



**UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL DAUN SELUTUI PUKA  
(*Tabernaemontana macrocarpa* Jack) PADA LARVA *Artemia salina* Leach**

**TEST OF ACUTE TOXICITY OF ETHANOL EXTRACT SELUTUI PUKA LEAF  
(*Tabernaemontana macrocarpa* Jack) ON LARVA *Artemia salina* Leach**

**Fitri Handayani<sup>1\*</sup>, Triswanto Sentat<sup>2</sup>, Abdul Rahim<sup>3</sup>**

<sup>1,2</sup>Dosen Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Samarinda

<sup>3</sup>Mahasiswa Prodi D3 Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Samarinda

**ABSTRAK**

**Pendahuluan:** Selutui Puka (*Tabernaemontana macrocarpa* Jack) secara empiris digunakan masyarakat Desa Karang Kutai Barat sebagai obat sakit gigi, tumor dan kanker namun secara empiris pula dilaporkan bahwa daun dan buahnya bersifat racun terhadap tubuh. Pemakaian setiap bahan atau zat memiliki potensi yang bersifat toksik tergantung takarannya di dalam tubuh sehingga perlu dilakukan pengujian toksisitas. **Tujuan:** Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui nilai  $LC_{50}$  dan potensi toksisitas akut ekstrak etanol daun Selutui Puka dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). **Metode:** Penelitian ini bersifat eksperimental dengan menggunakan hewan uji larva *Artemia salina* Leach yang berumur 24 jam dengan varian konsentrasi ekstrak etanol daun Selutui Puka yang berbeda yaitu 1 ppm, 2 ppm, 4 ppm, 8 ppm, 16 ppm. Toksisitas diukur dengan menghitung % kematian larva *Artemia salina* Leach dan analisis data menggunakan analisis probit ( $LC_{50}$ ). **Hasil:** Hasil penelitian menunjukkan ekstrak etanol daun Selutui Puka memiliki potensi sangat toksik pada semua konsentrasi ekstrak terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan nilai  $LC_{50}$  sebesar 0,7440 $\mu$ g/ml. **Kesimpulan :** Ekstrak etanol daun Selutui Puka memiliki kemampuan toksisitas sangat kuat.

**Kata kunci :** Selutui Puka, Uji Toksisitas Akut, *Artemia salina* Leach, *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

**ABSTRACT**

**Introduction:** Selutui Puka (*Tabernaemontana macrocarpa* Jack) is empirically used by people of Karang Kutai Barat Village as a cure for toothache, tumors and cancer but it is also empirically reported that the leaves and fruit are poisonous to the body. The use of each substance or substance has the potential toxic depending on dose in the body so that it is necessary to do a toxicity test. **Objective:** The purpose of this study was to determine the value of  $LC_{50}$  and potential acute toxicity of ethanol extract of leaf Selutui Puka with *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) method. **Methods:** This study was experimental using 24-hour-old *Artemia salina* Leach larvae with variants different concentrations of ethanol extract of Selutui Puka leaves, ie 1 ppm, 2 ppm, 4 ppm, 8 ppm, 16 ppm. Toxicity was measured by calculating % of *Artemia salina* Leach larvae mortality and data analysis using probit analysis ( $LC_{50}$ ). **Results:** The results showed the ethanol extract of Selutui Puka leaves had very toxic potential against larvae of *Artemia salina* Leach in all varian concentration with  $LC_{50}$  value is 0.7440  $\mu$ g / ml. **Conclusion:** The ethanol extract of Selutui Puka leaves has a very strong toxicity.

**Keyword :** Selutui puka, Test Of Acute Toxicity, *Artemia salina* Leach, *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Alamat Korespondensi :

Fitri Handayani : Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Samarinda, Jl. Brig. Jend. Abdul Wahab Sjahranie No. 226, Air Hitam, Samarinda, Kalimantan Timur. HP : 081350448860. Email : sausanrukan@yahoo.co.id.

## PENDAHULUAN

Di Kalimantan Timur terdapat berbagai macam tumbuhan obat, salah satunya adalah tumbuhan Selutui Puka (*Tabernaemontana macrocarpa* Jack) yang berada di Kutai Barat Desa Karang Kecamatan Mook Manar Bulatn. Berdasarkan informasi empiris masyarakat Desa Karang Kutai Barat, air rebusan daun dan buah Selutui Puka digunakan sebagai obat sakit gigi, tumor dan kanker, namun secara empiris pula dilaporkan bahwa daun dan buahnya bersifat racun terhadap tubuh. Getahnya untuk mengobati demam, tipus, anemia, kejang, penyakit kuning dan hipertensi (1).

Hasil skrining fitokimia terhadap serbuk simplisia daun Selutui Puka oleh Handayani menunjukkan hasil positif mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan steroid (2). Skrining fitokimia juga dilakukan oleh Apriliana dan Soemarie terhadap ekstrak etanol daun Selutui Puka yang menunjukkan hasil positif mengandung alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin (3,4).

Belum ada laporan mengenai uji toksisitas akut daun Selutui Puka sehingga perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui keamanan dalam pemanfaatannya sebagai obat.

## METODE

Uji toksisitas ekstrak etanol daun Selutui Puka menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) yang merupakan salah satu metode skrining untuk penelusuran senyawa bioaktif yang bersifat toksik dari suatu bahan alam (5). Nilai *Lethal Concentration* (LC<sub>50</sub>) diperoleh dari hasil uji toksisitas ekstrak etanol daun Selutui Puka terhadap larva *Artemia salina* Leach.

### Alat

Aerator (*Amara*), maserator (*IKA*<sup>®</sup> *RW 20 Digital*), kotak penampung larva, lampu neon 40 watt (*Philips*), mikropipet (*Vitlab*), vial, Lup 75 mm (*Joyart*).

### Bahan

Aquadest, daun Selutui Puka (*Tabernaemontana macrocarpa* Jack), etanol 70 %, DMSO, garam laut, dan ragi.

### Sampel

Daun Selutui Puka yang tua diambil dan dikumpulkan dari Desa Karang Kecamatan Mook Manar Bulant. Daun disortasi basah dan dicuci dengan air bersih lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan kemudian diserbukkan.

### Ekstraksi

Pembuatan ekstrak etanol daun Selutui Puka menggunakan metode maserasi modifikasi dengan mesin pengaduk (maserator). Serbuk simplisia daun Selutui Puka ditimbang sebanyak 200 gram, dimasukan ke dalam wadah kaca tertutup rapat, ditambahkan 2 L etanol 70%, diaduk menggunakan maserator selama 2 jam dengan kecepatan 1000 rpm, didiamkan selama 24 jam, disaring dengan bantuan vakum menggunakan corong Buchner hingga didapatkan filtrat. Filtrat ditangas hingga diperoleh ekstrak kental (6).

#### Uji Toksisitas Dengan Metode BLST

Telur larva udang sebanyak 50-100 mg ditetaskan selama 24 jam dalam wadah berisi 500 ml air laut buatan, diberi penerangan 40 watt dan diatur suhunya 25-30°C. Larva *Artemia salina* Leach siap dijadikan hewan uji setelah 24 - 48 jam. Ekstrak etanol daun Selutui

Puka dilarutkan dengan DMSO kemudian dibuat variasi konsentrasi dalam vial yaitu 1 ppm, 2 ppm, 4 ppm, 8 ppm, 16 ppm. Masing-masing vial ditambahkan air laut buatan sebanyak 10 ml. Sepuluh ekor larva *Artemia salina* Leach dimasukkan ke dalam masing-masing vial, ditambahkan ragi (0,6 mg/ml) (7). Setiap konsentrasi dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Pembuatan kontrol menggunakan air laut buatan yang berisi 10 ekor larva *Artemia salina* Leach dengan konsentrasi yang sama. Diamati dan dihitung jumlah larva *Artemia salina* Leach yang mati dalam tiap vial selama 24 jam. Dianalisa probit untuk menentukan LC<sub>50</sub> (7,8).

#### HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji toksisitas ekstrak etanol daun Selutui Puka dapat dilihat pada tabel 1.

**Tabel 1. Hasil Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Selutui Puka**

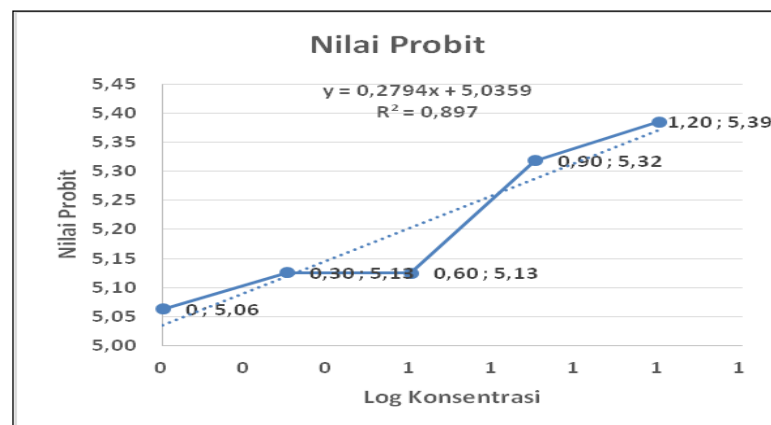
Konsentrasi	Pengulangan				Rata-rata	Jumlah Kematian	% Kematian	Log Konsentrasi (x)	Probit (y)	LC <sub>50</sub>
	1	2	3	4						
1 ppm	5	5	6	5	5,25	21	52,5	0	5,06	0,7440 µg/ml
2 ppm	5	6	5	6	5,5	22	55	0,30	5,13	
4 ppm	5	5	5	7	5,5	22	55	0,60	5,13	
8 ppm	5	6	6	8	6,25	25	62,5	0,90	5,32	
16 ppm	5	8	6	7	6,5	26	65	1,20	5,39	

Tabel 1 menunjukkan bahwa konsentrasi yang bervariasi membuktikan bahwa semakin tinggi

konsentrasi ekstrak yang digunakan maka semakin tinggi jumlah kematian larva *Artemia salina* Leach.

Nilai rata-rata persentase kematian larva yang diperoleh selanjutnya dianalisis menjadi nilai probit dengan menggunakan tabel probit kemudian dibentuk kurva hubungan antara log konsentrasi (x) dan nilai probit (y) sehingga diperoleh persamaan garis

lurus untuk menentukan nilai  $LC_{50}$  menggunakan regresi linear sederhana dengan program *Microsoft Excel*. Gambar 1. menunjukkan hasil dari hubungan analisis regresi log konsentrasi dengan probit % kematian ekstrak etanol daun Selutui Puka.



**Gambar 1. Grafik Regresi Linier Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Selutui Puka**

Dari regresi linear tersebut diperoleh nilai  $y = 0,2794x + 5,0359$  dengan  $R^2 = 0,897$  yang kemudian dimasukkan dalam persamaan garis  $y = bx + a$ , dimana diketahui  $a = 5,0359$  dan  $b = 0,2794$  kemudian dimasukkan nilai  $y = 5$ , nilai 5 didapat dari tabel probit yang mewakili 50% kematian hewan uji. Berdasarkan analisis probit diperoleh nilai  $LC_{50}$  sebesar  $0,7440 \mu\text{g/ml}$ .

Ekstrak atau fraksi senyawa memiliki tingkat nilai toksisitas, diantaranya  $LC_{50}$  0-250  $\mu\text{g/ml}$  (sangat toksik), 250-500  $\mu\text{g/ml}$  (toksik), 500-750  $\mu\text{g/ml}$  (sedang) dan 750-1000

$\mu\text{g/ml}$  (tidak toksik) (9). Semakin kecil nilai  $LC_{50}$  maka semakin potensial tumbuhan tersebut digunakan dalam pengobatan antikanker (6). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun Selutui Puka termasuk kategori sangat toksik. Senyawa bioaktif alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin dalam ekstrak etanol daun Selutui Puka menunjukkan adanya potensi untuk pengobatan anti kanker.

Mekanisme kematian larva *Artemia salina* Leach berhubungan dengan kandungan senyawa bioaktif pada ekstrak etanol daun Selutui Puka,

hal ini didukung pada pernyataan Sirinthipaporn bahwa senyawa bioaktif pada ekstrak yang masuk ke dalam mulut larva kemudian masuk ke saluran pencernaan melalui membran sel akan mengakibatkan deformasi atau perubahan bentuk sel enterosit dalam lumen pada jaringan usus larva yang diakibatkan keberadaan senyawa bioaktif dapat mengganggu alat pencernaannya sehingga larva mengalami keracunan atau *stomach poisoning* (10).

Scheuer menyatakan sifat toksik suatu tanaman dapat disebabkan oleh adanya senyawa flavonoid pada sampel uji dalam lingkungan sel, menyebabkan gugus -OH pada flavonoid berikatan dengan protein integral membran sel. Hal ini menyebabkan terbentuknya transport aktif  $\text{Na}^+$  - $\text{K}^+$ . Transport aktif yang berhenti menyebabkan pemasukan ion  $\text{Na}^+$  yang tidak terkendali ke dalam sel dan menyebabkan pecahnya membran sel sehingga mengakibatkan kematian pada larva (11).

Flavonoid sebagai antioksidan berupa proteksi terhadap sel dari *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang merupakan oksidan yang sangat reaktif dan mempunyai aktivitas yang dapat

merusak komponen sel untuk mempertahankan integritas sel (12,13).

Flavonoid juga menghambat proliferasi kanker atau tumor dengan menginhibisi aktivitas *protein kinase* sehingga menghambat jalur transduksi sinyal dari membran sel ke inti sel. Selain itu flavonoid menghambat aktivitas reseptor *tirosin kinase* yang dapat meningkatkan pertumbuhan keganasan. Kebanyakan sel-sel kanker (tumor ganas) manusia secara molekuler selalu dihubungkan dengan keganasan fosforilasi protein yang disebabkan oleh aktivasi berlebih atau ekspresi berlebih dari *tirosin kinase* (13).

## KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun Selutui Puka memiliki aktivitas sangat toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan nilai LC50 sebesar 0,7440 $\mu\text{g/ml}$ .

## DAFTAR PUSTAKA

1. Ngaissona, P. Loumpangou, NC. Namkona, FA. Koane, JN. Tsiba, G. Syssa-Magale, JL. Ouamba, JM. Phytochemical Screening And Evaluation Of The Antioxidant Activity Of The Polar Extracts *Picralima Nitida* Stapf.

- (*Apocynaceae*) Family. J Of Pharmacognosy And Phytochemistry. 2016;5(4):198-204.
2. Handayani, F. Apriliana, A. Natalia, H. Karakterisasi Dan Skrining Fitokimia Simplisia Daun Selutui Puka (*Tabernaemontana Macrocarpa* Jack). Jurnal Ibnu Sina Ilmu Farmasi Dan Kesehatan. 2019;4:49–58.
  3. Handayani, F. Apriliana, A. Ariyanti, L. Perbandingan Metode Maserasi Dan Refluks Terhadap Rendemen Ekstrak Daun Selutui Puka (*Tabernaemontana Macrocarpa* Jack). Jurnal Farmasi Galenika. 2019;6(1):33–42.
  4. Soemarie, Y. Handayani, F. Annisa, E. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Selutui Puka (*Tabernaemontana Macrocarpa* Jack) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*. Jurnal Ibnu Sina Farmasi Dan Kesehatan. 2018;3(2):266–74.
  5. Mayer, BN. Ferrigni, NR. Putnam, JE. Jacobsen, LB. Nichols, DE. Mc Laughlin, JL. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay For Active Plant Constituents., *Planta Medica*. 1982;45: 31-34.
  6. Harmita Dan Radji, M. Buku Ajar Analisis Hayati. III. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC; 2008;125.
  7. Sudjadi. Metode Pemisahan. Yogyakarta: Kanisius; 1988. 167-177.
  8. Laughlin, JL. Roggers, LL. The Use Of Biological Assays To Evaluate Botanicals, Drug Information Journal. 1998;32: 513 - 524.
  9. Anderson, JE. Goetz, CM. Mc Laughlin, JL. Suffnes, M. A Blind Comparison Of Simple Bench-Top Bioassays And Human Tumour Cell Cytotoxicities As Antitumor Prescreens. *Phytochemistry Analysis*. 1991;2: 107-111.
  10. Sirinthipaporn, A. Karnitta, J. Wannee, J. *Artemia Salina* Lethality And Histopathological Studies Of Siam Weed (*Chromoleana odorata*), *Journal Of Natural Remedies*. 2016; DOI: 10.18311/Jnr/2016/7035.
  11. Scheuer, PJ. Ciguatera And Its Offshoots:Encounters En Route To A Molecular Structure. *Tetrahedron*. 1994;50: 318.
  12. Maslachah, L. Sugiarti, R. Kurniasanti, R. Hambatan Produksi

Reactive Oxygen Species Radikal Superoksida (O<sub>2</sub>) Oleh Antioksidan Vitamin E (A-Tochoperol) Pada Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Yang Menerima Stressor Rejatan Listrik. Media Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. 2008;24(1): 21-26.

13. Ramadhani, AN. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Sukun (*Artocarpus altilis*) Terhadap Larva *Artemia Salina* Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BLST). Universitas Diponogoro; 2009. 33.