

UJI TOKSISITAS DARI EKSTRAK LAMUN JENIS *Thalassia hemprichii* DARI PERAIRAN KALASEY DENGAN MENGGUNAKAN METODE BRINE SHRIMP LETHALITY TEST

(Toxicity test of a species of *Thalassia hemprichii* from Kalasey waters using the Brine Shrimp Lethality Method)

Faradila Y. Karim, Nickson J. Kawung, Billy T. Wagey

Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Unsrat, Manado, 95115.

*Corresponding author: bwagey@yahoo.com

ABSTRACT

Bioactive compounds that are suspected of having anticancer activity are first tested for activity by means of a toxicity test. The purpose of this test is to obtain data on the ability of the activity of a bioactive compound to kill cells at small doses so as to obtain a lethal concentration or lethal data. These two measurements are often called LC₅₀ or LD₅₀, concentrations that can kill 50% of test animals. This study aims to test the cytotoxic activity of *Thalassia hemprichii* seagrass extract using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method.

The results of the study showed that the mortality of *Artemia salina* larvae was influenced by the concentration of the test, meaning that the higher the concentration the more test animals died. Furthermore, the results of the probit analysis contained the toxicity activity of bio active compounds from seagrasses where the LC₅₀ was 3.95 mg / l. A substance is declared to have the potential for cytotoxic activity if it has a value of LC₅₀ at concentrations <1000 ppm for extracts and at concentrations <30 ppm for a compound.

Keyword: *Cytotoxic Activity, Thalassia hemprichii, Brine shrimp Lethality Test (BSLT)*

Senyawa bioaktif yang diduga memiliki aktivitas antikanker terlebih dahulu dilakukan pengujian aktivitas dengan cara uji toksisitas. Tujuan dari pengujian ini adalah untuk mendapatkan data kemampuan aktivitas suatu senyawa bioaktif untuk membunuh sel pada dosis yang kecil sehingga diperoleh data lethal konsentrasi atau lethal dosis. Kedua ukuran ini sering disebut LC₅₀ atau LD₅₀, konsentrasi yang dapat membunuh 50% hewan uji. Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas sitotoksik ekstrak lamun *Thalassia hemprichi* dengan menggunakan metode Brine Srimp Lethality Test (BSLT)

Hasil penelitian yang dilakukan menunjukkan bahwa mortalitas larva *Artemia salina* dipengaruhi oleh konsentrasi uji, artinya makin tinggi konsentrasi makin banyak hewan uji yang mati. Selanjutnya hasil analisis probit terdapat aktivitas toksisitas senyawa bio aktif dari lamun dimana LC₅₀ sebesar 3.95mg/l. Suatu zat dinyatakan mempunyai potensi aktivitas sitotoksik jika mempunyai harga LC₅₀ pada konsentrasi < 1000 ppm untuk ekstrak dan pada konsentrasi < 30 ppm untuk suatu senyawa.

Kata Kunci : *Aktivitas Sitotoksik, Thalassia hemprichi, Brine Srimp Lethality Test (BSLT)*

PENDAHULUAN

Laut memiliki sumberdaya alam yang berpotensi untuk dikembangkan guna kebutuhan hidup manusia. Sumber daya hayati laut yang sudah dikenal dan dimanfaatkan sejak dahulu adalah sumber daya perikanan, padahal laut juga menyimpan banyak substansi bioaktif yang dapat digunakan dalam bidang kesehatan dan farmasi serta memiliki nilai ekonomi yang tinggi. Penemuan senyawa bioaktif yang berasal dari organisme laut menjadi perhatian bagi para peneliti dalam bidang Farmakologis (Kawung, 2017).

Umumnya senyawa obat-obatan yang berasal dari tumbuhan dan hewan dapat berupa, alkaloida, steroid, glikosida, terpen, bahkan antibiotika, baik dari organisme tingkat tinggi maupun organisme tingkat rendah. Pemanfaatan tumbuhan dan hewan sebagai sumber obat-obatan dengan tujuan untuk memperkecil efek samping yang ada atau sama sekali tidak memiliki efek samping bila dibandingkan dengan obat-obatan sintesis.

Salah satu upaya yang dilakukan pemerintah dalam penanggulangan penyakit adalah membina dan mengembangkan pemanfaatan sumber daya alam sebagai bahan baku obat (Anonim, 2016). Dimana dengan semboyan "back to natural" merupakan salah satu dari sekian solusi pemecahan masalah kesehatan khususnya dalam penemuan obat-obatan (Tambaru, 2017).

Lamun (Hilamun) merupakan salah satu biota laut yang sangat melimpah dan terdapat di daerah pesisir. Lamun (hilamun) merupakan tumbuhan laut, sangat tinggi walaupun sampai saat dimana semua tumbuhan umumnya mengandung metabolit sekunder

yang berpotensi sebagai senyawa bioaktif dan dapat digunakan dalam bidang farmasi. Tumbuhan lamun merupakan salah satu ekosistem yang subur dan cukup potensial untuk dapat dimanfaatkan. Padang lamun adalah salah satu habitat yang penting bagi komunitas ikan. Banyak spesies ikan yang berasosiasi dengan padang lamun.

Penelitian tentang lamun di Indonesia pada umumnya masih berorientasi tentang sebaran, keanekaragaman, dan aspek ekologi (Wagey, 2013^b). Kajian tentang senyawa organik dari lamun dan pemanfaatannya masih sangat kurang. Melihat pentingnya biota laut khususnya Hilamun *Thalassia hemprichi* sebagai sumber bahan aktif obat-obatan, maka sangatlah perlu dilakukan penelitian tentang aktivitas sitotoksik dari ekstrak Lamun *Thalassia hemprichi* dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Senyawa bioaktif yang diduga memiliki aktivitas antikanker terlebih dahulu dilakukan pengujian aktivitas dengan cara uji toksisitas.

Tujuan dari pengujian ini adalah untuk mendapatkan data kemampuan aktivitas suatu senyawa bioaktif untuk membunuh sel pada dosis yang kecil sehingga diperoleh data lethal konsentrasi atau lethal dosis. Kedua ukuran ini sering disebut LC_{50} atau LD_{50} , konsentrasi yang dapat membunuh 50% hewan uji. Umumnya uji toksisitas dapat dilakukan pada hewan kecil dan berumur mudah seperti *Artemia*. Pengujian toksisitas dengan menggunakan *Artemia* dikenal dengan metode dioksida, aroma, lipid dan juga sebagai pembawa bahan BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) dengan wadah control. Bila hasil pengujian diperoleh dosis yang sangat kecil dengan aktivitas yang tinggi maka dilanjutkan dengan pengujian sitotoksik yang

menggunakan sel hidup. Tujuan semua pengujian ini memperoleh senyawa antikanker (Setiadi, 2012).

Penyakit kanker tergolong penyakit yang berbahaya dan mematikan karena itu sangat ditakuti oleh masyarakat. Pengobatan yang dilakukan terhadap penyakit ini antara lain dengan kemoterapi dan operasi. Kemoterapi menggunakan obat-obat sintetis bagi para pasien. Obat-obat yang ada sekarang ini kerjanya belum bersifat spesifik artinya masih ada efek samping yang ditimbulkan, karena itu penelitian bahan alam untuk mendapat senyawa bioaktif yang bersifat spesifik sangat perlu dilakukan. Untuk mendapatkan senyawa yang berpotensi antikanker maka dilakukan uji pendahuluan berupa uji toksisitas.

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan:

- Sampel *Thalassia hemprichi*, etanol, larva udang, air laut, aquades dan tisu.
- Alat yang digunakan selama penelitian adalah gelas kimia, Erlenmeyer, autoklaf, mikropipet, rotary evaporator, hot plate, batang pengaduk, timbangan analitik, kertas saring, pinset, aluminium foil, gelas ukur, pipet, hanskun, lampu pijar 25 watt, aerator, alat tulis menulis, dan kamera.

Metode Penelitian

Penelitian ini bentuk percobaan di laboratorium. Analisis data menggunakan analisis probit untuk menentukan nilai LC_{50} . Untuk menghilangkan seluruh pelarut, ekstrak dikeringkan dengan menggunakan hot plate sampai diperoleh ekstrak kering.

Prosedur / tahapan Pembuatan Larutan Uji

Pertama dibuat stok larutan uji 5000 ppm dengan cara menimbang 25 mg ekstrak sampel. Kemudian dilarutkan dengan etanol 2 ml dan aquades 23 ml sehingga mencapai 25 ml. Selanjutnya dibuat pengenceran seri dosis mulai dari 10, 25, 50, 100, ppm dengan mengikuti rumus pengenceran seperti diatas mengikuti persamaan $M_1V_1 = M_2V_2$ (Wahit 1992).

$$V_1 = \frac{M_2V_2}{M_1}$$

Ket :

$V_1 = \dots\dots\dots?$

$V_2 =$ Volume

$M_1 =$ Stok Awal

$M_2 =$ Konsentrasi Uji

Konsentrasi 100 ppm dibuat dengan memipet 100 μ l dari larutan stok kemudian ditambah air laut sampai 10 ml, konsentrasi 50 ppm dibuat dengan memipet 50 μ l dari larutan stok kemudian ditambah air laut sampai 10 ml Konsentrasi 25 ppm dibuat dengan memipet 25 μ l dari larutan stok kemudian ditambah air laut sampai 10 ml konsentrasi 10 ppm dibuat dengan memipet 10 μ l dari larutan stok kemudian ditambah air laut sampai 10 ml.

Prosedur Uji Toksisitas

- Penyiapan Larva Udang *Artemia salina* Leach

Penetasan telur dilakukan pada wadah bening berupa kotak plastic dengan menggunakan media air laut. Telur larva udang ditimbang sebanyak 50 mg lalu dimasukan kedalam wadah kotak plastic yang telah diberi air laut dan aerator untuk ditetaskan. Proses penetasan dilakukan selama 48 jam. Larva udang yang akan diuji diambil dengan menggunakan pipet mikro.

- Pelaksanaan Uji Tosisitas

Pengujian dilakukan secara individual Pengujian dilakukan dengan cara diambil 10 ekor larva udang artemia salina Leach menggunakan pipet mikro lalu dimasukkan kedalam media uji dengan 4 konsentrasi larutan uji yang berbeda. Kemudian dibiarkan selama 24 jam dan diamati. Untuk mendapatkan data persen mortalitas hewan uji maka menggunakan rumus :

persen Mortalitas

$$= \frac{\text{Jumlah rata – rata hewan yang mati}}{\text{Jumlah rata – rata hewan percobaan}} \times 100\%$$

- Analisis Data

Aktivitas toksisitas dianalisis dengan menggunakan analisis probit untuk mendapat nilai LC₅₀, dan disajikan dalam bentuk tabel dan grafik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

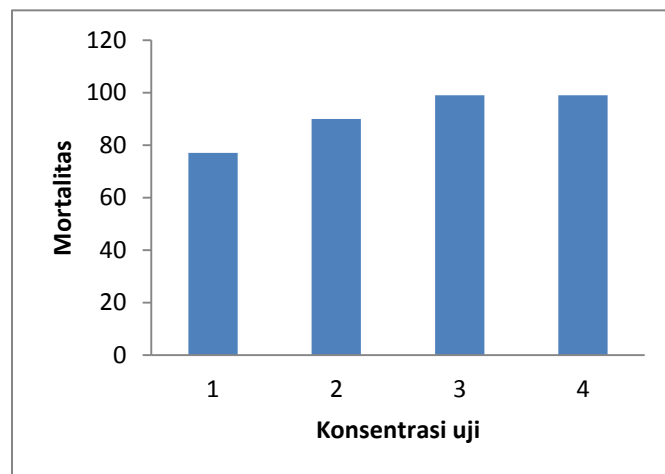
Sampel lamun *Thalassia hemprichi* sp yang yang dijadikan sampel dalam penelitian sebanyak 500 gram berat basah. Sampel tersebut setelah dikeringkan diperoleh berat 350 gram dan diekstraksi senyawa bioaktif dengan menggunakan pelarut etanol 90% .

Ekstrak kasar ditimbang 50 mg sebagai ekstrak uji dan dilarutkan dalam 10 ml aquades, selanjutnya di buat konsentrasi uji. Hasil pengamatan dan perhitungan mortalitas Larva *Artemia salina* dalam berbagai konsentrasi perlakuan ekstrak *Thalassia hemprichi* menunjukkan pengaruh yang berbeda-beda pada tiap konsentrasi terhadap kematian Larva *Artemia salina* (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil Pengamatan Mortalitas Larva Udang *Artemia salina* pada Ekstrak *Thalassia hemprichi*

Ulangan	Mortalitas/Konsetrasi (ppm)			
	10	25	50	100
1	8	8	9	10
2	7	9	10	9
3	8	10	10	10
Jumlah	23	27	29	29
Rata-rata	7,7	9,0	9.9	9.9
% Mortalitas	77	90	99	99

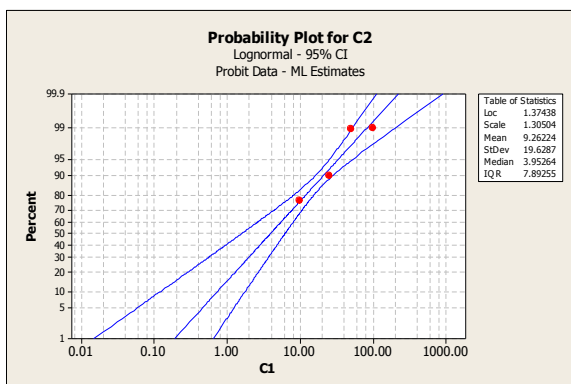
Untuk memperjelas perbedaan mortalitas hewan uji dari setiap konsentrasi ekstrak maka data dari tabel 1 di atas di plotkan dalam sebuah Gambar (Gambar 1) seperti ditunjukkan berikut ini.



Gambar 1. Hubungan konsentrasi uji dengan mortalitas hewan uji

Kematian Larva *Artemia salina* yang ditunjukan pada Tabel 1 dan Gambar 1 di atas dipengaruhi oleh konsentrasi, berdasarkan hasil pengujian yang dilakukan di mana mortalitas Larva *Artemia salina* terkecil terdapat pada konsentrasi 10 ppm dan yang terbesar pada konsentrasi 50 dan 100 ppm.

Kematian Larva *Artemia salina* yang ditunjukan pada Tabel 1 dan Gambar 1 di atas dipengaruhi oleh konsentrasi, berdasarkan hasil pengujian yang dilakukan di mana mortalitas Larva *Artemia salina* terkecil terdapat pada konsentrasi 10 ppm dan yang terbesar pada konsentrasi 50 dan 100 ppm.



Gambar 2. Kurva analisis probit terhadap bioaktivitas toksisitas ekstrak *Thalassia hemprichi*

Hasil pengujian toksisitas ekstrak lamun *Thalassia hemprichi* yang diambil dari perairan pantai Kalasey terhadap larva *Artemia salina* L dengan metode BSLT pada konsentrasi yang berbeda memberikan mortalitas hewan uji yang berbeda, dimana makin tinggi konsentrasi uji kematian hewan uji meningkat, mulai dari konsentrasi 10 ppm sampai 100 ppm. Hasil analisis probit terhadap toksisitas senyawa bioaktif dari lamun *Thalassia hemprichi* diperoleh nilai LC_{50} yaitu 3,95 mg/l, sehingga dapat dikatakan bahwa lamun *Thalassia hemprichi* mengandung senyawa bioaktif yang bersifat toksik dan dapat dikembangkan sebagai bahan baku obat antikanker. Bila dibandingkan dengan hasil penelitian dari Dewi dkk (2012) terhadap lamun *Thalassia hemprichi* yang diambil di perairan pulau pramuka Jakarta diperoleh nilai LC_{50} yaitu 5,74 mg/l nilai ini lebih besar dari nilai yang saya diperoleh dalam penelitian ini. Perbedaan ini kemungkinan disebabkan karena lingkungan tempat tumbuh dari lamun tersebut.

Nursid M., (2009) menyatakan makin kecil nilai IC_{50} senyawa tersebut makin toksik sebaliknya makin besar nilai IC_{50} senyawa tersebut makin kurang toksisitasnya. Kriteria National Cancer

Institut (NCI) suatu ekstrak dikategorikan aktif apabila nilai toksisitasnya (IC_{50}) < 20 $\mu\text{g/ml}$ (Zhmitz dkk., 2001 dalam Kawung 2017).

Senyawa yang bersifat toksik dari lamun *Thalassia hemprichi* diduga adalah senyawa metabolit sekunder seperti yang dikemukakan oleh Dewi dkk., (2012) yaitu senyawa 5,7,3,4- tetrahidroksi glikosida flavon dan 5,7,3- trihidroksiglikosida, flavonoid dan steroid.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dari hasil yang diperoleh dan dibahas maka dapat ditarik kesimpulan yakni sebagai berikut :

Nilai LC_{50} toksisitas dari ekstrak senyawa bioaktif dari lamun *Thalassia hemprichi* terhadap mortalitas *Artemia salina* yaitu 3,95 mg/l. Jika dibandingkan dengan nilai toksisitas Kriteria National Cancer Institut (NCI) suatu ekstrak dikategorikan aktif anti kanker apabila nilai toksisitasnya (IC_{50}) < 20 $\mu\text{g/ml}$

Mortalitas larva *Artemia salina* Leach dipengaruhi oleh konsentrasi ekstrak.

Saran

Perlu dilakukan pemisahan senyawa metabolit sekunder terhadap senyawa aktif antikanker, kemudian dilanjutkan dengan pengujian sel kanker.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 2013 Klasifikasi Larva Udang (*Artemia salina* Leach).
- Anonim 2016. Penyakit Kanker; Jurnal Kesehatan. Yayasan Kanker Indonesia.
- Dewi C.S.U., D. Soedharma, M. Kawaroe. 2012. Komponen Fitokimia dan Toksisitas Senyawa Bioaktif Dari Lamun *Thalassia hemprichi* dan *Thalassia Hemprichii* Dari Pulau

- Pramuka, DKI Jakarta. Jurnal Teknologi Perikanan dan Kelautan. Vol. 3. No. 2 November 2012: 23-27
- Kawung N.J. 2017. Studi Senyawa Antikanker Dari Karang Lunak *Sinularia* Sp. Di Perairan Malalayang Dan Pulau Bunaken Sulawesi Utara. Disertasi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Unsrat-Manado
- Manuputty. 1998. *Beberapa Karang lunak (Alcyonacea) Penghasil Substansi Bioaktif.* Jakarta Puslitbang Oseanologi-LIPI
- Mayer BNNR, Ferrigni ML.1982. brine Shrimp, a convenient general bioassay for active plant constituents, J of Plant Medical Research.
- Mudjiman, A. 1998. *Udang Renik Air Asin.* Bhrata Karya Aksara: Jakarta.
- Murniyanti, 2011. Budidaya Artemia Untuk Pakan Alami Ikan/Perikanan
- Nontji, 1998. Laut Nusantara. Penerbit Erlangga
- Nurhayati, S. dan Y. Lusiyanti., 2006. Apoptosis dan Respons Biologi Sel Sebagai Faktor Prognosa Radioterapi kanker. Pusat Teknologi Keselamatan dan Metrologi Radiasi – BATAN Jalan Cinere Pasar Jumat, Jakarta – 12440
- Nursid, M., D. Fajarningsih dan Th. Wikanta. 2009. *Isolation of Cytotoxic Compound from Nephthea sp.. Soft Coral* . Jurnal of Biotechnology Research in Tropical Rdeion, Vol. 2, No. 1, Apr. 2009 (Sp.ecial Edition) ISSN: 1979-9756. Research Center for Marine and Fisheries Product Processing and Biotechnology, Agency of Marine and Fisheries Research, Jalan KS. Tubun Petamburan VI Jakarta
- Permana Ch., A. Husni, S. A. Budhiyanti. 2016. Aktivitas Antioksidan Dan Toksisitas Ekstrak Lamun *Cymodocea* Sp. Jurnal Teknologi Pertanian Vol. 17 No.
- Ramdhini. 2010. Uji toksisitas terhadap Artemia salina leach dan toksisitas akut komponen bioaktif Pandanus conoideus var.conoideus Lam. Sebagai kandidat antikanker. Jurnal. Surakarta
- Ramadhani, A.N. 2009. Uji Toksisitas Akut Eksrak Etanol Daun Sukun (*Artocarpus altilis*) Terhadap Larva Aetemia salina leach dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test. www.undip.ac.id
- Setiadi A. 2012. Analisis Toksisitas dengan Metode Probit.
- Tungke, U. 2010. Ekosistem Padang Lamun. (Manfaat, Fungsi dan Rehabilitasi). Jur. Ilmiah Agribisnis dan Perikanan. Vol.3 ed.1
- Tambaru W., 2017 Keragaman Jenis Tumbuhan Obat Indigenous Di Sulawesi Selatan. Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan. No 8 Vol. 15 Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar
- Nuryani H & Kensaku T. 2006. Evaluation of Peptide Contribution to the Intense Umami Taste of Japanese Soy Sauces. Journal of Food Science 71(3): 277-283
- Wagey, B.T. 2013. Hिलamun (Seagrass). Unsrat Press. 132 pp
- Wagey, B.T. 2013^b. Variasi Morfometrik Beberapa Jenis Lamun di Perairan Kelurahan Tongkaina Kecamatan Kombi. Journ. Pesisir dan Laut Tropis.