

Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Kapas *Gossypium hirsutum* Terhadap Larva Udang *Artemia salina* dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

Veronica S. Davis^{1*}, Wilmar Maarisit¹, Ferdy A. Karauwan², Sonny Untu²

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

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

*Penulis Korespondensi; vero.davis09@gmail.com

Diterima: 19 Maret 2019; Disetujui : 29 Maret 2019

ABSTRAK

Kapas *Gossypium hirsutum* L. merupakan salah satu anggota famili *Malvaceae* yang telah banyak dimanfaatkan untuk kesehatan pada bagian biji dan daunnya. Kapas *G. hirsutum* memiliki senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, tanin, saponin dan steroid yang dapat memberikan efek farmakologis. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas toksisitas dari daun kapas *G. hirsutum*. agar dapat diolah dan dimanfaatkan. Ekstrak yang diperoleh digunakan untuk uji toksisitas terhadap larva udang *Artemia salina* L. dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Konsentrasi ekstrak etanol daun kapas *G. hirsutum* yang digunakan yaitu 300 µg/mL, 200 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, dan 25 µg/mL beserta larutan kontrol yang hanya berisi akuades. Jumlah larva *Artemia salina* diuji dengan tiga kali replikasi yaitu 30 ekor. Total larva *Artemia salina* yang digunakan yaitu 180 ekor larva. Presentasi kematian larva dianalisis dengan analisis probit menggunakan SPSS for windows. Hasil analisis probit menggunakan SPSS menunjukkan nilai LC_{50} dari ekstrak etanol daun kapas *G. hirsutum* sebesar 152,38 µg/mL.

Kata kunci: Daun Kapas, Toksisitas, BSLT, LC_{50} .

ABSTRACT

Cotton *Gossypium hirsutum* L is a member of the family *Malvaceae* that has been widely used for the health on the seeds and leaves. Cotton (*Gossypium hirsutum* L.) has a secondary metabolite compounds in the form of flavonoids, tannins, saponins and steroids that can provide pharmacological effects. Cotton (*Gossypium hirsutum* L.) is a member of the family *Malvaceae* that has been widely used for the health of the seeds and leaves. Cotton (*Gossypium hirsutum* L.) has a secondary metabolite compounds in the form of flavonoids, tannins, saponins and steroids that can provide pharmacological effects . . This research aims to determine the toxicity activity of cotton leaf (*Gossypium hirsutum* L.) in order to be processed and utilized. The acquired extract is used for the toxicity test of the shrimp larva *Artemia salina* L. With the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method. The concentration of cotton leaf ethanol extract (*Gossypium hirsutum* L.) used is 300 µg/mL, 200 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, and 25 µg/mL along with a control solution that contains only akuades. The number of larvae of *Artemia Salina* was tested with three times of 30. Total larvae of *Artemia* (180 larvae). The death of larvae presentation is analyzed by probit analysis using SPSS for Windows. The results of probit analysis using SPSS showed the value of LC_{50} of cotton leaf ethanol extract (*G. hirsutum*) of 152.38 µg/mL.

Keywords: Leaf Cotton, Toxicity, BSLT, LC_{50} .

PENDAHULUAN

Tumbuhan obat tradisional merupakan ramuan bahan alam yang secara tradisional telah digunakan untuk pengobatan berdasarkan pengalaman. Di Indonesia terdapat sekitar 30.000 jenis tanaman dan 7000 ribu diantaranya memiliki khasiat sebagai obat. WHO pada tahun 2008 mencatat bahwa 68% penduduk dunia masih menggantungkan sistem pengobatan tradisional yang mayoritas melibatkan tumbuhan untuk menyembuhkan penyakit dan lebih dari 80 % penduduk dunia menggunakan obat herbal untuk mendukung kesehatan mereka (Saifuddin, dkk., 2011). Tumbuhan obat yang digunakan masyarakat sebagai obat tradisional, diantaranya kapas *G. hirsutum* L. digunakan untuk Antitusif, pereda demam (Antipiretik), penyakit kulit, batuk berdahak, diare, dan anti radang (Dalimartha, 2003).

Biji kapas (*G. hirsutum*) merupakan salah satu bagian tumbuhan kapas yang berpotensi sebagai bahan obat kontrasepsi herbal. Biji kapas memiliki kandungan utama gosipol, yaitu suatu zat antifertilitas yang mempengaruhi kontrol hormon reproduksi dan memiliki efek sitotoksik (Gadelha, dkk., 2014). Kapas *G. hirsutum* memiliki senyawa metabolit sekunder berupa Flavonoid, tanin, saponin dan steroid. Berdasarkan hasil penelitian Kumar, dkk. (2011) yang menyatakan bahwa daun kapas mempunyai LC_{50} sebesar 44,69 $\mu\text{g/ml}$, dapat dijadikan sumber antioksidan dan dapat mencegah penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas.

Beberapa manfaat dari kandungan senyawa metabolit sekunder ini berpotensi sebagai antivirus, antikanker, insektisida dan antimikroba (Saifudin, 2014). Suatu tumbuhan untuk dapat dijadikan sebagai obat tradisional harus memenuhi standar mutu dari WHO, meliputi standar kualitas, keamanan dan khasiat.

Uji aktivitas toksik merupakan salah satu prasyarat suatu tumbuhan dapat dikembangkan sebagai obat, khususnya sebagai antikanker. Salah satu metode yang digunakan untuk mengetahui aktivitas toksik dari suatu

ekstrak atau senyawa bahan alam adalah *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) menggunakan larva udang laut *Artemia salina* L. Prosedurnya dengan menentukan nilai LC_{50} (*Lethal Concentration*) dari ekstrak uji, yaitu jumlah dosis atau konsentrasi ekstrak uji yang dapat menyebabkan kematian terhadap *A. salina* sejumlah 50% setelah masa inkubasi 24 jam. Suatu ekstrak dikatakan toksik berdasarkan metode BSLT jika harga $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/ml}$ [6] (Carballo, 2002).

Berdasarkan uraian diatas, penulis tertarik untuk melakukan penelitian mengenai aktivitas toksisitas dari ekstrak etanol daun kapas menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November – Desember 2018. Tempat pelaksanaan penelitian di Laboratorium FMIPA Universitas Kristen Indonesia Tomohon dan laboratorium Kimia FMIPA Universitas Negeri Manado.

Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan eksperimental di Laboratorium dengan perlakuan pemberian ekstrak etanol daun kapas (*G. hirsutum*) terhadap larva *A. salina* dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara pot saleb, Gelas ukur, gelas erlenmeyer, gelas beaker, batang pengaduk, sudip, cawan petri, timbangan analitik, pipet, aluminium foil, gunting, kertas saring, toples kaca, blender, corong, label, rotary evaporator, kaca pembesar, lampu pijar, wadah penetasan dan aerator.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah daun *G. hirsutum*, telur *A. Salina*, air laut, etanol 70 %, Akuades, Tween 80 0,5%.

Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan ialah daun kapas *G. hirsutum* yang diperoleh dari beberapa pekarangan rumah di Desa Kema 1, kecamatan Kema, Sulawesi Utara.

Ekstraksi Sampel

Daun *G. hirsutum* ditimbang sebanyak 2 kg kemudian dicuci bersih lalu diangin-anginkan tanpa terkena sinar matahari langsung selama 5 hari. Daun *G. hirsutum* yang telah kering kemudian dihaluskan menggunakan blender.

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi. Serbuk simplisia halus sebanyak 400 gram dimasukkan dalam toples kaca, lalu direndam dalam pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:3 dengan sesekali diaduk. Proses perendaman ini berlangsung selama 5 hari. kemudian dilanjutkan dengan proses penyaringan, maserat yang diperoleh diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental.

Uji Toksisitas dengan Metode BSLT

Penyiapan Larva *Artemia salina* L.

Penetasan telur *A. salina* dilakukan dengan cara merendam sebanyak 50 mg telur *A. salina* dalam wadah berisi air laut sebanyak 2 Liter dibawah cahaya lampu 25 watt. Telur *A. salina* akan menetas dan menjadi larva setelah 24 jam. Larva *A. salina* yang baik digunakan untuk uji BSLT yaitu yang berumur 48 jam sebab jika lebih dari 48 jam dikhawatirkan kematian *A. salina* bukan disebabkan toksisitas melainkan oleh terbatasnya persediaan makanan (Lisdawati dan wiryowigdagdo, 2006).

Pembuatan Konsentrasi Sampel Uji

Pembuatan larutan stok ekstrak kental etanol 70% daun *G. hirsutum* ditimbang menggunakan neraca analitik hingga mencapai berat 200 mg. Kemudian ekstrak kental tersebut dilarutkan dengan tween 80 sebanyak 5 ml. Selanjutnya, diaduk dan ditambahkan akuades sebanyak 95 ml hingga volumenya mencapai 100 ml sehingga diperoleh konsentrasi 2.000 ppm sebagai larutan induk.

Konsentrasi larutan uji untuk BSLT adalah 300 µg/mL, 200 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, dan 25 µg/mL dan larutan kontrol (0 ppm) tanpa penambahan ekstrak. Kemudian dari larutan stok tersebut dibuat pengenceran dengan menggunakan rumus pengenceran:

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

Keterangan:

V_1 = Volume awal

M_1 = Konsentrasi awal

M_2 = Konsentrasi akhir

V_2 = Volume akhir

Pelaksanaan Uji Toksisitas

Disiapkan 6 wadah dan 1 wadah sebagai kontrol. Pada uji toksisitas masing - masing konsentrasi dilakukan *triplo* (3 kali pengulangan) dengan tiap kelompok dimasukkan 10 ekor larva udang *A. salina*. Pengamatan dilakukan selama 24 jam terhadap kematian larva *A. salina*. Kriteria standar untuk menilai kematian larva *A. salina* yaitu bila larva tidak menunjukkan pergerakan selama pengamatan.

Analisis Data

Pengujian efek toksik dihitung dengan menentukan nilai LC_{50} . Perhitungan nilai LC_{50} dilakukan dengan menghitung % kematian (mortalitas) larva *A. salina* pada tiap konsentrasi. Jumlah *A. salina* yang mati dalam tiap wadah selama 24 jam di hitung. Ciri larva

yang mati adalah larva yang sudah tidak bergerak lagi dalam pengamatan.

Presentase kematian larva *Artemia* dapat dihitung menggunakan rumus Abbot.

$$\% \text{ Kematian} = \frac{\text{jumlah larva mati}}{\text{jumlah total larva awal}} \times 100\%$$

Pengolahan data dilakukan dengan menggunakan metode analisis probit menggunakan SPSS for windows untuk mendapatkan persamaan garis, sehingga dapat dilakukan perhitungan nilai LC_{50} (Busvine, 1971).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Persiapan Sampel

Daun *G. hirsutum* yang digunakan pada penelitian diperoleh dari beberapa pekarangan rumah di Desa Kema 1, Kecamatan Kema, Sulawesi Utara. daun *G. hirsutum* diambil sebanyak 2 kg basah. Daun yang diperoleh dilakukan sortasi, diambil daun yang tidak rusak, tidak terlalu tua, dan tidak berwarna kuning sehingga diharapkan kandungan zat aktif dalam daun tersebut sudah cukup banyak. Sampel yang telah diperoleh dibersihkan kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dalam ruangan dengan tidak disinari matahari langsung selama 5 hari. Pencucian sampel dimaksudkan untuk membersihkan simplisia dari kotoran-kotoran yang melekat pada simplisia. Pengerian juga merupakan tahapan yang penting dalam upaya penyediaan bahan simplisia yang baik.

Simplisia kering hasil proses pengeringan mengandung sedikit air, sehingga dengan proses pengeringan ini maka dapat mengurangi kontaminasi kapang/khamir. Setelah daun kapas menjadi kering, dilakukan proses penghalusan dengan alat blender kemudian diayak menggunakan ayakan. Tujuan sampel dihaluskan untuk memaksimalkan proses ekstraksi, karena dengan ukuran partikel yang kecil menghasilkan luas permukaan yang besar sehingga kontak serbuk dengan cairan

penyari semakin banyak. Ukuran bahan yang sesuai akan menjadikan proses ekstraksi berlangsung dengan baik dan tidak memakan waktu yang lama (Ningsih, *et al.*, 2016).

Ekstraksi

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi. Serbuk simplisia daun kapas yang digunakan sebanyak 400 g dimasukkan kedalam toples kaca lalu direndam dalam pelarut etanol 70 % dengan total pelarut 2 liter. Perendaman dilakukan selama 5 hari dan disimpan dalam ruangan yang terlindung dari cahaya matahari langsung untuk mencegah reaksi yang dikatalis cahaya.

Tujuan dari proses ekstraksi ini adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat dalam simplisia hanya dengan menggunakan pelarut. Proses ini sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam, karena selama perendaman terjadi peristiwa plasmolisis yang menyebabkan terjadi pemecahan dinding sel akibat perbedaan tekanan didalam dan diluar sel, sehingga senyawa yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dan proses ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang diinginkan (Ningsih, *et al.*, 2016).

Filtrat yang diperoleh dari hasil maserasi yaitu berwarna coklat kemerahan, selanjutnya filtrat tersebut dipekatkan dengan bantuan alat Rotary evaporator untuk menguapkan pelarut sehingga diperoleh ekstrak pekat. Ekstrak pekat yang diperoleh sebanyak 20,54 gram yang berwarna coklat kemerahan. Hasil penguapan maserat berupa ekstrak dengan bau yang khas berwarna coklat kemerahan, dan bentuknya cairan kental.

Pengujian Toksisitas dengan Metode BSLT

Pengujian toksisitas dilakukan dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) menggunakan larva *Artemia salina* L. Penetasan dilakukan didalam wadah plastik kotak yang diberi pencahayaan lampu. Cahaya lampu akan mempercepat pemisahan cangkang telur dengan larva karena sifat artemia yang tertarik pada

cahaya (fotoaksis positif). Selain cahaya, suhu juga berpengaruh terhadap pertumbuhan artemia. Suhu yang baik berkisar antara 25-30 °C sehingga penetasan dilakukan pada suhu kamar selama 48 jam. Selain itu, proses penetasan juga membutuhkan aerator sebagai sumber oksigen (Wulandari, 2014).

Larva yang digunakan adalah larva yang berumur 48 jam dan aktif bergerak. Pada fase ini disebut dengan fase naupli atau telur menjadi larva, fase ini merupakan fase paling aktif membelah secara mitosis sehingga identik dengan sel kanker.

Kemampuan toksisitas dari ekstrak etanol daun kapas dalam mematikan larva udang secara berturut-turut dengan konsentrasi 300 µg/mL, 200 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, dan

25 µg/mL beserta larutan kontrol yang hanya berisi akuades dapat dilihat dalam tabel 1.

Penambahan larutan kontrol dilakukan untuk mengetahui pengaruh larutan akuades maupun faktor lain yang berpengaruh terhadap kematian larva. Sehingga dapat dipastikan bahwa kematian larva hanya karena pengaruh ekstrak yang ditambahkan. Parameter yang ditunjukkan untuk mengetahui adanya aktivitas biologi pada suatu senyawa terhadap hewan uji adalah dengan menghitung jumlah larva yang mati karena pengaruh pemberian senyawa dengan dosis atau konsentrasi yang ditentukan.

Data hasil penelitian berupa rata-rata kematian larva *A. Salina* dan mortalitas kematian setelah pemberian Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun *G. Hirsutum* pada masing-masing kelompok uji disajikan dalam tabel 1.

Tabel 1. Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun *G. Hirsutum* Terhadap Larva *Artemia Salina* Laech

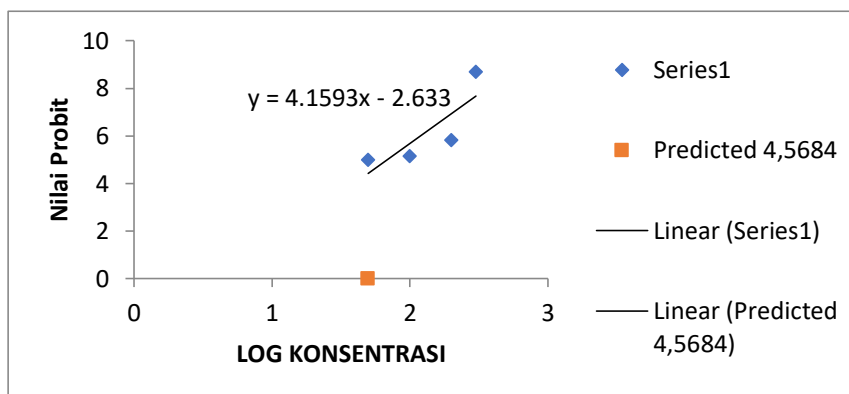
Konsentrasi (ppm)	Perlakuan			Total Kematian	Rata-rata Kematian	Persen Kematian (%)
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3			
0	0	0	0	0	0	0
25	4	2	4	10	3,33	33,33%
50	4	5	6	15	5	50 %
100	6	6	5	17	5,66	56,66%
200	8	7	9	24	8	80%
300	10	10	10	30	10	100%

Pada tabel 1. dapat dilihat kematian larva tertinggi pada konsentrasi 300 µg/mL dan terendah 25 µg/mL. Selain itu, terdapat peningkatan kematian larva *A. salina* yang selaras dengan peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun *G. hirsutum*, pada kontrol negatif tidak didapatkan larva yang mati, sehingga kematian larva murni karena ekstrak yang diberikan.

Mekanisme kematian larva udang berhubungan dengan senyawa metabolit sekunder ekstrak yang bersifat toksik yang dapat

menghambat daya makan larva udang. Ketika senyawa tersebut tertelan oleh larva udang, alat pencernaannya akan terganggu. Selain itu, senyawa ini menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva udang. Sehingga larva udang tidak bisa makan, sehingga menyebabkan larva udang mati (Meyer *et al.*, 1982).

Hasil yang diperoleh dibuat grafik yang terlihat pada gambar 5 yang menunjukkan hubungan antara presentase kematian larva *Artemia salina* dengan konsentrasi ekstrak yang larut dalam etanol



Hasil analisis probit menggunakan SPSS menunjukkan nilai LC_{50} dari ekstrak etanol daun kapas (*G. hirsutum*) sebesar 152,38 $\mu\text{g/mL}$. Ekstrak dikatakan bersifat toksik jika harga $LC_{50} < 1000$ ppm, sedangkan untuk senyawa murni jika $LC_{50} < 200$ ppm berpotensi sebagai anti kanker (Meyer., *et al* 1982).

Jumlah larva *Artemia salina* diuji dengan tiga kali replikasi yaitu 30 ekor. Jumlah total larva *Artemia salina* yang digunakan yaitu 180 ekor larva. Total kematian diperoleh dengan menjumlahkan larva yang mati pada setiap konsentrasi, sedangkan rata-rata kematian larva diperoleh dengan membagi total kematian larva pada setiap konsentrasi dengan jumlah replikasi yang dilakukan yaitu tiga kali. Kemudian dihitung presentase kematian larva dari rata-rata kematian pada setiap konsentrasi. Hasil dari analisis dengan menggunakan regresi linear sederhana menunjukkan nilai LC_{50} dari ekstrak etanol daun kapas adalah 152,38 $\mu\text{g/mL}$.

BSLT (brine shrimp lethality test) merupakan salah satu uji praskrining atau pendahuluan untuk mendapatkan aktivitas biologi yang sederhana untuk menentukan tingkat toksisitas suatu senyawa atau ekstrak dengan menggunakan *artemia salina* sebagai hewan uji. Ekstrak etanol daun *G. hirsutum* memiliki nilai $LC_{50} < 1000$ ppm bersifat toksik terhadap larva *artemia salina* leach. Sehingga berdasarkan nilai LC_{50} yang diperoleh dengan metode BSLT, tanaman ini dapat dilakukan penelitian lanjutan untuk dikembangkan sebagai obat antikanker.

Korelasi antara uji toksisitas dengan uji sitotoksik adalah jika mortalitas terhadap *artemia salina* yang ditimbulkan memiliki nilai $LC_{50} < 1000$ $\mu\text{g/mL}$. LC_{50} (lethal concentration 50) merupakan konsentrasi zat yang menyebabkan terjadinya kematian pada 50% hewan uji.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan Ekstrak etanol daun *G. hirsutum* memiliki toksisitas terhadap larva *A. salina* menggunakan metode BSLT dengan nilai LC_{50} sebesar 152.38 $\mu\text{g/mL}$.

DAFTAR PUSTAKA

- Saifuddin, A., Rahayu., Yuda, Hilwan. 2011. Standarisasi Bahan Obat Alam. Graha Ilmu. Yogyakarta. Hal.1-22.
- Dalimartha Setiawan. 2003. Atlas Tumbuhan obat Indonesia jilid 3. Puspa Swara. Jakarta.
- Gadelha, I.C.N., N.B.S, fonsesa., S.C.S, Oloris., M.M, Melo., S.B, Blanco. 2014. Gossypol Toxicity From Cottonseed Products. Sci world. 14: 1-9.
- Kumar, S. P., S. S, Singh., N. P, Singh., P, Mayur. 2011. *In-vitro Antioxidant Activity of Gossypium Herbaceum L. internasional Research Journal of Pharmacy*. 2(7).
- Saifudin, A., 2014. Senyawa Alam Metabolit Sekunder. Deepublish. Yogyakarta.
- Carballo, J.L., Inda, Z.L.H., Perez, P., Gravalos, M.D.G. 2002. *A Comparison Between Two Brine Shrimp Assays To Detect In Vitro*

Cytotoxicity In Marine Natural Product.
BMC biotechnology 2 (17): 1-5

- Lisdawati, V., Wiryowigdagdo, S., dan Kardono, L.B., 2006. Brine shrimp lethality test (BSLT) dari berbagai ekstrak daging buah dan kulit biji mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*). *Bul. Penelitian kesehatan*. 34 (3).
- Busvine, J. R. 1971. *A Critical Review of the Techniques for Testing Insecticides 2nd Ed. The Commonwealth Institute of Entomology*. London.UK.
- Ningsih, D.R., Zufahair, D., Kartika. 2016. Identifikasi senyawa metabolit sekunder serta uji aktivitas ekstrak daun sirsak sebagai antibakteri. *Molekul*. 11 (1): 101-111.
- Wulandari, F., 2014. Uji toksisitas ekstrak metanol daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* [Scheff.] Boerl). Terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan metode brine shrimp lethality test (BSLT). [skripsi]. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta. Jakarta.