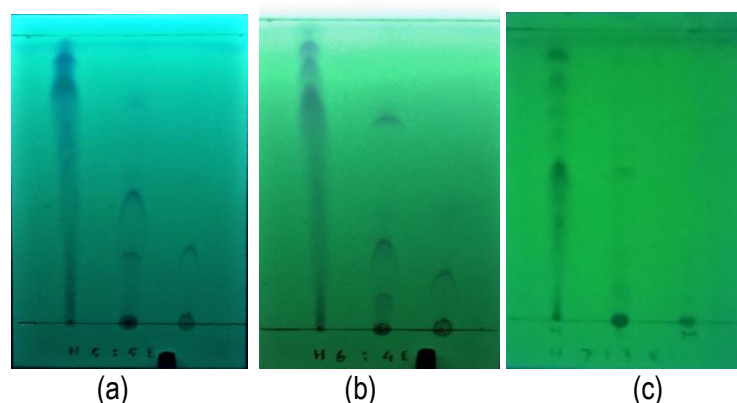
Nilai LC_{50} didapatkan dari nilai x yang dihitung dari hasil regresi linier $y = ax + b$. Nilai y merupakan nilai probit 50% dari kematian larva udang yaitu sebesar 5,00. Berdasarkan perhitungan yang dilakukan maka diperoleh nilai LC_{50} dari ekstrak etil asetat sebesar 5,70 ppm dan ekstrak metanol sebesar 8,04 ppm. Hal ini menggambarkan bahwa dengan konsentrasi ekstrak kulit buah mundar sebesar 5,70 ppm dan 8,04 ppm mampu mematikan 50% larva udang yang diujikan ke dalam ekstrak buah mundar sehingga berdasarkan hasil yang diperoleh maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak etil asetat dan metanol bersifat toksik. Hasil uji toksisitas ekstrak kulit buah mundar dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Toksisitas Ekstrak Kulit Buah Mundar

Ekstraksi	Konsentrasi (ppm)	% Kematian	Log Konsentrasi	Probit	LC_{50} (ppm)
Etil Asetat	5	48,33	0,70	4,9574	5,70
	10	63,33	1,00	5,3398	
	15	76,67	1,18	5,7257	
	25	88,33	1,40	6,1901	
	35	100,00	1,54	-	
Metanol	5	36,67	0,70	4,6575	8,04
	10	56,67	1,00	5,1662	
	15	66,67	1,18	5,4289	
	25	85,00	1,40	6,0364	
	35	95,00	1,54	6,6449	
Kontrol	20 ekor	0	-	-	-

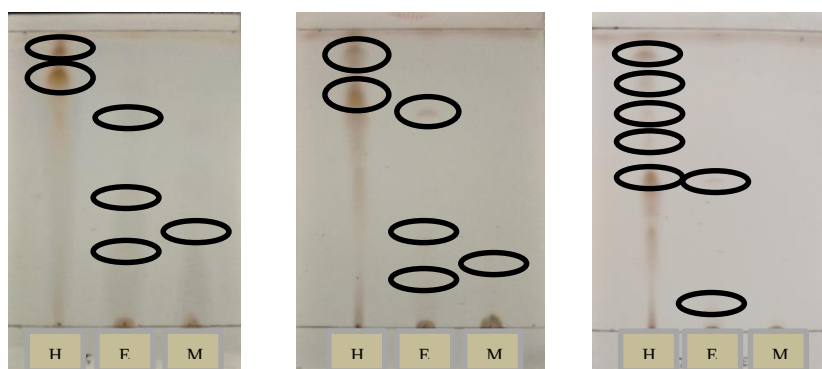
Ekstrak dikatakan toksik apabila nilai $LC_{50} < 1000$ ppm. Senyawa yang memiliki nilai LC_{50} 0-30 ppm berpotensi sebagai antikanker, LC_{50} 30-200 ppm berpotensi sebagai antibakteri, sedangkan LC_{50} 200-1000 ppm berpotensi sebagai pestisida (Rizqillah, 2013). Hal ini menjadi dasar bahwa ekstrak kulit buah mundar sangat berpotensi sebagai obat antikanker sehingga perlu pengujian lebih lanjut terhadap sel kanker.

3.3 Analisis KLT Ekstrak Kulit Buah Mundar



Gambar 1. Kromatogram KLT eluen *n*-heksana:etil asetat (5:5) (a), *n*-heksana:etil asetat (6:4) (b) dan *n*-heksana:etil asetat (7:3) (c) dilihat menggunakan sinar UV 254 nm.

Analisis KLT yang dilakukan terhadap ekstrak kulit buah mundar ini bertujuan untuk mengetahui pola noda dari senyawa-senyawa yang mungkin diduga senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak kulit buah mundar. Eluen yang digunakan yaitu *n*-heksana:etil asetat (5:5), *n*-heksana:etil asetat (6:4) dan *n*-heksana:etil asetat (7:3). Profil kromatogram disemprot menggunakan larutan serum sulfat 2%. Jika noda yang dihasilkan berwarna kuning setelah disemprot menggunakan pereaksi larutan serum sulfat 2% maka noda tersebut mengandung fenolat. Kromatogram KLT dapat dilihat pada Gambar 1 dan Gambar 2.



Keterangan : H = Ekstrak *n*-heksana
E = Ekstrak etil asetat
M = Ekstrak metanol

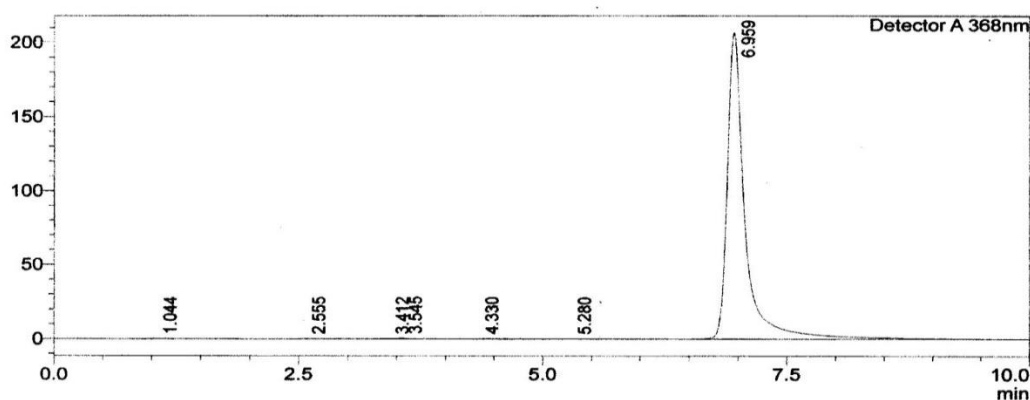
Gambar 2. Kromatogram KLT eluen *n*-heksana:etil asetat (5:5) (a), *n*-heksana:etil asetat (6:4) (b) dan *n*-heksana:etil asetat (7:3) (c) menggunakan penampak noda serum sulfat 2%.

Kromatogram KLT pada Gambar 1a menunjukkan pola pemisahan yang cukup baik. Noda yang diperoleh untuk ekstrak etil asetat memiliki tiga pola noda pemisahan dengan nilai Rf_1 0,219; Rf_2 0,301; Rf_3 0,657, sedangkan metanol hanya satu pola noda dengan Rf 0,246. Pada ekstrak *n*-heksana diperoleh dua pola noda yang masih berdekatan dengan Rf_1 0,712; Rf_2 0,794, sehingga dilakukan variasi perbandingan pelarut lainnya dengan hasil kromatogram KLT pada Gambar 1b. Noda kromatogram yang diperoleh menunjukkan adanya tiga noda dengan pola pemisahan yang cukup baik pada ekstrak etil asetat dengan Rf_1 0,095; Rf_2 0,205; Rf_3 0,602, sedangkan ekstrak metanol hanya satu noda dengan Rf 0,150. Gambar 1b menunjukkan ekstrak *n*-heksana sudah mulai terpisah dibanding dengan Gambar 1a dengan Rf_1 0,643; Rf_2 0,780. Sedangkan pada Gambar 1c pola pemisahan ekstrak *n*-heksana cukup baik dengan lima pola noda pemisahan dengan Rf_1 0,438; Rf_2 0,534; Rf_3 0,589; Rf_4 0,712; Rf_5 0,794. Gambar 1c pada ekstrak etil asetat juga menunjukkan dua noda pemisahan dengan Rf_1 0,054; Rf_2 0,383. Hal ini menunjukkan bahwa proses ekstraksi menggunakan pelarut *n*-heksana, etil asetat dan metanol mampu menarik banyak senyawa pada sampel kulit buah mundar. Nilai Rf yang didapat juga menunjukkan bahwa eluen *n*-heksana:etil asetat (7:3) adalah eluen yang cukup baik untuk pemisahan ekstrak *n*-heksana dan eluen *n*-heksana:etil asetat (6:4) cukup baik untuk pemisahan ekstrak etil asetat dan metanol. Ketiga plat KLT mengandung fenolat setelah disemprot menggunakan pereaksi serum sulfat 2% yang menghasilkan noda berwarna kuning.

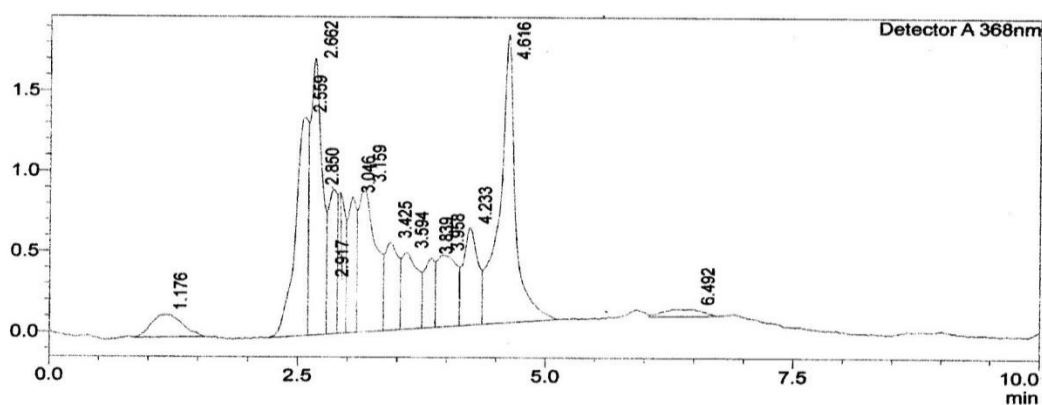
3.4 Analisis HPLC Ekstrak Kulit Buah Mundar

Larutan pembanding yang digunakan yaitu larutan standar kuersetin. dengan konsentrasi 100 ppm. Kuersetin merupakan senyawa flavonoid dari kelompok flavonol yang dipercaya dapat melindungi tubuh dari beberapa jenis penyakit degeneratif dengan mencegah terjadinya proses peroksidasi lemak. Senyawa kuersetin

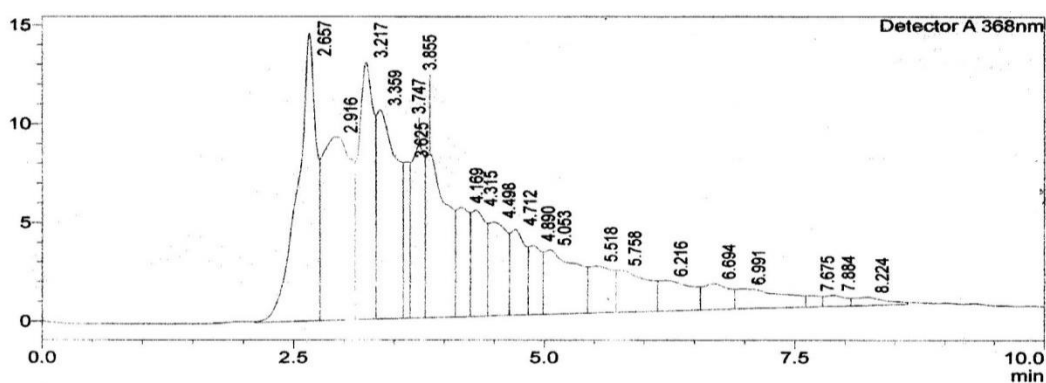
dapat menghambat terbentuknya enzim DNA topoisomerase pada sel kanker (Mutiah *et al.*, 2018). Analisis HPLC terhadap larutan standar kuersetin menunjukkan puncak pada waktu retensi 6,959 dengan luas area sebesar 2.652.600. Standar kuersetin digunakan sebagai pembanding untuk analisis ekstrak etil asetat, dan metanol.



Gambar 3. Kromatogram HPLC larutan standar kuersetin



Gambar 4. Kromatogram HPLC ekstrak etil asetat



Gambar 5. Kromatogram HPLC ekstrak metanol

Kromatogram pada Gambar 4, ekstrak etil asetat memiliki 14 puncak yang muncul dengan detector UV panjang gelombang 368nm. Tetapi ekstrak etil asetat tidak menunjukkan senyawa kuersetin, hal ini karena pada waktu retensi sekitar 6,959 menit tidak muncul puncak serapan. Sedangkan kromatogram pada Gambar 5, ekstrak metanol kulit buah munda memiliki 21 puncak serapan. Analisis HPLC menunjukkan ekstrak metanol mengandung senyawa kuersetin sedangkan ekstrak etil asetat tidak tetapi kedua ekstrak menunjukkan puncak serapan dengan detektor UV 368 nm yang menunjukkan bahwa kedua ekstrak mengandung senyawa fenol golongan flavonoid. Senyawa kuersetin pada ekstrak metanol terdeteksi pada waktu retensi 6,991 dengan luas

area sebesar 33.450. Kadar kuersetin dalam ekstrak metanol sangat rendah sekitar 1,26 ppm dibandingkan standar sehingga puncak yang muncul juga sangat kecil.

4. SIMPULAN

Ekstrak etil asetat dan metanol bersifat toksik terhadap *A. salina* dengan nilai LC_{50} sebesar 5,70 ppm untuk ekstrak etil asetat dan 8,04 ppm untuk ekstrak metanol. Analisis HPLC menunjukkan bahwa ekstrak metanol mengandung kuersetin sedangkan ekstrak etil asetat tidak. Ekstraksi bertingkat berdasarkan kepolaran pelarut efektif memisahkan kandungan senyawa sampel berdasarkan kepolaran.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada DIPA Universitas Lambung Mangkurat Tahun Anggaran 2021 Nomor: SP DIPA – 023.17.2.677518/2021 tanggal 23 November 2020 Universitas Lambung Mangkurat Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Sesuai dengan SK Rektor Universitas Lambung Mangkurat Nomor : 697/UN8/PG/2021 Tanggal 22 Maret 2021. Pelaksanaan Penelitian Program Dosen Wajib Meneliti dengan Skema Pembiayaan PNPB Universitas di Lingkungan Universitas Lambung Mangkurat Tahun Anggaran 2021. KLASER MADYA. Nomor : 009. 46/UN8.2/PL/2021

6. DAFTAR PUSTAKA

- Anastasia, N. 2010. Uji Aktivitas Antibiotik Senyawa Alfa Mangostin Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) terhadap *Propionibacterium acne* dan *Staphylococcus aureus* Multiresisten. *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah. Surakarta.
- Aliya, L. S., A. Soemijati & A. Mun'im. 2016. Aktivitas Sitotoksik Hasil Fermentasi Isolat Kapang Endofit Dari *Garcinia forbesii* King Terhadap Sel MCF-7. *Sainstech Farma*. 9 : 1-9.
- Dewi, A. R. 2018. Penetapan Kadar Fenol Dan Tanin Total Serta Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Kulit Buah Mundar (*Garcinia forbesii* King.) Dengan Metode Frap. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lambung Mangkurat. Banjarbaru.
- Gandjar, I. G & A. Rohman. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar, Yogyakarta.
- Latief, M., S. Soetardjo, H. H. Bahti & Dachriyanus. 2007. Kandungan Kimia dari Fraksi Aktif Antioksidan Ekstrak Kulit Batang *Garcinia forbesii* King. *Pharmacy*. 05: 7-12.
- Noor, A & Ningsih, R. D. 2017. *Mundar (Garcinia forbesii) si Manggis Merah Sumber Daya Genetik Kalimantan Selatan*. <http://kalsel.litbang.pertanian.go.id> (diakses tanggal 11 Agustus 2017).
- Mutiah, R., A. Suryadinata., P. S. Nurani. 2018. Uji Sitotoksik Kombinasi Cisplatin dengan Ekstrak Etanol Benalu Alpukat (*Dendrophthoe pentandra* (L) Miq.) pada Sel Hela. *Majalah Kesehatan*. 5 : 1-11.
- Rizqillah, N. 2013. Uji Toksisitas Akut Ekstrak N-heksan Daun *Garcinia benthami* Pierre Terhadap Larva *Artemia salina* Leach dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Skripsi*. Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Rosyidah, K., M. A. Rizki, M. D. Astuti & Rodiansono. 2019. Toxicity of n-hexane extract of *mundar (Garcinia forbesii* King) pericarp. *BIO Web of Conferences*. 20(4): 03004.
- Wulandari, F. 2014. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Daun Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* [Scheff.] Boerl.) Terhadap Larva *Artemia salina* Leach dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Skripsi*. Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta.