

Uji Toksisitas Daun Terpasan Bunga Kuning, Merah, dan Ungu (*Cestrum elegans*) Menggunakan Metode *Brine Shrimp Lethality Test*

Toxicity Test for Yellow, Red, and Purple Flowers (Cestrum elegans) Leaves Using the Brine Shrimp Lethality Test Method

Anggraeni In Oktavia^{1*}, Mardhiyah², Anisa Lailatusy Syarifah³

^{1,2,3}D-III Farmasi, AKFAR Putra Indonesia Malang, Malang, Indonesia

*email korespondensi : anggraeni@mail.akfarpim.ac.id

ABSTRAK

Cestrum nocturnum berbunga putih memiliki potensi sebagai obat, maka tidak menutup kemungkinan pada tumbuhan berbunga kuning, merah dan ungu juga memiliki bioaktivitas. Uji toksisitas terhadap tumbuhan dapat meningkatkan penelitian terkait alternatif sumber bahan alam untuk makanan tambahan, obat, pestisida, dan lain-lain, sehingga ditemukan prospektif nilai ekonomi dari tumbuhan tersebut dan dapat mempertahankan biodiversitas tumbuhan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui nilai toksisitas tiga jenis daun terpasan (*Cestrum elegans*), yaitu daun terpasan bunga kuning, merah dan ungu. Tahapan penelitian meliputi pembuatan simplisia daun terpasan, skrining fitokimia, dan uji toksisitas menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*. Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh rendemen ekstrak etanol daun terpasan kuning, terpasan merah dan terpasan ungu secara berurutan adalah 16,58 %; 22,06 %; dan 22,14 %. Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ketiga jenis daun terpasan mengandung metabolit sekunder alkaloid dan terpenoid. Hasil uji toksisitas dengan metode *BSLT* diperoleh nilai LC_{50} ekstrak etanol daun terpasan ungu, kuning, dan merah secara berurutan adalah 180,127 ppm; 349,56 ppm; dan 458,00 ppm. Berdasarkan nilai LC_{50} ekstrak etanol daun terpasan ungu, kuning, dan merah, ketiganya tergolong memiliki toksisitas rendah.

Kata kunci: *Brine Shrimp Lethality Test*; *Cestrum elegans*; terpasan; toksisitas

ABSTRACT

Cestrum nocturnum with white flowers has potential as a medicine, so it is possible that yellow, red and purple flowering plants also have bioactivity. Toxicity tests on plants can increase research on alternative natural sources of ingredients for food additives, drugs, pesticides, etc., so as to find the prospective economic value of these plants and maintain plant biodiversity. The aims of this research were to determine the differences in the toxicity of terpasan leaves (*Cestrum elegans*) of yellow, red, and purple flowers. Steps of this research were made terpasan simplisia leaves, phytochemical screening, and toxicity test using the *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)* method. The yield of ethanol extract terpasan leaves with yellow, red, and purple was 16.58%, 22.06%, and 22.14%, respectively. The results of phytochemicals screening of three types terpasan leaves contain secondary metabolites of alkaloids and terpenoids. Based on the toxicity test with the *BSLT* method obtained LC_{50} value of ethanol extract terpasan leaves with purple, yellow, and red was 180.127 ppm; 349.56 ppm; and 458.00 ppm respectively. Based on the LC_{50} value of ethanolic extract terpasan leaves with purple, yellow, and red leaves has low toxicity.

Keywords : *Brine Shrimp Lethality Test*; *Cestrum elegans*; terpasan; toxicity

PENDAHULUAN

Masyarakat Desa Ngadiwono, Kecamatan Tosari, Kabupaten Pasuruan merupakan suku Tengger yang masih menggunakan tumbuhan sebagai obat tradisional. Masyarakat Desa

Ngadiwono mengungkapkan bahwa daun terpasan (*Cestrum elegans*) dengan bunga warna kuning memiliki tingkat racun yang lebih tinggi, kemudian diikuti dengan bunga warna merah, sedangkan bunga berwarna ungu relatif tidak beracun. Pengetahuan masyarakat tersebut berdasarkan pengalaman empiris masyarakat dengan mengamati ternak yang mengalami kematian setelah makan tumbuhan *Cestrum elegans* berbunga kuning dan merah. Kejadian tersebut menyebabkan masyarakat desa mencegah pertumbuhan *Cestrum elegans* menggunakan herbisida (Oktavia, 2017)

Berdasarkan hasil penelitian, tanaman *Cestrum nocturnum* memiliki senyawa yang berpotensi sebagai pengobatan. Oleh karena itu, *Cestrum elegans* berbunga kuning, merah dan ungu yang memiliki kesamaan *family* dengan *Cestrum nocturnum*, tidak menutup kemungkinan juga memiliki bioaktivitas. Uji toksisitas pada penelitian ini menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*. *BSLT* merupakan metode yang sering digunakan untuk skrining awal terhadap senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak tumbuhan karena murah, cepat dan dapat dipercaya (Meyer et al., 1982). Kriteria tingkat nilai toksisitas akut LC₅₀ pada 48 jam dalam lingkungan perairan dapat dilihat pada Tabel 1 (Wagner, 1993):

Tabel 1. Kriteria tingkat nilai toksisitas akut (Wagner, 1993)

Tingkat daya racun	LC ₅₀
Toksisitas tinggi	< 1 mg/L
Toksisitas sedang	1 mg/L - 100 mg/L
Toksisitas rendah	> 100 mg/L

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental kuantitatif. Sampel tanaman diperoleh di Desa Ngadiwono, Kecamatan Tosari, Kabupaten Pasuruan, Jawa Timur. Data diolah menggunakan perhitungan mortalitas dilakukan dengan cara menghitung persentase perbandingan antara larva yang mati dengan jumlah akumulasi hidup dan mati (total). Grafik dibuat dengan berdasarkan hubungan antara log konsentrasi sebagai sumbu x terhadap mortalitas sebagai sumbu y. Kemudian dilakukan perhitungan konsentrasi LC₅₀. Nilai LC₅₀ merupakan konsentrasi zat yang akan menyebabkan kematian 50% larva *A. salina* yang diperoleh dengan memakai persamaan regresi linier.

Ekstraksi

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Sampel ditimbang sebanyak 500 g (perbandingan pelarut adalah 1:10) dan dilakukan pengadukan secara berkala selama 6 jam pertama, lalu dibiarkan selama 24 jam. Setelah 24 jam filtrat etanol disaring kemudian ditambahkan kembali pelarut etanol ke dalam alat

maserator untuk proses ekstraksi. Selanjutnya terhadap residu simplisia yang masih ada, proses tersebut diulang hingga diperoleh filtrat yang warnanya sudah memudar atau dikatakan bahwa simplisia sudah terekstraksi seluruhnya. Filtrat yang diperoleh selanjutnya di rotavaporasi dengan suhu sesuai dengan pelarut dalam keadaan vakum sampai diperoleh ekstrak pekat. Selanjutnya, dilakukan skrining fitokimia terhadap ekstrak yang diperoleh.

Pembutan Larutan Uji

Penyiapan larutan uji yaitu membuat variasi konsentrasi dengan cara ditimbang masing – masing ekstrak sebanyak 50 mg ekstrak kental kemudian dilarutkan di dalam air laut sebanyak 50 mL (1000 ppm). Dari larutan induk tersebut dipipet sebanyak, 1,5 mL; 2,0 mL; 2,5 mL; 3,0 mL; dan 3,5 mL. Masing-masing larutan dimasukkan ke dalam vial sampel 10 mL.

Uji Toksisitas Dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)

Penetasan telur

Telur udang ditetaskan 2 hari sebelum dilakukan pengujian. Disiapkan aquarium yang dibagi menjadi dua bagian, yaitu bagian gelap dan bagian terang. Bagian terang menggunakan lampu bohlam 40 watt, ditujukan untuk menjaga temperatur supaya tetap berada pada suhu 26-31°C (Djarajah, 1995). Media diaerasi menggunakan aerator, aerasi ini berguna untuk mengaduk siste agar tidak mengendap di dasar wadah. Selain itu, perlakuan tersebut bertujuan untuk menambah kadar oksigen (Djarajah, 1995). Larva yang digunakan yaitu larva yang berumur 48 jam.

Selanjutnya, 10 ekor larva udang dimasukkan ke dalam vial sampel yang telah diisi larutan uji pada prosedur sebelumnya. Kemudian masing-masing vial tersebut ditambahkan air laut sampai dicapai volume larutan di dalam vial sebanyak 10 mL, sehingga konsentrasi masing-masing larutan uji secara berurutan adalah 150, 200, 250, 300, 350 ppm. Kontrol uji dilakukan tanpa penambahan ekstrak, dan untuk setiap konsentrasi dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Vial-vial tersebut diletakan dibawah penerangan, jumlah larva yang mati dihitung dengan cara manual setelah didiamkan selama 24 jam.

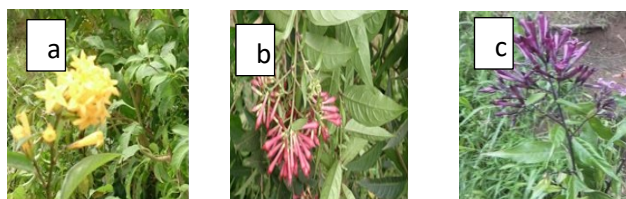
Analisis Data

Data yang diperoleh diolah menggunakan perhitungan mortalitas dilakukan dengan cara: menghitung perbandingan antara larva yang mati terhadap jumlah akumulasi hidup dan mati (total) dikalikan 100%. Grafik dibuat berdasarkan hubungan log konsentrasi sebagai sumbu x terhadap mortalitas sebagai sumbu y. Kemudian dilakukan perhitungan konsentrasi LC₅₀. Nilai LC₅₀ merupakan konsentrasi zat yang akan menyebabkan kematian 50% larva *A. salina* yang diperoleh dengan memakai persamaan regresi linier.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan determinasi tumbuhan di LIPI balai konservasi tumbuhan kebun raya Purwodadi, sampel yang dikumpulkan adalah daun terpasan kuning, merah, dan ungu (Gambar 1).

Kingdom : Plantae
 Division : Magnoliophyta
 Class : Magnoliopsida
 Sub Class : Asteridae
 Ordo : Solanales
 Family : Solanaceae
 Genus : Cestrum
 Spesies : *Cestrum elegans* (Scheidw.) Schleht



Gambar 1. *Cestrum elegans* a. Yellow flower b. Red flower c. Purple flower

Rendemen ekstrak etanol daun terpasan kuning, merah, dan ungu secara berurutan adalah 16,58 %, 22,06 % dan 22,14 %. Berdasarkan hasil identifikasi simplisia tiga jenis daun terpasan menggunakan metode tabung, dinyatakan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Kandungan Metabolit Ekstrak Etanol Daun Tiga Jenis Daun Terpasan

No.	Metabolit Sekunder	Jenis Daun Terpasan		
		Kuning	Merah	Ungu
1.	Alkaloid	+	+	+
2.	Flavonoid	-	-	-
3.	Steroid	-	-	-
4.	Terpenoid	+	+	+
5.	Tanin	-	-	-

Keterangan :

(+) = Positif mengandung metabolit sekunder

(-) = Negatif (tidak mengandung metabolit yang dimaksudkan)

Hasil positif uji alkaloid terlihat pada tiga jenis daun terpasan. Tumbuhan terpasan termasuk dalam famili Solanaceae, alkaloid yang terkandung dalam daun adalah solanin (Chikkaswamy, 2015). Solanin adalah kelompok glikoalkaloid yaitu alkaloid yang tergabung dalam gula. Senyawa ini dapat muncul secara alami pada bagian tumbuhan manapun antara lain daun, buah dan umbi. Solanin ditemukan memiliki aktifitas fungisidal dan pestisidal. Solanin diisolasi pertama kali pada tahun 1820 oleh Defosses (Desfosses, 1820). Menurut

Wagner (1993), metabolit sekunder pada tumbuhan berperan sebagai insektisida bagi organisme. Alkaloid diketahui bersifat toksik karena mampu bekerja sebagai racun pada pernapasan dan perut atau *stomach poisoning* yang menghambat daya makan pada organisme, sehingga larva udang mengalami kekurangan nutrisi dan mengalami kematian. Golongan senyawa flavonoid, alkaloid, terpenoid, saponin pada kadar tertentu memiliki potensi toksisitas akut serta dapat menyebabkan kematian larva *Artemia salina* L. (Cahyadi, 2009). Senyawa alkaloid dan flavonoid menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva, yang mengakibatkan larva gagal mendapatkan stimulus rasa dan akibatnya larva mati kelaparan (Rita *et al.*, 2008 dalam Putri *et al.*, 2012)

Uji toksisitas dengan metode *BSLT* ini menggunakan larutan uji dengan variasi konsentrasi 150; 200; 250; 300 dan 350 ppm (v/v) dengan penambahan larutan DMSO sebagai emulsifier. Ekstrak daun terpasan kuning, merah, dan ungu tidak larut dalam air laut sehingga dengan penambahan emulsifier dihasilkan larutan yang homogen. Masing-masing variasi konsentrasi juga disertai pengamatan terhadap larutan kontrol yang hanya berisi larutan DMSO tanpa ekstrak daun terpasan kuning, merah dan ungu yang juga diisi 10 larva *A. salina*. Penentuan konsentrasi yang berbeda ini dimaksudkan untuk mengetahui bioaktivitas daun terpasan kuning, merah, dan ungu.

Pada penelitian ini, larva *A. salina* yang digunakan dipreparasi dari telur *A. salina* yang dikultur dalam air asin selama 48 jam seperti yang sudah dilakukan oleh Oladimeji *et al.* (2007). Pengujian dilakukan dengan 3 kali pengulangan pada masing-masing konsentrasi daun terpasan kuning, merah, dan ungu serta larutan kontrol. Kemudian pengamatan dilakukan terhadap jumlah larva *A. salina* yang mati setelah 24 jam. Data yang diperoleh digunakan untuk menentukan nilai LC_{50} . Nilai LC_{50} inilah yang kemudian digunakan untuk mengetahui tingkat toksisitas daun terpasan kuning, merah, dan ungu yang diujikan. Data hasil uji *BSLT* dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Data kematian larva *A. salina*

Konsentrasi Larutan Uji (ppm)	Jumlah Larva yang Mati									
	M			K			U			
	I	II	III	I	II	III	I	II	III	III
150	0	2	0	1	1	0	5	3	0	1
200	1	3	3	0	0	3	1	10	1	1
250	1	0	2	2	9	0	0	10	1	1
300	4	3	3	5	6	2	2	9	1	1
350	8	2	0	10	2	2	1	10	2	1

Keterangan :

M : Ekstrak etanol daun terpasan merah

- K : Ekstrak etanol daun terpasan kuning
U : Ekstrak etanol daun terpasan ungu
B : Blanko
▪ I, II, III = ulangan ke-1, ke-2, ke-3

Nilai LC_{50} ditentukan menggunakan analisis probit seperti yang telah dilakukan oleh Juniarti dkk (2010). Selanjutnya dihitung mortalitas dengan cara menghitung perbandingan antara akumulasi mati dengan jumlah akumulasi hidup dan mati (total) dikalikan 100%. Grafik merupakan hubungan antara log konsentrasi sebagai sumbu x terhadap mortalitas sebagai sumbu y. Nilai LC_{50} merupakan konsentrasi zat yang akan menyebabkan kematian 50% larva *A. salina* dan diperoleh berdasarkan persamaan regresi $y = ax + b$. Berdasarkan perhitungan diperoleh data LC_{50} , ekstrak etanol daun terpasan kuning adalah 349,56 ppm; LC_{50} ekstrak etanol daun terpasan merah adalah 458,00 ppm; dan LC_{50} ekstrak etanol daun terpasan ungu adalah 180,127 ppm. Suatu senyawa kimia bersifat racun akut jika dapat menimbulkan efek racun dalam jangka waktu yang singkat dan bersifat kronis jika menimbulkan efek racun dalam jangka waktu yang panjang akibat paparan yang berulang-ulang walaupun dalam jumlah yang sedikit. Suatu zat tergolong aktif atau toksik bila nilai $LC_{50} < 1000$ ppm untuk ekstrak dan < 30 ppm untuk suatu senyawa (Wagner, 1993). Berdasarkan data penelitian ini, maka ekstrak daun terpasan ungu dengan konsentrasi 200, 250 hingga 350 ppm memiliki tingkat kematian yang tinggi dibandingkan pada daun terpasan kuning dan merah.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa Nilai LC_{50} ekstrak etanol daun terpasan ungu, kuning, dan merah secara berurutan adalah 180,127 ppm; 349,56 ppm; dan 458,00 ppm. Ketiga jenis daun terpasan memiliki toksisitas rendah.

DAFTAR PUSTAKA

- Cahyadi, R. (2009). *Uji toksisitas akut ekstrak etanol buah pare (Momordica charantia L.) terhadap larva artemia salina leach dengan metode brine shrimp lethality test (Bst)*. Medical faculty.
- Chikkaswamy, B. K. (2015). Anti-oxidant potential, antimicrobial activities and phytochemical screening, in three species of cestrum. *International Journal of Advanced Research in IT and Engineering*, 4(3), 1–10.
- Desfosses, M. (1820). Extrait d'une lettre à M. Robiquet. *J. de Pharmacie*, 6, 374–376.
- Djarajah, I. A. S. (1995). *Pakan ikan alami*. Kanisius.
- Juniarti, J., Osmeli, D., & . Y. (2010). KANDUNGAN SENYAWA KIMIA, UJI TOKSISITAS (Brine

Shrimp Lethality Test) DAN ANTIOKSIDAN (1,1-diphenyl-2-pikrilhidrazyl) DARI EKSTRAK DAUN SAGA (*Abrus precatorius* L.). *Makara Journal of Science*, 13(1).
<https://doi.org/10.7454/mss.v13i1.378>

- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. E. j, & McLaughlin, J. L. (1982). Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica*, 45(05), 31–34.
- Oktavia, A. I. (2017). *Etnobotani Tumbuhan Beracun Di Desa Ngadiwono Kecamatan Tosari Kabupaten Pasuruan*. Universitas Brawijaya.
- Oladimeji, H. O., Nia, R., Kalu, N., & Attih, E. E. (2007). In vitro biological activities of Carica papaya. *Res J Med Plant*, 1, 92–99.
- Putri, M. K. D., Pringgenies, D., & Radjasa, O. K. (2012). Uji fitokimia dan toksisitas ekstrak kasar gastropoda (*Telescopium telescopium*) terhadap larva *Artemia salina*. *Journal of Marine Research*, 1(2), 58–66.
- Wagner, J. G. (1993). Absorption analysis and bioavailability. *Pharmacokinetics for the Pharmaceutical Scientist*, Technomic Pub. Co. Inc. Lancaster, PA, 159–206.