

## **UJI TOKSISITAS KITOSAN CANGKANG KERANG BULU (*Anadara antiquata*) DENGAN METODE BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BSLT)**

**Nadila Indra Sepvina<sup>1</sup>, Ridwanto Ridwanto<sup>2\*</sup>, Zulmai Rani<sup>3</sup>**

<sup>1,2,3</sup>Program Studi Farmasi, Universitas Muslim Nusantara Al Washliyah

Email<sup>1</sup>: [indrasedvinanadila@gmail.com](mailto:indrasedvinanadila@gmail.com)

\*Email<sup>2</sup>: [rid.fillah66@gmail.com](mailto:rid.fillah66@gmail.com)

Email<sup>3</sup>: [zulmairani22@gmail.com](mailto:zulmairani22@gmail.com)

Artikel diterima: 23 Agustus 2022; Disetujui: 1 Oktober 2022

DOI: <https://doi.org/10.36387/jiis.v7i2.1023>

### **ABSTRAK**

Kerang merupakan salah satu komoditi perikanan Indonesia yang sangat mengalami kenaikan setiap tahunnya, salah satunya yaitu kerang darah dan kerang bulu yang mudah ditemukan di kawasan Asia Tenggara dan Asia Timur. Kerang juga memiliki potensi yang besar sehingga berdampak pada peningkatan limbah yang dibiarkan menumpuk tanpa adanya penanganan terhadap timbulnya pencemaran yang ada pada lingkungan dan masyarakat. Salah satu alternatif pemanfaatan limbah dari kerang bulu agar memiliki nilai guna yang tinggi yaitu diisolasi menjadi kitosan. Tujuan penelitian ini adalah pemanfaatan limbah kerang bulu menjadi kitosan dan mengetahui nilai  $LC_{50}$  dari kitosan yang dihasilkan. Analisis yang dilakukan yaitu uji toksisitas kitosan dari limbah cangkang kerang bulu terhadap larva udang *Artemia salina* Leach dengan metode BSLT dengan berbagai konsentrasi yaitu 100; 250; 500; 750; dan 1000 serta menentukan nilai  $LC_{50}$  dengan analisis probit. Berdasarkan hasil uji toksisitas kitosan dari limbah kerang bulu menunjukkan nilai  $LC_{50}$  sebesar 789,76  $\mu\text{g/mL}$ . Hasil tersebut menunjukkan bahwa kitosan dari limbah kerang bulu tidak mempunyai efek toksik terhadap larva udang *Artemia salina* Leach.

**Kata kunci:** Kerang, Kitosan, Uji toksisitas, BSLT

### **ABSTRACT**

Shellfish is one of Indonesia's fishery commodities which is increasing every year, one of which is blood clams and feather shells, which are easily found in Southeast Asia and East Asia. Shellfish also have great potential so that it has an impact on the increasing waste that is allowed to accumulate without any handling of the pollution that exists in the environment and society. One alternative to the use of waste from feather shells to have a high use value is to isolate it into chitosan. The purpose of this study was to investigate the utilization of shellfish waste into chitosan and to determine the  $LC_{50}$  value of the chitosan produced. The analysis carried out was the toxicity test of chitosan from shellfish shell waste on *Artemia salina* Leach shrimp larvae using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method with various concentrations of 100; 250; 500; 750; and 1000  $\mu\text{g/mL}$ , and determining the value of  $LC_{50}$  by probit analysis. Based on the

*results of the toxicity test of chitosan from shellfish waste, the LC<sub>50</sub> value was µg/mL. These results indicate that chitosan from shellfish waste has no toxic effect on Artemia salina Leach shrimp larvae.*

**Keywords:** Shellfish, Chitosan, Toxicity test, BSLT

## PENDAHULUAN

Kerang bulu (*Anadara antiquata*) merupakan salah satu komoditi penting yang sangat berpotensi untuk dikembangkan (Fauziah, Setiawan, & Fitriyani, 2018). Hal ini disebabkan kerang bulu yang memiliki nilai ekonomis yang tinggi dan memiliki kandungan gizi tinggi yaitu berupa protein, asam amino, asam lemak, vitamin dan mineral. Salah satu kandungan gizi yang khas pada hasil laut adalah asam lemak (Silaban et al., 2021). Limbah cangkang kerang bulu merupakan limbah yang di hasilkan dari industri dan rumah tangga yang belum banyak di manfaatkan oleh masyarakat, banyaknya penikmat kerang tentu dapat dibayangkan berapa banyak limbah yang di hasilkan. Jika dibiarkan begitu saja dapat menimbulkan masalah lingkungan (Masruriati, 2019).

Beberapa peneliti sebelumnya menyatakan bahwa cangkang kerang diperoleh dari industri pengolahan kerang dan konsumsi rumah tangga.

Cangkang kerang bulu merupakan limbah yang belum banyak dimanfaatkan dan masih banyak kita lihat dibuang berserakan begitu saja di halaman rumah warga maupun masyarakat (Ariyanti et al., 2020). Kitosan merupakan suatu polimer yang terdiri dari monomer glukosamin dengan ikatan  $\beta$ -(1-4) (Pradana, Nawatila, & Rachman, 2022). Kitosan terbentuk ketika gugus asetil pada kitin tersubstitusi oleh hidrogen menjadi gugus amina. Secara umum isolasi kitosan terdiri dari pemisahan protein *deproteinisasi*, dan pemisahan mineral *demineralisasi*, pemisahan pigmen *depigmentasi* sedangkan untuk mendapatkan kitosan di lanjutkan dengan proses *deasetilisasi* (Ridwanto et al., 2022).

Kitosan sangat berpotensi untuk di jadikan sebagai bahan pengawet, karena kitosan memiliki polikation bermuatan positif sehingga dapat menghambat pertumbuhan mikroba (Masindi & Herdyastuti, 2017). Kitosan memiliki sifat biokompabilitas,

biodegradasi, dan *bioresorbable* yang baik, serta bersifat non-toksik. Sesuai dengan sifat tersebut maka kitosan digunakan dalam bidang kosmetik, farmasi, serta imobilisasi sel dan enzim (Musiam & Aisyah, 2019).

Uji toksisitas yang dilakukan dengan menggunakan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) ditujukan untuk menentukan potensi suatu senyawa bersifat racun dengan mengetahui tingkat toksisitasnya. BSLT merupakan salah satu metode yang banyak digunakan untuk uji toksisitas dengan menggunakan hewan uji larva *Artemia salina* Leach (Rani et al., 2022). Uji toksisitas dilakukan untuk mengetahui adanya efek toksik dalam penggunaan suatu senyawa. Uji toksisitas merupakan uji untuk mengetahui kemampuan racun yang dapat menimbulkan kerusakan ketika masuk ke dalam tubuh dan organ yang rentan terhadapnya (Nurhayati et al., 2006).

Beberapa penelitian tentang kitosan, yaitu kulit udang windu di peroleh nilai  $LC_{50}$  yaitu 4897,79  $\mu\text{g/ml}$  yang membuktikan bahwa kitosan tidak bersifat toksik pada *Artemia salina* Leach (Saragih et al.,

2022). Uji toksisitas dilakukan dengan metode BSLT yang ditunjukkan untuk mengetahui potensi suatu senyawa bersifat racun dengan mengetahui tingkat toksisitasnya dengan menentukan nilai toksisitas menggunakan *Lethal Concentration* ( $LC_{50}$ ) (Djohari, Efendi, Rahmawati, Husnawati, & Aryani, 2022).

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui tingkat toksisitas kitosan cangkang kerang bulu (*Anadara antiquata*) menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* terhadap larva *Artemia salina*.

## **METODE PENELITIAN**

### **Alat dan Bahan**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah beaker glass, magnetic stirrer, hot plate, oven, gelas ukur, batang pengaduk, pH meter, tanur, desikator, cawan porselin, kertas saring, corong, timbangan analitik, gunting. Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah telur *Artemia salina* Leach, garam dapur, ragi sebagai makanan larva udang, larutan NaOH, NaOCl 0,315%, larutan HCl, asam asetat 2%, aquadest.

### **Prosedur penelitian**

### **Pengolahan Sampel**

Limbah cangkang kerang bulu (*Anadara Antiquata*) yang diambil di daerah Tanjung Balai, Kabupaten Asahan. Bagian yang digunakan yaitu cangkang pada kerang bulu.

### **Deproteinasi**

Serbuk cangkang hasil dari ayakan di reaksikan dengan menggunakan NaOH 3.5% dalam gelas beaker dengan perbandingan 1:10 (b/v), dipanaskan pada suhu 90°C selama 1 jam menggunakan magnetic stirrer lalu didinginkan. Selanjutnya serbuk cangkang disaring menggunakan kertas saring dan dinetralkan dengan aquades, kemudian di keringkan dalam oven pada suhu 60°C selama 4 jam. Residu yang diperoleh kemudian didinginkan dalam desikator lalu ditimbang (Nur et al., 2019).

### **Demineralisasi**

Serbuk cangkang hasil deproteinasi direaksikan dengan HCl 2 N dalam gelas beaker dengan perbandingan 1:5 (b/v) menggunakan magnetic stirrer selama 60 menit pada suhu 90°C. Selanjutnya serbuk cangkang disaring dan dinetralkan dengan aquades. Kemudian dikeringkan di oven pada suhu 60°C selama 4 jam.

Residu yang diperoleh kemudian didinginkan dalam desikator lalu ditimbang (Nur et al., 2019).

### **Depigmentasi**

Serbuk cangkang hasil demineralisasi direaksikan dengan NaOCl 4% dalam gelas beaker dengan perbandingan 1:10 (b/v) selama 60 menit pada suhu ruang. Serbuk cangkang kemudian disaring dan dinetralkan dengan aquades. Kemudian di keringkan di oven pada suhu 60°C selama 4 jam. Residu yang diperoleh kemudian didinginkan dalam desikator lalu ditimbang (Nur et al., 2019).

### **Deasetilasi**

Serbuk cangkang hasil depigmentasi direaksikan dengan NaOH 50% dalam gelas beaker dengan perbandingan 1:20 (b/v) selama 1 jam pada suhu 100°C. Setelah suhu dingin, di saring dan di netralkan dengan aquades. Hasil padatan di keringkan dengan oven pada suhu 100°C selama 80 menit hingga menjadi serbuk. Residu yang diperoleh kemudian didinginkan dalam desikator lalu ditimbang (Nur et al., 2019).

## Uji Toksisitas

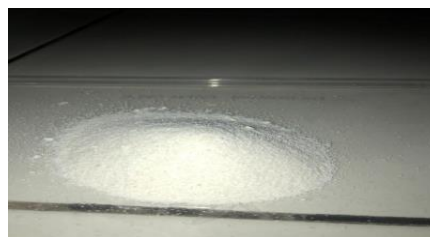
### Penetasan *Artemia Salina Leach*

Penetasan telur *Artemia Salina Leach* di lakukan di dalam air dengan kandungan garam (air laut) sehingga dalam penelitian ini di gunakan air yang dapat di tambahkan dengan garam laut. Sebanyak 2 g telur *Artemia Salina Leach* di masukkan kedalam air laut buatan serta di tambahkan cahaya hingga telur menetas selama 48 jam (Ersalina & Ary, 2021).

### Persiapan Larutan Uji

Persiapan larutan uji dilakukan dengan membuat larutan dengan konsentrasi 100; 250; 500; 750 dan 1000 µg/mL, dan 1 vial digunakan untuk blanko. Masing-masing dilakukan dengan tiga kali pengulangan. Larutan induk dibuat dengan menimbang 0,5 g kitosan kemudian dilarutkan dengan 0.1 ml asam asetat dan dicukupkan 100 ml dengan air laut, kemudian dipanaskan pada hotplate sampai kitosan larut sempurna. Setelah itu masing-masing vial dimasukkan larutan yang sudah di buat dengan masing-masing konsentrasi dan siap untuk di uji.

## Uji BSLT Kitosan Kerang Buluh.



**Gambar 1.** Kitosan Kerang Buluh

Pada masing-masing vial dimasukkan sampel yang sudah di ketahui konsentrasinya kemudian di tambahkan 1 ml air laut dan 10 ekor larva (*naupli*) yang berumur 48 jam, sebagai makanannya di tambah 1 tetes suspensi ragi (3 mg dalam 10 ml air laut). Semua vial uji kemudian di simpan di tempat yang cukup mendapatkan sinar lampu. Setelah 24 jam di lakukan pengamatan terhadap jumlahlarva yang mati. Untuk setiap sampel kontrol di lakukan pengulangan sebanyak 3 kali.

### Analisis Data

Efek toksisitas dapat di tentukan dengan melihat besarnya nilai  $LC_{50}$  yang dapat mematikan larva *Artemia salina Leach* sampai 50% dan di lakukan perhitungan dengan analisis probit, efek toksisitas dapat di analisis dengan persen kematian (Andini et al., 2021).

$$y = ax + b$$

Keterangan:

y = nilai probit

a = konsentrasi regresi

x = logaritma<sub>10</sub> konsentrasi uji

b = kemiringan regresi

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

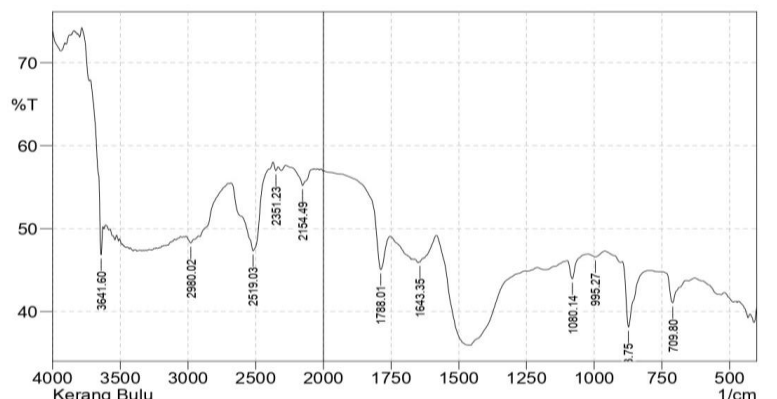
### **Hasil Isolasi Kitosan Kerang Darah**

Proses deproteinasi dilakukan untuk menghilangkan protein yang terdapat di dalam serbuk cangkang kerang bulu. Pada tahap ini protein yang terkandung dalam cangkangkerang bulu dalam suasana basa sehingga protein yang terikat secara kovalen pada gugus fungsi kitin akan terpisah. Proses demineralisasi yang telah dilakukan, proses pemisahan mineral ditandai dengan terbentuknya CO<sub>2</sub> berupa gelembung udara pada saat larutan HCl ditambahkan kedalam sampel, sehingga penambahan HCl dilakukan secara bertahap agar sampel tidak meluap. Proses depigmentasi kerang bulu berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, terlepasnya pigmen warna yang terkandung dalam sampel ditandai dengan adanya perubahan warna serbuk cangkang kerang bulu yang semula berwarna abu-abu menjadi putih. Proses deasetilasi merupa-

kan persentase hilangnya gugus asetil dari kitin menghasilkan kitosan. Proses ini menggunakan NaOH 50% yang mampu memutus ikatan gugus karboksil dengan atom nitrogen pada kitin.

### **Pengujian Kemurnian Kitosan Isolasi Menggunakan FTIR**

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, pada hasil uji kemurnian kitosan cangkang kerang bulu dari isolasi menggunakan spektrofotometri inframerah menunjukkan adanya serapan pada bilangan gelombang 3750-3000 cm<sup>-1</sup> (renggang O-H dan N-H amina) yaitu 3641,60 cm<sup>-1</sup>. Adanya serapan pada bilangan gelombang 2400-2100 cm<sup>-1</sup> (renggang -C≡C, C≡N) yaitu 2351,23 cm<sup>-1</sup> dan 2154,49 cm<sup>-1</sup>. Selanjutnya adanya serapan pada bilangan gelombang 1675-1500 cm<sup>-1</sup> (renggang C=C aromatik dan alifatik, C=N) yaitu 1643,35 cm<sup>-1</sup>. Serapan pada bilangan gelombang 1250-1000 cm<sup>-1</sup> (vibrasi ulur CN) yaitu 1080,14 cm<sup>-1</sup>. Kualitas kitosan dapat diketahui dari besarnya persen derajat deasetilasi. Pada penelitian ini diperoleh derajat deasetilasi sebesar 90% pada kitosan kerang bulu.



**Gambar 2.** Hasil Analisa FTIR Kitosan Kerang Bulu (*Anadara antiquata*)

### Hasil Uji Toksisitas Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test

**Tabel 1.** Persentasi Mortalitas Kerang Bulu

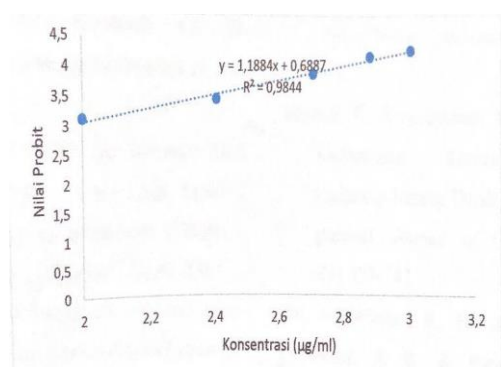
No	Konsentrasi Uji ( $\mu\text{g/mL}$ )	Log Konsentrasi	PersenKematian (%)	Nilai Probit
1	Blanko	0	0%	-
2	100	2	3.3%	3.12
3	250	2.3979	6.6%	3.45
4	500	2.6990	13.3%	3.87
5	750	2.8751	20%	4.16
6	1000	3	23,3%	4.26

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dari kematian larva berbeda-beda dari konsentrasi. Dari tabel 1 dapat di ketahui persentase mortalitas dari konsentrasi yang paling rendah 100  $\mu\text{g/mL}$  dan konsentrasi paling tinggi terdapat pada konsentrasi 1000  $\mu\text{g/mL}$  mempunyai persentase yaitu 23,33 %. Sedangkan pada blanko juga tidak memberikan mortalitas terhadap larva. Hal ini sesuai dengan teori, bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak semakin banyak jumlah larva yang mati. Selain itu dari persentase kematian

larva tersebut dapat di simpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak menghasilkan jumlah kematian larva yang semakin tinggi pula.

Data yang diperoleh pada, kemudian di analisis dengan menggunakan tabel analisis probit untuk mendapat nilai  $LC_{50}$ . Nilai  $LC_{50}$  dapat dihitung dengan persamaan regresi garis lurus tersebut dengan memasukkan nilai (probit 50% kematian hewan uji) sebagai y sehingga di hasilkan x sebagai nilai log konsentrasi. Antilog nilai x terse-

but merupakan nilai  $LC_{50}$ . Parameter yang di tunjukkan untuk mengetahui adanya aktivitas biologi pada senyawa terhadap hewan uji ialah dengan menghitung jumlah larva yang mati karena pengaruh pemberian senyawa dengan konsentrasi yang telah ditentukan. Setelah dilakukan analisis probit dapat diketahui grafik persamaan garis lurus  $Y = 1,1884x + 0,6887$  sebagai berikut:



**Gambar 3.** Grafik data pengamatan kematian larva udang menggunakan analisa probit

Antilog nilai  $x$  menjadi parameter dari  $LC_{50}$  yang menunjukkan adanya aktivitas biologis pada suatu senyawa terhadap hewan uji yaitu dengan menghitung jumlah larva yang mati karena pengaruh pemberian senyawa yang telah ditentukan. Analisis probit dari kitosan cangkang kerang bulu diperoleh grafik persamaan regresi

$y = 1,1884x + 0,6887$ . Nilai probit 50% hewan uji diperoleh nilai  $x$  yaitu 2,8975 maka nilai  $LC_{50}$  antilog yaitu 789,76 µg/ml.

Suatu senyawa dikatakan bersifat toksik apabila nilai  $LC_{50} < 750$  µg/ml, dan apabila senyawa memiliki nilai  $LC_{50} > 750$  µg/ml, maka senyawa tersebut tidak berpotensi toksik. Nilai  $LC_{50}$  yang tinggi dan bersifat tidak toksik ini dikarenakan rendahnya mortalitas larva *artemia salina* leach pada setiap konsentrasi, yaitu pada konsentrasi ini mortalitas tidak mencapai sebesar 50% dari jumlah larva yang diujikan.

## KESIMPULAN

Hasil kitosan cangkang kerang bulu (*Anadara antiquata*) di dapat % Derajat Deasetilasinya sebesar 90%. Hasil dinyatakan memenuhi persyaratan Standart Nasional Indonesia yaitu % DD kitosan  $\geq 75\%$  Berdasarkan hasil uji toksisitas kitosan dari limbah cangkang kerang bulu dengan metode BSLT menunjukkan bahwa kitosan dari limbah cangkang kerang bulu tidak memiliki efek toksik terhadap larva udang *Artemia salina* Leach.

## DAFTAR PUSTAKA

- Andini, A., Prayekti, E., Triasmoro, F., & Kamaliyah, I. N. 2021. Pengaruh Penggunaan Jenis Pelarut dalam Uji Sitotoksitas Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) pada Wound Dressing Kolagen-Kitosan. *Al-Kimiya*, 8(1), 15–20.
- Ariyanti, A., Masruriati, E., Imadahidayah, T., & Sulistia ningsih, E. N. 2020. Pemanfaatan kitosan dari cangkang kerang bulu (*Anadara antiquata*) sebagai pengawet ikan pari (*Dasyatis sp.*) dan udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Riset Informasi Kesehatan*, 9(1), 12.
- Djohari, M., Efendi, T. T., Rahmawati, N., Husnawati, & Aryani, F. 2022. Uji Toksisitas Akut Dan Tertunda Fraksi Butanol Daun Akar Kaik-Kaik (*Uncaria cordata* (Lour) Merr.) Pada Mencit Putih (*Mus musculus* L.). *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 203-211.
- Ersalina, N., & Ary, A. 2021. Uji Toksisitas Dengan Metode BSLT Pada Nanopartikel Kombinasi Obat Cisplatin, Bovine Serum Albumin Dan Asam Folat. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 69-78.
- Fauziah, Y., Setiawan, M. A., & Fitriyani. 2018. Uji Daya Hambat Ekstrak Kerang Tahu (*Meretrix meretrix*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 19-27.
- Masindi, T., & Herdyastuti, N. 2017. Karakterisasi Kitosan Dari Cangkang Kerang Darah (*Anadara granosa*). *Journal of Chemistry*, 6 (3), 137–142.
- Masruriati, E. 2019 .Perbandingan Pengawet Kitosan Dari Cangkang Kerang Bulu (*Anadara antiquata*) Sebagai Pengawet Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) Dan Ikan Pari (*Dasyatis sp.*). *Jurnal Farmasi (Journal of Pharmacy)*, 1 (1), 23–28.
- Musiam, S., & Aisyah, N. 2019. Sintesis Nanokitosan Dari Limbah Cangkang Haliling (*Filopaludina javanica*) Kalimantan Selatan. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina* , 432-439.
- Nur, N., Windari, R., Fauziah, S. I., Juniar, A. E., & Purnomo, T. (2019). Biobakterisida Kitosan Cangkang Kerang Darah sebagai Anti Bakteri *Ralstonia solanacearum* Biobactericide Chitosan Blood Shell as an Anti Bacterial *Ralstonia solanacearum*. *Microbiology*, 16, 280–284.
- Nurhayati, A. P. D., Abdulgani, N., & Febrianto, R. 2006. Uji Toksiistas Ekstrak *Eucaema alvarezii* terhadap *Artemia salina* Leach Studi Pendahuluan Potensi Antikanker. *Akta Kimindo*, 2 (1), 41–46.
- Pradana, A. T., Nawatila, R., & Rachman, M. R. 2022. Karakteristik Fisik Mikropartikel Kuersetin Dengan Kombinasi Kitosan-Natrium Tripolifosfat Menggunakan Metode Orifice

- Ionic Gelation. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 133-142.
- Rani, Z, Ridwanto, Dikki, M., Rafita, Y., Ani, S., Ricky, A, S., and Reza, I., 2022. "Cytotoxicity Test of Cocoa Leaf Ethanol Extract (*Theobroma Cacao* L.) With Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) Method." *Indonesian Journal of Chemical Science and Technology (IJCST)* 5 (2): 80–87.
- Ridwanto., Gabena, I, D., Anny, S, D. 2020. *Isolasi Dan Penggunaan Kitosan Alami Sebagai Pengawet Buah Strawberry*. Prosiding Seminar Nasional Hasil Penelitian UMN AW. 404–503.
- Ridwanto, Daulay, A. S., & Gurning, K. 2022. Isolation and Characterization of Chitosan From Sea and Freshwater Waste, North Sumatera Province, Indonesia. *Rasayan Journal of Chemistry*, 15(2), 780–785.
- Saragih, D. S. *et al.* 2022. Toxicity Test of Windu Shrimp (*Penaeus monodon*) Skin Chitosan With Brine Shrimp Lethality Test Method. *Indonesian Journal of Chemical Science and Technology*, 05 (1), pp. 4–6.
- Silaban, R., Silubun, D. T., & Jamlean, A. A. R. 2021. Aspek Ekologi Dan Pertumbuhan Kerang Bulu (*Anadara antiquata*) Di Perairan Letman, Kabupaten Maluku Tenggara. *Jurnal Kelautan: Indonesian Journal of Marine Science and Technology*, 14 (2), 120–131.