

**SITOTOKSITAS BAHAN AKTIF LAMUN DARI
KEPULAUAN SPERMONDE KOTA MAKASSAR TERHADAP
Artemia salina (Linnaeus , 1758)**

SKRIPSI

Oleh:
M. ARIFUDDIN



JURUSAN ILMU KELAUTAN
FAKULTAS ILMU KELAUTAN DAN PERIKANAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2013

ABSTRAK

M. ARIFUDDIN. Sitotoksitas Bahan Aktif Lamun dari Kepulauan Spermonde, Kota Makassar Terhadap *Artemia salina* (Linnaeus, 1758). Dibimbing oleh SHINTA WERORILANGI dan ABDUL HARIS.

Lamun di Kepulauan Spermonde Kota Makassar diketahui memiliki kandungan senyawa yang berpotensi sebagai antimikroba, namun belum ada yang meneliti mengenai tingkat toksisitas dan sitotoksitas lamun. Uji toksisitas dapat dilakukan dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) karena metode ini murah, aman, cepat, memakai peralatan sederhana, serta memiliki korelasi terhadap uji spesifik antikanker dengan tingkat kepercayaan hingga 95%.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui potensi antikanker bahan aktif ekstrak lamun dari Kepulauan Spermonde Kota Makassar dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) atau menggunakan *Artemia salina*.

Penelitian ini menggunakan 720 ekor larva *Artemia salina* yang dibagi menjadi 3 kelompok kontrol positif (methanol p.a.), satu kelompok kontrol negatif dan 3 kelompok seri konsentrasi ekstrak lamun, masing-masing terdiri dari 10 ekor larva *Artemia salina* dengan replikasi 3 kali untuk kelompok seri konsentrasi ekstrak. Kelompok perlakuan kontrol positif dan kelompok ekstrak lamun terdiri dari konsentrasi 10 ppm, 100 ppm, dan 1000 ppm. Data kematian *Artemia salina* dianalisis dengan menggunakan analisis probit untuk mengetahui nilai LC_{50} .

Hasil penelitian ini menunjukkan nilai LC_{50} yang berbeda-beda tiap jenis ekstrak lamun pada lokasi yang berbeda. Nilai LC_{50} masing-masing ekstrak lamun ialah sebagai berikut; jenis *Enhalus acoroides* zona 1, >1000 ppm, *Enhalus acoroides* zona 2 sebesar 404,88 ppm, *Halophila ovalis* zona 1 dan 2, >1000 ppm, dan *Cymodocea rotundata* zona 2 sebesar 136,398 ppm.

Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak lamun jenis *Enhalus acoroides* dan *Cymodocea rotundata* pada zona 2 memiliki potensi sitotoksik terhadap *Artemia salina* menurut metode BSLT karena nilai LC_{50} yang didapatkan <1000 ppm.

Kata Kunci : Sitotoksitas, Spermonde, Bahan Aktif Lamun, *Artemia salina*, BSLT, LC_{50}

**SITOTOKSITAS BAHAN AKTIF LAMUN
DARI KEPULAUAN SPERMONDE KOTA MAKASSAR TERHADAP
Artemia salina (Linnaeus , 1758)**

Oleh:
M. ARIFUDDIN

SKRIPSI
Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana
pada
Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan



JURUSAN ILMU KELAUTAN
FAKULTAS ILMU KELAUTAN DAN PERIKANAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2013

HALAMAN PENGESAHAN

Judul skripsi : Sitotoksitas Bahan Aktif Lamun Dari Kepulauan Spermonde
Kota Makassar Terhadap *Artemia salina* (Linnaeus, 1758)

Nama : M. Arifuddin


Nomor Pokok : L 111 08 274


Jurusan : Ilmu Kelautan

Skripsi telah diperiksa
dan disetujui oleh

Pembimbing Utama

Pembimbing Anggota


Dr. Ir. Shinta Werorilangi, M.Sc
NIP. 19670826 199103 2 001


Dr. Ir. Abdul Haris, M.Si
NIP. 1965129 199202 1 001

Mengetahui,

Dekan
Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan


Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc
NIP : 19670308 199003 1 001

Ketua Program Studi
Ilmu Kelautan


Dr. Ir. Amir Hamzah Muhiddin, M.Si
NIP. 19631120 199303 1 002

Tanggal lulus : 11 November 2013

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan pada tanggal 09 Juni 1991 di Kabupaten Sinjai, Sulawesi Selatan. Anak ketiga dari empat bersaudara pasangan dari Ayahanda Abdullah Hamid dengan Ibunda Mursida Bakri. Pada tahun 2002 lulus dari SDN Mangkura I Makassar, tahun 2005 lulus dari SMPN 6 Makassar, dan tahun 2008 lulus dari SMAN 1 Makassar. Pada tahun 2008, melalui Seleksi Nasional Penerimaan Mahasiswa Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN) penulis berhasil diterima pada Program Studi Ilmu Kelautan, Jurusan Ilmu Kelautan, Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hasanuddin, Makassar.

Selama kuliah di jurusan Ilmu Kelautan, penulis aktif sebagai asisten di beberapa mata kuliah seperti Botani Laut, dan Sistem Informasi Geografis (SIG). Selain itu, penulis juga aktif pada berbagai organisasi diantaranya yaitu Senat Mahasiswa Ilmu Kelautan, *Marine Science Diving Club* – UH, Mushallah Bahrul Ulum Ilmu Kelautan, Himpunan Mahasiswa Ilmu dan Teknologi Kelautan se-Indonesia (HIMITEKINDO), UKM Koperasi Mahasiswa, *Marine Science Study Club* (MSC), dan *Coral Study Club* (CSC). Penulis juga turut serta aktif dalam berbagai lembaga swadaya masyarakat seperti Nypah Indonesia, dan Lemsas. Penulis juga sempat aktif di Jaringan Kerja Reef Check Indonesia (JKRI), serta pernah menjadi asisten ahli dalam pelatihan SIG yang dilaksanakan oleh Nypah Indonesia.

Pada tahun 2012, penulis melaksanakan salah satu tridarma perguruan tinggi yaitu pengabdian masyarakat dengan mengikuti Kuliah Kerja Nyata (KKN) gelombang 82, di Desa Watangpulu, Kec. Suppa, Kab. Pinrang, Sulawesi Selatan. Pada saat bersamaan, penulis sekaligus melaksanakan Praktek Kerja Lapangan (PKL) di Desa Tassiwalie, Kec. Suppa, Kab. Pinrang dengan judul Profil Pantai Desa Tassiwalie Sebagai Obyek Wisata Pantai.

Akhirnya, sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan studi, penulis melakukan penelitian dengan judul “Sitotoksitas Bahan Aktif Lamun dari Kepulauan Spermonde Kota Makassar Terhadap *Artemia salina* (Linnaeus, 1758)” dibawah bimbingan Ibu Dr. Ir. Shinta Werorilangi, M.Sc dan Bapak Dr. Ir. Abdul Haris, M.Si.

UCAPAN TERIMAKASIH

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat ALLAH swt atas berkah dan anugerah-Nya serta kasih sayang-Nya yang tidak henti-hentinya khususnya kepada penulis dan keluarga penulis, hingga saat ini. Tidak lupa Shalawat kepada junjungan besar Nabi dan Rasul Muhammad saw beserta para sahabatnya atas segala perjuangannya atas ajaran Islam hingga akhirnya dapat sampai ke dalam diri penulis.

Pada kesempatan ini, penulis ingin mengucapkan terimakasih yang sangat tulus kepada pihak-pihak yang telah membantu penulis mulai dari awal perkuliahan hingga tersusunnya skripsi ini. Kepada kedua orangtuaku, Ayahanda Abdullah Hamid dan Ibunda Mursida Bakri yang telah bersedia dengan ikhlas menerima beban senang dan sakit yang dirasakan selama merawatku, menjaga serta mengarahkanku ketika salah, menerimaku apa adanya, dan banyak hal yang tidak bisa diungkapkan. Kepada saudara-saudara kandungku, kakak Randy Pratama Putra, kakak Putri Windy Astuti, adik Muh. Reza Pahlevi, dan adik Shopia Nabila Putri serta kekasihku Atrasina Adlina yang selalu menjaga serta mengingatkanku ketika salah, sumber saran, motivasi dan pemandu karakterku.

Ibu Shinta Werorilangi dan Bapak Abdul Haris selaku pembimbingku yang dengan ikhlas meluangkan waktu serta sabar mengarahkanku dalam melakukan penelitian hingga menyusun skripsi ini hingga selesai.

Ibu Arniati, Bapak Muh. Farid Samawi, dan Bapak Amran Saru yang telah meluangkan waktu serta pikiran untuk ikut membimbing dan mengarahkanku melalui kritik dan saran yang konstruktif hingga skripsi ini dapat selesai sesuai yang diinginkan.

Ibu Andi Niartiningsih selaku Dekan FIKP beserta jajarannya, Bapak Amir Hamzah Muhiddin selaku Ketua Jurusan Ilmu Kelautan atas segala petunjuk serta motivasi yang diberikan terhadap penulis.

Bapak Jamaluddin Jompa selaku Dekan FIKP terpilih, yang selalu memberikan motivasi serta arahan kepada seluruh mahasiswa untuk selalu berusaha menggapai cita-cita.

Seluruh staf pegawai FIKP UH, laboran, serta siswa PKL yang tidak dapat disebutkan namanya satu per satu yang selalu mendukung penulis secara ikhlas, sadar ataupun tidak, membantu penulis mengurus berkas, bercanda, serta penyemangat disaat penulis butuh.

Saudara-saudaraku di MEZEIGHT (Marine Zero Eight), Ahmad Onterio, Akhzan Nur Iman, Muh. Nasir, Ahmad Faisal Ruslan, Abdul Chalid, Rivaldy Sambo Palin, Muh. Fikruddin, Moh. Azhari Dwi Putra, Haryanto Kadir, Haidir Muhaimin, Nirwan, Rizky Agustian Utama, Ari Fengkeari Karim, Nikanor Hersal Armos, Alfian Palallo, Fanseto Pratama, Ajrul Hakim Anwar, Zakaria, Mattewakkang, Hermansyah Prasyad, Hidayat Azis, Rahmat Hidayat, Yushra, Musriadi, Andi Rizka FM, Anggi Azmita FM, Darmiati, Tri Reskiyanti Aras, Siti Syamsinar, Rosdiana Natsir, Rabuanah Hasanuddin, Emma Rosdiana Silambi, Haska Rahmadana, Marfuah, Rara Adesuara, Nur Ipah, Hardianty, dan Uswaton Khazanah, yang selalu mendampingi, menyemangati, susah senang bersama, pengingat terbaik, memberikan hidup penulis lebih berwarna dengan hadirnya kalian.

Sahabat serta saudara terbaikku, Andriyanto Samin, Andry Purnama Putra, Sulaeman Natsir, Auliansyah, Rahmadi, Januar Triadi, dan Baso Hamdani yang tidak henti-hentinya menegur dan mengingatkanku ketika salah, teman diskusi, bersama membangun tujuan hidup, bermimpi, dan insya Allah mewujudkan mimpi itu suatu saat.

Kawan-kawan seperjuangan KKN di Desa Watangpulu, Kec. Suppa, Kab. Pinrang, Suharto, Firdan, Kadek Agustian, Asep, Farid, serta keluarga angkat yang bersedia menampung kami di rumahnya, menyambut kami dengan kehangatan dan kasih sayang seperti kami adalah keluarganya sendiri. Kepada Bapak Umar, Ibu Umar, Adik Akbar, Bapak Landing, Ibu Bulan, Suci, Fajar, Kancha, Aci, Maryam, serta keluarga lainnya yang tidak bisa disebutkan satu per satu.

Seluruh Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Ilmu Kelautan atas segala limpahan ilmu dan pengetahuannya yang diberikan kepada penulis selama masa studi.

Kakak Edwin, Kakak Wawan, Kakak Arham, Kakak Fahril Muhajir, Kakak Anto, Kakak Ridwan Salim, Kakak Habil Noor, Kakak Aidil, Kakak Ilham, Kakak Junkis, Kakak Roni Bidang, Kakak Rahmat, Kakak Rizky La Tjindung, Kakak Abdy Wunanto Hasan, Kakak Ade, Kakak Rais dan seluruh Kakak di Nypah Indonesia, Lemsu, YKL, serta Kakak dan Adik di Senat Ilmu Kelautan UH, yang sangat saya banggakan, terimakasih atas semua arahan, ilmu dan pengetahuan, bimbingan serta pelajaran hidup yang diberikan kepada penulis.

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah.....	2
C. Tujuan dan Manfaat.....	3
D. Hipotesis.....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
A. Bahan Alam Laut	4
B. Tinjauan Umum Lamun.....	5
1. Deskripsi dan Klasifikasi	5
2. Morfologi dan Anatomi	7
3. Distribusi Lamun di Indonesia	11
4. Kandungan Senyawa Kimia Pada Lamun.....	12
C. Fitokimia	13
1. Alkaloid.....	13
2. Triterpenoid/ Steroid	14
3. Flavonoid.....	15
4. Fenol hidrokuinon	16
5. Tanin.....	17
6. Saponin	17
D. <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT)	19
E. <i>Lethal Concentration – 50</i> (LC-50).....	21
III. BAHAN DAN METODE	23
A. Waktu Dan Tempat	23
B. Alat Dan Bahan	23
C. Prosedur Penelitian	23
1. Ekstrak uji.....	24
2. Persiapan Larva <i>Artemia salina</i>	25
3. Pembuatan Konsentrasi Sampel Uji	25
4. Uji Toksikitas	26
D. Analisis Data	26
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	28
A. Sitotoksitas Ekstrak Lamun.....	28
V. SIMPULAN DAN SARAN	37
A. Simpulan	37

B. Saran.....	37
DAFTAR PUSTAKA	38
LAMPIRAN	43

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
Tabel 1. Data Hasil Uji Toksisitas Ekstrak Lamun Berdasarkan Zona.....	29

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Morfologi Lamun (Lanyon <i>et al.</i> , 1989).....	8
2. Mikropipet yang digunakan	23
3. Bagan Alir Penelitian	24
4. Proses pembuatan konsentrasi larutan uji.....	26
5. Struktur Senyawa alkaloid (a), flavonoid (b), steroid (c), triterpenoid (d), tanin (e), fenol (f), dan hidrokuinon (g).....	33

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Grafik uji toksisitas bahan aktif lamun dari Kepulauan Spermonde Kota Makassar	44
2. Dokumentasi penelitian	46

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Sejak sepuluh tahun terakhir, pengkajian bidang bahan alam laut (*marine natural product*) mulai dilakukan di Indonesia (Haris dan Werorilangi, 2009). Karang, sponge, alga dan lamun merupakan organisme laut yang sering menjadi bahan penelitian untuk menemukan bahan baku obat baru. Namun diantara organisme tersebut, lamun masih tergolong baru dalam pengembangan bahan baku obat baru ini.

Lamun merupakan kelompok tumbuhan berbiji tertutup (*angiospermae*) dan berkeping tunggal (*monokotil*) yang mampu hidup secara permanen di bawah permukaan air laut. Oleh karena lamun hidup menetap secara permanen di bawah permukaan air laut, maka lamun tergolong organisme bentik, dimana organisme ini diketahui memproduksi senyawa metabolit sekunder untuk mempertahankan kelangsungan hidupnya dari gangguan eksternal baik dari segi fisikokimia maupun biologis.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa lamun memiliki kandungan senyawa yang dikenal berpotensi sebagai antikanker (Ren *et al.*, 2003), antioksidan (Winarsi, 2007), dan antibakteri (Jouvenaz *et al.*, 1972; Proksch *et al.*, 2002; Soetan *et al.*, 2006; El-Haddy *et al.*, 2007).

Penelitian mengenai potensi antioksidan dan antibakteri telah banyak dilakukan. Untuk penelitian akan potensi beberapa lamun sebagai antikanker, telah dilakukan beberapa penelitian dan dinyatakan berpotensi sitotoksik akut atau potensial sebagai bahan baku antikanker baru pada beberapa tempat di Indonesia (Riniatsih, 2009; Rumiantin, 2010; Dewi, 2010).

Uji toksisitas diperuntukkan dalam dua hal baik untuk evaluasi keamanan senyawa atau untuk mendeteksi aktivitas antikanker suatu senyawa. Ada

beberapa metode untuk melakukan uji ini, seperti BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*), *Lemna Assay*, *Potato disc*, hingga kultur sell (*Microculture Tetrazolium Salt / MTT*). Diantara keempat metode tersebut, BSLT merupakan metode yang sangat disarankan oleh Anderson (1991) dalam uji toksisitas karena memiliki korelasi hingga tingkat kepercayaan 95% terhadap uji spesifik antikanker. Walaupun MTT juga mendapatkan hasil yang sama dengan BSLT, namun BSLT lebih mudah, cepat, murah dan praktis untuk dilakukan.

Di Kepulauan Spermonde, data tentang penyebaran lamun telah banyak, namun belum ada yang meneliti tingkat toksisitas senyawa aktif yang terkandung dalam lamun di perairan ini.

Oleh karena itu, pada penelitian ini akan menguji sitotoksik bahan aktif pada lamun di Kepulauan Spermonde Kota Makassar dengan menggunakan *Artemia salina* (*Brine Shrimp Lethality Test*) yang digunakan pada skrining senyawa bioaktif bahan alam laut karena menunjukkan adanya korelasi dengan metode sitotoksik *in vitro* (Alam, 2002) dan terhadap suatu uji spesifik antikanker (Anderson, 1991).

B. Perumusan Masalah

Kepulauan Spermonde Kota Makassar, memiliki ekosistem yang beranekaragam karena letaknya yang berada pada jalur Arlindo (Arus Lintas Indonesia). Letaknya yang strategis membuat keuntungan tersendiri, dimana salah satunya yaitu melimpahnya organisme bentik yang sekarang menjadi bahan incaran para pakar bahan alam laut untuk melihat potensinya menjadi bahan baku obat baru. Karang, sponge, alga dan lamun adalah contoh organisme bentik yang dicurigai mempunyai kandungan bahan aktif yang berpotensi menjadi bahan baku obat baru. Akan tetapi, informasi akan potensi lamun sebagai bahan baku obat baru di kepulauan ini belum diteliti.

Berdasarkan uraian tersebut diatas, maka terdapat masalah dalam penelitian ini yaitu seberapa besar potensi antikanker yang terkandung pada setiap ekstrak lamun di Kepulauan Spermonde Kota Makassar.

C. Tujuan dan Manfaat

Berdasarkan rumusan masalah tersebut diatas, maka tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi antikanker bahan aktif ekstrak lamun dari Kepulauan Spermonde Kota Makassar dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test*, sedangkan manfaat penelitian ini adalah sebagai informasi dasar potensi bahan aktif yang terkandung serta sebagai uji awal untuk mendapatkan komponen senyawa bioaktif yang bersifat toksik.

D. Hipotesis

Hipotesis awal penelitian ini ialah tingkat toksisitas setiap jenis ekstrak lamun akan berbeda, tergantung dengan kondisi lingkungan habitatnya atau faktor lain yang mungkin berpengaruh.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Bahan Alam Laut

Bahan alam laut merupakan hasil metabolisme suatu organisme yang hidup di laut (tumbuhan, hewan, sel) berupa metabolit primer maupun sekunder. Namun, bahan alam yang memiliki struktur kimia yang unik terdapat pada senyawa kimia yang berkaitan dengan metabolit sekunder suatu organisme. Kandungan senyawa yang biasanya terbentuk pada metabolit sekunder berupa alkaloid, terpenoid, golongan fenol, feromon dan sebagainya (Effendi, 2010).

Senyawa metabolit primer dijabarkan sebagai senyawa kimia organik, biasanya terdapat dalam kuantitas yang relatif besar dan keberadaan senyawa ini berperan dalam proses metabolisme. Senyawa metabolit sekunder diartikan sebagai senyawa kimia organik yang terkandung dengan kuantitas yang sedikit atau malah renik (*trace*) dan tak terlibat langsung dalam proses metabolisme tapi sangat berperan dalam upaya mempertahankan kelangsungan hidup baik dari predator maupun fluktuasi lingkungan yang ekstrim (Effendi, 2010; Anwariyah, 2011; Dewi, 2010; Rumiantin, 2010).

Senyawa metabolit sekunder dari laut inilah yang dua dekade belakangan ini diminati secara luar biasa ekstensif, sebagai sumber farmasi baru selain sumber terrestrial dan senyawa-senyawa sintetik yang merupakan produk dari kimia rekombinan. Pada senyawa metabolit sekunder dari laut, sering ditemukan struktur molekul baru yang belum pernah sama sekali ditemukan pada senyawa metabolit sekunder terrestrial. Kekhasan lain dari struktur senyawa metabolit sekunder laut adalah kandungan unsur halogen. Kekhasan struktur metabolit sekunder dari laut ini sangat dipengaruhi atau merupakan konsekuensi dari kondisi lingkungan laut yang sangat bervariasi. Faktor abiotik sebagai contoh:

suhu air laut bervariasi dari $-1,5$ derajat Celcius di wilayah Antartika, hingga mencapai 350 derajat Celcius pada hidrotermal (Setyati, 2005; Effendi, 2010).

Senyawa metabolit sekunder bisa berupa toksik atau non-toksik, bisa pula berupa produk intra atau ekstra seluler. Senyawa metabolit sekunder ini lebih banyak dijumpai pada organisme bentik yang hidup menetap di dasar perairan pesisir wilayah tropik. Karena ketidakmampuannya menjauhkan diri dari predator, maka melalui produksi senyawa metabolit sekunder-lah, organisme ini dapat mereduksi gangguan predator. Lamun, sponge, ascidian, karang lunak (*soft coral*), dan mikroorganisme seperti mikroalga, jamur, dan bakteri adalah beberapa contoh dari organisme bentik (Williams *et al.*, 2007).

B. Tinjauan Umum Lamun

1. Deskripsi dan Klasifikasi

Lamun (*seagrass*) merupakan kelompok tumbuhan berbiji tertutup (Angiospermae) dan berkeping tunggal (Monokotil) yang mampu hidup secara permanen di bawah permukaan air laut. Lamun merupakan satu-satunya tumbuhan berbunga (Angiospermae) yang memiliki rhizoma, daun, dan akar sejati yang hidup terendam di dalam laut beradaptasi secara penuh di perairan yang salinitasnya cukup tinggi atau hidup terbenam di dalam air, beberapa ahli juga mendefinisikan lamun sebagai tumbuhan air berbunga, hidup di dalam air laut, berpembuluh, berdaun, berimpang, berakar, serta berbiak dengan biji dan tunas (Fitriana, 2007).

Lamun memiliki sistem perakaran yang nyata, dedaunan, sistem transportasi internal untuk gas dan nutrient, serta stomata yang berfungsi dalam pertukaran gas. Akar pada tumbuhan lamun tidak berfungsi penting dalam pengambilan air karena daun dapat menyerap nutrient secara langsung dari dalam air laut. Lamun dapat menyerap nutrient dan melakukan fiksasi nitrogen melalui tudung

akar. Kemudian untuk menjaga agar tetap mengapung didalam kolom air, tumbuhan ini dilengkapi oleh ruang udara (Dahuri, 2003).

Dalam ekosistem lamun, rantai makanan tersusun dari tingkat-tingkat trofik yang mencakup proses dan pengangkutan detritus organik dari ekosistem lamun ke konsumen yang agak rumit. Sumber bahan organik berasal dari produk lamun itu sendiri, di samping tambahan dari epifit dan alga makrobentos, fitoplankton dan tanaman darat. Zat organik dimakan fauna melalui perumputan (*grazing*) atau pemanfaatan detritus (Romimohtarto dan Juwana, 2009).

Karena pola hidup lamun sering berupa hamparan maka dikenal juga istilah padang lamun (*Seagrass bed*) yaitu hamparan vegetasi lamun yang menutup suatu area pesisir/laut dangkal, terbentuk dari satu jenis atau lebih dengan kerapatan padat atau jarang. Lamun umumnya membentuk padang lamun yang luas di dasar laut yang masih dapat dijangkau oleh cahaya matahari yang memadai bagi pertumbuhannya. Lamun hidup di perairan yang dangkal dan jernih, dengan sirkulasi air yang baik. Air yang bersirkulasi diperlukan untuk menghantarkan zat-zat hara dan oksigen, serta mengangkut hasil metabolisme lamun ke luar daerah padang lamun (Hartog, 1970).

Lamun termasuk dalam Subkelas Monocotyledonae dan merupakan tumbuhan berbunga (kelas Angiospermae). Secara lengkap klasifikasi beberapa jenis lamun yang terdapat di perairan pantai Indonesia menurut Philips dan Menez (1988) adalah sebagai berikut :

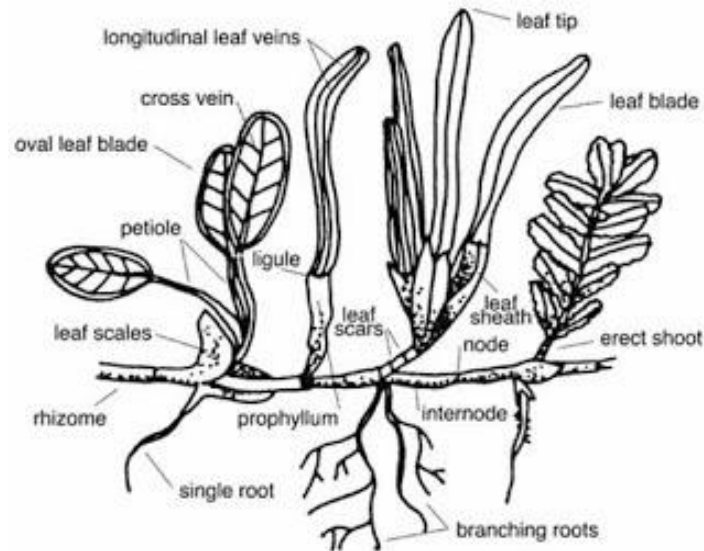
Division : Anthophyta
Class : Angiospermae
Subclass : Monocotyledonae
Order : Helobiae
Family : Hydrocharitaceae
Genus : Enhalus

- Species : *Enhalus acoroides*
- Genus : Halophila
- Species : *Halophila decipiens*
Halophila ovalis
Halophila minor
Halophila spinulosa
- Genus : Thalasia
- Species : *Thalasia hemprichii*
- Family : Cymodoceaceae
- Genus : Cymodocea
- Species : *Cymodocea rotundata*
Cymodocea serrulata
- Genus : Halodule
- Species : *Halodule pinifolia*
Halodule uninervis
- Genus : Syringodium
- Species : *Syringodium isoetifolium*
- Genus : Thalassodendron
- Species : *Thalassodendron ciliatum*

2. Morfologi dan Anatomi

Kuo dan Hartog dalam Larkum *et al.* (1989) menjelaskan bahwa morfologi lamun seperti tumbuhan pada umumnya yang memiliki daun, batang dan rhizoma, serta akar. Secara umum lamun memiliki bentuk luar yang sama, dan yang membedakan antar spesies adalah keanekaragaman bentuk organ sistem vegetatif. Lamun juga memiliki struktur dan fungsi yang sama dengan tumbuhan darat yaitu rumput. Berbeda dengan rumput laut (marine alga/seaweeds), lamun

memiliki akar sejati, daun, pembuluh internal yang merupakan sistem yang menyalurkan nutrisi, air, dan gas. Penjelasan mengenai karakter sistem vegetatif pada lamun menurut Kuo dan Hartog (1989) adalah sebagai berikut :



Gambar 1. Morfologi Lamun (Lanyon *et al.*, 1989)

a. Daun

Seperti semua tumbuhan monokotil, daun lamun diproduksi dari meristem basifal yang terletak pada potongan rhizoma dan percabangannya. Meskipun memiliki bentuk umum yang hampir sama, spesies lamun memiliki morfologi khusus dan bentuk anatomi yang memiliki nilai taksonomi yang sangat tinggi. Beberapa bentuk morfologi sangat mudah terlihat yaitu bentuk daun, bentuk puncak daun, keberadaan atau ketiadaan ligula. Contohnya adalah puncak daun *Cymodocea serrulata* berbentuk lingkaran dan berserat, sedangkan *C. Rotundata* datar dan halus. Daun lamun terdiri dari dua bagian yang berbeda yaitu pelepah dan daun. Pelepah daun menutupi rhizoma yang baru tumbuh dan melindungi daun muda. Tetapi genus *Halophila* yang memiliki bentuk daun petiolate tidak memiliki pelepah.

Anatomi yang khas dari daun lamun adalah ketiadaan stomata dan keberadaan kutikel yang tipis. Kutikel daun yang tipis tidak dapat menahan pergerakan ion dan difusi karbon sehingga daun dapat menyerap nutrisi langsung dari air laut. Air laut merupakan sumber bikarbonat bagi tumbuhan untuk penggunaan karbon inorganik dalam proses fotosintesis.

b. Batang dan Rhizoma

Semua lamun memiliki lebih atau kurang rhizoma yang utamanya adalah herbaceous, walaupun pada *Thalassodendron ciliatum* (percabangan simpodial) yang memiliki rhizoma berkayu yang memungkinkan spesies ini hidup pada habitat karang yang bervariasi dimana spesies lain tidak bisa hidup. Kemampuannya untuk tumbuh pada substrat yang keras menjadikan *T. Ciliatum* memiliki energi yang kuat dan dapat hidup berkoloni disepanjang hamparan terumbu karang di pantai selatan Bali, yang merupakan perairan yang terbuka terhadap laut Indian yang memiliki gelombang yang kuat.

Struktur rhizoma dan batang lamun memiliki variasi yang sangat tinggi tergantung dari susunan saluran di dalam stele. Rhizoma, bersama sama dengan akar, menancapkan tumbuhan ke dalam substrat. Rhizoma seringkali terbenam di dalam substrat yang dapat meluas secara ekstensif dan memiliki peran yang utama pada reproduksi secara vegetatif. Dan reproduksi yang dilakukan secara vegetatif merupakan hal yang lebih penting daripada reproduksi dengan pembibitan karena lebih menguntungkan untuk penyebaran lamun. Rhizoma merupakan 60-80% biomas lamun.

c. Akar

Terdapat perbedaan morfologi dan anatomi akar yang jelas antara jenis lamun yang dapat digunakan untuk taksonomi. Akar pada beberapa spesies seperti *Halophila* dan *Halodule* memiliki karakteristik tipis (*fragile*), seperti rambut, diameter kecil, sedangkan spesies *Thalassodendron* memiliki akar yang kuat dan

berkayu dengan sel epidermal. Jika dibandingkan dengan tumbuhan darat, akar dan akar rambut lamun tidak berkembang dengan baik. Namun, beberapa penelitian memperlihatkan bahwa akar dan rhizoma lamun memiliki fungsi yang sama dengan tumbuhan darat.

Akar-akar halus yang tumbuh di bawah permukaan rhizoma, dan memiliki adaptasi khusus (contoh : aerenchyma, sel epidermal) terhadap lingkungan perairan. Semua akar memiliki pusat stele yang dikelilingi oleh endodermis. Stele mengandung phloem (jaringan transport nutrien) dan xylem (jaringan yang menyalurkan air) yang sangat tipis. Karena akar lamun tidak berkembang baik untuk menyalurkan air maka dapat dikatakan bahwa lamun tidak berperan penting dalam penyaluran air.

Patriquin (1972) menjelaskan bahwa lamun mampu untuk menyerap nutrien dari dalam substrat (*interstitial*) melalui sistem akar-rhizoma. Selanjutnya, fiksasi nitrogen yang dilakukan oleh bakteri heterotropik di dalam rhizosper *Halophila ovalis*, *Enhalus acoroides*, *Syringodium isoetifolium* dan *Thalassia hemprichii* cukup tinggi lebih dari $40 \text{ mg N.m}^{-2}.\text{day}^{-1}$. Koloni bakteri yang ditemukan di lamun memiliki peran yang penting dalam penyerapan nitrogen dan penyaluran nutrien oleh akar. Fiksasi nitrogen merupakan proses yang penting karena nitrogen merupakan unsur dasar yang penting dalam metabolisme untuk menyusun struktur komponen sel.

Lamun sering ditemukan di perairan dangkal daerah pasang surut yang memiliki substrat lumpur berpasir dan kaya akan bahan organik. Pada daerah yang terlindung dengan sirkulasi air rendah (arus dan gelombang) dan merupakan kondisi yang kurang menguntungkan (temperatur tinggi, anoxia, terbuka terhadap udara, dll) seringkali mendukung perkembangan lamun. Kondisi anoksik di sedimen merupakan hal yang menyebabkan penumpukan

posfor yang siap untuk diserap oleh akar lamun dan selanjutnya disalurkan ke bagian tumbuhan yang membutuhkan untuk pertumbuhan.

Diantara banyak fungsi, akar lamun merupakan tempat menyimpan oksigen untuk proses fotosintesis yang dialirkan dari lapisan epidermal daun melalui difusi sepanjang sistem lakunal (udara) yang berliku-liku. Sebagian besar oksigen yang disimpan di akar dan rhizoma digunakan untuk metabolisme dasar sel kortikal dan epidermis seperti yang dilakukan oleh mikroflora di rhizosfer. Beberapa lamun diketahui mengeluarkan oksigen melalui akarnya (*Halophila ovalis*) sedangkan spesies lain (*Thalassia testudinum*) terlihat menjadi lebih baik pada kondisi anoksik. Larkum *et al.* (1989) menekankan bahwa transport oksigen ke akar mengalami penurunan tergantung kebutuhan metabolisme sel epidermal akar dan mikroflora yang berasosiasi. Melalui sistem akar dan rhizoma, lamun dapat memodifikasi sedimen di sekitarnya melalui transpor oksigen dan kandungan kimia lain. Kondisi ini juga dapat menjelaskan jika lamun dapat memodifikasi sistem lakunal berdasarkan tingkat anoksia di sedimen. Dengan demikian pengeluaran oksigen ke sedimen merupakan fungsi dari detoksifikasi yang sama dengan yang dilakukan oleh tumbuhan darat. Kemampuan ini merupakan adaptasi untuk kondisi anoksik yang sering ditemukan pada substrat yang memiliki sedimen liat atau lumpur. Karena akar lamun merupakan tempat untuk melakukan metabolisme aktif (respirasi) maka konsentrasi CO₂ di jaringan akar relatif tinggi.

3. Distribusi Lamun di Indonesia

Di seluruh dunia diperkirakan terdapat sebanyak 52 jenis lamun, di mana di Indonesia ditemukan sekitar 15 jenis yang termasuk ke dalam 2 famili: (1) Hydrocharitaceae, dan (2) Potamogetonaceae. Jenis yang membentuk komunitas padang lamun tunggal, antara lain: *Thalassia hemprichii*, *Enhalus*

acoroides, *Halophila ovalis*, *Cymodocea serrulata*, dan *Thalassodendron ciliatum*. Padang lamun merupakan ekosistem yang tinggi produktivitas organiknya, dengan keanekaragaman biota yang juga cukup tinggi (Hartog, 1970). Pada ekosistem ini hidup beraneka ragam biota laut seperti ikan, krustasea, moluska (*Pinna* sp., *Lambis* sp., *Strombus* sp.), Ekinodermata (*Holothuria* sp., *Synapta* sp., *Diadema* sp., *Archaster* sp., *Linckia* sp.), dan cacing Polikaeta (Bengen, 2001).

Di Indonesia ditemukan jumlah jenis lamun yang relatif lebih rendah dibandingkan Filipina, yaitu sebanyak 12 jenis dari 7 marga. Namun demikian terdapat dua jenis lamun yang diduga ada di Indonesia namun belum dilaporkan yaitu *Halophila beccarii* dan *Ruppia maritime* (Kiswara, 1997). Dari beberapa jenis yang ada di Indonesia, terdapat jenis lamun kayu (*Thalassodendron ciliatum*) yang penyebarannya sangat terbatas dan terutama di wilayah timur perairan Indonesia, kecuali juga ditemukan di daerah terumbu tepi di kepulauan Riau (Tomascik *et al.*, 1997). Jenis-jenis lamun tersebut membentuk padang lamun baik yang bersifat padang lamun monospesifik maupun padang lamun campuran yang luasnya diperkirakan mencapai 30.000 km² (Nienhuis 1993). *Halophila spinulosa* tercatat di daerah Riau, Anyer, Baluran, Irian Jaya, Belitung dan Lombok. Begitu pula *Halophila decipiens* baru ditemukan di Teluk Jakarta, Teluk Moti-Moti dan Kepulauan Aru (Den Hartog, 1970; Azkab, 1999; Bengen 2001).

4. Kandungan Senyawa Kimia Pada Lamun

Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa pada lamun ditemukan beberapa senyawa aktif yang memiliki struktur kimia yang unik dan bersifat antimikroba, diantaranya ialah tannin, saponin, terpena, alkaloida dan glikosida

(El-Haddy *et al.*, 2007). Jouvenaz *et al.* (1972) juga telah membuktikan adanya bioaktivitas antibakterial alkaloid dan saponin (Soetan *et al.*, 2006).

Penelitian yang dilakukan oleh Qi *et al.* (2008), menemukan kandungan senyawa aktif utama yang terdapat pada lamun jenis *Enhalus acoroides* ialah berupa senyawa flavonoid dan steroid, dimana hasil ini konsisten dengan laporan penelitian sebelumnya mengenai komponen kimia utama pada lamun (Gillan *et al.*, 1984, Todd *et al.*, 1993, Jensen *et al.*, 1998, Bushmann and Ailstock 2006). Rumianti (2001) juga menemukan bahwa *Enhalus acoroides* mengandung senyawa fenol hidrokuinon, tanin dan saponin.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Nurfadilah (2013) menunjukkan bahwa terdapat 3 jenis lamun di Kepulauan Spermonde Kota Makassar yang berpotensi sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* yaitu *Enhalus acoroides*, *Cymodocea rotundata* dan *Halophila ovalis*. Hal ini mengindikasikan bahwa lamun memiliki senyawa bioaktif.

C. Fitokimia

Analisis fitokimia adalah analisis yang mencangkup pada aneka ragam senyawa organik yang dibentuk dan ditimbun oleh makhluk hidup, yaitu mengenai struktur kimianya, biosintesisnya, perubahan serta metabolismenya, penyebarannya secara alamiah dan fungsi biologisnya (Harborne 1987). Fitokimia mempunyai peran penting dalam penelitian obat yang dihasilkan dari tumbuh-tumbuhan (Sirait 2007).

1. Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa kimia tanaman hasil metabolit sekunder yang terbentuk berdasarkan prinsip pembentukan campuran (Sirait, 2007). Alkaloid biasanya tanpa warna, seringkali bersifat optis aktif, kebanyakan berbentuk kristal tetapi hanya sedikit yang berupa cairan (misalnya nikotina) pada suhu

kamar. Alkaloid merupakan turunan yang paling umum dari asam amino. Secara kimia, alkaloid merupakan suatu golongan heterogen. Secara fisik, alkaloid dipisahkan dari kandungan tumbuhan lainnya sebagai garamnya dan sering diisolasi sebagai kristal hidroklorida atau pikrat (Harborne, 1987).

Alkaloid memiliki fungsi dalam bidang farmakologis antara lain sebagai analgetik (menghilangkan rasa sakit), mengubah kerja jantung, mempengaruhi peredaran darah dan pernafasan, antimalaria, stimulan uterus dan anaestetika lokal (Sirait, 2007). Sumber senyawa alkaloid potensial adalah tumbuhan yang tergolong dalam kelompok angiospermae dan jarang atau bahkan tidak ditemukan pada tumbuhan yang tergolong dalam kelompok gimnospermae misalnya paku-pakuan, lumut dan tumbuhan tingkat rendah lain (Harborne, 1987). Alkaloid pada tumbuhan dipercaya sebagai hasil metabolisme dan merupakan sumber nitrogen. Kebanyakan alkaloid berupa padatan kristal dengan titik lebur tertentu atau mempunyai kisaran dekomposisi. Dekomposisi alkaloid selama atau setelah isolasi dapat menimbulkan berbagai persoalan jika penyimpanan berlangsung dalam waktu lama (Lenny, 2006).

2. Triterpenoid/ Steroid

Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C₃₀ asiklik, yaitu skualena. Senyawa ini berstruktur siklik yang rumit, kebanyakan berupa alkohol, aldehida atau asam karboksilat. Mereka berupa senyawa tanpa warna, berbentuk kristal, seringkali bertitik leleh tinggi dan aktif optik yang umumnya sukar dicirikan karena tak ada kereaktifan kimianya. Triterpenoid dapat dibagi menjadi empat kelompok senyawa, yaitu triterpen sebenarnya, steroid, saponin, dan glikosida jantung (Harborne, 1987).

Terpenoid memiliki beberapa nilai kegunaan bagi manusia, antara lain minyak atsiri sebagai dasar wewangian, rempah-rempah serta sebagai cita rasa dalam industri makanan. Fungsi terpenoid bagi tumbuhan adalah sebagai pengatur pertumbuhan (seskuitertenoid abisin dan giberelin), karotenoid sebagai pewarna dan memiliki peran membantu fotosintesis (Harborne, 1987). Steroid merupakan golongan dari senyawa triterpenoid. Adapun contohnya adalah sterol, sapogenin, glikosida jantung dan vitamin D.

Steroid alami berasal dari berbagai transformasi kimia dari triterpena yaitu lanosterol dan saikloartenol. Senyawa steroid dapat digunakan sebagai bahan dasar pembuatan obat (Harborne, 1987).

3. Flavonoid

Flavonoid adalah sekelompok besar senyawa polifenol tanaman yang tersebar luas dalam berbagai bahan makanan dan dalam berbagai konsentrasi. Kandungan senyawa flavonoid dalam tanaman sangat rendah sekitar 0,25%. Komponen tersebut pada umumnya terdapat dalam keadaan terikat atau terkonjugasi dengan senyawa gula (Winarsi, 2007).

Flavonoid umumnya terdapat dalam tumbuhan sebagai glikosida. Flavonoid terdapat pada seluruh bagian tanaman termasuk pada buah, tepung sari dan akar (Sirait, 2007). Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa polifenol, oleh karena itu larutan ekstrak yang mengandung komponen flavonoid akan berubah warna jika diberi larutan basa atau ammonia. Flavonoid dikelompokkan menjadi 9 kelas yaitu anthosianin, proanthosianin, flavonol, flavon, gliko flavon, biflavonil, khalkon dan aurone, flavanon serta isoflavon. Flavonoid pada tanaman berikatan dengan gula sebagai glikosida dan ada pula yang berada dalam aglikon (Harborne, 1987).

Flavonoid merupakan senyawa yang terdiri dari C₆-C₃-C₆. Flavonoid umumnya terdapat pada tumbuhan sebagai glikosida. Gugusan gula bersenyawa pada satu atau lebih grup hidroksil fenolik. Gugus hidrolik selalu terdapat pada karbon nomor 5 dan nomor 7 pada cincin A. Pada cincin B gugusan hidroksil atau alkoksil terdapat pada karbon nomor 3 dan nomor 4. Flavonoid terdapat pada seluruh bagian tanaman termasuk pada buah, tepung sari dan akar (Sirait, 2007). Flavonoid merupakan inhibitor kuat terhadap peroksidasi lipida, sebagai penangkap oksigen atau nitrogen yang reaktif dan juga mampu menghambat aktivitas enzim lipooksigenase dan siklooksigenase (Rohman dan Riyanto 2005).

4. Fenol hidrokuinon

Fenol meliputi berbagai senyawa yang berasal dari tumbuhan dan mempunyai ciri sama yaitu cincin aromatik yang mengandung satu atau dua gugus hidroksil. Flavonoid merupakan golongan fenol yang terbesar, selain itu juga terdapat fenol monosiklik sederhana, fenil propanol, dan kuinon fenolik (Harborne, 1987). Kuinon adalah senyawa bewarna dan mempunyai kromofor dasar, seperti kromofor pada benzokuinon, yang terdiri atas dua gugus karbonil yang berkonjugasi dengan dua ikatan rangkap karbon-karbon. Kuinon untuk tujuan identifikasi dapat dipilah menjadi empat kelompok, yaitu benzokuinon, naftokuinon, antrakuinon dan kuinon isoprenoid. Tiga kelompok pertama biasanya terhidroksilasi dan bersifat senyawa fenol serta mungkin terdapat in vivo dalam bentuk gabungan dengan gula sebagai glikosida atau dalam bentuk kuinol tanpa warna, kadang-kadang juga bentuk dimer. Dengan demikian diperlukan hidrolisis asam untuk melepaskan kuinon bebasnya (Harborne, 1987).

Senyawa kuinon yang terdapat sebagai glikosida mungkin larut sedikit dalam air, tetapi umumnya kuinon lebih mudah larut dalam lemak dan akan terekstrak

dalam tumbuhan bersama-sama dengan karotenoid dan klorofil. Reaksi yang khas adalah reduksi bolak-balik yang mengubah kuinon menjadi senyawa tanpa warna, kemudian warna kembali lagi bila terjadi oksidasi oleh udara. Reduksi dapat dilakukan menggunakan natrium borohidrida (Harborne, 1987).

5. Tanin

Tanin merupakan komponen zat organik derivat polimer glikosida yang terdapat dalam bermacam-macam tumbuhan, terutama tumbuhan berkeping dua (dikotil). Monomer tanin adalah digallic acid dan D-glukosa. Ekstrak tanin terdiri dari campuran senyawa polifenol yang sangat kompleks dan biasanya bergabung dengan karbohidrat rendah. Adanya gugus fenol menyebabkan tanin dapat berkondensasi dengan formaldehida. Tanin terkondensasi sangat reaktif terhadap formaldehida dan mampu membentuk produk kondensasi, berguna untuk bahan perekat thermosetting yang tahan air dan panas. Tanin diharapkan mampu mensubstitusi gugus fenol dan resin fenol formaldehida yang berguna untuk mengurangi pemakaian fenol sebagai sumberdaya alam tak terbarukan (Linggawati *et al.*, 2002).

Menurut Muchtadi (1989), tanin adalah senyawa polifenol yang membentuk senyawa kompleks yang tidak larut dengan protein. Senyawa ini terdapat pada berjenis-jenis tanaman yang digunakan baik untuk bahan pangan maupun pakan ternak. Tanin dapat menghambat aktivitas beberapa enzim pencernaan seperti tripsin, kimotripsin, amilase dan lipase. Tanin juga terbukti dapat menghambat absorpsi besi.

6. Saponin

Saponin adalah suatu glikosida yang mungkin ada pada banyak macam tanaman. Saponin ada pada seluruh tanaman dengan konsentrasi tinggi pada bagian-bagian tertentu dan dipengaruhi oleh varietas tanaman dan tahap

pertumbuhan. Di dalam tumbuhan, saponin berfungsi sebagai bentuk penyimpanan karbohidrat atau merupakan *waste product* dari metabolisme tumbuh-tumbuhan. Selain itu saponin bisa menjadi pelindung terhadap serangan serangga. Sifat-sifat yang dimiliki saponin antara lain mempunyai rasa pahit, membentuk busa yang stabil dalam larutan air, menghemolisis eritrosit, merupakan racun yang kuat untuk ikan dan amfibi, membentuk persenyawaan dengan kolesterol dan steroid lain, sulit untuk dimurnikan dan diidentifikasi dan memiliki berat molekul yang tinggi (Nio, 1989).

Berdasarkan sifat kimianya saponin dapat dibagi dalam dua kelompok yaitu steroid dengan 27 C atom dan triterpenoid dengan 30 C atom. Aglikon (sapogenin) dan karbohidrat macam-macam saponin berbeda, sehingga tumbuhan tertentu dapat mempunyai macam-macam saponin yang berlainan. Macam-macam saponin pada tumbuhan antara lain quillage saponin (campuran dari 3 atau 4 saponin), alfalfa saponin (campuran dari paling sedikit 5 saponin) dan soy bean saponin (terdiri dari 5 fraksi yang berbeda dalam sapogenin atau karbohidratnya atau kedua-duanya) (Nio, 1989).

Saponin menyebabkan stimulasi pada jaringan tertentu misalnya pada epitel hidung, bronkus dan ginjal. Stimulasi pada ginjal diperkirakan menimbulkan efek diuretika. Sifat menurunkan tegangan permukaan yang ditimbulkan oleh saponin dapat dihubungkan dengan daya ekspektoransia, dengan sifat ini lendir akan dilunakkan atau dicairkan. Saponin bisa juga sebagai prekursor hormon steroid (Sirait, 2007). Saponin dapat menimbulkan rasa pahit pada bahan pangan nabati. Banyak saponin yang mempunyai satuan gula sampai lima dan komponen yang umum ialah asam glukuronat (Harborne, 1987). Pembentukan busa yang mantap sewaktu mengekstraksi tumbuhan atau memekatkan ekstrak tumbuhan merupakan bukti terpercaya akan adanya saponin. Saponin jauh lebih polar daripada sapogenin karena ikatan glikosidanya (Harborne, 1987).

D. *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Penelitian fitokimia saat ini lebih ditekankan pada penelitian untuk mendapatkan senyawa bioaktif. Uji hayati yang digunakan untuk tujuan ini sebaiknya sederhana, cepat, ekonomis, dan memiliki korelasi statistik yang valid dengan bioaktivitas yang diinginkan (Anderson, 1991).

Menurut Meyer *et al.*, (1982), salah satu uji bioaktivitas yang mudah, cepat, murah dan akurat yaitu dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach dikenal dengan istilah *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Uji mortalitas larva udang merupakan salah satu metode uji bioaktivitas pada penelitian senyawa bahan alam. Penggunaan larva udang untuk kepentingan studi bioaktivitas sudah dilakukan sejak tahun 1956 dan sejak saat itu telah banyak dilakukan pada studi lingkungan, toksisitas dan penapisan senyawa bioaktif dari jaringan tanaman. Uji ini merupakan uji pendahuluan untuk mengamati aktivitas farmakologi suatu senyawa. Adapun penerapan untuk sistem bioaktivitas dengan menggunakan larva udang tersebut, antara lain untuk mengetahui residu pestisida, anestetik lokal, senyawa turunan morpin, mikotoksin, karsinogenitas suatu senyawa dan polutan untuk air laut serta sebagai alternatif metode yang murah untuk uji sitotoksitas (Hamburger & Hostettmann 1991). Senyawa aktif yang memiliki daya bioaktivitas tinggi diketahui berdasarkan nilai *Lethal Concentration* 50% (LC_{50}), yaitu suatu nilai yang menunjukkan konsentrasi zat toksik yang dapat menyebabkan kematian hewan uji sampai 50%. Data mortalitas yang diperoleh kemudian diolah dengan analisis probit yang dirumuskan oleh Finney (1971) untuk menentukan nilai LC_{50} pada derajat kepercayaan 95%. Senyawa kimia memiliki potensi bioaktif jika mempunyai nilai LC_{50} kurang dari 1.000 $\mu\text{g/ml}$ (Meyer *et al.*, 1982).

Uji BSLT dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* dilakukan dengan menetas telur-telur tersebut dalam air laut yang dibantu dengan aerasi. Telur *Artemia salina* akan menetas sempurna menjadi larva dalam waktu 24 jam. Larva *A. salina* yang baik digunakan untuk uji BSLT adalah yang berumur 48 jam sebab jika lebih dari 48 jam dikhawatirkan kematian *Artemia salina* bukan disebabkan toksisitas ekstrak melainkan oleh terbatasnya persediaan makanan (Meyer *et al.*, 1982). Kista ini berbentuk bulatan-bulatan kecil berwarna kelabu kecoklatan dengan diameter berkisar 200-300 μm . Kista berkualitas baik, apabila diinkubasi dalam air berkadar garam 5-70 permil akan menetas sekitar 18-24 jam. *Artemia salina* yang baru menetas disebut nauplius, berwarna orange, berbentuk bulat lonjong dengan panjang sekitar 400 mikron, lebar 170 mikron dan berat 0,002 mg. Nauplius berangsur-angsur mengalami perkembangan dan perubahan morfologis dengan 15 kali pergantian kulit hingga menjadi dewasa. Pada setiap pergantian kulit disebut instar (Mudjiman 1995).

Keunggulan penggunaan larva udang *A. salina* untuk uji BSLT ini ialah sifatnya yang peka terhadap bahan uji, waktu siklus hidup yang lebih cepat, mudah dibiakkan dan harganya yang murah. Sifat peka *A. salina* kemungkinan disebabkan oleh keadaan membran kulitnya yang sangat tipis sehingga memungkinkan terjadinya difusi zat dari lingkungan yang mempengaruhi metabolisme dalam tubuhnya. *A. salina* ditemukan hampir pada seluruh permukaan perairan di bumi yang memiliki kisaran salinitas 10 - 20g/l, hal inilah yang menyebabkannya mudah dibiakkan. Larva yang baru saja menetas berbentuk bulat lonjong dan berwarna kemerah-merahan dengan panjang 400 μm dengan berat 15 μg . Anggota badannya terdiri dari sepasang sungut kecil (anteluena atau antena I) dan sepasang sungut besar (antena atau antena II). Di bagian depan di antara kedua sungut kecil tersebut terdapat

bintik merah yang berfungsi sebagai mata (oselus). Di belakang sungut besarnya terdapat sepasang mandibula (rahang) yang kecil, sedangkan di bagian perut (*ventral*) sebelah depan terdapat labrum (Mudjiman 1988).

E. Lethal Concentration – 50 (LC-50)

Uji toksisitas merupakan uji hayati yang berguna untuk menentukan tingkat toksisitas dari suatu zat atau bahan pencemar. Suatu senyawa kimia dikatakan bersifat racun akut jika senyawa tersebut dapat menimbulkan efek racun dalam jangka waktu singkat, dalam hal ini 24 jam, sedangkan jika senyawa tersebut baru menimbulkan efek dalam jangka waktu yang panjang, disebut racun kronis (karena kontak yang berulang-ulang walaupun dalam jumlah yang sedikit) (Harmita, 2009).

LC₅₀ (*Median Lethal Concentration*) yaitu konsentrasi yang menyebabkan kematian sebanyak 50% dari organisme uji yang dapat diestimasi dengan grafik dan perhitungan pada suatu waktu pengamatan tertentu, misalnya LC₅₀ 24 jam, LC₅₀ 48 jam, LC₅₀ 96 jam (Dhahiyat dan Djuangsih, 1997) sampai waktu hidup hewan uji.

Selanjutnya pengujian efek toksik dihitung dengan menentukan nilai LC₅₀. Untuk mendapatkan nilai LC₅₀, terlebih dahulu menghitung mortalitas dengan cara: akumulasi mati dibagi jumlah akumulasi hidup dan mati (total) dikali 100%. Grafik dibuat dengan log konsentrasi sebagai sumbu x terhadap mortalitas sebagai sumbu y. Nilai LC₅₀ merupakan konsentrasi dimana zat menyebabkan kematian 50% yang diperoleh dengan memakai persamaan regresi linier $y = a + bx$. Suatu zat dikatakan aktif atau toksik bila nilai LC₅₀ < 1000 µg/ml untuk ekstrak dan < 30 µg/ml untuk suatu senyawa (Juniarti *et al.*, 2009).

Selanjutnya Meyer (1982) mengklasifikasikan tingkat toksisitas suatu ekstrak berdasarkan LC₅₀, yaitu kategori sangat tinggi / *highly toxic* apabila mampu

membunuh 50% larva pada konsentrasi 1 – 10 µg/ml, sedang / *medium toxic* pada konsentrasi 10 – 100 µg/ml, dan rendah / *low toxic* pada konsentrasi 100 – 1000 µg/ml.