

UJI TOKSISITAS EKSTRAK DAUN KEMIRI (*Aleurites moluccana*) DENGAN METODE *BRINE SHRIMP* *LETHALITY TEST (BSLT)*

Nurhasanah Wirasari*¹, Virsa Handayani¹, Hendra Herman²

¹Laboratorium Farmakognosi Fitokimia, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia, Makassar, Sulawesi Selatan

²Laboratorium Farmakologi, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia, Makassar, Sulawesi Selatan

Email: nurhasanahwirasari@gmail.com

ABSTRACT

Kemiri (*Aleurites moluccana*) is a plant that has various benefits. One part of the plant is the leaf. Candlenut leaves are known to have analgesic, antiviral and antibacterial properties which can help boost the immune system, while the ethanol extract of the leaves has a hypolipidemic effect which can reduce protein absorption in the intestine. This study aims to determine the toxicity of candlenut leaves using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method. This research was initiated by extracting candlenut leaves using 96% ethanol solvent with the maceration method, then thin layer chromatography screening was carried out which showed that the candlenut leaf samples contained alkaloids, flavonoids, saponins and triterpenoids. The toxicity test of candlenut leaf extract on *Artemia salina* Leach larvae was divided into 5 test groups, namely 4 treatment groups (concentrations of 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm, and 50 ppm) and 1 control or comparison group (seawater). Each concentration was made in 3 vials which included 10 *Artemia salina* Leach larvae. Observations were made by looking at the death of *Artemia salina* Leach larvae after 24 hours of treatment. The research results can be seen through probit analysis by calculating the LC50 value. The LC50 value of candlenut leaf extract is 37,670 µg/mL (very toxic).

Keywords : *Artemia salina* Leach; *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*; *Candlenut Leaf*; *Toxicity*

ABSTRAK

Kemiri (*Aleurites moluccana*) adalah tanaman yang memiliki berbagai macam manfaat. Salah satu bagian tanamannya adalah daun. Daun kemiri diketahui memiliki sifat analgesik, antivirus dan antibakteri yang dapat membantu meningkatkan sistem kekebalan tubuh, sedangkan ekstrak etanol daunnya memiliki efek hipolipidemik yang dapat mengurangi penyerapan protein di dalam usus. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui toksisitas dari daun kemiri dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*. Penelitian ini diawali dengan melakukan ekstraksi daun kemiri menggunakan pelarut etanol 96% dengan metode maserasi kemudian dilakukan skrining kromatografi lapis tipis yang menunjukkan sampel daun kemiri mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin dan triterpenoid. Pengujian toksisitas ekstrak daun kemiri terhadap larva *Artemia salina* Leach dibagi menjadi 5 kelompok uji yaitu 4 kelompok perlakuan (konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm, dan 50 ppm) dan 1 kelompok kontrol atau pembandingan (air laut). Masing-masing konsentrasi dibuat dalam 3 vial yang dimasukkan 10 ekor larva *Artemia salina* Leach. Pengamatan dilakukan dengan melihat kematian larva *Artemia salina* Leach setelah perlakuan selama 24 jam. Hasil penelitian dapat dilihat melalui analisa probit dengan menghitung nilai LC50. Nilai LC50 dari ekstrak daun kemiri adalah 37,670 µg/mL (sangat toksik).

Kata Kunci : *Artemia salina* Leach; *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)* ; Daun Kemiri; Uji Toksisitas

PENDAHULUAN

Tumbuhan adalah salah satu sumber daya alam yang penting. Sebab, tumbuhan merupakan tempat terjadinya sintesis senyawa organik yang menghasilkan golongan senyawa dengan berbagai macam struktur. Dengan adanya penelitian senyawa baru terhadap tumbuhan yang belum banyak diteliti, berpotensi menemukan senyawa yang dapat digunakan sebagai pengembangan tanaman obat dalam bidang fitoterapi [1].

Kemiri (*Aleurites moluccana*) adalah tanaman yang memiliki berbagai macam manfaat. Salah satu bagian tanamannya adalah daun. Daun kemiri diketahui memiliki sifat analgesik, antivirus dan antibakteri yang dapat membantu meningkatkan sistem kekebalan tubuh, sedangkan ekstrak etanol daunnya memiliki efek hipolipidemik yang dapat mengurangi penyerapan protein di dalam usus. Secara empirik, daun kemiri sering digunakan sebagai tanaman obat karena dapat menyembuhkan bagian tubuh yang mengalami pembengkakan atau memar bagian dalam. Daun kemiri yang direbus juga berfungsi sebagai obat sakit kepala, penyakit infeksi kelamin dan sebagai antinosiseptik [2].

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Suarni et al., 2018 melalui Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kemiri (*Aleurites moluccana*) menggunakan metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazil) didapatkan hasil yaitu antioksidannya kuat dengan nilai IC₅₀ 52,02µg/mL. Senyawa flavonoid dari daun kemiri memberikan efek terhadap peningkatan analgesik dan termasuk ke dalam senyawa polifenol metabolit sekunder sehingga daun kemiri (*Aleurites moluccana*) memiliki potensi sebagai antikanker [3].

Uji toksisitas merupakan skrining awal untuk mengetahui efek yang tidak dikehendaki dari suatu tanaman obat. United States of Food and Drug Administration (FDA) menyatakan bahwa uji toksisitas ialah pengujian yang dilakukan terhadap suatu senyawa yang berpotensi sebagai obat atau toksik terhadap hewan [4].

Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) ialah metode menggunakan hewan uji yaitu larva *Artemia salina* Leach. Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) adalah uji untuk mengetahui adanya aktivitas farmakologis dari suatu ekstrak bahan alam. Metode ini memiliki beberapa kelebihan, yaitu, cepat, murah, sampel yang dibutuhkan relatif sedikit dan sederhana. BSLT dimanfaatkan sebagai uji pendahuluan sebelum dilanjutkan ke tahapan uji selanjutnya untuk kegiatan farmakologis tertentu. Dengan menggunakan metode BSLT ini juga akan diketahui batas keamanan

penggunaannya untuk tujuan pengobatan [5].

Berdasarkan hal tersebut, maka dilakukan penelitian pada daun kemiri (*Aleurites moluccana*) dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT).

METODE PENELITIAN

Penelitian yang digunakan adalah eksperimental yang dilaksanakan Di Laboratorium Farmakognosi-Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia pada bulan November 2022 – selesai. Sampel yang digunakan adalah ekstrak dari daun kemiri dengan larva *Artemia salina* Leach sebagai hewan uji menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dan didapatkan hasil akhir nilai LC50 dari ekstrak daun kemiri.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari seperangkat alat gelas, sendok tanduk, penangas air, pH meter, mikropipet dan tip, seperangkat alat maserasi, seperangkat alat rotavapor, seperangkat alat penetasan telur larva, timbangan duduk, timbangan analitik, vial, alat penerang (lampu pijar), aerator, kertas whatman, aluminium foil, toples.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah air laut, ekstrak daun kemiri, etanol 96%, ekstrak ragi, larva udang (*Artemia salina* Leach), HCl 2N.

Pengambilan dan Pengolahan Sampel

Sebanyak 2 kg daun kemiri yang digunakan pada penelitian ini adalah daun kemiri yang diperoleh dari Desa Pallawa Rukka, Kabupaten Bone. Karena sampel yang digunakan memiliki batang yang cukup tinggi, jadi sampel dipetik dengan bantuan alat pemetik daun. Kemudian sampel dikumpulkan, dibersihkan dengan air mengalir dan disortasi basah untuk menghilangkan zat pengotor yang masih menempel pada sampel. Setelah itu ditimbang berat segar, kemudian disortasi kering dan dilakukan pengubahan bentuk. Setelah itu dikeringkan pada lemari pengering pada suhu $\pm 50^{\circ}\text{C}$. Sampel yang telah kering kemudian dihaluskan dan diayak menggunakan ayakan.[6].

Pembuatan Ekstrak daun kemiri

Pembuatan ekstrak daun kemiri dilakukan dengan cara ditimbang sebanyak 500 gram daun kemiri kemudian dimaserasi dengan etanol 96% hingga serbuk simplisia terendam. Dibiarkan selama 3 hari, sesekali diaduk. Setelah itu simplisia yang telah dimaserasi kemudian disaring, dan diuapkan menggunakan *Rotary Vacuum Evaporator* pada suhu $\pm 60^{\circ}\text{C}$. kemudian ekstrak yang didapatkan diambil untuk dibuat ekstrak [6].

Penyiapan Larva

Telur *Artemia salina* Leach ditimbang sebanyak ± 50 mg kemudian dimasukkan ke dalam bejana penetas yang diberi sekat sehingga memiliki dua sisi ruang, yaitu sisi terbuka dan sisi tertutup (gelap). Bejana penetas diisi dengan air laut yang telah disaring dengan kertas whatman kemudian dimasukkan aerator dan disinari dengan lampu pijar. Setelah 24 jam, telur yang telah menetas menjadi nauplii di pindahkan ke tempat lain, dan 24 jam kemudian nauplii tersebut diberikan suspensi ragi sebagai bahan makanan dan bisa digunakan sebagai hewan uji [6].

Pembuatan Larutan Stok

Larutan stok yang digunakan dibuat dengan cara ditimbang 100 mg ekstrak etanol daun kemiri yang dilarutkan dalam 2 mL air laut dengan pH 7. Jika sampel tidak larut atau sukar larut, maka ditambahkan dimetil sulfoksida (DMSO) 1% sebanyak 0,1-50 μg atau 2 tetes saja dan ditambahkan air laut hingga volumenya mencapai 50 mL sehingga didapatkan konsentrasi larutan stok 1000 ppm [6].

Pembuatan Larutan Uji

Larutan uji ekstrak etanol daun kemiri dibuat dalam konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm, dan 50 ppm. Untuk membuat konsentrasi 5 ppm, dipipet sebanyak 0,05 mL larutan stok, kemudian dicukupkan volumenya hingga 10 mL. Untuk membuat konsentrasi 10 ppm, dipipet sebanyak 0,1 mL larutan stok, kemudian dicukupkan volumenya hingga 10 mL. Untuk membuat konsentrasi 20 ppm, dipipet sebanyak 0,2 mL larutan stok, kemudian dicukupkan volumenya hingga 10 mL. Untuk membuat konsentrasi 50 ppm, dipipet sebanyak 0,5 mL larutan stok, kemudian dicukupkan volumenya hingga 10 mL [6].

Pengujian Toksisitas

Uji toksisitas dilakukan pada masing-masing kelompok ekstrak sampel yang dibagi menjadi 5 kelompok uji yaitu 4 kelompok perlakuan (konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm, dan 50 ppm) dan 1 kelompok kontrol atau pembanding (air laut). Setiap konsentrasi ekstrak sampel dibuat dalam 3 vial. Selanjutnya, pada tiap konsentrasi larutan dimasukkan 10 ekor larva *Artemia salina* Leach ke dalam vial. Kontrol dimasukkan 5 mL air laut tanpa larutan uji. Kemudian, pengamatan dilakukan selama 24 jam terhadap kematian larva *Artemia salina* Leach lalu dihitung jumlah larva yang mati dari tiap vial kemudian dilanjutkan dengan analisa probit untuk menentukan nilai LC50 [6].

Analisis Data

Untuk melihat besarnya nilai dari LC50 yang dapat mematikan larva *Artemia salina* Leach sampai 50% dilakukan perhitungan statistik dengan analisa probit (probability unit). Efek toksisitas dianalisis dari pengamatan dengan persen kematian. Setelah mengetahui % Mortalitas larva *Artemia salina* Leach, kemudian dicari nilai probit melalui tabel probit dan diregresikan secara linier [6].

HASIL DAN DISKUSI

Penelitian ini telah dilakukan dalam beberapa tahap, yaitu penyiapan alat dan bahan, pengambilan dan pengolahan sampel, ekstraksi sampel dan uji toksisitas. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak daun kemiri. Ekstraknya diperoleh melalui proses ekstraksi menggunakan metode dingin yaitu metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Kelebihan dari Metode Maserasi adalah teknik pengerjaan relatif sederhana dan mudah dilakukan, biaya operasionalnya rendah, dan dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa yang bersifat termolabil karena maserasi dilakukan tanpa pemanasan sehingga kecil kemungkinan bahan alam menjadi rusak atau terurai. Etanol 96% dipilih karena termasuk pelarut yang bersifat semipolar sehingga memiliki kemampuan mengekstraksi dengan rentang polaritas yang lebar mulai dari senyawa polar hingga nonpolar [7].

Hasil perhitungan persen rendamen yang diperoleh dari ekstraksi daun kemiri adalah sebesar 10,34%. Perhitungan persen rendamen dilakukan agar dapat mengetahui

persentase jumlah bahan yang tersisa dari hasil proses ekstraksi dan juga untuk mengetahui tingkat keefektifan dari proses yang dihasilkan. nilai persen rendemen berkaitan dengan banyaknya kandungan bioaktif yang terkandung pada tumbuhan. semakin tinggi rendemen ekstrak maka semakin tinggi kandungan zat yang tertarik ada pada suatu bahan baku [8].

Adapun hasil pengamatan uji toksisitas ekstrak daun kemiri menunjukkan bahwa semua seri konsentrasi menyebabkan kematian pada larva kecuali kelompok kontrol yang berisi air laut. Pada konsentrasi 50 ppm menyebabkan % kematian larva tertinggi yaitu 100%, sedangkan pada konsentrasi 5 ppm menyebabkan % kematian larva terendah yaitu 53,33%. Konsentrasi yang berbeda pada setiap vial uji memiliki jumlah kematian larva yang berbeda-beda, hal tersebut menunjukkan bahwa setiap tingkat konsentrasi memiliki pengaruh berbeda terhadap kematian larva. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan, maka semakin tinggi juga jumlah total kematian larva. Persamaan regresi linear yang dihasilkan pada ekstrak daun kemiri adalah $y = 47,334x + 20,228$ dengan nilai R^2 yang hampir mendekati 1 yaitu 0,9971, artinya konsentrasi ekstrak daun kemiri dengan nilai kematian larva mempunyai hubungan yang erat bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan maka semakin tinggi pula pengaruh kematian larva pada ekstrak. Hasil dari data tersebut akan digunakan untuk menentukan nilai LC50 [9].

Penentuan nilai *Lethal Concentration* 50 (LC50) pada ekstrak daun kemiri dilakukan dengan menggunakan analisa probit. Analisa probit merupakan analisa yang digunakan pada pengujian toksisitas dari suatu bahan kimia terhadap organisme hidup penentuan nilai LC50, ekstrak sampel dikatakan toksik apabila nilai LC50 yang diperoleh adalah <1000 ppm [10]. Tingkat toksisitas suatu ekstrak adalah jika LC50 0-100 µg/mL maka sampel bersifat sangat toksik, jika LC50 500-1000 µg/mL maka sampel bersifat toksik, sedangkan jika LC50 \geq 1000 µg/mL maka sampel bersifat tidak toksik [11]. Berdasarkan hasil analisa probit, nilai LC50 ekstrak daun kemiri sebesar 37,670 µg/mL. Nilai tersebut menunjukkan bahwa ekstrak daun kemiri bersifat sangat toksik.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun kemiri bersifat toksik terhadap larva *Artemia salina*

Leach. Adapun Nilai LC_{50} dari ekstrak daun kemiri terhadap larva *Artemia salina* Leach. sebesar 37,670 $\mu\text{g/mL}$ (sangat toksik).

REFERENSI

- [1] Copriady, J., and Herdini Miharty. "Gallokatekin: Senyawa Flavonoid Lainnya Dari Kulit Batang Rengas (*Gluta renghas* Linn.)." *Jurnal Natur Indonesia* 4.1 (2002): 1-6.
- [2] Anaba, Fajar, and Ni Luh Putu Ika Mayasari. "Potensi Infusa Kemiri (*Aleurites moluccana*) sebagai Analgesik dan Stimulator Stamina." *Acta Veterinaria Indonesiana* 9.1 (2021): 14-20.
- [3] Xiao, Xiao. "Natural flavonoids as promising analgesic candidates: a systematic review." *Chemistry & biodiversity* 13.11 (2016): 1427-1440.
- [4] Parasuraman, S. "Toxicological screening." *Journal of pharmacology & pharmacotherapeutics* 2.2 (2011): 74.
- [5] Meyer, B. N., "Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents." *Planta medica* 45.05 (1982): 31-34.
- [6] Handayani, V., Najib, A. "Uji toksisitas ekstrak etanol terpurifikasi biji mahoni (*Switenia mahagoni*)." *Jurnal Fitofarmaka Indonesia* 6.2 (2019): 360-362.
- [7] Perdana, Reska, and Tri Setyawati. "Uji In-Vitro Sensitivitas Antibiotik Terhadap Bakteri *Salmonella typhi* di Kota Palu." *Medika Tadulako: Jurnal Ilmiah Kedokteran Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan* 3.1 (2016): 11-22.
- [8] Whika, Febria Dewatisari, Rumiyanti Leni, and Rakhmawati Ismi. "Rendemen dan Skrining Fitokimia pada Ekstrak Daun *Sansevieria* sp." *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan* 17.3 (2017): 197-202..
- [9] Kristanti, Alfinda Novi. "Buku Ajar Fitokimia: Airlangga." (2008)..
- [10] Setiasih, Imas Siti. "Uji Toksisitas Kubis Bunga Diolah Minimal (KBDM) Hasil Ozonasi." *Jurnal Penelitian Pangan (Indonesian Journal of Food Research)* 1.1 (2016): 22-26.
- [11] Wulandari, Sri, and Budi Syahputra Rio. "Uji toksisitas ekstrak kulit batang rengas (*gluta renghas*) terhadap larva *artemia salina*." *Biogenesis* 13.1 (2016): 11-18.

TABEL

Tabel 1. Hasil perhitungan persen rendamen ekstrak daun kemiri

Sampel	Pelarut etanol 96% (mL)	Berat simplisia (g)	Berat ekstrak (g)	Rendamen ekstrak (%) (b/b)
Ekstrak daun kemiri	2.000	500	51,7	10,34

Tabel 2. Data hasil pengamatan kematian larva Artemia salina Leach selama 24 jam dari ekstrak daun kemiri menggunakan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

Sampel Uji	Replikasi	Jumlah larva udang yang mati tiap seri konsentrasi larutan sampel uji				
		5 ppm	10 ppm	20 ppm	50 ppm	Kontrol
Ekstrak daun kemiri	1	6	7	9	10	0
	2	5	6	8	10	0
	3	5	7	8	10	0
Total kematian		16	19	25	30	0
% kematian		53,33%	66,66%	83,33%	100%	-
Nilai Probit		5,08	5,41	5,95	8,09	-

Tabel 3. Perhitungan nilai LC50

No.	Log konsentrasi (X)	Probit (Y)	X ²	Y ²	XY
1.	1,698	5,08	2,883204	25,8064	8,62584
2.	1,301	5,41	1,692601	29,2681	7,03841
3.	1	5,95	1	35,4025	5,95
4.	0,698	8,09	0,487204	65,4481	5,64682
	$\Sigma = 4,697$	$\Sigma = 24,53$	$\Sigma = 6,063009$	$\Sigma = 155,925$	$\Sigma = 27,26107$

Tabel 4. Perhitungan standar devisasi dan standar error dari ekstrak

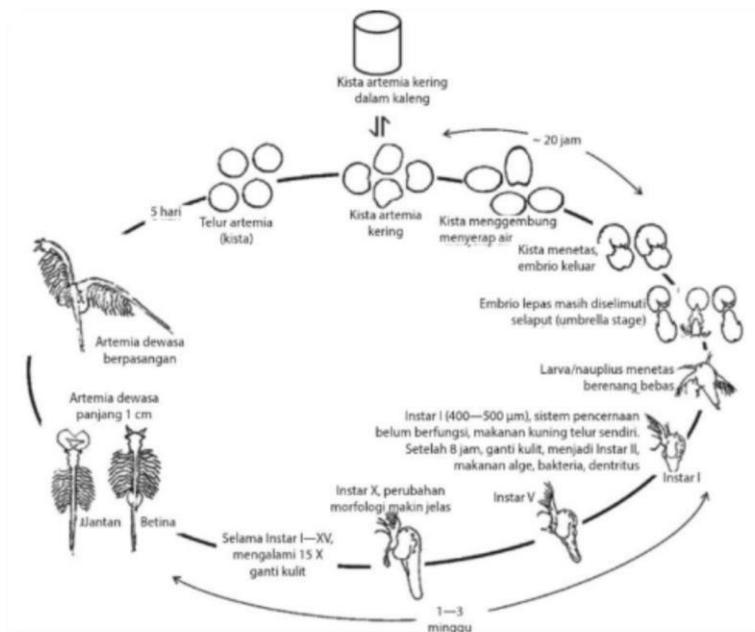
Sampel	Y	Y ²
1	6	36
2	7	49
3	9	81
4	10	100
5	5	25
6	6	36
7	8	64
8	10	100
9	5	25
10	7	49
11	8	64
12	10	100
Total	91	729

GAMBAR

Gambar 1. Sampel Daun Kemiri



Gambar 2. Siklus hidup Artemia salina Leach. (Instar 1 – Instar 15)

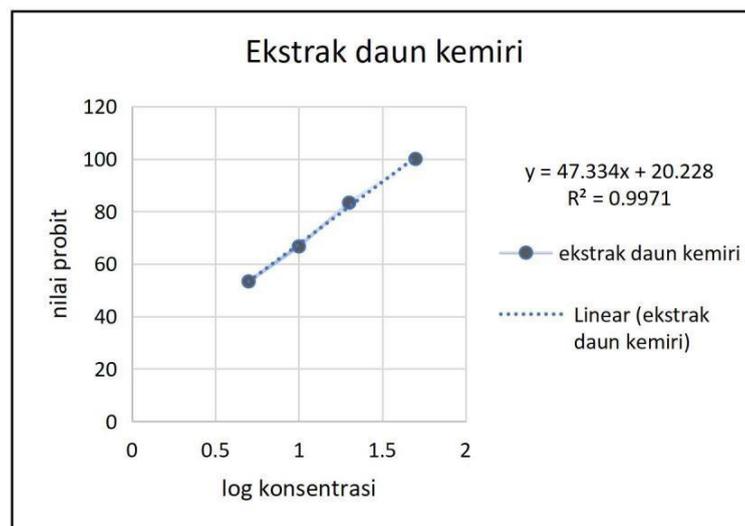


Gambar 3. Nilai Probit Sesuai Persentasenya

Presentase	Probit									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2,67	2,95	3,12	3,25	3,36	3,45	3,52	3,59	3,66
10	3,72	3,77	3,82	3,87	3,93	3,95	4,01	4,05	4,08	4,12
20	4,17	4,19	4,23	4,26	4,29	4,33	4,36	4,39	4,42	4,45
30	4,48	4,50	4,53	4,56	4,59	4,61	4,64	4,67	4,69	4,72
40	4,75	4,77	4,80	4,82	4,85	4,87	4,90	4,92	4,95	4,97
50	5,00	5,03	5,05	5,08	5,10	5,132	5,15	5,18	5,20	5,23
60	5,25	5,28	5,31	5,33	5,36	5,39	5,41	5,44	5,74	5,50
70	5,52	5,55	5,58	5,61	5,64	5,67	5,71	5,74	5,77	5,81
80	5,84	5,88	5,92	5,95	5,99	6,04	6,08	6,13	6,18	6,23
90	6,28	6,34	6,41	6,48	6,55	6,64	6,75	6,88	7,05	7,33
	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
99	7,33	7,37	7,41	7,46	7,51	7,58	7,65	7,75	7,88	8,09

(Sumber: Paulus 2020).

Gambar 4. Grafik hubungan log konsentrasi terhadap harga probit dari ekstrak daun kemiri



Gambar 5. Hasil Uji BSLT dengan konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm dan 50 ppm

