

UJI TOKSISITAS DAUN BELUNTAS (*Pluchea Indica* Less), DAUN KEMANGI (*Ocimum Basilicum* L.), KULIT BIJI JENGKOL (*Archidendron Pauciflorum*) DAN KULIT RIMPANG KENCUR (*Kaempferia Galanga* Linn.) DENGAN METODE BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BSLT)

Antonius Padua Ratu^{1*}, Wirasti²

¹Sekolah Tinggi Teknologi Industri dan Farmasi Bogor-16151

²STIKES Muhammadiyah Pekajangan Pekalongan

*Email: antoniuspaduaratu@gmail.com

ABSTRAK

Metode BSLT merupakan salah satu cara yang cepat dan murah untuk skrining toksisitas dari ekstrak tanaman dengan menggunakan hewan laut yaitu larva udang *Artemia salina* Leach. Metode ini sering dikaitkan dengan metode penapisan senyawa antikanker. Berdasarkan alasan tersebut, maka uji ini sangat tepat digunakan dalam mengawali penelitian bahan alam. Selain BSLT, juga dilakukan penapisan fitokimia. Hasil penelitian dengan metode BSLT dari ekstrak etanol daun beluntas, kulit biji jengkol, daun kemangi, dan kulit rimpang kencur menunjukkan LC₅₀ masing-masing sebesar 80,33 mg/L, 39,81 mg/L, 46,42 mg/L, dan kurang dari 10 mg/L. Hasil penapisan fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun beluntas dan kemangi terdapat flavonid, ekstrak etanol kulit biji jengkol dan kulit rimpang kencur terdapat alkaloid. Ekstrak etanol kulit rimpang kencur menunjukkan aktivitas tertinggi, maka perlu dilakukan isolasi dan identifikasi sehingga diperoleh senyawa aktif.

Kata Kunci: *Artemia salina* Leach; BSLT; LC₅₀

TOXICITY TEST OF BELUNTAS LEAF (*Pluchea Indica* Less), BASILICUM LEAF (*Ocimum Basilicum* L.), JENGKOL SEED LEAVES (*Archidendron Pauciflorum*) AND KENCUR (*Kaempferia Galanga* Linn.) WITH BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BSLT) METHOD

ABSTRACT

BSLT method is one of the fastest and cheapest ways to screen for toxicity of plant extract by using marine animals namely shrimp larvae *Artemia salina* Leach. This method is often associated with a method of screening anticancer compounds. Based on these reasons, this test is very appropriate to be used in initiating the research of natural materials. Besides BSLT, phytochemical screening is also performed. The result of the research using BSLT method from ethanol extract of beluntas leaves, jengkol seed skin, kemangi leaves, and kencur rhizome skin showed LC₅₀ of 80.33 mg/L, 39.81mg/L, 46.42 mg/L and less of 10 mg/L each. The results of phytochemical screening showed that ethanol extract of beluntas and kemangi leaves contained flavonid, ethanol extract of jengkol seed skin and kencur rhizome skin contained alkaloids. The ethanol extract of the skin of kencur rhizome shows the highest activity, it is necessary to isolate and identify so that the active compound is obtained.

Keywords: *Artemia salina* Leach; BSLT; LC₅₀

Penulis korespondensi:

Antonius Padua Ratu

Sekolah Tinggi Teknologi Industri dan Farmasi Bogor

Email: antoniuspaduaratu@gmail.com

PENDAHULUAN

Selama 30 tahun terakhir, *Brine Shrimp Assay* telah banyak digunakan untuk menguji toksisitas berbagai macam produk tanaman. *Artemia salina* paling banyak digunakan dari spesies *Artemia*, yang diperkirakan mewakili lebih dari 90% studi dimana *Artemia* digunakan sebagai organisme uji eksperimental [1]. *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) diusulkan dan dikembangkan oleh Michael et al. (1956) dan kemudian diadaptasi oleh Meyer et al. (1982) [2,3].

Metode BSLT merupakan salah satu cara yang cepat dan murah untuk skrining toksisitas dari ekstrak tanaman dengan menggunakan hewan laut yaitu larva udang *Artemia salina* Leach [3]. Uji toksisitas dengan metode BSLT ini memiliki spektrum aktivitas farmakologi yang luas, prosedurnya sederhana, cepat dan tidak membutuhkan biaya yang besar, serta hasilnya dapat dipercaya. Metode pengujian ini didasarkan pada bahan senyawa aktif dari tumbuhan yang bersifat toksik dan mampu membunuh larva *A. salina* Leach. dan dapat digunakan sebagai uji praskrining aktivitas antikanker [3]. Dengan alasan-alasan tersebut, maka uji ini sangat tepat digunakan dalam mengawali penelitian bahan alam [3,4].

Penelitian ini dilakukan untuk *skrining* toksisitas daun kemangi, daun beluntas, kulit biji jengkol dan kulit rimpang kencur terhadap larva udang *Artemia salina* Leach melalui uji BSLT sebagai uji pendahuluan untuk mengetahui aktivitas senyawa dari simplisia diatas..

METODE

Penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimen dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) [3].

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah simplisia daun kemangi, daun beluntas, kulit buah jengkol, kulit rimpang kencur; etanol 96% ; akuades; NaCl; larva udang *Artemia salina* Leach

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik, *rotary vacuum evaporator* dan peralatan gelas.

Pembuatan Ekstrak

Pada penelitian ini, proses ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi empat simplisia pelarut etanol 96%. Filtrat yang diperoleh diuapkan dan dipekatkan untuk dihitung rendemennya.

Penapisan Fitokimia

Pengujian fitokimia ekstrak etanol yang diperoleh, selanjutnya dilakukan penapisan fitokimia untuk mengetahui kandungan senyawanya. Pengujian yang dilakukan meliputi uji alkaloid, uji flavonoid, uji saponin, dan uji terpenoid

Penyiapan Larva *Artemia salina* Leach

Telur udang ditetaskan 2 hari sebelum dilakukan uji. Disiapkan bejana untuk penetasan telur udang. Penetasan telur dilakukan dengan cara merendam sebanyak 2,5 mg telur dalam wadah yang berisi air laut sebanyak 250 mL dibawah cahaya lampu 25 watt dan dilengkapi dengan aerator. Telur akan menetas dan menjadi larva setelah 24 jam. Larva *Artemia salina* Leach yang baik digunakan untuk uji BSLT yaitu yang berumur \pm 48 jam dan siap digunakan sebagai target uji toksisitas. Sebab jika lebih dari 48 jam dikhawatirkan kematian *Artemia salina* Leach bukan disebabkan toksisitas ekstrak melainkan oleh terbatasnya persediaan makanan. Larva udang dipisahkan dari telurnya dengan dipipet ke dalam beaker/vial yang berisi air laut.

Pembuatan Sampel Uji

Konsentrasi larutan uji untuk BSLT adalah 1000 mg/L, 100 mg/L, 10 mg/mL dan 0 mg/L (sebagai kontrol). Untuk pembuatan larutan stok, ekstrak kental ditimbang sebanyak 20 mg, kemudian dilarutkan kedalam air laut sebanyak 10 mL, hingga diperoleh konsentrasi larutan stok 2000 mg/L. Dari larutan stok ini, selanjutnya dibuat lagi konsentrasi 1000 mg/L, 100 mg/L, 10 mg/mL dan 0 mg/L.

Pelaksanaan Uji Toksisitas

Uji toksisitas pada masing-masing ekstrak sampel. Disiapkan wadah untuk pengujian, untuk masing-masing konsentrasi ekstrak. Pengujian toksisitas ekstrak membutuhkan 3 wadah dan 1 wadah sebagai kontrol. Selanjutnya pada tiap konsentrasi larutan dimasukkan 20

ekor larva *Artemia salina* Leach. Pengamatan dilakukan selama 24 jam terhadap kematian larva dimana setiap konsentrasi dilakukan tiga kali pengulangan dan dibandingkan dengan kontrol. Kriteria standar untuk menilai kematian larva udang yaitu bila tidak menunjukkan pergerakan selama pengamatan. Setelah dilakukan pengamatan selama 24 jam kemudian tingkat toksisitas ditentukan dengan menghitung jumlah larva yang mati.

Analisis Data

Nilai LC_{50} ditentukan secara statistik melalui persamaan regresi linier sederhana (sumbu x ditransformasi ke bentuk logaritma [\log konsentrasi]), sedangkan sumbu y adalah % mortalitas) dengan bantuan program Microsoft excel 2007.

Hasil dan Pembahasan

Rendemen Ekstrak

Hasil maserasi simplisia ekstrak etanol daun beluntas, kulit biji jengkol, daun kemangi, dan kulit rimpang kencur dengan pelarut etanol 96% diperoleh rendemen sebesar 9,2%, 7,8%, 13,5%, dan 5,2%. Pemilihan pelarut tersebut bertujuan untuk memperoleh senyawa non polar, semipolar dan polar. Pemilihan maserasi bertujuan untuk memperoleh senyawa yang tidak rusak oleh pemanasan.

Penapisan Fitokimia

Hasil penapisan fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak daun beluntas memiliki kandungan komponen senyawa flavonoid; ekstrak daun kemangi memiliki kandungan komponen senyawa flavonoid dan saponin; ekstrak kulit biji jengkol memiliki kandungan komponen senyawa alkaloid dan kulit rimpang kencur memiliki kandungan komponen senyawa alkaloid dan terpenoid. Penelitian yang dilakukan oleh Cho et al. (2012) yang menunjukkan adanya komponen senyawa flavonoid pada daun beluntas. Penelitian yang dilakukan oleh Sanni et al. (2008) yang menunjukkan adanya komponen senyawa flavonoid dan saponin pada daun kemangi. Penelitian yang dilakukan oleh Muslim et al. (2012) yang menunjukkan adanya komponen senyawa alkaloid pada biji jengkol. Penelitian yang dilakukan oleh Levita et al. (2015)

yang menunjukkan adanya komponen senyawa terpenoid pada rimpang kencur [5,6,7,8].

Hal ini terjadi karena pelarut etanol dan air bersifat polar yang dapat menarik komponen senyawa polar seperti flavonoid, tanin dan saponin serta dapat menarik alkaloid dan terpenoid yang kurang polar. Hasil uji skrining fitokimia ditampilkan pada Tabel 1

Tabel 1. Hasil penapisan fitokimia

Kandungan senyawa	Daun beluntas	Daun kemangi	Kulit biji jengkol	Kulit rimpang kencur
Alkaloida	-	-	-	+
Flavonoida	+	+	-	-
Terpenoid	-	-	+	+
Saponin	-	+	-	-

Pengujian BSLT

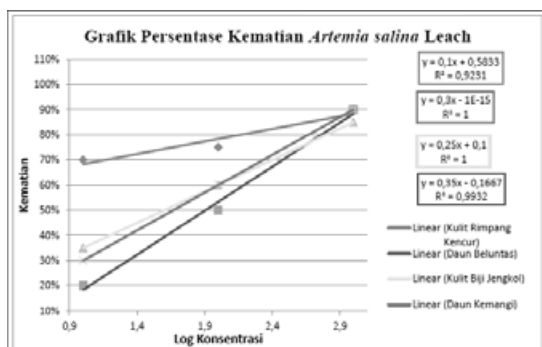
Pengujian aktivitas BSLT dengan menggunakan perhitungan *Lethal Concentration* 50 (LC_{50}). Hasil pengujian aktivitas ekstrak terhadap kematian *Artemia salina* ditunjukkan pada Gambar 1 dan Tabel 2.

Pada penelitian ini, hasil BSLT menunjukkan bahwa metabolit sekunder dalam ekstrak daun beluntas dan kemangi, kulit biji jengkol dan kulit rimpang kencur terbukti secara signifikan mempengaruhi tingkat perkembangbiakan larva udang *Artemia salina* L. setelah masa inkubasi 24 jam dengan toksisitas yang sangat tinggi. Toksisitas metabolit sekunder tanaman berkaitan dengan kemampuan pertahanan diri tanaman tersebut terhadap predator seperti serangga, mikroorganisma, hewan ataupun tanaman predator lainnya. Mekanisme pertahanan diri tersebut kemungkinan dengan jalan melindungi organ target maupun dengan jalan menghambat proses pembelahan sel yang telah terkena mikroba patogen.

Hasil BSLT juga diketahui merupakan suatu metode penapisan untuk pencarian senyawa antikanker dari tanaman. Semakin tinggi tingkat toksisitas metabolit sekunder tanaman, dengan nilai LC_{50} yang semakin kecil, maka semakin potensial tanaman tersebut untuk digunakan dalam pengobatan antikanker. Dengan sangat kecilnya nilai LC_{50} ekstrak uji, dibawah 100 $\mu\text{g/ml}$, maka aktivitas biologi ekstrak uji sebagai

suatu antikanker berpotensi sangat tinggi. Nilai LC_{50} lebih rendah dari 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dianggap mempunyai komponen senyawa bioaktif [3]. BSLT juga menunjukkan efek antijamur, efek pestisida, efek teratogenik, toksisitas terhadap lingkungan dan banyak lagi [9].

Satuan standar yang digunakan adalah LC_{50} untuk menentukan kematian oleh ekstrak sebanyak 50%. Pada penelitian ini ekstrak kulit rimpang kencur mempunyai nilai IC_{50} terkecil yaitu kurang dari 10 mg/mL .



Gambar 1. Presentase Kematian *Artemia salina* L.

Tabel 2. Hasil uji aktivitas ekstrak terhadap kematian *Artemia salina* L.

Ekstrak	Kon-sentrasi (ppm)	Mati	Hidup	% Kematian	LC_{50} (ppm)
Kulit Rimpang Kencur	0	2	18		< 10
	10	16	4	70%	
	100	17	3	75%	
	1000	20	0	90%	
Daun Beluntas	0	2	18		80,33
	10	6	12	20%	
	100	12	8	50%	
	1000	20	0	90%	
Kulit Biji Jengkol	0	3	17		39,81
	10	10	10	35%	
	100	15	5	60%	
	1000	20	0	85%	
Daun Kemangi	0	2	18		46,42
	10	8	12	30%	
	100	14	6	60%	
	1000	20	0	90%	

KESIMPULAN

Ekstrak etanol kulit rimpang kencur menunjukkan nilai LC_{50} kurang dari 10 mg/mL yang dianggap mempunyai potensi antikanker. Untuk itu perlu dilakukan studi lanjut untuk mengetahui komponen senyawa aktif.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Ketua STTIF Bogor yang memberikan fasilitas untuk kelancaran dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1]. Campbell DL, Lawton, LA, Beattie, KA, Codd, GA. Comparative Assessment of the Specificity of the Brine Shrimp and Microtox Assays to Hepatotoxic (Microcystin-LR-Containing) Cyanobacteria. *Environmental Toxicology and Water Quality: An International Journal*. 1994; 9:71-77.
- [2]. Michael, AS, Thompson CG, Abramovitz M. *Artemia salina* as a test-organism for bioassay. *Science*. 1965; 123 : 464.
- [3]. Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE, McLaughlin JL. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Med*. 1982; 45(5):314.
- [4]. Alam G. *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)* sebagai bioassay dalam isolasi senyawa bioaktif dari bahan alam. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. 201; 6(2):432-435.
- [5]. Cho JJ, Cho CL, Kao CL, Chen CM, Tseng CN, Lee YZ, Liao LJ, Hong YR. Crude aqueous extracts of *Pluchea indica* (L.) Less. inhibit proliferation and migration of cancer cells through induction of p53-dependent cell death. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2012; 12:265-276.
- [6]. Sanni S, Onyeyili PA, Sanni FS. Phytochemical Analysis, Elemental Determination and Some in vitro Antibacterial Activity of *Ocimum basilicum* L., Leaf Extract. *Research Journal of Phytochemistry*. 2008; 2(2): 77-83.
- [7]. Muslim NS, Nassar ZD, Aisha AFA, Shafaei A, Idris N, Majid AMSA, Ismail Z. Antiangiogenesis and antioxidant activity of ethanol extracts of *Pithecellobium jiringa*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2012; 12:210-220.
- [8]. Levita J, Wijaya LK, Celcilia S, Mutakin M. Inhibitory Activity of *Kaempferia galanga* and *Hibiscus sabdariffa* on the Rate of PGH_2 Formation. *Journal of Applied Sciences*. 2015; 15(7):1032-1036.

- [9]. Asaduzzaman M, Rana MS, Hasan SMR, Hossain MM, Das, N. Cytotoxic (Brine Shrimp Lethality Bioassay) and Antioxidant Investigation *Barringtonia acutangula* (L). *International Journal of Pharma Sciences and Research*. 2015; 6(8):1179-1185.