

## TOXICITY OF SEA GRASS EXTRACT (*Eucheuma cottonii* AND *Gracillaria* sp) TO LARVA *Artemia salina*

Danil Rama Putra<sup>1\*</sup>, Aras Mulyadi<sup>1</sup>, Zulkifli<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Marine Science, Faculty of Fisheries and Marine Universitas Riau, Pekanbaru

\*danielrama707@gmail.com

### ABSTRACT

Seaweed is a source of foreign exchange, namely as the main export product and a source of income for coastal communities. Previous research on species *Eucheuma cottonii* and *Gracillaria* sp contain bioactive compounds that can be used in medicine, for example as anti-cancer. The purpose of this study was to determine the LC<sub>50</sub> value and safe concentration of *Artemia salina* larvae. The research was conducted at the Chemical Oceanography Laboratory of the Department of Marine Sciences, Faculty of Fisheries and Marine, Riau University in July 2020. The method used in this research is the experimental method. The results of the research on the toxicity of the n-hexane extract of seaweed *E. cottonii* and *Gracillaria* sp had bioactivity compounds against *A. salina* shrimp larvae, indicated by a small LC<sub>50</sub> value (<1000 ppm), namely 62.62 ppm for *E. cottonii* and 83.55 ppm for *Gracillaria* sp, so it is included in the toxic category. According to research by experts, if the extract or compound tested is less than 1000 ppm, it is considered that there is biological activity. For a safe concentration for the survival of *A. salina*, 6.262 ppm for *E. cottonii* and 8.355 ppm for *Gracillaria* sp.

**Keywords:** Toksisitas, *Eucheuma cottonii*, *Gracillaria* sp, *Artemia salina*, n-heksana

### I. PENDAHULUAN

Rumput laut merupakan salah satu sumber devisa negara, yaitu sebagai produk ekspor utama dan sumber pendapatan bagi masyarakat pesisir. Pemanfaatan rumput laut saat ini beragam dan mencakup ke dalam bidang pangan, industri, serta farmasi. Rumput laut diketahui memiliki senyawa bioaktif beragam yang masing-masing spesies memiliki keunikannya tersendiri. Rumput laut sudah sering digunakan untuk pengobatan oleh masyarakat pesisir, antara lain sebagai obat batuk, radang dan cacingan. Kegunaan rumput laut yang beragam tersebut ternyata pada tiap kelasnya terdapat senyawa yang berbeda dan memiliki sifat kimia dan fisika yang spesifik pula.

Rumput laut *Eucheuma cottonii* dan *Gracillaria* sp merupakan alga multiseluler yang diduga memiliki senyawa-senyawa hasil metabolisme sekunder berupa alkaloid atau flavonoid. Senyawa-senyawa tersebut kemungkinan merupakan senyawa bioaktif yang dapat digunakan dalam dunia pengobatan, misalnya sebagai antikanker [1].

Uji Toksisitas merupakan metode uji yang digunakan untuk mengetahui tingkat toksik dari suatu senyawa yang ditentukan dalam waktu singkat setelah pemberian suatu sediaan. Uji toksisitas dengan metode BSLT ini memiliki spektrum aktifitas farmakologi yang luas, prosedurnya sederhana, cepat dan tidak membutuhkan biaya yang besar, serta hasilnya dapat dipercaya. Selain itu, metode ini sering

dikaitkan sebagai acuan atau landasan dalam pengujian antikanker. Dengan alasan-alasan tersebut, maka uji ini sangat tepat digunakan dalam penelitian bahan alam [2].

Penelitian ini menerapkan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dengan menggunakan larva udang *A. salina* Leach sebagai hewan uji. Metode ini merupakan salah satu metode yang banyak digunakan untuk pencarian senyawa antikanker baru yang berasal dari tanaman. Hasil uji toksisitas dengan metode ini telah terbukti memiliki korelasi dengan daya sitotoksik senyawa antikanker [3].

Pelarut yang digunakan pada penelitian ini adalah n-heksana karena memiliki titik didih yang rendah dan mudah diuapkan tanpa menggunakan suhu yang tinggi, bersifat *inert*, serta dapat melepaskan komponen nonpolar dari suatu jaringan tumbuhan untuk mendapatkan senyawa aktif yang terkandung dalam rumput laut. Dalam penelitian ini, informasi mengenai seberapa besar nilai  $LC_{50}$  berdasarkan uji toksisitas belum terdokumentasikan dengan baik, begitu juga dengan konsentrasi yang aman (*safe concentration*) dari ekstrak n-heksana rumput laut *E. cottonii* dan *Gracillaria* sp terhadap larva *A. salina* juga belum banyak diteliti. Apakah aman atau tidak tentu perlu diketahui dengan baik.

Adapun tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui nilai  $LC_{50}$  ekstrak n-heksana rumput laut *E. cottonii* dan *Gracillaria* sp berdasarkan uji toksisitas terhadap larva udang *A. salina* Leach dan untuk mengetahui konsentrasi yang aman (*safe concentration*) ekstrak n-heksana rumput laut *E. cottonii* dan *Gracillaria* sp terhadap larva udang *A. salina* Leach.

## 2. METODE PENELITIAN

### Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli 2020. Pengambilan sampel rumput laut dilakukan di Desa Sugie

Kabupaten Karimun Provinsi Kepulauan Riau. Sedangkan kegiatan ekstraksi rumput laut dilakukan di Laboratorium Kimia Organik FMIPA. Untuk Uji toksisitas dilakukan pada Laboratorium Oseanografi Kimia Jurusan Ilmu Kelautan Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Riau.

### Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode eksperimen. Sampel rumput laut diekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut n-heksana. Ekstrak yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 40 – 50°C, hingga diperoleh ekstrak pekat n-heksana, yang selanjutnya diuji toksisitasnya dengan menggunakan larva udang *A. salina*. Proses pengujian ini untuk mengetahui tingkat toksisitas dan konsentrasi yang aman masing-masing ekstrak rumput laut dengan pelarut n-heksana terhadap larva udang *A. salina* melalui nilai  $LC_{50}$ .

### Prosedur Penelitian

#### Penanganan Sampel Rumput Laut

Sampel rumput laut dengan berat masing-masing 2 kg berat basah dicuci bersih dengan air laut yang bersih guna menghilangkan sisa lumut yang menempel pada rumput laut tersebut, kemudian sampel dimasukkan ke dalam kantong plastik dan disimpan dalam *ice box* yang telah diberi es batu sebelumnya guna mempertahankan kesegaran rumput laut sebelum dilakukan penanganan selanjutnya.

#### Ekstraksi Rumput Laut

Proses pemisahan komponen bioaktif dilakukan dengan cara ekstraksi dengan cara sampel rumput laut yang sudah dibersihkan ditimbang beratnya selanjutnya dipotong kecil-kecil dan direndam dalam botol sampel, ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut n-heksana. Rumput laut dimaserasi menggunakan pelarut n-heksana selama 3×24 jam dengan sesekali pengadukan. Selanjutnya

rendaman disaring dengan kertas saring dan corong, ampas dipisahkan dari maserat, kemudian maserat tersebut diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental n-heksana rumput laut sebanyak 2 kali pengulangan, ekstrak kental yang diperoleh dari maserasi pertama hingga kedua digabung kedalam botol sampel dan siap untuk dijadikan bahan uji.

### Penetasan Kista *Artemia* sp.

Sebelum melakukan penetasan kista artemia dilakukan persiapan alat-alat dan bahan yang dibutuhkan seperti wadah berbentuk kerucut yang transparan, aquades, gunting, selang aerasi, batu aerasi lalu dilakukan pengukuran salinitas air laut menggunakan *handrefractometer* dengan nilai 33‰. Hasil ini sesuai dengan penelitian Gusrina dalam [4] yang menyatakan bahwa kista *A. salina* dapat ditetaskan pada media yang mempunyai salinitas 5-35‰. Selanjutnya dilakukan penetasan kista artemia, telur *A. salina* dicuci terlebih dahulu, yakni ditaburkan dan direndam dalam wadah berisi aquades selama satu jam.

Penetasan kista *Artemia* sp dilakukan dengan menyiapkan air laut buatan 1 L dengan salinitas berkisar antara 33-35‰ dan telah diukur pH (8-9), serta diberi penerangan dengan cahaya lampu 40 watt untuk menghangatkan suhu dalam penetasan agar suhu penetasan 25–31°C tetap terjaga dan merangsang proses penetasan dengan menggunakan aerator, selanjutnya dimasukkan kista tersebut yang telah ditimbang sebanyak dua gram ke dalam air laut yang telah dimasukkan ke dalam wadah, pencampuran harus dilakukan dengan hati-hati agar kista artemia tidak rusak. Selanjutnya aerator dan perangkatnya di “on” dengan kekuatan yang maksimal untuk memaksimalkan oksigen terlarut. Telur *A. salina* Leach dibiarkan selama 36-48 jam sampai menetas menjadi *nauplius* yang matang dan

siap digunakan dalam percobaan. Telur akan menetas dalam waktu 18 - 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 buatan [5].

### Uji Toksisitas

Setelah larva *A. salina* menetas dalam waktu 18 – 24 jam, dilakukan proses aklimatisasi selama 24 jam di laboratorium untuk menyesuaikan kondisi lingkungan asal hewan uji dengan kondisi laboratorium sebelum digunakan dalam uji toksisitas.

Uji pendahuluan dilakukan untuk mengetahui nilai ambang atas (N) dan ambang bawah (n) dari penggunaan konsentrasi untuk uji toksisitas. Variasi konsentrasi ekstrak diperoleh dengan terlebih dahulu di buat larutan stok ekstrak 10000 ppm. Larutan uji di buat dari larutan stok 10000 ppm dengan cara dipipet 1 µL, 10 µL, 100 µL, dan 1000 µL ke dalam labu ukur 10 ml, selanjutnya diuapkan sampai kering selama 24 jam agar kematian larva tidak dipengaruhi oleh pelarutnya.

Setelah pelarutnya mengering, dimasukkan 100 µL dimetil sulfoksida, 2 ml air laut, dan setetes larutan ragi roti kemudian dikocok sampai ekstrak dapat larut dalam air laut. Kemudian ditambahkan air laut sampai volumenya menjadi 10 ml dan dikocok kembali sampai larutan menjadi homogen. Sehingga konsentrasi masing-masing larutan menjadi 1 ppm, 10 ppm, 100 ppm, dan 1000 ppm. Selanjutnya larutan dengan masing-masing konsentrasi dipindahkan ke dalam tabung reaksi, kemudian dimasukkan 10 ekor larva udang yang sehat ke dalam tabung reaksi yang sudah berisi larutan ekstrak. Pengamatan terhadap kematian hewan uji dilakukan pada 6, 12, 18, dan 24 jam dan di amati mortalitasnya dengan menghitung jumlah *A. salina* yang mati. Hasil uji

dikatakan efektif terhadap *A. salina* apabila ekstrak yang diujikan menyebabkan 50% kematian pada konsentrasi < 1000 ppm. Menurut [6] uji pendahuluan dilakukan sebanyak 2 (dua) kali untuk menetapkan konsentrasi yang menyebabkan 50% kematian hewan uji.

**Uji persistensi.** Bertujuan untuk melihat penurunan daya racun bahan uji terhadap waktu uji. Pada tiap konsentrasi 1 ppm, 10 ppm, 100 ppm, dan 1000 ppm, dimasukkan 10 ekor larva artemia ke dalam wadah uji. Pengamatan terhadap kematian hewan uji dilakukan pada 6, 12, 18, dan 24 jam [7]. Untuk melihat kapan media uji diganti dibuat grafik tingkat kematian dalam persen terhadap waktu saat pemasukan hewan uji. Dari grafik tersebut dapat dilihat kecenderungan toksisitas itu menaik, menurun atau mendatar yang menunjukkan persistensinya [8] (Nedi *et al.*, 2006).

**Uji Toksisitas.** Pada uji toksisitas, masing-masing media uji diisi dengan konsentrasi bahan uji sesuai hasil yang diperoleh dari perhitungan nilai ambang atas dan ambang bawah dengan variasi konsentrasi 1 ppm, 10 ppm, 100 ppm, dan 1000 ppm. Perlakuan uji toksisitas dilakukan dengan 3 kali pengulangan untuk mendapatkan data yang akurat. Variasi konsentrasi ekstrak diperoleh dengan terlebih dahulu di buat larutan stok ekstrak 10000 ppm dengan cara dimasukkan 100 mg ekstrak pekat ke dalam labu ukur 10 ml dan dilarutkan dengan pelarutnya sampai tanda batas. Selanjutnya larutan yang diperoleh di pipet masing-masing sebanyak 1 µL, 10 µL, 100 µL, dan 1000 µL ke dalam labu ukur 10 ml dan pelarutnya diuapkan selama 24 jam.

Setelah pelarutnya mengering, dimasukkan 100 µL dimetil sulfoksida, 2 ml air laut, dan setetes larutan ragi roti kemudian dikocok sampai ekstrak dapat larut dalam air laut. Selanjutnya ditambahkan air laut sampai volumenya menjadi 10 ml dan dikocok kembali sampai

larutan menjadi homogen. Sehingga konsentrasi masing-masing larutan menjadi 1 ppm, 10 ppm, 100 ppm, dan 1000 ppm. Lalu larutan dengan masing-masing konsentrasi dipindahkan ke dalam tabung reaksi, kemudian dimasukkan 10 ekor larva udang yang sehat ke dalam tabung reaksi yang sudah berisi larutan ekstrak.

Larutan kontrol dibuat dengan cara yang sama kecuali penambahan ekstrak, yaitu dengan cara dimasukkan 100 µL dimetil sulfoksida, 2 ml air laut, dan setetes larutan ragi roti ke dalam labu ukur 10 ml, kemudian dikocok sampai dapat larut dalam air laut. Lalu ditambahkan air laut sampai volumenya 10 ml dan dikocok kembali hingga larutan menjadi homogen. Selanjutnya dipindahkan ke dalam tabung reaksi, Setelah itu, dimasukkan 10 ekor larva udang yang sehat ke dalam tabung reaksi yang telah berisi larutan kontrol. Terakhir, semua tabung reaksi diletakkan di bawah lampu neon 18 watt selama 24 jam dan di hitung jumlah larva *A. salina* yang mati (tidak bergerak aktif).

### Analisis Data

Data yang diperoleh pada penelitian ini akan disajikan dalam bentuk tabel dan dijelaskan secara deskriptif mengacu pada sumber-sumber yang telah ada. Efek toksisitas dianalisis dari pengamatan dengan persen kematian:

$$\% \text{ Larva} = \frac{\text{Jumlah larva yang mati}}{\text{Jumlah larva uji}} \times 100 \%$$

Dari persamaan tersebut kemudian dihitung LC<sub>50</sub> dengan memasukkan nilai probit (50 % kematian). Suatu zat dikatakan toksik bila nilai LC<sub>50</sub> < 1000 ppm. Apabila pada kontrol ada larva yang mati maka % persen kematian ditentukan dengan rumus abbot [9]:

$$\% \text{ kematian larva} = \frac{T - K}{10} \times 100 \%$$

Keterangan :

- T = Jumlah larva uji yang mati
- K = Jumlah larva kontrol yang mati
- 10 = Jumlah larva uji

Parameter yang digunakan adalah kematian *A. salina* melebihi 50 % dari total larva uji. Efek toksisitas terhadap *A. salina* Leach ditentukan berdasarkan analisis probit melalui tabel probit dan dibuat persamaan regresi linier.

$$Y = aX + b$$

Keterangan:

y = Log konsentrasi

x = Angka probit

a = Intersep

b = Slope

Persamaan tersebut dapat digunakan untuk mengetahui nilai LC<sub>50</sub> 24 jam dengan memasukkan nilai probit 5 (50% kematian) ke persamaan tersebut sehingga diperoleh

konsentrasi yang menyebabkan 50% kematian.

Hasil nilai LC<sub>50</sub> yang diperoleh dari analisis regresi dari masing – masing ekstrak rumput laut kemudian dicari konsentrasi aman (*safe concentration*) untuk mengetahui pada kisaran berapa *A.salina* bisa bertahan hidup dengan menggunakan faktor aplikasi menurut Wibisono dalam [8] yakni 10% dari nilai LC<sub>50</sub>.

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Ekstraksi Sampel

Hasil maserasi rumput laut *E. cottonii* dan *Gracillaria* sp ditunjukkan pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil Ekstraksi Sampel

| Sampel                | Berat Sampel (kg) | Pelarut   | Volume Pelarut (ml) | Berat Ekstrak (g) | Warna Ekstrak Pekat |
|-----------------------|-------------------|-----------|---------------------|-------------------|---------------------|
| <i>E. cottonii</i>    | 2                 | N-heksana | 1000                | 2,365             | Hijau Pekat         |
| <i>Gracillaria</i> sp | 2                 |           | 1000                | 2,146             | Merah Pekat         |

Ekstrak yang diperoleh dari ekstraksi menggunakan metode maserasi rumput laut jenis *E. cottonii* dan *Gracillaria* sp. dengan berat sampel masing-masing 2 kg menggunakan pelarut n-heksana didapatkan berat ekstrak pekat sebanyak 2,365 gram *E. cottonii* dengan warna ekstrak hijau pekat dan 2,146 gram *Gracillaria* sp dengan warna ekstrak merah pekat.

Prinsip dari metode maserasi adalah waktu kontak yang cukup lama antara pelarut dengan sampel yang diekstraksi, metode ini dipilih karena merupakan metode yang paling sederhana dengan peralatan yang relatif mudah untuk didapatkan

Menurut [10], pada proses maserasi pelarut akan masuk ke dalam sel melewati dinding sel. Isi sel akan larut, karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam dan luar sel. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh cairan penyari dengan konsentrasi rendah (proses difusi).

Peristiwa tersebut berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel.

#### Kualitas Air

Parameter kualitas air yang diukur selama penelitian, adalah suhu, pH, salinitas dan oksigen terlarut. Kualitas air bagi perikanan didefinisikan sebagai kualitas air yang sesuai untuk mendukung kehidupan dan pertumbuhan larva *A. salina* yang dipengaruhi oleh parameter suhu, oksigen terlarut, pH, dan salinitas [4]. Parameter kualitas air yang diukur selama penelitian masih mendukung kehidupan larva *A. salina* (Tabel 2). Pada penelitian ini kelangsungan hidup sangat dipengaruhi oleh kualitas air. Salah satu cara menciptakan lingkungan yang ideal adalah dengan melakukan penggantian air. Selama penelitian ini berlangsung, penyiponan, penggantian air dan pemberian aerasi pada media uji selalu dilakukan dan dikontrol, sehingga kualitas air dalam media uji



dengan perlakuan maupun kontrol bisa dikatakan baik

**Tabel 2.** Pengukuran Kualitas Air

| No | Parameter | Hasil Pengukuran | Satuan | Baku Mutu * |
|----|-----------|------------------|--------|-------------|
| 1  | Suhu      | 29               | °C     | 26 – 32     |
| 2  | Salinitas | 30               | ppt    | 28 – 34     |
| 3  | DO        | 5,5              | mg/L   | 5,3 – 6,5   |
| 4  | pH        | 7,8              | -      | 7,1 – 8,2   |

\*Sumber : (Kaharudin, 2018)

**Pengaruh Penambahan Ekstrak Rumput Laut *E. cottonii* dan *Gracillaria* sp terhadap *A. salina***

Skrining toksisitas ekstrak rumput laut *E. cottonii* dan *Gracillaria* sp. dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality*

*Test*) menggunakan larva *A. salina* Leach berumur 48 jam, dengan konsentrasi 1, 10, 100, 1000 ppm.

Persentase tingkat mortalitas pada uji toksisitas ekstrak rumput laut *E. cottonii* disajikan pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Hasil Uji Toksisitas Ekstrak Rumput Laut *E. cottonii*

| No | Konsentrasi (ppm) | Log 10 Konsentrasi | Ulangan | Total Larva (ind) | Larva Mati (ind) | Mortalitas (ind) | (%) Kematian | Probit |
|----|-------------------|--------------------|---------|-------------------|------------------|------------------|--------------|--------|
| 1  | 0 (kontrol)       | -                  | 1       | 10                | 0                | 0                | -            | -      |
|    |                   |                    | 2       | 10                | 0                |                  |              |        |
|    |                   |                    | 3       | 10                | 0                |                  |              |        |
| 2  | 1                 | 0                  | 1       | 10                | 2                | 2                | 20           | 4,16   |
|    |                   |                    | 2       | 10                | 3                |                  |              |        |
|    |                   |                    | 3       | 10                | 1                |                  |              |        |
| 3  | 10                | 1                  | 1       | 10                | 3                | 4                | 40           | 4,75   |
|    |                   |                    | 2       | 10                | 5                |                  |              |        |
|    |                   |                    | 3       | 10                | 4                |                  |              |        |
| 4  | 100               | 2                  | 1       | 10                | 8                | 7                | 70           | 5,52   |
|    |                   |                    | 2       | 10                | 6                |                  |              |        |
|    |                   |                    | 3       | 10                | 6                |                  |              |        |
| 5  | 1000              | 3                  | 1       | 10                | 10               | 9                | 90           | 6,28   |
|    |                   |                    | 2       | 10                | 10               |                  |              |        |
|    |                   |                    | 3       | 10                | 9                |                  |              |        |

Tabel 3 hasil penelitian uji toksisitas rumput laut *E. cottonii* didapatkan pada konsentrasi 1 ppm dengan jumlah larva 10 individu memiliki persentase kematian 20%, konsentrasi 10 ppm persentase kematian 40%, Konsentrasi 100 ppm persentase kematian 70% dan konsentrasi 1000 ppm persentase kematian 90%. Berdasarkan data tersebut dapat disimpulkan bahwa tingkat toksisitas rumput laut meningkat sejalan dengan tingginya konsentrasi ekstrak rumput laut *E. cottonii*.

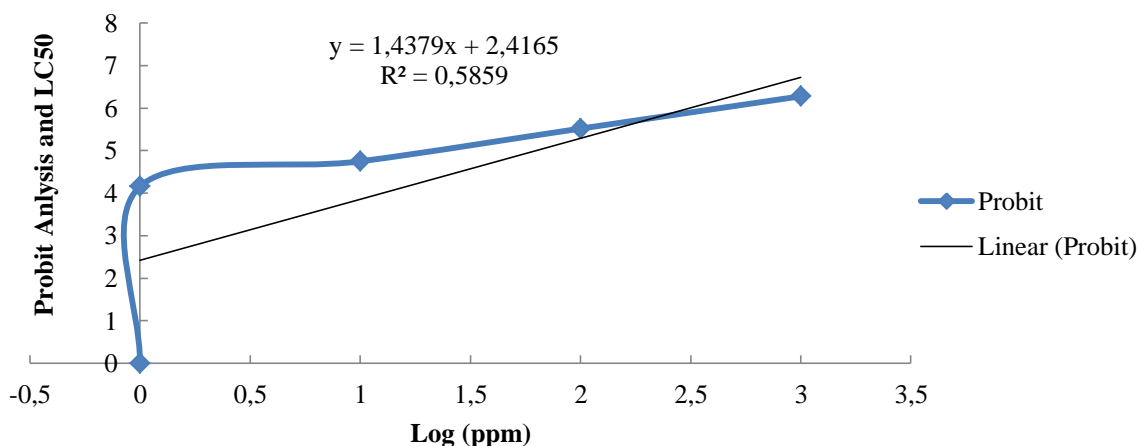
Untuk menentukan nilai  $LC_{50}$  didapatkan dengan memasukkan angka probit (50% kematian larva uji).

Selanjutnya dibuat persamaan garis  $y=ax+b$ , dimana  $y$  adalah konsentrasi larutan, dan  $x$  adalah persen kematian larva.  $LC_{50}$  merupakan nilai  $y$  yang diperoleh dengan memasukkan nilai  $x = 50\%$ .

Persamaan regresi dari ekstrak rumput laut *E. cottonii* yaitu  $y = 1,4379x + 2,4165$ . Nilai  $x$  merupakan nilai  $LC_{50}$  dan  $y$  bernilai 5, sehingga didapatkan nilai  $LC_{50}$  ekstrak *E. cottonii* yang dapat mematikan 50% hewan uji berdasarkan analisis probit sebesar 62,62 ppm (Gambar 1). Pernyataan di atas menunjukkan bahwa ekstrak *E. cottonii* bersifat toksik terhadap *A. salina*, karena memiliki nilai  $LC_{50} \leq 1000$  ppm,

suatu ekstrak menunjukkan aktivitas ketoksikan dalam BSLT jika ekstrak dapat menyebabkan kematian 50% hewan uji pada konsentrasi kurang dari 1000 ppm

[11]. Penelitian [12] juga menyatakan bahwa suatu ekstrak dikatakan toksik apabila mempunyai nilai  $LC_{50} \leq 1000$  ppm.



Gambar 1. Grafik Analisis Regresi Ekstrak *E. Cottonii*

Sehingga didapat nilai:  $a=1,4379$  ;  
 $b=2,4165$

Maka,  $y = ax + b$

$$5 = 1,4379 x + 2,4165$$

$$5 - 2,4165 = 1,4379 x$$

$$x = 2,5836 / 1,4379$$

$$x = 1,7966864$$

$$x = LC_{50} = \text{antilog}(x) = 62,62 \text{ ppm}$$

Hasil uji toksisitas rumput laut *Gracillaria* sp dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji Toksisitas Ekstrak Rumput Laut *Gracillaria* sp

| N<br>o | Konsentrasi<br>(ppm) | Log 10<br>Konsentrasi | Ulangan | Total<br>Larva (ind) | Larva<br>Mati (ind) | Mortalitas<br>(ind) | (%)<br>Kematian | Probit |
|--------|----------------------|-----------------------|---------|----------------------|---------------------|---------------------|-----------------|--------|
| 1      | 0 (kontrol)          | -                     | 1       | 10                   | 0                   | 0                   | -               | -      |
|        |                      |                       | 2       | 10                   | 0                   |                     |                 |        |
|        |                      |                       | 3       | 10                   | 0                   |                     |                 |        |
| 2      | 1                    | 0                     | 1       | 10                   | 1                   | 1                   | 10              | 4,72   |
|        |                      |                       | 2       | 10                   | 2                   |                     |                 |        |
|        |                      |                       | 3       | 10                   | 1                   |                     |                 |        |
| 3      | 10                   | 1                     | 1       | 10                   | 3                   | 4                   | 40              | 4,75   |
|        |                      |                       | 2       | 10                   | 4                   |                     |                 |        |
|        |                      |                       | 3       | 10                   | 4                   |                     |                 |        |
| 4      | 100                  | 2                     | 1       | 10                   | 4                   | 5                   | 50              | 5,00   |
|        |                      |                       | 2       | 10                   | 7                   |                     |                 |        |
|        |                      |                       | 3       | 10                   | 5                   |                     |                 |        |
| 5      | 1000                 | 3                     | 1       | 10                   | 10                  | 9                   | 90              | 6,28   |
|        |                      |                       | 2       | 10                   | 8                   |                     |                 |        |
|        |                      |                       | 3       | 10                   | 9                   |                     |                 |        |

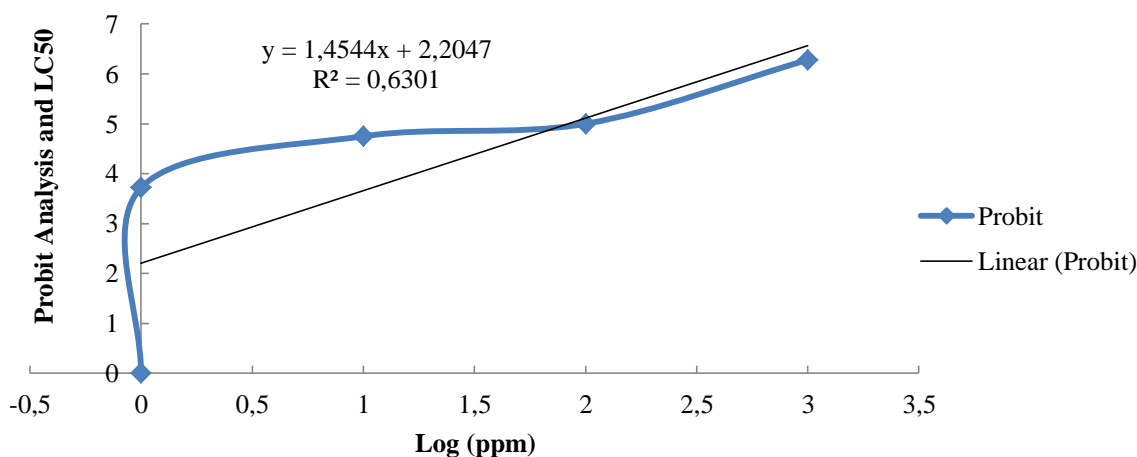
Hasil uji toksisitas rumput laut *Gracillaria* sp pada konsentrasi 1 ppm dengan larva 10 individu memiliki persentase kematian 10%, konsentrasi 10 ppm persentase kematian 40%, konsentrasi 100 ppm persentase kematian 50%, konsentrasi 1000 ppm persentase kematian

90%. Pada data hasil uji toksisitas dapat disimpulkan bahwa tingkat toksisitas meningkat sejalan dengan tingginya konsentrasi ekstrak rumput laut *Gracillaria* sp.

Berdasarkan Tabel 4 hasil penelitian uji toksisitas rumput laut *Gracillaria* sp di

atas, untuk menentukan nilai  $LC_{50}$  didapatkan dengan memasukkan angka probit (50% kematian larva uji). Selanjutnya dibuat persamaan garis  $y = ax + b$ , dimana  $y$  adalah konsentrasi larutan,

dan  $x$  adalah persen kematian larva.  $LC_{50}$  merupakan nilai  $y$  yang diperoleh dengan memasukkan nilai  $x = 50\%$ . Dari tabel 5, untuk mencari nilai  $a$ ,  $b$  dan  $r$  didapat dengan:  $X = \text{Log ppm}$ ;  $Y = \text{Probit}$ ).



**Gambar 2.** Grafik Analisis Regresi terhadap Konsentrasi Ekstrak *Gracillaria* sp.

Sehingga didapat nilai :  $a = 1,4544$  ;  $b = 2,2047$

Maka,  $y = ax + b$

$$5 = 1,4544 x + 2,2047$$

$$5 - 2,2047 = 1,4544x$$

$$x = 2,7953 / 1,4544$$

$$x = 1,9219414$$

$x = LC_{50} = \text{antilog}(x) = 83,55 \text{ ppm}$

Persamaan regresi dari ekstrak *Gracillaria* sp yaitu  $y = 1,4544x + 2,2047$ . Nilai  $x$  merupakan nilai  $LC_{50}$  dan  $y$  bernilai 50. Sehingga didapatkan nilai  $LC_{50}$  ekstrak *Gracillaria* sp yang dapat mematikan 50% hewan uji berdasarkan analisis probit sebesar 83,55 ppm. Pernyataan di atas menunjukkan bahwa ekstrak *Gracillaria* sp juga bersifat toksik terhadap *A. salina*, karena memiliki nilai  $LC_{50} \leq 1000 \text{ ppm}$ . [13] menyatakan senyawa yang toksik terhadap *A. salina* juga toksik terhadap sel kanker, hal ini membuktikan bahwa pengujian ini merupakan tahapan awal untuk mengetahui apakah suatu senyawa bersifat toksik atau tidak terhadap *A. salina*. Hal serupa juga berlaku terhadap *Gracillaria* sp, dimana adanya pengaruh penambahan ekstrak terhadap nilai  $LC_{50}$

dari uji toksisitas ekstrak n-heksana rumput laut *Gracillaria* sp. terhadap larva *A. salina* Leach, yang dibuktikan dengan semakin besar konsentrasi yang digunakan maka semakin besar persentase kematian *A. salina*.

Hasil penelitian uji toksisitas dari kedua spesies rumput laut tersebut diketahui bahwa tingkat toksisitas ekstrak rumput laut *E. cottonii* dan *Gracillaria* sp sama-sama meningkat sejalan dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak, sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh [14] menyatakan semakin besar konsentrasi yang digunakan maka semakin besar persentase kematian *A. salina*. Tingkat toksisitas dari kedua jenis rumput laut memiliki kandungan senyawa aktif yang berbeda dan memiliki bioaktivitas terhadap larva udang *A. salina*. Sehingga dapat dilakukan pengujian bioaktivitas lebih lanjut mengenai potensinya sebagai senyawa obat.

#### **Konsentrasi Aman (Safe Concentration)**

Berdasarkan hasil uji toksisitas ekstrak rumput laut *E. cottonii* dan *Gracillaria* sp, nilai konsentrasi aman bagi



kelangsungan hidup *A. salina* didapatkan sebesar 6,262 ppm untuk *E. cottonii* dan 8,355 ppm untuk *Gracillaria* sp. Nilai konsentrasi aman di atas didapatkan dari perhitungan 10% nilai  $LC_{50}$  masing-masing ekstrak uji. [8] menyatakan bahwa nilai yang aman (*safe concentration*) bagi organisme dari daya racun toksisitas adalah 10% dari nilai  $LC_{50}$ .

Nilai konsentrasi aman ini berada di bawah nilai  $LC_{50}$ , sesuai dengan penelitian [15] yang menyatakan bahwa untuk mendapatkan konsentrasi yang aman penggunaannya terhadap hewan uji konsentrasi dibuat dibawah nilai  $LC_{50}$  nya. Konsentrasi aman (*safe concentration*) merupakan konsentrasi maksimum bahan toksik yang tidak membahayakan organisme setelah bersentuhan dengan bahan uji dalam periode waktu lama, setidaknya-tidaknya satu generasi [16].

Kelangsungan hidup merupakan nilai persentasi dari organisme yang hidup pada akhir pengujian dari jumlah keseluruhan yang diuji pada awal pengujian. Pada penelitian ini kelangsungan hidup sangat dipengaruhi oleh kualitas air. Salah satu cara menciptakan lingkungan yang ideal adalah dengan melakukan penggantian air. Selama penelitian ini berlangsung, penyiponan, penggantian air dan pemberian aerasi pada media uji selalu dilakukan dan dikontrol, sehingga kualitas air dalam media uji dengan perlakuan maupun kontrol bisa dikatakan baik.

Kelangsungan hidup *A. salina* yang tinggi terdapat pada kontrol, hal ini diduga karena kualitas air kontrol yang diberikan baik, serta *A. salina* mampu mentoleransi kondisi lingkungan seperti kualitas air selama penelitian ini ada dalam kisaran

layak bagi kelangsungan hidup *A. salina*. Oleh sebab itu, untuk menjamin kelangsungan hidup *A. salina* maka konsentrasi yang diperbolehkan tidak lebih dari 6,262 ppm untuk *E. cottonii* dan 8,355 ppm untuk *Gracillaria* sp. Berdasarkan uji toksisitas ekstrak rumput laut *E. cottonii* dan *Gracillaria* sp, nilai konsentrasi aman (*safe concentration*) bagi organisme dari daya racun toksisitas adalah 10% dari nilai  $LC_{50}$ . Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi yang aman bagi kelangsungan hidup *A. salina* yaitu sebesar 6,262 ppm untuk *E. cottonii* dan 8,355 ppm untuk *Gracillaria* sp. Oleh sebab itu, untuk menjamin kelangsungan hidup *A. salina* maka konsentrasi yang diperbolehkan tidak lebih dari 6,262 ppm untuk *E. cottonii* dan 8,355 ppm untuk *Gracillaria* sp.

#### 4. KESIMPULAN DAN SARAN

##### Kesimpulan

Nilai  $LC_{50}$  ekstrak rumput laut *E. cottonii* dan *Gracillaria* sp menggunakan n-heksan terhadap larva *A. salina* masing-masing adalah 62,62 ppm dan 83,55 ppm. Konsentrasi yang aman ekstrak *E. cottonii* dan *Gracillaria* sp terhadap *A. salina* masing-masing adalah 6,262 ppm dan 8,355 ppm.

##### Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai kandungan serta potensi senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak rumput laut *E. cottonii* dan *Gracillaria* sp, sehingga dapat dilakukan pengujian bioaktivitas lebih lanjut mengenai potensinya sebagai senyawa obat.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Khurniasari, D.W. (2004). *Potensi Antikanker Senyawa Bioaktif Ekstrak Kloroform dan Metanol Makroalgae Sargassum duplicatum J. Agardh*. Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada Jogjakarta. Jogjakarta
2. Krishnaraju, A. V., T. V Rao., D. Sundararaju., M. Vanisree., H-S. Tsay., and G. V. Subbaraju. (2006). Assessment of Bioactivity of Indian Medicinal Plants Using Brine

- Shrimp (*Artemia salina*) Lethality Assay. *International Journal of Applied Science and Engineering*, 3: 125 – 135.
3. Colegate, S.M. and R.J. Molyneux. (2007). *Bioactive Natural Products: Determination, Isolation and Structural Determination Second Edition*. Prancis: CRC Press.
  4. Hiola, R., R. Tuiyo dan Syamsuddin. (2014). Pengaruh Salinitas yang Berbeda terhadap Penetasan Kista *Artemia* sp. di Balai Benih Ikan Kota Gorontalo Provinsi Gorontalo. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 2 : 52 – 55.
  5. Harmita dan M. Radji. (2008). *Analisis Hayati*. Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta.
  6. Tyas. (2016). Uji Toksisitas Letal  $\text{Cr}^{6+}$  terhadap Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 2: 128 - 132.
  7. Sangi, M., L. Momuat, dan M. Kumaunang. (2012). Uji Toksisitas dan Skrining Fitokimia Tepung Gabah Pelepah Aren (*arenga pinnata*). *Jurnal Ilmiah Sains*, 12: 128-134.
  8. Nedi, S., Thamrin., dan H. Marnis. (2006). Toksisitas Deterjen terhadap Benih Ikan Kakap Putih (*Lates calcarifer*, Bloch). *Berkala Perikanan Terubuk*, 33: 75 – 81.
  9. Meyer, B.N., N.R. Ferrigni, J.E. Putnan, L.B. Jacobsen, D.E. Nicholas, and J.L. Mclaughlin. (1982). Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay For Active Plant Constituents, *Planta Medica*. 4 : 31 - 34.
  10. Nur, A. dan Y. Zuhud. (2011). *Kanker Lenyap Berkat Sirsak*. Jakarta: PT. Agro Media Pustaka.
  11. Sharo. M. N., Ningsih, Rachmawati., A. Nasichuddin, Ahmad, dan Hanapi. (2013). Uji Toksisitas dan Identifikasi Senyawa Ekstrak Alga Merah (*Eucheuma cottonii*) Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach. *Jurnal Alchemy*, 3: 170 - 177.
  12. Sukardiman., R. Abdul dan P. N. Fatma. (2004). Uji Praskrining Aktivitas Antikanker Ekstrak Eter dan Ekstrak Metanol *Marchantia planiloba* Steph. dengan Metode Uji Kematian Larva Udang dan Profil Densitometri Ekstrak Aktif. *Majalah Farmasi Airlangga*, 4: 97 - 100.
  13. Astuti, P., S. Utami, T. Pratiwi, T. Hertiani, G. Alam, A. Tahir and S. Wahyono. (2005). Antimicrobial Activity Screening of Marine Sponges Extracts Collected from Barang Lomposea. *Journal of Traditional Medicine*, 10:32.
  14. Hardiko, F. (2018). Toksisitas Ekstrak Rumpun Laut (*Eucheuma cottonii*) dengan Pelarut *n*-Heksana dan Etil Asetat terhadap *Artemia salina*. Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau.
  15. Suryati, E. (2015). Uji Ekstrak Ramuan “Kandungan Subur” (Kunyit (*Curcuma domestica* Val.), Kencur (*Kaempferia galanga* L.), Adas (*Foeniculum vulgare* Mill.) dan Pegagan (*Centella asiatica*)) pada Berbagai Pelarut terhadap Toksisitas Larva *A. salina*. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.
  16. Kunsah, B. dan R. Widyastuti. (2018). Uji Toksisitas Akut Kulit Kentang (*Solonum tuberosum* L.) terhadap Larva *A. salina* Leach dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test). Prodi D3 Analisis Kesehatan Universitas Muhammadiyah, Surabaya.