

**UJI TOKSISITAS EKSTRAK DAUN IPRIH (*Ficus glabella*
Blume) TERHADAP *Artemia salina* Leach DAN PROFIL
KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS**



**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
SURAKARTA
2008**

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Masyarakat Indonesia telah lama mengenal dan menggunakan tanaman berkhasiat obat sebagai salah satu upaya dalam menanggulangi masalah kesehatan. Pengetahuan tentang tanaman berkhasiat obat ini merupakan warisan budaya bangsa berdasarkan pengalaman, dan ketrampilan, yang secara turun temurun telah diwariskan oleh generasi terdahulu kepada generasi berikutnya, termasuk generasi saat ini (Oktora, 2006). Agar peranan tumbuhan berkhasiat obat tersebut dapat lebih ditingkatkan dalam pelayanan kesehatan, perlu didorong upaya penelitian, pengujian, dan pengembangan khasiat, serta keamanan suatu obat.

Pengobatan secara modern dirasa sangat mahal, efek samping cukup tinggi dan hasilnya pun belum tentu memuaskan. Keadaan semacam ini memacu pemanfaatan bahan alami untuk memperoleh bahan obat alternatif, salah satunya obat tradisional (Soedibyo, 1998). Kelebihan dari pengobatan dengan menggunakan ramuan secara tradisional tersebut ialah mempunyai efek samping kecil dibandingkan dengan pengobatan kimiawi, selain itu juga mudah diperoleh, dan harganya relatif lebih murah (Thomas, 1989).

Masyarakat mengenal pohon Ipirih (*Ficus glabella* Blume) sebagai tanaman hias yang banyak terdapat di halaman rumah dan tumbuh secara liar. Kebanyakan dari mereka tidak mengetahui kegunaan tanaman ini sebagai obat tradisional.

Ficus glabella Blume merupakan salah satu tumbuhan famili Moraceae yang mengandung senyawa saponin, flavonoid, polifenol, dan tanin. Kulit batang dari tumbuhan iprih berkhasiat sebagai obat demam (Hutapea, 1994).

Untuk memperoleh kandungan senyawa yang ada di dalam jaringan tumbuhan seperti daun dapat dilakukan dengan cara ekstraksi yaitu maserasi bertingkat dengan menggunakan pelarut secara berganti-ganti. Pelarut yang digunakan mulai dari pelarut kloroform (untuk memisahkan lipid dan terpenoid) kemudian dilanjutkan etil asetat dan etanol untuk senyawa yang lebih polar (Harbone, 1987).

Daun *Ficus glabella* Blume mengandung senyawa saponin, flavonoid, polifenol. Sehubungan dengan hal tersebut, maka perlu dilakukan penelitian secara ilmiah dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Test* (BST) yang ditunjukkan sebagai toksisitas terhadap *Artemia salina* Leach. *Artemia* termasuk kelas Crustaceae dari famili Artemidae. Organisme sejenis udang-udangan berukuran kecil (renik) ini dikenal dengan nama *brine shrimp* (Djarajah, 1995). *Artemia salina* Leach digunakan sebagai hewan uji dalam menentukan ketoksikan suatu ekstrak/senyawa yang diwujudkan sebagai racun. Penggunaan *Artemia salina* Leach sebelumnya telah digunakan untuk berbagai macam uji hayati, seperti uji pestisida, polutan mikotoksin, anestesi, dan ketoksikan dalam air laut (Meyer *et al.*, 1982 cit wahyuni, 2004).

Uji toksisitas dimaksudkan untuk memaparkan adanya efek toksik dan untuk meneliti batas keamanan dalam kaitannya dengan penggunaan senyawa yang terdapat dalam tumbuhan tersebut (Casarett and Doull's, 1975).

Brine Shrimp Test (BST) merupakan metode yang dapat digunakan untuk praskrining terhadap senyawa-senyawa yang diduga berkhasiat sebagai anti tumor. Uji ini seringkali mempunyai korelasi positif dengan potensinya sebagai antitumor (Sukardiman, *et al.*, 2004).

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan uraian tersebut penelitian ini diharapkan dapat menjawab permasalahan-permasalahan sebagai berikut :

1. Bagaimanakah toksisitas ekstrak kloroform, etil asetat, dan etanol daun Ipirih (*Ficus glabella* Blume) terhadap *Artemia salina* Leach?
2. Golongan senyawa apa yang terdapat dalam ekstrak daun iprih (*Ficus glabella* Blume) yang paling toksik terhadap *Artemia salina* Leach?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui toksisitas ekstrak kloroform, etil asetat, dan etanol 70% daun Ipirih (*Ficus glabella* Blume) terhadap *Artemia salina* Leach dan untuk mengetahui golongan senyawa yang terdapat dalam ekstrak daun iprih (*Ficus glabella* Blume) yang paling toksik terhadap *Artemia salina* Leach.

D. Tinjauan Pustaka

1. Pohon Iprih (*Ficus glabella* Blume)

a. Klasifikasi Pohon Iprih

Divisio : Spermatophyta

Subdivisio : Angiospermae

Classis : Dicotyledonae

Ordo : Urticales

Famili : Moraceae

Genus : Ficus

Species : *Ficus glabella* Blume

Nama umum : Iprih (Hutapea, 1994)

b. Nama daerah

Jawa : Bulu bras, Bulu jeraka, Bulu tambu, Ipe, Iprih, wunut, wunut banyu.

Madura : Ampulu (Anonim, 1987)

c. Morfologi tanaman

Pohon tinggi lebih kurang 25 meter, batang tegak, berkayu, bulat, percabangan simpodial, kotor. Daun tunggal, tersebar, berbentuk lonjong, berbulu, ujung meruncing, pangkal membulat, tepi rata, pertulangan daun menyirip, panjang 4,5-6,5 cm, lebar 1,5-2 cm, hijau. Bunga majemuk, berkelamin satu, Kelopak bercangap, halus, hijau, benang sari kecil, kepala putik bulat, mahkota bulat, halus, dan berwarna kuning. Buah kotak, berbentuk bola, kecil, hijau. Biji kecil, bulat, coklat. Akar tunggang, kuning kotor (Hutapea, 1994).

d. Ekologi dan penyebaran

Tumbuhan ini di Jawa tumbuh tersebar dibawah 800 meter dari permukaan laut (Anonim, 1987).

e. Kegunaan

Tumbuhan Ipirih memiliki khasiat, yaitu kulit batang dari *Ficus glabella* berkhasiat sebagai obat demam (Hutapea, 1994).

f. Kandungan Kimia

Kulit batang, daun, akar, dan buah *Ficus glabella* mengandung flavonoid, di samping itu kulit batang, daun, dan akarnya juga mengandung saponin, kulit batang serta daunnya juga mengandung polifenol, dan buahnya mengandung tanin. Saponin adalah glikosida triterpena dan sterol yang telah terdeteksi dalam lebih dari 90 suku tumbuhan. Saponin merupakan senyawa aktif pada permukaan dan bersifat seperti sabun, serta dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya membentuk busa dan menghemolisis sel darah. Pembentukan busa yang mantap sewaktu mengekstraksi tumbuhan atau waktu memekatkan ekstrak tumbuhan merupakan bukti terpercaya akan adanya saponin.

Uji saponin yang sederhana ialah dengan mengocok ekstrak alkohol-air dari tumbuhan dalam tabung reaksi dan diperhatikan apakah terbentuk busa tahan lama pada permukaan cairan. Saponin dapat juga diperiksa dalam ekstrak kasar berdasarkan kemampuannya menghemolisis sel darah, tetapi biasanya lebih baik bila uji sederhana tersebut dipastikan dengan cara KLT dan pengukuran spektrum. Pencarian saponin dalam tumbuhan telah dirangsang oleh kebutuhan akan sumber saponin yang mudah diperoleh dan dapat diubah dilaboratorium menjadi sterol

hewan yang berkhasiat penting (misalnya kortison, estrogen kontraseptif, dan lain-lain).

Flavonoid terdapat dalam tumbuhan sebagai campuran, jarang sekali dijumpai hanya flavonoid tunggal dalam jaringan tumbuhan. Penggolongan jenis flavonoid dalam jaringan tumbuhan mula-mula didasarkan kepada sifat kelarutan dan reaksi warna (Harborne, 1987). Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam yang terbesar. Flavonoid merupakan senyawa polar, dan umumnya flavonoid larut dalam senyawa polar. Aglikon flavonoid adalah polifenol dan karena itu mempunyai sifat kimia seperti fenol. Dalam tumbuhan, aglikon flavonoid (yaitu flavonoid tanpa gula terikat) terdapat dalam berbagai bentuk struktur. Semuanya mengandung 15 atom karbon dalam inti dasarnya, tersusun dalam konfigurasi $C_6-C_3-C_6$, yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh satuan tiga karbon yang dapat atau tak dapat membentuk cincin ketiga (Markham, 1988).

Polifenol adalah kelompok zat kimia yang ditemukan pada banyak tumbuhan, dan juga banyak terdapat pada kacang-kacangan, teh hijau, teh putih, anggur merah, anggur putih, minyak zaitun, cokelat hitam, dan delima. Zat ini memiliki tanda khas yakni memiliki banyak gugus fenol dalam molekulnya. Kadar polifenol yang lebih tinggi dapat ditemukan pada kulit buah seperti pada anggur, apel, dan jeruk. Polifenol berperan dalam memberi warna pada suatu tumbuhan seperti warna pada daun, selain itu polifenol juga berperan sebagai antioksidan yang dapat mengurangi resiko kanker dan sangat baik untuk kesehatan (Anonim, 2007).

Tanin terdapat luas dalam tumbuhan berpembuluh, dalam angiospermae terdapat khusus dalam jaringan kayu (Harborne, 1987). Tanin merupakan nama komponen zat organik yang sangat kompleks dan terdiri dari senyawa fenolik yang mempunyai berat molekul 500-3000, dapat bereaksi dengan protein membentuk senyawa kompleks larut menjadi tidak larut. Tanin memiliki rasa sepat yang timbul karena koagulasi dari protein air liur dan mukosa epithelium dengan tanin.

Tanin sesungguhnya lebih tepat disebut asam tanat (tanic acid), monomer dari tanin digunakan sebagai penyamak kulit. Tanin pada konsentrasi tinggi tidak secara langsung beracun terhadap herbivora, tetapi dapat menyebabkan pengendapan protein sehingga pencernaan tidak efisien. Tanin yang dihasilkan dari purifikasi dapat digunakan sebagai bahan anti rayap dan jamur (Jasni dkk., 1997).

2. Metode Penyarian Simplisia

Penyarian adalah kegiatan penarikan zat yang dapat larut dari bahan yang tidak larut dengan pelarut cair. Simplisia yang disari, mengandung zat aktif yang dapat larut dan zat yang tidak larut. Faktor-faktor yang mempengaruhi kecepatan penyarian adalah kecepatan difusi zat yang larut melalui lapisan-lapisan batas antara cairan penyari dengan bahan yang mengandung zat tersebut (Anonim, 1986). Zat aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan kedalam alkaloida, glikosida, flavonoid, dan lain-lain. Simplisia ada yang lunak seperti rimpang, daun, akar kelembak, dan ada yang keras seperti biji, kulit kayu, dan kulit akar. Simplisia yang lunak mudah ditembus oleh cairan penyari, karena itu pada penyarian tidak perlu diserbuk sampai halus, sebaliknya pada simplisia

keras, perlu dihaluskan terlebih dahulu sebelum dilakukan penyarian. Simplisia merupakan bahan alam yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga, kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Sediaan kering, kental atau cair dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok, diluar pengaruh cahaya matahari langsung disebut ekstrak (Anonim, 1979).

Proses penyarian dikenal beberapa metode, antara lain infundasi, maserasi, perkolasi, dan soxhletasi, pada metode tersebut sering dilakukan modifikasi untuk memperoleh hasil yang lebih baik (Anonim, 1986).

a. Infundasi

Infundasi adalah proses penyarian, umumnya digunakan untuk menyari zat kandungan aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati. Penyarian dengan cara ini menghasilkan sari tidak stabil dan mudah tercemar oleh kuman dan kapang. Oleh sebab itu sari yang diperoleh dengan cara ini tidak boleh disimpan lebih dari 24 jam (Anonim, 1986).

b. Maserasi

Maserasi berasal dari bahasa latin *macerare*, yang artinya "merendam". Maserasi merupakan proses paling tepat dimana obat yang sudah halus memungkinkan untuk direndam dalam menstruum sampai meresap dan melunakkan susunan sel, sehingga zat yang mudah melarut akan melarut. Dalam proses maserasi, obat simplisia yang akan diekstraksi biasanya ditempatkan pada wadah atau bejana bermulut lebar, bersama menstruum yang telah ditetapkan, bejana ditutup rapat (Ansel, 1989).

Proses penyarian dengan maserasi dilakukan pengadukan untuk meratakan konsentrasi larutan di luar butir simplisia, sehingga dengan perlakuan tersebut tetap terjaga adanya derajat perbedaan konsentrasi yang sekecil-kecilnya antara larutan di dalam dengan di luar sel. Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah disediakan (Anonim, 1986).

c. Perkolasi

Perkolasi adalah cara penyarian yang dilakukan dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Prinsip perkolasi adalah serbuk simplisia ditempatkan dalam suatu bejana silinder (perkolator), yang bagian bawahnya diberi sekat berpori. Cairan penyari akan melarutkan zat aktif sel-sel yang dilalui sampai mencapai keadaan jenuh. Gerak ke bawah disebabkan oleh kekuatan gaya beratnya sendiri dan cairan di atasnya, dikurangi dengan daya kapiler yang cenderung untuk menahan. Kekuatan yang berperan pada perkolasi antara lain: gaya berat, kekentalan, daya larut, tegangan permukaan, difusi, osmosa, adesi, daya kapiler dan daya geseran (friksi).

Alat yang digunakan untuk perkolasi dinamakan perkolator, larutan zat aktif yang keluar dari perkolator disebut sari atau perkolat, sedangkan sisa setelah dilakukannya penyarian disebut ampas atau sisa perkolasi. Bentuk perkolator ada 3 macam yaitu perkolator berbentuk tabung, perkolator berbentuk paruh, dan perkolator berbentuk corong (Anonim, 1986).

d. Soxhletasi

Soxhletasi merupakan penyempurna alat ekstraksi. Uap cairan penyari naik ke atas melalui pipa samping, kemudian diembunkan kembali oleh pendingin tegak. Cairan turun ke labu melalui tabung berisi serbuk simplisia. Adanya sifon mengakibatkan seluruh cairan akan kembali ke labu. Cara ini lebih menguntungkan karena uap panas tidak melalui serbuk simplisia tetapi melalui pipa samping (Anonim, 1986). Keuntungan cara soxhlet yaitu jumlah bahan pelarut yang digunakan sedikit, sedangkan kelemahannya waktu yang dibutuhkan untuk ekstraksi cukup lama (beberapa jam) sehingga kebutuhan energinya tinggi, dan bahan terakumulasi dalam labu mengalami beban panas dalam waktu yang cukup lama (Voigt, 1995).

3. Cairan Penyari

Pelarut atau campuran pelarut dalam ekstraksi disebut menstruum (Ansel, 1989). Pemilihan cairan penyari harus mempertimbangkan banyak fakta/kriteria yaitu: murah, mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, selektif yaitu hanya menarik zat berkhasiat yang dikehendaki, dan tidak mempengaruhi zat berkhasiat (Anonim, 1986).

Macam-macam penyari yang digunakan adalah sebagai berikut :

a. Kloroform

Kloroform merupakan cairan jernih, tidak berwarna, mudah mengalir, bau eter, rasa manis, dan membakar (Anonim, 1995). Kloroform harus disimpan dalam wadah kedap udara, dan terlindung cahaya. Kloroform merupakan penyari alkaloid yang baik. Pelarut ini digunakan sebagai pelarut untuk lemak, resin, dan

beberapa plastik, selain itu kloroform juga dapat digunakan sebagai anestetik (Wilson dan Gisvold, 1982).

b. Etil asetat

Etil asetat merupakan cairan tidak berwarna, memiliki aroma khas. Etil asetat adalah pelarut semi polar mudah menguap, tidak beracun, dan tidak higroskopis. Senyawa ini sering disingkat EtOAc, dengan Et mewakili gugus etil dan Oac mewakili asetat. Etil asetat dapat melarutkan air hingga 3%, dan larut dalam air hingga kelarutan 8% pada suhu kamar. Kelarutannya meningkat pada suhu yang lebih tinggi. Namun demikian, senyawa ini tidak stabil dalam air yang mengandung basa atau asam (Anonim, 2008).

c. Etanol 70%

Etanol adalah bahan pelarut bersifat polar yang dapat melarutkan alkaloida basa, kurkumin, antrakinin, flavonoid, steroid, damar, dan klorofil. Lemak, malam, tanin dan saponin hanya sedikit larut (Ansel, 1989). Etanol dipertimbangkan sebagai penyari karena lebih selektif, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% keatas, tidak beracun, netral, absorbsinya baik, etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit. Untuk meningkatkan penyarian biasanya digunakan campuran antara etanol dan air. Perbandingan jumlah etanol dan air tergantung pada bahan yang akan disari (Anonim, 1986). Etanol 70% sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal, dimana bahan pengganggu hanya skala kecil yang turut kedalam cairan pengekstraksi (Voigt, 1995).

4. Toksisitas

Toksisitas merupakan suatu sifat relatif dari zat kimia dan sejauh menyangkut diri manusia secara langsung atau tidak langsung. Namun, toksisitas selalu menunjuk kearah berbahaya atas mekanisme biologi tertentu. Uji toksikologi dapat dibagi menjadi dua golongan, golongan pertama terdiri atas uji toksisitas akut, uji toksisitas subkronis, dan uji toksisitas kronis. Uji ini merupakan uji toksikologi yang dirancang untuk mengevaluasi keseluruhan efek umum suatu senyawa pada hewan eksperimental, sedangkan golongan yang kedua dari uji toksikologi (terdiri atas uji potensi, uji teratogenik, uji reproduksi, uji mutagenik, uji tumorigenisitas, dan uji perilaku) yang merupakan uji yang dirancang untuk mengevaluasi dengan rinci toksisitas spesifik.

Bila zat kimia itu mampu menimbulkan efek yang dapat diamati, seperti misalnya kematian organismenya, atau suatu efek di mana sel hewan itu sepenuhnya sembuh dalam periode waktu tertentu, maka dosis atau kadar zat kimia itu dapat dipilih agar dapat menimbulkan efek tersebut (Loomis, 1978).

Derajat toksisitas terhadap *Artemia salina* dengan nilai LC₅₀ dibedakan menjadi:

- a. Toksik (LC₅₀ < 1000 µg/mL)
- b. Tidak toksik (LC₅₀ > 1000 µg/mL) (Meyer *et al.*, 1982, cit wahyuni, 2004).

5. *Artemia salina* Leach

Hewan uji yang digunakan dalam metode BST ini adalah *Artemia salina* Leach. Pada mulanya *Artemia salina* Leach ini mempunyai nama spesies *Cancer Salinus* Linnaeus. Kemudian pada tahun 1819 diubah menjadi *Artemia salina* oleh Leach. *Artemia* atau *brine shrimp* adalah sejenis udang primitif. Kedudukan *Artemia* dalam ilmu sistematik hewan sebagai berikut :

a. Klasifikasi

Phylum : Arthropoda

Classis : Crustaceae

Subclassis : Branciopoda

Ordo : Anostraca

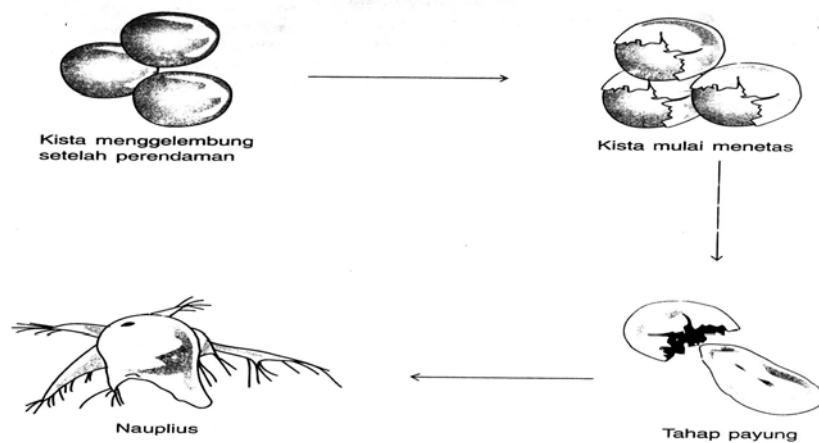
Famili : Artemidae

Genus : Artemia

Spesies : *Artemia salina* Leach (Bougis, 1979, cit Isnansetyo, dkk., 1995)

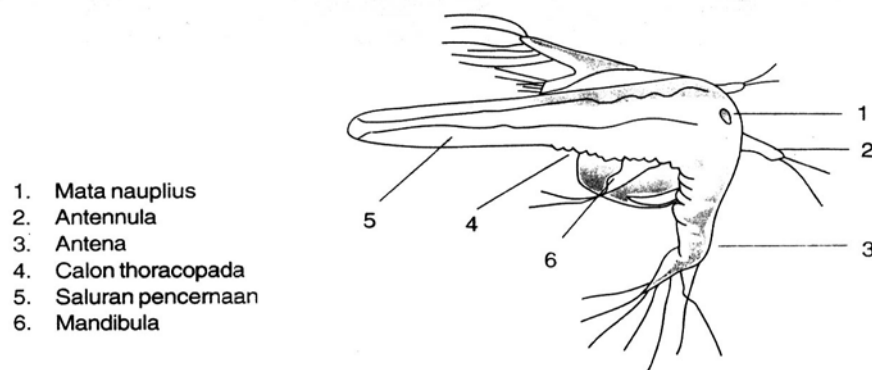
b. Morfologi

Artemia diperdagangkan dalam bentuk telur istirahat yang disebut dengan kista, berbentuk bulat-bulatan kecil berdiameter antara 200-350 mikron dengan warna kelabu kecoklatan. Satu gram kista *Artemia* kering rata-rata terdiri atas 200.000-300.000 butir kista. Kista yang berkualitas baik akan menetas sekitar 18-24 jam apabila diinkubasikan dalam air bersalinitas 5-70 permil. Ada beberapa tahapan proses penetasan *Artemia* yaitu tahap hidrasi, tahap pecah cangkang dan tahap payung atau tahap pengeluaran. Pada tahap hidrasi terjadi penyerapan air sehingga kista yang diawetkan dalam bentuk kering tersebut akan menjadi bulat dan aktif bermetabolisme. Tahap selanjutnya adalah tahap pecah cangkang, pada tahap ini kista menggelembung karena menyerap air, selanjutnya kista mulai menetas dengan memecah cangkangnya, dan tahap yang terakhir adalah tahap payung atau tahap pengeluaran yaitu anak *Artemia* keluar dan menjadi *Artemia*, seperti yang digambarkan pada Gambar 1.



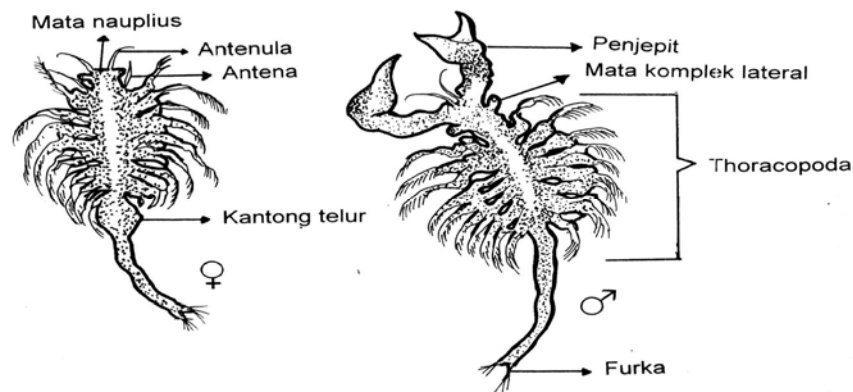
Gambar 1. Tahapan Penetasan *Artemia salina* Leach (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995)

Artemia yang baru menetas disebut nauplius. Nauplius yang baru menetas berwarna orange, berbentuk bulat lonjong dengan panjang sekitar 400 mikron, lebar 170 mikron, dan berat 0.002 mg. Ukuran-ukuran tersebut sangat bervariasi tergantung strainnya. Nauplius mempunyai sepasang antenna dan sepasang antenulla dengan ukuran lebih kecil dan pendek dari antenna, selain itu di antara antenulla terdapat bintik mata yang disebut ocellus. Sepasang mandibula rudimenter terdapat dibelakang antenna, sedangkan labium atau mulut terdapat dibagian ventral, seperti yang terlihat pada Gambar 2. Nauplius berangsur-angsur mengalami perkembangan dan perubahan morfologis sebanyak 15 kali pergantian kulit hingga dewasa, setiap pergantian kulit disebut instar.



Gambar 2. Morfologi Nauplius (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995)

Artemia dewasa biasanya berukuran 8-10 mm, ditandai dengan adanya tangkai mata yang jelas terlihat pada kedua sisi bagian kepala, antenna sebagai alat sensori, saluran pencernaan terlihat jelas dan 11 pasang thorakopoda. Pada *Artemia* jantan, antenna berubah menjadi alat penjepit (mascular grasper). Sepasang penis terdapat dibagian belakang tubuh, sedangkan pada *Artemia* betina, antenna mengalami penyusutan. Sepasang indung telur atau ovari terdapat dikedua sisi saluran pencernaan dibelakang thorakopoda. Morfologi *Artemia* dapat dilihat pada Gambar 3. Telur yang sudah matang akan disalurkan ke sepasang kantong telur atau uterus (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995).



Gambar 3. Morfologi *Artemia salina* Leach (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995)

c. Sifat Ekologi dan Fisiologi

Artemia banyak ditemukan didanau-danau yang kadar garamnya sangat tinggi sehingga disebut juga dengan *brine shrimp*. Untuk pertumbuhan biomassa *artemia* yang baik membutuhkan kadar garam antara 30-50 permil pada kisaran suhu 25-30⁰C, sedangkan kadar garam yang diperlukan agar *Artemia* mampu menghasilkan kista bervariasi tergantung strainnya, biasanya diatas 100 permil.

Akan tetapi kista yang kering sangat tahan terhadap suhu yang ekstrem dari -273°C hingga 100°C .

Artemia termasuk hewan euryoksibion yaitu hewan yang mempunyai kisaran toleransi yang lebar akan kandungan oksigen, pada kandungan oksigen 1 mg/L *Artemia* masih dapat bertahan. Sebaliknya, pada kandungan oksigen terlarut yang tinggi sampai kejenuhan 150 persen *Artemia* masih mampu bertahan hidup, sedangkan kandungan oksigen yang baik untuk pertumbuhan *Artemia* adalah diatas 3 mg/L.

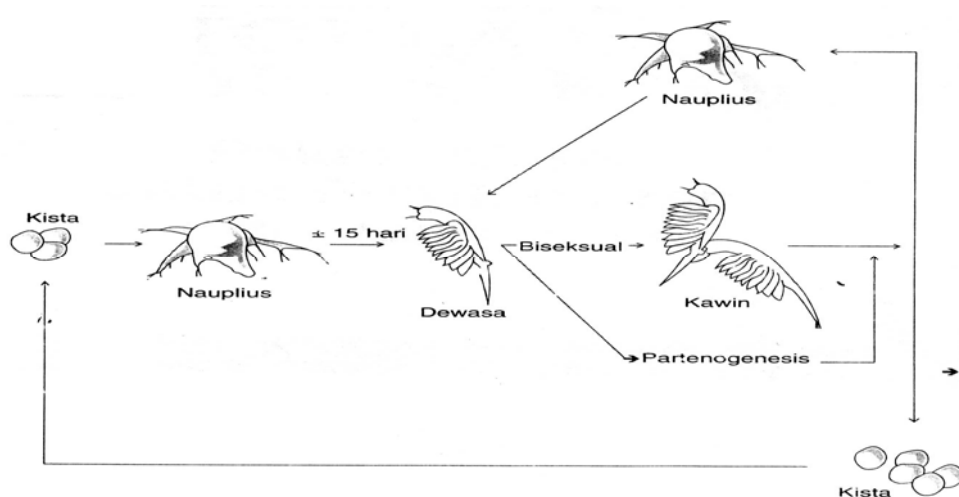
Keasaman air (pH) juga mempengaruhi kehidupan *Artemia*. Umumnya *Artemia* membutuhkan pH air yang bersifat basa agar artemia dapat tumbuh dengan baik, maka pH air yang digunakan untuk budidaya berkisar antara 7,5-8,5.

Sifat ekologi *Artemia* sangat menakjubkan yakni ketahanan terhadap kandungan ammonia yang tinggi. Pada kondisi budidaya kandungan ammonia hingga 90 mg/L masih dapat ditoleransi oleh hewan ini. Tetapi sebaiknya kandungan ammonia kurang dari 80 mg/L agar budidaya artemia dapat tumbuh dengan bagus.

Artemia bersifat omnivora atau pemakan segala. Makanannya berupa plankton, detritus, dan partikel-partikel halus yang dapat masuk mulut. *Artemia* dalam mengambil makanan bersifat penyaring tidak selektif (non selective filter feeder), sehingga apa saja yang dapat masuk mulut artemia seakan-akan menjadi makanannya. Akibatnya kandungan gizi *Artemia* sangat dipengaruhi oleh kualitas pakan yang tersedia pada perairan tersebut. *Artemia* mengambil pakan dari media hidupnya terus-menerus sambil berenang (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995).

d. Reproduksi

Menurut cara reproduksinya *Artemia* dibagi menjadi dua yaitu, *Artemia* bersifat biseksual dan *Artemia* yang bersifat partenogenetik. Keduanya mempunyai cara berkembang biak yang berlainan. *Artemia* biseksual berkembang biak secara seksual, perkembangbiakannya didahului dengan perkawinan antara jantan dan betina, sedangkan *Artemia* partenogenetik berkembang biak secara partenogenesis yaitu betina menghasilkan telur atau nauplius tanpa adanya pembuahan.



Gambar 4. Siklus Hidup *Artemia salina* Leach (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995)

Siklus hidup *Artemia* cukup unik, baik biseksual maupun partenogenetik perkembangbiakannya dapat secara ovovivipar maupun ovipar tergantung kondisi lingkungan terutama salinitas, pada salinitas tinggi akan dihasilkan kista yang keluar dari induk betina sehingga disebut dengan perkembangbiakan secara ovipar, sedangkan pada salinitas rendah tidak akan menghasilkan kista akan tetapi langsung menetas dan dikeluarkan sudah dalam bentuk nauplius sehingga disebut dengan perkembangbiakan secara ovovivipar (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995).

Artemia menjadi dewasa setelah umur 14 hari. *Artemia* dewasa ini biasa menghasilkan telur sebanyak 50-300 butir setiap 4-5 hari sekali. Lebih-lebih bila kondisi lingkungan memungkinkan untuk melakukan perkawinan ovovivipar. Dengan perkembangbiakan secara ovovivipar ini biasa menghasilkan individu baru dalam waktu yang relatif lebih cepat sehingga jumlah nauplius yang dihasilkan seoleh setiap induk bisa lebih banyak. Umur maksimal *Artemia* sekitar 6 bulan, tetapi karena *Artemia* dapat melakukan perkembangbiakan dengan dua cara, maka memungkinkan organisme ini bertahan hidup sepanjang masa. Dalam keadaan lingkungan yang tidak menguntungkan, induk *Artemia* mungkin mati, tetapi siste atau telur yang dihasilkan dari perkawinan akan berkembang sebagai generasi penerus (Djarjah, 1995).

6. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis ialah metode pemisahan campuran senyawa dengan menggunakan fase diam dan fase bergerak lewat lapisan tipis. Metode ini memerlukan investasi yang kecil untuk perlengkapan, menggunakan waktu yang singkat untuk menyelesaikan analisis, dan memerlukan jumlah cuplikan sangat sedikit. Lapisan tipis untuk memisahkan, terdiri atas bahan berbutir-butir (Fase diam), ditempatkan pada penyangga berupa pelat gelas, logam, atau bahan yang cocok. Fase diam yang digunakan umumnya adalah silika gel, aluminium oksida, kieselgur, selulosa, dan poliakrilamid sedangkan fase gerak yang digunakan adalah pelarut mutu analitik, dan bila diperlukan, sistem pelarut multikomponen harus berupa suatu campuran sederhana, terdiri atas maksimum tiga komponen. Campuran yang akan dipisahkan berupa larutan yang ditotolkan bentuk bercak

atau pita (awal). Setelah itu pelat ditempatkan dalam bejana tertutup rapat berisi larutan pengembang yang cocok (fase gerak). Pemisahan terjadi selama perambatan, selanjutnya senyawa yang tidak berwarna harus ditampakkan (Stahl, 1985). Hasil pemisahan yang diperoleh diidentifikasi dibawah lampu UV (254 nm & 365 nm) ditandai dengan ada atau tidaknya fluoresensi, jika tidak tampak dengan cara diatas, maka dilakukan dengan penyemprotan atau diuapi dengan pereaksi yang sesuai. (Auterhoff dan Kovar, 1987)

Jarak pengembangan senyawa pada kromatogram biasanya dinyatakan dengan angka Rf :

$$R_f = \frac{\text{Jarak titik pusat bercak dari titik awal}}{\text{Jarak garis depan fase gerak dari titik awal}}$$

Harga Rf dapat dipengaruhi oleh kelembaban udara atau penyerap yang sifatnya agak menyimpang. Hal tersebut dapat menghasilkan kromatogram secara umum menunjukkan angka Rf dari berbagai komponen lebih rendah atau lebih tinggi.

7. Metode *Brine Shrimp Test* (BST)

Artemia salina Leach (*Brine Shrimp*) secara umum disebut *Artemia*, merupakan salah satu organisme yang sering digunakan untuk pengujian bioaktif. Pengujian menggunakan *Artemia* ini biasa dikenal dengan istilah Metode *Brine Shrimp Test* (BST).

BST merupakan salah satu metode yang sering digunakan untuk praskrining terhadap senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak tanaman. Melalui uji BST, pelaksanaan skrining akan berlangsung relatif cepat, mudah, dengan biaya relatif murah, dan dapat dipercaya (Meyer et al., 1982, cit wahyuni., 2004). Metode ini

juga dapat digunakan untuk praskrining terhadap senyawa- senyawa yang diduga berkhasiat sebagai anti tumor (Sukardiman, *et al.*, 2004).

Pengujian menggunakan *Brine Shrimp Test* (BST) diterapkan dengan menentukan nilai *Lethal Concentration 50%* (LC₅₀) setelah perlakuan 24 jam. Nilai LC₅₀ merupakan angka yang menunjukkan konsentrasi suatu bahan penyebab kematian sebesar 50 % dari jumlah hewan uji.

E. Keterangan Empiris

Penelitian ini bersifat eksploratif, diharapkan dapat memperoleh informasi baru mengenai kemungkinan adanya aktivitas toksik ekstrak kloroform, etil asetat dan etanol daun Iprih terhadap *Artemia salina* Leach berdasarkan harga LC₅₀ yang dihitung dengan menggunakan analisis probit.