



**TOKSISITAS EKSTRAK METANOL DAUN KETAPANG (*Terminalia catappa*)  
TERHADAP LARVA *Artemia salina* Leach MENGGUNAKAN  
METODE *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)**

**Alfin Surya, Wira Bayu Darmawan**

Program Studi D-3 Teknologi Laboratorium Medis Akademi Analis Kesehatan  
Pekanbaru Jl. Riau Ujung No. 73 Pekanbaru  
E-mail: [alfin.surya@yahoo.co.id](mailto:alfin.surya@yahoo.co.id)

**Info Artikel**

*Sejarah Artikel:*

Diterima Oktober 2018  
Disetujui Noveber 2018  
Dipublikasikan Desember  
2018

*Keywords:*

Daun ketapang, *Artemia salina* Leach, BSLT, LC<sub>50</sub>, Flavonoid, fenolik dan Saponin

**Abstrak**

Daun ketapang merupakan salah satu bahan obat tradisional yang dapat menyembuhkan berbagai penyakit seperti insomnia, liver, kardiovaskular dan pernafasan. Penelitian ilmiah sebelumnya menyatakan daun ketapang mengandung senyawa flavonoid, fenolik dan saponin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui toksisitas dari ekstrak metanol daun ketapang menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Ekstrak dibuat dengan cara maserasi menggunakan pelarut metanol. Uji toksisitas dilakukan dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach yang berumur 48 jam. Efek toksik ekstrak diidentifikasi dengan presentase kematian larva udang menggunakan analisis probit (LC<sub>50</sub>). Daun ketapang memiliki kandungan fitokimia meliputi flavonoid dan saponin. Penelitian ini menunjukkan ekstrak daun ketapang bersifat sangat toksik (LC<sub>50</sub> sebesar 56 ppm) sehingga bisa dijadikan bahan obat.

Kata kunci : Daun ketapang, *Artemia salina* Leach, BSLT, LC<sub>50</sub>, Flavonoid, fenolik dan Saponin

**Abstract**

Ketapang leaves is one of the traditional medicine ingredients that can cure various diseases such as insomnia, liver, cardiovascular and respiratory. Previous scientific research states that ketapang leaves contain flavonoids, fenolix and saponins. This study aims to determine the toxicity of ketapang leaf methanol extract using Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method. The extract was prepared by maceration using methanol solvent. Toxicity test was performed using 48-hour *Artemia salina* Leach shrimp larvae. Toxic effects of the extract were identified with the percentage of shrimp larvae mortality using probit analysis (LC<sub>50</sub>). Ketapang leaves contain phytochemicals including flavonoids and saponins. This research shows that ketapang leaf extract is very toxic (LC<sub>50</sub> of 56 ppm) so it can be used as medicine material.

Keywords: Leaf Ketapang, *Artemia salina* Leach, BSLT, LC<sub>50</sub>, Flavonoids, fenolix and saponins

## PENDAHULUAN

Tumbuhan ketapang adalah tumbuhan tropis yang memiliki daun yang berukuran lebar dan rindang. Pohon ini menggugurkan daunnya setiap hari sehingga dapat mengotori lingkungan dan merusak pemandangan, pohon ketapang juga meluruhkan daunnya paling tidak dua kali dalam setahun sehingga sulit untuk membersihkannya sekaligus.

Menurut (Jaziroh,2008), Tumbuhan ketapang dimanfaatkan oleh masyarakat untuk mengobati beberapa penyakit diantaranya penyakit kardiovaskular, liver, kulit, pernafasan, perut dan insomnia. Khasiat tanaman ketapang ini tidak lepas dari senyawa yang terkandung didalam tanaman ketapang itu sendiri. Ketapang diketahui mengandung senyawa obat seperti flavonoid, triterpenoid, tanin, alkaloid, steroid dan asam lemak.

Uji toksisitas metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) merupakan uji pendahuluan yang dapat digunakan untuk memantau senyawa bioaktif dari bahan alami. Adanya korelasi positif antarmetode BSLT dengan uji sitotoksik menggunakan kultur sel kanker maka metode ini sering dimanfaatkan untuk skrining senyawa antikanker. Metode tersebut memiliki beberapa keuntungan antara lain lebih cepat, murah, mudah, tidak memerlukan kondisi aseptis dan dapat dipercaya. Suatu ekstrak tumbuhan dapat dikatakan memiliki aktivitas antikanker dengan metode BSLT jika nilai  $LC_{50}$  kurang dari 1000  $\mu\text{g/mL}$ . Pengujian toksisitas tersebut menggunakan hewan uji *Artemia salina* Leach. untuk menentukan nilai  $LC_{50}$  (Meyer dkk., 1982).

Berdasarkan latar belakang diatas, semakin berkembangnya penelitian dan penggunaan obat-obat tradisional, maka penelitian ini dimaksudkan untuk menguji toksisitas dari ekstrak metanol daun ketapang terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), sehingga diharapkan hasil penelitian ini dapat menjadi informasi untuk penelitian lebih lanjut dalam mengisolasi senyawa yang sitotoksik untuk dijadikan obat kanker atau penelitian lain tentang khasiat lain dari tanaman ini.

## METODE

Alat yang digunakan adalah batang pengaduk, corong, gelas ukur, mikropipet, neraca analitik, tabung reaksi, pipet tetes, aluminum foil, botol coklat, kertas saring, botol vial, seperangkat alat penetasan telur, bejana kaca maserasi, lup, cawan petri, plat tetes dan kaca arloji. Sedangkan Bahan yang digunakan adalah Air laut, akuades, serbuk kering daun ketapang, pelarut metanol, DMSO,  $\text{FeCl}_3$  1%, logam magnesium, HCl pekat dan telur udang *Artemia salina* Leach.

## PROSEDUR KERJA

### 1. Persiapan dan ekstraksi daun matoa dengan maserasi

Metode ekstraksi dilakukan secara maserasi. Simplisia daun yang sudah dipotong kecil – kecil sebanyak 10 gram dimasukkan ke dalam bejana kaca maserasi yang bebas dari cahaya matahari, kemudian di maserasi selama 3 hari dengan menggunakan pelarut metanol. Selama proses maserasi dilakukan pengocokan sekali sehari agar pelarut masuk keseluruh permukaan serbuk simplisia dan meratakan konsentrasi larutan. Kemudian hasil rendaman disaring untuk memisahkan filtrat dan ampasnya. Filtrat dianginkan hingga kering dan didapatkan ekstrak metanol.

### 2. Penetesan Larva *Artemia salina*

Wadah plastik disiapkan untuk penetasan telur udang. Wadah dibagi menjadi dua bagian, yaitu ruang terang dan ruang gelap. Kedua bagian tersebut dibatasi dengan sterofoam yang pada tepi bawahnya telah dilubangi sebagai tempat keluarnya telur yang telah menetas.

Masukkan 1 liter air laut ke dalam wadah hingga kedua lubang pada sterofoam terendam. Salah satu ruang dalam wadah tersebut diberi penerangan dengan cahaya lampu pijar untuk menghangatkan suhu dalam penetasan dan merangsang proses penetasan. Untuk penerangan, lampu dinyalakan selama 48 jam untuk menetas telur. Untuk ruangan yang satunya, diisi 1 gram telur udang di bagian gelap tanpa penyinaran ditutup dengan aluminium foil dan lakban hitam. Setelah 48 jam, telur akan menetas menjadi larva dan akan bergerak secara alamiah menuju ruang terang. Larva yang sehat bersifat fototropik dan dapat dijadikan hewan uji pada metode BSLT.

### 3. Prosedur Kerja Uji Toksisitas Dengan Metode BSLT (Zou dkk., 2014)

Kista udang *Artemia salina* Leach ditetaskan dalam wadah pembiakan yang berisi air laut, dan digunakan setelah 48 jam setelah larva menetas. Pengujian ini dilakukan dengan konsentrasi 1000, 100, 10 ppm dengan pengulangan masing masing sebanyak 3 kali. Sebanyak 0.22 g ekstrak uji dilarutkan dalam 22 mL metanol (larutan induk 10.000 ppm). Pembuatan konsentrasi 1000 ppm dengan cara pengenceran larutan induk 10.000 ppm sebanyak 2 mL ditambahkan metanol sebanyak 18 mL maka diperoleh konsentrasi ekstrak uji 1000 ppm kemudian sebanyak 2 mL ditambahkan metanol sebanyak 18 mL maka diperoleh konsentrasi ekstrak uji 100 ppm sebanyak 2 mL ditambahkan metanol sebanyak 18 mL maka diperoleh konsentrasi ekstrak uji 10 ppm.

Masing masing vial uji dibiarkan metanolnya menguap larutan kembali ekstrak uji dengan DMSO sebanyak 50  $\mu$ L, selanjutnya tambahkan air laut hingga batas kalibrasi (5 mL). Masukkan larva udang pada masing masing vial sebanyak 10 ekor. Kemudian amati larva udang setelah 24 jam. Dari data yang dihasilkan di hitung  $LC_{50}$  dengan metode kurva menggunakan tabel probit. Untuk kontrol, DMSO sebanyak 50  $\mu$ L dipipet menggunakan pipet mikro kedalam vial uji, dan ditambahkan air laut. Masukkan larva *Artemia salina* Leach 10 ekor. Masing masing konsentrasi dibuat pengulangan.

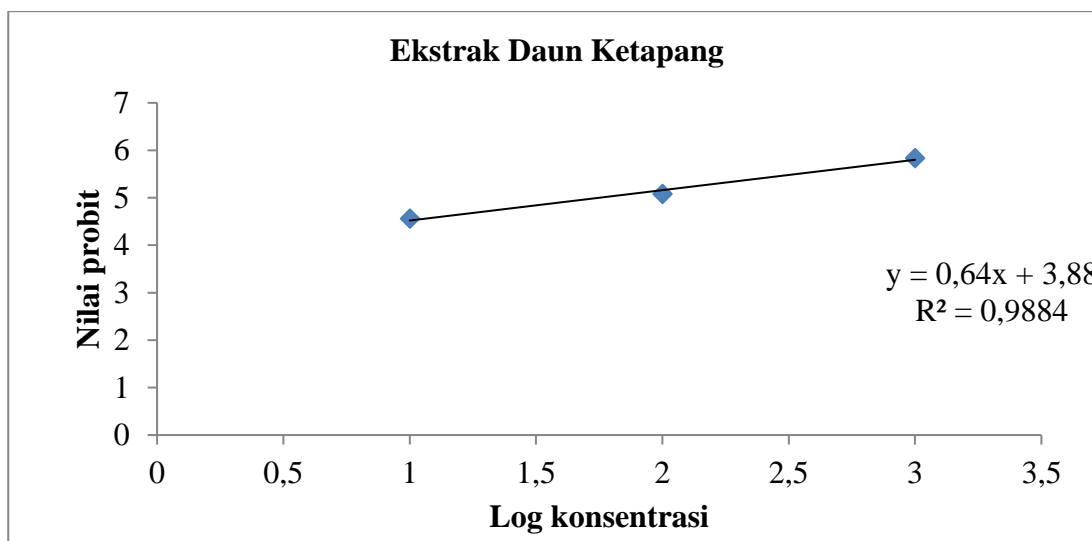
## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil dari penelitian ini dapat terlihat pada tabel 1.

Tabel 1. Uji toksisitas ekstrak metanol daun ketapang

No	Sampel	Kons. (x)	$\sum$ Larva tiap vial uji	$\sum$ Larva mati				% Kematian	Log Kons (x)	Nilai probit (y)	LC <sub>50</sub>
				P1	P2	P3	$\sum$				
1	Ekstrak	10	10	3	4	3	10	33	1	4,56	56 ppm
		100	10	5	5	6	16	53	2	5,08	
		1000	10	9	7	8	24	80	3	5,84	
2	Kontrol		10	0	0	0	0	0	-	-	0

Sedangkan Pembahasan dari Hasil penelitian dapat dilihat pada Gambar 1



Gambar 1. Grafik Nilai Probit Toksisitas Ekstrak Metanol Daun Ketapang

Sedangkan perhitungan LC<sub>50</sub> nya sebagai berikut :

$$\begin{aligned}
 y &= 5 \\
 5 &= 0,64x + 3,88 \\
 x &= \frac{5-3,88}{0,64} = 1,75 \\
 LC_{50} &= \text{antilog}(1,75) \\
 &= 56 \text{ ppm}
 \end{aligned}$$

## PEMBAHASAN

Hasil ekstraksi yang diperoleh ekstrak sebanyak 0.22 gram berwarna coklat. Hasil ekstraksi daun ketapang didapat dengan mencari selisih yaitu berat akhir vial yang berisi ekstrak dikurangi berat awal vial yang kosong. Pada penelitian ini didapatkan bahwa ekstrak daun ketapang memiliki potensi toksisitas. Hal tersebut berkaitan dengan senyawa yang terdapat dalam daun ketapang yaitu saponin dan flavonoid. Mekanisme kematian larva berhubungan dengan fungsi senyawa saponin dan flavonoid dalam daun ketapang yang dapat menghambat daya makan larva.

Menurut Cahyadi (2009) mekanisme dari senyawa saponin dan flavonoid memiliki mekanisme efek antikanker yang berfungsi sebagai *stomach poisoning*. Oleh karena itu, bila tersebut masuk ke dalam tubuh larva, alat pencernaannya akan terganggu. Selain itu, senyawa tersebut akan menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva. Hal ini mengakibatkan larva tidak mendapatkan stimulus rasa sehingga tidak mampu mengenali makanannya sehingga larva mati kelaparan.

Uji toksisitas metode BSLT merupakan metode awal terhadap. Hasil uji toksisitas menunjukkan konsentrasi ekstrak daun ketapang dapat membunuh larva *Artemia salinasecara* berturut-turut dengan konsentrasi 10 ppm, 100 ppm dan 1000 ppm. Jumlah larva tiap vial adalah 10 ekor dan tiap konsentrasi dilakukan tiga kali pengulangan. Jumlah total larva *Artemia salinayang* digunakan adalah 100 ekor larva. Larva yang digunakan berumur 48 jam, karena pada umur ini anggota tubuh larva sudah lengkap. Dalam mengamati pertumbuhan dan perkembangan larva sampai pada pengujian toksisitas, digunakan alat bantu untuk yaitu kaca pembesar.

Hasil nilai probit menunjukkan nilai LC<sub>50</sub> dari ekstrak daun ketapang adalah 56ppm. Menurut Meyer dkk., (2010) bahwa suatu ekstrak menunjukkan aktivitas ketoksikan dalam uji

toksisitas jika ekstrak dapat menyebabkan kematian 50% hewan uji pada konsentrasi < 1000 ppm. Berdasarkan dari pernyataan tersebut maka ekstrak daun ketapang bersifat toksik. Hal ini ditunjukkan dari nilai LC<sub>50</sub> yang diperoleh yaitu 56 ppm.

## **KESIMPULAN**

Pada penelitian uji fitokimia diperoleh hasil bahwa pada ekstrak daun ketapang mengandung golongan senyawa flavonoid, fenolik dan saponin. Serta uji toksisitas dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun ketapang diperoleh nilai LC<sub>50</sub> 56 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa sampel sangat toksik terhadap uji kematian larva.

## **UCAPAN TERIMA KASIH**

Ucapan terima kasih kepada pihak terkait yang telah membantu dan bekerja sama demi kelancaran penelitian ini

## **DAFTAR PUSTAKA**

- Jaziroh, S. 2008. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Aktif Dalam Ekstrak n-Heksana Daun Ketapang (*terminalia catappa* L). Skripsi. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Meyer, B. N., Ferrigini, N. R., Putman, J. E., Jacobsen, L. B., Nicols, D. E dan McLaughlin, J. L. 2010. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay For Active Plant Constituent. *Plant Medica*. Volume 45 (5): Halaman 31 – 34.
- Cahyadi, R. 2009. Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Buah Pare (*momordica charantia* L.) terhadap larva *artemia salina* Leach dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Skripsi. Program Studi Pendidikan Sarjana. Semarang. Universitas diponegoro.
- Zou, Y. F., HO, G. T. T., Malterud, K. E., Tranle, N. H., Inngjerdigen, K. T., Hildebaresett, Drissadiallo, Michaelsen, T .E., Paulsen, B .S., 2014. Enzyme Inhibition, Antioxidant and Immunomodulatory Activities, and Brine Shrimp Toxicity of Extracts From the Root Bark, Stem Bark and Leaves of *Terminalia Macroptera*. *Journal Of Ethnopharmacolog*. 05. 04.