

Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pare *Momordica charantia* Linn Terhadap Larva *Artemia salina* Leach Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test*

Febrilia Mangirang^{1*}, Wilmar Maarisit¹, Jeane Mongi¹,
Yessie K. Lengkey², Selvana Tulandi²

¹Program Studi Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Kristen Indonesia Tomohon

²Program Studi Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Kristen Indonesia Tomohon

*Penulis Korespondensi; mangirangfebrilia@gmail.com

Diterima: 19 Maret 2019; Disetujui : 25 Maret 2019

ABSTRAK

Pare Momordica charantia merupakan tanaman berbuah pahit yang dapat hidup di daerah beriklim tropis, termasuk di kawasan Asia. Tanaman ini mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder antara lain, flavanoid, alkaloid, saponin, triterpenoid, steroid dan glikosida. Daun pare dapat digunakan sebagai obat penurun panas, mengeluarkan cacing kremi, dan dapat menyembuhkan batuk. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui nilai toksisitas ekstrak daun pare pada larva udang. Penelitian ini merupakan eksperimental dengan pendekatan *post test only control group design*. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode *Brine Shrimp Lethality Test*. Ekstrak dibuat dengan cara maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70%. Sehingga diperoleh ekstrak kental sebanyak 77 gram dengan presentase rendemen 25,66%. Uji toksisitas dilakukan dengan menggunakan larva udang *artemia salina leach* yang berumur 36-48 jam. Efek toksik ekstrak diidentifikasi dengan persentase kematian larva udang menggunakan analisis probit untuk mengetahui nilai LC_{50} . Suatu ekstrak dikatakan toksik apabila nilai $LC_{50} < 1000$ ppm. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak daun pare (*Momordica Charantia*) bersifat toksik dengan nilai LC_{50} sebesar 200,2 ppm.
Kata kunci : Daun Pare, *Momordica charantia*, Toksisitas, Ekstrak

ABSTRACT

Pare Momordica charantia is a bitter fruit plant that can live in tropical climates, including in the Asian region. Fill plants contain several secondary metabolites, among others, flavanoids, alkaloids, saponins, triterpenoids, steroids and glycosides. Bitter Pare leaves can be used as a febrifuge, remove pinworms, and can cure coughs. The purpose of this study was to determine the toxicity value of leaf pare extract on shrimp larvae. This research is an experimental with *post test only control group design* approach. The method used in this study is the *Brine Shrimp Lethality Test* method. The extract was made by maceration using 70% ethanol. So as to obtain a thick extract of 77 grams with a percentage of yield of 25.66%. Toxicity tests were carried out using *artemia salina leach* shrimp larvae aged 36-48 hours. The toxic effects of extracts were identified by the percentage of shrimp larvae deaths using probit analysis to determine the LC_{50} value. An extract is said to be toxic if the LC_{50} value < 1000 ppm. The results showed that pare (*Momordica Charantia*) leaf extract was toxic with an LC_{50} value of 200.2 ppm.

Keyword : Pare leaves, *Momordica charantia*, Toxicity, Extract

PENDAHULUAN

Penggunaan obat tradisional saat ini semakin diminati karena obat tradisional merupakan obat dari alam yang digunakan secara turun temurun sehingga takaran, cara,

khasiat dan penggunaannya telah diketahui (Dewoto, 2007). Salah satu tanaman yang biasa di manfaatkan untuk pengobatan adalah daun pare *Momordica charantia* Linn. Secara tradisional tanaman ini biasa dimanfaatkan untuk mengatasi beberapa keluhan atau

penyakit. Daun pare *M. charantia* dapat digunakan sebagai obat penurun panas, daun pare dapat digunakan untuk menyembuhkan mencret pada bayi, membersihkan darah bagi wanita yang baru melahirkan, mengeluarkan cacing kremi, dan dapat menyembuhkan batuk (Sudaroso, 2002). Selain itu daun pare juga biasanya dikonsumsi sebagai sayur-sayuran di daerah Minahasa.

Hasil penelitian yang telah dilakukan oleh peneliti yaitu berupa skrining fitokimia, diketahui bahwa tanaman pare *M. charantia* mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder antara lain flavanoid, alkaloid, saponin, triterpenoid, steroid, glikosida (Silvy, 2012). Pemakaian dalam jumlah tertentu dapat menyebabkan toksisitas, maka perlu dilakukan skrining awal kesesuaian hanya nilai toksisitasnya. Dalam mempelajari toksisitas yang paling awal dilakukan adalah dengan menggunakan kematian dari hewan percobaan sebagai suatu respon dari pengaruh suatu senyawa yang diuji.

Uji toksisitas larva udang merupakan salah satu pengujian toksisitas yang cepat, aman, praktis dan ekonomis untuk skrining, fraksinasi, dan penentuan bioaktivitas senyawa bahan alam. *National Cancer Institute United State of America (NCI USA)* telah menemukan hubungan yang signifikan antara pengujian toksisitas terhadap nauplius udang *Bhrine Shrimp Lethality Test* dengan penghambatan sel tumor manusia secara invitro (Aras, 2013). Berdasarkan latar belakang tersebut, maka perlu dilakukan penelitian tentang toksisitas dari ekstrak etanol daun pare terhadap larva *A. salina* menggunakan metode BSLT.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Tempat dan waktu penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium terpadu Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Kristen Indonesia Tomohon dan Laboratorium Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sam

Ratulangi Manado. Waktu pelaksanaan penelitian telah dilakukan pada bulan Desember 2018 sampai Januari 2019.

Alat dan Bahan

Alat

Alat yang digunakan selama penelitian adalah gelas kimia, Erlenmeyer, mikropipet, rotary *evaporator*, batang pengaduk, kertas saring, aluminium foil, timbangan analitik, toples kaca, aerator, lampu pijar.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian adalah sampel daun pare yang diperoleh dari Desa Tondangow kec, Tomohon selatan, larva udang *A. salina*, aquades, tisu dan etanol.

Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan eksperimental dengan pendekatan *post test-only control group design* di Laboratorium FMIPA UKIT dengan perlakuan pemberian ekstrak etanol daun pare *M. charantia* terhadap larva *A. salina* dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

Prosedur Penelitian

Ekstraksi

Sampel daun pare segar sebanyak 1,5 kg dibersihkan dengan air mengalir dan dikeringkan diangin-anginkan kemudian sampel yang sudah kering digunting dan diblender sampai menjadi serbuk. Serbuk kering daun pare 500 gr dimaserai dengan etanol 70% Larutan yang didapatkan ditampung pada gelas erlenmeyer. Residu/filtrat dimaserasi kembali dengan pelarut yang sama, cara ini dilakukan 2-3 kali hingga bening. Selanjutnya larutan yang diperoleh dari hasil maserasi dicampur menjadi satu dan dievaporasi. Untuk memisahkan ekstrak dan pelarut, setelah itu ekstrak dikeringkan menggunakan hot plate sampai diperoleh ekstrak kering (Ginting, 2015).

Uji Toksisitas Menggunakan Metode BSLT

Sampel yang digunakan untuk uji toksisitas adalah ekstrak etanol daun pare. Masing-masing pengujian dibuat dua kali pengulangan

Penyiapan Hewan Uji

Penyiapan larva udang dilakukan dengan mengambil telur *Artemia Salina* ditimbang sebanyak 100 mg. Penetasan dilakukan dengan cara merendam telur tersebut dalam air laut sebanyak 500 mL dan diberi penerangan serta diaeras (Soetjipto, 2014).

Penyiapan Larutan

Untuk pembuatan larutan stok, ekstrak ditimbang sebanyak 200 mg kemudian dilarutkan sampai 100 mL dengan air garam, kemudian dari larutan stok 2000 ppm dibuat pengeceran 300, 200, 100, 50 dan 25 ppm.

Uji Toksisitas

Pengujian dilakukan dengan mengambil 10 ekor hewan uji menggunakan mikro pipet lalu dimasukkan kedalam media uji dengan 5 konsentrasi larutan uji. Kemudian didiamkan selama 24 jam dan diamati, masing-masing dibuat ulangan sebanyak 3 kali. Jumlah larva yang mati diamati dengan kaca pembesar. Untuk mendapatkan % kematian hewan uji maka dapat menggunakan persamaan (Baud, dkk, 2014).

$$\% \text{ Kematian} = \frac{\text{jumlah rata - rata hewan yang mati}}{\text{jumlah rata - rata hewan percobaan}} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi Sampel

Sampel diambil dari Tomohon Selatan Desa Tondangow. Daun Pare dipilih dan dipisahkan dari yang masih dapat digunakan dan didapat sebanyak 1,5 kg lalu dibersihkan dan dikering anginkan didalam ruangan pada suhu 25°C tanpa bantuan sinar matahari selama 2 minggu. Tujuan dari pengeringan tanpa bantuan sinar matahari langsung adalah agar kandungan

senyawa yang terdapat didalam sampel tidak mengalami kerusakan. Setelah kering sampel di potong kecil-kecil lalu di blender sampai menjadi serbuk.



Gambar 1. (a) Pengeringan Hari ke-1



(b) Pengeringan Hari ke-14 dirajang

Serbuk kering daun pare yang didapat sebanyak 300 gram, lalu diukur kadar air dengan cara sebagai berikut:

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{\text{Berat sampel segar} - \text{berat sampel kering}}{\text{berat sampel segar}} \times 100 \%$$

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{3000 \text{ gram} - 300 \text{ gram}}{3000 \text{ gram}} \times 100 \% = 2,99 \%$$

Jadi, kadar air sampel sebanyak 2,99%.

Hasil Ekstraksi Daun Pare

Proses ekstraksi menggunakan metode maserasi. Metode maserasi merupakan cara ekstraksi yang mudah dilakukan dan dalam tahapannya tidak dilakukan proses pemanasan sehingga menghindari kerusakan dari zat aktif yang dikandung oleh simplisia (Agoes, 2007). Metode ini merupakan metode ekstraksi

menggunakan pelarut, pada penelitian ini pelarut yang digunakan adalah etanol 70%. Hal ini dikarenakan etanol mempunyai titik didih yang rendah dan cenderung aman, tidak beracun dan tidak berbahaya. Pada konsentrasi 70% etanol sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal, dimana bahan pengganggu hanya skala kecil yang turut kedalam cairan pengekstraksi (Azis, dkk, 2014).

Proses maserasi dilakukan dengan merendam 300 gram simplisia daun pare dengan etanol 70% selama 3 x 24 jam kemudian di filtrasi dengan menggunakan kertas saring. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan menggunakan rotary evaporator dengan suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental sebanyak 77 gram. Rendemen ekstrak total dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Rendemen ekstrak} = \frac{\text{berat ekstrak (gr)}}{\text{berat sampel (gr)}} \times 100 \%$$

hasil nilai rendemen ekstrak etanol daun pare dapat dilihat pada Table 2.2

Tabel 1. Rendemen Ekstrak Daun Pare.

Sampel	berat ekstrak	berat sampel	% rendemen
<i>Momordica charantia</i> Linn	77 gram	300 gram	25,66%

Penetasan *Artemia salina* Leach

Penetasan *artemia* ini menggunakan wadah plastik (Gambar 2). air laut yang digunakan berasal dari perairan Manado yang diambil ± 10 meter dari tepi pantai, hal ini dikarenakan air laut yang di tepi pantai telah tercemar oleh polutan karena adanya kegiatan di sepanjang garis pantai, dan dapat pula tercemar secara tidak langsung, salah satunya melalui aliran sungai. Kemudian air laut yang didapatkan dituangkan langsung ke dalam wadah dengan ketinggian di atas sekat bagian bawah.



Gambar 2. Penetasan telur *Artemia salina* Leach (Dokumentasi pribadi, 2019)

Penelitian ini digunakan larva yang telah berumur 36–48 jam, hal ini dikarenakan larva artemia ini dapat bertahan hidup selama 48 jam tanpa diberi makanan. Larva yang baru menetas berwarna kemerah-merahan karena masih mengandung makanan cadangan. Setelah 24 jam menetas, cadangan makanan larva habis. Hal ini disebabkan karena setelah berumur 24 jam larva akan memasuki fase instar I dimana pada tahap ini larva belum bisa makan karena mulut dan saluran pencernaannya belum terbentuk secara sempurna.

Lalu setelah memasuki fase instar I akan bermetamorfosis menjadi instar II, dimana instar II sudah memiliki mulut dan sistem pencernaannya telah sempurna. Ekstrak yang ada di lingkungan larva masuk ke dalam tubuh larva dan menyebabkan kematian larva. Lalu pada saat larva menjadi instar III atau lebih dari 48 jam, tubuhnya akan bermetamorfosis lebih lanjut dan meningkatkan ketahanan tubuh larva (Mudjiman, 2004). Mekanisme kematian pada larva diduga karena adanya senyawa-senyawa yang terpapar pada larva melalui kulit, saluran pencernaan (oral), kemudian terabsorpsi menuju sistem sistemik sehingga menimbulkan efek toksik pada organisme (Wirasuta dan Niruri, 2006). Berdasarkan kriteria standar larva dikatakan mati apabila larva tidak bergerak selama 10 detik observasi. Observasi kematian larva dilakukan setelah 24 jam pemberian ekstrak

Hasil Uji Toksisitas Metode BSLT

Uji toksisitas dilakukan dengan menggunakan metode BSLT. Pada proses ini terlebih dahulu dibuat larutan stok pada ekstrak etanol daun pare (*Momordica charantia*) dengan cara ekstrak ditimbang sebanyak 200 mg lalu diencerkan dengan air laut sampai 100 mL. Lalu dibuat pengenceran dengan konsentrasi akhir 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, dan 300 ppm. Pada uji ini digunakan kontrol dengan konsentrasi 0 ppm, tanpa dilakukan penambahan ekstrak. Hal ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh air laut maupun faktor lain terhadap kematian larva. Sehingga dapat dipastikan bahwa kematian larva hanyalah akibat dari penambahan ekstrak yang dilakukan. Kemudian dilakukan pengamatan 1 x 24 jam terhadap kematian larva *A. salina*. pada setiap wadah uji dalam berbagai konsentrasi perlakuan ekstrak daun pare *M. charantia*

Kematian larva *A. salina* secara keseluruhan ditunjukkan pada Tabel 3. Dari tabel tersebut dapat diketahui bahwa berbagai konsentrasi ekstrak daun pare *Momordica charantia* pada percobaan ini memperlihatkan pengaruh yang berbeda terhadap kematian larva *Artemia salina* Leach. Hasil penelitian dapat dilihat pada Tabel. 2

$$\% \text{ Kematian} = \frac{\text{Jumlah larva yang mati}}{\text{Jumlah larva total}} \times 100 \%$$

Tabel 2. Data persentase kematian larva *Artemia salina* Leach dari ekstrak etanol Daun Pare (*Momordica charantia* Linn)

Ulangan	Konsentrasi (ppm)				
	25 ppm	50 ppm	100 ppm	200 ppm	300 ppm
1	3	3	3	6	10
2	3	4	4	7	10
3	2	3	5	8	10
Jumlah total	8	10	12	21	30
% kematian	26,66%	33,33 %	40%	70%	100%

Berdasarkan Tabel di atas dapat disimpulkan bahwa jumlah kematian larva pada konsentrasi 25 ppm adalah 26,66% sedangkan

pada konsentrasi 50 ppm adalah 33,33%, hal ini menunjukkan peningkatan kematian larva pada konsentrasi 25 ke 50 ppm sebesar 6,67%. Konsentrasi 100 ppm, total kematian larva yaitu 40% terjadi peningkatan dari konsentrasi 50 ppm ke 100 ppm sebesar 6,67%. Pada konsentrasi 100 ppm angka kematian sebesar 40% terjadi peningkatan dari konsentrasi 100 ppm ke 200 ppm sebesar 30%. Konsentrasi 200 ppm, total kematian larva yaitu 70% terjadi peningkatan dari konsentrasi 200 ppm ke 300 ppm sebesar 30%. Berdasarkan hasil yang telah didapatkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin tinggi pula tingkat kematian larva (Meyer *et al.*, 1982). Hubungan antara toksisitas dan antikanker yaitu dimana toksisitas merupakan kemampuan suatu zat atau senyawa dalam menghasilkan racun atau membunuh suatu organisme hidup.

Penetapan LC₅₀

Hasil analisis probit menggunakan SPSS menunjukan nilai LC₅₀ dari ekstrak etanol daun pare sebesar 200,2 ppm. Berdasarkan hasil analisis diketahui bahwa ekstrak etanol daun Pare *M. charantia* memiliki toksisitas pada larva *Artemia salina* Leach sehingga dapat dikembangkan pada penelitian lebih lanjut yaitu berupa isolasi senyawa untuk mengetahui senyawa apa yang berpotensi sebagai kandidat anti kanker sehingga dapat dikembangkan untuk penemuan obat anti kanker. Hubungan antara toksisitas dan anti kanker yaitu dimana toksisitas merupakan kemampuan suatu zat atau senyawa dalam menghasilkan racun atau membunuh suatu organisme hidup. Sedangkan kanker menurut National Cancer Institute (2009), adalah suatu istilah untuk penyakit di mana sel-sel membelah secara abnormal tanpa kontrol dan dapat menyerang jaringan sekitarnya. Sehingga dibutuhkan efek toksik dari suatu senyawa yang akan digunakan untuk membunuh atau menghambat pertumbuhan sel-sel yang membelah secara abnormal.

Suatu ekstrak dikatakan toksik jika harga LC₅₀ dibawah 1000 ppm. Jika hasil uji

BSLT menunjukkan suatu ekstrak bersifat toksik maka dapat dikembangkan ke penelitian lebih lanjut untuk mengisolasi senyawa sitotoksik tumbuhan sebagai usaha pengembangan obat alternatif anti kanker.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan hasil analisis probit dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun pare *M. charantia* dapat memberikan efek toksik terhadap Larva udang menggunakan metode BSLT dengan nilai LC_{50} sebesar 200,2 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Agoes, G. (2007). *Teknologi Bahan Alam*. Bandung: Penerbit ITB Press
- Aras, Tri. R. (2013). Uji Toksisitas Ekstrak Teripang *Holothuria scabra* Terhadap *Artemia salina*. [Skripsi] Fakultas Ilmu Kelautan Dan Perikanan. Universitas Hasanuddin. Makassar. hal 9
- Azis Tamzil, Febrizky Sendry, Mario D. Aris. (2014). Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Persen *Yield alkaloid* Dari Daun Salam India (*Murraya Koenigii*). *Teknik Kimia*. 2 (20): 1-6
- Baud, G.S., Sangi, M.S., Koleangan, Harry. S.J. (2014). Analisis Senyawa Metabolit Sekunder Dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Batang Tanaman Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* L.) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Jurnal Ilmiah Sains*. 14 (2): 106-111
- Dewoto H.R. (2007). Pengembangan Obat Tradisional Indonesia menjadi Fitofarmaka. *Majalah Kedokteran Indonesia* Vol 57 (7) : 205-11
- Ginting, I P.C., (2015), formasi sediaan masker gel dari ekstrak etanolik daun pepaya. Skripsi Universitas Sumatera Utara, Medan
- Meyer BN, Ferrign NR, Putman JE, Jacobsen LB, Michols DE, Laughlin JL, (1982). Brine Shrimp: A convenient General Bioassay for active plant constituent. *Planta Medica*. 45: 31-34.
- Mudjiman, A. (2004). *Makanan Ikan*. Edisi Revisi Penebar Swadaya. Jakarta. hal 192.
- Priyanto. (2009). *Toksikologi: Mekanisme, Terapi Antidotum dan Penilaian Resiko*. Depok: Lembaga Studidan Konsultasi Farmakologi. hal 55-152.
- Silvy A. (2012). ApSORBSI, Emulsifikasi dan Antibakteri Estrakdaun Pare (*Momordica charuntia*.) Bogor :Fakultas FMIPA, Institut Pertanian Bogor
- Sudarsono D.G., Subagus W. (2002) *Tumbuhan Obat II. Hasil Penelitian, Sifat- Sifat dan Penggunaan*. Yogyakarta: Penerbit PSOT UGM.
- Wirasuta, I Made, A. G, dan Niruri, R. (2006). *Buku Ajar Toksikologi Umum*. Jurusan Farmasi. Universitas Udayana. hal 124.