

# PENELUSURAN ZAT TOKSIK SARANG SEMUT ACEH (*Myrmecodia sp*) DENGAN METODE BST TERHADAP LARVA UDANG *Artemia salina* LEACH

Frengki<sup>1\*</sup>, Cut Gina Indriyani<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Klinik interna Fakultas Kedokteran Hewan Unsyiah, Banda Aceh

<sup>2</sup>Staf pengajar Fakultas Kedokteran Unsyiah, Banda Aceh

\*Email: [farhanayyash@gmail.com](mailto:farhanayyash@gmail.com)

## ABSTRACT

*The Myrmecodia species as medicinal plants find Papua Island and Sumatera Island like Aceh forest. It is a member of Rubiaceae family and lives as epiphyte on other plants. Local peoples in Aceh province boiled the tubers parts of myrmecodia species to treat inflammation, rheumatic, cancer and other diseases. Meanwhile, there is still limited scientific evidence to proof the efficacy of myrmecodia species. The dried simplicia was extracted using maceration technique, then partitioned using n-hexane, chloroform and n-butanol solvent. Toxicity test was done by the Brine Shrimp Lethality Test (BST) method at four concentration levels, i.e: 1000, 500, 250, 125 and 6.5 ppm. The result of the research showed that n-butanol, chloroform and n-hexane of Myrmecodia species acute toxicity by LC<sub>50</sub> value 97.72 ppm, 262.02 ppm and 223.87 ppm respectively. Analysis Infrared spectrum of butanol extract showed some functional groups like hydroxy, ether and aromatic ring.*

**Keyword :** Sarang semut Aceh, Toxicity, BST Methode

## I. PENDAHULUAN

### Latar Belakang

Tumbuhan merupakan salah satu bahan obat tradisional yang telah dikenal sejak dahulu kala. Dalam beberapa tahun terakhir ini penggunaan obat tradisional telah menarik perhatian dan kepopulerannya di masyarakat kita semakin meningkat. Salah satu penyebabnya adalah penerimaan masyarakat itu sendiri 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 (Anonymous, 1997).

Salah satu tanaman obat tersebut adalah sarang semut (*Myrmecodia sp*). *Myrmecodia pendans* merupakan tanaman obat asal Papua yang cukup ampuh 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), 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 tersebut, banyak ditemukan tumbuhan sejenis diberbagai daerah di Indonesia termasuk di Aceh. Penelitian dan publikasi ilmiah sarang semut Aceh masih sangat terbatas bahkan laporan khasiatnya belum ada sama sekali, padahal masyarakat di Aceh sudah lama memanfaatkan sarang semut tersebut secara tradisional sebagai obat.

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 BST (*Brine Shrimp Test*) (Alam, 2002).

BST merupakan salah satu cara yang cepat dan murah untuk skrining toksisitas dari ekstrak tanamandengan menggunakan hewan laut yaitu larva

udang *Artemia salina* Leach (Meyer, 1982). Uji toksisitas dengan metode BST ini memiliki spektrum aktivitas farmakologi yang luas, prosedurnya sederhana, cepat dan tidak membutuhkan biaya yang besar, serta hasilnya dapat dipercaya. Disamping itu metode ini sering dikaitkan dengan metode penapisan senyawa antikanker.

Hasil skrining fitokimia tumbuhan sarang semut Aceh yang telah peneliti lakukan sebelumnya diketahui mengandung golongan senyawa fenol, saponin, steroid dan Triterpenoid (Frengki, dkk. 2013). Hal ini mengindikasikan tumbuhan ini kaya dengan senyawa bioaktif. Kesimpulan ini diperkuat dengan hasil uji toksisitas dengan metode BST terhadap ekstrak kasar etanol diperoleh  $LC_{50}$  61,10  $\mu$ g/ml.

Berdasarkan latar belakang tersebut penulis berkeinginan mengetahui lebih jauh golongan senyawa aktif apa sebenarnya yang paling toksik dan berpeluang untuk dikembangkan sebagai sumber bahan baku obat dengan melakukan penelusuran berkelanjutan terhadap fraksi-fraksi yang dibedakan berdasarkan tingkat kepolarannya. Selanjutnya terhadap fraksi yang paling aktif dilakukan identifikasi kandungan senyawa kimia secara spektroskopi.

## II. MATERIAL DAN METODE PENELITIAN

### A. MATERIAL

Material yang digunakan meliputi blender, batang pengaduk, cawan petri, gelas piala 250 ml-500 ml, gelas ukur 10 ml-100 ml, seperangkat alat refluks, evaporator, toples, seperangkat alat skrining fitokimia, sumur plat dan pipet mikro, sedangkan bahan yang digunakan adalah ekstrak etanol sarang semut, pelarut etanol 70%, n-heksan, kloroform dan aquadest, air laut serta larva udang renik.

### B. METODE

#### 1. Jenis Penelitian

Penelitian ini adalah deskripsi eksploratif dan penelitian eksperimental dengan pendekatan *post test-only control group design*. Perlakuan dengan pemberian ekstrak etanol, fraksi n-heksan, etilasetat dan airtumbuhan sarang semut asal Aceh terhadap larva *Artemia salina* Leach. Terhadap ekstrak paling toksik akan dianalisis kandungan senyawa aktifnya secara spektroskopi

#### 2. Populasi Dan Sampel

Populasi penelitian eksperimental ini adalah larva *Artemia salina* Leach. Sampel diambil secara

acak terhadap larva yang memenuhi kriteria sebagai berikut :

#### Kriteria Inklusi:

- Larva *Artemia salina* Leach berumur 48 jam
- Larva yang tidak tampak cacat secara anatomi

#### Kriteria Eksklusi:

- Larva *Artemia salina* Leach yang tidak menunjukkan aktivitas pergerakan sebelum perlakuan.

#### Besar Sampel

Jumlah larva *Artemia salina* Leach yang digunakan adalah 10 ekor/larva tiap kelompok perlakuan. Pada penelitian ini terdapat tiga kelompok perlakuan dengan lima kali replikasi untuk tiap kelompok perlakuan. Sehingga jumlah sampel total yang diperlukan adalah 150 ekor larva masing-masing ekstrak (n-heksan, kloroform, dan air).

### 3. Variabel Penelitian Uji Eksperimental

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak fraksi n-heksan, kloroform dan air tumbuhan sarang semut, sedangkan variabel terikat adalah efek toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach.

### 4. Cara Kerja

#### Pengolahan sampel

Sarang semut di potong kecil-kecil dan dikeringkan dan di jemur di bawah paparan sinar matahari, kemudian di serbukkan dengan cara di blender.

#### Ekstraksi sampel

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 kedalam oven hingga semua air menguap dan ekstrak menjadi kering. Lakukan penimbangan terhadap rendemen yang diperoleh.

#### Uji Toksisitas

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.

Larutan induk dibuat dengan melarutkan 4 mg sampel dengan 10  $\mu$ L DMSO dan ditambahkan

dengan air laut dengan kadar garam hingga 2 mL. Kadar larutan induk adalah 2000 µg/mL. Sampel yang akan diuji disiapkan pada konsentrasi 500, 250, 100 dan 50 µg/mL. Sebagai blanko tanpa larutan uji dibuat dengan cara 10 µL DMSO ditambahkan air laut hingga 2 mL.

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 100µL. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam dengan menghitung jumlah larva udang yang masih hidup dan yang sudah mati, kemudian dihitung mortalitasnya seperti persamaan berikut :

Nilai  $LC_{50}$  ditentukan melalui persamaan regresi (sumbu x adalah  $[\log k]$ , sedangkan sumbu y adalah % mortalitas) dengan bantuan program komputer sederhana *Mic. Excel 2007*. Suatu fraksi atau ekstrak dikatakan aktif bila mempunyai nilai  $LC_{50}$  1000 µg/mL (Meyer, dkk. 1984 dan Alam. 2002).

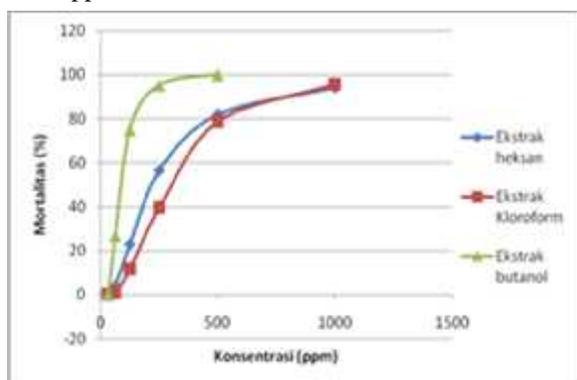
Fraksi yang menunjukkan aktivitas daya paling toksik akan diidentifikasi kemungkinan senyawa yang dikandungnya secara deskriptif menggunakan spektrofotometer Infra Merah untuk mengetahui gugus fungsi senyawa kimia penyusunnya. Spektrum IR yang diperoleh diinterpretasikan berdasarkan pita serapan dari pola spektrum yang terbentuk.

### III. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. Hasil

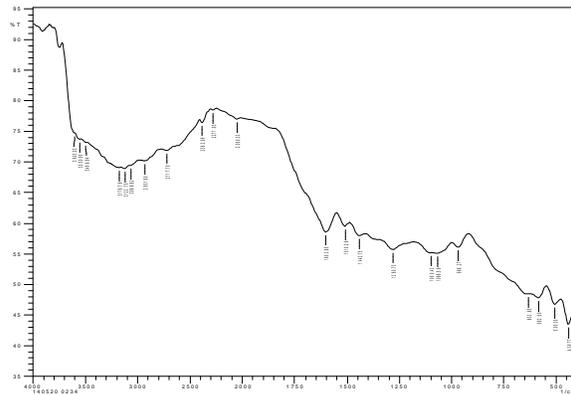
Hasil partisi 1,8 g ekstrak etanol sarang semut diperoleh masing-masingnya fraksi heksan 100mg, fraksi kloroform 300 mg, dan fraksi butanol sebanyak 1,4 g.

Hasil uji BSLT diperoleh nilai  $LC_{50}$  masing-masing fraksi tersebut sebesar 223.87 ppm untuk fraksi heksan, 26.02 ppm untuk fraksi kloroform, dan 97.72 ppm untuk fraksi butanol.



Gambar 1. Grafik Hasil Uji BST

Hasil identifikasi gugus fungsi fraksi butanol diketahui adanya pita serapan pada bilangan gelombang ( $\nu$ ) 962.27, 1068.56, 1099.43, 1280.73, 1442.75, 1510.28, 1602.87, 2050.33, 2277.93, 2382.09, 2717.70, 2931.80, 3066.82, 3122.75, 3176.76 3496.94, 3550.95 dan 3603.03  $cm^{-1}$



Gambar 2. Grafik FT-IR ekstrak butanol

#### B. Pembahasan

Hasil partisi menunjukkan fraksi polar (n-butanol) merupakan komponen terbanyak yang terdapat dalam ekstrak etanol sarang semut yaitu sebesar 77,78%, selanjutnya fraksi semi polar (kloroform) dengan persentase 16,67% dan terakhir fraksi non polar (n-hexan) 5,56%.

Komponen yang terkandung dalam fraksi polar diduga senyawa golongan polifenol dan glikosida. Hasil skrining uji fitokimia yang telah peneliti laporkan sebelumnya (Frengki dkk, 2013) dengan metode Simes dkk (1995) yang dimodifikasi, positif mengandung fenol dan saponin (glikosida). Senyawa golongan fenol ditandai terjadinya perubahan warna endapan ekstrak uji menjadi biru setelah diteteskan  $FeCl_3$ , sedangkan indikasi adanya senyawa golongan glikosidamelalui pengocokan kuat secara vertikal selama 10 detik campuran sedikit ekstrak sarang semut dengan air didalam tabung reaksi membentuk busa setinggi 1-10 cm yang stabil kurang lebih 15 menit dan tidak hilang pada penambahan setetes asam klorida 2 N.

Informasi ini diperkuat berdasarkan interpretasi spektrum infra merah (FTIR) yang menunjukkan pita serapan pada bilangan gelombang ( $\nu$ ) 3496.94, 3550.95 dan 3603.03  $cm^{-1}$  yang menunjukkan vibrasi ulur gugus-O-H. Pita serapan dengan bilangan gelombang ( ) 3122.75 dan 3176,76  $cm^{-1}$  menunjukkan gugus aromatis (vibrasi ulur C-H aromatis) dan 1602.85  $cm^{-1}$  (vibrasi ulur C=C aromatis). Adanya puncak serapan pada bilangan gelombang : 2931.80, 3066.82, dan 3122.75  $cm^{-1}$  menunjukkan adanya vibrasi ulur dari C-H. Adanya pita serapan pada daerah bilangan gelombang :

1068.56, 1099.43, dan 1280.73 cm<sup>-1</sup> menunjukkan adanya ikatan C-O-C (Khopkar SM. 1990, Larry G Hargis. 1988)

Hasil uji BSLT (Brine Shrimp Letality Test) menunjukkan ketiga fraksi hasil partisi tersebut bersifat toksik. Sebagaimana dikemukakan Meyer dkk (1984) dimana suatu ekstrak yang berasal dari bahan alam dikatakan toksik jika nilai mortalitas (LC<sub>50</sub>) < 1000 ppm. Informasi ini dapat pula diterjemahkan bahwa sifat toksik tersebut berasal dari komponen bioaktifnya. Lebih jauh metode BSLT ini sering dihubungkan dengan potensi ekstrak tersebut sebagai antikanker.

Dari ketiga fraksi tersebut ternyata fraksi polar yang paling kuat daya toksiknya yaitu 97,72 ppm. Sedangkan fraksi semi polar dan fraksi non polar masing-masingnya 262,02 ppm dan 223,87 ppm. Perbedaan daya toksik tersebut diduga komponen-komponen senyawa aktif yang dikandung masing-masing fraksi berbeda satu sama lain. Komponen senyawa aktif fraksi polar diduga lebih kuat ketimbang dua fraksi lainnya. Selain itu karena jumlah komponen senyawa aktif yang dimiliki fraksi polar lebih banyak ketimbang fraksi semi polar maupun non polar.

Berdasarkan hasil partisi dan uji BSLT tersebut dapat diamati kemungkinan senyawa aktif yang potensial ditelusuri adalah fraksi polar. Potensi fraksi ini larut dalam air juga lebih besar sehingga dapat dimengerti pengolahan sarang semut ini secara tradisional oleh masyarakat melalui teknik perebusan, seduhan menghasilkan efek terapi yang signifikan baik terhadap penyakit akut yang sering diderita seperti flu dan batuk juga terhadap penyakit kronis seperti hiperkolesterol, diabetes, asam urat hingga penyakit kanker.

## 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*. Bogor : Puslitbang Biologi LIPI. 5-11.
- Christine. 1985. *Penggunaan Tanaman Obat*. Penerbit Buletin Farmakon, Jakarta.
- Frengki., Wati., R, Pertiwi, D. Uji toksisitas Ekstrak Etanol Tumbuhan Sarang Semut Aceh (*Myrmecodia* sp) dengan metode BSLT. *Jurnal Veterinaria Medika*. Vol 7. No.2 FKH-Unsyiah. Banda Aceh
- Khopkar SM. 1990. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta : UI Press.
- Larry G Hargis. 1988. *Analytical Chemistry. Principles And Technigues*. NewJersey : Prentice Hall Inc
- Meyer, B.N. 1982. "Brine Shrimp : A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents". *Journal of Medical Plant Research Planta Medica* USA. 31-34
- 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.
- Subroto, A. dan Saputro, H. 2006. *Gempur Penyakit Sarang Semut*. Penerbit Swadaya, Depok.