

# UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL DAUN BUAS-BUAS (*Premna serratifolia* Linn.) TERHADAP LARVA UDANG (*Artemia salina* Leach) DENGAN METODE *BRINE SHRIMP LETHALITY TEST* (BSLT)

<sup>1</sup>Parawansah, <sup>2</sup>Nuralifah, <sup>2</sup>Nurlliyin Akib, <sup>2</sup>Geong Antrie

<sup>1</sup>Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Halu Oleo

<sup>2</sup>Fakultas Farmasi Universitas Halu Oleo

Kampus Hijau Bumi Tridarma Anduonohu, Kendari 93232, Indonesia

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Halu Oleo

e-mail: [parawansah\\_Biom@yahoo.co.id](mailto:parawansah_Biom@yahoo.co.id)

## Abstrak

Buas-buas (*Premna serratifolia* Linn.) belongs to the family *Verbenaceae* has been used as a traditional medicine. The aims of this research are to determine the compound, extract characteristics and potential toxicity ( $LC_{50}$ ) of ethanol extract of buas-buas leaves. The used method is *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). The test consisted of six concentration treatments namely 1000, 750, 500, 250, 100 ppm and negative control with three replications. In each concentration used 10 *Artemia salina* leach larvae, and observations were made during 24 hours of larvae mortality. The content of phytochemical compounds from the buas-buas leaves are alkaloids, flavonoids, saponins and tannins. Characterization extract showed 62,21% contents of ethanol soluble extract, 41,5% contents of water soluble extract, 14,1% contents moisture and 4,1% contents ash.  $LC_{50}$  value was determined by probit analysis. The result of  $LC_{50}$  is 133,96 ppm.  $LC_{50} < 1000$  ppm showed that the ethanol extract of buas-buas leaves as toxic.

**Kata kunci**— *Premna serratifolia* Linn., *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT),  $LC_{50}$ , *Artemia salina* Leach

## 1. PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang memilikipotensi alam yang sangat melimpah. Kekayaanalam Indonesia tersebar merata baik daratanmaupun lautan. Iklim tropis dan musim cuaca merupakan faktor penunjang alam di Indonesiasehingga tidak heran jika Indonesia menjadi pusatkeragaman hayati terbesar dan dijuluki sebagaiparu-paru dunia. *World Conservation Monitoring Center* telah melaporkan bahwa wilayahIndonesia merupakan kawasan yang banyakdijumpai beragam jenis tanaman obat denganjumlah tanaman yang telah dimanfaatkanmencapai 2.518 jenis [1].

Penggunaan tanaman sebagai bahan obat sangat berkembang pesat, hampir 80% penduduk dunia menggunakan tanaman obat. Obat herbal banyak digunakan untuk mengobati berbagai macam penyakit karena efek samping yang ditimbulkan dari obat herbal relatif kecil,

sehingga lebih aman digunakan. Obat tradisional adalah bahan atau ramuan bahan yang berasal dari tumbuh-tumbuhan, hewan, dan mineral, sediaan sarian (galenik) atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun-temurun telah digunakan untuk pengobatan [2].

Beberapa jenis tanaman herbal telah banyak digunakan untuk mengobati selama ini mulai dari penyakit yang ringan seperti diare, batuk, masuk angin, gatal-gatal sampai penyakit kronis seperti malaria, demam berdarah, kencing manis dan kanker. Salah satu tumbuhan yang digunakan sebagai obat tradisional adalah buas-buas (*Premna serratifolia* Linn.) atau di Sulawesi Tenggara dikenal dengan nama rogo [3]. Secara tradisional daun buas-buas digunakan sebagai astringent, anti-inflamasi, antibakteri dan digunakan untuk gangguan jantung, batuk, kusta, penyakit kulit, sembelit, demam, diabetes, obesitas, sakit perut dan tumor, kardiotonik, sifat antihipoglikemik,

antikoagulan, antiarthritis [4]. Tumbuhan buas-buas yang dikenal belum diketahui sifat ketoksikannya karena belum dilakukan penelitian tentang uji toksisitas tanaman tersebut.

Salah satu metode awal untuk uji sitotoksik adalah *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). BSLT merupakan salah satu metode yang banyak digunakan untuk pencarian senyawa antikanker baru yang berasal dari tanaman. Metode BSLT telah terbukti memiliki korelasi dengan aktivitas antikanker. Selain itu, metode ini juga mudah dikerjakan, murah, cepat, dan cukup akurat [5]. Suatu ekstrak dinyatakan bersifat toksik menurut metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) jika memiliki  $LC_{50}$  kurang dari 1000  $\mu\text{g/mL}$  [5]. Jika hasil uji BSLT menunjukkan bahwa ekstrak tumbuhan bersifat toksik maka dapat dikembangkan ke penelitian lebih lanjut untuk mengisolasi senyawa sitotoksik tumbuhan sebagai usaha pengembangan obat alternatif anti kanker. Jika hasil uji BSLT menunjukkan bahwa ekstrak tumbuhan tidak bersifat toksik maka dapat dikembangkan ke penelitian lebih lanjut untuk meneliti khasiat-khasiat lain dari ekstrak [5].

## 2. METODE PENELITIAN

### 2.1 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun buas-buas, larva udang (*Artemia salina* Leach) umur 48 jam, air laut, etanol 96%, dimetil sulfoksida, suspensi tepung jagung, aluminium foil, kloroform (E. Merck<sup>®</sup>), kertas saring (Watmann<sup>®</sup>), air suling, asam klorida (teknis), besi (III) klorida (teknis), bismuth subdinitrat (teknis), kalium iodida (teknis), asam asetat (teknis), magnesium, asam sulfat(teknis).

### 2.2 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu toples kaca, corong, corong pisah, pencacah elektrik (*Sharp*<sup>®</sup>), cawan porselin, kertas saring, pisau stainless, Labu Erlenmeyer (*Pyrex*<sup>®</sup>), *rotary vacuum evaporator* (*Buchi Rotavapor R-210*), *water bath* (*Stuart*<sup>®</sup>), labu takar (*Pyrex*<sup>®</sup>), oven (*Vinco OV 50*), botol vial, timbangan analitik, akuarium mini, aerator, balon lampu (*philips*<sup>®</sup>), pipet tetes, mikropipet (*scorex*<sup>®</sup>), batang pengaduk, desikator (*Normax*<sup>®</sup>), lup atau kaca pembesar, tabung reaksi dan penjepit.

### 2.3 Ekstraksi Maserasi

Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dengan pelarut etanol 96%. Serbuk daun buas-buas sebanyak 500 gram dimasukkan ke dalam wadah tertutup dan direndam dengan pelarut etanol sebanyak 3500 mL dimaserasi selama 3 x kali 24 jam. Filtrat dikumpulkan dan dipisahkan dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental etanol. Ekstrak yang diperoleh kemudian dihitung rendemennya. Rendemen ekstrak adalah perbandingan bobot ekstrak dengan bobot simplisia.

Rendemen ekstrak dihitung dengan rumus [6]:

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{massa ekstrak kering}}{\text{massa serbuk sampel}} \times 100\%$$

### 2.4 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia KLT dilakukan dengan menggunakan plat silika gel GF<sub>254</sub>. Ekstrak daun buas-buas ditotolkan pada jarak  $\pm 1$  cm dari tepi bawah plat dengan menggunakan pipa kapiler kemudian dikeringkan dan dielusi dengan menggunakan eluen n-heksan:etil asetat (8:2).Pemeriksaan Alkaloid, ekstrak dilarutkan dengan 5 mL HCl. Larutan yang didapat kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi. Tabung ditambahkan pereaksi Dragendroff sebanyak 3 tetes. Terbentuknya endapan jingga pada tabung menunjukkan adanya alkaloid [7]. Pemeriksaan Terpenoid, dilakukan dengan reaksi Lieberman-Burchard. Terbentuknya larutan hijau biru menunjukkan adanya terpenoid [8]. Pemeriksaan Saponin, ekstrak ditambahkan dengan 10 mL air panas kemudian didinginkan, dikocok kuat selama 10 detik. Terbentuk buih yang mantap selama tidak kurang 10 menit [9].Pemeriksaan Flavonoid, ekstrak kemudian ditambahkan etanol. Ke dalam larutan ditambahkan serbuk magnesium dan ditambahkan HCl. Terbentuk larutan berwarna merah jingga menunjukkan adanya flavonoid [9].Pemeriksaan Tanin, ekstrak ditambahkan dengan 1 mL larutan Fe(III) klorida 1%. Jika terbentuk warna biru tua, biru kehitaman atau hitam kehijauan menunjukkan adanya senyawa tannin [7].

### 2.5 Karakterisasi Ekstrak

#### Uji Kadar Air

Cawan porselin kosong dikeringkan di dalam tanur selama 30 menit pada suhu 500°C. Selanjutnya dimasukkan ke dalam desikator yang berisi silika gel selama 15 menit. Cawan

porcelain ditimbang hingga diperoleh berat konstan. Sebanyak 2 g ekstrak dimasukkan ke dalam cawan porcelain kosong yang telah diketahui beratnya, kemudian dikeringkan dalam oven selama 6 jam dengan suhu 100-102°C. Selanjutnya cawan porcelain berisi sampel dimasukkan ke dalam desikator selama 15 menit atau hingga dingin, lalu ditimbang hingga diperoleh berat konstan[10].

#### Uji Kadar Abu

Cawan porcelain kosong dikeringkan di dalam tanur selama 30 menit pada suhu 500°C. Selanjutnya dimasukkan ke dalam desikator yang berisi silika gel selama 15 menit. Cawan porcelain ditimbang hingga diperoleh berat konstan. Sebanyak 0,5 g ekstrak dimasukkan dalam cawan, kemudian dipijarkan di dalam tanur pada suhu 900°C sampai menjadi abu, didinginkan dan ditimbang hingga diperoleh bobot yang tetap dan stabil[10].

#### Penetapan Kadar Sari Larut Air

Sebanyak 5 g ekstrak dimasukkan ke dalam labu bersumbat, kemudian ditambahkan dengan 100 mL air-kloroform (dicampurkan 2,5 mL kloroform dengan air secukupnya hingga 100 mL, dikocok hingga larut) sambil dikocok berkali-kali selama 6 jam pertama kemudian dibiarkan selama 18 jam. Filtrat disaring, sebanyak 20 mL filtrat dimasukkan ke dalam cawan dangkal beralas datar yang telah ditara lalu diuapkan hingga kering, dan sisa penguapan dipanaskan pada suhu 105 °C hingga bobot tetap. Kadar sari larut air dihitung terhadap bahan yang dikeringkan di udara. Kadar ekstrak yang larut dalam air (atas dasar cuplikan kering)[10].

#### Penetapan Kadar Sari Larut Etanol

Sebanyak 5 g ekstrak dimasukkan ke dalam labu bersumbat, kemudian ditambahkan dengan 100 mL etanol 96% sambil dikocok berkali-kali selama 6 jam pertama dan didiamkan selama 18 jam. Filtrat disaring dengan cepat untuk menghindarkan penguapan etanol. Sebanyak 20 mL filtrat diuapkan hingga kering dalam cawan dangkal berdasar rata yang telah ditara, sisa penguapan dipanaskan pada suhu 105 °C hingga bobot tetap. Kadar sari larut etanol dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara[10].

## 2.6 Uji Toksisitas Menggunakan Metode *Brine Shrimp Lethality Test*(BSLT)

### *Penetasan Telur Artemia salina* Leach

Penetasan telur *Artemia salina* dilakukan dalam wadah penetas telur atau akuarium mini. Air laut dimasukkan ke dalam wadah, serta diaerasi menggunakan aerator. Sejumlah telur *A. salina* dimasukkan ke dalam aquarium dan diberi cahaya lampu untuk menarik *A. salina* yang telah menetas. Telur akan menetas kira-kira setelah 18-24 jam menjadi larva. Larva yang berumur 48 jam dapat digunakan untuk uji toksisitas [11].

### *Pelaksanaan Uji Toksisitas dengan Metode BSLT*

Pengujiannya dilakukan dengan menggunakan lima konsentrasi berbeda, yaitu 1000 ppm, 750 ppm, 500 ppm, 250 ppm dan 100 ppm. Pengujian sampel dilakukan dengan cara memasukkan masing-masing sampel ke dalam vial yang kemudian diuapkan dengan dianginkan hingga pelarutnya hilang. Selanjutnya vial diisi air laut 1 mL dan ditambahkan 0,2 mL dimetil sulfoksida (DMSO), kemudian divortex kurang lebih selama 1 menit untuk menghomogenkan sampel. Sepuluh ekor *Artemia salina* umur 48 jam yang sehat (bergerak aktif) dipilih secara acak, dimasukkan ke dalam vial yang berisi sampel yang bebas pelarut menggunakan pipet tetes. Satu tetes suspensi tepung jagung ditambahkan sebagai makanan *Artemia salina* kemudian ditambahkan air laut sampai 10 mL. Untuk kontrol negatif (0 ppm) dilakukan tanpa penambahan ekstrak. Vial diletakkan dibawah lampu penerangan selama 24 jam dan dihitung jumlah larva *Artemia salina* yang mati (tidak bergerak lagi) [12].

### *Analisis Toksisitas*

Efek toksik diperoleh dari pengamatan dengan menghitung jumlah larva udang (*Artemia salina* Leach) yang mati pada tiap konsentrasi setelah 24 jam. Persen kematian diperoleh dari hasil perkalian rasio dengan 100%, yaitu larva yang mati dibagi jumlah larva awal dikali 100%. Menghitung persen kematian larva uji setelah 24 jam perlakuan dengan menggunakan rumus berikut [5].

$$\% \text{ Kematian} = \frac{\text{Jumlah larva } A. \text{ salina mati}}{\text{jumlah larva uji}} \times 100\%$$

Jika terjadi kematian pada kontrol uji dapat dikoreksi dengan rumus *Abbot*, yaitu : [5]

$$\% \text{ Kematian} = \frac{\text{Jumlah larva } A. \text{ salina mati (uji-kont)}}{\text{jumlah larva uji}} \times 100\%$$

## 2.7 Analisis Data

Efek toksisitas terhadap *Artemia salina* Leach. ditentukan berdasarkan analisis probit melalui tabel probit dan dibuat persamaan regresi linier  $y = bx + a$  dimana :  $y$  = angka probit, dan  $x$  = log konsentrasi. Persamaan tersebut dapat digunakan untuk mengetahui nilai  $LC_{50}$  24 jam dengan memasukkan nilai probit 5 (50% kematian) ke persamaan tersebut sehingga diperoleh konsentrasi yang menyebabkan 50% kematian larva *Artemia salina* [13].

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 3.1 Pembuatan Ekstrak

Hasil ekstraksi berupa maserat dipekatkan dengan menggunakan *vacum rotary evaporator* pada suhu 50°C menghasilkan ekstrak cair. Prinsip kerja alat ini didasarkan pada titik didih pelarut dan adanya tekanan yang menyebabkan uap dari pelarut terkumpul, serta adanya kondensor yang menyebabkan uap ini mengembun dan akhirnya jatuh ke tabung penerima (*receiver flask*). Selanjutnya ekstrak cair disimpan di dalam cawan porselen (cawan penguap) yang kemudian dipekatkan menggunakan *water bath* pada suhu 60°C.

Selanjutnya ekstrak kental yang diperoleh dimasukan dalam desikator untuk menghilangkan kandungan air dari ekstrak, sehingga diperoleh ekstrak kental berwarna hijau

tua kehitaman sebanyak 93,2gram. Berdasarkan hasil ekstrak kental yang diperoleh dari daun buas-buas (*Premna serratifolia* Linn.) maka diperoleh rendamen ekstrak sebanyak 18,64%.

### 3.2 Skrining Fitokimia

Skrining ini dilakukan untuk memberi gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol daun buas-buas. Skrining fitokimia dilakukan dengan metode uji tabung menggunakan pereaksi-pereaksi yang sesuai untuk golongan senyawa yang diuji yaitu alkaloid, terpenoid flavonoid, saponin, dan tanin [8]. Hasil uji skrining fitokimia ekstrak etanol daun buas-buas (*Premna serratifolia* Linn.) disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil pengamatan uji skrining fitokimia ekstrak etanol daun buas-buas (*Premna serratifolia* Linn.)

| Golongan Senyawa | Hasil        | Keterangan |
|------------------|--------------|------------|
|                  | Endapan      | Ada        |
|                  | Jingga       | Tidak ada  |
| Alkaloid         | Hijau        | Ada        |
| Terpenoid        | Merah jingga | Ada        |
| Flavonoid        | Busa         | Ada        |
| Saponin          | Hijau        |            |
| Tannin           | kehitaman    |            |

Tabel 2. Karakteristik ekstrak

| Jenis karakterisasi           | Hasil  | Standar | Literatur    |
|-------------------------------|--------|---------|--------------|
| <b>Parameter spesifik</b>     |        |         |              |
| Kadar sari larut etanol       | 62,21% | ≥9,7%   | Manoi, 2006  |
| Kadar sari larut air          | 41,5%  | ≥18%    | Manoi, 2006  |
| <b>Parameter non spesifik</b> |        |         |              |
| Kadar air                     | 14,1 % | 5-30%   | Voight, 1994 |
| Kadar abu                     | 4,1 %  | < 12 %  | Manoi, 2006  |

### 3.3 Uji Toksisitas

Toksisitas merupakan suatu keadaan yang menandakan adanya efek toksik atau racun pada suatu bahan atau campuran bahan. Suatu senyawa kimia dikatakan bersifat racun akut jika senyawa tersebut dapat menimbulkan efek racun dalam jangka waktu singkat 24 jam. Uji toksisitas menggunakan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) merupakan uji toksisitas akut efek toksik dari suatu senyawa ditentukan dalam waktu singkat yaitu rentang waktu selama 24 jam setelah pemberian dosis uji.

Larutan uji ekstrak etanol daun buas-buas terdiri atas lima konsentrasi yaitu 100 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm, dan 1000 ppm. Perlakuan uji toksisitas ini dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan (triplo) untuk mendapatkan data yang akurat. Pelarutan ekstrak dengan air laut sering menimbulkan masalah karena adanya perbedaan tingkat kepolaran, ekstrak sukar larut dengan air laut sehingga digunakan dimetil sulfoksida (DMSO) sebanyak 0,2 mL untuk membantu melarutkannya. DMSO digunakan sebagai surfaktan karena ekstrak tidak dapat larut dalam air laut. Penggunaan DMSO

maksimal 2% untuk mencegah pengaruh lain yang dapat menimbulkan toksisitas pada *Artemia salina* Leach [16].

Tabel 3. Pengaruh berbagai ekstrak etanol daun buah-buas terhadap Larva udang (*Artemia salina* Leach)

| Konsentrasi ekstrak etanol daun Buah-buas (ppm) | Jumlah kematian larva udang ( <i>Artemia salina</i> Leach) pada setiap replikasi (ekor) |     |      |           | % Rata-rata kematian larva |
|---|---|-----|------|-----------|----------------------------|
|   | RI  | RII | RIII | Rata-rata |                            |
| 100   | 6   | 2   | 5    | 4,3       | 43,3                       |
| 250   | 6   | 9   | 5    | 6,6       | 66,6                       |
| 500   | 7   | 7   | 7    | 7         | 70                         |
| 750   | 8   | 8   | 7    | 7,6       | 76,6                       |
| 1000  | 7   | 9   | 10   | 8,6       | 86,6                       |

Total kematian dihitung dengan menjumlahkan larva yang mati pada setiap konsentrasi. Rata-rata kematian larva diperoleh dari total kematian larva pada tiap konsentrasi dibagi dengan jumlah total larva awal pada konsentrasi yang sama. Perhitungan persentase kematian larva pada setiap konsentrasi diperoleh dengan cara rata-rata kematian pada tiap konsentrasi dikali 100%.

Jumlah kematian larva terbanyak terdapat pada konsentrasi 1000 ppm. Hal ini sesuai

dengan teori, bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak semakin banyak jumlah larva yang mati. Setiap zat kimia bila diberikan dengan dosis yang cukup besar akan menimbulkan toksik. Selain itu persentase kematian larva tersebut dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak menghasilkan jumlah kematian larva yang semakin tinggi pula [17].

Tabel 4. Penetapan LC<sub>50</sub>

| Konsentrasi | Log konsentrasi (X) | Persentase Kematian | Probit (Y) |
|-------------|---------------------|---------------------|------------|
| 100         | 2                   | 43.3                | 4.8313     |
| 250         | 2.397940009         | 66.6                | 5.4289     |
| 500         | 2.698970004         | 70                  | 5.5244     |
| 750         | 2.875061263         | 76.6                | 5.7257     |
| 1000        | 3                   | 86.6                | 6.1077     |

Suatu ekstrak dikatakan toksik berdasarkan metode BSLT jika nilai LC<sub>50</sub> < 1000 ppm [5]. Kategori toksik terdiri atas : sangat toksik < 30 ppm, toksik 30-1000 ppm tidak toksik > 1000 ppm [1]. Pengujian terhadap ekstrak etanol daun buah-buas didapatkan konsentrasi untuk membunuh 50% larva udang (*Artemia salina* Leach) (LC<sub>50</sub>) adalah 133,96 ppm.

Toksistas suatu tanaman berkaitan dengan metabolit sekunder yang terkandung didalamnya. Berdasarkan hasil identifikasi kandungan senyawa, dalam daun buah-buas terkandung senyawaalkaloid, flavonoid, saponin dan tanin. Senyawametabolitsekunder ini dalam suatutanaman memiliki potensi toksistas akut yang dapat menyebabkan kematian larva *Artemia salina*.

Hampir semua tanaman yang memiliki kandungan bioaktif akan bersifat toksik pada

dosis tinggi. Daun buah-buas memiliki kandungan bioaktif senyawaalkaloid, flavonoid, saponin dan tanin. Senyawametabolitsekunder yang terkandung dalam daun buah-buas memiliki potensi toksistas akut yang dapat menyebabkan kematian larva *Artemia salina* yang ditunjukkan dengan nilai LC<sub>50</sub> < 1000 ppm yaitu 133,96 ppm.

Korelasi antara uji toksistas akut dengan uji aktivitas sitotoksik adalah jika mortalitas terhadap *Artemia salina* yang ditimbulkan memiliki nilai LC<sub>50</sub> < 1000 ppm [18]. Kategori toksik terdiri atas : sangat toksik < 30 ppm, toksik 30-1000 ppm tidak toksik > 1000 ppm [1]. Ekstrak daun buah-buas termasuk dalam kategori toksik dengan nilai LC<sub>50</sub> 133,96 ppm sehingga dapat dikatakan ekstrak etanol daun buah-buas pada penelitian ini memiliki aktivitas sitotoksik atau memiliki potensi toksistas terhadap *Artemia salina* Leach.

#### 4. KESIMPULAN

Skrining fitokimia menunjuk-kan bahwa ekstrak etanol daun buas-buas mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin. Karakteristik spesifik ekstrak etanol daun buas-buas terdiri atas kadar sari larut etanol 62,21% dan kadar sari larut air 41,5% serta karakteristik non-spesifik terdiri atas kadar air 14,1 % dan kadar abu 4,1 %. Ekstrak etanol daun buas-buas memiliki potensi toksisitas akut terhadap larva *Artemia salina* Leach yang ditunjukkan dengan nilai LC<sub>50</sub> kurang dari 1000 ppm yaitu 133,96 ppm.

#### 5. SARAN

Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut toksisitas secara sub kronis dan kronis ekstrak etanol daun buas-buas terhadap hewan uji mencit galur balb/C jantan untuk mengetahui efek jangka panjang. Serta, profil metabolit sekunder yang berpotensi toksik dengan mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa aktif dan menentukan struktur senyawa aktif tersebut, kemudian dilakukan uji aktivitas antikanker dan standarisasi untuk dikembangkan menjadi fitofarmaka sebagai usaha pengembangan obat alternatif antikanker.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada unsur pimpinan Fakultas Kedokteran dan Fakultas Farmasi Universitas Halu Oleo yang telah mendukung dan memberikan kontribusi atas diselesaikannya penelitian ini.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Manullang L., Daniel, dan Enos T. A., 2013, Uji Toksisitas Dan Antioksidan Ekstrak Buah Kelepesoh (*Baccaurea Lanceolata* (Miq.) Mull.Arg), *Journal Science East Borneo*, **Volume 1** No.1.
- Teny, 2007, *Ramuan Obat Tradisional*, Pustaka, Jakarta.
- Windadri, F. I., Mulyati R., dan Himmah R., 2006, Pemanfaatan Tumbuhan Sebagai Bahan Obat Oleh Masyarakat Lokal Suku Muna Di Kecamatan Wakarumba, Kabupaten Muna, Sulawesi Tenggara, *Biodiversitas*, **Volume 7**, Nomor 4.
- Singh, C., Ravinder, R., Nelson, N., Sithranga, B., Kathiresan K., dan Chinta, S.K., 2012, In Vitro Conservation And Protective Effect Of *Premna Serratifolia* L.—An Important Medicinal Tree, *International Journal of Pharmaceutical Applications*, **Vol 3**, ISSUE 2.
- Meyer, B.N., 1982. Brine Shrimp : A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituent, *Drug Information Journal*, **Vol. 32**.
- Hasanah, S., M. Agus W., dan Nora I., 2015, Toksisitas *Lygodium microphyllum*, *Premna serratifolia* L. dan *Vitex pinnata* Asal Desa
- Jones, W.P. dan Kinghorn, A.D., 2006, Extraction of plant secondary metabolites, In: Sarker, S.D., Latif, Z. dan Gray, A.I., *Natural Products Isolation*, 2nd Ed. New Jersey Humana Press.
- Robinson, T., 1995, *Kandungan Senyawa Organik Tumbuhan Tinggi*, ITB. Bandung.
- Susanty, E. S., 2014, Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Laportea decumana* (Roxb.) Wedd), *Pharmacy*, **Vol.11** No. 01.
- Depkes RI., 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Diktorat Jenderal POM, Jakarta.
- Mc. Laughlin, J.L., 1991, Crown Gall Tumours on Potato Disc and Brine Shrimp Lethality: Two Simple Bioassay for Higher Plant Screening and Fractination, *Methods in Plants Biochemistry*, **Vol6(1)**.
- Kurniawan, H., 2012, Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Daun Kesum (*Polygonum Minus* Huds) Terhadap Larva *Artemia Salina* Leach Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test*

(BSLT), *Skripsi*, Universitas Tanjungpura, Pontianak.

13. Khafidz N.S., 2014, Uji Toksisitas Akut Ekstrak Methanol Daun Laban Abang (*Aglaia elliptica* Blume) Terhadap Larva Udang (*Artemia salina* Leach) dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), *Skripsi*, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.
  14. Manoi F., 2006, Pengaruh Cara Pengeringan Terhadap Mutu Simplisia Sambilotto, *Bul. Litro*. **Vol. XVII** No. 1.
  15. Voight, R., 1994, Buku Pelajaran Teknologi Farmasi, Universitas Gadjah Mada Press, Yogyakarta.
  16. Arslanyolu dan Zerrin, 2006, Evaluation Of The Antibacterial Activity And Toxicity Of Isolated Arctiin From The Seeds Of *Centaurea Sclerolepis*, *J. Fac. Pharm*, **vol 35** (2).
  17. Lu, F.C., 1995, *Toksikologi Dasar : Asas, Organ Sasaran, dan Penilaian Resiko*, Edisi 2, terjemahan dari *Basic Toxicology: Fundamentals, Target Organs, and Risk Assesment*, oleh Nugraha E., UI press, Jakarta.
  18. Oratmangun S.A., Fatimawali dan Widdhi B., 2014, Uji Toksisitas Ekstrak Tanaman Patah Tulang (*Euphorbia Tirucalli* L.) Terhadap *Artemia Salina* Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) Sebagai Studi Pendahuluan Potensi Anti Kanker, *Jurnal Ilmiah Farmasi – UNSRAT* **Vol. 3** No. 3.
-