

Profil Noda Ekstrak Kloroform : Metanol (2:1) dan Aktivitas Bslt Kulit Batang Nyirih (*Xylocarpus Granatum*)

Sumardi¹, Nilsya Febrika Zebua¹, Vriezka Mierza², Reihan Maurani Arafah^{1*}, Qhairunnisa¹, Riska Amalia¹

¹Fakultas Farmasi, Program Studi Farmasi, Universitas Tjut Nyak Dhien

²Fakultas Ilmu Kesehatan, Program Studi Farmasi, Universita Singaperbangsa

Email: mauranireihan@gmail.com

Abstrak– Tumbuhan nyirih (*Xylocarpus granatum*) tumbuh di sepanjang pinggiran laut, dan lingkungan lainnya yang asin. Senyawa kimia yang terkandung dalam kulit Batang nyirih (*Xylocarpus granatum*) diantaranya alkaloid, triterpenoid, steroid, saponin, dan flavonoid. Kandungan senyawa lipid yang tidak tersabunkan dikulit batang nyirih (*Xylocarpus granatum*) belum banyak dilakukan penelitian diantaranya toksisitas terhadap sel. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil noda pada ekstrak kulit batang nyirih (*Xylocarpus granatum*) dan mengetahui toksisitas pada ekstrak Kulit Batang nyirih (*Xylocarpus granatum*). Metode penelitian ini adalah eksperimental yang meliputi pembuatan ekstrak kulit batang nyirih (*Xylocarpus granatum*) menggunakan metode maserasi dengan pelarut kloroform:metanol (2:1). Profil noda ekstrak Kulit Batang Nyirih (*Xylocarpus granatum*) di karakterisasi dengan Kromatografi Lapis Tipis dengan eluen n-Heksana:Etil Asetat (7:3). Ekstrak kulit batang Nyirih (*Xylocarpus granatum*) diuji toksisitasnya dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Simplisia kulit batang Nyirih (*Xylocarpus granatum*) 630 gram menghasilkan ekstrak kental 90 gram dengan persentase rendemen 14,28%. Hasil uji kromatografi lapis tipis didapati profil noda menghasilkan secara visual terdapat 3 noda, sinar UV 254 nm terdapat 5 noda, dan secara sinar UV 366 nm terdapat 4 noda. Nilai LC50 dari ekstrak kloroform:metanol kulit batang nyirih (*Xylocarpus granatum*) dengan menggunakan analisis probit adalah 130,7 µg/ml sehingga di klasifikasikan sebagai toksik dan berpotensi dikembangkan sebagai sitotoksik.

Kata Kunci: Nyirih, Kromatografi Lapis Tipis, *Brine Shrimp Lethality Test*, Profil Noda, Uji Toksisitas

Abstract– Nyirih plants (*Xylocarpus granatum*) grows along the edge of the sea, and in other salty environments. Chemical compounds contained in the bark of the betel nut (*Xylocarpus granatum*) include alkaloids, triterpenoids, steroids, saponins, and flavonoids. The content of lipid compounds in the bark of betel nut (*Xylocarpus granatum*) has not been widely studied, including toxicity to cells. This study aims to determine the profile of stains on the bark extract of nyirih (*Xylocarpus granatum*) and to determine the toxicity of the bark extract of nyirih (*Xylocarpus granatum*). This research method is experimental which includes the manufacture of betel nut bark extract (*Xylocarpus granatum*) using maceration method with Chloroform:Methanol (2:1) solvent. The stain profile of Nyirih Stem Bark (*Xylocarpus granatum*) extract was characterized by Thin Layer Chromatography with n-Hexana:Ethyl Acetate as eluent (7:3). Nyirih Bark Extract (*Xylocarpus granatum*) was tested for toxicity by the *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) method. Nyirih Stem Bark Simplisia (*Xylocarpus granatum*) 630 grams yielded 90 grams thick extract with a yield percentage of 14,28%. The results of the thin layer chromatography test showed that the stain profile visually produced 3 spots, UV 254 nm light had 5 spots, and UV 366 nm light had 4 spots. The LC50 value of coroform:methanol extract of betel nut bark (*Xylocarpus granatum*) using probit analysis was 130,7 µg/ml so it was classified as toxic and has the potential to be developed as cytotoxic.

Keywords: *Xylocarpus granatum*, Thin Layer Chromatography, *Brine Shrimp Lethality Test*, Stain Profil, Toxicity Test

1. PENDAHULUAN

Indonesia terkenal dengan kekayaan alam yang memiliki berbagai jenis tumbuhan yang berkhasiat sebagai obat (Bahriul, 2014). Ekosistem mangrove merupakan salah satu ekosistem pesisir yang memiliki fungsi ekologis dan ekonomis. Fungsi ekologis hutan mangrove antara lain pelindung garis pantai, mencegah intrusi air laut, habitat (tempat tinggal), tempat asuhan dan pembesaran (nursery ground), serta tempat pemijahan (spawning ground) bagi berbagai biota perairan. Sedangkan fungsi ekonominya, antara lain penghasil keperluan rumah tangga, penghasil keperluan industri dan penghasil bibit serta sebagai bahan baku obat-obatan (Suryono, 2013).

Salah satu tanaman yang bisa digunakan oleh masyarakat sebagai obat adalah *Xylocarpus granatum* (Sapitri, 2018). Kulit batang dan buah *Xylocarpus granatum* digunakan sebagai obat tradisional yaitu dapat memulihkan stamina ibu melahirkan, sakit perut, dan liver badak (Abubakar, dkk., 2019). Tumbuhan *Xylocarpus granatum* ini tumbuh sepanjang pingiran sungai pasang surut, pingir daratan dari mangrove dan lingkungan air laut yang asin (Riduan, 2018). Kandungan kimia yang terdapat pada tumbuhan *Xylocarpus granatum* termasuk diantaranya alkaloid, triterpenoid, steroid, saponin, flavonoid (Gazali et al., 2014).

Profil noda analisis KLT pada ekstrak kloroform:metanol (2:1) kulit batang nyirih (*Xylocarpus granatum*), dilakukan dengan menggunakan kromatografi lapis tipis. Kromatografi lapis tipis adalah salah satu metode pemisahan kromatografi yang fleksibel dan banyak digunakan. Metode analisis kromatografi lapis tipis (KLT) bagian dari teknik analisis rutin pada laboratorium analisis dan pengembangan produk karena memiliki beberapa keuntungan. Keuntungan utama metode analisis kromatografi lapis tipis dibandingkan metode analisis kromatografi cair kinerja tinggi adalah analisis beberapa sampel dapat dilakukan secara stimulan dengan menggunakan fase gerak alam jumlah kecil sehingga lebih hemat waktu dan biaya analisis serta lebih ramah lingkungan. Teknik pemisahannya sederhana dengan peralatan yang minimal (Lesty, W., 2016).

Sebagai uji awal untuk mengetahui sifat toksisitas ekstrak kloroform : metanol (2:1) kulit batang nyirih (*Xylocarpus granatum*), dilakukan uji toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). BSLT adalah suatu metode uji toksisitas akut yang sederhana, mudah pengerjaannya, cepat mendapatkan hasil, dan mudah dalam

pelaksanaannya. Selain itu, BSLT merupakan suatu *biossay-guided fractionation* yang dapat digunakan untuk penelusuran senyawa bioaktif yang bersifat toksik dari suatu bahan alam (Nurul khafidz, 2014).

Metode BSLT menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach sebagai hewan uji coba. *Artemia salina* Leach merupakan organisme yang mempunyai kepekaan cukup tinggi terhadap toksik. Uji toksisitas dengan menggunakan metode BSLT dimaksudkan untuk menentukan potensial suatu senyawa sebagai racun dengan mengetahui tingkat toksisitas dari suatu ekstrak, seperti ekstrak mangrove (Marina, 2018).

LC50 didefinisikan sebagai dosis atau konsentrasi yang diberikan sekali (tunggal) atau beberapa kali dalam 24 jam dari suatu zat yang secara statistik diharapkan dapat mematikan 50% hewan coba. Parameter ini sering digunakan jika suatu organisme dipaparkan terhadap konsentrasi bahan tertentu dalam air atau udara. Uji toksisitas akut seringkali disebut sebagai uji jangka pendek. Uji ini terdiri atas beberapa tes, yaitu uji dosis respon untuk mencari LC50 dan kemungkinan berbagai kerusakan organ, uji iritasi mata dan kulit, serta skrining pertama terhadap mutagenesis (Soemirat, 2017). Berdasarkan uraian diatas maka penulis melakukan penelitian profil noda ekstrak kloroform : metanol (2:1) dan aktivitas bioassay brine shrimp lethality test kulit batang nyirih (*Xylocarpus granatum*).

2. METODOLOGI PENELITIAN

2.1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat-alat gelas laboratorium (*pyrex*[®]), aquarium, cawan penguap (*pyrex*[®]), lampu pijar (*philips*[®]), kaca pembesar (*joyko*[®]), lemari pendingin, lumpang dan stamper, pipa kapiler, timbangan digital (*digipounds*[®]), timbangan kilogram (*kenmaster*[®]), wadah plastik, water bath (*E-Scientific Labs*[®]). Bahan kimia yang digunakan di penelitian ini adalah akuades, etil asetat (*Merck*[®]), kloroform (*Merck*[®]), metanol (*Merck*[®]), n-heksana (*Merck*[®]), twen80 (*Merck*[®]), silika gel 60 F254 (*Merck*[®]), span80 (*Merck*[®]), Bahan uji kulit batang nyirih (*Xylocarpus granatum*), dan *Artemia salina* Leach, paracetamol 500 mg (*Merck*[®]).

2.2. Ekstraksi kulit batang nyirih dengan Kloroform : Metanol (2:1)

Sebanyak 630 g serbuk kulit batang nyirih (*Xylocarpus granatum*) dimaserasi dengan cara memasukkan serbuk simplisia (630g) kedalam sebuah bejana, tuangkan 700 ml metanol dan 1,4 L kloroform lalu ditutup. Biarkan selama 3 x24 jam terlindung dari cahaya sesekali diaduk, disaring, diperas cuci ampas dengan cairan penyari, sehingga diperoleh filtrat 830 ml selanjutnya di uapkan sampai diperoleh ekstrak kental (Handayani, dkk., 2014).

2.3. Kromatografi lapis tipis pada ekstrak Kloroform : Metanol (2:1) kulit batang nyirih (*Xylocarpus granatum*)

Pengujian (*Xylocarpus granatum*) dengan menggunakan fase diam silika gel 1 cm x 10 cm dengan fase gerak berupa n-heksana:etil asetat (7:3) dengan total volume 2 ml campuran, dengan mencampur larutan n-heksana sebanyak 1,4 ml dan larutan etil asetat sebanyak 0,6 ml, kedalam chamber dimasukkan fase gerak dan kertas saring yang telah dipotong persegi panjang, lalu ditutup dan dibiarkan sampai jenuh, ekstrak cortex ditotolkan dengan pipet mikrokapiler pada Plat KLT dengan jarak 1 cm dari bagian bawah plat dan jarak antar noda 1 cm bagian atas lalu biarkan hingga kering. Setelah chamber jenuh plat KLT dimasukkan kedalam chamber/wadah kaca tertutup dan diamati, pelarut dibiarkan berambat sampai batas atas. Setelah mencapai jarak batas atas plat KLT dikeluarkan dan dikeringkan. Lalu dilihat dibawah sinar ultraviolet 245 nm, dan sinar ultraviolet 366 nm, hitung nilai faktor retensi disetiap noda yang ada pada plat silika gel. kromatografi lapis tipis dilakukan pada ekstrak kloroform : metanol, ekstrak kulit batang nyirih.

2.4 Uji toksisitas

2.4.1 Penyiapan larva *Artemia salina* Leach

Wadah kaca berbentuk kotak, disiapkan untuk penetasan telur udang. Wadah dibagi menjadi dua sisi, yaitu sisi terang dan sisi gelap. Air laut sebanyak 1.200 ml dengan pH 7,3, dimasukkan kedalam wadah kaca. Kemudian salah satu sisi tersebut diberi penerangan dengan cahaya lampu pijar untuk menghangatkan suhu dalam wadah penetasan dan merangsang proses penetasan. Untuk penerangan, lampu dinyalakan selama 24 jam agar telur menetas. Sisi yang gelap di tutup dengan *aluminium foil* dan lakban agar tidak terkena cahaya lampu diisi dengan 100 mg serbuk *Artemia salina* Leach, ph yang diperoleh 7,8 lalu didiamkan selama 1x24 jam, amati perubahan yang terjadi selama 1x24 jam.

Setelah 24 jam, telur akan menetas menjadi larva dan akan bergerak menuju sisi terang. Setelah 24 jam kemudian. Larva yang digunakan untuk hewan uji pada metode BSLT adalah larva yang sudah berumur 48 jam, aktif bergerak dan bersifat fototropik.

2.4.2 Pembuatan konsentrasi ekstrak dan paracetamol yang diuji

Dalam pembuatan konsentrasi ekstrak yang efektif untuk membunuh larva *Artemia salina* Leach, dilakukan orientasi dengan konsentrasi ekstrak sebesar 1%, 0,5%, 0,25%, 0,125%, 0,0625%, 0,03125%, dan konsentrasi paracetamol sebesar 5%, 2%, 1%. Bersihkan lumpang dan stamper, Masukkan tween80 sebanyak 0,5 g kedalam lumpang + etanol 5 tetes gerus homogen, Masukkan span80 sebanyak 1g kedalam lumpang gerus homogen, kemudian campurkan ekstrak ke dalam fase emulsi gerus sampai homogen, tambahkan sedikit demisedikit air laut sampai terbentuk emulsi, selanjut nya emulsi dimasukkan ke dalam labu tentukur 100 ml larutan dengan konsentrasi 1%, konsentrasi ini yang digunakan sebagai larutan

induk, Kemudian membuat larutan ekstrak uji dengan konsentrasi 0,5%, 0,25%,0,125%, 0,0625, 0,0312% dengan menggunakan rumus pengenceran :

$$V1M1 = V2M2 \quad (1)$$

Keterangan :

V1 = Volume awal

M1 = Konsentrasi awal

V2 = Volume akhir.

M2 = Konsentrasi akhir

Bersihkan lumpang dan stamper, Masukkan tween80 sebanyak 0,5 g kedalam lumpang + etanol 5 tetes gerus homogen, Masukkan span80 sebanyak 1g kedalam lumpang gerus homogen, kemudian campurkan serbuk paracetamol kedalam fase emulsi gerus sampai homogen, tambahkan sedikit-demi sedikit air laut sampai terbentuk emulsi, selanjut nya emulsi dimasukkan ke dalam labu tentukur 100 ml larutan dengan konsentrasi 5%, konsentrasi ini yang digunakan sebagai larutan induk, Kemudian membuat larutan ekstrak uji dengan konsentrasi Dan larutan paracetamol uji dengan konsentrasi 2%, 1% dengan menggunakan rumus pengenceran :

$$V1M1 = V2M2 \quad (2)$$

Keterangan :

V1 = Volume awal

M1 = Konsentrasi awal

V2 = Volume akhir

M2 = Konsentrasi akhir

Pada uji BSLT tiap konsentrasi dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan pada blanko dan paracetamol dengan konsentrasi parasetamol yaitu 1%, 2% dan 5%. Sedangkan pada ekstrak kulit batang nyirih (*Xylacorus granatum*) dilakukan sebanyak 6 kali pengulangan pada masing-masing konsentrasi yaitu 1%, 0,5%, 0,25%, 0,125%, 0,0625% dan 0,03125%. Sebagian larva *Artemia salina* Leach berumur 48 jam dan masih bergerak aktif dipindahkan ke cawan petri. Pada masing-masing wadah, dimasukkan 10 larva udang menggunakan pipet tetes dan dicampur 1 ml air laut dengan pH 7,3.

Setelah itu, pada tiap wadah dimasukkan sebanyak 5 ml masing-masing konsentasi kecuali pada kontrol negatif, emulsi tanpa ekstrak, dan paracetamol. Sehingga volume dalam 1 wadah menjadi 6 ml yaitu 5 ml formulasi ekstrak dan 1 ml air laut. Wadah dibiarkan di udara terbuka selama 24 jam. Dan dihitung jumlah larva yang masih hidup pada masing-masing wadah pada 1 jam sekali. Kriteria untuk mengukur kematian larva udang yaitu apabila larva *Artemia salina* Leach tidak ada menunjukkan pergerakan.

Perhitungan secara manual yaitu dengan mengamati larva di dalam wadah dengan bantuan lup, kemudian diamati dengan bantuan cahaya. Jumlah larva yang mati dihitung dengan mengurangi jumlah total larva pada tiap konsentrasi dengan jumlah yang masih hidup.

2.4.3 Pengolahan dan Analisis Data

Pengamatan dilakukan dengan menghitung persentase kematian (mortalitas) larva *Artemia salina* Leach pada tiap konsentrasi. Hasil perhitungan konsentrasi kematian diperoleh dari hasil perkalian rasio dengan 100% untuk tiap konsentrasi. Setelah itu dibandingkan dengan kontrol negatif dan dilakukan analisis sehingga didapatkan nilai LC50. Dengan menggunakan metode analisis probit manual, maka dapat diketahui nilai probit dengan mengkonversi nilai kematian larva pada tiap konsentrasi ke nilai probit.

$$\text{Persentase kematian} = \frac{\text{jumlah larva mati}}{\text{jumlah larva total awal}} \times 100 \% \quad (1)$$

Setelah mendapatkan persentase kematian, nilai probit dari tiap kelompok hewan uji ditentukan melalui tabel probit. Kemudian menentukan lagi nilai log konsentrasi dan dibuat grafik dengan persamaan garis lurus hubungan antara nilai probit dengan log konsentrasi dengan rumus $y=aX+b$.

Nilai slope (a) dihitung dengan rumus (Nur zaki, 2015) :

$$\frac{\Sigma(X)\Sigma(y) - n\Sigma(XY)}{(\Sigma(X))^2 - n\Sigma(X)^2} \quad (1)$$

Nilai intersep (b) dihitung dengan rumus (Nur zaki, 2015) :

$$\frac{\Sigma(X)\Sigma(XY) - \Sigma(X)^2\Sigma(Y)}{(\Sigma(X))^2 - n\Sigma(X)^2} \quad (2)$$

Metode analisis dapat pula menggunakan *Microsoft Office Excel* dengan membuat grafik persamaan garis lurus hubungan antara nilai probit dengan log konsentrasi. Nilai LC50 dapat dihitung dengan persamaan garis lurus tersebut dengan memasukkan nilai 5 (probit 50% kematian hewan uji) sebagai y sehingga dihasilkan x sebagai nilai log konsentrasi. Antilog nilai x tersebut merupakan nilai LC50.

Sumber : Mayer, et al., 2015

Tabel 1. Kategori Nilai LC50

Kategori	Nilai LC50 µg/ml
Sangat toksik	< 30
Toksik	30 – 1000
Tidak toksik	> 1000

2.4.4. Uji toksisitas dengan menggunakan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)

2.4.4.1. Penyiapan larva *Artemia salina* Leach

Wadah kaca berbentuk kotak, disiapkan untuk penetasan telur udang. Wadah dibagi menjadi dua sisi, yaitu sisi terang dan sisi gelap. Air laut sebanyak 1.200 ml dengan pH 7,3, dimasukkan ke dalam wadah kaca. Kemudian salah satu sisi tersebut diberi penerangan dengan cahaya lampu pijar untuk menghangatkan suhu dalam wadah penetasan dan merangsang proses penetasan. Untuk penerangan, lampu dinyalakan selama 24 jam agar telur menetas. Sisi yang gelap di tutup dengan *aluminium foil* dan lakban agar tidak terkena cahaya lampu diisi dengan 100 mg serbuk *Artemia salina* Leach, pH yang diperoleh 7,8 lalu dibiarkan selama 1x24 jam, amati perubahan yang terjadi selama 1x24 jam. Setelah 24 jam, telur akan menetas menjadi larva dan akan bergerak menuju sisi terang. Setelah 24 jam kemudian. Larva yang digunakan untuk hewan uji pada metode BSLT adalah larva yang sudah berumur 48 jam, aktif bergerak dan bersifat fototropik.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Hasil Ekstrak Kloroform : Metanol (2:1) Kulit Batang Nyirih (*Xylocarpus granatum*)

Hasil ekstraksi kulit batang nyirih (*Xylocarpus granatum*) dengan pelarut kloroform:metanol (2:1) diperoleh ekstrak sebesar 90 g. Ekstraksi simplisia dilakukan dengan prosedur maserasi, metode maserasi lebih mudah dalam pelaksanaannya dan tidak memerlukan peralatan yang spesifik. Serbuk kulit batang nyirih (*Xylocarpus granatum*) sebanyak 630 g dilakukan maserasi dengan pelarut kloroform:metanol (2:1) selama 3x24 jam sehingga diperoleh ekstrak maserat sejumlah 850 ml, ekstrak maserat diuapkan diatas penangas air maka diperoleh ekstrak kental kulit batang nyirih (*Xylocarpus granatum*) sejumlah 90 gram. Hasil Ekstraksi Kulit Batang Nyirih (*Xylocarpus Granatum*) dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Ekstraksi Kulit Batang Nyirih (*Xylocarpus granatum*)

Nama simplisia	Berat Ekstrak Kental
<i>Xylocarpus granatum</i>	90 gram

Nilai rendemen ekstrak kloroform:metanol Berat simplisia : 630 gram
 Berat ekstrak kloroform:metanol : 90 gram

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak metanol}}{\text{berat simplisia}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen} = \frac{90\text{gram}}{630\text{ gram}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen} = 14,28\%$$

3.2. Hasil Pemeriksaan Lapis Tipis

Hasil yang didapatkan dari uji kromatografi lapis tipis (KLT) ekstrak kloroform:metanol (2:1) kulit batang nyirih (*Xylocarpus granatum*) fase diam yang digunakan dalam penelitian ini adalah silika gel 6 F254 dan fase gerak yang digunakan adalah n-heksana dan etil asetat dengan perbandingan (7:3).

Tabel 3. Hasil Pengujian Senyawa KLT Menggunakan Fase Gerak n-heksana : etil Asetat (7:3) Secara Visual

Sampel	Perbandingan fase gerak	Warna	Nilai RF
Ekstrak Kloroform :	(7:3)	Hijau	0,97
Metanol (2:1) (<i>Xylocarpus granatum</i>)		Hijau kekuningan	0,96
		Kuning	0,93

Tabel 4. Hasil Pengujian Senyawa KLT Menggunakan Fase Gerak n-heksana : etil Asetat (7:3) Secara Visual

Sampel	Perbandingan fase gerak	Warna	Nilai RF
Ekstrak Kloroform : Metanol (2:1) (<i>Xylocarpus granatum</i>)	(7:3)	Hijau	0,97
		Hijau	0,96
		kekuningan	0,93
		Kuning	

Tabel 5. Hasil Pengujian Senyawa KLT Menggunakan Fase Gerak n-heksana : etil Asetat (7:3) Secara Sinar UV 366 nm

Sampel	Perbandingan fase gerak	Warna	Nilai RF
Ekstrak Kloroform :	(7:3)	Hijau	0,97
Metanol (2:1) (<i>Xylocarpus granatum</i>)		Hijau kekuningan	0,96
		Kuning	0,93
		Biru muda	0,81

Semakin besar nilai Rf dari suatu sampel maka semakin besar pula jarak Bergeraknya senyawa tersebut pada plat kromatografi lapis tipis. Saat membandingkan dua sampel yang berbeda di bawah kondisi kromatografi yang sama. Nilai Rf dapat dijadikan bukti dalam mengidentifikasi nilai Rf memiliki nilai yang sama maka senyawa tersebut dapat dinyatakan memiliki karakteristik yang sama atau mirip, sedangkan bila nilai Rf nya berbeda, senyawa tersebut dapat dikatakan merupakan senyawa yang berbeda. Nilai RF berjangka antara 0,00-1,00 dan hanya dapat ditentukan dua desimal. Harga RF dipengaruhi oleh struktur kimia dari senyawa yang sedang dipisahkan, sifat dari penyerap, jenis eluen dan jumlah cuplikan (Fitria, 2015).

3.3. Hasil Uji Toksisitas Dengan Metode BSLT

Kulit Batang Nyirih (*Xylocarpus granatum*) yang sudah melalui proses ekstraksi dengan pelarut kloroform:metanol (2:1) siap digunakan dengan uji BSLT. BSLT sebagai uji untuk mengetahui kadar toksisitas ekstrak kloroform:metanol (2:1) Kulit Batang Nyirih (*Xylocarpus granatum*). Uji toksisitas dengan metode BSLT dalam pengerjaan lebih mudah, cepat mendapatkan hasil, dan biaya yang murah. Larutan ekstrak kloroform:metanol (2:1) Kulit Batang Nyirih (*Xylocarpus granatum*) dibuat menjadi 6 konsentrasi, yaitu konsentrasi 1%, 0,5%, 0,25%, 0,125%, 0,0625%, 0,03125% dan konsentrasi parasetamol yaitu 5%, 2%, 1%, dengan ditambah kontrol negatif yang hanya berisi air laut dan larva udang. Kontrol negatif dilakukan untuk mengetahui pengaruh air laut maupun faktor lain terhadap kematian larva. Sehingga kematian larva dapat dipastikan karena efek dari ekstrak yang ditambahkan.

Uji BSLT ini dapat dilakukan masing-masing sebanyak 6 kali perlakuan dan dikerjakan 6 kali pengulangan untuk memperoleh keakuratan data dan mengurangi kesalahan dalam penelitian. Pada uji BSLT memerlukan larva *Artemia salina* Leach yang diperoleh dengan cara penetasan telur *Artemia salina* Leach. Penetasan dapat dilakukan dalam wadah kaca yang berbentuk kotak menggunakan media air laut yang terbagi menjadi bagian terang dan bagian gelap. Pada bagian gelap dimasukkan telur *Artemia salina* Leach. Selama proses penetasan, larva akan berpindah ke daerah yang terang. pada bagian terang diberikan penerangan cahaya lampu sebesar 50 watt dengan suhu berkisar 25-30°C.

Setelah melalui proses penetasan selama 24 jam, telur berubah menjadi larva dengan nama lain *nauplii*. Pada fase *nauplii* ini terjadi fase paling aktif membelah secara mitosis. Larva yang digunakan sebanyak 10 ekor untuk setiap perlakuan konsentrasi ekstrak dengan penambahan kontrol negatif dan pengulangan sebanyak 6 kali untuk masing-masing perlakuan sehingga jumlah larva *Artemia salina* Leach seluruhnya berjumlah ±510 ekor larva. Perlakuan terhadap hewan uji dilakukan dengan 6 konsentrasi ekstrak yaitu 1 %, 0,5%, 0,25%, 0,125%, 0,0625%, 0,03125%, dan konsentrasi parasetamol yaitu 5%, 2%, 1%, disertai 1 kontrol negatif yang hanya berisi air laut bersama dengan 10 ekor larva udang. Pengamatan dilakukan 24 jam setelah perlakuan konsentrasi ekstrak. Perhitungan kematian larva dilakukan dengan cara

mengamati pergerakan larva. Kematian larva dihitung jika tidak ada pergerakan pada larva tersebut. Berikut ini hasil uji toksisitas akut dengan metode BSLT dari ekstrak kloroform:metanol kulit batang nyirih (*Xylocarpus granatum*).

Total kematian dihitung dengan menjumlahkan larva yang mati pada setiap konsentrasi. Rata rata kematian larva diperoleh dari total kematian larva pada tiap konsentrasi dibagi dengan jumlah total larva awal pada konsentrasi yang sama. Perhitungan persentase kematian larva pada setiap konsentrasi diperoleh dengan cara rata-rata kematian tiap konsentrasi dikali 100%

Tabel 6. Pengaruh berbagai konsentrasi paracetamol, blanko dan air laut terhadap larva *Artemmia salina* Leach

Wadah	Angka kematian larva artemia dari 10 larva			Blanko	Air laut
	Konsentrasi paracetamol pada wadah %				
	5%	2%	1%		
1	10	10	10	1	0
2	10	10	10	0	0
3	10	10	10	1	0
TOTAL	30	30	30	1	0
RATA RATA KEMATIAN	1	1	1	0,033	0
% KEMATIAN	100%	100%	100%	0,033%	0,00%

Tabel 7. Pengaruh Berbagai Konsentrasi Ekstrak Kloroform : Metanol (2:1) *Xylocarpus granatum* Terhadap Larva *Artemia salina* Leach.

Wadah	Angka kematian larva artemia dari 10 larva					
	Konsentrasi Ekstrak pada wadah (%)					
	1%	0,5%	0,25%	0,125%	0,0625%	0,03125%
1	10	8	5	4	3	2
2	10	9	5	4	4	2
3	9	8	6	4	4	3
4	8	8	5	3	4	2
5	10	8	6	4	5	3
6	10	8	5	4	2	2
Total	57	49	32	23	22	14
Rata – rata kematian	0.95	0.81	0.53	0.38	0.36	0.23
% kematian	95.00%	81.67%	53.33%	38.33%	36.67%	23.33%

4. KESIMPULAN

Hasil uji kromatografi lapis tipis maka didapati profil noda menghasilkan secara visual terdapat 3 noda, sinar UV 254 nm terdapat 5 noda, dan secara sinar UV 366 nm terdapat 4 noda pada ekstrak kloroform:metanol (2:1) kulit batang nyirih (*Xylocarpus granatum*). Hasil perhitungan nilai LC50 dari ekstrak kloroform:metanol kulit batang nyirih (*Xylocarpus granatum*) dengan menggunakan analisis probit adalah 3,116 ppm diklasifikasikan sebagai sangat toksik

DAFTAR PUSTAKA

- Abubakar, S., Kadir, M. A., Eko S., Akbar, W. N. 2019. Manfaat Mangrove Bagi Peruntukan Sediaan Farmasetika Di Desa Mamuya Kecamatan Galela Timur Kabupaten Halmahera Timur (Tinjauan *Etnofarmakologis*). *Jurnal Enggano*, 4(1): 17.
- Bahriul, P. U. A. A. E. D. S. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Dengan Metode DPPH. *Jurnal Akademika Kimia*, 3(3), 368–374.
- Fitria, R. 2015. Optimasi penggunaan kromatografi lapis tipis (KLT) pada pemisahan senyawa alkaloid daun pulai (*Alstonia scholaris* L.). *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Halaman 20-28.
- Gazali, M., Zamani, N. P., Batubara, I., Pascasarjana, S., Studi, P., Kelautan, I., Perikanan, F., Bogor, P., & Agatis, J. 2014. Potensi limbah kulit buah Nyirih *Xylocarpus granatum* sebagai inhibitor *tyrosinase* *Potency of waste fruit peel of Xylocarpus granatum as a tyrosinase inhibitor*. 3(3): 1-3.
- Handayani, V., Ahmad, A.R., Sudir, M. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga Dan Daun Patikala (*Etilingera Elatior* (Jack) R.M.sm) Menggunakan Metode Dpph. *Jurnal pharm Sci Res*. 1(2): 87-88.
- Hasanah, Uswatun dan Wijayanti, Ernani Dyah. 2019. *Toksitas Akut Kombucha Daun Tin (Ficus carica) Berdasarkan Nilai Lc50 Terhadap Larva Udang (Artemia salina)*. Thesis, Malang. Akademi Farmasi Putera Indonesia. Halaman 26.
- Iswono, S., Eko, H. 2017. Buku panduan praktikum mikrobiologi tumbuhan. Fakultas Kesehatan Program Studi Kesehatan Lingkungan. Malang. Wetlands international. Halaman 71.
- Kanwar, A.S. 2007. *Brine Shrimp (Artemia salina) a Marine Animal for Simple and Rapid Biological Assays*. Chinese Clinical Medicine. 2 (4): 35-42
- Lesty W 2011. *Kromatografi Lapis Tipis*. In Pt. Tanaman Kampus Presindo, jember. Halaman.1-7.
- Marina, 2018 *Mangrove avicennia Di Indonesia*. Bogor. Cetakan Ulang Ketiga, Halaman.134-135.

- Nurul khafidz. 2014. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Daun Laban Abang (*Aglaia elliptica BLUME*) terhadap larva udang (*Artemia salina* Leach) dengan metode BSLT. Skripsi. Fakultas kedokteran dan ilmu kesehatan Universitas Islam Negeri Halaman.2
- Nur zaki hanifah 2015. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Daun Sirsak (*Annona muricata L*) terhadap larva artemia salina Leach dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT), *Skripsi* Fakultas kedokteran dan ilmu kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Puspitasari, E., & Hendri, M. 2018. *Uji Toksisitas dengan Menggunakan Metode Brine Shrimp Lethality Test* (Bslt). 18(1).
- Riduan T, Yus Rusila Noor, M. Khazali, I N.N. Suryadiputra. 2018. *Panduan Pengenalan Mangrove Indonesia*. Edisi 1. Bogor: Wetlands international. Halaman 136.
- Sapitri, E.W. 2018. Optimasi Ekstraksi Batang *Xylocarpus granatum* sebagai antioksidan dan Antiglikasi. *Skripsi*. Bogor: Departemen Kimia Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian. Halaman 1.
- Soemirat, J. 2017. *Toksikologi Lingkungan*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press. Halaman 35-41.
- Suryono, A. 2013. *Sukses Usaha Pembibitan Mangrove Sang Penyelamat Laut*. Yogyakarta. Penerbit Pustaka Baru Press.