

Skrining Senyawa Kimia dan Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol Teripang Kridou Bintik (*Bohadschia argus* Jeager) Asal Pantai Harlem Kabupaten Jayapura, Papua

APIANUS KILUNGGGA^{1,2*}, LINUS Y. CHRYSTOMO^{1,3}, PUGUH SUJARTA^{1,3}

¹Program Studi Magister Biologi S2 Universitas Cenderawasih, Jayapura.

²Balai Besar Konservasi Sumber Daya Alam (BBKSDA) Provinsi Papua.

³Jurusan Biologi, Fakultas MIPA Universitas Cenderawasih, Jayapura.

Diterima: 15 Januari 2019 – Disetujui: 22 Maret 2019
© 2019 Jurusan Biologi FMIPA Universitas Cenderawasih

ABSTRACT

The *Bohadschia argus* Jeager contains bioactive compounds that have the potential as antibiotics, antibacterial, antitumor, anticoagulants and anesthetics and alleviate cancer. This study aims to determine the content of chemical compounds group and to test the cytotoxic activity of ethanol extract of *Bohadschia argus* Jeager. The method for determining the group of chemical compounds was used the color reaction and precipitation using chemical reagents. The method for testing cytotoxic activity using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT), this method commonly was used to test the safety of the use of natural ingredients as traditional medicine. The results of screening of the chemical compound group of *Bohadschia argus* Jeager extract showed that the extract contained a lot of alkaloids secondary metabolites and few saponins. The results of testing of cytotoxic activity showed LC₅₀ value of 878.22 ppm. Base on the results of this study it can be concluded that the ethanol extract of *Bohadschia argus* Jeager has significant cytotoxic activity against *Artemia salina* Leach, so it can be considered as a chemotherapeutic agent.

Key words: Screening, chemical compounds, ethanol extract, *B. argus*, BSLT.

PENDAHULUAN

Papua merupakan salah satu wilayah di Indonesia bagian timur yang memiliki luas 416.129 km² dengan tingkat keanekaragaman tumbuhan dan hewan yang sangat tinggi. Penelitian, pengembangan dan pemanfaatan bahan alam yang berasal dari hewan di wilayah ini masih sangat sedikit dilakukan (Kartikasari *et al.*, 2012).

Aplikasi bioteknologi dalam rangka menghasilkan produk bahan alam yang berasal dari laut semakin meningkat dengan adanya kecenderungan kehidupan umat manusia untuk kembali ke alam (*back to nature*). Kecenderungan tersebut berkembang setelah kita sadar bahwa bahan-bahan yang terdapat di alam bila dipergunakan relatif lebih aman bagi kesehatan ketimbang bahan-bahan sintetis. Pemikiran tersebut sangat beralasan karena produk yang dihasilkan oleh organisme laut umumnya tidak menimbulkan efek samping dan bersifat terurai secara alamiah (*biodegradable*) (Tiwari *et al.*, 2015).

Pengembangan industri farmasi dapat dilakukan dengan menggunakan bahan baku yang berasal dari berbagai jenis bioaktif yang terkandung dalam biota perairan laut, seperti insulin yang diekstrak dari ikan paus dan tuna,

* Alamat korespondensi:

Kantor Balai Besar Konservasi Sumber Daya Alam
Provinsi Papua. Telp.: +6282199385148.
Email: apleskilunga293@gmail.com; E-mail:
chrysyanka@yahoo.com; cak_puguh79@yahoo.co.id

obat cacing yang dihasilkan dari alga (Sakarkar & Deshmukh, 2011; Tiwari *et al.*, 2015).

Salah satu pengobatan tradisional adalah menggunakan bahan alam yang bersumber dari hewan. Pada beberapa pengobatan tradisional seperti pengobatan tradisional di Cina, Ayurveda di India, Unani di Yunani dan Hoemopatby di Jerman, banyak memanfaatkan jenis herpetofauna sebagai bahan obat untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit, misalnya dalam ramuan tradisional Cina yang dikenal *Chan Su* dan *Liu Shen Wan* atau *Senso* di Jepang memanfaatkan beberapa jenis katak seperti *Rana chensinensis*, *Bufo bufogargarizan* untuk menyembuhkan berbagai jenis penyakit seperti kanker, jantung, leukemia, sinusitis dan penyakit lainnya (Sbimizu *et al.*, 2004).

Teripang (*Bohadschia argus* Jeager) memiliki kandungan senyawa bioaktif yang potensial. Selain menjadi bahan makanan, teripang juga mempunyai manfaat sebagai antibiotik, antibakteri, antitumor, antikoagulan, anestesi (Aras, 2013).

Bahan bioaktif di dalam teripang juga dikenal sebagai antioksidan yang membantu mengurangi kerusakan sel dan jaringan tubuh. Kandungan antibakteri dan antifungi atau antikapang, teripang dapat meningkatkan kemampuannya untuk tujuan perawatan kulit. Teripang juga diketahui mempunyai efek antinosiseptif (penahan sakit) dan anti-inflamasi (melawan radang dan mengurangi pembengkakan) (Kustiariyah, 2006).

Teripang merupakan salah satu genus dari filum *Echinodermata* dan merupakan salah satu komoditas perikanan di Indonesia yang sampai saat ini masih sedikit sekali pemanfaatannya menjadi produk yang dapat memberikan nilai tambah baik dari segi kesehatan, ekonomi, ekologi dan sosial. Nilai-nilai ini sangat berguna untuk meningkatkan kesehatan dan kesejahteraan bagi masyarakat (Arlyza, 2009).

Skrining kandungan senyawa kimia metabolit sekunder merupakan langkah awal yang penting dalam penelitian untuk pencarian senyawa bioaktif yang berasal dari bahan alam yang digunakan sebagai prekursor sintesis obat baru.

Metode uji kimia merupakan metode yang sederhana tetapi terandalkan adalah metode reaksi warna dan reaksi pengendapan (Harbourne, 1996). Skrining senyawa kimia ekstrak simplisia dilakukan untuk mengetahui kandungan secara kualitatif senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya. Data skrining senyawa kimia tersebut dapat dijadikan acuan studi awal untuk mencari dan menemukan *leading compound* (senyawa unggulan) yang akan dipakai sebagai bahan obat (Mardany *et al.*, 2016).

Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) merupakan salah satu metode untuk menguji bahan-bahan yang bersifat toksik dan digunakan sebagai suatu bioassay yang pertama untuk penelitian bahan alam. Metode ini menggunakan larva *Artemia salina* Leach sebagai hewan coba. Uji toksisitas dengan metode BST ini merupakan uji toksisitas akut di mana efek toksik dari suatu senyawa ditentukan dalam waktu singkat, yaitu rentang waktu selama 24 jam setelah pemberian dosis uji. Suatu ekstrak dikatakan toksik berdasarkan metode BST jika harga $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/ml}$ (Aras, 2013).

Atas dasar tersebut, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui kandungan golongan senyawa kimia bioaktif yang terdapat dalam ekstrak teripang asal Papua dengan metode skrining golongan senyawa kimia dan untuk uji keamanan penggunaan bahan alam teripang untuk obat tradisional perlu dilakukan uji aktivitas sitotoksik menggunakan metode BSLT.

METODE PENELITIAN

Sampling dilakukan di Pantai Harlem Kabupaten Jayapura, Papua pada bulan September 2017. Penelitian laboratorium dilakukan di Laboratorium Farmasi, Jurusan Farmasi Fakultas MIPA Universitas Cenderawasih bulan September sampai bulan Februari 2018. Skrining atau penapisan golongan senyawa kimia dilakukan dengan menggunakan metode reaksi warna dan pengendapan berdasarkan pereaksi yang digunakan dalam golongan senyawa kimia terhadap ekstrak etanol *B. argus* meliputi pe-



Gambar 1. Teripang Kridou Bintik (*B. argus*) asal Pantai Harlem, Jayapura, Papua.

Tabel 1. Hasil skrining golongan senyawa kimia pada ekstrak etanol *B. argus*.

Golongan senyawa	Hasil skrining
Alkaloid	+
Flavonoid	-
Saponin	+
Kuinon	-
Tanin	-
Steroid/Triterpenoid	-

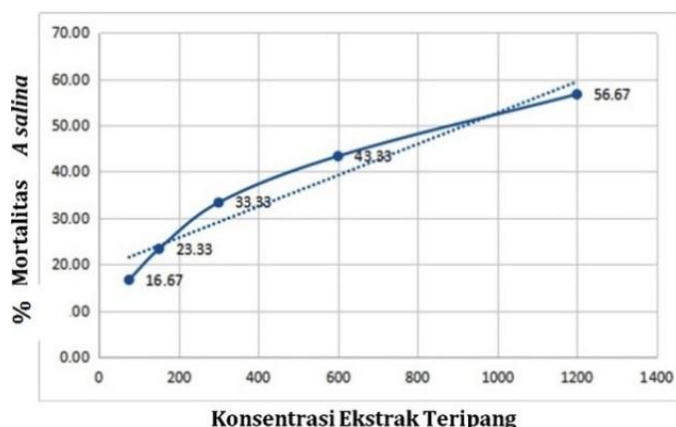
Ket.: (+) terdeteksi, (-) = Tidak terdeteksi.

meriksaan terhadap golongan alkaloid, flavonoid, saponin, kuinon dan tanin (Andriyanto *et al.*, 2016). Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah maserasi karena metode ini tidak menggunakan pemanasan sehingga rusaknya senyawa-senyawa yang tidak tahan panas dapat dihindari. Selain itu cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana. Metode ekstraksi menggunakan cara meserasi dengan pelarut etanol 96%. Proses meserasi selama 3x24 jam dalam suhu kamar (36 °C) dan harus diletakan pada tempat yang gelap. Maserat yang telah dikumpulkan dipisahkan melalui proses evaporasi di mana ekstrak akan dikentalkan menggunakan *hotplate*, selanjutnya dilakukan

pengujian kandungan senyawa kimia (Fransworth, 1996).

Cara kerja untuk menentukan golongan senyawa flavonoid, kuinon, tanin dan saponin dibuat dulu larutan dasar ekstrak dengan menimbang 40 mg ekstrak dimasukkan dalam 100 ml akuades mendidih lalu dipanaskan selama 5 menit di atas *hot plate*. Untuk menentukan golongan senyawa flavonoid ambil 5 ml larutan dasar ekstrak dalam tabung reaksi + 1 ml HCl + 5 ml amylalkohol jika terbentuk warna merah maka positif mengandung flavonoid. Untuk menentukan golongan senyawa kuinon ambil 5 ml larutan dasar ekstrak dalam tabung reaksi + beberapa tetes NaOH 1N jika terjadi perubahan warna menjadi merah maka positif mengandung golongan senyawa kuinon. Untuk menentukan golongan senyawa tanin ambil 5 ml larutan dasar ekstrak dalam tabung reaksi + beberapa tetes FeCl₃ 1% jika terjadi perubahan warna menjadi biru kehitaman maka positif mengandung golongan senyawa tanin. Golongan senyawa saponin ditentukan dengan mengambil 10 ml larutan dasar ekstrak dalam tabung reaksi + 1 tetes HCl 1% kemudian dikocok apabila berbusa dan didiamkan 10 menit dan tetap masih berbusa berarti positif mengandung golongan senyawa saponin. Untuk menentukan golongan senyawa alkaloid 40 mg ekstrak + 5 ml amoniak 25% + 20 ml kloroform, lalu filtratnya yang paling atas dipindahkan ke tabung reaksi lain + pereaksi Dragendorff jika terbentuk endapan berwarna putih maka positif mengandung alkaloid.

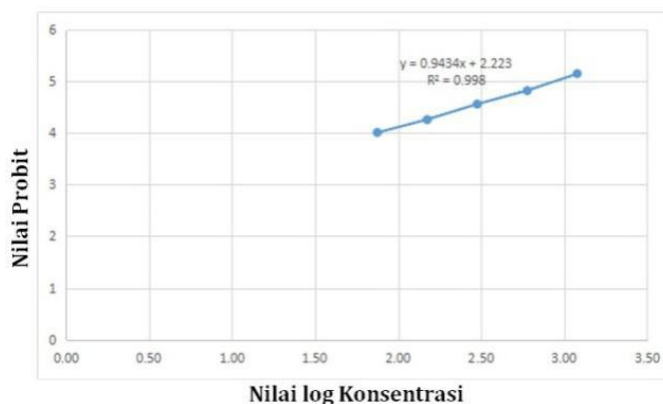
Pengujian aktivitas sitotoksik ekstrak etanol *B. argus* dilakukan dengan menggunakan metode BSLT terhadap hewan uji larva udang laut *Artemia salina* Leach. Cara kerjanya sebagai berikut, pertama membuat larutan stok ekstrak 1200 ppm sebanyak 100 ml dengan pelarut etanol 96 % kemudian dengan teknik pengenceran dibuat beberapa konsentrasi larutan ekstrak dalam botol vial untuk perlakuan yang terdiri dari larutan konsentrasi ekstrak 75, 150, 300, 600, 1200 ppm dan 0 ppm (tanpa ekstrak) sebagai kontrol, masing-masing sejumlah 10 ml + 2 tetes DMSO agar ekstrak larut sempurna kemudian di vortex dan masing-masing konsentrasi dibuat 3 ulangan



Gambar 2. Grafik hubungan konsentrasi ekstrak dengan % mortalitas *A. salina*.

Tabel 2. Hasil uji *BSLT* ekstrak etanol *B. argus*.

Konsentrasi (ppm)	log Konsentrasi	% kematian	Nilai Probit	Persamaan Garis	LC ₅₀ (ppm)
75	1.88	16.67	4.01	y = 0,9434x + 2,23 R ² = 0,998	878.22 ppm
150	2.18	23.33	4.26		
300	2.48	33.33	4.56		
600	2.78	43.33	4.82		
1200	3.08	56.67	5.15		



Gambar 3. Grafik hubungan nilai log konsentrasi dengan nilai probit.

lalu pelarutnya diuapkan sampai kering. Masing-masing botol vial kemudian diberi media air laut 1 ml lalu divortex selama 1 menit dan ditambahkan lagi air laut sampai menjadi 5 ml. Masing-masing botol vial yang berisi media air laut dengan konsentrasi ekstrak perlakuan dan yang tanpa ekstrak diisi sepuluh ekor larva *A. salina* yang berumur 48 jam yang sehat (bergerak aktif) dan

dipilih secara acak. Kemudian semua botol vial diberi penerangan dan setelah 24 jam diamati jumlah hewan uji (larva *A. salina*) yang mati. Lalu dihitung % mortalitasnya untuk menentukan nilai probitnya, untuk menentukan persamaan persamaan garis regresi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil skrining golongan senyawa kimia alkaloid dalam ekstrak etanol *B. argus* menunjukkan hasil positif karena menunjukkan reaksi adanya endapan berwarna putih. Pemeriksaan flavonoid dengan larutan C yang ditambah serbuk Magnesium dan HCl menunjukkan hasil yang negatif karena tidak ada reaksi perubahan warna merah, kuning atau orange. Pemeriksaan saponin menggunakan larutan C ditambah HCl menunjukkan hasil positif karena setelah dikocok secara vertikal terbentuk busa walaupun sedikit. Pemeriksaan tanin menggunakan larutan C ditambah FeCl₃ menunjukkan hasil negatif karena tidak ada reaksi perubahan warna menjadi biru atau hijau kehitaman. Pemeriksaan kuinon menggunakan larutan C ditambah NaOH menunjukkan hasil negatif karena tidak ada reaksi perubahan warna menjadi merah. Jadi menurut Harbourne (1996) dan Andriyanto (2016) bahwa reaksi perubahan warna dan pengendapan pada pengujian golongan senyawa kimia tersebut di atas menunjukkan ekstrak etanol *B. argus* mengandung golongan senyawa kimia alkaloid yang signifikan dan sedikit saponin (Tabel 1).

Menurut Sharma & Paliwal (2013), saponin berdasarkan beberapa tindakan apoptosis pada sel-sel kanker, banyak memberikan efek sebagai agen antikanker. Selain itu juga senyawa aktif saponin dapat menurunkan tegangan permukaan selaput saluran pencernaan sehingga dinding saluran pencernaan menjadi rusak (Simanjuntak *et al.*, 2016), sedangkan saponin tertentu dapat digunakan sebagai bahan baku untuk sintesis hormon steroid (Robinson, 1991).

Hasil pengujian aktivitas sitotoksik dengan menggunakan metode *BSLT* menunjukkan hasil

yang signifikan dengan nilai LC_{50} sebesar 878,22 ppm. Menurut Gerand *et al.* (1992) suatu zat murni hasil isolasi dikatakan aktif atau toksik bila nilai LC_{50} kurang dari 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$, sedangkan menurut (Doyle *et al.*, 2000) suatu ekstrak dikatakan aktif jika LC_{50} kurang dari 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$. LC_{50} (*Lethal Concentration 50*) merupakan konsentrasi zat yang menyebabkan terjadinya kematian pada 50 % hewan percobaan yaitu larva *A. salina*. Nilai LC_{50} diperoleh dari nilai antilog x dari persamaan garis regresi antara konversi nilai log konsentrasi dari konversi konsentrasi dengan nilai probit dari konversi mortalitas, setelah memasukkan $y=5$ kematian 50% hewan uji (Gambar 2; Tabel 2; Gambar 3). Menurut Doyle & Griffiths (2000) suatu ekstrak dikatakan aktif jika LC_{50} kurang dari 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$. LC_{50} merupakan konsentrasi zat yang menyebabkan terjadinya kematian pada 50 % hewan uji yaitu larva *A. salina*. Meyer *et al.* (1982) juga melaporkan bahwa suatu ekstrak menunjukkan aktivitas ketoksikan dalam BSLT jika ekstrak dapat menyebabkan kematian 50% hewan uji pada konsentrasi kurang dari 1000 ppm. Mekanisme kematian larva diperkirakan berhubungan dengan fungsi senyawa alkaloid dalam teripang kridou bintik (*B. argus*) yang dapat menghambat daya makan larva (*antifeedant*/pengelak makanan). Cara kerja senyawa-senyawa tersebut adalah dengan bertindak sebagai *stomach poisoning* atau racun perut. Oleh karena itu, bila senyawa-senyawa ini masuk ke dalam tubuh larva, alat pencernaannya akan terganggu. Selain itu, senyawa ini menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva. Hal ini mengakibatkan larva gagal mendapatkan stimulus rasa sehingga tidak mampu mengenali makanannya sehingga larva mati kelaparan (Rita, 2008; Cahyadi, 2009).

Nilai LC_{50} dari ekstrak *B. argus* yang lebih kecil dari 1000 ppm menunjukkan bahwa ekstrak tersebut mempunyai potensi aktivitas sitotoksik yang dapat dikembangkan sebagai bahan obat.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa Ekstrak etanol teripang kridou bintik

(*B. argus*) asal Pantai Harlem, Papua mengandung senyawa bioaktif golongan alkaloid dan saponin. Ekstrak etanol teripang kridou bintik memiliki potensi aktivitas sitotoksik yang dapat dikembangkan sebagai bahan obat.

DAFTAR PUSTAKA

- Andriyanto, E.B., Ardiningsih, P., dan Idiawati, N. 2016. Skrining fitokimia ekstrak daun belimbing hutan (*Baccaurea angulata* Merr). *JKK*. 5(4) : 9-13.
- Aras, R.S., 2013. Uji toksisitas ekstrak teripang *Holothuria Scabra* terhadap *Artemia Salina*. [Skripsi]. Universitas Hasanudin. Makasar.
- Arlyza, I.S. 2009. Teripang dan bahan aktifnya. *Oseana* 34(1): 9-17.
- Cahyadi, R. 2009. Uji toksisitas akut ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST). [Skripsi]. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Doyle, A. dan J.B. Griffiths. 2000. *Cell and tissue culture for medical research*. John Willey and Sons. New York.
- Fransworth, N.R. (1996). Biological and phytochemical screening of plants. *Journal of Pharmaceutical Science*. 55(3): 257-259.
- Gerand, R.I., N.H. Greenberg, M.M. MacDonald, A.M.Schumacher and B.J. Abbott. 1992. Protocol for screening chemical agents and natural product against animal tumors and Other Biological System. *Cancer Chemother*. 3: 59-61.
- Harbourne, J.B. 1996. *Metode fitokimia penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*. Edisi kedua. ITB, Bandung.
- Kartikasari, S.N., A.J. Marshall, dan B.M. Beehler, (Eds.). (2012). *Ekologi Papua*. Jakarta. Yayasan Pustaka Obor Indonesia dan Conservation International. Jakarta.
- Kustiariyah. 2006. *Isolasi, karakterisasi dan uji aktivitas biologis senyawa steroid dari teripang sebagai apodisiaka alami*. [Thesis]. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Mardany, M.P., L.Y. Chrystomo and A.K. Karim. 2016. Skrining fitokimia dan uji aktivitas sitotoksik dari tumbuhan sarang semut (*Myrmecodia beccarii* Hook.f) asal Kabupaten Merauke. *Jurnal Biologi Papua*. 8(1): 13-22.
- Meyer, B.N., N.R. Ferigni, J.E. Putnam, L.B. Jacobsen, D.F. Nichols, and J.L. Mclaughlin. 1982. Brine shimp a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica*. 45: 31-34.
- Rita, W.S. 2008. Isolasi dan identifikasi senyawa yang berpotensi sebagai antitumor pada daging buah pare (*Momordica charantia* L.). *J. Kimia*. 2(2): 6-11.
- Robinson, T. 1991. Kandungan organik tumbuhan tinggi (Terjemahan: K. Padmawinata). Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Sakarkar, D.M and V.N. Deshmukh. 2011. Ethnopharmacological review of traditional medicinal plants for

- anticancer Activity. *International Journal of Pharm Tech Research*. 3(1) : 298-308.
- Sbimizu, Y., E. Inoue and C. Ito. 2004. Effect of the water-soluble and non-dialyzable fraction isolated from *Sesuvium portulacastrum* (Chan Su) on lymphocyte proliferation and natural killer activity in C₃H mice. *Biol. Pharm. Bull.* 27(2): 256-269.
- Sharma, V., dan R. Paliwal. 2013. Isolation and characterization of saponins from *Moringa oleifera* (Moringaceae) Pods. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 5(1) : 179-183.
- Simanjuntak, T.L., A.K. Karim, dan L.Y. Chrystomo. 2016. Potensi dan pemanfaatan daun Jilat Yapen (*Villebrunea* sp.: *Urticaceae*) secara tradisional oleh masyarakat Kepulauan Yapen dan uji aktivitas toksisitas. *Prosiding Seminar Nasional Biologi 2016*. Universitas Hasanuddin, Makassar. Hal. 205-214.
- Tiwari, A., S. Singh, and S. Singh. 2015. Phytochemical investigation of *Caltropis procera* flower extract. *International Journal of Pharmacy & Life Sciences*. 6(2): 4265-4267.