

ANALISIS ANTIBAKTERI METODE AGAR CAKRAM DAN UJI TOKSISITAS MENGGUNAKAN BSLT (BRINE SHRIMP LETHALITY TEST) DARI EKSTRAK METANOL DAUN SALAM (EUGENIA POLYANTHA)

Anjas Wilapangga¹, Syafrudin Syaputra²

^{1,2}Laboratorium Terpadu, Universitas Esa Unggul, Jakarta Barat, Indonesia
Jalan Arjuna Utara No.9 Kebon Jeruk Jakart 11510
anjaswilapangga@yahoo.com

Abstract

Antibiotics are substances that inhibit the growth of bacteria and are used specifically to treat infections. Based on the mode of action of the antibacterial one differentiates into bactericidal and bacteriostatic. Bacteriostatic antibiotics are substances that can inhibit the growth of bacteria, while bacteriocides are antibiotics that kill bacteria. Some antibacterial substances are bacteriostatic in low concentrations and bacteriocidal in high concentrations. The mechanism of antibacterial action can be accomplished in five ways, namely by barriers to cell wall synthesis, changes in cell permeability, changes in nucleic acid molecules, inhibition of enzyme work, and inhibition of the synthesis of nucleic acids and proteins. Salam leaf is one of the herbs that can cure diarrhea. Essential oils, triterpenoids, saponins, flavonoids and tannins are some of the compounds contained in bay leaves which can inhibit the growth of pathogenic bacteria such as Salmonella sp., Bacillus cereus, B. subtilis, Staphylococcus aureus, E. coli and Pseudomonas fluorescens. Salam leaves contain essential oils (citral and eugenol), tannins and flavonoids (Dalimartha, 2003). The aim of this study was to determine the results of the antibacterial test of the agar-disk method, the toxicity test of the brine shrimp lethality test (BSLT) method on methanol extract from Salam leaves (Eugenia polyantha). Extract of salam leaves (Eugenia polyantha) was extracted by maceration with methanol. The results showed that Salam leaf extract (Eugenia polyantha) has antibacterial activity that can inhibit the growth of Escherichia coli bacteria by 10.00 mm and Bacillus sp bacteria by 16.00 mm. BSLT Salam Leaf Extract Test The IC50 values in Tests 1, 2 and 3 are 528.26 µg / ml, 483.50 µg / ml and 452.67 µg / ml. This shows that bay leaf extract for shrimp larvae is toxic because has the value of Ic-50 in the range of 30-1000 ppm. The antioxidant activity test of the DPPH method with Salam leaf extract samples gave an IC 50 value of 19.97 ppm.

Keywords: antibacterial, BSLT, Salam leaf

Abstrak

Antibakteri adalah zat yang menghambat pertumbuhan bakteri dan digunakan secara khusus untuk mengobati infeksi. Berdasarkan cara kerja antibakteri dibedakan menjadi bakterisidal dan bakteriostatik. Antibakteri bakteriostatik adalah zat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan antibakteri bakteriosidal adalah zat yang bekerja mematikan bakteri. Beberapa zat antibakteri bersifat bakteriostatik pada konsentrasi rendah dan bersifat bakteriosidal pada konsentrasi tinggi. Mekanisme kerja antibakteri dapat terjadi melalui lima cara, yaitu hambatan sintesis dinding sel, perubahan permeabilitas sel, perubahan molekul asam nukleat, penghambatan kerja enzim, dan penghambatan sintesis asam nukleat dan protein. Daun salam (*Eugenia polyantha*) adalah salah satu tanaman herbal yang memiliki kemampuan untuk menyembuhkan penyakit diare. Minyak atsiri, triterpenoid, saponin, flavonoid, dan tanin adalah beberapa senyawa yang terkandung dalam daun salam yang memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen, seperti Salmonella sp., Bacillus cereus, B. Subtilis, Staphylococcus aureus, E. coli dan Pseudomonas fluorescens. Daun Salam mengandung minyak atsiri (sitral dan eugenol), tanin dan flavonoid Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hasil uji Anti bakteri metode agar cakram, Uji Toksisitas metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) pada ekstrak methanol daun salam (*Eugenia polyantha*). Ekstrak kulit Daun Salam (*Eugenia polyantha*) diekstraksi secara maserasi dengan metanol. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak daun salam (*Eugenia polyantha*) mempunyai aktivitas sebagai antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri Escherichia Coli sebesar 10,00 mm dan bakteri Bacillus sp sebesar 16,00 mm, Uji dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) ekstrak daun salam diperoleh nilai IC-50 pada ulangan 1, 2 dan 3 secara berturut-turut adalah 528,26 µg/mL, 483,50 µg/mL, dan 452,67 µg/mL yang menunjukkan bahwa ekstrak daun salam bersifat toksik terhadap larva udang, karena memiliki nilai Ic-50 dalam rentang 30-1000 ppm. Uji Aktivitas

Antioksidan metode DPPH dengan sampel ekstrak daun salam di dapatkan nilai IC-50 sebesar 19,97 ppm.

Kata kunci: antibakteri, BSLT, daun salam

Pendahuluan

Tuntutan jaman yang serba cepat, kesibukan bekerja menjadikan sebagian masyarakat kita lebih menyukai pola makan serba instan. Seringnya mengkonsumsi makanan instan ini berdampak negatif terhadap kesehatan. Ini disebabkan karena makanan instan kebanyakan mengandung pengawet, pewarna, pemberi rasa, tinggi lemak, tinggi protein, banyak gula, garam namun rendah serat. Pola makan ini menjadi pemicu timbulnya berbagai penyakit degeneratif seperti tekanan darah tinggi, diabetes mellitus, jantung koroner, stroke, obesitas hingga kanker (Sutomo, 2007). Makanan tertentu seperti makanan cepat saji (fast food), makanan kemasan, makanan kalengan juga ditengarai berpotensi meninggalkan racun dalam tubuh karena kandungan lemak, pengawet serta sumber radikal bebas (Sibuea, 2004).

Antibakteri adalah zat yang menghambat pertumbuhan bakteri dan digunakan secara khusus untuk mengobati infeksi. Berdasarkan cara kerja antibakteri dibedakan menjadi bakterisidal dan bakteriostatik. Antibakteri bakteriostatik adalah zat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan antibakteri bakteriosidal adalah zat yang bekerja yang mematikan bakteri. Beberapa zat antibakteri bersifat bakteriostatik pada konsentrasi rendah dan bersifat bakteriosidal pada konsentrasi tinggi. Mekanisme kerja antibakteri dapat terjadi melalui lima cara, yaitu hambatan sintesis dinding sel, perubahan permeabilitas sel, perubahan molekul asam nukleat, penghambatan kerja enzim, dan penghambatan sintesis asam nukleat dan protein.

Daun salam adalah salah satu tanaman herbal yang memiliki kemampuan untuk menyembuhkan penyakit diare. Minyak atsiri, triterpenoid, saponin, flavonoid, dan tanin adalah beberapa senyawa yang terkandung dalam daun salam yang memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen, seperti *Salmonella sp.*, *Bacillus cereus*, *B. Subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *E. coli* dan *Pseudomonas fluorescens*.

Metode Penelitian

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei sampai dengan Juli 2018 di Laboratorium Kimia FIKES Terpadu Universitas Esa Unggul. Penelitian ini menggunakan bentuk eksperimen laboratorium.

Ekstraksi Daun Salam menggunakan pelarut metanol Ekstraksi dilakukan secara maserasi. Sebanyak 1000 gram daun salam yang sudah dikeringkan kemudian di cacah kecil-kecil dimasukkan kedalam beaker gelas kemudian ditambahkan pelarut hingga 1000 mL. Maserasi dilakukan selama 7 hari kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* untuk menghilangkan pelarutnya.

Analisis Antibakteri Metode Agar Cakram Preparasi pembuatan media

1. Masing-masing bakteri uji (*E.Coli* dan *Bacillus sp*) dipipet 0,1mL
2. Dituangkan kedalam cawan petri yang sudah diberi tanda/label sesuai jenis bakteri ujinya.
3. Dituangkan media nutrien agar cair (NA)
4. Dihomogenkan secara perlahan dan ditunggu beku

Sampel

1. Dipipet 1 mL ekstrak bahan alam (Daun Salam) kedalam cawan petri
2. Dimasukkan kertas cakram (Kalkir) sebanyak 4 lembar kedalam cawan petri berisi ekstrak bahan alam (Daun Salam) sampai terendam
3. Dibiarkan selama 1-2 menit
4. Kertas cakram diambil dengan pinset satu persatu
5. Kertas cakram diletakkan pada masing-masing media yang telah diberi tanda/label sesuai bakteri ujinya (Posisi ditengah)
6. Diinkubasi secara terbalik dan selama 18-24 jam pada temperatur 37°C
*Catatan : Masing-masing berisi satu lembar kertas cakram

Standar

1. Dipipet 1 mL standar Amoxicillin kedalam cawan petri
2. Dimasukkan kertas cakram (Kalkir) sebanyak 2 lembar kedalam cawan petri berisi standar Amoxicillin sampai terendam
3. Dibiarkan selama 1-2 menit
4. Kertas cakram diambil dengan pinset satu persatu
5. Kertas cakram diletakkan pada masing-masing media yang telah diberi tanda/label sesuai jamur ujinya (Posisi ditengah)
6. Diinkubasi secara terbalik dan selama 18-24 jam pada temperatur 37°C
*Catatan : Masing-masing berisi satu lembar kertas cakram

Pengamatan pada cawan petri hasil inkubasi

1. Dilakukan pengamatan terhadap ada atau tidak adanya zona hambat
2. Jika terdapat zona hambat/zona bening, maka dilakukan pengukuran terhadap diameter keseluruhan, diameter cakram, dan diameter zona hambat menggunakan penggaris
3. Jika tidak terdapat zona hambat/zona bening maka ditulis (-) pada kolom pengukuran
 - Catatan : Pengukuran dan pengamatan dalam (mm)

Uji Toksisitas Metode BSLT

Penyiapan larva Leach

Penyiapan larva merujuk pada penelitian Panggabean dengan mempertimbangkan beberapa faktor, seperti salinitas 5 – 70 ppt, DO minimal 3 mg/L, pH 8 - 9, suhu 28 – 35°C. Penetasan dilakukan menggunakan toples kaca dengan cara merendam 1 g kista *A. salina* tersebut dalam air laut sebanyak 100 mL dan diberi penerangan dengan lampu listrik serta diaerasi selama 48 jam.

Penyiapan Larutan Uji

Penyiapan larutan uji memodifikasi penelitian Diastuti et al. (2009). Konsentrasi awal sebesar 10.000 µg/mL sebagai larutan induk dengan melarutkan 1 g ekstrak ke dalam 100 mL air laut. Larutan tersebut selanjutnya dilakukan pengenceran sehingga mendapatkan konsentrasi 10µg/mL, 100µg/mL dan 1000µg/mL Larutan yang digunakan sebagai kontrol dilakukan tanpa penambahan ekstrak.

Uji Toksisitas

Uji toksisitas ini dilakukan dengan memodifikasi penelitian yang dilakukan oleh Santi et al. (2012). Disiapkan tabung vial ukuran 10 mL, kemudian larutan uji masing-masing dipipet diambil dari konsentrasi induk. Selanjutnya ditambahkan air laut dan 10 ekor larva *A. salina* yang telah berumur 2 hari hingga volumenya mencapai 5 mL. Setiap konsentrasi dilakukan 3 kali pengulangan dan dibandingkan dengan kontrol. Pengujian ini dilakukan selama 24 jam kemudian dilihat jumlah mortalitas larva *A. salina*.

Analisis Data

Uji toksisitas sampel ditentukan dengan melihat besarnya nilai dari LC₅₀ yang dapat mematikan *A. salina* sampai 50 % dan dilakukan perhitungan statistik dengan analisa probit (probability unit). Menurut Nurhayati et al. (2006),

efek toksisitas dianalisis dari pengamatan dengan persen kematian.

$$\% \text{ Mortalitas} = \frac{\text{Jumlah Larva Mati}}{\text{Jumlah Larva Uji}} \times 100 \%$$

Abbott (1925) dalam Meyer et al. (1982) mengatakan apabila pada kontrol terdapat larva yang mati, maka % kematian ditentukan dengan rumus :

$$\% \text{ Mortalitas} = \frac{\text{Uji-Kontrol}}{\text{Kontrol}} \times 100 \%$$

Setelah mengetahui % Mortalitas larva *A. salina*, kemudian dicari nilai probit melalui tabel probit dan diregresikan secara linier.

$$Y = a + bX$$

Keterangan:

Y = Nilai probit

a = Konsentrasi regresi

b = Slope/kemiringan regresi

X = Logaritma₁₀ konsentrasi uji

Hasil dan Pembahasan

Uji Antibakteri metode difusi Agar Cakram

Antibakteri adalah zat yang menghambat pertumbuhan bakteri dan digunakan secara khusus untuk mengobati infeksi. Berdasarkan cara kerja antibakteri dibedakan menjadi bakterisidal dan bakteristatik. Antibakteri bakteristatik adalah zat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan antibakteri bakteriosidal adalah zat yang bekerja yang mematikan bakteri. Beberapa zat antibakteri bersifat bakteristatik pada konsentrasi rendah dan bersifat bakteriosidal pada konsentrasi tinggi. Mekanisme kerja antibakteri dapat terjadi melalui lima cara, yaitu hambatan sintesis dinding sel, perubahan permeabilitas sel, perubahan molekul asam nukleat, penghambatan kerja enzim, dan penghambatan sintesis asam nukleat dan protein.

Daun salam adalah salah satu tanaman herbal yang memiliki kemampuan untuk menyembuhkan penyakit diare. Minyak atsiri, triterpenoid, saponin, flavonoid, dan tanin adalah beberapa senyawa yang terkandung dalam daun salam yang memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen, seperti *Salmonella* sp., *Bacillus cereus*, *B. Subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *E. coli* dan *Pseudomonas fluorescens*.

Tingkat aktifitas suatu senyawa antimikroba dapat dilakukan dengan beberapa metoda diantaranya metoda difusi agar. Metoda difusi agar

adalah suatu prosedur yang bergantung pada difusi senyawa antimikrobal ke dalam agar. Senyawa antimikrobal tersebut diserapkan pada kertas cakram yang berdiameter 6 mm. Kertas cakram ditempatkan pada permukaan media yang telah diinokulasikan dengan bakteri patogen atau jamur yang akan diuji. Setelah diinkubasi selama 24 jam pada temperatur 37°C, diamati diameter daerah hambatan di sekitar kertas cakram. Daerah hambatan yang terbentuk sebagai daerah bening disekitar kertas cakram menunjukkan mikroorganisme yang diuji telah dihambat oleh senyawa yang berdifusi ke dalam kertas cakram.

Menurut Kanazawa et al., (1995) dalam Naufalin (2005) suatu senyawa yang mempunyai polaritas optimum akan mempunyai aktivitas antimikroba yang maksimum, karena untuk interaksi suatu senyawa antibakteri dengan sel bakteri diperlukan keseimbangan hidrofilik – lipofilik (HLB : hydrophilic lipophilic balance). Oleh karena itu polaritas senyawa antibakteri merupakan sifat fisik yang penting. Sifat hidrofilik diperlukan untuk menjamin senyawa antimikroba larut dalam fase air yang merupakan tempat hidup mikroba. Akan tetapi senyawa yang bekerja pada membran sel yang sifatnya hidrofobik memerlukan pula sifat lipofilik. Faktor-faktor yang mempengaruhi adanya zona hambat adalah kemampuan difusi bahan antimikroba yang diinokulasikan, kecepatan tumbuh mikroba yang diujikan dan tingkat sensitivitas mikroba terhadap bahan antimikroba yang bersangkutan.

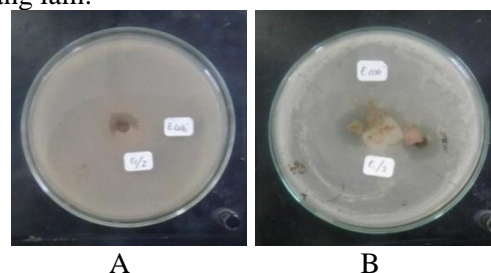
Menurut Gisvold (1982) dalam Sabir (2005) disebutkan bahwa flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri. Adapun menurut Naim (2004) flavonoid memiliki sifat lipofilik sehingga dimungkinkan akan merusak membran sel bakteri. Kemudian senyawa tanin diduga berhubungan dengan kemampuannya dalam menginaktivasi adhesi mikroba, enzim dan protein transport pada membrane sel. Selain itu senyawa terpen atau terpenoid diketahui dapat bersifat aktif terhadap bakteri, fungi, virus dan protozoa. Mekanisme antimikrobal senyawa terpen diduga terlibat dalam perusakan membrane sel oleh senyawa lipofilik.

Ada beberapa faktor yang harus diperhatikan dalam metode difusi. Faktor-faktor tersebut antara lain :

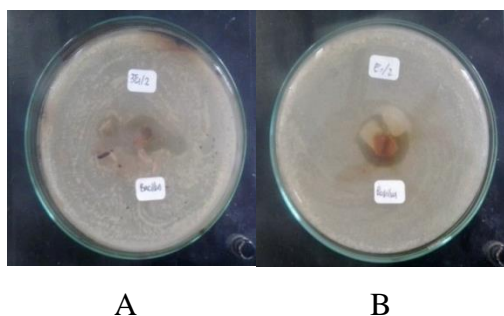
1) Pra difusi, perbedaan waktu pradifusi mempengaruhi jarak difusi dari zat uji yaitu difusi antar pencadangan.

- 2) Ketebalan media agar, hal ini penting untuk memperoleh sensitivitas yang optimal. Perbedaan ketebalan media agar dapat mempengaruhi difusi dari zat uji ke dalam agar sehingga akan mempengaruhi diameter zona hambat. Semakin tebal media yang digunakan, semakin kecil diameter zona hambat yang terjadi.
- 3) Kerapatan inokulum, ukuran inokulum merupakan faktor terpenting yang mempengaruhi lebar zona hambat, jumlah inokulum yang lebih sedikit menyebabkan obat dapat berdifusi lebih jauh, sehingga zona hambat yang dihasilkan lebih besar, sedangkan jika jumlah inokulum lebih besar maka akan dihasilkan zona hambat yang kecil.
- 4) Komposisi media agar, perubahan komposisi media dapat merubah sifat media sehingga jarak difusi berubah. Hal ini akan mempengaruhi aktivitas beberapa bakteri, kecepatan difusi antibakteri, dan kecepatan pertumbuhan antibakteri.
- 5) Suhu inkubasi, kebanyakan bakteri tumbuh baik pada suhu 37⁰ C.
- 6) Waktu inkubasi disesuaikan dengan pertumbuhan bakteri karena luas zona hambat ditentukan beberapa jam pertama, setelah diinokulasikan pada media agar, maka zona hambat dapat diamati segera setelah adanya pertumbuhan bakteri.
- 7) Pengaruh pH, adanya perbedaan pH media yang digunakan dapat menyebabkan perbedaan jumlah zat uji yang berdifusi, pH juga menentukan jumlah molekul zat uji yang mengion. Selain itu, pH berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri.

Hasil uji antibakteri dan hasil pengukuran zona hambat pengaruh ekstrak metanol daun salam pada Bakteri *E. coli* dan *Bacillus* dapat dilihat pada Gambar 1 dan 2. Zona hambat yang terbentuk dari setiap media PDA memiliki ukuran yang bervariasi, namun masih dapat terhitung dalam satuan (mm). Daya hambat dari Standar Nistatin terhadap jamur *Fusarium* Sp diketahui paling besar diantara jamur yang lain.



Gambar 1. Pengaruh Ekstrak Metanol Daun salam terhadap Pertumbuhan *E. coli*. A: Ulangan pertama. B: Ulangan kedua



Gambar 2. Pengaruh Ekstrak Metanol Daun salam terhadap Pertumbuhan *Bacillus subtilis*. A: Ulangan pertama. B: Ulangan kedua

Perhitungan Daya Hambat Pengujian antibakteri

1. Bakteri E.Coli

a. Ulangan 1

$$\begin{aligned} \text{DH} &= \text{DK} - \text{DC} \\ &= 16,00 \text{ mm} - 6,00 \text{ mm} \\ &= 10,00 \text{ mm} \end{aligned}$$

b. Ulangan 2

$$\begin{aligned} \text{DH} &= \text{DK} - \text{DC} \\ &= 16,00 \text{ mm} - 6,00 \text{ mm} \\ &= 10,00 \text{ mm} \end{aligned}$$

2. Bakteri Bacillus sp.

a. Ulangan 1

$$\begin{aligned} \text{DH} &= \text{DK} - \text{DC} \\ &= 22,00 \text{ mm} - 6,00 \text{ mm} \\ &= 16,00 \text{ mm} \end{aligned}$$

b. Ulangan 2

$$\begin{aligned} \text{DH} &= \text{DK} - \text{DC} \\ &= 16,00 \text{ mm} - 6,00 \text{ mm} \\ &= 10,00 \text{ mm} \end{aligned}$$

Hasil pengukuran diameter zona hambat menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun salam memiliki daya hambat kuat terhadap bakteri gram negatif E.coli dan bakteri gram positif Bacillus . Penentuan kriteria ini berdasarkan Davis dan Stout (1971) yang melaporkan bahwa ketentuan kekuatan daya antibakteri sebagai berikut: daerah hambatan 20 mm atau lebih termasuk sangat kuat, daerah hambatan 10-20 mm kategori kuat, daerah hambatan 5-10 mm kategori sedang, dan daerah hambatan 5 mm atau kurang termasuk kategori lemah.

Uji Toksisitas menggunakan Metode BSLT ((Brine Shrimp Lethality Test)

Tabel 1

Hasil Pengamatan Uji BSLT (Brine Shrimp Lethality Test)

Nama Contoh	Ulangan	Konsentrasi Ekstrak (µg/mL)	Jumlah Larva Hidup	Jumlah Larva Mati	% Larva Mati (%)	Persamaan Regresi	Ic-50 (µg/mL)
D a u n	1	10	8	2	20	$y = 16,67 + 0,063x$	528,26
		100	8	2	20		
		1000	2	8	80		
S a l	2	10	8	2	20	$y = 21,67 + 0,058x$	483,50
		100	7	3	30		
		1000	2	8	80		
a l m	3	10	9	1	10	$y = 31,67 + 0,040x$	452,67
		100	4	6	60		
		1000	3	7	70		
		Blanko	10	0	0		

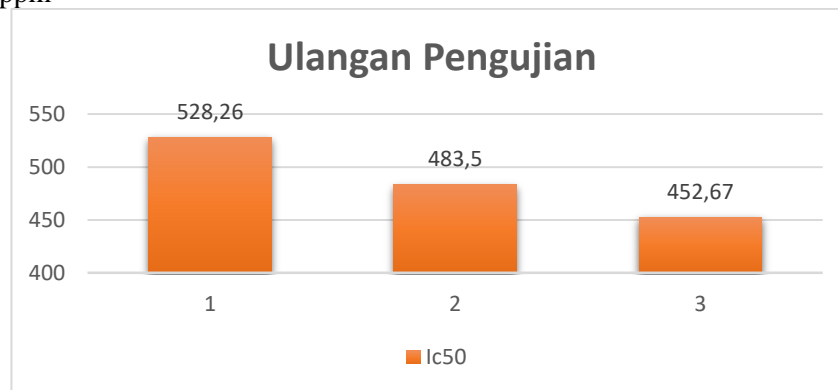
Perhitungan Pengujian BSLT

$$y = a + bx$$

$$Ic-50 = \frac{50 - a}{b}$$

- $Y = 16,677 + 0,0631X$
 $Ic-50 = \frac{50 - 16,677}{0,0631} = 452,67 \text{ ppm}$
- $Y = 21,667 + 0,0586X$
 $Ic-50 = \frac{50 - 21,667}{0,0586} = 483,50 \text{ ppm}$
- $Y = 31,667 + 0,0405X$
 $Ic-50 = \frac{50 - 31,667}{0,0405}$

= 452,67 ppm



Gambar 3. Grafik. Ulangan Pengujian BSLT

Uji Toksisitas metode BSLT

Uji toksisitas metode BSLT merupakan uji toksisitas akut menggunakan hewan uji berupa larva udang *Artemia salina L.* dan termasuk dalam uji bioassay sederhana. Semakin banyak larva udang yang mati, maka bahan aktif tersebut semakin toksik. Tingkat toksisitas senyawa aktif pada contoh dinyatakan dalam Ic-50 yaitu dosis tunggal yang secara statistik diharapkan dapat membunuh 50% hewan uji.

Adapun siklus hidup dari *Artemia salina Leach*, dimulai dari kista atau telur, kemudian menjadi embrio. Embrio ini masih akan melekat pada kulit kista. Setelah menjadi embrio, dia akan menjadi nauplii. Nauplii inilah yang berenang bebas dan memulai hidupnya dan dalam fase ini mulai mencari makanan untuk dirinya sendiri. Setelah itu, menjadi Artemia dewasa. Setelah dewasa, Artemia jantan dan Artemia betina bertemu dan mengalami perkembangbiakan dan lahirlah kembali kista ataupun telur. Alasan digunakannya larva udang dalam percobaan ini adalah karena larva udang merupakan general bioassay sehingga semua zat dapat masuk menembus dinding sel larva tersebut.

Uji hayati pendahuluan secara BSLT Terhadap ekstrak metanol Daun Salam, Pengerjaan dimulai dengan penetasan telur *Artemia salina Leach*. Setelah 24 jam telur yang sudah menetas menjadi nauplii dipindahkan ke tempat lain, 24 jam setelah itu nauplii tersebut sudah dapat digunakan sebagai hewan uji. Pada uji toksisitas metode BSLT ini digunakan ekstrak daun salam dengan konsentrasi yang berbeda-beda, yaitu mulai dari 10 µg/mL, 100 µg/mL, sampai 1000 µg/mL. Variasi konsentrasi ini dibuat dengan tujuan untuk membandingkan toksisitas dan efek toksik yang ditimbulkan masing-masing konsentrasi tersebut. Setelah itu, untuk melihat pada konsentrasi berapakah larva udang mengalami IC₅₀. Dan air laut

sebagai kontrol dimaksudkan untuk melihat respon kematian dari sampel dan bukan dari laut. Percobaan diulang sebanyak tiga kali (triplo) agar didapat data statistik yang baik sehingga dapat dihitung dari data statistik tersebut.

Suatu ekstrak dianggap sangat toksik bila memiliki nilai Ic-50 di bawah 30 ppm, dianggap toksik bila memiliki nilai Ic-50 30-1000 ppm dan dianggap tidak toksik bila nilai Ic-50 di atas 1000 ppm. Semakin kecil harga Ic-50 semakin toksik suatu senyawa. Berdasarkan penelitian yang dilakukan, didapatkan nilai Ic-50 pada ulangan 1, 2 dan 3 secara berturut-turut adalah 528,26 µg/mL, 483,50 µg/mL, dan 452,67 µg/mL. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun salam bersifat toksik terhadap larva udang, karena memiliki nilai Ic-50 dalam rentang 30-1000 ppm.

Kesimpulan

Uji Antibakteri

Hasil Uji antibakteri ini digunakan sampel uji yaitu ekstrak daun salam serta bakteri uji yang digunakan adalah *Bacillus sp.* dan *E.coli*. Prosedur yang digunakan adalah metode difusi agar cakram. Dari hasil pengamatan dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol dari daun salam memiliki aktivitas sebagai antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia Coli* sebesar 10,00 mm dan bakteri *Bacillus sp.* sebesar 16,00 mm.

Uji Toksisitas metode BSLT

Hasil uji toksisitas dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) ekstrak daun salam diperoleh nilai IC-50 pada ulangan 1, 2 dan 3 secara berturut-turut adalah 528,26 µg/mL, 483,50 µg/mL, dan 452,67 µg/mL yang menunjukkan bahwa ekstrak daun salam bersifat toksik terhadap larva udang, karena memiliki nilai Ic-50 dalam rentang 30-1000 ppm.

FKG Unair 2003; (Edisi khusus Timnas III): 81-7.

Daftar Pustaka

- Dalimartha S., 2003, *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 3*, Puspa Swara, Jakarta.
- Davis & Stout. (1971). *Disc Plate Method Of Microbiological Antibiotic Essay*. Journal Of Microbiology. Vol 22 No 4.
- Diastuti H, Warsinah, Purwati. 2009. Aktivitas antikanker ekstrak etanol daun *Rhizopora mucronata* terhadap larva udang *Artemia salina* Leach dan sel Raji. *Molekul*. 4(1):12-20
- Goretti, ML Panggabean. 1984. Teknik Penetasan dan Pemanenan *Artemia salina*. *Oseana*, Volume IX, Nomor 2: 57 - 65. 1984.ISSN 0216 - 1877
- Kanazawa A, Ikeda T and Endo T. 1995. A Novel approach to mode of action of cationic biocides morfological effect on bacterial activity. *J. Appl. Bacteriol*. 78:55- 60.
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putman, J. E., Jacobsen, L. B., Nicols, D. E., and McLaughlin, J. L.,1982. Brine Shrimp : A Comvenient general Bioassay For Active Plant Constituents. *Plant Medica*.
- Naim, R., 2004, *Senyawa Antimikroba dari Tanaman* [Online]. Tersedia: [://www2.kompas.com/kompascetak/0409/15/sorotan/1265264.htm](http://www2.kompas.com/kompascetak/0409/15/sorotan/1265264.htm) (20 febuari 2012).
- Naufalin, R. 2005. Kajian Sifat Antimikroba Ekstrak Bunga Kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) terhadap Berbagai Mikroba Patogen dan Perusak Pangan. Disertasi. Sekolah Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Nurhayati APD, Abdulgani N, Febrianto R. 2006. Uji toksisitas ekstrak *Eucheuma alvarezii* terhadap *Artemia salina* sebagai studi pendahuluan potensi anti kanker. *Akta Kimindo*. 2(1): 41-46
- Sabir A. Pemanfaatan flavonoid di bidang kedokteran gigi. *Maj Ked Gigi (Dent J)*
- Sangi, M.; Runtuwene, M.R.J.; Simbala, H.E.I. dan Makang, V.M.A. Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara. *Chemistry Progress*. 2008, 1,47-53.
- Sibuea, P, 2003, *Antioksidan Senyawa Ajaib Penangkal Penuaan Dini*, Sinar Harapan, Yogyakarta .
- Wilson and Gisvold, 1982, *Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry*, in Deorge, R.F. (Ed), *Buku Teks Wilson dan Gisvold: Kimia Farmasi dan Medisinal Organik*, Edisi VIII, I.B. Lippincott Company, Philadelphia – Toronto, 351, 353.