

## Selektivitas fraksi $R_f < 0,5$ ekstrak etil asetat (EtOAc) biji putat air (*Barringtonia racemosa*) terhadap keong mas (*Pomacea canaliculata*) dan ikan lele lokal (*Clarias batrachus*)

### *The selectivity of fraction $R_f < 0.5$ of ethyl acetate extract (EtOAc) of putat air kernel (*Barringtonia racemosa*) on golden apple snail (*Pomacea canaliculata*) and local catfish (*Clarias batrachus*)*

Musri Musman<sup>1\*</sup>, Sofia<sup>2</sup>, Viqqi Kurnianda<sup>1</sup>

Ilmu Kelautan, Koordinator Kelautan dan Perikanan, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh 23111; Fakultas Kedokteran, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh 23111. Email korespondensi: ulonmus@yahoo.com

**Abstract.** Research to determine the selectivity of fraction  $R_f < 0.5$  of ethyl acetate extract (EtOAc) of putat air kernel (*Barringtonia racemosa*) on golden apple snail (*Pomacea canaliculata*) and local catfish (*Clarias batrachus*) was conducted in February 2012 at the Laboratory of Chemistry of Teacher Training and Education Faculty and Laboratory of Marine Chemistry of Coordinatorate of Marine and Fisheries of Syiah Kuala University. Thin-layer chromatography was used to separate components in the extract samples, and testing of biological activity based on the procedures recommended by FAO. Golden apple snail and local catfish mortality data were analyzed using Probit program, and value of selectivity (S) was processed according to the Wang and Feng's formula. The values of  $LC_{50}$  of the fraction  $R_f < 0.5$  were 29.26 ppm for *P. canaliculata* and 44.47 ppm for *C. batracus*. The selectivity value for the tested organisms was 1.51. This study revealed that the tested extract has bioactive property as molluscicide of *P. canaliculata*.

**Key words:** Biological activity, thin-layer chromatography, mortality, bioactive property, molluscicide,  $LC_{50}$ .

**Abstrak.** Penelitian untuk mengetahui selektivitas fraksi  $R_f < 0,5$  ekstrak EtOAc biji putat air (*Barringtonia racemosa*) terhadap keong mas (*Pomacea canaliculata*) dan lele lokal (*Clarias batrachus*) telah dilakukan pada bulan Februari 2012 di Laboratorium Kimia Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan dan Laboratorium Kimia Laut Koordinator Kelautan dan Perikanan Universitas Syiah Kuala. Kromatografi lapis tipis digunakan sebagai teknik pemisahan komponen senyawaan dalam ekstrak cuplikan, dan pengujian keaktifan biologi didasarkan pada kaedah yang dianjurkan oleh FAO. Data mortalitas keong mas dan lele lokal yang diperoleh karena pemberian fraksi  $R_f < 0,5$  ekstrak EtOAc biji *B. racemosa* dianalisa dengan program Probit, dan harga selektivitas (S) diolah berdasarkan formula Feng dan Wang. Harga  $LC_{50}$  fraksi  $R_f < 0,5$  ekstrak EtOAc biji *B. racemosa* terhadap *P. canaliculata* dan *C. batracus* masing-masing adalah 29,26 ppm dan 44,47 ppm. Nilai selektivitas fraksi  $R_f < 0,5$  ekstrak EtOAc biji *B. racemosa* terhadap organisme uji adalah 1.51. Penelitian ini menunjukkan bahwa fraksi  $R_f < 0,5$  ekstrak EtOAc biji putat air memiliki bioaktif sebagai moluskosida keong mas.

**Kata kunci:** Keaktifan biologi, kromatografi lapis tipis, mortalitas, bioaktif, moluskosida,  $LC_{50}$ .

## Pendahuluan

Musman *et al.* (2012) melaporkan bahwa ekstrak EtOAc biji putat air menunjukkan selektivitas racun terhadap keong mas (*Pomacea canaliculata*). Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan terhadap bahan alam ekstrak EtOAc yang berpotensi sebagai moluskosida keong mas. Kajian ini berdasarkan dari fakta bahwa ekstrak EtOAc terdiri atas campuran bahan alam yang memiliki sifat kutub dan tankutub. Campuran bahan alam tersebut dapat dipisah-pisahkan menjadi fraksi kutub dan fraksi tankutub. Salah satu cara pemisahan dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis.

Pada pemisahan kromatografi lapis tipis, ekstrak EtOAc diaplikasikan pada fasa diam silika gel dan dibawa oleh pelarut sebagai fasa gerak. Berdasarkan berat molekul, ekstrak EtOAc terpisah-pisah menjadi fraksi-fraksi oleh daya gerak pelarut yang digunakan. Keterpisahan fraksi-fraksi dimaksud dihitung berdasarkan harga faktor retardasinya dalam rentang  $0 \leq R_f \leq 1$ . Harga  $R_f$  rendah menunjukkan fraksi berafinitas besar atau fraksi kutub, dan sebaliknya harga  $R_f$  tinggi menunjukkan fraksi berafinitas kecil atau fraksi tankutub. Dalam penelitian ini, fraksi-fraksi yang memiliki  $R_f < 0,5$  diakumulasi sebagai fraksi kutub dari ekstrak EtOAc.

Keong mas dan lele lokal merupakan biota air tawar yang dapat hidup bersama-sama dalam suatu ekosistem misalnya di sawah. Oleh karena itu, perlu dikaji apakah pemberian fraksi  $R_f < 0,5$  dari ekstrak EtOAc *B. racemosa* terhadap keong mas sebagai organisme sasaran memberikan pengaruh merugikan bagi lele lokal yang merupakan organisme bukan sasaran dalam pengendalian hama padi di sawah.

Suripto (2009) menyatakan bahwa untuk menilai kualitas suatu pestisida bukan saja ditentukan oleh toksisitasnya terhadap organisme sasaran, tetapi juga perbandingan toksisitas terhadap organisme lain yang bukan sasaran. Terkait penelitian ini, fraksi-fraksi  $R_f < 0,5$  dari ekstrak EtOAc *B. racemosa* akan diuji selektivitas racunnya terhadap keong mas dan lele lokal.

## Bahan dan Metode

### Lokasi dan waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari 2012 di Laboratorium Kimia FKIP Universitas Syiah Kuala dan Laboratorium Kimia Laut Koordinator Kelautan dan Perikanan Universitas Syiah Kuala.

### Ekstraksi dan fraksinasi

Pemisahan komponen ber- $R_f < 0,5$  dari ekstrak sampel dilakukan sebagai berikut. Ekstrak EtOAc dari biji *B. racemosa* sebanyak 1,89 g dihidrolisa dengan menggunakan prosedur Wang *et al.* (2011). Hasil hidrolisa dipisahkan atas lapisan kloroform dan air. Lapisan kloroform dikeringkan dengan pengawa putar dan diperoleh residu sebanyak 0,5g (dinyatakan sebagai A). Residu ini selanjutnya difraksinasi dengan kromatografi lapis tipis Si60 (Merck Kieselgel 60F<sub>254</sub>, 20 x 20 cm) dengan pengembang diklorometana. Komponen ber- $R_f < 0,5$  dikerok dan diekstraksi dengan EtOAc, dan diperoleh residu sebanyak 0,22g (dinyatakan sebagai B).

### Organisme uji

Organisme yang digunakan untuk uji selektivitas ini adalah keong mas (*Pomacea canaliculata*) yang dikumpulkan dari Desa Cot Irie, Kecamatan Krueng Barona Jaya, Kabupaten Aceh Besar, dan lele lokal (*Clarias batrachus*) yang dipasok dari lokasi pembenihan ikan budidaya di daerah Bogor, Jawa Barat. Masing-masing jenis organisme yang dibutuhkan 180 individu dan sebagai cadangan organisme masing-masing 20 individu, sehingga masing-masing organisme dibutuhkan sebanyak 200 individu.

### Persiapan wadah uji

Wadah uji untuk penelitian ini adalah aquarium kaca berukuran 45cm x 30cm x 35cm sebanyak 36 unit. Ketinggian air dari dasar wadah adalah 10 cm (Musman, 2010).

### Proses pencampuran fraksi ber- $R_f < 0,5$ dalam wadah uji

Untuk pencampuran fraksi ber- $R_f < 0,5$  disiapkan aquarium kaca sebanyak 36 unit yang dikelompokkan atas 18 unit untuk keong mas dan 18 unit untuk lele lokal. Selanjutnya, larutan B dibuat dengan konsentrasi masing-masing 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm. Kemudian, air diambil dari lokasi pengambilan keong mas, lalu dimasukkan ke dalam akuarium uji setinggi 10 cm yang diukur dari dasar aquarium (volume air 13,5L), dan diisi 10 individu uji pada setiap aquarium. organisme uji terlebih dahulu didiamkan (adaptasi) di dalam aquarium selama lebih kurang 30 menit tanpa diberi makanan, selanjutnya dituangkan larutan B sebanyak 100 mL kedalam setiap aquarium sesuai dengan konsentrasinya.

### Pengamatan kondisi dan mortalitas organisme uji

Pengujian keaktifan biologi dilakukan berdasarkan kaedah yang dianjurkan oleh FAO (Reish dan Oshida, 1987). Pengamatan dilakukan setelah penuangan larutan ekstrak ke dalam aquarium yang berisi organisme uji. Pengamatan ini dilakukan untuk mengetahui angka mortalitas setelah 48 jam pemberian ekstrak. Mortalitas keong mas ditandai dengan keluarnya cairan melalui celah *operculum* atau kakunya pergerakan *operculum* bila ditekan ke arah dalam (Musman, 2004).

Ciri-ciri keracunan ikan dirujuk pada Rudyanti dan Ekasari (2009) yang menyatakan bahwa ikan yang terkena racun dapat diketahui dengan gerakan yang hiperaktif, lebih sering berada di permukaan, menggelepar, lumpuh sehingga kemampuan ikan untuk beradaptasi semakin berkurang dan akhirnya dapat menyebabkan kematian.

### Analisa data

Data mortalitas keong mas dan lele lokal yang diperoleh karena pemberian fraksi  $R_f < 0,5$  ekstrak EtOAc biji *B. racemosa* dianalisa dengan program Probit (Finney, 1971). Menurut Feng dan Wang (1984), harga  $LC_{50}$  yang diperoleh digunakan untuk menghitung harga selektivitas (S) melalui formula:

$$S = LC_{50} \text{ lele lokal} / LC_{50} \text{ keong mas}$$

Dimana :

S = harga selektivitas,  $LC_{50}$  lele lokal sebagai organisme non sasaran,  $LC_{50}$  keong mas sebagai organisme sasaran. Kesimpulan terhadap harga S adalah:

Jika  $S > 1$  berarti ekstrak uji merupakan racun yang selektif terhadap keong mas, dan jika  $S \leq 1$  berarti ekstrak uji merupakan racun yang tidak selektif terhadap keong mas.

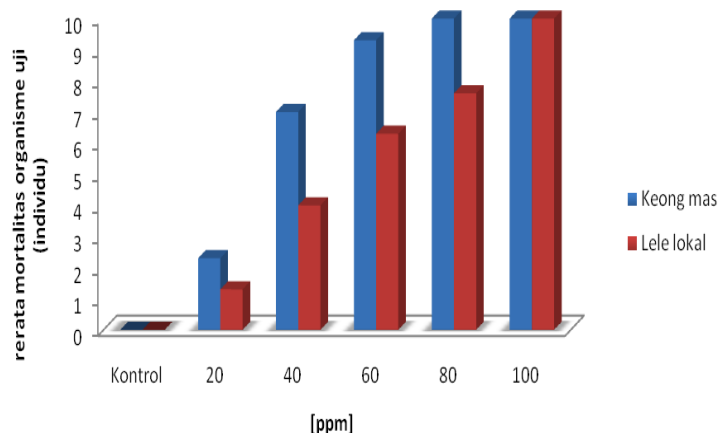
## Hasil dan Pembahasan

Data mortalitas keong mas dan lele lokal yang diberi perlakuan fraksi  $R_f < 0,5$  dari ekstrak EtOAc biji *B. racemosa* dengan konsentrasi berbeda diolah ke dalam diagram batang (Gambar 1). Data mortalitas yang telah diperoleh, diproses dan dianalisa dengan program Probit, untuk mendapatkan nilai  $LC_{50}$  sebagaimana diungkapkan pada Tabel 1. Nilai selektivitas fraksi  $R_f < 0,5$  dari ekstrak EtOAc biji putar air dihitung berdasarkan harga  $LC_{50}$  masing-masing organisme uji. Nilai selektivitas yang diperoleh adalah 1,51.

Teramati dalam uji ini bahwa keong mas memperlihatkan respon dengan menutup *operculum*-nya rerata lima menit setelah dipajan larutan uji. Hal ini diperkirakan bahwa larutan uji tersebar keseluruh badan air uji dalam waktu kurang dari lima menit. Ini mengindikasikan kelarutan larutan uji dengan air sangat besar. Keong mas mendeteksi adanya toksikan di badan air tersebut, dan seketika menarik kakinya ke dalam cangkangnya melalui *operculum* untuk menghindari kontak dengan toksikan. Keadaan diam keong mas dengan menutup *operculum* diduga sebagai upaya keong mas meminimalkan kontak dengan toksikan. Namun, keinginan makan yang besar dari keong mas menjadi pemicu terbukanya *operculum* untuk mencari makanan. Keaktifan keongmas bergerak untuk mencari makanan berakibat pada seringnya terjadi kontak kaki dengan bahan moluskosida (Musman, 2009).

Tabel 1. Nilai LC<sub>50</sub> yang diperoleh masing-masing organisme uji

Organisme uji	LC <sub>50</sub> [ppm]
Keong mas ( <i>P. canaliculata</i> )	29,259
Lele lokal ( <i>C. batracus</i> )	44,471



Gambar 1. Mortalitas keong mas dan lele lokal *versus* konsentrasi larutan

Dalam upaya menetralkan pengaruh racun uji, keong mas mengeluarkan cairan berupa lendir dari tubuhnya. Diduga, lendir yang dikeluarkan oleh keong mas justru mengakumulasi toksikan di tubuhnya. Akibat terakumulasi toksikan di tubuhnya, keong mas bergerak ke permukaan badan air untuk bernafas melalui *siphon*. Francis *et al.* (2002) menyatakan bahwa terhambatnya proses pernafasan pada keong mas terjadi karena difusi oksigen melalui insang terhalang oleh lendir tersebut. Namun, dalam wadah uji menghalangi keong mas menarik oksigen terus menerus, dan memaksa keong mas tenggelam ke badan air berisi toksikan.

Produksi lendir dari tubuh keong mas dalam jumlah yang berlebihan diperkirakan menghambat proses pernafasannya dan mengakibatkan kematian biota tersebut. Musman (2010) menyatakan bahwa pada biji putar air terkandung senyawa saponin. Diduga, adanya senyawa kelompok glikosida tersebut dalam ekstrak biji putar air menyebabkan kematian pada keong mas.

Pengamatan terhadap lele lokal menunjukkan lele lokal tetap bergerak aktif menuju tepi dan dasar wadah meskipun larutan uji telah dipajan dalam kurun waktu 15 menit. Tanggapan lele lokal terhadap kehadiran toksikan di badan air uji diperlihatkan dengan kegiatan yang tak normal seperti “berguling-guling (*twisting*), berputar-putar (*whirling*), gerakan lambat (*sluggishness*), dan hilangnya kemampuan apung (*loss of buoyancy*)” (Pierce *et al.*, 1994).

Perubahan tingkah laku pada lele lokal diduga karena adanya pengaruh pemberian fraksi R<sub>f</sub> < 0,5 dari ekstrak EtOAc biji putar air yang mengandung senyawa saponin. Perubahan tingkah laku dimaksud tidak teramati pada kontrol. Saponin merupakan racun bagi organisme *poikilotherm* karena dapat menghemolisis sel darah merah (Musman, 2004). Hemolisis sel darah merah diduga terjadi di insang yang berakibat pada kelumpuhan sistem saraf pusat lele lokal sehingga lele lokal tidak dapat bernafas dan berakibat pada kematiannya. Hal ini diperlihatkan dengan jelas oleh lele lokal melalui kegiatan yang paling menonjol dilakukan oleh ikan uji tersebut, dalam upaya beradaptasi dengan badan air yang telah dipajan toksikan, adalah tingginya frekwensi muncul ke permukaan air sebagai upaya untuk menghirup udara melalui organ *arborescent*. Rudiyantri dan Ekasari (2009) menguatkan amatan pada penelitian ini bahwa ikan yang terkena racun dapat diketahui dengan gerakan yang hiperaktif, lebih sering berada di permukaan, menggelepar, lumpuh sehingga kemampuan ikan untuk beradaptasi semakin berkurang dan akhirnya dapat menyebabkan kematian.

Pengamatan uji ini berlangsung selama 48 jam. Kurun waktu ini dikategorikan sebagai jenis *bioassay* periode waktu pendek (Reish dan Oshida, 1987). Selama kurun waktu ini, senyawa toksikan menunjukkan kestabilan struktur. Pemajanan fraksi R<sub>f</sub> < 0,5 dari ekstrak EtOAc biji putar air terhadap organisme uji menunjukkan pengaruh mematikan terhadap organisme dimaksud dari waktu ke waktu selama kurun waktu penelitian. Itu berarti, struktur senyawa toksikan dimaksud tidak mengalami deformasi selama berada dalam badan air. Bila terjadi deformasi struktur suatu toksikan, sifat biologi racunnya akan hilang dan tidak dapat memberikan efek mematikan bagi organisme uji dalam kurun waktu pengujian (Musman, 2010).

Pengaruh konsentrasi larutan uji terhadap kematian organisme uji teramati dengan sangat jelas. Kematian organisme uji berbanding lurus dengan konsentrasi larutan uji (Gambar 1). Hal ini mengindikasikan bahwa semakin banyak zat toksikan yang dipajan maka semakin banyak organisme uji yang merespon mati dalam kurun waktu penelitian ini. Hasil analisa probit menunjukkan harga LC<sub>50</sub> untuk keong mas dan lele lokal masing-masing sebesar 29,26 ppm (dengan batas bawah sebesar 20,07 ppm dan batas atas sebesar 37,25 ppm) dan 44,47 ppm (dengan batas bawah sebesar 31,11 dan batas atas sebesar 57,27 ppm). Konsentrasi batas bawah merupakan konsentrasi dimana organisme mulai mengalami kematian, sedangkan batas atas merupakan konsentrasi dimana seluruh organisme yang dipajankan mengalami kematian.

Harga LC<sub>50</sub> di atas mengindikasikan bahwa lele lokal merespon mati pada rentang konsentrasi larutan uji 31,11 ppm dan 57,27 ppm atau pada rerata konsentrasi 44,47 ppm. Dipihak lain, keong mas merespon mati pada rentang

konsentrasi larutan uji 20,07 ppm dan 37,25 ppm atau pada rerata konsentrasi 29,26 ppm. Harga  $LC_{50}$  ini bermakna pada konsentrasi 29,26 ppm lele lokal belum merespon mati sebesar 50% bila dibandingkan dengan keong mas. Nilai dimaksud menunjukkan bahwa larutan uji yang dipajan ke badan air uji direspon mati oleh lele lokal pada konsentrasi 44,47 ppm pada rentang terendah 31,10 ppm dan rentang tertinggi 57,27 ppm. Itu bermakna, konsentrasi larutan uji sebesar 29,26 ppm telah memberi efek mati bagi keong mas tapi tidak mematikan bagi lele lokal.

Nilai selektivitas fraksi  $R_f < 0,5$  dari ekstrak EtOAc biji putat air yang diperoleh dari perbandingan  $LC_{50}$  lele lokal terhadap  $LC_{50}$  keong mas adalah 1,51. Nilai ini menunjukkan bahwa fraksi  $R_f < 0,5$  dari ekstrak EtOAc biji putat air menunjukkan selektivitas racun terhadap keong mas sebagai biota sasaran.

## Kesimpulan

Pemberian fraksi  $R_f < 0,5$  dari ekstrak EtOAc biji putat air kepada keong mas dan lele lokal menyebabkan mortalitas keong mas dan lele lokal.  $LC_{50}$  fraksi  $R_f < 0,5$  dari ekstrak EtOAc biji putat air terhadap keong mas dan lele lokal masing-masing adalah 29,26 ppm dan 44,47 ppm berdasarkan analisa Probit. Nilai selektivitas fraksi  $R_f < 0,5$  dari ekstrak EtOAc biji putat air terhadap organisme uji adalah 1,51. Senyawaan yang terkandung dalam fraksi  $R_f < 0,5$  dari ekstrak EtOAc biji putat air memperlihatkan moluskosida keong mas.

## Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kavinta Melanie yang telah memberikan ekstrak EtOAc dari biji *B. racemosa* untuk digunakan pada penelitian ini. Ucapan terima kasih juga ditujukan kepada reviewer atas arahnya sehingga paper ini menjadi lebih baik.

## Daftar Pustaka

- Feng, H.T., T.C. Wang. 1984. Selectivity of insecticides to *Plutella xylostella* (L) and *Apanteles plutellae*. Plan Prot. Bull., 26: 275-284.
- Finney, D.J. 1971. Probit analysis. 3<sup>rd</sup> ed. Cambridge Univ. Press, Cambridge.
- Francis, G., Z. Keren, H.P.S. Makkar, K. Becker. 2002. The Biological action of saponin in animal system, A review. British Journal of Nutrition, 88:587-605.
- Musman, M. 2004. Effect of methanol extract of fruit of *Pentent* (*Barringtonia asiatica*) to mortality of golden apple snail (*Pomacea canaliculata*). Jurnal Natural, 4(2): 9-11.
- \_\_\_\_\_, M., 2009. The Potency of *Pentent* *le* (Acehnese, *Barringtonia racemosa* (L.) Spreng) as molluscicide of Pomacea species (Ampullariidae), in Abidin dkk. (eds.), Understanding disaster and environmental issue with science and engineering towards sustainable development. Proceeding The International Conference on Natural and Environmental Sciences 2009 (ICONES'09). Banda Aceh, 6-8 May 2009.
- \_\_\_\_\_, M. 2010. Toxicity of *Barringtonia racemosa*(L.) kernel extract on *Pomacea canaliculata* (Ampullariidae). Tropical Life Science Research, 21(2): 41-50.
- \_\_\_\_\_, M., S. Karina, K. Melanie. 2012. Uji selektivitas ekstrak etil asetat (EtOAc) biji putat air (*Barringtonia racemosa*) terhadap keong mas (*Pomacea canaliculata*) dan ikan lele lokal (*Clarias batracus*). Depik, 1(1): 27-31.
- Pierce, R.A., T.W. May, V. C. Suppes. 1994. Collection and submission of samples of fish-kill investigation and toxic-substances analysis. University of Missouri Extension, Columbia, MO. Publication No. G9402.
- Reish, D.L., P.S. Oshida. 1987. Manual of methods in aquatic environment research. Part 10: Short – term Static Bioassay. FAO Fisheries Technical Paper No. 247.
- Rudiyanti, S., A.D. Ekasari. 2009. Pertumbuhan dan survival rate ikan mas (*Cyprinus carpio* Linn) pada berbagai konsentrasi pestisida regent 0,3 g. Jurnal Saintek Perikanan, 5(1): 39-47.
- Suripto. 2009. Selektivitas anti Moluska dari tanaman Jayanti {*Sesbania sesban* (L.) Merr.}. Jurnal Biol. Trop., 10(1): 24-32.
- Wang, L., X. Wang, X. Yuan, B. Zhao. 2011. Simultaneous Analysis of Diosgenin and Sarsasapogenin in *Asparagus officinalis* Byproduct by Thin-layer Chromatography. Phytochem. Anal., 22: 14-17.