

ISBN : 978.979.704.595.1

C.1. b4
PROSIDING

SEMINAR NASIONAL
PERIKANAN DAN KELAUTAN

**"PENGEMBANGAN IPTEK PERIKANAN
DAN KELAUTAN BERKELANJUTAN
DALAM Mendukung
Pembangunan Nasional"**

SEMARANG, 28 AGUSTUS 2007

Editor :

Subiyanto
Suradi Wijaya Saputra
Ristiawan Agung Nugroho
Eko Susanto
Akhmad Suhaeli Fahmi



**BADAN PENERBIT
UNIVERSITAS DIPONEGORO**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO**

SEMINAR NASIONAL PERIKANAN DAN KELAUTAN :
"Pengembangan IPTEK Perikanan dan Kelautan Berkelanjutan dalam Mendukung Pembangunan Nasional"
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro, 28 Agustus 2007

Perpustakaan Nasional RI : Katalog Dalam Terbitan

Seminar Nasional Perikanan dan Kelautan "Pengembangan IPTEK Perikanan dan Kelautan Berkelanjutan dalam Mendukung Pembangunan Nasional" (2007, Semarang)

Prosiding Seminar Nasional Perikanan dan Kelautan "Pengembangan IPTEK Perikanan dan Kelautan Berkelanjutan dalam Mendukung Pembangunan Nasional", 28 Agustus 2007

Penyunting : Subiyanto, et .al.
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Diponegoro, 2007

ISBN : 978.979.704.595.1

@ Hak Cipta dilindungi undang-undang

Penyunting : Subiyanto, Suradi Wijaya Saputra, Ristianan Agung Nugrobo, Eko Susanto,
dan Akhmad Subanli Fahmi.

Diterbitkan oleh :
Badan Penerbit Universitas Diponegoro
Semarang, 2008

Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruh isi buku ini tanpa ijin dari penyunting

KARAKTERISASI AKTIVITAS BIOLOGI EKSTRAK TIRAM *Crassostrea iredalei* DENGAN METODE BRINE SHRIMP LETHALITY TEST

Delianis Pringgenies^{*)}, Fitria Rahmawati^{*)} dan Soenarjo P. S.^{**)}

^{*)}Program Studi Ilmu Kelautan, ^{**)}Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro
Jl. Prof. Soedarto Tembalang

ABSTRAK

Interaksi-interaksi yang terjadi dalam ekologi laut menyebabkan berbagai organisme yang menetap memiliki kemampuan biogenetik untuk mempertahankan diri dari lingkungannya. *Crassostrea iredalei* merupakan salah satu biota menetap di laut yang diduga memiliki senyawa aktif.

Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) banyak digunakan dalam skrining awal senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak tumbuhan dan biota lainnya. Uji toksisitas dengan metode ini merupakan uji awal untuk mengetahui suatu senyawa mempunyai potensi sebagai antikanker/antitumor atau tidak. Diduga senyawa yang memiliki toksisitas tinggi dalam BSLT mempunyai korelasi dengan potensinya sebagai antikanker atau antitumor. BSLT didasarkan pada kemampuan membunuh *Artemia salina* yang ditetaskan di laboratorium.

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui karakter aktivitas biologi ekstrak tiram *Crassostrea iredalei*.

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel biota tiram *Crassostrea iredalei* dan kista *Artemia salina*. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental laboratoris. Analisis laboratorium meliputi ekstraksi daging tiram, fraksinasi ekstrak dengan Kromatografi Kolom Terbuka (KKT), dan uji aktivitas menggunakan Brine Shrimp Lethality Test.

Hasil penelitian memperlihatkan bahwa nilai $LC_{50-24 jam}$ berhubungan dengan potensi dalam ekstrak. Fraksi metanol dan n-heksan dengan $LC_{50-24 jam}$ 1,222 mg/L dan 4,018 mg/L memiliki aktivitas biologi sebagai antitumor. Fraksi etil asetat dengan $LC_{50-24 jam}$ 36,392 mg/L memiliki aktivitas biologi sebagai antimikroba, dan fraksi metanol sisa dengan $LC_{50-24 jam}$ 413,048 mg/L memiliki aktivitas biologi sebagai pestisida.

Kata kunci : ekstrak tiram, BSLT, potensi

PENDAHULUAN

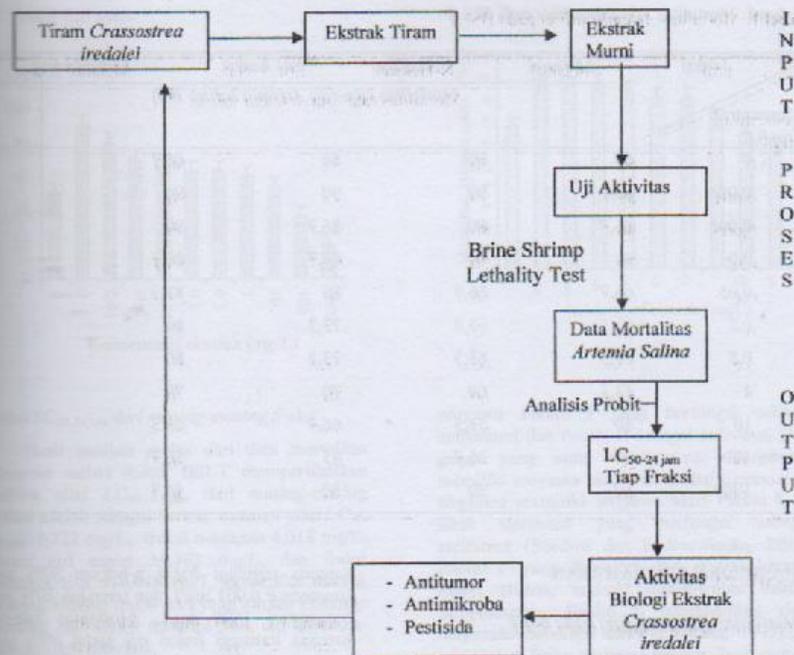
Tiram merupakan salah satu hewan invertebrata yang banyak dijumpai di hampir seluruh pesisir Indonesia dan tiram banyak dimanfaatkan sebagai bahan pangan karena kandungan gizinya yang tinggi. Selain untuk bahan pangan tiram dapat dimanfaatkan untuk bidang lain. Soediro dan Padmawinata (1993) menyatakan bahwa metabolit sekunder dari kelompok hewan moluska (kerang dan tiram) memiliki potensi sebagai antibakteri dan antivirus. Berdasarkan hal tersebut perlu dilakukan penelitian *preliminary* untuk mengetahui potensi lain tiram sehingga nantinya dijadikan sebagai informasi awal dalam bidang farmasi bahari, yakni dengan melakukan identifikasi aktivitas biologi tiram.

Tiram sampel adalah jenis tiram *Crassostrea iredalei*, merupakan jenis tiram yang banyak terdapat di perairan Jepara. Identifikasi aktivitas biologi tiram akan diketahui dengan melakukan uji aktivitas yaitu dengan cara mengekstrak tiram untuk diambil sarinya, kemudian diujikan pada *Artemia salina* dan diamati aktivitasnya melalui kemampuannya dalam berinteraksi dengan *Artemia salina*. Metode ini disebut Brine Shrimp Lethality Test dan banyak digunakan dalam skrining awal senyawa bioaktif yang berasal dari hewan maupun tumbuhan.

Berdasarkan hal tersebut, maka tujuan penelitian, untuk mengetahui karakter aktivitas biologi ekstrak tiram *Crassostrea iredalei*.

MATERI DAN METODE

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daging tiram *Crassostrea iredalei* yang



Gambar 1. Alur penelitian karakterisasi aktivitas biologi ekstrak tiram *Crassostrea iredalei* dengan metode BRINE SHRIMP LETHALITY TEST

dikoleksi dari nelayan pengumpul tiram di perairan Jepara dan sekitarnya kemudian sampel kista *Artemia salina* yang diperoleh dari Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau, Jepara.

Metode analisa laboratorium yang digunakan dalam penelitian ini meliputi :

- Ekstraksi Sampel, yaitu dengan menggunakan metode maserasi (perendaman) dengan menggunakan pelarut metanol teknis (Gritter *et. al.*, 1991).
- Fraksinasi Ekstrak dengan berbagai pelarut, yaitu metode Kromatografi Kolom Terbuka dengan pelarut n-heksan teknis, etil asetat teknis, dan metanol teknis. Pendeteksian ada tidaknya senyawa masing-masing ekstrak digunakan Kromatografi Lapis Tipis (KL.T) (Sastrohamidjoyo, 1991).
- Uji Aktivitas, yaitu dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) dengan menggunakan *Artemia salina* sebagai biota uji.

Analisis Data

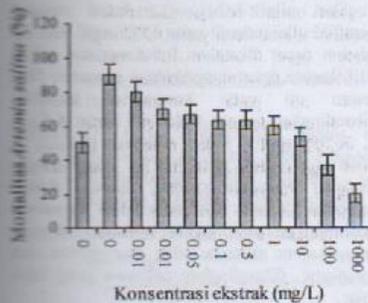
Data mortalitas *Artemia salina* yang diperoleh dari Brine Shrimp Lethality Test diolah dengan analisis probit sehingga diperoleh nilai $LC_{50-24 \text{ jam}}$ untuk tiap ekstrak. Nilai ini dicocokkan dengan kisaran potensi ekstrak, apabila nilai

- $LC_{50-24 \text{ jam}}$:
- < 30 mg/L. maka memiliki aktivitas biologi sebagai antitumor
 - : 30-200 mg/L maka memiliki aktivitas biologi sebagai antimikroba
 - : > 200 mg/L. maka memiliki aktivitas biologi sebagai pestisida

Maka akan diketahui karakter ekstrak dari masing-masing fraksi.

Untuk lebih rinci, alur penelitian tertera pada gambar Alur penelitian karakterisasi aktivitas biologi ekstrak tiram *Crassostrea iredalei* dengan metode BRINE SHRIMP LETHALITY TEST

C. Fraksi Etil asetat



Nilai LC_{50-24 jam} dari masing-masing fraksi

Hasil analisis probit dari data mortalitas *Artemia salina* dalam BSLT memperlihatkan bahwa nilai LC_{50-24 jam} dari masing-masing fraksi adalah sebagai berikut: metanol nilai LC_{50-24 jam} 1,222 mg/L, fraksi n-heksan 4,018 mg/L, fraksi etil asetat 36,392 mg/L, dan fraksi metanol sisa 414,048 mg/L. Keaktifan ekstrak masing-masing fraksi dari yang rendah ke tinggi dimulai dari fraksi metanol sisa, etil asetat, n-heksan, dan metanol.

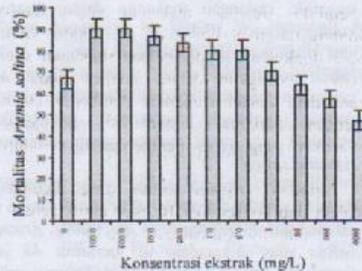
Kisaran nilai LC_{50-24 jam} dari ekstrak sesuai aktivitas biologinya (Meyer *et al.* 1982) tertera pada tabel berikut.

Tabel 2. Aktivitas biologi ekstrak berdasarkan kisaran nilai LC_{50-24 jam}

Nilai LC _{50-24 jam}	Aktivitas Biologi
< 30	Antitumor
30 - 200	Antimikroba
>200	Pestisida

Ekstrak tiram *Crassostrea iradalei* diduga memiliki aktivitas antitumor, sesuai dengan pernyataan Acosta *et al.* (1992) dalam Soediro dan Padmawinata (1993) bahwa jenis-jenis hewan golongan invertebrata, terutama jenis yang menetap. Invertebrata tidak memproduksi antibodi, maka mekanisme pertahanan dirinya didasarkan pada fagositosis oleh leukosit dan dibantu oleh eksudasi alam zat-zat non protein berbobot molekul rendah. Senyawa inilah yang punya sitospesifitas tinggi terhadap sel-sel ganas dibandingkan dengan sel-sel normal. Oleh karena itulah senyawa tersebut mungkin dapat dijadikan model untuk sintesis senyawa antitumor baru. Diperkuat dengan penelitian yang pernah dilakukan, moluska seperti remis, kijing, siput, abalon, memiliki produk berupa

D. Fraksi Metanol sisa



senyawa Paolin I yang berfungsi sebagai antibakteri dan Paolin II sebagai antivirus. Dari genus yang sama *Crassostrea rhizophorae* memiliki senyawa aktif Paolin dan *Crassostrea virginica* memiliki senyawa aktif Paolin I, II, serta mersenen yang berfungsi sebagai antitumor (Soediro dan Padmawinata, 1993). Paolin I yang diperoleh dari ekstrak kerang, tiram, abalon, mampu menghambat bakteri *Streptococcus*. Paolin II menghambat virus herpes dan beberapa tumor (Lambert, 1995).

Dalam Brine Shrimp Lethality Test, ekstrak yang digunakan berasal dari 4 fraksi, yaitu ekstrak metanol, n-heksan, etil asetat, dan metanol sisa. Nama fraksi diambil dari nama pelarut yang digunakan dalam mengambil senyawa-senyawa dalam ekstrak tiram tersebut.

Fraksi metanol menggunakan metanol sebagai pelarut campuran senyawa polar, semi polar, dan non polar. Fraksi n-heksan menggunakan n-heksan sebagai pelarut senyawa non polar. Fraksi etil asetat menggunakan etil asetat sebagai pelarut senyawa polar. Fraksi metanol sisa merupakan sisa ekstrak setelah diambil senyawa polar, semi polar, dan non polarnya (Sastrohamidjoyo, 1991).

Dari tabel di atas diketahui bahwa dalam BSLT digunakan 10 perlakuan antara 0,001-1000 mg/L dan 1 kontrol pada masing-masing fraksi. Tidak ada patokan kisaran konsentrasi dalam BSLT, mengacu pada hasil uji BSLT dikatakan aktif terhadap *Artemia salina* jika ekstrak yang diujikan menyebabkan 50% kematian pada konsentrasi ≤ 1000 ppm (Meyer *et al.*, 1982).

Pada perlakuan kontrol diperoleh rata-rata kematian *Artemia salina* untuk semua fraksi antara 50-66,7%. Kematian ini disebabkan *Artemia salina* yang digunakan adalah nauplii instar II (umur 48 jam), pada jam 0-48 ada

Artemia salina mampu bertahan hidup tanpa makanan (Lewis, 1995). Mereka masih memiliki cadangan makanan dalam kantong kuning telurnya (Pelka, et. al., 2000). Namun saat dilakukan uji persediaan makanan sudah habis, sedangkan dalam kontrol tidak ada tambahan makanan apapun. Pemberian ekstrak dengan berbagai konsentrasi memberikan masukan yang dapat mempengaruhi kehidupan *Artemia salina*.

Jumlah *Artemia salina* yang digunakan dalam tiap konsentrasi 10 ekor untuk setiap 10 mL larutan uji (Carbalo, et. al., 2002). *Artemia salina* yang digunakan uji berumur 48 jam (instar II), karena pada tahap ini *Artemia salina* menunjukkan sensitivitas terbaik dalam hal mendeteksi senyawa (Lewis, 1995). Selain itu pada tahap instar II ini *Artemia salina* sudah memiliki mulut, saluran pencernaan, dan dubur sehingga aktif mencari makan, larutan uji akan menjadi pengaruh utama (Artini, 2000).

Pada fraksi metanol dan metanol sisa, mortalitas *Artemia salina* lebih tinggi dari kontrol pada konsentrasi antara 0,001 – 1 mg/L, yang berarti pemberian ekstrak memberikan efek toksik pada *Artemia salina*. Hal ini terjadi juga pada fraksi n-heksan dan etil asetat, namun efek toksik terlihat pada konsentrasi 0,001- 100 mg/L. Apabila dilihat dari kecenderungan naiknya jumlah *Artemia salina* yang hidup seiring naiknya konsentrasi uji, dapat dijelaskan bahwa dalam ekstrak tiram terdapat senyawa toksik dan non toksik yang saling berinteraksi, namun tidak diketahui perbandingan jumlahnya, sehingga diperkirakan aktivitas toksik yang dimiliki lebih kecil dari aktivitas yang mendukung pertumbuhan *Artemia salina*.

Dalam ekstrak diduga mengandung berbagai senyawa yang memiliki sifat berbeda, namun sifat-sifat tersebut tidak bekerja sendiri, apabila ada senyawa lain dengan sifat berbeda maka dapat menimbulkan efek baik sinergis, antagonis, maupun netral (Loomis, 1978). Dalam kasus ini dimungkinkan terjadi efek netral, sehingga pada konsentrasi uji yang lebih tinggi, mortalitas *Artemia salina* justru semakin berkurang. Konsentrasi uji yang rendah mengandung ekstrak dalam jumlah sedikit, maka *Artemia salina* saling berkompetisi dalam memperoleh makanan, sehingga angka mortalitasnya tinggi. Dilihat dari sifatnya, *Artemia salina* bukan biota yang memilih makanan tertentu, mereka akan makan apa saja yang ada di air selama ukurannya sesuai (Purwakusuma, 2000).

Nilai $LC_{50-24 jam}$ dari masing-masing fraksi

Dari nilai $LC_{50-24 jam}$, fraksi metanol memiliki nilai terkecil yaitu 1,222 mg/L dari hal tersebut dapat dikatakan fraksi metanol paling aktif, karena dapat menyebabkan kematian 50% hewan uji pada konsentrasi terendah. Dibandingkan dengan fraksi etil asetat ($LC_{50-24 jam}$ 36,392 mg/L), fraksi n-heksan ($LC_{50-24 jam}$ 4,018 mg/L) lebih aktif, hal ini sesuai dengan pendapat Purwoko (1998), bahwa ekstrak semipolar ke arah non polar lebih berpotensi menimbulkan sifat toksik terhadap *Artemia salina* karena sifatnya sukar disekresikan oleh organisme, dibandingkan senyawa yang lebih polar.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat diambil kesimpulan sebagai berikut, yaitu :

1. Fraksi metanol dan n-heksan memiliki $LC_{50-24 jam}$ 1,222 mg/L dan 4,018 mg/L. Fraksi etil asetat dengan $LC_{50-24 jam}$ 36,392 mg/L dan fraksi metanol sisa dengan $LC_{50-24 jam}$ 413,048 mg/L.
2. Ekstrak tiram diduga memiliki aktivitas antitumor, antimikroba, dan pestisida yang muncul dalam konsentrasi tertentu.

DAFTAR PUSTAKA

- Acosta et. al. (1992) dalam Soediro dan Padmawinata (1993)
- Acosta, A.L., A.D. Rodringer. 1992. A Cytotoxic Antitumor Bromotyrosine Derived Alkaloid from The Caribbean Marine Sponge, *Aplysine lacunose*. In Soediro, I. S. dan K. Padmawinata. 1993. Pemanfaatan dan Prospek Obat Bahan Alam Hayati Bahari. Makalah Seminar Sehari. Pemanfaatn Obat Bahan Alam. Kerjasama Jurusan Farmasi FMIPA-ITB dengan Yayasan Pengembangan Obat Bahan Alam Phyto Medica. 10 hlm.
- Artini, W. 2000. Uji Toksisitas Daun dan Bunga Tanaman Pacar Cina (*Aglia odorata* Lour) Terhadap Larva Udang Renik Air Asin (*Artemia salina* Leach), Skripsi, Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila. Jakarta.

