

UJI TOKSISITAS EKSTRAK ETANOL SARANG SEMUT LOKAL ACEH (*Myrmecodia* sp.) DENGAN METODE BSLT TERHADAP LARVA UDANG *Artemia salina* Leach

Toxicity Test of Ethanol Extract Ant Plant Local Aceh (Myrmecodia sp) Method of BSLT Larvae Shrimp Artemia salina Leach

Frengki¹, Roslizawaty¹, dan Desi Pertiwi³

¹Laboratorium Klinik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

²Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

E-mail: farhonayyash@gmail.com

ABSTRAK

Uji toksisitas dan skrining fitokimia tanaman sarang semut Aceh telah dilakukan. Uji toksisitas dilakukan dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Sampel diperoleh dari Aceh Besar, diekstrak secara maserasi. Maserat kemudian dipekatkan dengan evaporator hingga diperoleh ekstrak kasar. Kemudian dilakukan uji toksisitas terhadap larva *Artemia salina* L. Uji toksisitas dilakukan dengan konsentrasi 500, 250, 125, 50, dan 25 ppm. Hasil uji toksisitas akut menunjukkan nilai LC_{50} 61.11 ppm, sedangkan hasil uji fitokimia menunjukkan sarang semut Aceh mengandung metabolit sekunder golongan fenolik, saponin, steroid, dan terpenoid.

Kata kunci: BSLT, LC_{50} , sarang semut Aceh, skrining fitokimia

ABSTRACT

Toxicity test and phytochemical screening of ant plant ethanol extract were done. The toxicity test was done by employing the *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) method. Sample of ant plant taken from the Aceh Besar forest have been extracted with ethanol. The sample was then concentrated using a rotary evaporator until a crude extract was obtained. The extract was tested by toxicity to larva *Artemia salina* L. The toxicity test for larvae *Artemia salina* Leach have been done by employing the *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) method at four concentration levels, i.e: 250 ppm, 125 ppm, 50 ppm, and 25 ppm. The result of the research showed that ethanol extract of ant plant Aceh had acute toxicity by LC_{50} value 61.11 ppm. The extract had identified were fenolik, saponin, steroid and terpenoid.

Key words: *Brine Shrimp Lethality Test*, LC_{50} , Ant Plant, Aceh, Bphytochemical Screening

PENDAHULUAN

Tumbuhan merupakan salah satu bahan obat tradisional yang telah dikenal sejak dahulu kala. Dalam dasawarsa terakhir ini penggunaan obat tradisional telah menarik perhatian dan kepopulerannya di masyarakat semakin meningkat. Salah satu penyebabnya adalah penerimaan masyarakat terhadap manfaat dan kegunaan tumbuhan obat dalam pemeliharaan kesehatan (Christine, 1985).

Pemilihan tumbuhan dalam rangka pencarian senyawa bioaktif baru dari tumbuhan dapat dilakukan melalui pendekatan secara etnobotani dan kemotaksonomi. Pendekatan etnobotani dimaksudkan penelusuran berdasarkan pemakaian bahan alam oleh suatu etnik tertentu untuk berbagai tujuan terutama pengobatan. Sedangkan pendekatan kemotaksonomi dilakukan melalui penelusuran berdasarkan hubungan kekerabatan antar tumbuhan dengan asumsi tumbuhan yang sekerabat memiliki kandungan kimia yang sama atau paling tidak memiliki rangka atau inti senyawa aktif yang sama (Anonimus, 1997).

Salah satu tanaman obat tersebut adalah sarang semut (*Myrmecodia* sp). *Myrmecodia pendans* merupakan tanaman obat asal Papua yang pernah populer sebagai obat yang cukup ampuh mengatasi mengatasi berbagai jenis penyakit terutama penyakit metabolik. Hal ini dapat dilihat dari berbagai macam

laporan hasil penelitian pre-klinik maupun melalui media masa. Subroto dan Saputro (2006), merupakan orang pertama kali mempublikasikan tulisannya tentang sarang semut Papua.

Subroto dan Saputro (2006), mengungkapkan bahwa senyawa aktif yang terkandung dalam sarang semut itu adalah flavonoid, tanin, dan polifenol yang berfungsi sebagai antioksidan dalam tubuh. Selain itu dalam sarang semut juga ditemukan kandungan senyawa yang bermanfaat lainnya, seperti tokoferol, magnesium, kalsium, besi, fosfor, natrium, dan seng. Senyawa aktif polifenol yang terkandung dalam sarang semut memiliki banyak khasiat, yaitu sebagai antimikroba, antidiabetes, dan antikanker. Seiring dengan pemberitaan yang masif tersebut, belakangan banyak ditemukan tumbuhan sejenis di berbagai daerah di Indonesia termasuk di Aceh. Penelitian dan publikasi ilmiah sarang semut lokal (Aceh) masih sangat terbatas bahkan laporan khasiatnya belum ada sama sekali, sedangkan masyarakat di Aceh sudah lama memanfaatkan sarang semut tersebut secara tradisional sebagai obat.

Lazimnya setiap penelitian bahan alam yang diduga berpotensi sebagai obat maupun secara empiris telah digunakan masyarakat sebagai obat, diawali dengan uji pre-klinis toksisitas untuk memprediksi tingkat keamanannya, kemudian dilanjutkan dengan uji farmakologi lainnya. Metode uji toksisitas dapat

dilakukan secara *in vitro* maupun *in vivo*. Salah satu metode toksisitas *in vitro* yang sering digunakan adalah metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Metode BSLT merupakan salah satu cara yang cepat dan murah untuk skrining toksisitas dari ekstrak tanaman dengan menggunakan hewan laut yaitu larva udang *Artemia salina* Leach (Meyer *et al.*, 1982). Uji toksisitas dengan metode BSLT ini memiliki spektrum aktivitas farmakologi yang luas, prosedurnya sederhana, cepat dan tidak membutuhkan biaya yang besar, serta hasilnya dapat dipercaya. Di samping itu, metode ini sering dikaitkan dengan metode penapisan senyawa antikanker. Dengan alasan-alasan tersebut, maka uji ini sangat tepat digunakan dalam mengawali penelitian bahan alam (Meyer, *et al.*, 1982; Alam, 2002).

MATERI DAN METODE

Ekstraksi sampel

Mula-mula wadah maserasi dicuci bersih, keringkan dan dibilas dengan etanol 70%. Sampel (10 kg) direndam dalam etanol 70% dengan perbandingan 1:3 dengan sesekali dikocok. Proses perendaman ini berlangsung selama 3 hari. Kemudian dilanjutkan dengan proses penyaringan, maserat yang diperoleh diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental. Selanjutnya ekstrak tersebut dimasukkan ke dalam oven hingga semua air menguap dan ekstrak menjadi kering.

Skrining Fitokimia

Pemeriksaan terhadap kandungan metabolit sekunder dilakukan dengan metode Simes *et al.* (1995), yang dimodifikasi yaitu ekstrak kental etanol yang berasal dari ± 5 g sampel basah ditambahkan air suling dan CHCl_3 sama banyak masing-masing 5-10 ml lalu dikocok kuat dan dibiarkan sampai terbentuk dua lapisan dan kemudian dipisahkan. Lapisan air digunakan untuk uji senyawa flavonoid, fenolik, dan saponin. Selanjutnya penentuan golongan flavonoid, saponin, tanin dan sterol/terpenoid, kuinon, dan kumarin mengikuti petunjuk Ciulei (1984). Uji flavonoid dilakukan dengan cara menambahkan asam klorida pekat dan logam Mg pada fraksi air yang telah diteteskan pada plat tetes. Tes positif bila terjadi warna merah. Uji saponin dilakukan dengan mengocok lapisan air dalam tabung reaksi bila terbentuk busa yang tahan selama lebih kurang 15 menit berarti positif untuk uji saponin. Uji triterpenoid dan steroid dengan cara fraksi CHCl_3 dibiarkan mengering pada plat tetes, setelah kering ditambahkan asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat dimana terbentuk warna merah positif untuk triterpenoid dan warna biru dan hijau positif untuk steroid. Uji Alkaloid dilakukan dengan cara ekstrak kental etanol ± 300 mg ditambahkan 5 ml air suling, kemudian ditambahkan 10 ml CHCl_3 - amoniak 0,05 N, dikocok perlahan, dibiarkan terjadi pemisahan. Lapisan CHCl_3 diambil, kemudian ditambahkan 0,5 ml H_2SO_4 2 N, dikocok perlahan, dibiarkan terjadi pemisahan. Lapisan asamnya dipipet, lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi lain, ditambah

satu tetes pereaksi Mayer atau Dragendorff. Hasil positif adanya alkaloid bila terbentuk endapan putih dengan pereaksi Mayer atau warna jingga dengan pereaksi Dragendorff. Uji toksisitas dilakukan dengan metode BSLT menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach. Metode BSLT dilakukan terhadap ekstrak etanol sarang semut (*Myrmecodia* sp.)

Penetasan *Artemia salina* Leach

Pembiakan udang dilakukan dalam sebuah kotak yang telah dibagi menjadi dua bagian dengan sekat berlubang dimasukkan air laut secukupnya. Salah satu sisi kotak ditutup dengan aluminium foil, kemudian kotak diletakkan di bawah lampu UV selama 48 jam. Larva yang menembus daerah terang setelah berumur 48 jam siap digunakan untuk uji toksisitas.

Penyiapan Sampel Uji

Larutan induk dibuat dengan melarutkan 4 mg sampel dengan 10 μl DMSO dan ditambahkan dengan air laut dengan kadar garam hingga 2 ml. Kadar larutan induk adalah 2000 $\mu\text{g/ml}$. Sampel yang akan diuji disiapkan pada konsentrasi 500, 250, 100 dan 50 $\mu\text{g/ml}$. Sebagai blanko tanpa larutan uji dibuat dengan cara 10 μl DMSO ditambahkan air laut hingga 2 ml.

Uji Toksisitas Metode Meyer

Sebanyak 10 larva udang dalam 100 μl air laut dimasukkan ke dalam vial uji, kemudian ditambahkan 100 μl larutan sampel. Untuk setiap konsentrasi dilakukan 3 kali pengulangan. Sebagai kontrol dilakukan dengan 100 μl larutan blanko kemudian ditambahkan air laut hingga 100 μl . Pengamatan dilakukan setelah 24 jam dengan menghitung jumlah larva udang yang masih hidup dan yang sudah mati, kemudian dihitung mortalitasnya seperti persamaan berikut :

$$\% \text{ Mortalitas} = \frac{\text{Akumulasi mati}}{\text{Akumulasi mati} + \text{Akumulasi hidup}} \times 100\%$$

Suatu fraksi atau ekstrak dikatakan aktif bila mempunyai nilai $\text{LC}_{50} \leq 1000$ $\mu\text{g/ml}$. Untuk senyawa murni dikatakan aktif bila mempunyai nilai $\text{LC}_{50} \leq 200$ $\mu\text{g/ml}$ (Alam, 2002).

Analisis Data

Nilai LC_{50} ditentukan secara statistik melalui persamaan regresi linier sederhana (sumbu x ditransformasi ke bentuk logaritma [log konsentrasi], sedangkan sumbu y adalah % mortalitas) dengan bantuan program Microsoft excel 2007.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Jumlah kematian larva *Artemia salina* Leach pada setiap sumur uji dalam berbagai konsentrasi perlakuan ekstrak etanol sarang semut disajikan pada Tabel 1. Dari Tabel 1 tersebut dapat diketahui bahwa berbagai konsentrasi ekstrak etanol sarang semut pada percobaan

ini memperlihatkan pengaruh yang berbeda terhadap kematian larva *Artemia salina* Leach.

Tabel 1. Jumlah kematian larva *Artemia salina* Leach pada setiap sumur uji dalam berbagai konsentrasi perlakuan ekstrak etanol sarang semut

Konsentrasi	Hidup awal		Hidup akhir		Total kematian
	Sumur 1	Sumur 2	Sumur 1	Sumur 2	
250	10	10	0	1	19
125	10	10	4	5	11
50	10	10	5	6	9
25	10	10	6	7	7

Tabel 2. Tingkat kematian (mortalitas) *Artemia salina* Leach terhadap log konsentrasi

Log konsentrasi (x)	% mortalitas (y)
2,4	97,87
2,1	72,97
1,7	43,24
1,4	17,07

Jumlah larva tiap sumur uji dengan dua kali replikasi adalah 20 ekor. Jumlah total larva *Artemia salina* Leach yang digunakan adalah 80 ekor larva. Total kematian diperoleh dengan menjumlahkan larva yang mati pada setiap konsentrasi. Kemudian dihitung persentase kematian larva dari rata-rata kematian pada tiap konsentrasi. Data kemudian dianalisis dengan menggunakan persamaan regresi linier dengan melakukan transformasi data konsentrasi ke bentuk logaritma seperti yang disajikan pada Tabel 2. Dengan bantuan program SPSS versi 11,5 for windows menunjukkan harga LC_{50} dari ekstrak etanol sarang semut sebesar 61,11 µg/ml. Hasil pengolahan data diperoleh persamaan regresi $y = 79,90x - 94,03$ dengan $r^2 = 0,999$.

Pengujian terhadap ekstrak etanol sarang semut lokal (Aceh) menunjukkan harga LC_{50} sebesar 61,11 µg/ml, sedangkan uji BSLT ekstrak etanol sarang semut asal Papua diperoleh LC_{50} sebesar 37,03 µg/ml (Bustanussalam, 2010). Ekstrak etanol sarang semut pada percobaan ini memiliki potensi toksisitas akut menurut metode BSLT sebagaimana sarang semut asal Papua.

Ekstrak etanol sarang semut Aceh mempunyai potensi toksisitas akut. Hal tersebut berkaitan dengan keempat senyawa yang berhasil diidentifikasi secara kimia yang terdapat dalam sarang semut yaitu golongan fenolik, saponin, triterpenoid, dan steroid. Keempat

golongan senyawa inilah yang berperan menyebabkan kematian larva *Artemia salina* Leach. Sedikit berbeda dari laporan Subroto dan Saputro (2006), terhadap senyawa aktif metabolit sekunder sarang semut asal Papua (*Myrmecodia pendans*) yang berhasil mengidentifikasi adanya senyawa aktif golongan flavonoid, terhadap sarang semut asal Aceh tidak berhasil diidentifikasi adanya senyawa golongan flavonoid. Hal ini disebabkan karena perbedaan jenis (spesies) kedua tanaman. Letak tumbuh dan perbedaan iklim tumbuh akan sangat memengaruhi komposisi dan kadar senyawa aktif yang dimiliki oleh tumbuhan yang mirip (marga yang sama).

Demikian juga laporan tentang sarang semut yang tumbuh di Kalimantan (Bustanussalam, 2010), disebutkan juga tidak mengandung senyawa aktif golongan flavonoid, namun sebaliknya sarang semut asal Kalimantan tersebut malah mengandung senyawa aktif golongan alkaloid. Perbedaan kandungan senyawa aktif dari marga *Myrmecodia* ini berpeluang mendapatkan senyawa aktif yang baru dan berbeda dari senyawa aktif yang sudah ditemukan sebelumnya dari tanaman sarang semut asal Papua yang tentunya diharapkan memiliki aktivitas farmakologi yang lebih kuat atau setidaknya setara dengan hasil penemuan yang telah ada.

KESIMPULAN

Penelitian menunjukkan bahwa sarang semut asal Aceh memiliki kandungan senyawa aktif berbeda dibandingkan sarang semut Papua, namun keduanya memiliki sifat toksisitas akut yang hampir sama terhadap larva udang *Artemia salina* Leach menurut metode BSLT.

DAFTAR PUSTAKA

- Alam, G. 2002. Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) sebagai bioassay dalam isolasi senyawa bioaktif dari bahan alam. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. 6(2):432-435.
- Anonimus. 1997. *Tumbuhan Hutan Tropik Sebagai Sumber Bahan Kimia*. Puslitbang Biologi LIPI, Bogor.
- Bustanussalam. 2010. Penentuan Struktur Molekul dari Fraksi Air Tumbuhan "Sarang Semut" *Myrmecodia pendans* Merr & Perry yang Mempunyai Aktivitas Sitotoksik dan Antioksidan. *Tesis*. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Christine, 1985. *Penggunaan Tanaman Obat*. Penerbit Buletin Farmako, Jakarta.
- Meyer, U.N., N.R. Ferigni, J.E. Putnam, L.B. Ja Cobsen, D.E. Nichols, and J.L. McLaughlin. 1982. "Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents", *Planta Medica*. 45:31-34
- Mujiman, A. 1987. *Makanan Ikan*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Simes, J.J.H., J.G. Tracey, L.J. Webb, and W.J. Dunston. 1995. *An Australian Phytochemical Survey*. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, Australia.
- Subronto, A. dan H. Saputro. 2006. *Gempur Penyakit Sarang Semut*. Penerbit Swadaya, Depok.