

**UJI TOKSISITAS KOLOWE (*Chydenanthus excelsus*, Miers)
DENGAN MENGGUNAKAN METODE BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)**

*Toxicity Assay Of Kolowe Seed (*Chydenanthus excelsus*, Miers) using BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) Method*

HENNY HELMI

Abstract

A research to find out the toxicity of kolowe seeds on *Artemia salina* had been done. Crude extract and fractions of kolowe seeds contain saponin, alkaloid, polifenol and triterpenoid. Based on their antibacteria and antifungi activities, kolowe seeds can be used as biopesticide. Toxicity test against to Brine shrimp has been done to know the safety of this biopesticide. The results showed that kolowe seeds extract and fractions had a low toxicity on *Artemia salina* (LC50 > 30 ppm). In conclusion, kolowe seeds can be an alternative to be used as biopesticide

Keywords : toxicity, kolowe seeds, BSLT methods

PENDAHULUAN

Kolowe (*Chydenanthus excelsus*) merupakan tumbuhan yang banyak tumbuh di daerah pesisir pantai. Masyarakat Buton menggunakan biji kolowe untuk membunuh ikan, namun tidak terjadi keracunan pada masyarakat yang memakan ikan tersebut. Menurut Dyuster (1923) dan Greshoff (1925) dalam Heyne (1987), pada kolowe ditemukan saponin, yaitu di dalam kulit kayunya dan juga di dalam biji – bijinya. Ekstrak dan fraksi biji kolowe memiliki sifat antibakteri dan antijamur terhadap beberapa penyakit tanaman seperti *Clavibacter michiganense*, *Ralstonia solanacearum*, *Alternaria porri* dan *Colletotrichum gloeosporioides* sehingga biji kolowe memiliki potensi digunakan sebagai biopestisida. Penggunaan pestisida alami sebagai alternatif pestisida kimiawi dilakukan karena mempunyai banyak kelebihan yaitu residu relatif mudah terdegradasi sehingga tidak mencemari lingkungan dan relatif mudah didapatkan (Oka, 1993 dalam Martoredjo dkk., 1997). Untuk mengetahui keamanan penggunaan ekstrak biji tumbuhan kolowe sebagai biopestisida perlu dilakukan uji toksisitas sehingga aman bagi masyarakat yang mengkonsumsi hasil pangan.

Uji toksisitas merupakan uji hayati pendahuluan untuk mendeteksi senyawa bioaktif suatu bahan baik bahan alam maupun sintetis, karena semua senyawa bioaktif merupakan senyawa yang toksik terutama pada dosis tinggi (Dey dan Harbourne, 1991). Efek toksik merupakan gambaran awal efek fisiologis/ farmakologis suatu senyawa kimia tertentu terhadap organisme uji. Pengukuran kematian suatu organisme sederhana seperti larva *Artemia salina*, dapat digunakan untuk indikator interval toksisitas spesifik suatu senyawa bioaktif ekstrak tumbuhan. Interval ini termasuk bilamana seluruh organisme uji mati dan bilamana seluruh organisme uji dapat bertahan hidup. Konsentrasi yang menyebabkan kematian organisme uji sebanyak 50%, disebut LC50. Kematian tersebut tergantung dari faktor besarnya konsentrasi dan lama waktu pengujian (Dey, 1991).

Respon organisme uji dapat dimasukkan dalam beberapa katagori yaitu (Connel and Miller, 1995): Pengaruh akut adalah respon organisme terhadap suatu keadaan yang cukup parah sehingga mengakibatkan suatu respon cepat, misalnya LC50 24 jam; Pengaruh subakut adalah respon organisme terhadap kondisi yang kurang parah dibandingkan pengaruh akut dan biasanya terjadi setelah waktu yang lebih lama; Pengaruh kronis adalah

respon organisme terhadap suatu kondisi berkesinambungan, yang teaja tetap paling tidak 10% dari waktu hidup suatu organisme hidup.

Metode yang sering digunakan dalam penelitian uji hayati dengan *A. salina* sebagai organisme ujinya adalah metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). *A. salina* adalah organisme tingkat rendah dari kelompok Crustaceae dengan ukuran dewasa sekitar 10 20 mm dan telur 0,2 0,3 mm (Cholic and Daulay). *Artemia salina* mampu bertindak sebagai indikator untuk uji aktivitas biologis tertentu dan memberikan kesejajaran basil dengan uji hayati yang lebih kompleks, (Meyer et al., 1982). Menurut Mc. Laughin (1990) dalam Dey dan Harbourne (1991) basil pengujian toksisitas dengan *A. salina* memberikan kesejajaran basil dengan uji hayati lebih lanjut menggunakan organisme tingkat tinggi. *Artemia salina* yang digunakan sebagai bioindikator adalah bentuk nauplius hasil penetasan telurnya.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mencari senyawa aktif dalam biji kolowe dan mengetahui keamanan penggunaan biji kolowe sebagai alternatif biopestisida.

METODE

Pembuatan Ekstrak Kasar dan Fraksi Biji Kolowe. Serbuk biji kolowe sebanyak 1,2 kg di maserasi dengan MeOH 5 x 24 jam sehingga didapatkan ekstrak kasar metanol. Ekstrak kasar metanol di partisi sehingga dihasilkan fraksi etil asetat dan fraksi n-butanol.

Uji Fitokimia berdasarkan uji yang umum dilakukan di Labarotarorium Farmakognisi dan Modifikasi cara Farnsworth.

- **Golongan senyawa Alkaloid.** Sampel dibasakan dengan amonia 10 % tambahkan CHCl₃ lalu digerus dan dikocok. Lapisan CHCl₃ di ambil lalu ditambahkan HCl 1 N dan dikocok. Diambil fasa airnya, lalu dibagi tiga dan pada masing-masing bagian ditambahkan: pereaksi Dragendorf (hasil positif jika ada endapan jingga), pereaksi Meyer (hasil positif jika ada endapan putih) dan pereaksi Bouchardat (hasil positif jika endapan coklat merah)

- **Golongan senyawa Flavonoid.** Sampel dipanaskan dengan campuran logam magnesium dan asam klorida 2 %, kemudian disaring. Hasil positif jika ada warna merah yang dapat ditarik oleh amil alkohol.

- **Golongan senyawa Kuinon.** Sampel dikocok dengan air panas lalu dididihkan selama 5 menit dan disaring. Kedalam filtrat ditambahkan NaOH 1 %. Hasil positif

jika terbentuk warna merah

- **Golongan senyawa Tanin dan Polifenol.** Sampel ditambah air panas dan dididihkan selama 5 menit, setelah dingin disaring. Filtratnya dibagi dua, masing-masing ditambahkan FeCl₃ 1 % (adanya tanin dan polifenol terbentuk warna biru hijau) dan ditambahkan gelatin (adanya tanin ditandai dengan terbentuknya endapan putih).
- **Golongan Saponin.** Sampel ditambah air panas dan dididihkan selama 5 menit, setelah dingin disaring. Filtrat sebanyak 10 ml diambil lalu dikocok selama 10 detik. (Adanya saponin ditandai dengan terbentuknya busa setinggi 1cm yang stabil dan persisten pada penambahan 1 tetes HCl 0,1 N).
- **Golongan Steroid dan Triterpenoid.** Sampel digerus dengan eter. Fasa eter dipipet lalu diuapkan pada cawan penguap sampai kering. Pada residunya ditambahkan pereaksi Lieberman Burchard. (terbentuknya warna merah ungu menandakan adanya triterpenoid jika terbentuk warna hijau biru menandakan adanya senyawa berinti steroid).

Uji Toksisitas. Rancangan yang digunakan untuk uji toksisitas adalah rancangan acak lengkap. Faktor pertama adalah jenis pelarut pada ekstrak dan fraksi biji tumbuhan kolowe yang terdiri dari satu ekstrak dan dua fraksi yaitu ekstrak metanol (a₁), fraksi etil asetat (a₂) dan fraksi n-butanol (a₃). Faktor kedua, adalah konsentrasi berdasarkan urutan logaritma, APHA dan batas konsentrasi terbesar yang menyebabkan kematian 50 % sampai batas konsentrasi terkecil yang menyebabkan kematian 50 %. Parameter yang diukur adalah persentase mortalitas larva *A. salina* Untuk menentukan nilai LC50 data diolah dengan analisis probit. Data mortalitas larva *A. salina* dianalisis dengan ANAVA. Jika hasil menunjukkan perbedaan yang nyata, maka dilakukan uji jarak berganda Duncan.

Tahapan Persiapan untuk uji toksisitas terdiri atas penetasan telur *Artemia salina* dan percobaan pendahuluan. Penetasan telur *A. salina* dilakukan dalam akuarium yang berisi air laut. Dengan aerasi, telur dibiarkan selama 48 jam dibawah pencahayaan lampu. Larva yang dipakai untuk uji toksisitas adalah larva yang berusia 48 hari (larva nauplius). Percobaan pendahuluan dilakukan untuk menentukan batas kritis konsentrasi yang dapat menyebabkan kematian terbesar mendekati 50% dan kematian terkecil mendekati 50%. Penentuan batas kritis konsentrasi ini dilakukan dengan menambahkan ekstrak dan fraksi biji kolowe ke dalam air laut sehingga didapat urutan konsentrasi 1000 ppm, 100 ppm, 10 ppm, dan 1 ppm. Masing-masing konsentrasi dilakukan tiga kali pengulangan.

Setelah diketahui batas kritis konsentrasi, selanjutnya dilakukan percobaan lanjutan untuk pengambilan data yang akan dianalisis. Percobaan lanjutan dilakukan untuk menentukan konsentrasi letal dengan menggunakan urutan konsentrasi yang terdapat dalam logaritma APHA. Ke dalam masing-masing botol vial yang telah berisi 10 ml campuran air laut dan air kolong baik yang belum maupun yang telah diremediasi dengan berbagai perlakuan dan konsentrasi dimasukkan 20 ekor larva *A. salina*. Kemudian dilakukan penghitungan jumlah larva yang masih hidup setelah dibiarkan selama 24 jam dibawah pencahayaan lampu. Untuk menentukan nilai LC₅₀ data diolah dengan

menggunakan analisis probit. Persentase mortalitas dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ mortalitas} = \frac{\text{Jumlah } A. \text{ salina mati}}{\text{Jumlah } A. \text{ salina seluruhnya}} \times 100\%$$

Data persentase mortalitas yang diperoleh dari uji toksisitas dianalisis dengan menggunakan uji ANOVA jika hasil uji memberikan perbedaan nyata, selanjutnya dilakukan metode uji jarak berganda Duncan.

HASIL

Hasil Uji Fitokimia Ekstrak dan Fraksi Biji Kolowe menunjukkan bahwa ekstrak metanol, fraksi etil asetat dan fraksi n-butanol mengandung golongan senyawa yang sama yaitu saponin, triterpenoid, alkaloid dan polifenol.

Hasil Uji Toksisitas. Percobaan pendahuluan pada uji toksisitas dilakukan untuk menentukan batas kritis konsentrasi yang dapat menyebabkan kematian terbesar mendekati 50% dan kematian terkecil mendekati 50%. Setelah diketahui batas kritis konsentrasi dilakukan uji toksisitas menggunakan urutan konsentrasi yang terdapat dalam logaritma APHA.

Hasil percobaan pendahuluan menunjukkan bahwa batas kritis konsentrasi yang dapat menyebabkan kematian terbesar dan terkecil mendekati 50% adalah konsentrasi antara 1.000 ppm dan 100 ppm. Untuk mengetahui konsentrasi letal, dilakukan percobaan lanjutan dengan tiga kali pengulangan dengan menggunakan lima urutan konsentrasi yang terdapat dalam logaritma APHA. Persentase mortalitas dihitung setelah 24 jam.

Tabel 1. Persentase Mortalitas Larva *A. salina* terhadap Ekstrak dan Fraksi Uji

Konsentrasi (ppm)	Persentase Mortalitas terhadap Ekstrak dan Fraksi Biji Tumbuhan Kolowe		
	Metanol	Etil Asetat	n-butanol
1.000	100	100	100
560	96.7	91.7	83.3
320	88.3	85	63.3
180	48.3	65	36.7
100	38.3	48.3	16.7
kontrol	0	0	0

keterangan: 10.000 ppm = 1% = 10 mg/ml.

Untuk menentukan nilai LC₅₀ ekstrak dan fraksi yang diuji, seluruh data diolah dengan analisis Probit 3.0

Tabel 2. Analisis Micro Probit 3.0 untuk Ekstrak Metanol Biji Kolowe

Entry	Dose	Observed	Responded	%Response
1	100	60	23	38.33333
2	180	60	29	48.33333
3	320	60	53	88.33333
4	560	60	58	96.66667
5	1000	60	60	100.00000

CONTROLS = 60 # RESPONDED = 0 % RESPONSE = 0.00000
 SLOPE = 3.581612 Y-INTERCEPT = -2.777209
 SE OF SLOPE = 0.302448 VARIANCE OF LD50 = 1.122847
 ITERATIONS = 8 G = 0.168129
 CHI-SQUARE = 9.178718

Chi-Square is significant and the heterogene factor has been in used in the limit calculations. A significant Chi-Square may indicate departure from model.

LETHAL DOSE AND 95% FIDUCIAL LIMITS			
LD	LOWER	UPPER	
LD 5	51.532037	16.887972	85.7521940
LD10	65.097314	24.797126	102.4272356
LD15	76.216853	32.061353	115.7430699
LD20	86.395022	39.253644	127.7841659
LD25	96.203412	46.619041	139.3397236
LD30	105.955459	54.313104	150.8514409
LD35	115.869068	62.461699	162.6410677
LD40	126.126614	71.184056	174.9970994
LD45	136.905162	80.605090	188.2230424
LD50	148.397542	90.864509	202.6773417
LD55	160.854619	102.145792	218.8482601
LD60	174.600958	114.678841	237.4116122
LD65	190.057864	128.741457	259.3202334
LD70	207.840424	144.716171	286.0406017
LD75	228.909008	163.171877	319.9744064
LD80	254.896948	185.047103	365.3924053
LD85	288.936456	212.118785	430.8666344
LD90	338.290876	248.479772	537.3917499
LD95	427.342465	307.597083	761.3666807
LD99	662.122886	441.225893	1520.9242144

Tabel 3. Analisis Micro Probit 3.0 untuk Fraksi n-butanol Biji Kolowe

Entry	Dose	Observed	Responded	%Response
1	100	60	0	16.66667
2	180	60	2	36.66667
3	320	60	8	63.33333
4	560	60	0	83.33333
5	1000	60	0	100.00000

CONTROLS =60 # RESPONDED = 0 % RESPONSE=0.00000

SLOPE = 4.321359 Y-INTERCEPT = -5.111229
SE OF SLOPE= 0.297823 VARIANCE OF LD50= 1.070861
ITERATIONS = 19 G= 0.218561
CHI-SQUARE = 17.913412

Chi-Square is significant and the heterogene factor has been in used in he limit calculations. A significant Chi-Square may indicate deparature from model.

LETHAL DOSE AND 95% FIDUCIAL LIMITS			
LD	LOWER	UPPER	
LD 5	91.014362	26.413412	152.1344402
LD10	110.464563	37.420555	176.2864897
LD15	125.888743	47.212149	195.2341927
LD20	139.670842	56.677550	212.1655408
LD25	152.690817	66.178322	228.2635141
LD30	165.412208	75.928740	244.1722835
LD35	178.140325	86.090090	260.3441375
LD40	191.115181	96.806259	277.1678905
LD45	204.555843	108.222010	295.0361305
LD50	218.688610	120.495843	314.3961857
LD55	233.797784	133.835658	335.8426978
LD60	250.240210	148.502267	360.1795961
LD65	268.466462	164.812410	388.5148921
LD70	289.124386	183.205195	422.5306375
LD75	313.212699	204.331387	464.9553068
LD80	342.410072	229.244905	520.6105119
LD85	379.896581	259.878940	599.1254976
LD90	432.941586	300.526299	723.9137217
LD95	525.463256	364.824606	978.9541989
LD99	755.356827	501.133868	1804.1640692

Tabel 4. Hasil Analisis Micro Probit 3.0 untuk Fraksi Etil Asetat Biji Kolowe

Entry	Dose	Observed	Responded	%Response
1	100	60	29	48.33333
2	180	60	39	65.00000
3	320	60	51	85.00000
4	560	60	55	91.66667
5	1000	60	601	00.00000

CONTROLS=60 #RESPONDED=0 % RESPONSE=0.00000

SLOPE = 3.160102 Y-INTERCEPT= -1.558265
SE OF SLOPE= 0.276523 VARIANCE OF LD50= 1.135551
ITERATIONS = 14 G= 0.187089
CHI-SQUARE = 9.511979
Chi-Square is significant and the heterogene factor has been in used in the limit calculations. A significant Chi-Square may indicate deparature from model.

LETHAL DOSE AND 95% FIDUCIAL LIMITS			
LD	LOWER	UPPER	
LD 5	35.868515	8.340585	67.1255753
LD10	46.745 073	13.135256	81.7777119
LD15	55.893209	17.805184	93.6489471
LD20	64.425518	22.634355	104.4909271
LD25	72.776135	27.763020	114.9756678
LD30	81.192341	33.297100	125.4857281
LD35	89.854632	39.337111	136.3056007
LD40	98.922137	45.990957	147.6958865
LD45	108.556748	53.382623	159.9361312
LD50	118.941415	61.660535	173.3622323
LD55	130.319473	71.024218	188.4388514
LD60	143.012056	81.732426	205.8202827
LD65	157.443839	94.110207	226.4490547
LD70	174.241289	108.604652	251.8107287
LD75	194.391447	125.866916	284.4062686
LD80	219.587804	146.932965	328.8194220
LD85	253.108712	173.692288	394.5422445
LD90	302.642766	210.405960	505.5823119
LD95	394.414377	271.113971	752.8127503
LD99	647-858424	411.252828	1682.6374486

Tabel 5. Nilai LC50 Ekstrak dan Fraksi Uji

Ekstrak/ Fraksi	Nilai LC50 (ppm)
Ekstrak metanol	148,39
Fraksi etil asetat	118,94
Fraksi n-butanol	218,68

Untuk mengetahui adanya pengaruh faktor fraksi atau ekstrak pada berbagai variasi konsentrasi terhadap tingkat kematian *A. salina* maka dilakukan dengan analisis varian.

Tabel 6. Analisa Varians Tingkat kematian larva *A. Salina* terhadap Ekstrak dan Fraksi Uji

Sumber Ragam	Derajat bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	Fhitung	Ftabel 0,5%
Perlakuan	14	31731,11	2266,51	185,48*	2,04
Fraksi & Ekstrak (A)	2	2714,23	1357,23	111,07*	3,32
Konsentrasi (B)	4	27564,45	6891,11	563,92*	2,69
Interaksi AB	8	1452,21	181,53	14,860*	2,27
Galat	30	366,67	12,22		
Total	44	32097,78			

Keterangan: * berbeda nyata

Tabel 7. Uji Jarak Berganda Duncan Interaksi antara Fraksi dan Konsentrasi terhadap Persentase Mortalitas Larva *A. salina*

Fraksi/ Ekstrak	Konsentrasi (ppm)				
	1.000	560	320	180	100
Ekstrak metanol	100 A	97 A	88 B	48 C	38 D
	a	A	A	b	b
Fraksi etil asetat	100 A	92 B	85 C	65 D	48 E
	a	A	A	a	a
Fraksi n-butanol	100 A	83 B	63 C	37 D	17 E
	a	B	B	c	c

keterangan:

- huruf besar yang sama pada baris yang sama berarti tidak berbeda nyata
- huruf kecil yang sama pada kolom yang sama berarti tidak berbeda nyata

PEMBAHASAN

Pencarian bahan-bahan alami untuk pestisida diperoleh dengan berbagai cara, misalnya menggunakan cara ekstraksi oleh pelarut organik. Ekstraksi merupakan proses penyarian senyawa-senyawa dalam bahan alami (tumbuhan) dengan menggunakan cairan penyari yang sesuai (Sumaryono, 1996). Untuk memperoleh fraksi-fraksi yang mengandung bahan aktif yang terdapat dalam suatu tumbuhan dapat dilakukan dengan berbagai metode pemisahan diantaranya dengan penarikan. secara fraksinasi dalam labu pisah sehingga dihasilkan fraksi-fraksi dengan tingkat kepolaran tertentu yang mengandung senyawa-senyawa dengan keaktifan tertentu pula (Mardiati 1993). Dari hasil uji fitokimia ekstrak dan fraksi-fraksi biji kolowe mengandung golongan senyawa yang sama mungkin dengan kuantitas yang berbeda karena pelarut yang digunakan dalam ekstraksi dan partisi memiliki kepolaran yang berbeda.

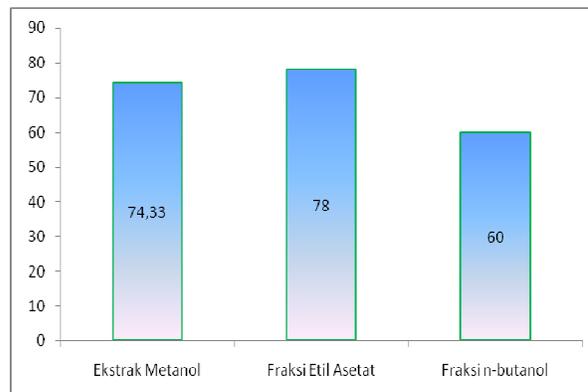
Alkaloid merupakan senyawa organik yang terdiri dari nitrogen biasanya bersifat basa. Alkaloid mempunyai keaktifan biologis tertentu, ada yang sangat beracun ada yang sangat berguna dalam pengobatan. Alkaloid larut dalam pelarut organik. Polifenol merupakan senyawa yang mengandung banyak gugus fenol dalam molekulnya dan bisa mencegah poliferasi sel. Saponin adalah salah satu golongan senyawa yang bersifat larut dalam air, etanol, atil asetat, n-butanol dan digolongkan ke dalam senyawa polar (Hosetmann, Marston, 1995). Dalam kaitannya sebagai biopestisida, saponin memiliki aktivitas antimikroba dengan cara membentuk kompleks dalam membran plasma sehingga menghancurkan sifat permeabilitas dinding sel yang selanjutnya menimbulkan kematian sel (Defago, 1997 dalam Dey, 1991) Triterpenoid merupakan senyawa turunan saponin. Triterpenoid memiliki aktivitas yang tinggi terhadap mamalia

Hasil pengujian toksisitas biji kolowe terhadap *A. salina* (Tabel 1) menunjukkan bahwa secara umum tingkat kematian larva mendekati 50% terdapat pada sernua ekstrak dan fraksi yang diuji. Untuk fraksi etil asetat, kematian di atas 50% sudah didapat pada konsentrasi 180 ppm. Pada ekstrak metanol dan fraksi n-butanol, kematian di atas 50% didapat pada konsentrasi 320 ppm. Sehingga diduga bahwa pelarut etil asetat dapat menarik senyawa-senyawa bioaktif dengan toksisitas yang lebih tinggi terhadap *A. salina* dibandingkan dengan pelarut metanol dan n-butanol. Untuk menentukan nilai LC50 ekstrak dan kedua fraksi yang diuji seluruh data diolah dengan program komputer analisis Probit 3.0.

Hasil analisis probit (Tabel 2,3,4 dan 5) menunjukkan bahwa nilai LC50 ekstrak dan fraksi yang diuji menunjukkan nilai yang cukup rendah. Menurut Meyer (1982) dalam Purwati (1998), nilai LC50 dianggap signifikan jika nilainya, kurang dari 30 ppm. Berdasarkan hal tersebut, disimpulkan bahwa ekstrak dan fraksi yang diuji cukup aman dijadikan sebagai bahan alternatif biopestisida.

Hasil Analisis Varian (Tabel 6) menunjukkan bahwa fraksi atau ekstrak (A), konsentrasi (B) dan interaksi antara fraksi/ ekstrak dan konsentrasi (AB) memberikan respon yang berbeda terhadap hasil pengujian (nilai Fhitung > F tabel pada taraf uji 0,05). Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak dan fraksi uji pada

konsentrasi berbeda akan memberikan respon yang berbeda terhadap mortalitas larva. Untuk mengetahui adanya perbedaan tersebut, maka dilakukan uji jarak berganda Duncan guna, melihat perbedaan pengaruh variabel-variabel yang terlibat terhadap hasil pengujian.



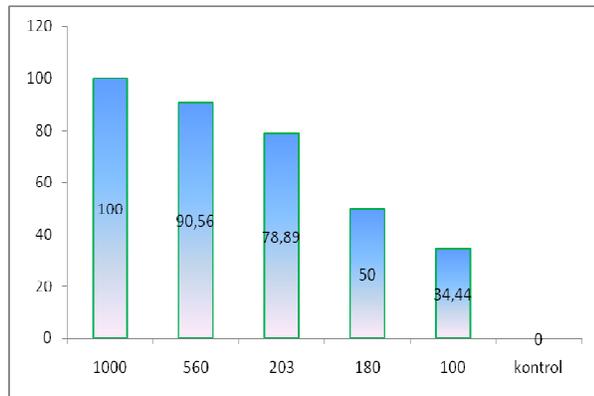
Keterangan:
huruf kecil yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($p > 0,05$).

Gambar 1. Grafik Uji Jarak Berganda Duncan Ekstrak dan Fraksi terhadap Persentase Larva *A. salina*

Hasil UJGD yang tertera pada Gambar 1 menunjukkan bahwa ekstrak dan fraksi-fraksi uji memperlihatkan tingkat kematian larva yang berbeda.

Masing-masing ekstrak dan fraksi memberikan pengaruh yang berbeda terhadap tingkat kematian larva *A. salina*. Fraksi etil asetat menyebabkan tingkat kematian larva *A. salina* tertinggi. Senyawa-senyawa yang bersifat toksik dalam biji kolowe lebih banyak tersari dalam fraksi etil asetat dibandingkan fraksi lainnya. Etil asetat merupakan pelarut semi polar sehingga diduga senyawa yang larut dalam etil asetat ini adalah senyawa-senyawa yang kurang polar (Sumaryono, 1996). Fraksi n-butanol memberikan tingkat kematian larva *A. salina* terendah. Dapat diduga bahwa n-butanol kurang dapat menarik senyawa-senyawa bioaktif dengan toksisitas yang berarti terhadap larva *A. salina*. Hal ini terjadi dapat disebabkan karena senyawa-senyawa yang terlarut dalam fraksi ini adalah senyawa-senyawa polar yang kurang bersifat toksik terhadap *A. salina*.

Metanol sebagai pelarut dalam proses ekstraksi dapat menarik semua senyawa yang terkandung dalam biji kolowe. Fraksi etil asetat dan n-butanol yang merupakan hasil fraksinasi ekstrak kasar metanol mengandung senyawa-senyawa aktif tertentu sesuai dengan derajat kepolaran kedua pelarut ini. Fraksi etil asetat lebih menarik senyawa-senyawa yang kurang polar sedangkan fraksi n-butanol lebih menarik senyawa-senyawa polar. Urutan kepolaran ketiga jenis pelarut yang digunakan adalah metanol > n-butanol > etil asetat. Penurunan tingkat kepolaran pelarut yang digunakan mengakibatkan peningkatan senyawa toksik yang terkandung dalam ekstrak/fraksi



keterangan :
huruf kecil yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($p > 0,05$)

Gambar 2. Grafik Uji Jarak Berganda Duncan Konsentrasi terhadap Persentase Kematian Larva *A. salina*

Berdasarkan Gambar 2, konsentrasi tertinggi didapat pada konsentrasi 1000 ppm. Masing-masing konsentrasi yang digunakan dalam pengujian ini memberikan pengaruh yang berbeda terhadap mortalitas larva *A. salina*. Toksisitas terendah pada konsentrasi 100 ppm. Hal ini menunjukkan peningkatan dosis akan diikuti dengan peningkatan toksisitas terhadap larva *A. salina*.

Hasil UJGD menunjukkan bahwa sampel biji kolowe dengan pelarut yang berbeda pada konsentrasi 1.000 ppm memberikan pengaruh yang sama terhadap persentase kematian larva *A. salina*. Pada ekstrak metanol konsentrasi 1.000 ppm dan 560 ppm memberikan pengaruh yang sama terhadap persentase kematian larva. Pada fraksi etil asetat konsentrasi 180 ppm telah memberikan pengaruh terhadap kematian larva *A. salina* lebih dari 50 % dan berbeda dengan ekstrak dan fraksi uji lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memiliki toksisitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak dan fraksi uji lainnya. Berdasarkan uji antibakteri dan uji antijamur ekstrak dan fraksi biji kolowe terhadap bakteri dan jamur penyebab penyakit pada tanaman, fraksi etil asetat memiliki kemampuan terendah untuk menghambat pertumbuhan bakteri dan jamur. Berbeda dengan ekstrak metanol memiliki kemampuan menghambat bakteri dan jamur paling baik dibandingkan n-butanol dan etil asetat. Hal ini menunjukkan ekstrak metanol dan fraksi n-butanol dapat digunakan sebagai biopestisida karena selain memiliki aktivitas antibakteri dan antijamur, ekstrak dan fraksi ini juga memiliki toksisitas yang cukup rendah sehingga aman digunakan.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih penulis sampaikan kepada Dr. Ratu Safitri dan Dr. Laode Rijai yang telah membantu memberikan biji kolowe, dan banyak masukan untuk penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Cholik, F. dan T. Daulay. 1985. *Artemia salina* (Kegunaan Biologi dan kulturanya). INFIS Manual- No.12. Dirjen Perikanan dan Internasional Development Research Center
- Connel, D. W. dan G. J. Miller. 1995. Kimia dan Ekotoksikologi Pencemaran. Penerjemah Yanti Koestower. Jakarta- UI Press
- Davidson, M. W. 2001. Saponin. Florida State University.
- Harndani, H. dan S. Astuti. 2001. Pengaruh Salinitas Terhadap Laju Pertumbuhan Populasi *Artemia* sp. *Bionatura* 2(1): 18-26
- Heyne, K. 1987. Tumbuhan Berguna Indonesia. Jilid 2. Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan. Jakarta: Penerbit Sarana Wana Java
- Meyer et al. 1982. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Constituents. *Planta Medica*. 45:31-34
- Osborn, A. E. 1996. Saponins and Plant Defence-A soap story. *Trends Plant Science* 1: 4-9
- Purwati, T. dan P. Simanjuntak. 1995. Daya Toksik Beberapa Tumbuhan Obat Tradisional Indonesia Asal Nusa Tenggara Barat. *Biologi Indonesia*. 11 (3). Bogor: 18-124
- Rand, M. 1975. *Standard Methods For The Examination of Water and Wastewater*. Fourteenth Edition. Washington: APHA
- Sidharta, B. R. 1997. Effects of Malathion on Brine Shrimp (*Artemia salina*). *Biota* H (2):61-66
- Sumaryono, W. 1996. Teknologi Pembuatan Sediaan Fitofarmaka Skala Industri. *Warta Tumbuhan Obat Indonesia*. 3(1): 7-8