

Uji Sitotoksik Ekstrak Biji Salak (*Salacca Zalacca* (Gaert) Voss) dengan Menggunakan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (Bslt)

¹Nova Eka Putri, ²Indra Topik Maulana, ³Esti Rachmawati Sadiyah
^{1,2,3}*Prodi Farmasi, Fakultas MIPA, Unisba, Jl. Tamansari No. 1 Bandung 40116*
e-mail: ¹novaahanafii@yahoo.co.id, ²Indra.topik@gmail.com,
³esti_sadiyah@ymail.com

Abstrak. Alpukat (*Persea americana* Mill.) merupakan salah satu sumber asam lemak nabati yang mengandung asam lemak tak jenuh tunggal yang berguna bagi kesehatan. Salah satunya asam lemak tak jenuh yang terkandung dalam alpukat yaitu asam oleat. Penelitian yang dilakukan bertujuan mendapatkan minyak buah alpukat matang, serta menguji aktivitasnya sebagai antihiperlipidemia. Dari hasil ekstraksi menggunakan metode refluks didapatkan rendemen sebesar 23,917%. Berdasarkan hasil analisis dengan menggunakan Kromatografi Gas Spektroskopi Massa (KG-SM) ditunjukkan bahwa pada minyak buah alpukat matang terdapat kandungan asam lemak paling tinggi yaitu asam oleat (52,85%). Setelah dilakukan uji aktivitas dapat disimpulkan bahwa minyak buah alpukat dengan kadar 100% dan 50% dapat menurunkan kadar kolesterol dalam darah hewan uji.

Kata kunci: Alpukat (*Persea americana* Mill.), asam lemak tak jenuh, asam oleat, antihiperlipidemia

A. Pendahuluan

Kolesterol merupakan golongan lipid yang tidak terhidrolisis dan merupakan sterol utama dalam jaringan tubuh manusia. Lemak khususnya kolesterol merupakan zat yang sangat dibutuhkan dalam pembentukan membran sel tubuh. Namun, jika terlalu banyak kolesterol yang dimasukkan dalam tubuh yang berasal dari makanan dapat menyebabkan peningkatan kadar kolesterol yang melebihi angka normal (Soeharto, 2004:47-48).

Asam oleat atau asam Z-9-desenoat (Asam Cis 9-Oktadekenoat) merupakan asam lemak tak jenuh tunggal yang termasuk ke dalam golongan asam lemak omega-9 yang diduga dapat berperan menurunkan jumlah kolesterol dalam tubuh, meningkatkan *High Density Lipoprotein* (HDL) sambil juga menurunkan *Low Density Lipoprotein* (LDL). Asam oleat merupakan asam lemak golongan *Mono Unsaturated Fatty Acid* (MUFA) yang harus didapatkan dari luar karena merupakan asam lemak esensial.

Menurut Puspaningtyas (2013:26) alpukat (*Persea americana* Mill.) merupakan salah satu sumber asam lemak nabati yang sudah dikenal masyarakat. Buah alpukat mengandung asam lemak tak jenuh tunggal yang berguna bagi kesehatan, yaitu untuk menurunkan kadar kolesterol darah (LDL), yang berarti dapat menurunkan atau mencegah penyakit stroke, darah tinggi, kanker, atau penyakit jantung. Salah satunya asam lemak tak jenuh yang terkandung dalam alpukat yaitu asam oleat yang berguna untuk mengurangi bahaya *Low-Density-Lipoprotein* (LDL) pada saat yang sama meningkatkan *High-Density-Lipoprotein* (HDL) dan disamping itu lemak Omega-9 pada buah alpukat dapat mengurangi kemerahan pada kulit dan iritasi, juga membantu memperbarui sel-sel kulit yang sudah dalam kondisi rusak (Agustinus, 2014). Ketika buah alpukat matang akan terjadi perubahan komposisi minyak dimana konsentrasi asam lemak tak jenuh akan meningkat dan asam lemak jenuh akan menurun (Gaydou. dkk., 1987 dalam Ozdemir dan Topuz, 2004:80). Berdasarkan hal tersebut maka terlihat bahwa daging buah alpukat yang matang memiliki kandungan asam lemak lebih banyak sehingga berpotensi dapat menurunkan kadar kolesterol dalam tubuh.

Berdasarkan beberapa keterangan di atas, muncul rumusan permasalahan, kandungan minyak daging buah alpukat matang dapat menurunkan kadar kolesterol dalam tubuh ? Maka dari itu perlu dilakukan analisis mengenai aktivitas antihiperlipidemia dari kandungan asam lemak minyak daging buah alpukat matang pada mencit (*Mus musculus* L.) jantan.

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh isolat minyak nabati murni yang berasal dari daging buah alpukat matang (*Persea americana* Mill) serta menguji aktivitas antihiperlipidemia pada mencit (*Mus musculus* L.), sehingga dengan adanya penelitian ini masyarakat dapat lebih mengetahui potensi manfaat mengkonsumsi daging alpukat bagi kesehatan.

B. Landasan Teori

Alpukat ini berasal dari Amerika Tengah, tumbuh liar di hutan-hutan, banyak juga ditanam di kebun, dan di pekarangan yang lapisan tanahnya gembur dan subur serta tidak tergenang air (Yuniarti, 2008:49). Klasifikasi tumbuhan alpukat *Persea americana* Mill. adalah sebagai berikut (Cronquis, 1981:12,45-46):

Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Anak Kelas	: Magnoliidae
Bangsa	: Laurales
Suku	: Lauraceae
Marga	: <i>Persea</i>
Jenis	: <i>Persea americana</i> Mill.
Sinonim	: <i>Persea gratissima</i> Gaertn. f

Nama Daerah : Sumatra : Avokat, advokat, apokat, adpokat (Melayu). Jawa: Alpuket, alpuket (Sunda); apokat, avokat (Jawa) (DepKes RI, 1978:70).

Alpukat termasuk ke dalam salah satu buah yang proses pematangannya berlangsung cepat karena matang sempurna hanya dalam jangka waktu 5-7 hari setelah masa panen (Seymour dan Tucker, 1993:53-81). Dalam masa pertumbuhan sebelum buahnya matang, kadar lemak akan bertambah dengan cepat tetapi pada saat waktu tahap matang penambahan kadar lemak menjadi sangat lamban dan akhirnya terhenti sendirinya (Retnasari, 2000:10).

Terjadi perubahan komposisi minyak pada saat buah sudah matang. Lemak jenuh komposisinya akan meningkat dan asam lemak jenuh akan menurun. Peningkatan kandungan minyak dalam mesokarp beberapa minggu setelah buah dikumpulkan dan dapat dikolerasikan dengan umur buah alpukat. Dengan meningkatnya kandungan minyak dalam mesokarp, maka kadar air akan menurun dengan jumlah yang sama, sehingga total persentase minyak dan air tetap stabil selama masa pertumbuhan buah. (Sales dkk., 2000).

Di dalam sebagian besar buah alpukat terkandung lemak tak jenuh tunggal oleat, atau yang lazimnya kita kenal sebagai omega-9. Lemak jenis ini terbukti mampu menurunkan kelebihan “kolesterol jahat” LDL secara efektif. Efektifitas alpukat dalam menurunkan kadar “kolesterol jahat” juga dipacu oleh kandungan serat yang tinggi (Prihatman, 2000:10).

Hiperkolesterolemia adalah peningkatan kadar kolesterol di dalam darah. Kadar kolesterol darah yang tinggi merupakan permasalahan yang cukup serius sebab merupakan salah satu dari faktor resiko yang paling utama untuk terjadinya penyakit

jantung koroner, ataupun merokok dan tekanan darah tinggi. Kadar kolesterol dapat dikatakan hiperkolesterolemia bila kadarnya melebihi 239 mg/dL (Anwar, 2004).

Hiperkolesterolemia ini dapat terjadi karena adanya gangguan metabolisme lemak yang menyebabkan peningkatan kadar lemak darah yang dapat disebabkan karena defisiensi enzim lipoprotein, lipase, defisiensi reseptor LDL atau dapat disebabkan oleh ketidaknormalan genetika yang menghasilkan kenaikan yang drastis dalam produksi kolesterol hati atau penurunan kemampuan hati untuk membersihkan kolesterol dari darah (Huda, 2008).

Pengobatan hiperkolesterolemia selain dengan obat hipolipidemik juga dapat dengan cara non farmakologis seperti diet, olahraga, serta dengan mempertahankan berat badan yang ideal. Diet rendah kalori yang diimbangi dengan makanan yang kaya akan serat merupakan alternative yang utama dalam upaya menanggulangi kegemukan atau yang sering disebut obesitas. Bahan makanan seperti sayur-sayuran dan buah-buahan yang banyak mengandung serat tinggi, terutama jenis serat yang larut di dalam air seperti contohnya pektin (Sulistijani, 1998:1-7).

C. Metodologi Penelitian

Penelitian kandungan minyak nabati buah alpukat matang dan aktivitas antihiperlipidemia dilakukan di Laboratorium Farmasi Universitas Islam Bandung. Alpukat yang digunakan diperoleh dari Kebun Koleksi Tanaman Rempah dan Obat Manoko Lembang Bandung. Hewan uji yang digunakan adalah Mencit (*Mus musculus* L.) jantan albino Galur Swiss Webster. Metode penelitian dilakukan dengan beberapa tahap yaitu penyiapan bahan, pengujian parameter mutu simplisia, ekstraksi menggunakan alat refluks, pengujian parameter minyak, proses pemurnian minyak dan analisis kandungan asam lemak menggunakan alat kromatografi gas spektrometri massa (GC-MS). Sedangkan untuk pengujian antikolesterol meliputi tahap pemilihan mencit, perlakuan sebelum pemberian induksi, pemberian induksi, pengujian aktivitas isolat minyak daging buah alpukat terhadap kadar kolesterol dalam darah hewan uji.

Adapun tahapan dalam penyiapan yang dilakukan yaitu determinasi bahan yang digunakan, kemudian pengumpulan bahan. Determinasi dilakukan di Jurusan Biologi, Universitas Padjajaran. Selanjutnya dilakukan pengupasan buah, pemisahan daging buah alpukat dari bijinya, perajangan, dan selanjutnya pengeringan dengan menggunakan alat pengering.

Pengujian beberapa parameter yang dilakukan yaitu uji parameter spesifik berupa makroskopik dan mikroskopik, dan pengujian non spesifik meliputi pemeriksaan kadar abu, kadar air dan susut pengeringan. Simplisia diekstraksi dengan menggunakan alat refluks serta menggunakan pelarut n-heksana. Setelah diperoleh minyak alpukat, terlebih dahulu dilakukan parameter pengujian organoleptis, pengujian bilangan peroksida, bilangan asam dan bobot jenis (BJ). Selanjutnya dilakukan proses pemurnian minyak.

Sebagian minyak murni digunakan untuk uji aktivitas anti-kolesterol pada mencit yang telah dikelompokkan dan diinduksi dengan Propyltiourasil (PTU), serta pakan yang mengandung kolesterol dalam kadar yang tinggi selama sekitar 10 hari. Selanjutnya masing-masing kelompok selama 7 hari mengalami perlakuan dengan setiap harinya diberi minyak hasil pemurnian, kemudian sampel darah diambil sebelum dan sesudah mendapatkan perlakuan. Kadar kolesterol total dalam serum darah diukur dengan menggunakan *stript test*. Data yang diperoleh kemudian diolah secara statistik.

D. Hasil Penelitian

Buah alpukat matang (*Persea americana* Mill.) diambil dari Kebun Percobaan Manoko Lembang Bandung. Buah yang digunakan pada penelitian ini adalah buah matang sebanyak 5kg buah. Buah alpukat matang adalah buah yang telah diperam pada ruangan dengan suhu $\pm 26^{\circ}\text{C}$ selama 7 hari, kulitnya yang awalnya berwarna hijau berubah menjadi warna ungu, ketika ditekan dagingnya tidak keras dan berwarna kuning kehijauan.

Sebelum digunakan buah alpukat tersebut terlebih dahulu dideterminasi di Herbarium Jatinangor, Universitas Padjajaran. Hal tersebut bertujuan untuk memastikan kebenaran bahan yang akan digunakan untuk penelitian.

Berdasarkan hasil identifikasi dan determinasi yang dilakukan kemudian membandingkan ciri-ciri tumbuhan dengan herbarium dan data pustaka diketahui bahwa benar sampel tumbuhan yang digunakan tersebut adalah *Persea americana* Mill dengan nama sinonim *Persea edulis* Raf., nama umum Alpukat, dan merupakan keluarga Lauraceae.

Adapun hasil penelitian yang berupa parameter spesifik terhadap buah alpukat matang secara makroskopik di dapatkan bentuk buah seperti bola lampu sampai bulat telur, warna kulit hijau kekuningan, warna daging buah kuning pucat kehijauan, beratbuah 202,8, panjang buah 8,45 cm, serta diameter buah 7,09 cm. Hasil pemeriksaan buah secara mikroskopik terdapat butir minyak, sel parenkim, dan terdapat sel batu.

Dilakukan juga penapisan fitokimia terhadap daging buah yang didapatkan hasil bahwa daging buah alpukat positif golongan steroid dan triterpenoid. Selanjutnya dilakukan parameter standart simplisia berupa kadar abu dengan hasil penetapan sebesar 3,34%, kadar air sebesar 9,6% serta susut pengeringan sebesar 8,19%. Dilakukan pula penetapan hasil parameter mutu minyak yang dihasilkan sebagai berikut:

Tabel D.1. Hasil penetapan mutu minyak

Parameter Standar mutu minyak	Minyak Alpukat Matang
Organoleptis :	
Warna	Hijau kekuningan
Bau	Bau khas tidak menyengat
Bilangan asam	3,6%
Bilangan peroksida	39,60 mekiv O/kg
Bobot jenis	1,09 gram/cm ³

Selanjutnya dilakukan analisis menggunakan alat kromatografi gas spektrometri massa (GC-MS) untuk mengetahui kandungan asam lemak yang terdapat pada minyak buah alpukat, dari analisis diatas didapatkan kandungan asam lemak yaitu Asam Oktadekanoat (1,26%), Asam 9-Heksadekanoat (4,72%), Asam Cis 9,12-Oktadekadienoat (9,5%), Asam Heksadekanoat (26,86%), dan Asam Cis 9-Oktadesenoat (52,85%).

Lalu kemudian minyak yang sudah dimurnikan di uji aktivitas antihiperlipidemia pada hewan uji, dengan di dapatkan hasil pengujian sebagai berikut :

Tabel D.2. Hasil rata-rata pengukuran kadar kolesterol dalam darah

Kelompok	Kadar Kolesterol Total (mg/dL)		
	Sebelum	Sesudah	Sesudah
	Induksi PTU $\bar{x} \pm SD$	Induksi PTU $\bar{x} \pm SD$	perlakuan $\bar{x} \pm SD$
Kontrol Negatif*	155,8 $\pm$ 13,007	178,6 $\pm$ 16,072	213,1 $\pm$ 17,196
Pembanding	199,7 $\pm$ 14,275	213,2 $\pm$ 12,873	194,1 $\pm$ 15,401
Minyak alpukat 100%	196 $\pm$ 30,806	221,2 $\pm$ 17,796	183,8 $\pm$ 8,877
Minyak alpukat 50%	175,8 $\pm$ 24,098	207,8 $\pm$ 25,344	182,10 $\pm$ 8,672

*Kontrol negatif tidak mendapatkan induksi PTU dan Minyak/obat

Pembahasan

Buah alpukat yang telah terkumpul dikupas kulit buahnya dan bijinya dipisahkan dari daging buah. Kemudian daging buah tersebut diambil untuk selanjutnya digunakan sebagai bahan penelitian. Dari 5kg buah alpukat diperoleh 890 gram daging buah alpukat matang.

Dilakukan pengolahan pada daging buah dengan cara pengeringan menggunakan lemari pengering. Dari 890 gram simplisia basah diperoleh simplisia kering sebanyak 696,45gram.

Pemeriksaan makroskopik meliputi karakteristik berupa bentuk, warna, berat, dan ukuran. Pengukuran panjang dan diameter dilakukan dengan menggunakan alat ukur jangka sorong. Pemeriksaan mikroskopik dilakukan terhadap preparat irisan buah segar dan serbuk simplisia dengan menggunakan mikroskop untuk melihat fragmen khas yang terdapat pada tumbuhan tersebut.

Penapisan fitokimia bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa kimia yang terdapat dalam tumbuhan. Berdasarkan hasil penapisan fitokimia yang dilakukan terhadap simplisia daging buah alpukat matang menunjukkan bahwa hampir semua golongan senyawa kimia tidak terdeteksi kecuali golongan steroid yang terdapat dalam simplisia daging buah alpukat matang.

Penetapan kadar abu diketahui bahwa hasilnya memenuhi persyaratan kadar abu khusus tumbuhan alpukat yaitu tidak lebih dari 4,9% (DepKes, 1978:76). Penetapan kadar air diketahui berdasarkan hasil penetapan kadar air simplisia telah memenuhi syarat yaitu tidak lebih dari 10% (DepKes, 1978:76). Berdasarkan hasil penetapan kadar susut pengeringan yang dilakukan diperoleh hasil yang lebih kecil dari kadar air. Hal ini dapat disebabkan oleh adanya kandungan air yang terdapat dalam buah terikat pada senyawa yang terkandung pada buah.

Sebanyak 696,45 gram simplisia buah alpukat matang di ekstraksi menggunakan refluks dengan pelarut n-heksan pada suhu 70°C karena minyak akan terekstraksi dalam suhu panas. Suhu yang digunakan untuk mengekstraksi dibatasi hingga 70°C karena jika lebih dari 70°C akan menyebabkan kerusakan minyak (Lubis, 2015:9). n-heksan digunakan sebagai pelarut karena memiliki sifat yang sama dengan minyak yaitu non polar. Dari proses tersebut dihasilkan ekstrak pekat (minyak) buah alpukat matang sebanyak 122,87 gram. Setelah dihitung kesetaraannya dengan berat kering simplisia daging buah alpukat matang diperoleh rendemen sebesar 23,917% untuk minyak alpukat matang.

Dilihat dari hasil penetapan standar mutu minyak secara keseluruhan dapat dinyatakan bahwa mutu minyak tidak memenuhi persyaratan. Sehingga Untuk

memperoleh minyak yang memenuhi persyaratan dan bermutu baik, minyak dan lemak kasar harus dimurnikan dari bahan-bahan atau pengotor yang terdapat di dalamnya. Oleh karena itu dilakukan pemurnian untuk memperbaiki mutu minyak tersebut. Salah satu cara yang dilakukan pada pemurnian ini adalah netralisasi. Netralisasi merupakan cara yang efektif untuk memperbaiki mutu minyak.

Proses netralisasi dilakukan dengan menambahkan larutan NaOH ke dalam minyak sehingga dapat bereaksi dengan asam lemak bebas membentuk sabun yang tidak larut dalam minyak dan terjadi pengendapan sehingga mudah dipisahkan dari minyak. Jumlah penambahan NaOH disesuaikan dengan jumlah asam lemak bebas yang ada di dalam minyak tersebut.

Jika penambahan NaOH berlebih terhadap minyak, maka kelebihan NaOH tersebut dapat mengakibatkan terjadinya proses reaksi hidrolisis TAGs menjadi asam lemak bebas. Hal itu akan menyebabkan turunnya rendemen minyak hasil netralisasi.

Dari **tabel D.2** diatas memperlihatkan hasil pengukuran rata-rata kadar kolesterol dalam darah hewan uji sebelum dan setelah induksi hiperlipidemia, juga setelah pemberian minyak daging buah alpukat atau obat (simvastatin). Selain itu **Tabel D.2** juga ditunjukkan rata-rata hasil perhitungan persen kedekatan kadar kolesterol setelah pemberian minyak atau obat jika dibandingkan dengan sebelum induksi hiperlipidemia, serta rata-rata hasil perhitungan persen penurunan kadar kolesterol setelah pemberian minyak atau obat jika dibandingkan dengan kadarnya setelah induksi hiperlipidemia.

Setelah di uji analisis data statistik menggunakan ANNOVA dengan uji lanjut metode *Tukey* dan uji lanjut *Paried Simple T-Test* diperoleh hasil pada kadar minyak uji 100% dan 50% dapat menurunkan kadar kolesterol dalam darah hewan uji.

E. Kesimpulan

Dari hasil ekstraksi menggunakan metode Refluks didapatkan hasil rendemen sebesar 23,917%, Berdasarkan dari hasil pengujian minyak alpukat matang yang mengandung Asam Cis 9-Oktadekenoat terhadap hewan uji, diketahui bahwa pemberian minyak alpukat dapat menurunkan kadar kolesterol dalam darah.

Disarankan untuk melakukan kembali pengujian aktivitas antihiperlipidemia menggunakan minyak dengan variasi konsentrasi yang lebih luas, agar dapat diketahui kadar efektif dari minyak buah alpukat yang signifikan menurunkan kadar LDL dalam tubuh.

Daftar Pustaka

- Agustinus. (2014). *Manfaat Buah Alpukat Bagi Kesehatan*. <http://lifqual.com/manfaat-buah-alpukat-bagi-kesehatan/> [Diakses tanggal; 27 januari 2014].
- Anwar, T. B. (2004). *Manfaat Diet Pada Penanggulangan Hiperkolesterolemi*. Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara. <http://library.usu.ac.id/> [Diakses tanggal; 16 November 2014].
- Cronquist, A. (1981). *An Integrated System Of Classification Of Flowering Plants*, Columbia University Press, Columbia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia (1978). *Materia Medika Indonesia*, Jilid II, Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.

- Huda, M. S. (2008). Seluk Beluk Kolesterol. <http://www.kafta.web.id/> [diakses tanggal 14 November 2014)
- Ozdemir, F. Dan Topuz, A. (2004) *Changes In Dry Matter, Oil Content and Fatty Acids Coposition Of Avocado During Harvesting Time and Post-Harvesting Ripening Period*, University of Akdeniz, Turkey.
- Puspaningtyas, D. E. (2013). *The Miracle of Fruit*, Agro Media, Jakarta.
- Prihatman, K., (2000). *Tentang Budidaya Pertanian*. Sistem Informasi manajemen Pembangunan di Pedesaan. BAPPENAS.
- Retrinasari, T. A., (2000), *Pengaruh Tebal Rajangan Daging Buah Alpukat (Persea americana Mill) dan Cara Ekstraksi terhadap Rendemen dan Mutu Minyak Alpukat yang Dihasilkan* [Skripsi] Program Studi Teknologi Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Seymour. G. B., and Tucker. G. A. (1993). *Avocado*. In Seymour. G. B., Taylor. J. E., and Tucker. G. A [Editors]. *Biochemistry of Fruit Ripening*. Chapman and Hall. London.
- Soeharto, I., (2004). *Serangan Jantung dan Stroke Hubungan dengan Lemak & Kolesterol*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Sulistijani, D.A (1998). Sehat dengan Menu Berserat. Jakarta. *Trubus Agriwidya*. 22 mei
- Yuniarti, T., (2008). *Ensiklopedia Tanaman Obat Tradisional*. Yogyakarta: Media Pressindo