

UJI AKTIFITAS BIOLOGIS EKSTRAK KULIT DAN DAGING BUAH MAJA (*Aegle marmelos* (L.) Corr) DENGAN METODE *BRINE SHRIMP LETHALITY TEST*

Devi Ratnawati

Universitas Bengkulu, Fakultas MIPA dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jl. Raya Kandang Limun Telp (0736)20919 pes. 208 Bengkulu

Diterima 10 Oktober 2011/Disetujui 05 Januari 2012

ABSTRACT

A study concerning the test phytochemical extracts of fruit peel and pulp magazine (*Aegle Marmelos*) as well as the biological activity test with brine shrimp lethality test method. The purpose of this study was to determine the presence or absence of secondary metabolites contained in the skin and pulp magazine. The study consisted of two phases: first, a preliminary test the secondary metabolites (flavonoids, alkaloids, steroids and triterpenoids), which both the biological activity assay using *Artemia salina* leach shrimp larvae. The results showed that only maja fruit skin extracts containing secondary metabolites are alkaloids and triterpenoids with high levels of (+), while the pulp magazine did not show a positive test to the test of secondary metabolites. The test results of the biological activity of fruit peel extract maja has a value of 68.07 ppm LC50, whereas extracts pulp magazine has a LC50 value 47.97 mg / L.

Key Words : *Maja fruit, biological activity, Phytochemistry Test.*

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang uji fitokimia ekstrak kulit buah dan daging buah maja (*Aegle Marmelos*) serta uji aktivitas biologis dengan metode brine shrimp lethality test. Adapun tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui ada atau tidaknya senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam kulit dan daging buah maja. Penelitian ini terdiri dari dua tahap yaitu: pertama, uji pendahuluan adanya senyawa metabolit sekunder (flavonoid, alkaloid, steroid dan triterpenoid), yang kedua yaitu uji aktivitas biologis dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* leach. Hasil penelitian menunjukkan bahwa hanya ekstrak kulit buah maja yang mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid dan triterpenoid dengan kadar (+), sedangkan daging buah maja tidak menunjukkan uji positif terhadap uji metabolit sekunder. Hasil uji aktivitas biologis dari ekstrak kulit buah maja mempunyai nilai LC₅₀ 68,07 ppm, sedangkan untuk ekstrak daging buah maja mempunyai nilai LC₅₀ 47,97 mg/L.

Kata kunci: *Buah maja, Aktivitas biologis, Uji fitokimia.*

PENDAHULUAN

Secara filosofi potensi sumberdaya bahan alam dalam kehidupan manusia tergantung pada jumlah dan jenis kandungan senyawa kimianya. Sumber daya hayati yang digunakan sebagai obat-obatan, agrokimia, dan material sains umumnya mengandung alkaloid, terpenoid, flavanoid, dan senyawa fenol lainnya. Variasi dan komposisi senyawa-senyawa tersebut menjadikan sumberdaya hayati bernilai ekonomi, tetapi nilai ekonomi itu pula yang memicu kerusakannya karena dimanfaatkan atau dieksploitasi secara berlebihan (Anonim, 2010).

Senyawa aktif yang terdapat dalam tumbuhan umumnya dalam bentuk metabolit sekunder yang di antaranya berupa alkaloid, flavonoid, steroid, terpenoid, dll. Pada tumbuhan senyawa metabolit sekunder tersebut dapat ditemukan pada akar, batang, daun, buah, bunga, biji, dan pada getah. Umumnya metabolit sekunder mempunyai aktifitas biologis dan berperan sebagai pelindung dari tumbuhan itu sendiri dari gangguan hama penyakit maupun lingkungan (Herbert, 1995).

Salah satu tanaman yang banyak mengandung metabolit sekunder adalah tanaman maja (*Aegle marmelos* (L.) Corr). Tanaman maja atau disebut juga dengan mojo, adalah sejenis tumbuhan subtropis yang mudah tumbuh dan berkembang di hampir seluruh wilayah di Indonesia. Buah maja ternyata dapat digunakan sebagai bahan baku pestisida nabati. Tanaman maja juga sering digunakan sebagai obat tradisional. Buah yang matang dapat diiris-iris, dikeringkan dan digunakan sebagai obat disentri kronis, diare, dan sembelit. Kulit batangnya digunakan untuk meracuni ikan. Akar maja digunakan sebagai obat penenang debaran jantung, gangguan pencernaan, dan bengkak lambung. Daun maja mengandung saponin dan tanin, disamping itu akar dan kulit batangnya mengandung flavonoid, saponin dan polifenol (Nurcahyati, 2008). Selain itu getah maja juga dapat digunakan sebagai obat *pharmaceutical* yang berfungsi sebagai perekat untuk obat-obatan tablet (Patil *et al*, 2010).

Berdasarkan hasil penelitian Ardian dalam Nurcahyati (2006) diketahui bahwa ekstrak buah mojo mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 0,7813 %, sedangkan konsentrasi minimum yang mampu membunuh bakteri *Escherichia coli* adalah 3,125 %. Berdasarkan hasil uji pendahuluan yang dilakukan oleh Nurcahyati (2008) dengan menggunakan ekstrak daun maja dengan konsentrasi 0 (kelompok kontrol), 0,2, 0,4, 0,6, 0,8, 1, 2, 4, 6, 8 dan 10%, pada kelompok perlakuan diketahui bahwa konsentrasi yang dapat mematikan larva *Aedes aegypti* instar III yaitu 2, 4, 6, 8, dan 10%. Rajasekaran *et al.* (2009), menyimpulkan dalam penelitiannya yang berjudul "*Studies on Hepatoprotective Activity of Ethanolic Extracts of Fruit pulp of Aegle marmelos (L.) corr*" bahwa ekstrak etanol buah maja masak berpotensi efektif untuk menekan agen *hepatoprotective* yang alami dan karakteristik fitokimia senyawa-senyawa yang terkandung di dalam buah maja tersebut juga dapat digunakan sebagai obat.

Dengan banyak manfaat dari buah maja, maka perlu dilakukannya uji aktifitas biologis ekstrak kulit buah dan daging buah maja terhadap larva udang laut (*Artemia salina* leach) dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*. Sehingga penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keaktifan biologis senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak kulit buah dan daging buah maja terhadap larva udang laut.

METODE PENELITIAN

Determinasi tanaman

Determinasi tanaman adalah pemberian nama latin dan suku atau familia suatu organisme dengan menggunakan literatur. Dalam penelitian ini, determinasi tanaman dilakukan oleh Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Bengkulu. Sampel dalam penelitian ini di ambil dari wilayah Kandang Limun Kecamatan Muara Bangkahulu Kota Bengkulu.

Uji fitokimia kandungan alkaloid pada kulit buah dan daging buah maja

Uji kandungan senyawa alkaloid dilakukan menurut metode Culvenor Fitzgerald. Sebanyak 4 gram kulit buah di tumbuk dalam mortal kemudian dibasahi dengan 5 mL kloroform. Sambil diaduk-aduk ditambahkan lagi kloroform beramoniak 10 mL, selanjutnya disaring dan filtratnya ditampung dalam erlemeyer 100 mL. Ekstrak kloroform yang diperoleh kemudian di masukkan ke dalam corong

pisah 100 ml, dan di tambahkan 5 mL asam sulfat 2 M selanjutnya dikocok berulang. Kemudian campuran dibiarkan beberapa saat sampai terbentuk dua lapisan. Lapisan atas berupa lapisan asam di tampung dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan pereaksi dragendroff, jika sampel mengandung alkaloid maka akan timbul endapan berwarna orange atau merah jingga (Suryani, 2001). Prosedur yang sama dilakukan untuk daging buah.

Uji fitokimia kandungan terpenoid pada kulit buah dan daging buah maja

Untuk menguji kandungan senyawa terpenoid digunakan pereaksi warna yang telah lazim digunakan yaitu Lieberman-Burchard dengan cara mengambil 4 gram sampel yang telah dihaluskan dan di masukkan ke dalam erlemeyer 100 mL, kemudian dimaserasi dengan 25 mL metanol teknis lalu di panaskan selama 15 menit. Campuran tersebut disaring dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 50 mL dan biarkan seluruh metanol menguap hingga kering. Lalu di tambahkan 5 mL kloroform dan 5 mL akuades diaduk secara perlahan, kemudian dipindahkan ke dalam tabung reaksi dan dibiarkan terbentuk dua lapisan. Diambil 2 tetes lapisan bagian atas yang merupakan kloroform lalu ditetaskan pada plat tetes dan biarkan hingga kering. Kemudian ditambahkan dengan pereaksi Lieberman-burchard (3 tetes asam asetat anhidrat +1 tetes asam sulfat pekat). Adanya senyawa terpenoid ditandai dengan timbulnya warna merah, merah jambu atau ungu (Suryani, 2001).

Uji fitokimia kandungan flavonoid pada kulit buah dan daging buah maja

Uji kandungan senyawa flavonoid dilakukan dengan menggunakan pereaksi Shinoda Test (serbuk Mg + HCL pekat), dengan cara mengambil 4 gram kulit buah yang telah dihaluskan dan di masukkan ke dalam erlemeyer 100 mL, kemudian dimaserasi dengan 25 mL metanol teknis lalu di panaskan dalam penangas air selama 15 menit. Campuran tersebut disaring dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 50 mL dan biarkan seluruh metanol menguap hingga kering. Lalu di tambahkan 5 mL kloroform dan 5 mL akuades diaduk secara perlahan, kemudian dipindahkan ke dalam tabung reaksi dan dibiarkan terbentuk dua lapisan. Diambil 2 mL lapisan bagian bawah yang merupakan lapisan air lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan dengan 1 tetes HCl pekat dan 0,2 gram serbuk Mg. Jika sampel mengandung flavonoid maka akan terbentuk warna merah (Adfa, 2005). Prosedur yang sama dilakukan untuk daging buah.

Uji fitokimia kandungan steroid pada kulit buah dan daging buah maja

Untuk menguji kandungan senyawa steroid di gunakan pereaksi warna yang telah lazim digunakan yaitu Lieberman-Burchard dengan cara mengambil 4 gram kulit buah yang telah dihaluskan dan di masukkan ke dalam erlemeyer 100 mL, kemudian dimaserasi dengan 25 mL metanol teknis lalu di panaskan selama 15 menit. Campuran tersebut disaring dan di masukkan ke dalam erlenmeyer 50 mL dan biarkan seluruh metanol menguap hingga kering. Lalu di tambahkan 5 mL kloroform dan 5 mL akuades diaduk secara perlahan, kemudian dipindahkan ke dalam tabung reaksi dan di biarkan terbentuk dua lapisan. Diambil 2 tetes lapisan bagian atas yang merupakan kloroform lalu ditetaskan pada plat tetes dan biarkan hingga kering. Kemudian ditambahkan dengan pereaksi Lieberman-burchard (3 tetes asam asetat anhidrat + 1 tetes asam sulfat pekat). Adanya senyawa steroid ditandai dengan timbulnya warna hijau, atau hijau kebiru-biruan sampai biru seperti biru laut (Suryani, 2001). Prosedur yang sama dilakukan untuk daging buah.

Penentuan banyaknya kandungan flavonoid, alkaloid, steroid dan terpenoid

Dari hasil uji fitokimia kandungan flavonoid, alkaloid, steroid dan terpenoid seperti prosedur (3.3.3, 3.3.4, 3.3.5, dan 3.3.6) diatas, didapatlah uji positif untuk metabolit sekunder tersebut. Penentuan banyaknya kandungan metabolit sekunder dilakukan dengan menggunakan perbandingan. Perbandingan yang digunakan adalah buah mahkota dewa untuk flavonoid, larutan brusin untuk

alkaloid, kolesterol untuk steroid dan biji mahoni untuk terpenoid. Jika sampel yang diuji tidak memperlihatkan perubahan warna maka diberi tanda (-), sedikit warna (+), cukup banyak (++), banyak (+++), dan sangat banyak (++++).

Dari prosedur 3.3.7 diatas, maka dipilih salah satu metabolit sekunder yang mempunyai kadar banyak atau sangat banyak untuk dijadikan sebagai sampel pada uji aktifitas biologis dengan metode BSLT.

Ekstraksi

Daging buah maja dihaluskan dengan cara diblender dan kulit luarnya di parut, kemudian ditimbang sebanyak 1000 gram. Sampel tersebut dimaserasi dengan menggunakan pelarut metanol teknis sampai tiga hari berturut-turut dengan mengganti pelarut setiap harinya. Maserat disaring dan dipekatkan dengan *Rotary Evaporator* untuk menguapkan semua pelarut metanol, sehingga diperoleh ekstrak kental yang akan diuji aktivitas biologisnya.

Uji Aktivitas Biologis

Persiapan hewan uji

Hewan yang digunakan untuk pengujian adalah larva udang laut. Telur udang didapat dari puslit biologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Jakarta. Telur udang di tetaskan dalam wadah yang terdiri dari dua bagian berhubungan (bagian terang dan bagian gelap) yang berisi air laut. Wadah dilengkapi dengan aerasi, dimana bagian yang terang disinari dengan lampu dan bagian gelap di tutup. Telur udang di taburkan ke dalam bagian yang gelap dan biarkan sampai menetas, setelah menetas larva akan pindah dengan sendirinya ke bagian yang terang. Setelah 48 jam baru bisa digunakan sebagai hewan uji (Adfa, 2005).

Uji aktivitas sitotoksik

Disiapkan 6 vial untuk tiga konsentrasi masing-masing larutan uji 1000, 100, 10 mg/L serta satu vial untuk kontrol. Larutan induk dibuat dengan 0,1 g ekstrak daging buah maja ditambahkan dengan satu tetes DMSO ((CH₃)₂SO), kemudian dilarutkan kedalam 100 mL air laut untuk larutan induk 1000 mg/L. Larutan induk kemudian diencerkan menjadi 100 mg/L dan 10 mg/L. Untuk kontrol digunakan pelarut (air laut) yang ditambahkan 1 tetes DMSO. Larva udang sebanyak 10 ekor dimasukkan ke dalam larutan uji dan kontrol, diletakkan di bawah sinar lampu selama 24 jam. Setelah 24 jam diamati dan dihitung jumlah larva udang yang mati dan kemudian dianalisis dengan menggunakan analisis probit dan persamaan regresi linier untuk menentukan LC₅₀ (Arbain dalam Atenza, 2009). Perlakuan yang sama di lakukan untuk ekstrak kulit buah maja.

HASIL PENELITIAN

Uji Aktivitas Biologis Terhadap Ekstrak Daging Buah dan Kulit Buah Maja

Dari hasil uji *Bioassay* dengan menggunakan larva udang laut (Tabel 1) diketahui bahwa nilai LC₅₀ ekstrak daging buah dan kulit buah maja berturut-turut sebesar 47,97 dan 68,07 mg/L. Dari nilai LC₅₀ tersebut diatas, menunjukkan bahwa harga LC₅₀ dari ekstrak sampel < 1000 mg/L dengan kata lain ekstrak tersebut bersifat sitotoksik.

Tabel 1. Hasil pengamatan terhadap kematian larva udang laut, kontrol dan nilai probit dan LC₅₀ ekstrak kulit dan daging buah maja

No sampel	Konsentrasi larutan (mg/L)	Jumlah kematian	Jumlah larva	Persentase kematian (%)		Log kons	Nilai probit	LC ₅₀ (mg/L)
				larva	kontrol			
A	10	6	30	20	0	1	4,16	47,97
	100	11	30	36,7	0	2	4,64	
	1000	28	30	93,3	0	3	6,48	
B	10	4	30	13,3	0	1	3,87	68,07
	100	19	30	63,3	0	2	5,53	
	1000	27	30	90	0	3	6,28	

Uji Fitokimia Metabolit Sekunder

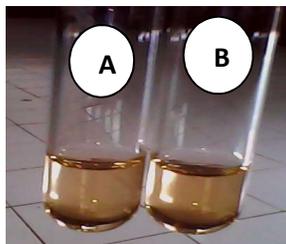
Berdasarkan uji aktifitas biologis (Tabel 1) maka dapat dikatakan bahwa di dalam ekstrak kulit dan daging buah maja mengandung senyawa yang bersifat sitotoksik.

Oleh karena itu, maka dilakukan uji kualitatif metabolit sekunder diantaranya uji flavonoid, alkaloid, steroid, dan terpenoid. Adapun hasil uji pendahuluan senyawa metabolit sekunder terlihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji fitokimia senyawa metabolit sekunder pada daging buah dan kulit buah maja

No	Metabolit Sekunder	Daging Buah	Kulit Buah
1.	Flavonoid	-	-
2.	Alkaloid	-	-
	- Perekasi Mayer	-	-
	- Perekasi Dragendroff	-	+
3.	Steroid	-	-
4.	Terpenoid	-	+

Uji metabolit sekunder jenis alkaloid dengan pereaksi Mayer terhadap ekstrak kulit dan daging buah maja adalah negatif (-), artinya bahwa senyawa metabolit sekunder jenis alkaloid ini tidak terdeteksi oleh pereaksi Mayer. Hasil yang negatif pada pereaksi Mayer terlihat dengan tidak terbentuknya endapan putih seperti terlihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Uji alkaloid untuk pereaksi Mayer

A = larutan uji pada kulit buah setelah ditambah pereaksi
B = larutan uji pada daging buah setelah ditambah pereaksi

Diperkirakan endapan putih yang terbentuk pada pereaksi Mayer adalah kompleks kalium-alkaloid. Pada pembuatan pereaksi Mayer, larutan merkuriem (II) klorida ditambah kalium iodida akan bereaksi membentuk endapan merah merkuriem (II) iodida. Jika kalium iodida yang ditambahkan berlebih maka akan terbentuk kalium tetraiodomerkurat (II). Pada uji alkaloid dengan pereaksi Mayer, diperkirakan nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodomerkurat (II) membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap.

Senyawa metabolit sekunder jenis alkaloid pada pereaksi Mayer hasilnya adalah negatif (-), maka selanjutnya digunakan pereaksi Dragendroff. Hasil uji dengan pereaksi Dragendroff kulit buah maja positif satu (+) (Gambar 2), sedangkan untuk daging buah maja tidak menunjukkan adanya positif alkaloid (Gambar 3).



Gambar 2. Uji pembandingan alkaloid pada kulit buah maja

Ket: : A = larutan pembandingan (Brusin)
B = larutan uji kulit buah maja setelah di tambah pereaksi Dragendroff



Gambar 3. Uji pembandingan alkaloid pada daging buah maja

Ket: : A = larutan pembandingan (Brusin)
B = larutan uji daging buah maja setelah di tambah pereaksi Dragendroff

Uji Terpenoid

Dari Tabel 2 juga terlihat bahwa kulit buah maja memiliki kandungan senyawa terpenoid. Menurut Robinson (1995), uji yang biasa digunakan untuk mendeteksi adanya terpenoid dalam suatu tumbuhan yaitu dengan pereaksi Liebermann-Burchard (Asam asetat anhidrat-asam sulfat pekat).

Hasil positif pada uji terpenoid ditunjukkan dengan memberikan warna merah, merah jambu atau ungu.



Gambar 4. Uji terpenoid pada kulit buah maja



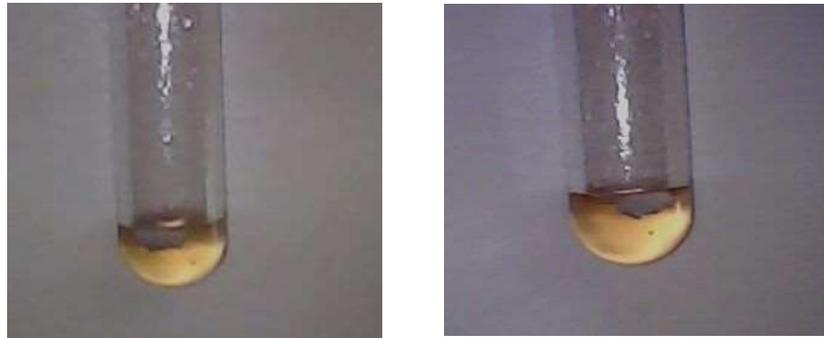
Gambar 5. Larutan pembanding terpenoid (Ekstrak biji mahoni)



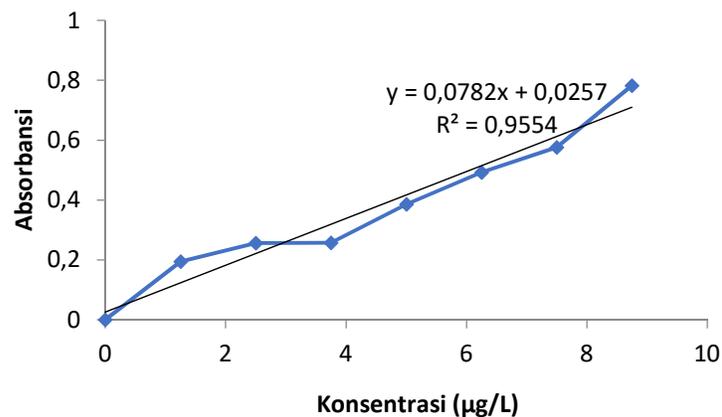
Gambar 6. Uji terpenoid pada daging buah maja

Uji Flavonoid

Uji kualitatif senyawa flavonoid dengan pereaksi *Shinoda Test* pada kulit dan daging buah maja adalah negatif (Gambar 15), sehingga perlu dilakukan uji secara kuantitatif. Uji kuantitatif flavonoid dilakukan dengan menggunakan metode kolorimetri (Cheng *et al.* dalam Primadini, 2010). Untuk menentukan analisa flavonoid total, terlebih dahulu dilakukan pengukuran absorbansi larutan standar quercetin yang akan digunakan sebagai pembanding. Pengukuran absorbansi dilakukan menggunakan spektrometri 20D⁺ dengan serapan maksimum 415 nm.



Gambar 7. Uji flavonoid untuk pereaksi *Shinoda Test*
A = pada kulit buah maja
B = pada daging buah maja



Grafik 8. Kurva kalibrasi *quercetin* pada panjang gelombang 415 nm

Tabel 4. Hasil konsentrasi flavonoid total dari kulit dan daging buah maja

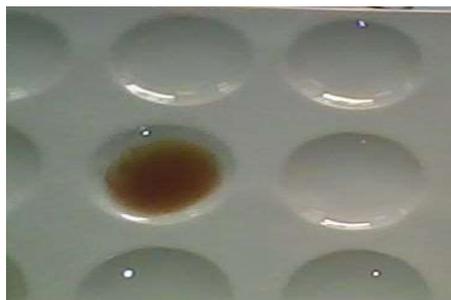
Sampel	Ulangan	A	C($\mu\text{g/L}$)	\bar{C} ($\mu\text{g/L}$)
Daging buah	1	0,197	3.35	3.38
	2	0,198	4.86	
	3	0,213	3.37	
Kulit buah	1	0.193	2.15	2.14
	2	0.185	2.05	
	3	0.193	2.22	

Uji Steroid

Untuk uji kandungan senyawa steroid juga digunakan pereaksi Liebermann-Burchard (asam asetat anhidrat-asam sulfat pekat). Identifikasi senyawa steroid terhadap ekstrak sampel menunjukkan terjadinya perubahan warna hijau, hijau kebiruan, sampai biru seperti biru laut. Hasil penelitian menunjukkan tidak terjadi perubahan warna yang terjadi pada ekstrak sampel kulit dan daging buah maja dan berarti tidak teridentifikasi adanya senyawa steroid pada kulit dan daging buah maja seperti yang terlihat pada Gambar 9 dan 10.



Gambar 9. Uji steroid pada sampel kulit buah maja



Gambar 10. Uji steroid pada sampel kulit buah maja

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Nilai LC₅₀ untuk ekstrak kulit dan daging buah maja berturut-turut adalah 47,97 mg/L dan 68,07 mg/L.
2. Ekstak kulit buah maja mengandung senyawa alkaloid, terpenoid, flavonoid dan ekstrak daging buah maja mengandung senyawa flavonoid dan di duga bersifat sitotoksik terhadap *Artemia salina*.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2010. *Ekplorasi Tumbuhan Dari Hutan Kalimantan Tengah Sebagai Sumber Senyawa Bioaktif*. <http://www.unsjournals.com/D/D0903/D090303.pdf>[15 Des 2010]
- Herbert, R. B. 1995. *Biosintesis metabolit Sekunder, Edisi Kedua*. Semarang : IKIP Semarang Press.
- Nurchayati, S. 2008. *Efektivitas Ekstrak Daun Mojo (aegle marmelos l.) Terhadap Kematian Larva Nyamuk Aedes Aegypti Instar III*. Skripsi. Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.
- Patil, D.N., Kulkarni, A.R., and Patil, B.S. 2010. *Fruit Gum of Aegle marmelos as Pharmaceutical Aid*. International Journal of Pharmacology. India.
- Rajasekaran, C., Kalaivani, T., Ramya, S., and Jayakumararaj, R. 2009. *Studies on Hepatoprotective Activity of Ethanolic Extracts of Fruit pulp of Aegle marmelos (L.)*. Corr. Journal. Sivagangai.
- Suryani, S. 2001. *Studi Senyawa Alkaloid Pada Beberapa Spesies Tanaman Obat Tradisional Di Taman Hutan Rajo Lelo Bengkulu*. Skripsi. FKIP Universitas Bengkulu. Bengkulu.
- Atenza, M. 2009. *Uji Fitokimia Adanya Kandungan Senyawa Flavonoid Dan Triterpenoid Pada Tanaman Sayuran Serta Bioassay Brine Shrimp Menggunakan Artemia Salina Leach*. Skripsi. FMIPA. Universitas Bengkulu. Bengkulu.
- Adfa, M. 2005. *Survey Etnobotani, Studi Senyawa Flavonoid dan Uji Brine Shrimp Beberapa Tumbuhan Obat Tradisional Suku Serawai di Propinsi Bengkulu*. Jurnal Gradient