

UJI TOKSISITAS KONSENTRASI EKSTRAK DAUN PEDADA (*SONNERATIA CASEOLARIS*) TERHADAP JUMLAH KEMATIAN DARI LARVA UDANG (*ARTEMIA SALINA LEACH*)

**Eko Retnowati*, Arina Zulfah Primananda, Wahid Sabaan, Hasriyani, Yayuk
Mundriyastutik, Febiana Ayu Rahmadani**

Prodi S-1 Farmasi, Fakultas Farmasi, Muhammadiyah Kudus
Jl. Ganesha No.1 Purwosari Kudus 59316

*Corresponding author: ekoretnowati@umkudus.ac.id

Info Artikel	Abstrak
<p>DOI : doi.org/10.26751/ijf.v9i1.2436</p> <p>Article history: Received 2024-06-06 Revised 2024-08-11 Accepted 2024-08-14</p> <p>Kata Kunci: <i>Artemia salina</i> Leach, BSLT, Daun Pedada, Toksisitas%</p>	<p>Daun pedada (<i>Sonneratia caseolaris</i>) adalah salah satu tanaman herbal yang dikenal memiliki efek sebagai obat. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan toksisitas ekstrak daun pedada pada larva udang <i>Artemia salina</i> L. menggunakan metode <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT). Metode Penelitian adalah eksperimental laboratorium dengan menggunakan sampel 120 ekor larva udang (<i>Artemia salina</i> Leach) terbagi menjadi 1 kelompok kontrol negatif dan 3 kelompok seri dengan perbedaan konsentrasi ekstrak. Setiap kelompok perlakuan 10 larva udang dilakukan pengulangan 3 kali. Konsentrasi ekstrak metanol daun pedada 10 ppm, 100 ppm, dan 1.000 ppm diberikan pada masing-masing kelompok perlakuan. Untuk mengetahui Nilai LC₅₀ data kematian <i>Artemia salina</i> L dianalisis nilai probitnya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun pedada adalah 10771 ppm. Harga LC₅₀ diatas 1000 ppm menunjukkan bahwa ekstrak daun pedada tidak toksik.</p> <p style="text-align: center;">Abstract</p> <p><i>Sonneratia caseolaris</i> is one of the herbal plants known to have medicinal effects. This study aims to determine the toxicity of pedada leaf extract on the larvae of shrimp <i>Artemia salina</i> L. using the method of <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT). The research method is experimental laboratory using samples of 120 shrimp larvae (<i>Artemia salina</i> Leach) divided into 1 negative control group and 3 series groups with differences in extract concentration. Each treatment group of 10 shrimp larvae was repeated 3 times. Methanol leaf extract concentrations of 10 ppm, 100 ppm and 1,000 ppm were given to each treatment group. To find out the LC₅₀ data death <i>Artemia salina</i> L analyzed the probit value. The results of the research showed that the leaf extract is 10771 ppm. The price of LC₅₀ above 1000 ppm indicates that leaf extracts are non-toxic.</p> <p style="text-align: center;"><small>This is an open access article under the CC BY-SA license.</small></p>

I. PENDAHULUAN

Salah satu tumbuhan yang dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai tumbuhan obat adalah tumbuhan Pedada (*Sonneratia caseolaris*). Secara tradisional masyarakat menggunakan daun pedada untuk mengobati luka, memar, keseleo, dan bengkak. Daun-daunnya yang dihaluskan juga dapat digunakan untuk mengobati cacar (Fitrah et al., 2018).

Penelitian Puspitasari et al., (2022) menyebutkan daun pedada mengandung senyawa flavonoid total 3,5370 mg/ml, tannin total 1,6667 mg/ml, dan fenolik total 5,9167 mg/ml. Daun pedada (*Sonneratia caseolaris*) juga mempunyai kemampuan sebagai antidiabetes, antioksidan, antikanker, antiinflamasi (Surya, 2018). Husniar et al (2018) mengenai uji toksisitas fraksi daun pedada (*Sonneratia caseolaris*) dengan perbandingan pelarut n-heksan, etil asetat, etanol dan air dengan seri konsentrasi 10 ppm, 100 ppm, 1000 ppm, diperoleh hasil bahwa dengan nilai LC_{50} 28,18 $\mu\text{g/ml}$ ekstrak daun pedada menunjukkan aktivitas toksik yang lebih tinggi dibandingkan dengan nilai LC_{50} n-heksan 3.019 $\mu\text{g/ml}$, ekstrak etil asetat dengan nilai LC_{50} 53.703 $\mu\text{g/ml}$, dan ekstrak air LC_{50} 138,03 $\mu\text{g/ml}$. (Fitrah et al., 2018).

Uji toksisitas digunakan untuk mengukur bagaimana dosis tunggal dari suatu campuran zat kimia mampu mempengaruhi hewan coba. Metode yang digunakan untuk uji toksisitas metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) yaitu uji toksisitas ekstrak terhadap larva udang *Artemia salina* Leach. BSLT merupakan suatu *bioassay* sebagai metode awal untuk penelitian bahan alam yang bersifat toksik dan juga digunakan sebagai skrining awal senyawa antikanker karena relatif sederhana, murah, cepat, dan memiliki hasil dapat diandalkan.

Metode BSLT menggunakan hewan uji berupa larva udang (*A. salina* Leach) dan organisme sederhana dari biota laut yang sangat kecil dan mempunyai kepekaan yang cukup tinggi terhadap toksik. Prinsip metode ini didasarkan pada tingkat kematian larva udang (*A. salina* Leach) terhadap sampel uji. Hasil yang diperoleh dihitung sebagai nilai

LC_{50} (*Median Lethal Concentration*) ekstrak uji, yaitu jumlah dosis atau konsentrasi ekstrak yang dapat menyebabkan sejumlah 50% kematian larva udang setelah masa inkubasi selama 24 jam. Pengujian ini dapat digunakan sebagai uji pendahuluan pada penelitian bioaktivitas lebih lanjut (Meyer et al.1982).

Tujuan dari penelitian adalah untuk mendapatkan tingkat toksisitas pada konsentrasi uji ekstrak daun Pedada menggunakan BSLT Kelompok eksperimen dengan variasi konsentrasi ekstrak metanol daun pedada (*Sonneratia caseolaris*). Berdasarkan hasil uji pelarut menunjukkan bahwa methanol menghasilkan toksisitas yang lebih sensitif dibanding pelarut lainnya. Manfaat dari pengujian akan mendapatkan pelarut yang lebih sesuai untuk ekstraksi daun pedada sebagai kandidat obat antikanker.

II. METODE PENELITIAN

Desain penelitian ini adalah eksperimental laboratorium variabel bebas pada penelitian ini adalah toksisitas ekstrak metanol daun pedada (*Sonneratia caseolaris*). Variabel terikat dalam penelitian ini adalah angka kematian dari larva udang *Artemia salina* Leach. Populasi yang digunakan adalah daun pedada (*Sonneratia caseolaris*) segar diperoleh dari Demak Sayung, Jawa Tengah dengan teknik *purposive sampling*.

Alat yang digunakan adalah blender (Philips), *rotary vacuum evaporator*, batang pengaduk (iwaki®), thermometer (pyrex®), gelas ukur (pyrex®), gelas beaker (pyrex®), labu takar (pyrex®), corong kaca (herma®), timbangan (pyrex®), pH universal, neraca analitik, pipet tetes, kertas label, kertas saring, pisau, *aluminium foil*, vial, *sterofoam*, lakban hitam, wadah kaca transparan dan lampu neon.

Bahan yang digunakan pada penelitian adalah air laut, telur udang *A. salina*, HCl, serbuk magnesium, pereaksi dragendroff, pereaksi meyer, FeCl_3 , aquadest dan ekstrak metanol daun pedada (*Sonneratia caseolaris*) 10 ppm, 100 ppm, dan 1000ppm.

Prosentase kematian tiap konsentrasi larva *A. Salina Leach* dihitung dengan

menganalisa jumlah kematian diperoleh dengan mengalikan rasio dengan 100% yang berarti jumlah larva mati dibagi jumlah total larva awal dikalikan 100 persen pada tiap konsentrasi. Selanjutnya nilai LC50 dihitung dengan membandingkan kontrol negatif dan analisis hasil (Vincent, 2013). Dari hasil persen kematian dilanjutkan mencari nilai probit. Menghitung log konsentrasi dan membuat grafik menggunakan persamaan garis lurus rumus $y = aX + b$. Keterangan : y adalah angka probit dan x adalah log konsentrasi (Asem et al., 2010)

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi

Determinasi merupakan proses pencocokan ciri morfologi tumbuhan dengan kunci determinasi untuk memastikan keabsahan terkait ciri morfologi mikroskopis tanaman daun pedada (*Sonneratia caseolaris*) sesuai dengan kepustakaan. Hasil uji determinasi menunjukkan kebenaran karena sesuai dengan ciri dan morfologi tanaman tanaman pedada (*Sonneratia caseolaris*).

Penetapan Kadar Air Simplisia

Pengeringan daun pedada segar dengan cara diangin-anginkan selama 8 hari. Simplisia kering diserbukkan dan diuji kadar airnya menggunakan alat *Moisture Balance*. Berdasarkan hasil pengukuran kadar air simplisia yang telah dilakukan diperoleh hasil 5,39% yang berarti bahwa simplisia telah sesuai dengan standar Farmakope Herbal Indonesia, dimana syarat kadar air simplisia pada umumnya adalah <10%. (*Farmakope Herbal Indonesia*, 2017).

Hasil rendeman

Penggunaan metode ekstraksi daun pedada adalah maserasi menggunakan pelarut methanol. Ekstraksi dilakukan selama 3x24 jam dengan perbandingan sampel dan pelarut 1:7. Hasil ekstraksi yang dihasilkan kemudian disaring dan diuapkan menggunakan alat *Vacum Rotary Evaporator* dan *waterbath*.

Tabel 4.2 Hasil rendeman ekstrak Tanaman Daun Pedada (*Sonneratia caseolaris*).

Berat simplisia kering	pelarut	Berat Ekstrak	Rendemen
300 gram	2,1 Liter metanol	54,1776 gram	18,05 %

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan nilai rendemen ekstrak metanol daun pedada sebesar 18,05% yang berarti bahwa hasil maserasi telah sesuai dengan standar Farmakope Herbal Indonesia, dimana hasil rendemen dikatakan baik apabila >10%. (*Farmakope Herbal Indonesia*, 2017)

Uji Bebas Metanol

Uji bebas metanol dilakukan dengan menggunakan organoleptis dengan indra penciuman yang bertujuan untuk membuktikan tidak terdapat kandungan methanol pada hasil ekstraksi daun pedada (*sonneratia caseolaris*). Hasil penelitian diperoleh tidak tercium bau methanol

Hasil skrinning fitokimia

Skrinning fitokimia yang dilakukan pada bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa yang terdapat pada sampel tanaman daun pedada.

Tabel 4.4 Hasil Skrinning fitokimia ekstrak tanaman daun pedada (*Sonneratia caseolaris*).

Senyawa	Pereaksi	Hasil
Flavonoid	Serbuk Mg + HCl	(+) larutan merah
Alkaloid	HCl 2N, Pereaksi dragendroff, Pereaksi meyer	(+) endapan jingga
Tannin	FeCl ₃ 1%	(+) larutan hijau kehitaman
Saponin	Aquades panas + HCl 2N	(+) busa stabil

Senyawa flavonoid berfungsi sebagai inhibitor sistem pernafasan, menimbulkan gangguan syaraf dan merusak system pernafasan sehingga larva tidak bisa bernafas ,layu dan mati (Yallac et al., 2022).

Senyawa flavonoid juga dapat menyebabkan terganggunya metabolisme energi dalam mitokondria dengan cara

menghambat sistem transport elektron atau menghalangi *coupling* antara sistem transport dengan produksi Adenosina trifosfat (ATP). Hambatan pada sistem transport mencegah produksi ATP melalui penurunan penggunaan oksigen oleh mitokondria. Pertumbuhan dan perkembangan larva maupun serangga dapat terganggu akibat sifat repellent dan antifeedant dari senyawa alkaloid(Kurniawan & Ropiqa, 2021).

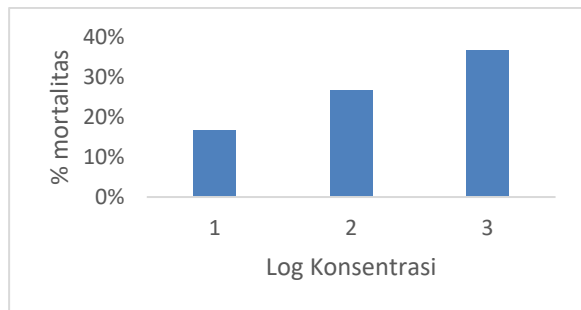
Hasil Pengujian Toksisitas Ekstrak Daun Pedada (*Sonneratia caseolaris*)

Hasil uji toksistas terhadap jumlah kematian larva *Artemia salina Leach* setelah 24 jam pada konsentrasi ekstrak daun pedada (*Sonneratia caseolaris*) didapatkan hasil sebagai berikut:

Tabel 4.5 Uji toksistas konsentrasi ekstrak daun pedada (*Sonneratia caseolaris*) pada angka kematian larva udang *Artemia salina Leach*.

Replikasi	Angka Kematian Larva (n=10)			
	Kontrol negatif	10 ppm	100 ppm	1000 ppm
1	0	2	3	4
2	0	1	2	4
3	0	2	3	3
total	0	5	8	11
Rata-rata	0	1,67	2,67	3,67
%	0	17	27	37

Hasil penelitian pada larva udang *Artemia salina Leach* 120 ekor dan pengulangan 3 kali menunjukkan korelasi antara angka kematian larva *Artemia salina leach* dengan konsentrasi ekstrak terlarut dalam metanol disajikan dalam diagram berikut:



Gambar 4. Grafik Pengaruh Konsentrasi Ekstrak daun pedada (*Sonneratia caseolaris*) pada jumlah kematian Larva *Artemia salina Leach*

Hasil grafik menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun pedada (*Sonneratia caseolaris*) maka akan semakin tinggi toksisitasnya. Hasil yang didapatkan sesuai dengan teori HA et al., (2012), yaitu makin tingginya konsentrasi ekstrak maka semakin tinggi pula angka kematian larva. Hasil perhitungan data pengamatan terdapat pada tabel 4.6.

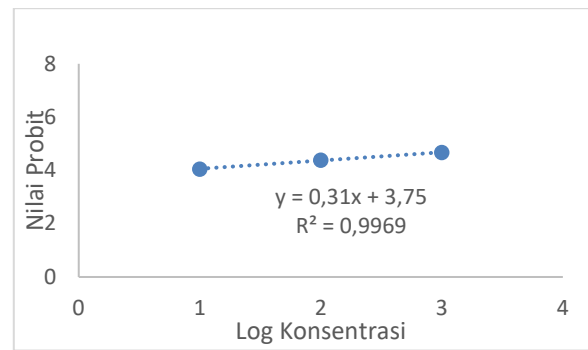
Tabel 4.6 hasil perhitungan data pengamatan

C ppm	Log C	Larva (N=10)			%	NP
		R1	R2	R3		
10	1	2	1	2	17	2
100	2	3	2	3	27	4
1000	3	4	4	3	37	4

Keterangan :

C = Konsentrasi sampel

NP = nilai Probit



Gambar 4.2 Grafik Regresi Linier Konsentrasi Ekstrak Daun Pedada *Sonneratia caseolaris* pada Nilai Probit

Perhitungan LC₅₀ dilakukan dengan menggunakan rumus $y = aX + b$:

$$y = 5$$

$$a = 0.31$$

$$b = 3.75$$

$$5 = 0.31x + 3.75$$

$$x = (5 - 3.75) : 0.31$$

$$x = 4.03225$$

$$LC_{50} = \text{anti log } x = 10771 \text{ ppm}$$

Didapatkan nilai LC₅₀ sebesar 10771 ppm. Ekstrak dinyatakan toksik apabila nilai LC₅₀ <1000 ppm, dan jika > 1000 ppm maka ekstrak tersebut tidak toksik.

IV. KESIMPULAN

Simpulan hasil penelitian yang telah dilakukan bahwa :

1. Nilai perhitungan LC₅₀ ekstrak daun pedada (*Sonneratia caseolaris*) pada larva udang (*Artemia salina* L.) sebesar 10771 ppm.
2. Ekstrak daun pedada (*Sonneratia caseolaris*) tidak terdapat efek toksik.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson, J. E., Goetz, C. M., McLaughlin, J. L., & Suffness, M. (1991). A blind comparison of simple bench-top bioassays and human tumour cell cytotoxicities as antitumor prescreens. *Phytochemical Analysis*, 2(3), 107–111. <https://doi.org/10.1002/pca.2800020303>
- Asem, A., Pouyani, N. R., & Escalante, P. D. L. R. (2010). The genus *Artemia* Leach, 1819 (Crustacea: Branchiopoda). I. True and false taxonomical descriptions. <https://doi.org/10.3856/vol38-issue3-fulltext-14>
- Colegate, S. M., & Molyneux, R. J. (Eds.). (2008). *Bioactive natural products: Detection, isolation, and structural determination* (2nd ed). CRC Press.
- Emilan, T., Kurnia, A., Utami, B., Diyani, L. N., & Maulana, A. (2011). *Konsep Herbal Indonesia: Pemastian Mutu Produk Herbal*. Universitas Indonesia.
- Farmakope Herbal Indonesia (Kedua). (2017). *Departemen Kesehatan Republik Indonesia*.
- Fitrah, M., Tahar, N., & Husniar. (2018). Uji toksisitas fraksi daun pedada (*Sonneratia caseolaris* L.) Terhadap larva udang (*Artemia salina* leach) dengan menggunakan metode brine shrimp lethality test (BSLT). 7, 6.
- HA, A., Pringgenies, D., & Yudiati, E. (2012). Uji Toksisitas Ekstrak Kloroform Cangkang dan Duri Landak Laut (*Diadema setosum*) Terhadap Mortalitas Nauplius *Artemia* sp. 1, 75–83.
- Jelita, S. F., Setyowati, G. W., Ferdinand, M., & Zuhrotun, A. (n.d.). Uji TOKSISITAS infusa *Acalypha siamensis* dengan metode brine shrimp lethality test (BSLT). 18.
- Kristanti, A. N. (2008). *Buku ajar fitokimia* (Cet. 1). Airlangga Universitas Press.
- Kurniawan, H., & Ropiqa, M. (2021). Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Ekor Kucing (*Acalypha hispida* Burm.f.) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, 3(2), 52–62. <https://doi.org/10.37311/jsscr.v3i2.11398>
- Kusmana, C., Hikmat, A., & Departemen Konservasi Sumberdaya Hutan dan Ekowisata, Fakultas Kehutanan, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680. (2015). The Biodiversity of Flora in Indonesia. *Journal of Natural Resources and Environmental Management*, 5(2), 187–198. <https://doi.org/10.19081/jpsl.5.2.187>
- McLaughlin, J. L. (1991). Crown gall tumours on potato discs and brine shrimp lethality: Two simple bioassays for higher plant screening and fractionation (Vol. 6).
- Meyer, B., Ferrigni, N., Putnam, J., Jacobsen, L., Nichols, D., & McLaughlin, J. (1982). Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Planta Medica*, 45(05), 31–34. <https://doi.org/10.1055/s-2007-971236>
- Priyanto, & Sunaryo, H. (2015). *Toksikologi: Mekanisme, Terapi Antidotum dan Penilaian Resiko Lembaga Studi Dan Konsultasi Farmakologi* (Cet. 3). Lembaga Studi dan Konsultasi Farmakologi (Leskonfi).
- Puspitasari, Y. E., Hardoko, H., Sulistiyati, T. D., Fajrin, A. N., & Tampubolon, H. O. (2022). Identifikasi Senyawa Fitokimia dari Daun Mangrove *Sonneratia alba* dan Analisis In Silico Sebagai Antidiabetes. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*, 27(2), 241. <https://doi.org/10.31258/jpk.27.2.241-248>

- Solis, P., Wright, C., Anderson, M., Gupta, M., & Phillipson, J. (1993). A Microwell Cytotoxicity Assay using *Artemia salina* (Brine Shrimp). *Planta Medica*, 59(03), 250–252. <https://doi.org/10.1055/s-2006-959661>
- Surya, A. (2018). Toksisitas ekstrak metanol kulit jengkol. *Jurnal Rekayasa Sistem Industri*, 3.
- Vincent, K. (2013). Probit Analys. <https://pdf4pro.com/view/probit-analysis-by-kim-vincent-19f45d.html>
- Winarti, W., Rahardja, B. S., & Sudarno, S. (2020). Antioxidant Activity *Sonneratia caseolaris* Leaves Extract at Different Maturity Stages. *Journal of Marine and Coastal Science*, 8(3), 130. <https://doi.org/10.20473/jmcs.v8i3.21163>
- Yallac, F. I., Novi, C., & Abdilah, N. A. (2022). Efikasi biopeptisida ekstrak *etlingera elatior* (jack) r.m.sm. Terhadap mortalitas larva *Spodoptera litura*