

Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Daun Keji Beling (*Strobilanthes crispus* Bl.), Batang dan Bunga Jarak Tintir (*Jatropha multifida* L.) terhadap Larva *Artemia salina* Leach dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

Rini Hamsidi*, Wahyuni, Asrul Sani,

Jurusan Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Halu Oleo Kendari 93232

Abstract

Research on the acute toxicity test of methanol extracts of keji beling leaves (*Strobilanthes crispus* Bl.), stems and flowers of jarak tintir (*Jatropha multifida* L.) against *Artemia salina* Leach larvae using *Brine Shrimp Lethality Test* method (BSLT) had been carried out. The purpose of this study was to determine the potency of acute toxicity of methanol extract which were shown by LC_{50} value. In this research, the sample methanol were obtained from a previous research. Acute toxicity tests was conducted to determine the LC_{50} values of plant extracts according to the method of *Brine Shrimp Lethality Test*. Results of the research showed methanol extract of keji beling leaves were not toxic with LC_{50} value 4427,95 $\mu\text{g/mL}$, meanwhile stems and flowers of jarak tintir had low toxicity with LC_{50} 225,09 and 253,26 $\mu\text{g/mL}$, respectively. The value of LC_{50} influenced by the content of secondary metabolites in plants.

Keywords : Acute toxicity test, *Brine Shrimp Lethality Test*, LC_{50} , *J. multifida*, *S. crispus*

1. Pendahuluan

Pertambahan jumlah penduduk dunia yang sangat pesat terutama di negara-negara berkembang dapat menimbulkan masalah kesehatan. Oleh karena itu kebutuhan akan suatu obat yang dapat mencegah atau mengobati dari penyakit tertentu mutlak diperlukan keberadaannya [1].

Masyarakat Indonesia telah lama mengenal dan menggunakan obat-obatan alami atau yang dikenal dengan obat tradisional. Dari sekitar 30.000 spesies tumbuhan di Indonesia, 940 diantaranya adalah tanaman obat [2]. Obat tradisional merupakan pilihan pengobatan utama yang kini makin diminati, terlebih lagi dengan kesadaran untuk kembali ke alam. Obat tradisional lebih mudah diterima oleh masyarakat karena telah digunakan secara turun-temurun, murah dan mudah diperoleh. Namun hal ini tidak berarti tanaman obat atau obat tradisional tidak memiliki efek samping yang merugikan, bila penggunaannya kurang tepat.

Saat ini terdapat berbagai macam obat tradisional yang berasal dari tanaman dan telah banyak diteliti kandungan kimia dan khasiatnya. Namun masih banyak

tanaman yang belum diketahui kadar toksisitasnya sehingga perlu diteliti lebih lanjut [3].

Beberapa tanaman obat yang sering digunakan masyarakat untuk menyembuhkan penyakit diantaranya keji beling (*Strobilanthes crispus* Bl.) dan jarak tintir (*Jatropha multifida* L.). Tanaman-tanaman tersebut digunakan langsung maupun diolah secara tradisional untuk mengobati berbagai penyakit diantaranya sebagai pengobatan untuk peluruh batu ginjal, diabetes melitus, maag, laksatif, penurun panas, anti inflamasi dan menghambat pendarahan. Penelitian Jefrianto (2014), ekstrak metanol daun tanaman keji beling (*Strobilanthes crispus*) menunjukkan adanya respon hambat terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi* YCTC interpretasi sedang dengan nilai hambat sebesar 5 mm. Ekstrak metanol batang dan bunga jarak tintir (*Jatropha multifida* L.) menunjukkan adanya aktifitas antioksidan sebesar 55.83 $\mu\text{g/mL}$ dan 59.41 $\mu\text{g/mL}$ [5].

Pada penelitian ini akan dilakukan uji toksisitas akut ekstrak metanol daun keji beling (*Strobilanthes crispus* Bl.), batang dan bunga jarak tintir (*Jatropha multifida* L.) terhadap *Artemia salina* L. dengan metode

* KBK Sains Farmasi, Fakultas Farmasi UHO
Email : rini.hamsidi@yahoo.com

Brine Shrimp lethality Test (BSLT). Metode ini sering digunakan sebagai skrining awal terhadap senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak tanaman karena relatif murah, cepat dan hasilnya dapat dipercaya dan merupakan salah satu uji praklinik dari serangkaian penelitian berkesinambungan terkait efek farmakologi, farmakokinetik, zat khasiat, penetapan mutu dan keamanan bahan baku ekstrak yang digunakan dalam menunjang kesehatan.

Berdasarkan uraian di atas, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang uji ketoksikan akut ekstrak metanol daun keji beling (*Strobilanthes crispus* Bl.), batang dan bunga jarak tintir (*Jatropha multifida* L.) terhadap *Artemia salina* L dengan metode *Brine Shrimp lethality Test* (BSLT).

2. Bahan dan Metode

2.1 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan antara lain gelas kimia (Pyrex[®]), gelas ukur (Pyrex[®]), Blender (Phillips[®]), mikropipet (Rainin pipet lite SL-100[®] dan SL-1000[®]), hot plate (Schott Instruments[®]), Vortex (Maxi Mix II Barnstead Thermolyne Type 37600 Mixer[®]), botol vial, kertas saring (Watmann[®]), neraca analitik (Precisa XB 4200 C[®], Precisa XT 220 A[®]), aerator, desikator (Pyrex[®]). Bahan-bahan yang digunakan adalah ekstrak metanol daun keji beling (*Strobilanthes crispus* Bl.), bunga dan batang jarak tintir (*Jatropha multifida* L.), air mineral, metanol teknis (Merck[®]), DMSO (Fermipan[®]), telur *Artemia salina* L. (Great Salt Lake[®]), tepung jagung, dan NaCl (Merck)

2.2 Uji Toksisitas dengan Metode BSLT

Dibuat larutan stok (induk) sebesar 1 % yaitu sebanyak 500 mg sampel dilarutkan dalam 50 mL metanol p.a. Dari Larutan stok 10.000 µg/mL diambil volume tertentu untuk membuat seri konsentrasi sampel sebesar 100 µg/mL, 200 µg/mL, 500 µg/mL, 1000 µg/mL dan 2000 µg/mL. Vial yang berisi larutan uji dikeringkan sampai semua pelarutnya menguap selama beberapa hari pada suhu kamar dalam desikator sehingga tidak berbau pelarut dan dapat ditunjukkan dengan proses pengeringan menghasilkan penimbangan yang konstan dengan bobot selanjutnya ditambahkan DMSO 1 % 1-3 tetes (50-150 µL) termasuk vial kontrol untuk melarutkan sampel kembali jika diperlukan [5], [6]. Vial yang telah diisi sampel ditambahkan air laut buatan 3 mL dan divortex sekitar 30 menit [7], kemudian 10 ekor larva udang *Artemia salina* Leach yang berumur 48 jam dimasukkan ke dalam vial. Satu tetes tepung jagung (0,6 mg/mL) dimasukkan ke dalam setiap vial sebagai makanan *Artemia* lalu ditambahkan air laut buatan sampai tanda batas. Kontrol negatif (blanko) dilakukan dengan cara kerja yang sama tanpa memasukan sampel ekstrak ke dalam vial. Vial-vial tersebut diletakkan di bawah penerangan. Jumlah *Artemia salina* Leach yang mati dalam tiap vial selama 24 jam dihitung dengan cara manual. Kriteria standar untuk menilai kematian larva udang adalah bila larva udang tidak menunjukkan pergerakan selama beberapa detik observasi. Pengamatan dilakukan dengan mengamati pergerakan larva di dalam vial dengan bantuan lup disertai penyinaran cahaya. Jumlah *nauplius* yang mati dihitung dengan mengurangkan jumlah total *nauplius* pada tiap konsentrasi dengan jumlah *nauplius* yang masih hidup [8].

3. Hasil dan Pembahasan

Tabel 1. Hasil perhitungan nilai LC₅₀ masing-masing tanaman

No	Nama Tanaman	Bagian Tanaman	Konsentrasi (µg/mL)	% Mortalitas	LC ₅₀ (µg/mL)
1	Keji Beling (<i>Strobilanthes crispus</i> Bl.)	Daun	0	0 %	4427,95
			500	3 %	
			1000	13 %	
			2000	33 %	
			5000	63 %	
			10000	93 %	
2	Jarak tintir (<i>Jatropha multifida</i> L.)	Batang	0	0 %	253,29
			100	6,7 %	
			200	26,7 %	
			500	56,7 %	
			1000	76,7 %	
			2000	96,7 %	
		Bunga	0	0 %	225,09
			100	10 %	
			200	30 %	
			500	53 %	
			1000	76,7 %	
			2000	96,7 %	

Toksisitas ditentukan dengan melihat harga LC_{50} yang dihitung berdasarkan analisis probit. Ekstrak dikatakan toksik jika memiliki nilai $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/ml}$ (ppm). LC_{50} (Lethal Concentration 50) merupakan konsentrasi zat yang menyebabkan terjadinya kematian pada 50% hewan uji. Parameter yang ditunjukkan untuk mengetahui adanya aktivitas biologi pada suatu senyawa terhadap hewan uji ialah dengan menghitung jumlah larva yang mati karena pengaruh pemberian senyawa dengan dosis atau konsentrasi yang telah ditentukan.

Ekstrak metanol daun keji beling menunjukkan adanya respon hambat terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi* YCTC dengan nilai hambat sedang sebesar 5 mm [9]. Ekstrak metanol batang jarak tintir (*Jatropha multifida* L. menunjukkan adanya aktivitas antioksidan sebesar $55.83 \mu\text{g/mL}$ sedangkan pada ekstrak metanol bunga jarak tintir (*Jatropha multifida* L.) menunjukkan adanya aktivitas antioksidan sebesar $59.41 \mu\text{g/mL}$ [4].

Pengujian toksisitas dimulai dengan mencari satu konsentrasi terkecil yang sudah dapat membunuh hampir semua hewan uji. Untuk menentukan nilai tersebut maka dilakukan trial atau uji orientasi dari 3 sampel yang digunakan. Pengujiannya yaitu dengan menggunakan konsentrasi $5000 \mu\text{g/mL}$, $2000 \mu\text{g/mL}$, dan $1000 \mu\text{g/mL}$ yang diambil dari larutan induk $10.000 \mu\text{g/mL}$ dibuat masing-masing dalam 10 mL. Dari hasil uji orientasi selanjutnya diambil satu konsentrasi terkecil yang sudah dapat membunuh hampir semua larva *Artemia salina*. Konsentrasi tersebut dibuat dalam 5 variasi konsentrasi serta kontrol masing-masing dengan 3 kali replikasi yang digunakan untuk menentukan nilai LC_{50} .

Rata-rata kematian larva untuk masing-masing kelompok perlakuan diperoleh dengan menghitung total jumlah kematian setiap kelompok perlakuan sebanyak 3 replikasi dan kemudian membaginya dengan jumlah replikasi. Kemudian dihitung persen kematian pada masing-masing konsentrasi perlakuan dan kontrol.

Tabel 1 menunjukkan semain tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin tinggi pula persen mortalitas larva *Artemia salina* L. Suatu ekstrak dikatakan toksik berdasarkan metode BSLT jika harga $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$. Sampel tanaman yang bersifat toksik menurut metode BSLT adalah bagian batang dan bunga tanaman jarak tintir, sementara daun keji beling bersifat tidak toksik menurut metode BSLT. Sampel yang menunjukkan nilai LC_{50} terkecil pada tabel diatas adalah bunga dan batang jarak tintir (*Jatropha multifida* L.) dengan nilai LC_{50} sebesar 225,09 dan $253,29 \mu\text{g/mL}$, artinya bunga dan batang jarak tintir (*Jatropha multifida* L.) memiliki potensi toksik terhadap *Artemia salina* L., sedangkan sampel yang menunjukkan nilai LC_{50} terbesar adalah daun keji beling (*Strobilanthes crispus* Bl.)

dengan nilai LC_{50} sebesar $4427,95 \mu\text{g/mL}$, artinya daun keji beling (*Strobilanthes crispus* Bl.) tidak memiliki potensi toksik bagi *Artemia salina* L.

Pada penelitian ini didapatkan bahwa ekstrak metanol bunga dan batang jarak tintir mempunyai potensi toksisitas akut. Hal tersebut berkaitan dengan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam bunga jarak tintir yaitu flavonoid. Flavonoid bertindak sebagai antioksidan yang mencegah terjadinya fragmentasi DNA oksigen reaktif seperti radikal hidroksil yang memicu kerusakan sel yang mengawali timbulnya sel kanker. Senyawa golongan flavonoid juga dapat mempercepat proses apoptosis sel yang mengakibatkan kematian sel [10, 11, 12].

Selain flavonoid, senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam jarak tintir antara lain adalah alkaloid. Alkaloid dapat bertindak sebagai *stomach poisoning* atau racun perut. Oleh karena itu, bila senyawa-senyawa ini masuk ke dalam tubuh larva maka alat pencernaannya akan terganggu. Selain itu, senyawa ini menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva. Hal ini mengakibatkan larva gagal mendapatkan stimulus rasa sehingga tidak mampu mengenali makanannya [13].

Beberapa tanaman yang memiliki kandungan bioaktif akan bersifat toksik pada dosis tinggi sehingga dapat dikatakan bahwa tanaman yang memiliki kandungan bioaktif perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui potensinya. Suatu ekstrak tanaman bersifat toksik menurut harga LC_{50} dengan $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/ml}$, maka tanaman tersebut dapat dikembangkan sebagai kandidat obat antikanker. Namun, bila tidak bersifat toksik maka tanaman tersebut dapat diteliti kembali untuk mengetahui khasiatnya dengan menggunakan hewan coba yang lebih besar dari larva *Artemia salina* L. seperti mencit dan tikus secara *in vivo* untuk pengembangan obat herbal terstandar (OHT) maupun fitofarmaka.

4. Kesimpulan

Ekstrak metanol daun keji beling (*Strobilanthes crispus* Bl.) tidak menunjukkan adanya potensi toksisitas akut terhadap *Artemia salina* L. dengan nilai LC_{50} sebesar $4427,95 \mu\text{g/mL}$. Sedangkan ekstrak metanol bunga dan batang jarak tintir (*Jatropha multifida* L.) memiliki potensi toksisitas akut terhadap *Artemia salina* L. dengan nilai LC_{50} sebesar 225,086 dan $253,29 \mu\text{g/mL}$ (interpretasi *low toxic*)

Daftar Pustaka

1. Ruslin dan Sahidin I. Identifikasi dan Determinasi Tanaman Obat Tradisional Masyarakat Sulawesi Tenggara pada Arboretum Prof. Mahmud Hamundu

- Universitas Haluoleo. *Majalah Farmasi Indonesia*. 2008, **19(2)**.
2. Supriadi. *Penyakit Layu Bakteri (R. solanacearum) pada Tumbuhan Obat dan Strategi Penanggulangannya*. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat Bogor: Bogor, 2000.
3. Ramdhani RN. Uji Toksisitas terhadap *Artemia salina* Leach dan Toksisitas Akut Komponen Bioaktif *Pandanus conoideus* var Lam. sebagai Kandidat Antikanker, *Skripsi*, Universitas Sebelas Maret Surakarta. 2009.
4. Abda F. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Beberapa Tanaman Obat Tradisional di Sulawesi Tenggara. *Skripsi*. Universitas Halu Oleo: Kendari. 2014.
5. Adfa M. Survey Etnobotani, Studi Senyawa Flavonoid dan Uji *Brine Shrimp* Beberapa Tumbuhan Obat Tradisional Suku Serawai di Propinsi Bengkulu. *Gradien* **1(1)**, 2005; hal. 45-46.
6. Atmoko T, dan Ma'ruf A. Uji Toksisitas dan Skrining Fitokimia Ekstrak Tumbuhan Sumber Pakan Orangutan Terhadap Larva *Artemia salina* L. *Jurnal Penelitian Hutan dan Konservasi Alam*. **6(1)**, 2009; hal. 39.
7. Indiatuti DN, Skrining Pendahuluan Toksisitas Beberapa Tumbuhan Benalu terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach, *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. **6(2)**, 2008; hal. 82.
8. Cahyadi R. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia* L.) terhadap Larva *Artemia salina* Leach dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), *Skripsi*. Universitas Diponegoro: Semarang. 2009
9. Jefrianto M. Profil Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Tanaman Obat di Sulawesi Tenggara Terhadap Bakteri *Salmonella typhi* YCTC. *Skripsi*. Universitas Halu Oleo; Kendari, 2014.
10. Ogata S, Miyake Y, Yamamoto K, Okumura K, Taguchi H. Apoptosis Induced by The Flavonoid from Lemon Fruit (*Citrus limone*) and Its Metabolites in HL-60 Cells. *Biosci. Biotechnol.* **64(5)**; 2000.
11. Vizcaino F. The Flavonoid Quercetin-induced Apoptosis And Inhibits JNK Activation In Intimal Vascular Smooth Muscle Cells. *Biochem. and Biophys. Res. Comm.* **346(3)**, 2006.
12. Ren W, Buckwheat T, Flavonoid Activates Caspase 3 And Induces H1-60 Cell Apoptosis. *Clin. Pharmacol.* **23(8)**, 2009.
13. Rita WS, Suirta IW, Sabikin A. Isolasi dan Identifikasi Senyawa yang Berpotensi Sebagai Antitumor Pada Daging Buah Pare (*Momordica charantia* L.), *Jurnal Kimia* **2**, 2008.