



## UJI TOKSISITAS EKSTRAK ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.) PADA LARVA UDANG (*Artemia salina* Leach.)

### *The Testt Toxicity Ethanol Extract Soursop Leaf (*Annona muricata* L.) on Shrimp Larvae (*Artemia salina* Leach)*

Riva Rainiza Zuddin<sup>1</sup>, Hafizhatul Abadi<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Mahasiswa Farmasi, Fakultas Farmasi dan Kesehatan Umum, Institut Kesehatan Helvetia

<sup>2</sup>Dosen Farmasi, Fakultas Farmasi dan Kesehatan Umum, Institut Kesehatan Helvetia

#### ABSTRAK

**Pendahuluan:** Sirsak (*Annona muricata* L.) merupakan salah satu tanaman buah yang berasal dari Karibia, Amerika Tengah dan Amerika Selatan. Daun sirsak mengandung senyawa acetogenin, senyawa yang mengandung furanon dalam gugus hidrofuranon pada C23 memiliki aktivitas sitotoksik. **Tujuan:** Untuk mengetahui berapakah toksisitas ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) pada larva udang (*Artemia salina* Leach.). **Metode:** Penelitian menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Penelitian ini menggunakan empat konsentrasi yaitu 2,5 ppm, 5 ppm, 12,5 ppm dan 25 ppm. Dengan 120 ekor larva *Artemia salina* Leach. Sebagai uji toksisitas dan 30 ekor untuk kontrol. Pengamatan dilakukan selama 24 jam, dihitung jumlah larva udang yang mati. **Hasil:** Pada konsentrasi 2,5 ppm total kematiannya 33,33 %, pada konsentrasi 5 ppm total kematiannya 63,33 %, pada konsentrasi 12,5 ppm total kematiannya 76,66% dan pada konsentrasi 25 ppm total kematiannya 93,33 %. **Kesimpulan:** Hasil  $C_{50}$  sebesar 3,9201 ppm. Daun sirsak memiliki potensi sangat toksik, karena memiliki nilai  $LC_{50} < 1000$  ppm. Perlu dilakukan pengukuran kadar ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) supaya nilai toksisitas akut  $LC_{50}$  lebih terukur.

**Kata kunci** : Toksisitas, ekstrak etanol daun sirsak, *Brine Shrimp Lethality Test*, Nilai  $LC_{50}$ .

#### ABSTRACT

**Introduction:** The Soursop (*Annona muricata* L) is one of the fruit crop from the Caribbean, Central America and South America. Soursop leaves acetogenin containing compounds, compounds containing furanon in hidrofuranon group at C23 cytotoxic activity. **Objective:** The purpose of this study was to determine what is the toxicity of ethanol extract of the leaves of the soursop (*Annona muricata* L) larvae shrimp (*Artemia salina* Leach). **Method:** The research used shrimp lethality test brine (BSLT). The research used four concentration of 2.5 ppm and 25 ppm, with 120 larvae of *Artemia salina* Leach. As a toxicity test and 30 individuals to control. Observation carried out for 24 hours, counted the number of dead shrimp larvae. **Result:** At a concentration of 2.5 ppm total 33.3% of his death, at a concentration of 5 ppm total 63.33% of his death, at a concentration of 12.5 ppm total death 76.66% and at a concentration of 25 ppm total death 93.33%. **Conclulsion:** The results  $LC_{50}$  oof 3.9201 ppm. Soursop leaves have a very toxic potential, because it has a value of  $LC_{50} < 1000$  ppm. Necessaryy to measure the concentration of ethanol extract of leaves the soursop (*Annona mucirata* L) that acute toxicity  $LC_{50}$  value more measurable.

**Keywords:** Toxicity, ethanol extract of the leaves of the soursop, *Brine Shrimp Lethality Test*,  $LC_{50}$  value.

Alamat Korespondensi

Hafizatul Abadi: Institut Kesehatan Helvetia, Jalan Kapten Sumarsono No. 107, Helvetia, Medan, Indonesia 20124. Email: hafizhatulabadi@yahoo.com

## PENDAHULUAN

Sirsak (*Annona muricata* L.) merupakan salah satu tanaman buah yang berasal dari Karibia, Amerika Tengah dan Amerika Selatan. Daun ini sangat dikenal di seluruh Indonesia dengan berbagai macam manfaat (1,2).

Daun sirsak secara empirik telah digunakan oleh Masyarakat untuk pengobatan kanker. Zat aktif pada daun sirsak diantaranya alkaloid dan *acetogenin* (3). *Annonaceous acetogenin* bekerja dengan menghambat produksi ATP dengan mengganggu kompleks I mitokondria. Sel kanker membutuhkan banyak energi sehingga membutuhkan banyak ATP. *Acetogenins* masuk dan menempel di reseptor dinding sel dan merusak ATP di dinding mitokondria. Dampaknya produksi energi di dalam sel kanker pun berhenti dan akhirnya sel kanker mati. Hebatnya, *Acetogenins* sangat selektif, hanya menyerang sel kanker yang memiliki kelebihan ATP (2).

Pada penelitian sebelumnya daun sirsak *Annona muricata* menghasilkan isolasi *Annonaceous acetogenins*. *Acetogenin* adalah senyawa *polyketides* dengan struktur 30-32 rantai karbon tidak

bercabang yang terikat pada gugus 5-*methyl 2-furanone*. Rantai *furanone* dalam gugus *hydrofuranone* pada C23 memiliki aktifitas sitotoksi. Yang dapat membunuh sel kanker (4).

Kanker adalah penyakit yang disebabkan oleh ketidaknormalan pertumbuhan sel-sel jaringan tubuh. Dalam keadaan normal, sel hanya akan membelah diri jika ada penggantian sel-sel yang telah mati dan rusak. Namun, sel yang abnormal (sel kanker) akan membelah terus meskipun tubuh tidak memerlukannya. Akibatnya terjadi penumpukan sel baru yang disebut tumor ganas. Penumpukan sel tersebut mendesak dan merusak jaringan normal sehingga mengganggu organ yang ditempatinya (5).

Penyakit kanker termasuk kategori penyakit yang mematikan karena dua hal, yaitu pertumbuhannya yang cepat dan sulit disembuhkan. Pengobatan penyakit kanker biasanya melalui kemoterapi, operasi, atau kombinasi keduanya. Obat kanker seringkali tidak mematikan sel-sel kanker secara keseluruhan, yang berakibat munculnya sel kanker yang

resisten (kebal) terhadap obat kanker. Selain itu, pengobatan kanker (kemoterapi) juga mendatangkan efek buruk bagi pasien. Tentunya kita sering mendengar atau melihat, pasien kanker yang bertubuh kurus dengan rambut rontok, ini merupakan efek samping dari kemoterapi (6,7).

Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) adalah metode menguji aktivitas suatu senyawa menggunakan hewan uji berupa larva udang *Artemia salina* Leach. Metode ini merupakan salah satu metode yang banyak digunakan dalam memandu pencarian senyawa anti kanker yang berasal dari tumbuhan. Metode ini telah digunakan sejak 1956 untuk berbagai pengamatan bioaktivitas antara lain untuk mengetahui residu pestisida, anestetik lokal, senyawa turunan morfin, mikitoksin, karsinogenesitas suatu senyawa. Metode ini merupakan *bioassay* yang cepat, murah, dapat dipercaya dan hasil yang diperoleh sering dihubungkan dengan aktivitas sitotoksik yang merupakan syarat utama obat-obat antitumor (8,9).

## METODE

Jenis penelitian dilakukan secara eksperimental di laboratorium. Sampel penelitian adalah ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.)

**Alat** : Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu bejana maserasi, *rotary evaporator*, PH meter, pipet tetes, pipet volum, batang pengaduk, cawan penguap, kertas saring, lampu, aerator, corong kaca, spatula, sterofom, aluminium foil, wadah plastik (untuk penetasan telur), vial 10 ml, lup dan alat-alat yang diperlukan.

**Bahan** : Daun sirsak (*Annona muricata* L.), Telur udang (*Artemia salina* Leach.), cairan DMSO 2%, etanol 96%.

### Tahapan/Jalannya Penelitian :

#### 1. Pengumpulan Sampel

Bagian tumbuhan yang diambil adalah daun sirsak yang sudah tua. Pengambilan dilakukan secara purposive yaitu tanpa membandingkan dengan tumbuhan serupa dari daerah lain. Sampel yang digunakan diambil di Madya Kota Medan.

#### 2. Pengolahan Sampel

Daun sirsak yang telah dikumpulkan sebanyak satu kg

dibersihkan dari kotoran dengan air bersih, lalu ditiriskan. Untuk menghilangkan air, daun dapat dilap dengan kain bersih. Setelah kering daun sirsak diratakan pada nampan atau wadah lebar lainnya. Meletakkannya jangan bertumpuk-tumpuk karena akan mempersulit pengeringan.

Pengeringan tahap pertama, daun sirsak tidak boleh terkena sinar matahari langsung, pengeringan berlangsung selama 3-4 hari. Setelah daun sirsak setengah kering dapat dilanjutkan dengan pengeringan di bawah matahari. Pengeringan di bawah sinar matahari hanya dilakukan pada pagi hari hingga jam 11 siang selama 2-3 hari. Sinar matahari yang terlalu panas dapat menguapkan kandungan senyawa yang berkhasiat.

Simplisia daun sirsak telah jadi. dikemas dalam plastik atau toples tertutup untuk menghindari kontaminasi mikroba dan uap air (6).

### 3. Ekstraksi Daun Sirsak dengan Maserasi

Metode ekstraksi yang digunakan untuk mengambil ekstrak yaitu maserasi. Simplisia yang sudah berbentuk serbuk

kering ditimbang sebanyak 250 g dan dimasukkan kedalam wadah meserasi (terlindungi dari cahaya). Kemudian serbuk direndam selama 3 hari dengan menggunakan pelarut etanol 96%.

Selanjutnya, hasil rendaman disaring dengan menggunakan kertas saring untuk memisahkan filtrat dan ampas. Ampasnya diambil dan direndam kembali dengan menggunakan etanol 96% untuk mengulangi proses maserasi selama 4 hari. Selanjutnya filtrat dipisahkan dengan *rotaty evaporator* pada suhu 45°C hingga didapatkan ekstrak kental. Ekstrak yang sudah kental kemudian diuapkan sampai tidak mengandung etanol.

### 4. Penyiapan Larva Udang *Artemia salina* Leach.

Penetasan telur *Artemia salina* Leach dilakukan dalam wadah plastik berisi air laut yang dipasang aerator. Wadah plastik terbagi menjadi dua ruang, yaitu ruang gelap dan ruang terang yang dipisahkan oleh sekat. Sekat terbuat dari sterofoam yang dibagian bawahnya dibuat lubang dengan diameter satu cm untuk jalan keluar telur yang telah menetes menuju ruang sebelahnya.

Sebanyak satu liter air laut terlebih dahulu diukur pH-nya menggunakan pH indikator paper. Diperoleh pH 8-9, air laut dimasukkan ke dalam wadah plastik hingga lubang pada sterofoam terendam. Kemudian 1 g telur *Artemia salina* dimasukkan ke dalam satu ruang, lalu sekeliling ruang tersebut ditutup menggunakan *aluminium foil* dan lakban hitam. Ruang lainnya dibiarkan terbuka dan disinari lampu selama 48 jam. Setelah 24 jam, telur akan menetas menjadi larva dan bergerak menuju ruang terang. Larva yang berusia 24 jam dipindahkan ke dalam wadah plastik lain hingga berusia 48 jam dan dipasang aerator. Larva yang berusia 48 jam siap digunakan sebagai hewan uji (10).

#### 5. Pembuatan Konsentrasi Ekstrak yang Akan Diuji

Ekstrak kental diambil sebanyak 0,1 g. Kemudian dilarutkan dalam aquadest sampai larut. Larutan ini kemudian dimasukkan ke dalam tabung uji (vial) dan ditambahkan aquadest hingga 10 ml untuk dihasilkan larutan induk ke I 10.000 ppm selanjutnya dilakukan pengenceran untuk mendapatkan larutan induk ke II 1000

ppm dan dilakukan pengenceran untuk mendapatkan larutan induk ke III 100 ppm.

Jadi larutan induk yang digunakan 100 ppm, selanjutnya dilakukan pengenceran untuk membuat larutan uji dengan konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 25 ppm, 50 ppm. dengan menggunakan rumus pengenceran.  $V_1 M_1 = V_2 M_2$

Keterangan :

$V_1$  = Volume awal

$M_1$  = Konsentrasi awal

$M_2$  = Konsentrasi akhir

$V_2$  = Volume akhir

#### 6. Uji Toksisitas dengan Metode BSLT

Setelah semua konsentrasi dibuat, kemudian disiapkan 4 tabung reaksi untuk masing-masing konsentrasi ditambah kontrol negatif yang masing-masing dikalikan 3 (*triplo*) lalu memasukkan 10 larva udang ke dalam masing-masing tabung reaksi yang kemudian diberikan ekstrak 1 ml kemudian ditambahkan air laut sebanyak 1 ml.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

**Ekstraksi Daun Sirsak :** Dalam penelitian ini menggunakan daun sirsak

(*Annona muricata*L.). Daun sirsak yang digunakan di ambil di Madya Kota Medan. Kemudian dilakukan proses pembuatan ekstrak. pertama daun tersebut dikeringkan terdahulu setelah kering diblender untuk mendapatkan serbuk simplisia yang halus. Setelah itu dilakukan proses ekstraksi.

Metode ekstraksi yang dilakukan adalah metode maserasi. Metode maserasi lebih mudah dalam pelaksanaannya dan tidak memerlukan peralatan yang spesifik. Selain itu metode meserasi dapat digunakan untuk jenis senyawa yang tahan panas maupun yang tidak tahan panas dan dapat digunakan untuk jenis senyawa yang belum diidentifikasi.(18)

Daun sirsak yang sudah menjadi serbuk dimasukkan kedalam wadah dengan ditambahkan etanol 96% , lalu diamkan selama 3 x 24 jam, kemudian disaring dengan kertas saring supaya terpisah dari ampasnya. Pencampuran dan penyaringan ini dilakukan tiga kali sehari secara berulang. Hasil penyaringan serbuk daun sirsak kemudian di *rotary evaporator* dengan suhu 48<sup>0</sup>C untuk menghilangkan pelarutnya sehingga

didapatkan ekstrak kental sebanyak 39,6 g.

Ekstrak kental kemudian dibuat dalam 4konsentrasi yaitu 5 ppm, 10 ppm, 25 ppm, 50 ppm. Pada masing-masing konsentrasi digunakan 10 larva udang *Artemia salina* Leach. yang telah berumur 48 jam setelah itu, disiapkan vial sesuai dengan jumlah konsentrasi yang ditambahkan dengan kontrol negatif (air laut).masing-masing 10 larva udang dimasukkan ke dalam tiap-tiap vial sesuai dengan konsentrasi. Masing-masing konsentrasi dimasukkan 1 ml ekstrak yang akan ditambah dengan 1 ml air laut.

Hal ini menyebabkan terjadi perbedaan konsentrasi semula dengan konsentrasi ekstrak yang dilarutkan dalam 1 ml air laut. Oleh karena itu pada perhitungan akhir konsentrasi digunakan sesuai dengan konsentrasi ekstrak yang kontak langsung dengan larva yaitu 2,5 ppm, 5 ppm, 12,5 ppm, dan 25 ppm.

Pengamatan dilakukan 24 jam setelah perlakuan konsentrasi ekstrak. perhitungan kematian larva dilakukan dengan cara mengamati pergerakan larva selama beberapa detik. Kematian

larva dihitung jika tidak ada pergerakan pada larva tersebut.

**Perhitungan Nilai LC<sub>50</sub>** : Berikut ini hasil uji toksisitas akut dengan metode BSLT dari ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.).

Tabel 4.2. Pengaruh Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Pada Larva Udang *Artemia salina* Leach.

**Tabel 1. Konsentrasi Ekstrak Ethanol**

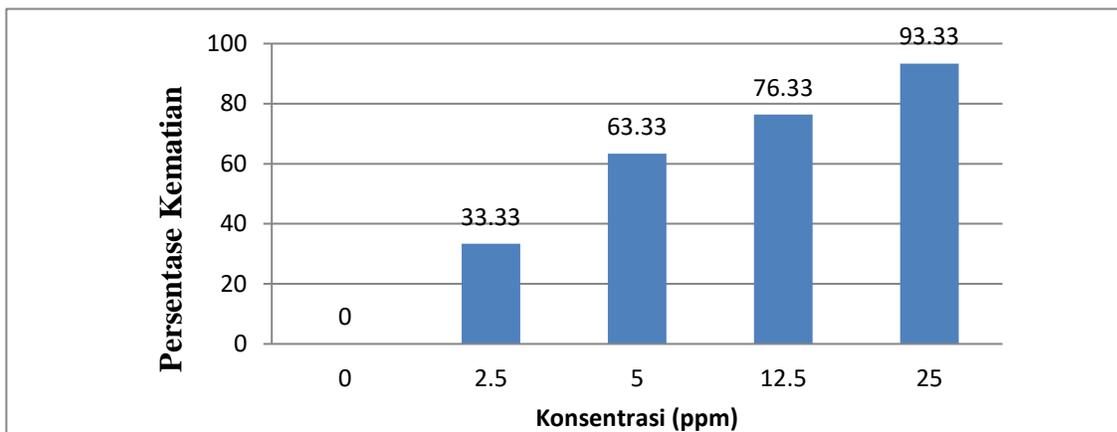
Perlakuan	Angka kematian Larva Udang salina Leach. Dari 10 larva				
	Konsentrasi (ppm)				
	0 ppm	2,5 ppm	5,0 ppm	12,5 ppm	25 ppm
I	0	2	7	8	9
II	0	4	6	8	9
III	0	4	7	7	10
Total kematian	0	10	19	23	28
Rata-rata	0	3,333	6,333	7,666	9,333
Persen kematian (%)	0	33,33	63,33	76,66	93,33

Pada tabel diatas pengaruh berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) pada penelitian ini menggunakan 4 konsentrasi yaitu 2,5 ppm, 5 ppm, 12,5 ppm, 25 ppm. Digunakan 120 ekor larva *Artemia salina* Leach. dan ditambahkan 30 ekor untuk kontrol. Pada masing-masing konsentrasi dilakukan perlakuan 3 kali (triplo) pengulangan. Kemudian dilakukan pengamatan 24 jam, untuk total kematian larva dengan konsentrasi 2,5 ppm adalah 10 ekor dengan persen kematian nya 33,33 %, pada konsentrasi 5

ppm total kematian nya 19 ekor dengan persen kematian nya 63,33 %, pada konsentrasi 12,5 ppm total kematian nya 23 ekor dengan persen kematian 76,66% dan pada konsentrasi 25 ppm total kematian nya 28 ekor dengan persen kematian nya 93,33 %.

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

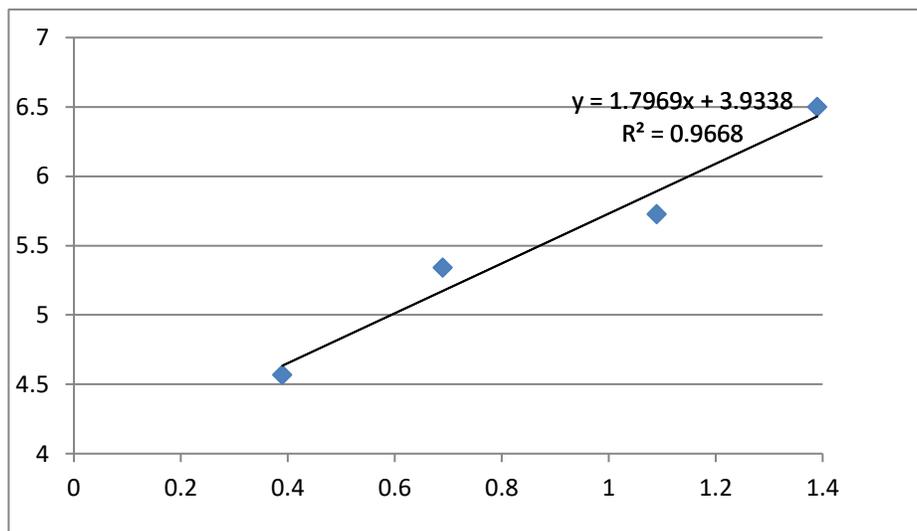
Adapun persen kematian yang didapat dilihat pada Gambar 4.1.



bahwa, persentase kematian tertinggi berada pada konsentrasi 25 ppm. Dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak menghasilkan jumlah kematian larva semakin tinggi pula. Hal ini disebabkan karena semakin tinggi konsentrasi yang di gunakan semakin

banyak larva yang terkandung dalam daun sirsak (*Annona muricata* L.) yang terambil.

Berdasarkan hasil perhitungan nilai  $LC_{50}$  yang didapatkan adalah sebesar 3,9201 sehingga ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) memiliki sifat sangattoksik.



**Gambar 1. Hubungan Log Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Sirsak dengan Nilai Probit**

Berdasarkan uji toksisitas akut ekstrak etanol daun sirsak *Annona muricata*L. Dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) pada penelitian ini bersifat sangat toksik karena memiliki nilai  $LC_{50} < 1000$  ppm sehingga berpotensi sebagai antikanker.

#### **KESIMPULAN**

Hasil perhitungan nilai  $LC_{50}$  dari ekstrak etanol daun sirsak (*Annonamuricata* L.) adalah 3,9201 ppm. Memiliki nilai  $LC_{50} < 1000$  ppm. Daun sirsak (*Annona muricata* L.) memiliki potensi toksisitas akut terhadap larva *Artemia salina* Leach. dan berpotensi sebagai senyawa antitumor dan antikanker,

#### **UCAPAN TERIMAKASIH**

Terimakasih peneliti ucapkan kepada Ibu Hafizatul Abadi selaku pembimbing yyang telah memberikan bimbingannya sehingga peneliti dapat menyelesaikannya tepat waktu.

#### **DAFTAR PUSTAKA**

1. Mardiana L, Ratnasari J. Ramuan dan khasiat sirsak. Penebar Swadaya Grup; 2011.
2. Hermawan GP, Laksono H, Sumantri I. Ekstraksi Daun Sirsak (*Annona muricata* L) Menggunakan Pelarut Etanol. *J Teknol Kim dan Ind.* 2013;111-5.
3. Husaana A, Djam'an Q, Goenarwo E. Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata*) Sebagai Penghambat Perkembangan Tumor Payudara. *J Farm Sains dan Terap.* 2015;2(2).
4. Pradana PY, Suratmo S, Retnowati R. Isolasi dan karakterisasi senyawa turunan acetogenin dari daun sirsak (*Annona muricata*) serta uji toksisitas. *J Ilmu Kim Univ Brawijaya.* 2015;1(1):pp-798.
5. Soebachman A. Awas, 7 kanker paling mematikan! *Syura Media Utama*; 2011.
6. Dahana K, Warisno S. Daun Sirsak- Langkah Alternatif Menggempur Penyakit. *Gramedia Pustaka Utama*; 2013.
7. Kresana W. Daun Sirsak Langkah Alternatif Menggempur Penyakit. *Jakarta, Gramedia Pustaka Utama*; 2012.
8. Husniar H. Uji Toksisitas Fraksi Daun Pedada (*Sonneratia caseolaris* L.) Terhadap Larva Udang (*Artemia Salina* Leach) dengan Menggunakan

- Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar; 2017.
9. Prasetyorini P, Wiendarlina Iy, Peron Ab. Toksisitas Beberapa Ekstrak Rimpang Cabang Temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza* Roxb.) Pada Larva Udang (*Artemia Salina* Leach). *Fitofarmaka| J Ilm Farm.* 2011;1(2):14–21.
10. Wulandari F. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Daun Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* [Scheff.] Boerl.) Terhadap Larva *Artemia salina* Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). 2014;