

UJI TOKSISITAS EKSTRAK KARANG LUNAK *SARCOPHYTON SP* ASAL TIMOR TERHADAP LARVA *ARTEMIA SALINA LEACH*

Beatrix S.Dhone, Theo da Cunha, Dodi Darmakusuma

Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknik, Universitas Nusa Cendana Indonesia

Article Received: 30 May 2018

Article Accepted: 17 July 2018

Abstract

Research on toxicity test of *Sarcophyton sp.* extract from Timor against *Artemia s. Leach* Nauplii has been conducted. *Sarcophyton sp.* from Paradiso beach, Kupang, was macerated in n-hexane, ethyl acetate, and methanol then each macerate was evaporated at 40°C and 45°C to dry. The dried extract resulted was tested its secondary metabolite content and toxicity using Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). The results showed that the methanol extract contains saponins, phenols, and steroids while the ethyl acetate extract contains steroids and terpenoids. The toxicity test against *artemia* showed that the methanol extract from *Sarcophyton sp.* is very toxic to the nauplii with LC₅₀ value of 29,56 ppm while the ethyl acetate extract is classified toxic and gave LC₅₀ value of 34,11 ppm.

Keywords: *Sarcophyton sp.*, toxicity, BSLT

Abstrak

Penelitian tentang uji toksisitas ekstrak karang lunak *Sarcophyton sp.* asal Timor terhadap larva *Artemia salina Leach* telah berhasil dilakukan. Karang lunak *Sarcophyton sp.* dari perairan laut pantai Paradiso, Kupang, dimaserasi menggunakan n-heksana, etil asetat dan metanol lalu dievaporasi pada suhu 40°C dan 45°C hingga didapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental kemudian diuji kandungan metabolit sekunder serta uji toksisitas menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test*. Hasil uji metabolit sekunder menunjukkan ekstrak metanol positif mengandung saponin, fenol dan steroid sedangkan ekstrak etil asetat positif mengandung steroid dan terpenoid. Hasil uji toksisitas menunjukkan ekstrak metanol *Sarcophyton sp.* bersifat sangat toksik dengan nilai LC₅₀ 29,56 ppm. Ekstrak etil asetat *Sarcophyton sp.* bersifat toksik dengan nilai LC₅₀ 34,11 ppm.

Kata Kunci : *Sarcophyton sp.*, toksisitas, BSLT

Pendahuluan

Biota laut merupakan salah satu objek yang sedang digemari para peneliti dibidang farmakologi. Dari sumber laut ini telah ditemukan beberapa senyawa yang bersifat sitotoksik seperti golongan alkaloid, flavonoid, polisakarida, protein dan terpenoid¹. Karang lunak (*soft coral*) atau *Alcyonaria* merupakan salah satu filum koelenterata yang berbentuk polip (atau

*Corresponding Author: Jl. Adisucipto-Perfui Kupang 85110 telp. (+62380)8037977,
e-mail: opa_cece@yahoo.com

bunga yang kecil) sehingga dianggap mirip dengan tumbuhan. Sebagai pertahanan terhadap predator dan memperebutkan ruang hidup, karang lunak menghasilkan senyawa terpenoid. Dalam dekade terakhir, dilaporkan bahwa sebanyak 50% senyawa bioaktif yang ditemukan dalam invertebrata laut ini bersifat toksik². Beberapa komponen bioaktif yang dihasilkan oleh karang lunak meliputi senyawa antitumor dan antikanker³. Selain itu, diketahui juga karang lunak sebagai penghasil senyawa inhibitor enzim salah satunya adalah inhibitor protease⁴. Sebagai contoh, karang lunak *Lobophytum cristagalli* menghasilkan senyawa terpen yang mampu menghambat kerja protein transferase pada penyakit kanker⁵ dan senyawa Sarcophytol A dari karang lunak spesies *Sarcophyton glaucum* asal Okinawa yang dapat menghambat promotor tumor, teleocidin pada fase 2 percobaan karsinogenesis pada kulit tikus⁶.

Keragaman senyawa metabolit sekunder dari karang lunak dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti temperatur air, tekanan dalam air, unsur hara serta cahaya matahari. Kobayashi dan Takumi mengisolasi senyawa sarcophytonin-A dari karang lunak *Sarcophyton glaucum* asal pulau Ishigaki, Okinawa⁷. Namun senyawa tersebut tidak ditemukan lagi dari karang lunak yang sama dan lokasi yang sama setahun kemudian. Lebih lanjut Koh dkk melakukan penelitian terhadap 3 spesies *Sarcophyton* yaitu *s.glaucum*, *s.infundibulifurme* dan *s. crassocaulle* dengan masing-masing 3 sampel dari lokasi yang sama dengan Kobayashi. Hasil menunjukkan senyawa sarcophytonin-A hanya terdapat dalam 1 sampel *S. glaucum*. Komposisi senyawa metabolit sekunder tidak terkait pada jenis spesies tetapi pada individu sampel. Hal ini memberikan peluang yang besar bagi peneliti untuk menemukan senyawa-senyawa baru yang berpotensi dijadikan sebagai anti kanker maupun anti tumor.

Kondisi geografis Indonesia juga mendukung penelitian karang lunak. Kawasan pesisir kota Kupang kaya akan potensi berupa hutan bakau, rumput laut, berbagai jenis terumbu karang, karang lunak serta biota laut lainnya⁸. Penelitian yang dilakukan Munasik menyimpulkan bahwa karang lunak di perairan laut sawu, bagian utara pulau Timor, bagian kota kupang didominasi oleh spesies *Sarcophyton sp.* dan *Lobophytum sp.*⁹. Kondisi iklim, suhu serta letak geografis dari kota kupang sangat mendukung keanekaragaman karang lunak karena intensitas cahaya matahari dalam air cukup besar serta suhu perairan yang cocok bagi pertumbuhan karang¹ sementara potensi sumberdaya laut yang begitu besar masih terbatas pada pemanfaatan rumput laut, hutan bakau dan terumbu karang, baik sebagai bahan pangan maupun sebagai sarana rekreasi.

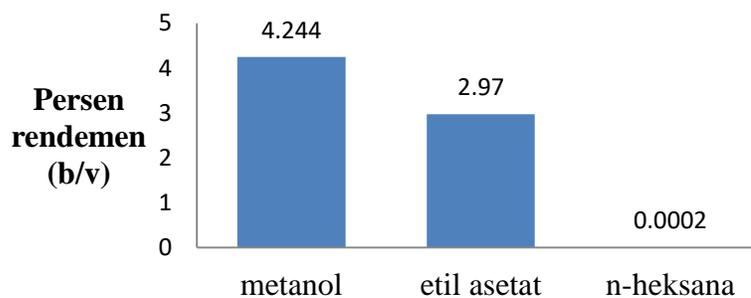
Hasil dan Pembahasan

Sampel karang lunak diambil dari perairan Pantai Paradiso, Kelapa Lima, Kupang. Sampel diambil secara acak di beberapa titik pada kedalaman sekitar 1-2 meter dari permukaan laut dengan cara penyelaman. Pada kedalaman ini intensitas cahaya matahari yang masuk masih cukup banyak sehingga aktifitas biologis karang lunak tergolong normal. Sampel karang lunak yang diambil dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Sampel Karang Lunak dari Perairan Pantai Paradiso, Kelapa Lima, Kupang

Karang lunak jenis *Sarcophyton sp.* Hidup dalam koloni berukuran besar dengan tangkai berwarna putih. Kapitulum melebar dengan bentuk seperti jamur yang pada tepinya menekuk. Koloni muda berwarna krem keabuan dengan bentuk menggumpal seperti jamur¹⁰. Sampel karang lunak diletakkan dalam wadah berisi air laut sampai terendam dengan tujuan menghindari pertumbuhan jamur pada karang lunak. Karang lunak kemudian dipreparasi dan di ekstrak dengan metode maserasi bertingkat menggunakan n-heksana, etil asetat dan metanol. Ekstrak kental karang lunak dihitung rendemennya dalam persen (b/v) seperti tersaji (Gambar 2).



Ekstrak kental karang lunak *Sarcophyton sp.*

Gambar 2. Grafik rendemen ekstrak kental karang lunak pada beberapa pelarut

Dari ketiga pelarut yang digunakan, metanol menghasilkan ekstrak dengan rendemen terbesar yaitu 4,244% dari total 780 mL larutan yang terekstrak. Nurhayati menyatakan bahwa

nilai rendemen yang tinggi menunjukkan banyaknya komponen bioaktif yang terkandung dalam suatu ekstrak. Dengan demikian maka disimpulkan sampel karang lunak pada penelitian ini mengandung lebih banyak senyawa polar dibandingkan senyawa non polar, dimana rendemen dari ekstrak non polar yang didapat hanya sebesar 0,0002 persen (b/v).

Uji Metabolit Sekunder dan Uji Toksisitas

Uji metabolit sekunder merupakan metode pengujian senyawa metabolit sekunder secara kualitatif. Metode ini didasarkan pada perubahan warna dari sampel ketika direaksikan dengan pereaksi tertentu yang spesifik. Senyawa metabolit sekunder yang diuji terdiri dari alkaloid, saponin, terpenoid, steroid, fenol, tanin dan flavonoid. Data hasil uji metabolit sekunder ekstrak karang lunak *Sarcophyton sp.* tersaji pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji metabolit sekunder ekstrak karang lunak *Sarcophyton sp.*

Jenis Uji	Pereaksi	Hasil		Pelarut	
		Metanol	Etil Asetat	M*	E*
Alkaloid	Mayer	Larutan berwarna bening	Larutan berwarna kuning	-	-
	Wagner	Larutan berwarna kuning	Larutan berwarna kuning	-	-
Saponin	Minyak Zaitun	Terbentuk emulsi yang stabil	Tidak terbentuk emulsi	+	-
Terpenoid	H ₂ SO ₄	Tidak terbentuk cincin coklat	Terbentuk cincin coklat	-	+
Steroid	Liebermann-Burchard	Larutan berwarna hijau hitam	Larutan berwarna hijau kehitaman	+	+
Fenol	FeCl ₃ 1%	Larutan berwarna hijau kehitaman	Larutan berwarna kuning	+	-
Flavonoid	Shibata	Larutan berwarna putih	Larutan berwarna bening	-	-
Tanin	FeCl ₃ 1%	Larutan berwarna jingga	Larutan berwarna jingga	-	-

* M = Metanol, E = Etil Asetat

Tabel 1 menunjukkan data hasil uji metabolit sekunder ekstrak metanol karang lunak positif mengandung fenol, saponin dan steroid. Ekstrak etil asetat karang lunak positif mengandung steroid dan terpenoid. Sedangkan uji alkaloid, flavonoid dan tanin terhadap ekstrak karang lunak *Sarcophyton sp.* ini menunjukkan hasil negatif.

Metode BSLT menggunakan larva udang *Artemia s. Leach* sebagai hewan uji. Faktor utama penggunaan *Artemia* sebagai hewan uji ialah resistensinya yang bervariasi terhadap perubahan lingkungan terutama kadar garam. *Artemia s. Leach* dapat hidup dengan

maksimum toleransi kadar garam sebesar 50%. Insang membantunya agar cocok dengan kadar garam tinggi dengan absorpsi dan ekskresi ion-ion yang dibutuhkan dan menghasilkan urin pekat dari glandula maxillaris. Hidup pada variasi temperatur air yang tinggi pula, dari 6-37°C dengan temperatur optimal untuk reproduksi pada 25°C (suhu kamar). Keuntungan hidup pada lokasi berkadar garam tinggi adalah sedikitnya predator namun sumber makanannya sedikit.

Tabel 2. Hasil uji toksistas ekstrak metanol karang lunak dengan metode BSLT

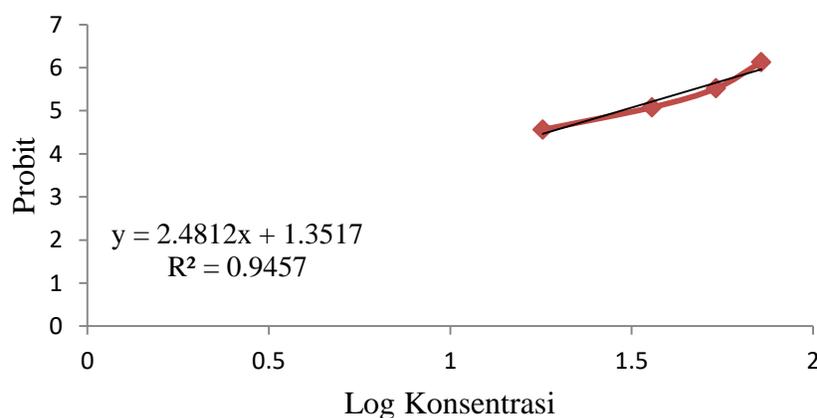
Pengulangan	Mortalitas larva pada setiap konsentrasi ekstrak(ekor)					
	0 ppm	18 ppm	36 ppm	54 ppm	72 ppm	144 ppm
1	0	3	5	7	9	10
2	0	4	6	8	9	10
3	0	3	5	6	8	10
Jumlah	0	10	16	21	26	30
Rata-rata	0	3,3333	5,3333	7	8,6666	10
% Mortalitas	0	33,333	53,333	70	86,666	100
% M. terkoreksi	0	33,333	53,333	70	86,666	100
Probit	-	4,58	5,08	5,52	6,13	-

Ekstrak metanol dan etil asetat karang lunak dibuat dalam bentuk larutan dengan variasi konsentrasi 144 ppm, 72 ppm, 54 ppm, 86 ppm, 18 ppm dan 0 ppm. Masing – masing konsentrasi di berikan 10 larva *Artemia* . Perlakuan untuk uji toksistas ini dilakukan sebanyak 3 kali ulangan untuk mendapatkan data yang akurat. Hasil uji toksistas menggunakan metode BSLT dapat dilihat pada Tabel 2 dan Tabel 3.

Tabel 3. Hasil uji toksistas ekstrak etil asetat karang lunak dengan metode BSLT

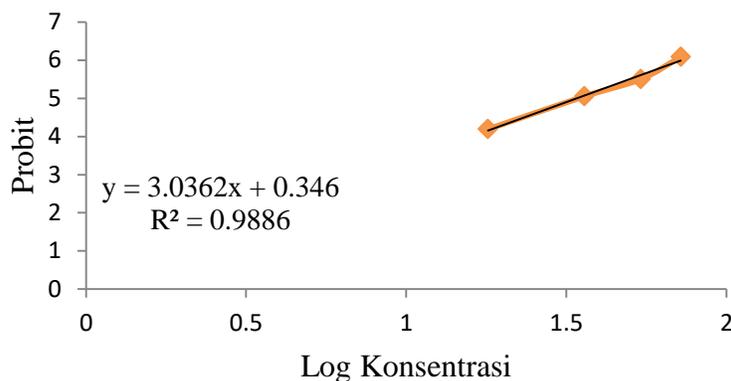
Pengulangan	Mortalitas larva pada setiap konsentrasi ekstrak(ekor)					
	0 ppm	18 ppm	36 ppm	54 ppm	72 ppm	144 ppm
1	0	2	5	7	8	10
2	0	2	6	7	9	10
3	1	3	5	7	9	10
Jumlah	1	7	16	21	26	30
Rata-rata	0,333	2,333	5,333	7	8,666	10
% Mortalitas	3,33	23,33	53,33	70	86,66	100
% M. terkoreksi	0	20,689	51,720	68,965	86,200	100
Probit	-	4,19	5,05	5,5	6,08	-

Tabel 3 dan 4 menunjukkan persentase mortalitas larva udang pada berbagai konsentrasi larutan ekstrak metanol dan etil asetat. Dari data ini dapat terlihat bahwa semakin besar konsentrasi larutan ekstrak, jumlah serta persentase mortalitas/kematian larva juga semakin besar. Harborne menyatakan bahwa konsentrasi suatu zat berbanding lurus dengan tingkat toksisitasnya¹¹. Konsentrasi ekstrak sebesar 36 ppm mampu membunuh 53% dari larva udang yang diuji baik dari ekstrak metanol maupun etil asetat. Sementara pada konsentrasi 144 ppm, tingkat kematian larva udang mencapai 100% yang berarti bersifat sangat toksik. Hal ini sesuai dengan pernyataan Meyer yang menyatakan bahwa uji toksisitas menggunakan metode BSLT melihat kemampuan suatu zat dalam membunuh 50% dari hewan uji¹² dalam hal ini larva *Artemia s. Leach* dengan konsentrasi ekstrak dibawah 1000 ppm.



Gambar 3. Grafik hubungan log konsentrasi terhadap nilai probit ekstrak metanol karang lunak *Sarcophyton sp.*

Tingkat toksisitas suatu zat diukur berdasarkan besarnya nilai LC_{50} yang didapatkan. LC_{50} atau *Lethal Concentration 50%* merupakan ukuran ketoksikitasan suatu zat yang diukur berdasarkan besarnya konsentrasi zat tersebut yang dapat mengakibatkan kematian hewan uji sebesar 50% dari total yang diujikan. Nilai LC_{50} dari ekstrak metanol dan etil asetat dihitung berdasarkan persamaan regresi yang didapatkan dengan memplotkan log konsentrasi ekstrak terhadap nilai probit masing-masing konsentrasi. Grafik hubungan antara log konsentrasi terhadap nilai probit masing-masing ekstrak dapat dilihat pada Gambar 3 dan Gambar 4.



Gambar 4. Grafik hubungan log konsentrasi terhadap nilai probit ekstrak etil asetat karang lunak *Sarcophyton sp.*

Berdasarkan persamaan regresi masing-masing kurva didapatkan nilai LC_{50} ekstrak metanol sebesar 29,56 ppm dan 34,11 ppm untuk ekstrak etil asetat karang lunak. Nilai koefisien determinasi (R^2) masing-masing kurva ialah 0,94 dan 0,98 yang berarti sekitar 94% dan 98% variasi tingkat kematian larva udang dapat diterangkan oleh perubahan konsentrasi ekstrak. Menurut Meyer¹² senyawa dengan nilai $LC_{50} < 30$ ppm berpotensi sebagai anti kanker, LC_{50} 30-200 ppm berpotensi sebagai anti bakteri dan $LC_{50} > 200$ ppm berpotensi sebagai pestisida. Maka ekstrak metanol karang lunak bersifat sangat toksik dan berpotensi sebagai anti kanker, sementara ekstrak etil asetat karang lunak bersifat toksik dan berpotensi sebagai anti bakteri.

Kesimpulan

Ekstrak etil asetat karang lunak *Sarcophyton sp.* positif mengandung steroid dan terpenoid sedangkan ekstrak metanol karang lunak *Sarcophyton sp.* positif mengandung saponin, steroid, dan fenol. Uji toksisitas terhadap ekstrak metanol menghasilkan nilai LC_{50} sebesar 29,56 ppm dan nilai LC_{50} untuk ekstrak etil asetat karang lunak *Sarcophyton sp.* sebesar 34,11 ppm. Ekstrak metanol memiliki potensi sebagai anti kanker dan ekstrak etil asetat berpotensi sebagai anti bakteri.

Daftar Pustaka

1. Ahmad, P., 2010, *Isolasi Dan Karakterisasi Senyawa Antioksidan Alkaloid Dari Sponga Perairan Teluk Kupang, Nusa Tenggara Timur*, Skripsi, Universitas Lampung, Bandar Lampung
2. Radhika, P., 2006, *Biochemical Systematics and Ecological*, 34, 781-789
3. Ahmed, A., Dai, C. F., Kuo Y. H., dan Shen, J. H., 2003, *Steroids*, 68, 377-381
4. Rashid, M., Gustafson, K. R., dan Boyd, M.R., 2000, *Journal Natural Product*, 63, 531-533
5. Coval, S. J., Patton, R. W., Petrin, J. M., James, L., Rothofsky, M. L., Lin, S. L., Patel, M., Reed, J. K., Mc Phail, A. T. dan Bishop, W. R., 1996, *Bioorganic & medicinal Chemistry Letters*, 6, 909-912
6. Fujiki, H., Sukanuma, M., Suguri, H., Yoshizawa, S., Takagi, K., dan Kobayashi, M., 1989, *J.Cancer Res Clin.Oncol*, 115, 25-28
7. Kobayashi, M., dan Takumi, H., 1990, *Chem.Pharm.Bull.*, 38(9), 2442-2445
8. Temu, E. A., Minjas J. N., Shiff, C. J., dan Majala, A., 1999, *Med. Vet. Ent.*, 13, 452-459
9. Koh, M., Iwagana, T., Hatanaka, M., Nakano, A., Morihara, K., Takemura, K., 2000, *Biosci.Biotechnol.Bioche*, 64(4), 858-861
10. Verseveldt, J., 1982, *A revision of the genus Sarcophyton Lesson (Octocorallia, Alcyonacea)*, Brill
11. Harborne J. B., 1987, *Metode Metabolit sekunder, Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*, K. Padmawinata, dan I. Sudiro, penerjemah, Institut Teknologi Bandung, Bandung
12. Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nicholas, D. E., dan McLaughlin, J. L., 1982, *Planta Medica*, 45,31-34

Metodologi

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi es, larva *A. salina* Leach, metanol, n-heksan, etil asetat, CHCl_3 , NH_4OH , H_2SO_4 , HgCl_2 , KI, minyak zaitun, FeCl_3 , akuades, I_2 .

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi adalah peralatan gelas, neraca analitik, *rotary evaporator*, wadah, tabung reaksi, pipet mikro, selang aerator, aerator.

Prosedur Kerja

Preparasi dan ekstraksi sampel

Tahap ini dimulai dengan pencucian sampel karang lunak untuk membersihkan dari lumut, kerang dan pengotor lainnya. Selanjutnya dilakukan penimbangan sampel karang lunak sebesar 300 gram, dipotong kecil dan ditambahkan pelarut n-heksan dengan perbandingan sampel : pelarut sebesar 1: 3 (b/v dalam mg/mL), dan dimaserasi selama 48 – 96 jam pada

suhu ruang. Hasil maserasi disaring dengan kertas saring. Filtratnya dievaporasi pada suhu 45°C hingga didapatkan ekstrak kental. Sedangkan residunya ditambahkan dengan pelarut etil asetat dengan perbandingan 1:3 (b/v). Dilakukan maserasi selama 48-96 jam lalu disaring.

Filtrat hasil maserasi kedua ini lalu dievaporasi kembali pada suhu 45°C. Residunya kemudian ditambahkan dengan metanol dengan perbandingan 1:3, dibiarkan selama 48-96 jam dan disaring. Filtratnya dievaporasi pada suhu 40°C hingga didapat ekstrak kental. Filtrat ditimbang untuk menentukan rendemen lalu disimpan.

Uji Metabolit Sekunder dan Uji Toksisitas dengan Metode BSLT

Ekstrak kental masing-masing pelarut diuji kandungan metabolit sekunder berupa saponin, fenol, terpenoid, alkaloid, flavonoid, tanin, steroid. Uji toksisitas dimulai dengan memilih telur *Artemia* yang baik. Telur direndam selama 1 jam dalam air. Telur yang bagus akan mengendap sementara telur yang rusak akan terapung. Selanjutnya telur yang baik ditetaskan dengan cara di rendam dalam air laut pada suhu ruang dan diberi aliran udara menggunakan aerator selama 24 jam. Uji toksisitas dilakukan dengan menambahkan 10 ekor larva *Artemia* berumur 24 jam kedalam 6 tabung berisi 6 mL larutan ekstrak karang lunak dengan konsentrasi masing-masing larutan yaitu 0 ppm, 18 ppm, 36 ppm, 54 ppm, 72 ppm dan 144 ppm. Diamati kematian larva setelah 24 jam. Dilakukan 3 kali pengulangan dan dihitung persen kematian larva untuk menentukan nilai LC₅₀ dari masing-masing ekstrak karang lunak.

Perhitungan persen mortalitas larva dengan menggunakan rumus :

$$M = \frac{L_p - L_k}{JL} \times 100\%$$

Dimana :

M : persen Mortalitas (Kematian larva)

L_p : Jumlah larva yang mati pada perlakuan

L_k : Jumlah larva yang mati pada contoh

JL : Jumlah larva dalam masing-masing Beaker