

**BIOASSAY EKSTRAK *Selaginella willdenowii* DENGAN
BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BSLT)**

**BIOASSAY EKSTRAK *Selaginella willdenowii* WITH
BRINE SRIMP LETHALITY TEST (BSLT)**

Wida Witriani¹, Endang L. Widiastuti¹, M Kanedi¹, Nuning Nurcahyani¹

¹ Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Lampung
e-mail: wida_witriani@yahoo.co.id

Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Lampung
Jl. Soemantri Brojonegoro No.1, Bandar Lampung, Lampung, Indonesia, 35145

Abstrak

Selaginella merupakan tumbuhan paku yang banyak tersebar di wilayah Indonesia salah satunya di wilayah Lampung. *Selaginella* memiliki banyak kegunaan diantaranya dapat digunakan sebagai bahan kerajinan tangan, ornamen dan sebagai obat tradisional. Potensi *Selaginella* yang dapat memberikan manfaat positif terutama sebagai obat tradisional belum banyak diketahui dan dioptimalkan penggunaannya oleh masyarakat. Penelitian untuk mengetahui pengaruh toksisitas telah dilakukan dengan Uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Ekstraksi *Selaginella* diambil dengan cara maserasi menggunakan aquades kemudian disaring dan di keringkan hingga menjadi pasta. Pasta *Selaginella* di encerkan dan dibuat menjadi 0,2,4,6,8,10,12, dan 20%. Analisis data menggunakan varian satu arah (ANOVA)($\alpha=0,05$). Uji BSLT diterapkan pada 8 konsentrasi ekstrak *Selaginella* yang berbeda dengan 12 dan 24 jam pengamatan. Pada jam ke 12 konsentrasi 2% menunjukkan nilai mortalitas terendah sebesar 14,28% pada konsentrasi 20% menunjukkan nilai tertinggi sebesar 26,78%, kemudian pada jam ke 24 nilai mortalitas terendah adalah pada konsentrasi 2% sebesar 8,90% dan pada nilai tertinggi pada konsentrasi 20% yaitu sebesar 26,78%. Ekstrak aquades *Selaginella willdenowii* bersifat toksik tetapi toksisitasnya rendah terhadap *Artemia salina* Leach juga tidak menunjukkan perbedaan yang nyata pada konsentrasi rendah.

Kata kunci: *Selaginella willdenowii*, *Artemia salina*, LC_{50} .

Abstract

Selaginella is one of ferns which widely distribute throughout Indonesia including Lampung region. Many uses can be made from *Selaginella* including handycraft, ornaments, as well traditional medicine. Yet, potential use of *Selaginella* as traditional medicine has not been thoroughly explored especially for anticancer. In order to study its toxicity effect the study was conducted by undergone *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). The aim of the study was to determine the lethal concentration of the *Selaginella* extract. Masseration by aquadest was applied for extraction of *Selaginella* followed by dehydration. The paste of *Selaginella* then was diluted and made into 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, and 20 %. The BSLT then was applied to these 8 different concentration of *Selaginella* for 12 and 24 hours observation. ANOVA with $\alpha 5 \%$ was used to analyze the data. The result indicated that in 12 hours of observation the highest mortality (26.78 %) was showed by 20 % *Selaginella* concentration and the lowest mortality (14.28 %) showed by 2 % of *Selaginella* concentration. In 24 hours observation indicated that the highest mortality (26.78 %) was showed by 20 % of *Selaginella* concentration and the lowest mortality (8.90 %) showed by 2 % of *Selaginella* concentration. *Selaginella willdenowii* aquadest extract show any toxic but the low level toxicity on the *Artemia salina* as well it did not significantly different compare to those lower concentrations.

Key words : *Selaginella willdenowii*, *Artemia salina*, LC_{50} .

PENDAHULUAN

Selaginella merupakan salah satu tumbuhan paku yang dapat digunakan sebagai tanaman obat tradisional. *Selaginella* adalah tumbuhan yang mengandung flavonoid yang merupakan antioksidan ampuh sebagai pencegah kanker

dan juga memiliki efek antimikroba. Prinsip suatu tanaman dapat digunakan sebagai antitumor adalah apabila tanaman tersebut mengandung senyawa yang bersifat sitotoksik.

Yohana (2005), mengungkapkan bahwa pengobatan dengan obat tradisional secara u-

mum dinilai lebih aman dibandingkan dengan pengobatan modern, karena efek samping yang ditimbulkan oleh obat tradisional lebih sedikit. Menurut Departemen Kesehatan (2002), obat tradisional tidak dapat dipisahkan dari kehidupan masyarakat Indonesia karena sudah menyatu dengan budaya bangsa serta banyak digunakan di berbagai lapisan masyarakat. Sesuai standar mutu WHO, obat tradisional harus memenuhi beberapa persyaratan meliputi kualitas, keamanan, dan khasiat.

Senyawa yang diduga memiliki khasiat obat seperti sebagai bahan anti kanker, harus diujikan terlebih dahulu pada hewan percobaan. Salah satu langkah awal pengujian adalah dengan menerapkan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), yaitu uji dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach (Meyer *et al*, 2010, Mc Laughlin dan Rogers, 2011, Carballo *et al*, 2005). Metode ini merupakan salah satu metode yang banyak digunakan untuk pencarian senyawa anti kanker baru yang berasal dari tanaman. Hasil uji toksisitas dengan metode ini telah terbukti memiliki korelasi dengan daya sitotoksik senyawa anti kanker (Rahman 2007). Selain itu, metode ini juga mudah dikerjakan, murah, cepat, dan cukup akurat. Bentuk ekstrak dipilih dengan harapan akan didapatkan kandungan senyawa aktif yang ada dalam *Selaginella*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan bahan informasi tentang potensi anti kanker pada *Selaginella* sebagai salah satu tanaman obat tradisional.

BAHAN dan METODE

Persiapan Tanaman *Selaginella*

Sampel paku *Selaginella* diambil di sekitar sungai yang berada di sekitar Taman Hutan Raya Wan Abdul Rachman. Bagian tumbuhan *Selaginella* yang akan digunakan sebagai bahan aktif adalah seluruh bagian tanaman batang, daun, dan akar.

Pembuatan Ekstrak *Selaginella*

Bagian yang dibuat ekstrak merupakan keseluruhan dari bagian tumbuhan yaitu akar, batang dan daun *Selaginella*. Tumbuhan *Selaginella* dikeringkan di dalam oven dengan suhu 40-50 °C selama 5x24 jam sampai benar-benar kering. *Selaginella* yang telah kering dipotong-potong lalu dihaluskan dengan blender kering. Setelah itu direndam (maserasi) menggunakan aquades selama 24 jam kemudian disaring, langkah ini diulang sebanyak 3 kali untuk menghasilkan ekstrak cair *Selaginella*. Ekstrak *Selaginella* dihomogenkan dengan cara digoyang menggunakan shaker selama 24 jam pada kecepatan rendah agar ekstrak benar-benar homogen, kemudian diuapkan di dalam oven dengan suhu

40-50 °C hingga menjadi pasta selanjutnya siap digunakan sebagai larutan stok.

Persiapan Tempat Penetasan Hewan Uji

Tempat untuk menetas *Artemia* dirancang menggunakan botol berukuran 1,5 l, dibagi menjadi dua bagian kemudian bagian atas botol dimasukkan ke dalam badan botol. Bagian tengah botol di lubangi dan diberi selang penghubung pada botol lainnya untuk tempat jalannya *Artemia* yang telah menetas.

Penetasan hewan Uji *Artemia*

dilakukan dengan cara merendam kista dalam bentuk kering di dalam air laut yang diinkubasi dengan menggunakan sinar lampu TL hingga menetas menjadi larva nauplius. Larva nauplius selanjutnya dipisahkan dalam wadah baru, larva yang dapat digunakan sebagai hewan uji adalah larva yang telah berumur 48 jam.

Tempat perlakuan

Tempat yang digunakan untuk perlakuan pada penelitian ini adalah *plate* tetes yang terbuat dari porselin. Satu *plate* tetes memiliki cekungan sebanyak 16 cekungan dengan kedalaman 4 cm. Cekungan ini yang akan diisi *Artemia* sebanyak 14 ekor dan diberi ekstrak *Selaginella*.

Persentase pemberian ekstrak

Penelitian ini menggunakan rancangan acak Lengkap (RAK) dengan 8 perlakuan dan masing-masing perlakuan diulang sebanyak 4 kali. Setiap perlakuan menggunakan *Artemia* sebanyak 14 ekor untuk melihat berapa banyak *Artemia* yang mati sebagai respon toksik tanaman *Selaginella*. Perlakuan tersebut adalah

1. 14 *Artemia* sebagai kontrol tanpa pemberian ekstrak.
2. 14 *Artemia* diberi ekstrak *Selaginella* sebanyak 2%
3. 14 *Artemia* diberi ekstrak *Selaginella* sebanyak 4%
4. 14 *Artemia* diberi ekstrak *Selaginella* sebanyak 6%
5. 14 *Artemia* diberi ekstrak *Selaginella* sebanyak 8%
6. 14 *Artemia* diberi ekstrak *Selaginella* sebanyak 10%
7. 14 *Artemia* diberi ekstrak *Selaginella* sebanyak 12%.
8. 14 *Artemia* diberi ekstrak *Selaginella* sebanyak 20 %

Parameter yang diamati

Parameter penelitian yang digunakan adalah angka mortalitas larva *Artemia*, angka mortalitas dihitung dengan LC₅₀ dengan memasukkan nilai probit (50% kematian). Angka mortalitas larva dihitung dengan rumus berikut :
 Angka mortalitas Larva = (akumulasi mati/jumlah akumulasi hidup dan mati) x 100%

Angka probit dicari dengan menggunakan persamaan garis $y = a + bx$

Keterangan: $y = \log$ konsentrasi
 $x = \text{Angka probit}$

Analisis Data

Data yang diperoleh berupa data kematian *Artemia* yang dianalisis menggunakan varian satu arah (ANOVA) dengan $\alpha=5\%$, untuk mengetahui adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan

HASIL DAN PEMBAHASAN

Nilai Mortalitas *Artemia Salina* Leach

Hasil uji mortalitas larva *Artemia salina* Leach yang telah diberikan perlakuan ekstrak *Selaginella wildenowii* dengan berbagai konsentrasi disajikan pada Tabel 1 berikut :

Tabel 1. Rerata mortalitas larva *Artemia salina* Leach yang telah diberi ekstrak *Selaginella wildenowii* pada 12 jam inkubasi

No.	Konsentrasi	X±SEM (individu)	Nilai Mortalitas (%)
1	0%	0,14±0,028	14,28
2	2%	0,19±0,033	19,64
3	4%	0,21±0,059	21,43
4	6%	0,21±0,028	21,43
5	8%	0,23±0,017	23,21
6	10%	0,23±0,033	23,21
7	12%	0,24±0,020	25,00
8	20%	0,26±0,017	26,78

Keterangan : X ± SEM merupakan nilai rerata mortalitas *Artemia salina* L ± galat dalam %

Nilai mortalitas *Artemia* berkisar antara 14,28-26,68 % pada Tabel 1. menunjukkan bahwa nilai mortalitas *Artemia* yang diberi ekstrak *Selaginella wildenowii* dengan konsentrasi yang berbeda (0%, 2%, 4%, 6%, 8%, 10%, 12% dan 20%) tidak menunjukkan adanya perbedaan yang nyata pada $\alpha = 0,05$.

Pada 12 jam pengamatan semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan maka semakin tinggi tingkat toksisitasnya terhadap *Artemia*. Sesuai dengan teori Harborne (1994) yang menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka akan semakin tinggi sifat toksiknya, sehingga dapat membunuh *Artemia*. Untuk lebih lanjut dilakukan uji dengan inkubasi selama 24 jam, data hasil penelitian terlihat pada Tabel 2.

Tabel 2 menunjukkan waktu inkubasi 24 jam menunjukkan bahwa nilai mortalitas *Artemia* yang diberi ekstrak *Selaginella wildenowii* dengan konsentrasi yang berbeda (0%, 2%, 4%,

6%, 8%, 10%, 12% dan 20%) tidak menunjukan adanya perbedaan yang nyata ($\alpha=0,05$).

Tabel 2. Rerata mortalitas larva *Artemia Salina* Leach yang telah diberi ekstrak *Selaginella wildenowii* pada 24 jam

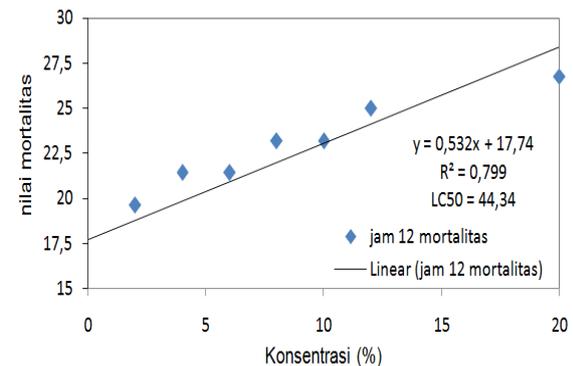
No.	Konsentrasi	X±SEM (individu)	Nilai Mortalitas (%)
1	0%	0,08±0,017	8,90
2	2%	0,16±0,059	16,07
3	4%	0,23±0,033	23,21
4	6%	0,23±0,033	23,21
5	8%	0,23±0,033	23,21
6	10%	0,24±0,067	25,00
7	12%	0,24±0,020	25,00
8	20%	0,26±0,017	26,78

Keterangan : X ± SEM merupakan nilai rerata mortalitas *Artemia salina* L ± galat dalam %

Hal yang sama juga ditunjukkan pada inkubasi 24 jam, yaitu semakin tinggi konsentrasi yang digunakan semakin tinggi tingkat toksisitasnya. Harmita dan Radji (2008) menyatakan bahwa ekstrak *Selaginella wildonevii* dikategorikan sebagai tumbuhan yang cukup toksik. Efek toksik diduga karena kandungan bahan bioaktif yang terkandung di dalam ekstrak *Selaginella*, di antaranya saponin dan alkaloid. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak *Selaginella wildenovii* memiliki kandungan saponin yang lebih banyak dibandingkan ekstrak *Selaginella plana* dan *Selaginella ornata* (Chikmawati *et al.* 2009) Bahan bioaktif lainnya yaitu alkaloid yang mempunyai rasa pahit dan berfungsi sebagai anti serangga yang diduga juga dapat mempengaruhi efek toksik (Zuhud *et al.* 2006).

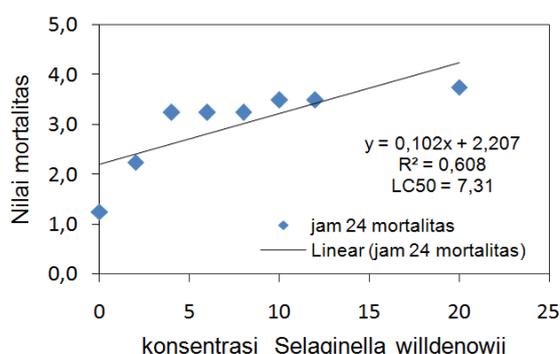
Disamping mortalitas, *Artemia* yang mati dalam vial percobaan karena perlakuan, mengalami disorientasi gerak (gerakannya tidak teratur). *Artemia* dalam vial ini tetap aktif bergerak, akan tetapi gerakannya berputar-putar pada satu titik kemudian mati.

Hubungan konsentrasi ekstrak *Selaginella wildenowii* dengan mortalitas *Artemia salina* Leach dapat dilihat pada Gambar 1 berikut :



Gambar 1. Pemberian ekstrak *S. wildenowii* dengan persentase kematian *Artemia* pada 12 jam

Pada Gambar 1 terlihat hubungan antara persentase kematian *Arthemisa salina* yang diberi perlakuan ekstrak *Selaginella willdenowii* menunjukkan persamaan regresi linear adalah $y = 0,532x + 17,74$, dengan nilai regresi sebesar 7,99. Walau tidak menunjukkan perbedaan yang nyata antar konsentrasi yang berbeda ekstrak *Selaginella willdenowii* menunjukkan adanya peningkatan kematian dengan adanya peningkatan konsentrasi yang dibuat, yaitu dengan $r = 7,99$. Untuk lebih lanjut inkubasi dilakukan pada 24 jam pengamatan menunjukkan hubungan yang serupa dengan nilai regresi 0,608.



Gambar 2. Pemberian ekstrak *Selaginella willdenowii* dengan persentase kematian *Arthemisa salina* pada 24 jam.

Pada Gambar 2 terlihat hubungan antara persentase kematian *Arthemisa salina* yang diberi perlakuan ekstrak *Selaginella willdenowii* selama 24 jam pengamatan. Persamaan regresi linear menunjukkan persamaan $y = 0,731x + 15,75$.

Semakin tinggi konsentrasi yang dipakai juga menunjukkan tingkat kematian yang tinggi. Namun seperti halnya pada pengamatan 12 jam ekstrak *Selaginella willdenowii* belum menunjukkan tingkat toksik seperti yang disarankan oleh Meyer *et al.* Menurut Meyer *et al.* (1982), ekstrak tanaman dikatakan toksik jika memiliki $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/ml}$. melalui uji BSLT toksisitas tidak terlihat pada penelitian ini, diduga senyawa toksik yang dikandung oleh *Selaginella willdenowii* hanya sedikit yang didapat dari proses ekstraksi karena *Selaginella willdenowii* diekstraksi menggunakan aquades, dengan cara simplisia *Selaginella willdenowii* direndam dengan aquades tanpa dididihkan. Dengan demikian biflavonoid yang terkandung di dalam *Selaginella willdenowii* tidak terekstrak dengan baik. Setyawan dan Darusman (2008) mengungkapkan bahwa pelarut dan cara isolasi yang digunakan untuk mengekstraksi *Selaginella* sangat mempengaruhi keragaman struktur kimia yang diperoleh. Keragaman struktur kimia biflavonoid ini sangat mempengaruhi bioaktivitas ekstrak tersebut.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak *Selaginella* terhadap *Arthemisa salina* Leach pada jam ke 12 dan 24 menunjukan nilai mortalitas tertinggi sebesar 26,78%.

DAFTAR PUSTAKA

- Chikmawati T, Wijayanto A, Miftahudin. 2009. *Potensi Selaginella Sebagai Antioksidan*. Seminar Nasional Biologi XX: Universitas Islam Negeri Malang.
- Harborne, J. B. 1994. *The Flavonoids*. Chapman and Hall. London.
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putman, J. E., Jacobsen, L. B., Nicols, D. E., and McLaughlin, J. L. 1982. *Brine Shrimp : A Convenient general Bioassay For Active Plant Constituents*. Plant Medica.
- Rahman M, Rias M, Desai UR. 2007. *Synthesis of biologically relevant biflavonoid*. Review. Chemistri and Biodiversity 4: 2495-2527.
- Scheuer, J. S. 1994. *Produk Alami Lautan*. Cetakan pertama. IKIP Semarang Press. Semarang.
- Setyawan, A.D dan Darusman, L.k. 2008. *Senyawa Biflavonoid pada Selaginella Pal. Beauv. dan Pemanfaatannya*. B I O D I V E R S I T A S ISSN: 1412-033X Volume 9, Nomor 1 Januari 2008 Halaman: 64-81. Bogor. Departemen Kimia, FMIPA, Institut Pertanian Bogor (IPB).
- Setyawan, A.D. 2011. *Natural products from Genus Selaginella (Selaginellaceae)*. Nusantara Bioscience 3: 44-58.
- Yohana, A. Y. 2005. *Khasiat Tanaman Obat*. Pustaka Buku Murah. Jakarta.
- Zuhud EAM, Ekarelawan, Riswan S. 1994. *Indonesian tropical forests as a source of medicinal plant genetic diversity*. In: Zuhud EAM, Hary (ed). 2006. Preservation of the utilization of medicinal plant diversity of Indonesian tropical forests. Faculty of Forestry IPB-LATIN. Bogor.