Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi, Vol. 12, No. 1, 2007, halaman 41-44
Akreditasi DIKTI Depdiknas RI No. 49/DIKTI/Kep/2003

ISSN : 1410 – 0177

Uji Sitotoksisitas Minyak Atsiri Daun Kamanggi (*Ocimum Basilicum* l.) dengan Metoda *Brine Shrimp Lethality Bioassay*

Mukhtar. M.H, Adnan A.Z, Pitra .M.W
Universitas Andalas

Diterima tanggal : 01 Februari 2007 disetujui : 23 Maret 2007

Abstract

An essential oil had been isolated from *Ocimum basilicum* L. folium. using water distillation method and the cytotoxic activity had been studied using "Brine Shrimp Lethality Bioassay". Results of cytotoxic experimental of the essential oil from *Ocimum basilicum* L. yield LC_{50} of 1,6182 µg/mL

Keywords :

Pendahuluan

Minyak atsiri merupakan salah satu metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman tingkat tinggi dan mempunyai peranan penting bagi tanaman itu sendiri maupun bagi kehidupan manusia. Peranan minyak atsiri untuk kehidupan telah dikenal sejak lama. Seiring dengan kemajuan teknologi dalam bidang bahan alam maka usaha penggalian dan pemanfaatan minyak atsiri semakin meningkat (Ketaren,1985; Guether, 1985 ; Noer, 1984).

Minyak atsiri mempunyai aktivitas farmakologis yang beragam antara lain analgesik, antipiretik, antiseptik, dan banyak pula yang memiliki aktivitas antibakteri dan antijamur yang kuat (Noer,1985 ; Agusta,2000).

Dari penelusuran literatur diperoleh informasi *Ocimum basilicum* termasuk famili Labiatae dengan nama lainnya daun Salasih. Kandungan kimia minyak atsirinya adalah linalool, metil chavicol, dan metil sinamat (Ketaren,1985; Ntezurubanza , et al. 1985).
Uji sitotoksisitas dengan metoda *Brine Shrimp Lethality Bioassay* merupakan uji pendahuluan dapat digunakan untuk memantau senyawa bioaktif yang baru dari bahan alami (Anderson et.al. 1991). dan metoda ini sering dimanfaatkan untuk sekrining senyawa antikanker

Pengujian dengan cara ini memiliki beberapa keuntungan yaitu cepat, murah, mudah pengerjannya, tidak memerlukan kondisi aseptis dan dapat dipercaya (Ghisalberti, 1993). Metoda ini menggunakan larva (nauplii) udang laut *Artemia salina* Leach untuk menentukan LC_{50} (Meyer,et.all. 1982 , Dachriyanus 2005).

Metoda yang digunakan dalam penelitian ini meliputi penarikan minyak atsiri dengan alat penentuan kadar minyak atsiri menggunakan metoda yang terdapat pada Materia Medika Indonesia. Hasil minyak akan diuji aktivitas sitotoksiknya dengan metoda *Brine Shrimp Lethality Bioassay*. Data yang diperoleh dianalisa dengan menggunakan analisa probit dengan metoda Finney Metoda ini telah didesain sedemikian rupa dengan memasukkan data dari dosis yang digunakan kita akan memperoleh nilai probit dan nilai LC_{50}

Metode Penelitan

1. Alat dan Bahan

Alat

Seperangkat alat penentuan kadar minyak atsiri menurut Materia Medika Indonesia, gelas ukur, heat mantel, alat pemotong, pipet tetes, timbangan, tabung reaksi, seperangkat alat penetas larva, pipet mikro, vial, beker glass, erlenmeyer, lemari pengering, spatel, pinset.

Bahan

Daun *O. basilicum* , natrium sulfat anhidrat (Merck), gom arab, air laut, telur udang *A. salina*.

2. Prosedur Penelitian

Sampel diambil di Kebun Tumbuhan Obat Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas. Identifikasi tumbuhan ini dilakukan di Herbarium Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Universitas Andalas.

2.1 Penarikan Minyak Atsiri dari Sampel

Sampel dimasukkan ke dalam labu destilasi yang telah diisi air suling pada bagian bawah sepertiganya, kemudian didestilasi secara kontinu lebih kurang 8 jam.. Destilat dipisahkan dengan corong pisah. Minyak atsiri hasil pemisahan , airnya dikeringkan dengan penambahan natrium sulfat anhidrat. Kemudian ditentukan rendemennya, dan sifat fisikanya antaralain berat jenis dengan menggunakan piknometer, indeks bias dengan menggunakan alat refraktometer ABBE dan rotasi optik menggunakan alat polarimeter dengan konsentrasi minyak atsiri 10 % b/v

2.2 Uji Sitotoksisitas dengan Metoda *Brine Shrimp Lethality Bioassay*

a. **Penetasan telur** *A. salina* (Harefa, 1997; Ghisalberti, 1993; Awal, et.al. 2004)

Bejana penetasan terdiri dari dua bagian yang berhubungan, yaitu bagian terang yang disinari lampu dan bagian gelap yang ditutup, serta dilengkapi dengan sistem airasi. Bejana diisi dengan air laut kemudian telur *A. salina* ditempatkan pada bagian gelap bejana,.setelah menetas larva akan berenang ke tempat yang terang. Setelah 48 jam larva ini dapat digunakan sebagai larva uji.

b. **Pengujian sitotoksisitas** (Ghisalberti, 1993; Mc Laughlin, 1991)

Di dalam lumpang, minyak atsiri sebanyak 1 g ditambahkan dengan gom arab sebanyak 1 g dan air suling sebanyak 1,5 ml, kemudian digerus kuat sampai membentuk korpus emulsi yang homogen dan ditambahkan air suling sedikit demi sedikit sambil terus digerus sampai volume 10 ml, emulsi ini disebut larutan induk.

Pengujian dilakukan dengan 3 variasi konsentrasi yaitu 1000, 100, dan 10 ppm, dan setiap percobaan masing masing konsentrasi dibuat tiga vial dengan 3 kali pengulangannya. Konsentrasi 1000 ppm dibuat dengan memipet 50 µl dari emulsi induk. Untuk membuat konsentrasi 100 ppm, diambil 1 ml dari emulsi induk kemudian diencerkan sampai 10 ml lalu dipipet sebanyak 50 µl. Untuk mendapatkan konsentrasi 10 ppm, diambil 1 ml emulsi induk, diencerkan sampai 20 ml kemudian dipipet sebanyak 10 µl. Larutan kontrol dibuat dengan konsentrasi 1000, 100, dan 10 ppm tanpa penambahan minyak yang pengerjaannya sama dengan pembuatan sampel uji.

Dari setiap vial di atas ditambahkan 4 ml air laut, kemudian dimasukkan larva *A. salina* masing-masing 10 ekor, lalu cukupkan air laut hingga volume 5 ml, setelah 24 jam dihitung larva yang mati. Nilai LC_{50} ditentukan dengan analisa program Finney sistem grafik.

Hasil dan Pembahasan

Dari destilasi 3 kg daun segar tumbuhan selasih (*O. basilicum*) didapatkan minyak atsiri yang bermassa cair, berwarna kuning muda, mempunyai bau dan rasa khas sebanyak 16,6 ml, rendemen 0,553 % v/b. Hasil pemeriksaan tetapan fisika minyak atsiri daun tanaman selasih (*O. basilicum* .) dapat dilihat pada tebel dibawah ini

Tetapan Fisika	Nilai	Persyaratan Minyak Atsiri
Bobot jenis	0,9 g/ml	0,870-0,900
Indeks bias	1,468	1,465-1,480
Rotasi jenis	2,50°	-

Sampel yang digunakan adalah daun yang segar guna menghindari terjadinya penguapan terhadap minyak atsiri dan rusaknya minyak karena proses pengeringan, juga lebih efisien terhadap waktu karena kita tidak membutuhkan waktu untuk proses pengeringannya.

Penarikan minyak atsiri dengan metoda destilasi air menggunakan alat seperti yang tercantum pada Materia Medika Indonesia (Materia Medika Indonesia, 1995).merupakan metoda isolasi minyak atsiri yang paling sederhana, ekonomis dan murah dalam pengerjaannya (Ketaren, 1985 ; Guenther, 1990).Penambahan natrium sulfat anhidrat ini dimaksudkan untuk menarek air yang masih terdapat dalam minyak atsiri dimana air akan ditarik oleh natrium sulfat anhidrat.

Uji sitotoksisitas minyak atsiri daun tumbuhan selasih (*O. basilicum.*) dengan metoda *Brine Shrimp Lethality Bioassay* diperoleh harga LC_{50} 1,6182 µg/ml.Hasil lengkapnya dapat dilihat pada table dibawah ini

Hasil *Uji Brine Shrimp Lethality Bioassay* terhadap spesies *O. basilicum.*

No. Percobaan	Jumlah rata-rata larva yang mati tiap konsentrasi			LC_{50} (µg/ml)
	1000 ppm	100 ppm	10 ppm	
I	10	9	8	1,62
II	10	8,7	7	
III	10	8,3	7	
Rata-rata	10	8,67	7,33	

Untuk uji sitotoksisitas dipakai larva (*nauplii*) udang *A. salina* dengan tiga fariasi konsentrasi dosis sample percobaan sesui dengan metoda, disamping itu juga murah, mudah pegerjaannya, tidak memerlukan kondisi aseptis dan cepat (Mayer 1982, Ghisalberti, 1993). Minyak atsiri daun selasih (*O. basilicum* .) memiliki harga LC_{50} sebesar 1,62 µg/ml, artinya sangat poten karena dibawah 10 ug/ml. , kalau hasil LC_{50} nya dibawah 1000 ppm dikatakan aktif dan sebaliknya bila harga LC_{50} lebih tiggi dari 1000 ppm dianggap tidak aktif (Mayer et al. 1982).

Tingkat kematian larva udang tersebut akan memberikan makna terhadap potensi aktivitasnya sebagai antikanker (Ghisalberti,1993 ; Anderson. 1975). Meskipun uji sitotoksisitas ini tidak spesifik untuk antikanker, namun hasil uji senyawa antikanker menunjukkan korelasi yang signifikan terhadap kematian larva udang. Dari hasil ini dapat dikatakan bahwa minyak atsiri ini memiliki potensi aktivitas yang tinggi (1,62 µg/ml) untuk diteliti dan dikembangkan dengan menggunakan metoda yang lebih spesifik baik terhadap efek antikanker atau efek lainnya (Shim, Sian 2006).

Kesimpulan

Hasil uji *Brine Shrimp Lethality Bioassay* terhadap minyak atsiri daun tumbuhan selasih (*O. basilicum.*) menunjukkan aktivitas sitotoksik dengan nilai LC_{50} sebesar 1,6182 µg/ml. Dari hasil ini dapat dikatakan bahwa minyak atsiri ini mengandung senyawa aktif yang memiliki potensi tinggi.

Daftar Pustaka

Agusta, A., *Minyak Atsiri Tumbuhan Tropika Indonesia*. Penerbit ITB, Bandung, 2000

Anderson, B. C., "Statistics", A. Martin, et al., *Remington Pharmaceutical Sciences*, Edisi XV, Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania, 1975.

Awal, M.A., A. Nahar, M.S. Hossain, M.A. Bari, M. Rahman and M.E. Haque, "Brine Shrimp Toxicity of Leaf and Seed Extracts of *Cassia alata* Linn. and Their Antibacterial Potency", *J. Med. Sci.*, Bangladesh, 4(3) : 188-193, 2004

Dachrianus , Oktima .W , Stanias J., 1.7 – dihidroksixanton , Senyawa sitotoksik dari kulit batang *Garcinia griffitii* T. Anders" Jurnal Matematika dan Pengetahuan Alam !4(1) 2005, 17 – 21.

Guenther, E., *Minyak Atsiri*, Jilid I, diterjemahkan oleh S. Ketaren, Penerbit UI Press, Jakarta 1990

Ghisalberti, E.L., "Detection and Isolation of Bioactive Natural Products", *Bioactive Natural Products; Detection, Isolation, and Structural Determination*, Ed. Steven M. Collegate and Russell J. Molyneux, CRC Press Inc, London, 1993

Guenther, *The Essential Oil*, Lobert E. Krieger Publishing Co. Hunting New York Vol. I-IV, 1985

Harefa, F., *Pembudidayaan Artemia salina untuk Pakan Udang dan Ikan*, Penerbit Swadaya, Jakarta, 1997

Ketaren, S., *Pengantar Teknologi Minyak Atsiri*, Balai Pustaka, Jakarta, 1985

Materia Medika Indonesia, Jilid VI, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 1995

Meyer, B.N., N.R. Ferrigni, J.E. Putman, L.B. Jacobsen, D.E. Nichols, and J.L. Mc Laughlin, "Brine Shrimp : A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents", *J. of Med. Plant Research Planta Med*, USA, 31-34, 1982

Mc Laughlin, J.L., "Crown Gall Tumours on Potato Discs and Brine Shrimp Lethality : Two Simple Bioassays for Higher Plant Screening and Fractionation", *Methods in Plant Biochemistry*, 6, 8-10, 1991.

Noer, Achmad, "Minyak Atsiri di Indonesia", *Prosiding Diskusi Industri Minyak Atsiri*, Departemen Perindustrian, 1-5, 1984

Ntezurubanza, L., Scheffer J.J., Looman A., *Composition of The Essential Oil of Ocimum canum Grown in Rwanda*, National Library Medicine 1985.

Shim, Sim K . , Malek, Sri N.A, Yaacob, Hashim Cytotoxic of *Pereskiac corrugate* Againt Selected Cell lines. ASOMPS XII 13 – 18 Nov 2006.