

Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol Anggur Laut (*Caulerpa racemosa*) dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test)

Cytotoxic Activity Test of Sea Grape (*Caulerpa racemosa*) Ethanol Extract with BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) Method

Sri Hainil ^{1*}

Ghalib Syukrilah ²

Rastria Meilandra ³

Daniel Kurniawan ⁴

Institut Kesehatan Mitra Bunda,
Batam, Kepulauan Riau,
Indonesia

*email: nininkda72@gmail.com

Abstrak

Indonesia, khususnya di Kepulauan Riau memiliki sumber daya alam hayati laut yang melimpah. Sehingga dapat dimanfaatkan sebagai bahan dasar dari suatu pencarian bahan obat atau pengobatan. Salah satunya jenis anggur laut *Caulerpa racemosa* dari kelompok alga hijau yang mengandung berbagai macam metabolit sekunder dengan senyawa bioaktif yang bersifat sitotoksik untuk membunuh sel kanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya aktivitas sitotoksik ekstrak etanol anggur laut yang berasal dari Kampung Terih, Pantai Nongsa Kepulauan Riau. Metode yang digunakan adalah metode BSLT dengan larva *Artemia Salina* Leach sebagai hewan ujinya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol anggur laut pantai Terih, Nongsa mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin dan fenolik. Hasil uji sitotoksik ekstrak etanol anggur laut menunjukkan hasil dengan nilai LC50 sebesar 2.154 ppm. Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol anggur laut tidak bersifat sitotoksik dengan nilai LC50 > 1000 ppm sehingga tidak berpotensi sebagai bahan dasar pengujian antikanker.

Kata Kunci:

Anggur Laut
BSLT
Larva *Artemia Salina* Leach
Sitotoksik

Keywords:

Sea grape
BSLT
Artemia Salina Leach larvae
Cytotoxic

Abstract

Indonesia, especially in the Riau Islands has abundant marine biological natural resources. So that it can be used as the basic ingredient of a search for medicinal or medicinal materials. One of them is the *caulerpa racemosa* sea grape type from the green algae group which contains a variety of secondary metabolites with bioactive compounds that are cytotoxic to kill cancer cells. This study aims to determine the cytotoxic activity of sea grape ethanol extract originating from Terih Village, Nongsa Beach, Riau Islands. The method had been used the BSLT method with *Artemia Salina* Leach larvae as the test animal. The results showed that the ethanol extract of terih beach sea grape, Nongsa contains alkaloid compounds, flavonoids, saponins and phenolics. The results of the cytotoxic test of sea grape ethanol extract showed results with an LC50 value of 2,154 ppm. From this study, it can be concluded that the ethanol extract of sea grapes is not cytotoxic with a value of LC50 > 1000 ppm so it does not have the potential to be a basic ingredient for anticancer testing.



© 2023 The Authors. Published by Institute for Research and Community Services Muhammadiyah Palangkaraya. This is Open Access article under the CC-BY-SA License (<http://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>). DOI: <https://doi.org/10.33084/jsm.v9i1.5200>.

PENDAHULUAN

Indonesia, khususnya di Kepulauan Riau memiliki kekayaan tumbuhan laut yang melimpah. Salah satunya mengandung berbagai macam metabolit sekunder yang memiliki sifat toksik untuk membunuh sel kanker (Mayefis et al., 2021). Salah satu contoh tanaman dipesisir pantai yang dapat digunakan yaitu rumput laut. Potensi rumput laut (makroalga) Indonesia sangat besar untuk dikembangkan sebagai bahan baku obat. Dalam pengobatan tradisional, alga laut telah lama digunakan untuk keperluan pengobatan berbagai jenis penyakit.

sehingga sekarang ini banyak penelitian yang dilakukan untuk mengeksplor manfaat rumput laut sebagai bahan dasar untuk obat-obatan.

Caulerpa racemosa merupakan salah satu jenis rumput laut dari kelompok alga hijau yang hidup menyebar di beberapa perairan Indonesia khususnya Batam, Kepulauan Riau. Varietas alga jenis *C. racemosa* termasuk spesies yang belum dibudidayakan dan biasa dikonsumsi sebagai sayuran atau lalapan oleh masyarakat di daerah tropikal seperti di Indonesia.

Penelitian sebelumnya oleh (Melati, 2021) ekstrak metanol alga hijau *Boergesenia forbesii* (Harvey) Feldman bersifat toksik terhadap *A.Salina* dengan nilai LC50 yaitu 508,74 ppm.

Senyawa Sitotoksik adalah suatu senyawa atau zat yang dapat merusak sel normal atau sel kanker, serta digunakan untuk menghambat pertumbuhan dari sel tumor maligna (Purwanto et al., 2015).

Uji sitotoksik metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) merupakan uji pendahuluan yang dapat digunakan untuk memantau senyawa bioaktif dari bahan alami (Anderson et al., 1991). Adanya korelasi positif antara metode BSLT dengan uji sitotoksik menggunakan kultur sel kanker maka metode ini sering dimanfaatkan untuk skrining senyawa antikanker (Carballo et al., 2002).

Metode tersebut memiliki beberapa keuntungan antara lain lebih cepat, murah, mudah, tidak memerlukan kondisi aseptis dan dapat dipercaya (Meyer et al., 1982; Dachriyanus, 2005; Fajarningsih et al., 2006).

Kanker dibedakan menjadi dua yaitu sarkoma dan karsinoma. Sarkoma bersifat luas / mensensimal misalnya fibrosarkoma, limposarkoma, osteosarkoma, sedangkan karsinoma bersifat epitelial sebagai contoh kanker payudara, kanker lambung, kanker uterus, kanker kulit (Khan et al., 2006).

METODOLOGI

Alat

Alat yang digunakan adalah Rotary Evaporator (Heidolp®), wadah kaca, saringan, aquarium, vial, lampu, aerator, plastik hitam, aluminium foil, gelas ukur, erlenmeyer, corong, batang pengaduk, pipet tetes mikro, kertas saring, spatula, timbangan analitik.

BAHAN

Bahan yang akan digunakan pada penelitian ini adalah Anggur laut (*Caulerpa racemosa*) yang diambil di Kampung Terih pantai Nongsa, Batam, Kepulauan Riau. air laut, etanol, larva udang (*Artemia salina* Leach), dimetilsulfoksida (DMSO).

PENGAMBILAN SAMPEL

Sampel anggur laut diambil tanggal 7 Februari 2022, di Perairan Kampung Terih, Kecamatan Nongsa, Batam, Kepulauan Riau pada pesisir pantai saat surut ±1 meter dibawah permukaan laut.

PENYIAPAN SAMPEL

Sampel anggur laut (*Caulerpa racemosa*) yang telah terkumpul disortir dan dicuci bersih dibawah air mengalir agar terbebas dari lumpur, lalu anggur laut ditiriskan dan ditimbang berat awalnya sebanyak 20 kg. kemudian anggur laut di rajang kecil-kecil.

PEMBUATAN EKSTRAK ANGGUR LAUT

Sampel segar anggur laut *Caulerpa racemosa* sebanyak 20 kg yang sudah dicuci, ditiriskan, dirajang kemudian dimaserasi dengan etanol sampai terendam seluruhnya dalam wadah kaca dan disimpan ditempat yang terlindung cahaya selama 3x6 hari sambil sesekali diaduk dan disaring dengan kertas saring. Maserat etanol tersebut digabung dan dipampatkan dengan Rotary Evaporator sampai terbentuk ekstrak kental kemudian ditimbang (Handayani, 2016; Krisyanella, 2011).

Rendemen yang diperoleh dihitung berdasarkan persentase bobot (b/b) dengan menggunakan persamaan berikut :

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat Ekstrak Yang Didapat}}{\text{Berat Sampel Yang digunakan}} \times 100\%$$

KARAKTERISASI EKSTRAK

a. Pemeriksaan Organoleptis

Dilakukan identifikasi secara fisik dengan panca indera meliputi bau, bentuk, dan warna dari ekstrak (Sri Hainil, Sammulia, et al., 2021).

b. Pemeriksaan Kadar Air

Dibersihkan cawan porselin dan dikeringkan dalam oven selama 15 menit pada suhu 105°C, kemudian didinginkan dalam desikator selama 30 menit dan ditimbang beratnya. Ditimbang sampel sebanyak 2 gram di letakkan dalam cawan porselin yang telah diketahui beratnya. Kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 100-105°C selama 3 jam, didinginkan di dalam desikator selama 15 menit lalu ditimbang. Perlakuan ini diulangi

sampai tercapai lalu ditimbang. Perlakuan ini diulangi sampai tercapai berat konstan.

c. Pemeriksaan Kadar Abu

Timbang ekstrak kental sebanyak 2 gram lalu dimasukkan kedalam krus porselin yang sebelumnya sudah dipanaskan pada suhu 1050C selama 30 menit dan telah ditara. Setelah itu krus porselin dimasukkan ke dalam furnace lalu dipijarkan pada suhu 6000C selama 7 jam, dikeluarkan dan didinginkan dalam desikator selama 15 menit dan timbang kembali (Sri Hainil, Sammulia, et al., 2021).

SKRINING FITOKIMIA

1. Uji Alkaloid

Sebanyak 10 tetes ekstrak anggur laut dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 3 tetes amoniak, klorofom, dan H₂SO₄. Lapisan atas yang terbentuk dipipet dan dimasukkan ke tabung reaksi yang baru, lalu tambahkan pereaksi Mayer sebanyak 2 tetes. Positif adanya alkaloid jika menghasilkan endapan putih atau kuning.

2. Uji Flavonoid

Sebanyak 10 tetes ekstrak anggur laut dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu tambahkan aquadest dan dididihkan kemudian ditambahkan 0,1 g serbuk Mg dan 2 tetes Asam Klorida pekat dikocok dan dibiarkan memisah. Mengandung Flavonoid jika ekstrak positif berubah menjadi warna merah, kuning, jingga.

3. Uji Saponin

Sebanyak 10 tetes ekstrak anggur laut dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan air hangat kemudian dikocok selama 15 menit. Di teteskan 1 tetes HCl 2 N, apabila terbentuk busa permanen dapat dikatakan bahwa ekstrak mengandung saponin.

4. Uji Fenolik

Sebanyak 10 tetes ekstrak anggur laut dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 10 tetes FeCl₃ 1%, apabila menghasilkan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam pekat positif mengandung senyawa fenolik.

5. Uji Steroid dan Terpenoid

Sebanyak 10 tetes ekstrak anggur laut dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan pereaksi Liebermann Burchard apabila terbentuk warna hijau kebiruan maka positif mengandung senyawa steroid, apabila terbentuk warna merah/ungu maka positif mengandung senyawa terpenoid.

PERSIAPAN HEWAN PERCOBAAN

Hewan percobaan yang digunakan adalah larva *Artemia salina* L. Telurnya dibiakan terlebih dahulu didalam wadah pembiakan yang berisi air laut yang telah dilengkapi aerator dan cahaya. Dimana wadah ini diberi sekat dibagi dua, satu dibuat gelap untuk penetasan larva, dan satunya lagi terang.

Dimana nantinya larva yang sudah menetas akan berenang ketempat yang terang. Temperatur untuk penetasan larva berkisar 25- 30°C. Telur akan menetas dalam waktu 48 jam dan akan bergerak secara alamiah menuju daerah terang sehingga larva udang terpisah dari kulit telur. Larva yang sehat bersifat fototropik dan siap dijadikan hewan uji pada umur 36-48 jam. Larva dipisahkan dari telurnya dengan pipet ke dalam vial yang berisi air laut (Harmita dan Radji, 2008).

PENGUJIAN AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK ANGGUR LAUT DENGAN METODA BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BSLT)

Pengujian pendahuluan dengan terlebih dahulu membuat larutan induk sampel dengan cara ekstrak kental ditimbang sebanyak 1g dilarutkan didalam 100 ml air laut. Selanjutnya dari larutan induk dibuat 3 konsentrasi yaitu 1000, 100, dan 10 ppm, dan setiap konsentrasi dibuat pengulangan sebanyak 3 kali. Larutan uji ini dibuat dengan cara memipet 500, 50, 5 µl dari larutan induk dan dimasukan kedalam vial, kemudian tiap vial ditambahkan 50 µl larutan DMSO. Masing-masing vial ditambahkan 10 ekor larva yang sudah dibiakan tadi lalu dicukupkan volumenya 5 ml dengan air laut. Jumlah larva yang hidup dihitung setelah 24 jam, maka dapat diketahui jumlah larva yang mati. Nilai LC₅₀

dihitung dengan menggunakan metoda kurva (Handayani,2016,Sukmarianti,2013,Handayani,2011).

ANALISA DATA

Analisis data dalam penelitian ini adalah menggunakan persamaan regresi linear pada ms. Excel dan juga dalam bentuk table dengan melakukan pengamatan terhadap larva artemia.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Organoleptis Setelah ditiriskan didapatkan sampel dengan pemerian berupa bulat-bulat seperti anggur berwarna hijau, tekstur kenyal dan berlendir, serta berbau amis seperti ikan. Gambar anggur laut yang dijadikan sampel penelitian ditunjukkan pada gambar 1.



Gambar 1. Anggur Laut

Sampel lalu disiram dengan ethanol untuk mengurangi pembusukan, dan kemudian dirajang halus untuk segera dilakukan proses ekstraksi (Handayani, 2016).

Hasil ekstraksi didapatkan ekstrak kental anggur laut (*Caulerpa racemosa*) sebanyak 425 gram dari 20kg simplisia sehingga diperoleh hasil rendemen ekstrak 2,12 % dan hasil ekstrak berwarna hijau kecoklatan dengan aroma amis dan rasa asin. Menurut (Isyani, 2007), persentase rendemen yang dihasilkan dari ekstraksi makroalga dengan menggunakan pelarut etanol berkisar 2-3%.

Hasil pengujian kadar air pada ekstrak anggur laut sebesar 19,87%. Hasil tersebut tidak jauh berbeda dengan kadar air pada anggur laut khas Maluku

(Kepulauan Kei) dengan jenis *Caulerpa* lentilifera yaitu berkisar 8,82-19,22% (Topatubun, 2018).

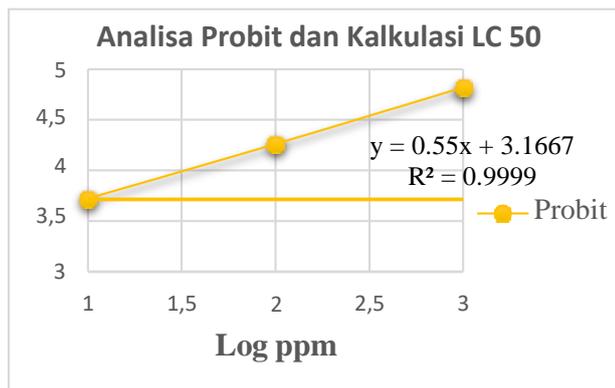
Hasil yang diperoleh pada uji kadar abu sebesar 16,91%.Menunjukkan bahwa hasil kadar abu pada anggur laut cukup tinggi sehingga menandakan anggur laut jenis *Caulerpa racemosa mm* memiliki unsur mineral yang cukup banyak. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Topatubun, 2018) kadar abu anggur laut jenis *Caulerpa* lentilifera yang diperoleh dari perairan Kei Maluku yaitu 41,83%.

Hasil dari identifikasi skrinning fitokimia yang dilakukan didapatkan bahwa ekstrak kental anggur laut mengandung alkaloid, flavonoid, terpenoid dan saponin. Hasil uji BSLT ekstrak ethanol anggur laut *Caulerpa racemosa* disajikan pada Tabel 1. Dari tabel dapat dilihat bahwa persentase kematian larva *Artemia salina* semakin meningkat seiring dengan kenaikan konsentrasi ekstrak. Berdasarkan nilai persen kematian yang diperoleh dari Tabel 1. Dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin besar tingkat kematian larva udang.

Tabel 1. Hasil Pengujian Ekstrak Anggur Laut dengan Metoda Brine Shrimp Lethality Test

Konsentrasi (%)	Ppm	Log (Ppm)	Probit	% Kematian	Mortalitas
0,001	10	1	3,72	10%	3
0,01	100	2	4,26	23%	7
0,1	1000	3	4,82	43%	13

Berdasarkan data diatas dapat dibuat grafik antara konsentrasi sampel vs persen inhibisi seperti pada gambar 2. Berdasarkan kategori toksisitas yang dikemukakan didalam jurnal Meyer et al, tahun 1982 yang membagi tiga kategori toksisitas berdasarkan nilai LC50, yaitu sangat toksik dengan nilai LC50 < 30 ppm, toksik dengan nilai LC50 30-1000 ppm dan tidak toksik dengan nilai LC50 > 1000 ppm (Meyer et al, 1982).



Gambar 2. Grafik Nilai Probit terhadap Log Konsentrasi dari Ekstrak Anggur Laut

Dalam grafik, masing-masing dicari nilai probitnya dan dianalisis menggunakan analisis regresi linier sehingga diperoleh persamaan regresi $y = 0,550x + 3,167$ dengan $r = 0,999$. Parameter y menunjukkan angka probit dan parameter menunjukkan log konsentrasi ekstrak ethanol. Setelah dimasukan nilai y sebesar 5 ke persamaan tersebut maka diperoleh nilai x sebesar 3,333. Maka dari angka ini dapat ditentukan LC50 yang merupakan antilog dari nilai x , yaitu sebesar 2.154,43 ppm. Berdasarkan dari penelitian (Meyer et al., 1982) suatu ekstrak menunjukkan aktivitas ketoksikan dalam uji sitotoksik jika ekstrak dapat menyebabkan kematian 50% pada hewan uji pada konsentrasi <1000 ppm.

KESIMPULAN

Ekstrak ethanol anggur laut Pantai Terih, Nongsa Kepulauan Riau tidak mempunyai aktivitas sebagai antikanker dengan nilai LC50 sebesar 2.154,43 ppm.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kami ucapkan kepada INSTITUT KESEHATAN MITRA BUNDA atas selesainya penelitian kami.

REFERENSI

- Carballo, J.L., Inda, Z.L.H, Perez, P, dan Gravalos, M.D.G. 2002. A Comparison Between Two Brine Shrimp Assays to Detect In Vitro Cytotoxicity in Marine Natural Products. *BMC Biotechnology* 2 (17) : 1-5
- Dachriyanus., Oktima.W, dan Stanias J. 2005. 1,7-dihidroksixanton, Senyawa Sitotoksik dari Kulit Batang *Garcinia griffitii*. *Journal Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam*: 14(1). Hal: 17-21.
- Fajarningsih, N.D., Januar, H.I, Nursid, M dan Wikanta, T. 2006. Potensi Antitumor Ekstrak Spons *Crella papilata* Asal Taman Nasional Laut Kepulauan Seribu. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*: Vol 1 (1): 35-41.
- Hainil, Sri, Sammulia, S. F., Mitra, K., & Laut, A. 2021. Aktivitas Antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypi* Ekstrak Metanol Anggur Laut (*Caulerpa racemosa*) Antibacterial Activity *Staphylococcus aureus* And *Salmonella typhi* Sea Grapes.
- Handayani, D., Handayani, C., & Krisyanella, K. 2016. Isolasi Senyawa Kimia Utama Dari Fraksi Aktif Sitotoksik Spon Laut *Petrosia sp* (MN05). *Jurnal Farmasi Higea*: 4(1), 24-30.
- Iswani, S. (2007). Proses preparasi ekstraksi kasar (crude extract) etanol dari makroalga untuk uji farmakologi. *Buletin Teknologi Penelitian Akuakultur* 6:57-60.
- Khan, Ali, M.A., Prasanta Paul, P., and Islam, M.T. 2006. Phytochemical and pharmacological screening of *Shingra* (*Cynometra ramiflora* Linn., Family: Leguminosae) bark based on its traditional uses. Department of Pharmacy Southern University.
- Mayefis, D., Hainil, S., & Sari, N. 2021. Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Spons Laut Natuna dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). 11(1), 56–61.
- Melati, P. 2021. Uji Aktivitas Antioksidan, Sitotoksisitas Dan Gc-Ms Ekstrak Metanol Alga Hijau *Boergesenia Forbesii* (Harvey) Feldmann Dari Pantai Panjang Bengkulu. *Jurnal Pengelolaan Laboratorium Sains Dan Teknologi*: 1(1), 10–24.
- Meyer, B.N., Ferrigni, N.R., Putnam, J.E., Jacobsen, L.B., Nichols, D.E, and Mc Laughlin, J.L., 1982,

Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents, *Planta Medica*, 45(05), 31-34.

- Purwanto, N., Rismawati, E., & Sadiyah, esti R. 2015. Ujiitotoksik ekstrak biji salak (*Salacca zalacca* (Gaert) Voss dengan menggunakan metode Brine Shrimp lethality test (Bslt). *Prosiding penelitian SPeSIA Unisiba prodi farmasi FMIPA*: 616–622 Sukmarianti, N. W. S., Suaniti, N. M., & Swantara,
- Tapotubun AM. 2018. Komposisi kimia rumput laut *Caulerpa lentillifera* dari Perairan Kei Maluku dengan metode pengeringan berbeda. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*: 21(1): 13-2