

## Uji Potensi Ekstrak Kasar Teripang Laut *Holothuria atra* Untuk Anti Kanker Dengan Menggunakan Metode *Brine Shrimp Lethality Test*

(The Potential Test of Sea Cucumber Crude Extract *Holothuria atra* for anti-cancer Using *Brine Shrimp Lethality Test Method*)

Yunita Baramuli<sup>1</sup>, Nickson J. Kawung<sup>2</sup>, Fitje Losung<sup>2</sup>, James J.H. Paulus<sup>2</sup> Inneke F.M. Rumengan<sup>2</sup>, Billy Th. Wagey<sup>2</sup>, Fransin Manginsela<sup>3</sup>.

1. Mahasiswa Program Studi Ilmu Kelautan, FPIK, UNSRAT Manado
2. Staf Pengajar Program Studi Ilmu Kelautan, FPIK, UNSRAT Manado
3. Staf Pengajar Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan, FPIK UNSRAT Manado

Penulis korespondensi: Nickson Kawung; Kawungnickson@yahoo.com

### ABSTRACT

The aim of this research is to test the potency of Sea cucumber crude extract *Holothuria atra* using the shrimp larvae *Artemia salina* Leach. The sample were take from waters of tateli at Minahasa District. Sample preparation and the potential test were done at biology moleculer and marien pharmacy laboratorium of Faculty of Fhiseries and Marine Science Sam Ratulangi University. The sample macerated once with ethanol for 24 hours. Extract of the sample were conentrated using rotary evaporator. Using the *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) method with shrimp larvae *Artemia salina*, Leach. As the sample dry weight of the sample is 420 g after macerated with ethanol then decreased to 18 g after evaporated. Probit analysis of larva mortalityt data as the indicator of anti-cancer potential shown the value  $LC_{50}$  30.01 mg/l. Bioactive compounds of sea cucumber H. arta has potency to be develop as anti-cancer material.

Keywords: Potential Test, Anticancer, Sea Cucumber, *Holothuria atra*, *Artemia salina leach*.

### ABSTRAK

Uji potensi antikanker dari ekstrak kasar teripang *Holothuria atra* dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach adalah tujuan dari penelitian ini. Sampel diambil diperairan Tateli kabupaten Minahasa. Kemudian preparasi sampel dan uji potensi dilakukan di Laboratorium Biologi molekuler dan Farmasitika Laut Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Sam Ratulangi. Sampel dimaserasi dengan etanol selama 1 x 24 jam. Ekstrak sampel dipekatkan dengan rotari evaporator. Pengujian menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dan sebagai hewan uji digunakan larva udang *Artemia salina* Leach. Berat kering sampel 420 g setelah dimaserasi dengan etanol dan dievaporasi diperoleh berat ekstrak kasar 18 g. Analisis probit terhadap data mortalitas larva *A. salina* sebagai indikator potensi antikanker didapatkan nilai  $LC_{50}$  30.01 mg/l.

Kata kunci: Uji Potensi , Anti kanker, Teripang laut , *Holothuria atra* , *Artemia salina leach*.

### PENDAHULUAN

Teripang merupakan hewan invertebrata yang memiliki tubuh yang lunak, berdaging dan berbentuk silindris memanjang seperti ketimun. Bentuk tersebut menyerupai mentimun sehingga teripang dikenal dengan nama mentimun laut (*sea cucumber*). Teripang memiliki potensi ekonomi yang cukup tinggi sebagai bahan makanan dengan kandungan gizi dan protein yang juga

cukup tinggi. Teripang dapat ditemukan hampir diseluruh perairan pantai, mulai dari daerah pasang surut yang dangkal sampai perairan yang dalam (Martoyo dkk., 2006). Salah satu jenis teripang yang belum banyak dimanfaatkan adalah teripang keling (*Holothuria atra*). Senyawa bioaktif pada *H. atra* berpotensi untuk digunakan sebagai antimikroba dan antijamur.

Senyawa bioaktif beberapa diantaranya *steroid*, *terpenoid*, *flavonoid* dan *saponin* yang merupakan senyawa metabolit sekunder (Abdullah dan Hassan 2012). Senyawa bioaktif yang diduga memiliki aktivitas antikanker terlebih dahulu dilakukan pengujian aktivitas dengan cara uji toksisitas.

Uji toksisitas adalah uji untuk mendeteksi efek toksik suatu zat pada sistem biologi, dan untuk memperoleh data dosis-respon yang khas dari sediaan uji. Data yang diperoleh dapat digunakan untuk memberi informasi mengenai efek sediaan uji tersebut bila terjadi pemaparan pada manusia, sehingga dapat ditentukan dosis penggunaannya demi keamanan manusia. Uji toksisitas ini memiliki tujuan untuk mengetahui tingkat keamanan penggunaan konsumsi suatu senyawa. (Rofiqoh, A dan Difa. 2015)

Tujuan dari pengujian ini adalah untuk mendapatkan data kemampuan aktivitas suatu senyawa bioaktif untuk membunuh sel pada dosis yang kecil sehingga diperoleh data letal konsentrasi atau letal dosis. Kedua ukuran ini sering disebut  $LC_{50}$  atau  $LD_{50}$ , yaitu konsentrasi yang dapat membunuh 50% hewan uji. Umumnya uji toksisitas dapat dilakukan pada hewan kecil dan berumur mudah seperti *Artemia salina* leach. Pengujian toksisitas dengan menggunakan *A. salina* leach, dikenal dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) 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 A. 2012).

Uji toksisitas dalam penelitian biasanya menggunakan *A. salina* Leach sebagai bioindikator dengan metode *BLST* (Ramdhini, 2010). Uji ini dilakukan dengan cara pemberian konsentrasi tunggal senyawa uji pada hewan percobaan. Ukuran konsentrasi yang dianjurkan minimal empat peringkat konsentrasi, dari konsentrasi terendah yang tidak atau hampir tidak mematikan seluruh hewan uji sampai dengan konsentrasi tertinggi yang dapat mematikan semua

atau hampir semua hewan uji. Pengamatan umumnya dilakukan selama 24 jam (Ramadhani,2009). Pengujian toksisitas akut merupakan bagian dari uji toksisitas kuantitatif yang dilakukan dalam jangka waktu yang singkat sebagai akibat dari pemaparan jangka pendek terhadap suatu bahan kimia. Pentingnya biota laut khususnya teripang *Holothuria atra* sebagai sumber bahan aktif obat-obatan, maka sangatlah perlu dilakukan penelitian tentang aktivitas sitotoksik dari ekstrak teripang *H. atra* dengan metode *BSLT*.

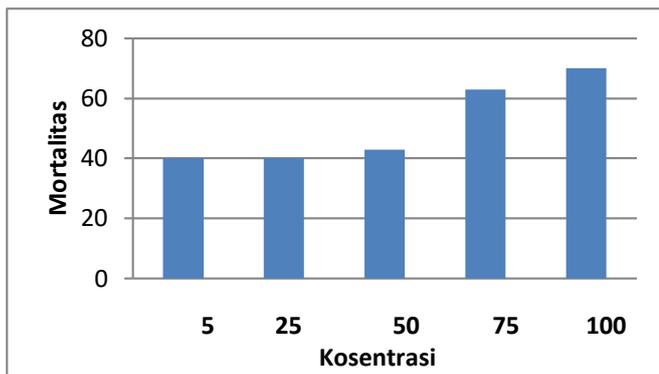
## METODELOGI PENELITIAN

Sampel Teripang laut *H. atra* diambil di perairan Desa Kalasey, Kabupaten Minahasa. Preparasi dan uji aktivitas dilakukan di laboratorium Biologi molekuler dan Farmasitika Laut FPIK Unsrat-Manado. Uji toksisitas menggunakan metode *BSLT*. Analisis data menggunakan analisis probit dengan program minitab untuk menentukan nilai  $LC_{50}$ .

Sampel dimaserasi dengan pelarut etanol selama 1 x 24 jam. Larutan ekstrak dipekatkan dengan rotari evaporator. Pengujian ekstrak dilakukan seri konsentrasi yaitu 5, 25, 50, 75, 100 ppm. Rumus pengenceran seperti diatas mengikuti persamaan  $M_1V_1 = M_2V_2$  ( Wahit 1992). Setiap perlakuan di uji diberikan 10 ekor larva udang *A. Salina*.Leach. Pengamatan dilakukan secara bertingkat 4 kali selang 6 jam setelah perlakuan ekstrak. Dalam pengamatan dihitung jumlah larva yang mati. Data pengamatan ditabulasi dalam bentuk tabel dan dilakukan analisis probit dengan program minitab.

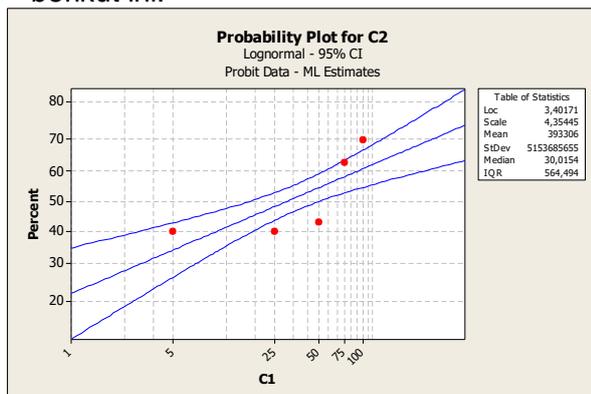
## HASIL DAN PEMBAHASAN

500 g berat basa teripang *H. arta* diperoleh berat kering 420 g setelah dimaserasi dan dipekatkan dengan rotarievaporator diperoleh berat ekstrak kasar 18 g. Hasil pengamatan mortalitas hewan ujian berkisar 40 – 70%. Data tersebut dibuatkan dalam suatu grafik seperti terlihat pada Gambar 1 berikut ini.



Gambar 1. Grafik perlakuan ekstrak teripang *H. arta* terhadap mortalitas larva *A. salina* Leach.

Berdasarkan Gambar 1 diatas menunjukkan jumlah mortalitas *A. Salina* sebagai hewan uji dipengaruhi oleh konsentrasi ekstrak *H. arta* dimana makin tinggi kosentrasi uji jumlah mortalitas larva udang *A. Salina* meningkat. Sebagaimana juga ditunjukkan pada grafik hasil analisis probit Gambar 2 berikut ini.



Gambar 2. Grafik analisis probit terhadap mortalitas larva udang *A. Salina* Leach dari perlakuan ekstrak teripang *H. arta* Hasil analisis probit data mortalitas diperoleh nilai lethal consentrasi ( $LC_{50}$ ) 30,01 mg/l. Berdasarkan kristeria tingkat toksisitas senyawa bahan alam menurut Meyer dkk (1982) yang dikutip oleh Ulfa (2014) adalah sebagai berikut suatu senyawa sangat toksik bila nilai  $LC_{50} < 30$  ppm, toksik bila  $LC_{50} 30 - 1000$  ppm dan tidak toksik bila nilai  $LC_{50} > 1000$  ppm Tingkat kematian larva *Artemia salina leach* tersebut akan memberikan makna terhadap potensi aktivitas sitotoksik. Menurut Nursid M., (2009) makin kecil

nilai  $LC_{50}$  senyawa tersebut makin toksik sebaliknya makin besar nilai  $LC_{50}$  senyawa tersebut makin kurang toksisitas. 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).

Hasil analisis probit terhadap toksisitas senyawa bioaktif dari teripanglaut *H. arta* diperoleh nilai  $LC_{50}$  yaitu 30.01 mg/l. Berdasarkan nilai ini dapat dikatakan bahwa teripanglaut *H. arta* mengandung senyawa bioaktif yang bersifat toksit dan dapat dikembangkan sebagai bahan baku obat antikanker.

Umumnya nilai uji toksisitas dapat dinyatakan dalam bentuk  $LC_{50}$  (Lethal Consentration). Nilai  $LC_{50}$  artinya konsentrasi sudah dapat membunuh 50% hewan uji dari semua populasi hewan uji yang digunakan. Berdasarkan nilai uji toksisitas maka akan diketahui apakah senyawa tersebut memiliki efek farmakologis, seperti antitumor atau kanker. Bila nilai konsentrasi  $LC_{50}$  kecil, atau konsentrasi minimum sudah dapat membunuh 50% hewan uji maka senyawa bioaktif tersebut memiliki khasiat farmakologis untuk dikembangkan sebagai bahan baku antikanker.

## KESIMPULAN

1. Ekstrak kasar teripang laut *H. arta* mengandung senyawa bioaktif yang bersifat toksik terhadap hewan uji *A. salina* L.
2. Nilai  $LC_{50}$  senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak kasar teripang laut *H. arta* adalah 30.01 mg/l.

## UCAPAN TERIMA KASIH

1. Jurnal ini merupakan salah satu syarat untuk melaksanakan ujian skripsi, karena itu saya mengucapkan terimakasih kepada
2. Prof. Ir. Farnis B. Boneka, M.Sc sebagai Dekan FPIK Unsrat
3. Wakil-Wakil Dekan FPIK Unsrat.
4. Dr. Ir. Medy Ompi, M.Sc sebagai Koordinator Program Studi Ilmu Kelautan FPIK Unsrat

5. Dr. Veibe Warouw, M. Si sebagai Kepala Laboratorium Biologi Molekuler dan Farmasetika Laut FPIK Unsrat yang memberikan kesempatan untuk menggunakan Laboratorium

Sebagai kandidat antikanker. Jurnal. Surakarta.

- Rofiqoh, Arieq Difa. 2015. Toxicity Subchronic Test of Katuk's Leaves Water Extract (Sauropus androgynous) On the Serum Bilirubin Levels and Hepatic Histology of Female Rat (*Rattus norvegicus*).

- Setiadi A. 2012. Analisis Toksisitas dengan Metode Probit. (<http://www.2016>). Diakses 18 Agus 2016

- Ulfa A. 2012. Uji Toksisitas dan Identifikasi golongan senyawa aktif ekstrak dahan sirsak *Amonna muriccata* Linn terhadap larva udang *Artemia salina* Leach. Skripsi Jurusan Kimia Fakultas sains dan teknologi Universitas Islam Malang

#### DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, H. dan H. Ibrahim. 2012. Antibacterial Carotenoids of Three Holothuria Species in Hurghada, Egypt. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 38:185-194.

- 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.

- Martoyo, J., Nugroho, A., dan Tjahjo, W. 2006. Budi Daya Teripang. Edisi Revisi. Jakarta: Penebar Swadaya. Hal. 14.

- Nursid, M., D. Fajarningsih dan Th. Wikanta. 2009. *Isolation of Cytotoxic Compound from Nephthea sp.. Soft Coral*. *Jurnal of Biotechnology Research in Tropical Rdegion*, Vol. 2, No. 1, Apr. 2009

- Mayer BNNR, Ferrigni M.L.1982. brine Shrimp, a convenient general bioassay for active plant constituents, *J of Plant Medical Research (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.

- Ramadhani, AN. 2009, 'Uji toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Sukun (*Artocarpus altilis*) terhadap Larva *Artemia salina* Leach dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BST)', Skripsi, S. Farm, Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia.

- Ramdhini. 2010. Uji toksisitas terhadap *Artemia salina* leach dan toksisitas akut komponen bioaktif *Pandanus conoideus* var.*conoideus* Lam.