

UJI LC50 EKSTRAK BATANG AKAR KUNING (*Arcangelisia flava* Merr) TERHADA LARVA UDANG (*Arthemia salina* Leach) DENGAN METODE BSLT (Brine Shrimp Lethality Test)

LC50 Test Of Yellow Wood Stem Extract (*Arcangelisia flava* Merr) Against Shrimp Larva (*Arthemia salina* Leach) using the BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) Method

**Istiqamah khusnul
khatimah¹**

Universitas Pancasakti
Makassar¹
email:
istiqamahkh23@gmail.com

**Andi Nur ilmi
Adriana^{2*}**
Universitas Pancasakti
Makassar²
email:
andinurilmi.adriana@gmail.com

Abstrak: Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar LC50 ekstrak batang akar kuning (*Arcangelisia flava* Merr) terhadap larva udang (*Arthemia salina* Leach.) dengan metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test). Penelitian ini dilaksanakan dilaboratorium farmakologi universitas pascasakti makassar pada bulan juni 2021. Penelitian ini menggunakan 5 variasi konsentrasi ekstrak etanol batang kayu kuning yakni 100, 200, 400, 600 dan 800 ppm. Masing-masing konsentrasi menggunakan 10 Larva artemia salina yang berumur 48 jam perlakuan diulangi sebanyak 3 kali replikasi (triplo) dan diamati setelah 24 jam. Selanjutnya dihitung nilai LC50 dengan menggunakan analisis probit. Hasil analisis probit menunjukkan bahwa nilai LC50 dari ekstrak etanol batang kayu kuning adalah 144, 5772 ppm masuk dalam kategori toksik. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol batang akar kuning memiliki efek toksisitas terhadap larva *Artemia salina* L.

Kata Kunci: Batang Akar kuning, Ekstrak, toksisitas, LC50, BSLT (Brine Shrimp Lethality Test)

Abstract: This study aims to determine LC50 content of yellow root stem extract (*(Arcangelisia flava* Merr) against shrimp larvae (*Arthemia salina* Leach) by BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) method. This research was carried out in the pharmacology laboratory of the university of pascasakti makassar, in June 2021. This study used 5 variations of the concentration of ethanolic extract of yellow wood stems, namely 100,200,400,600 and 800 ppm. Each concentration used 10 larvae of artemia salina aged 48 hours. The treatment was repeated 3 times (triplo) and was absorbed after 24 hours. Furthermore, the value of LC50 is calculated using probit analysis. The results of the probit analysis showed that the LC50 value of the ethanol extract of the yellow wood stem was 144,5772 ppm which was in the toxic category. This indicated that the ethanolic extract of the yellow wood stem has a toxic affect on *Artemia salina* L.larvae.

Keywords: Yellow root stem, Extract, Toxicity, LC50, BSLT (Brine Shrimp Lethality Test)

PENDAHULUAN

Indonesia termasuk negara tropis yang kaya akan keragaman floranya dan menempati pringkat ketiga setelah negara brazil. Berbagai tanaman telah dimanfaatkan secara turun temurun untuk mengobati berbagai penyakit. *Arcangelisia flava* Merr atau dikenal kayu kuning merupakan salah satu tanaman asli indonesia yang biasanya dipergunakan sebagai bahan jamu. Dibeberapa daerah kalimantan dan sulawesi, tumbuhan ini biasanya dipergunakan mengobati penyakit demam, diare, hepatitis, kecacingan, gangguan pencernaan, dan sariawan berbentuk rebusan. (Rachmawati & Ulfa, 2018)

Dalam pengobatan tradisional, sebagian besar ramuan berasal dari tanaman baik berupa akar, kulit batang, kayu, daun, bunga, atau bijinya, ada pula yang berasal dari organ hewan dan bahan mineral. Agar pengobatan secara tradisional dapat diketahui efektifitasnya maka perlu dilakukan penelitian - penelitian ilmiah seperti dibidang farmakologi, toksikologi, identifikasi dan isolasi zat kimia aktif yang terdapat dalam tumbuhan. (Kolina , 2015)

Akar kuning merupakan tumbuhan liana, panjang sampai 20 m, hidup pada daratan rendah sampai 800 m diatas permukaan laut (dpl). Daunnya tebal dan kuat seperti kulit, berbentuk oval, tumpul tidak tajam, lebar daun 7 cm sampai 20 cm, permukaan atas mengkilap dan tangkainya panjang. Bunganya berumah dua dengan ukuran kecil-kecil tersusun dalam rangkaian berupa glabrous 20 cmsampai 50 cm,

tajuk bercuping putih kehijauan atau putih kekuningan. Kayunya berwarna kuning, kegunaannya yaitu rebusan batang untuk mengobati penyakit kuning, pencernaan, cacingan, obat kuat/tonikum, demam, peluru haid, dan sariawan. Batang dan akar kayu kuning telah terbukti mempunyai aktivitas sebagai antimalaria, antidepresan, antioksidan, antidiabetes, antibakteri dan juga antikanker (Rachmawati & Ulfa, 2018)

Tanaman akar kuning (*Arcangelisia flava*) merupakan tanamanobat tradisional yang mempunyai manfaat untuk mengobati beberapa penyakit misalnya Diabetes Mellitus (DM), malaria, batu ginjal, jaundice, diare, abses di kulit dan dapat berpotensi sebagai antimikroba. Disamping itu, kayu kuningmampu menurunkan kadar low-density lipoprotein (LDL), kolesterol total, dan trigliserida (Rachmawati & Ulfa, 2018) juga melaporkan bahwa kayu kuning dapat berpotensi sebagai antimalaria, antifungal, antibakteri, antiasma, antitumor, dan antiinflamasi. Hampir semua bagian dari tanaman kayu kuning kaya akan kandungan senyawa kimia yang baik bagi kesehatan manusia. Senyawa kimia yang terkandung pada daun kayu kuning meliputi berberin, saponin dan flavonoid. Batang kayu kuning mengandung senyawa kimia yaituflavonoid, alkaloid, fenolik, tanin, dan saponin. Sedangkan akar kayu kuningmemiliki senyawa kimia berupa flavonoid, alkaloid, saponin dan terpenoid.

Senyawa aktif yang terdapat dalam tumbuhan hampir selalu toksik pada dosis tinggi. Oleh karna itu perlu dilakukan uji toksitas untuk mengetahui efek toksis dan ambang batas penggunaan suatu tumbuhan sebagai obat. Uji toksitas dapat dilakukan dengan menggunakan larva udang *Artemia salina*. Larva artemia merupakan organisme sederhana dari biota laut yang sangat kecil dan mempunyai kepekaan yang cukup tinggi terhadap toksik. Selain itu artemia salina memiliki keistimewaan yaitu memiliki toleransi (kemampuan beradaptasi) pada kisaran garam yang sangat luas, waktu siklus hidup yang lebih cepat, dan mudah dibiakkan. Bila bahan yang diuji memberikan efek toksis terhadap larva udang maka hal ini merupakan indikasi awal dari efek farmakologi yang terkandung dalam bahan tersebut. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa *artemia salina* memiliki kolerasi positif terhadap ekstrak yang bersifat bioaktif (Sinaga,I dkk, 2018). Berdasarkan uraian diatas maka peneliti mencoba memanfaatkan ekstrak batang akar kuning sebagai zat toksis terhadap larva udang *Artemia Salina Leach*

METODE

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain seperangkat alat maserasi, wadah penetasan telur, cawan porselen, beaker glass, gelas ukur, labu ukur, spatula, pipet tetes,

sendok tanduk, neraca analitik, kertas saring, kapas, stopwatch dan alat dokumentasi

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penilitian ini antara lain ekstrak batang akar kuning (*Arcangelisia flava* Merr, larva udang (*Arthemia salina* L.)), ethanol, Dimetil sulfoksida, air laut, aquadest.

Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah metode eksperimental yaitu dengan pengujian Ekstrak Batang Akar kuning terhadap larva udang (*Artemia salina* Leach)

Pengambilan Bahan

Batang akar kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr) diambil Dimamuju Sulawesi Barat

Pembuatan Bahan Simplisia

Simplisia kering batang akar kuning (*Arcangelisia flava* Merr) di ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Meserasi dilakukan dengan cara merendam 500 gram simplisia dengan etanol 96% 2-3 cm diatas simplisia selama 6 jam sambil sesekali diaduk kemudian didiamkan hingga 24 jam. Setelah itu disaring dengan kertas saring, filtrat disimpan dalam wadah tertutup, sedangkan ampas yang diperoleh di maserasi kembali dengan pelarut yang sama.. Hasil maserasi digabungkan kemudian diuapkan dengan rotary vacuum evaporator untuk mendapatkan ekstrak kental.

Proses Ekstraksi Batang Akar Kuning (*Arcangelisia flava* Merr)

Serbuk kasar batang kayu kuning (*Arcangelisia flava* M.) dilakukan proses ekstraksi yaitu dengan cara merendam sebanyak 500 gram dengan pelarut etanol 96%, dihomogenkan dan dimaserasi selama 3 hari dengan sesekali pengadukan. Kemuadian disaring dengan kertas saring sehingga diperoleh filtrat. Filtrat diuapkan dengan rotavapor pada suhu 400C sampai dihasilkan ekstrak kental (Djanggola, 2016).

Uji LC50 Dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethaly Test*)

Penetasan Telur

Telur udang ditetaskan sekitar 36-48 jam sebelum dilakukan pengujian toksisitas, wadah yang berbentuk kerucut yang bening atau transparan digunakan untuk menetasan telur udang kemudian ditambahkan air laut, wadah tersebut diberi penerangan dengan cahaya lampu untuk menghangatkan suhu dalam penetasan agar suhu penetasan 250C - 310C tetap terjaga dan merangsang proses penetasan dengan menggunakan aerator. Telur *A. salina* Leach 50-150 mg dicuci terlebih dahulu, yakni ditaburkan dan direndam pada wadah berisi aquadest selama 1 jam setelah itu pada wadah berisi air laut 500 ml dinyalakan aerator. Telur *A. salina* Leach dibiarkan selama 36-48 jam sampai menetas menjadi nauplii yang matang yang siap digunakan dalam percobaan. Telur akan menetas dalam waktu 18-48 jam dan akan bergerak secara alamiah menuju daerah terang

sehingga larva udang terpisah dari kulit telur (Lestari, 2019).

Uji BSLT (Brine Shrimp Lethaly Test)

Brine shrimp lethaly test (BSLT) adalah suatu metode pengujian dengan menggunakan hewan uji yaitu *Artemia salina* Leach, yang dapat digunakan sebagai bioassay yang sederhana untuk meneliti toksisitas akut suatu senyawa, dengan cara menentukan nilai LC50 yang dinyatakan dari komponen aktif suatu simplisia maupun bentuk sediaan ekstrak dari suatu tanaman (Hafidloh dewi, 2014). Metode ini ditujukan terhadap tingkat mortalitas larva udang *Artemia salina* L yang disebabkan oleh ekstrak uji. Hasil yang diperoleh dihitung sebagai nilai LC50 (lethal concentration) ekstrak uji, yaitu jumlah dosis atau konsentrasi ekstrak uji yang dapat menyebabkan kematian larva udang sejumlah 50% setelah masa inkubasi 24 jam. Senyawa dengan LC50 <1000 ppm dapat dianggap sebagai suatu senyawa aktif berdasarkan Meyer (Jelita, 2010).

Tabel 1. Dosis Atau Konsentrasi Ekstrak Uji

Kategori	LC50 ($\mu\text{g/ml}$)
Sangat toksis	< 30
Toksis	30-1000
Tidak toksis	>1000

Pembuatan Konsentrasi Uji

Ekstrak batang akar kuning (*Arcangelisia flava* Merr) ditimbang sebanyak 50 mg kemudian ditambahkan aquadest 50 ml sehingga diperoleh konsentrasi 10000 ppm

sebagai larutan stok. Untuk membuat konsentrasi 100 ppm, 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm dan 800 ppm maka dari larutan stok dipipet kedalam gelas ukur masing 1 ml, 2 ml, 4 ml, 6 ml, 8 ml lalu dicukupkan volumenya hingga 10 ml dan untuk control (0 ppm) dilakukan tanpa penambahan ekstrak.

Pelaksanaan Uji

Pelaksanaan uji dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan pada masing masing ekstrak sampel termasuk kontrol negatif. Tahap pertama yaitu dengan menyiapkan 18 vial sebagai wadah pengamatan, Tiap konsentrasi masing-masing memiliki 3 vial yaitu tiap 3 vial diisi dengan konsentrasi yang sama dengan cara memasukkan 1 ml, 2 ml, 4 ml, 6 ml, 8 ml yang diambil dari larutan stok kemudian dicukupkan volumenya hingga 10 ml lalu ditambahkan 10 ekor larva udang yang telah berumur 48 jam, kecuali pada control negatif dilakukan tanpa penambahan ekstrak. Vial didiamkan selama 24 jam, setelah 24 jam diamati lalu dihitung jumlah larva yang masih hidup dan mati.

HASIL DAN DISKUSI

Hasil pengamatan uji LC50 ekstrak batang kayu kuning terhadap larva artemia salina L. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah batang akar kuning yang diperoleh dari daerah pegunungan Mamuju Sulawesi barat. Sebelum diekstraksi Pertama-tama sampel batang akar kuning dipisahkan dari kotoran-kotoran berupa tanah maupun debu atau benda

asing lainnya sehingga dapat mengurangi jumlah pengotor, kemudian dicuci dengan air mengalir lalu dipotong kecil-kecil untuk mempercepat proses pengeringan kemudian didiamkan di tempat yang terlindung dari matahari langsung sampai kering. guna untuk menghindari kerusakan senyawa yang terdapat pada sampel.

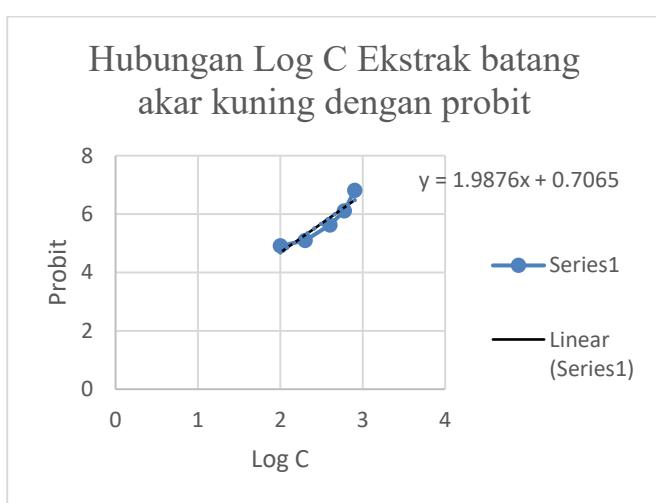
Tabel 1. Data Hasil Pengamatan Uji Toksisitas Akut Ekstrak Batang Akar Kuning (*Arcangelisia flava* Merr) Terhadap (larva *Artemia salina* L.)

Konsentrasi (Ppm)	Jumlah Larva Tiap Vial	Mati			Hidup		
		I	II	III	I	II	III
Control (-)	10	-	-	-	-	-	-
100 ppm	10	5	4	5	5	6	5
200 ppm	10	5	6	5	5	4	5
400 ppm	10	7	8	7	3	2	3
600 ppm	10	9	9	8	1	1	2
800 ppm	10	10	9	10	-	1	-

*data primer

Tabel 2. Data Hasil Uji toksitas BSLT Ekstrak Batang Akar Kuning (*Arcangelisia flava* Merr) Terhadap (larva *Artemia salina* L.)

Konsent rasi (ppm)	Lo g C (x)	Banyak nya Larva hidup (Awal)	Tot al Lar va Mat i	Persen Kemat ian Larva (%)	Pro bit (y)	LC ₅₀
Kontrol (-)	-	30	0	-	-	
100	2	30	14	46,6	4,9	
200	2,3 01	30	16	53,3	5,0 9	144,5 772
400	2,6 02	30	22	73,3	5,6 25	ppm (toksi k)
600	2,7 78	30	26	86,6	6,1 05	
800	2,9 03	30	29	96,6	6,8 15	



Gambar 1: Kurva Persamaan Garis Regresi Linier Ekstrak batang akar kuning

Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi, maserasi dilakukan dengan cara merendam sampel kedalam pelarutnya. Sampel sebanyak 500 gram direndam dengan etanol 96% dengan sesekali pengadukan untuk mempercepat proses ekstraksinya. Setelah itu disaring dengan kertas saring sehingga diperoleh filtrat, filtrat disimpan dalam wadah tertutup, sedangkan ampas (residu) dimerasasi kembali dengan pelarut yang sama. Hasil maserasi digabungkan lalu pelarutnya diuapkan menggunakan rotary vacum evaporator untuk mendapatkan ekstrak kental. Ekstrak yang diperoleh diletakkan dicawan porselen ditutup aluminium foil dan dilubangi kecil-kecil agar pelarut yang masih tersisa pada ekstrak dapat menguap.

Metode maserasi dipilih karna metode ini dinilai lebih aman dari pada metode lain yang membutuhkan suhu tinggi yang dikhatirkan merusak senyawa aktif yang terkandung didalam sampel. Kelebihan metode ini adalah

relative sederhana, tidak memerlukan memerlukan alat-alat yang rumit, relative mudah, dapat menghindari kerusakan dan hilangnya senyawa-senyawa aktif yang bersifat volatil, kelemahan metode ini membutuhkan waktu relative lama dan penggunaan pelarut yang tidak efektif dan efisien (Meloan, 1999 dalam Hafidloh D, 2014)

Penetasan telur artemia salina dilakukan dengan memasukkan terlur artemia sebanyak 150 mg kedalam wadah penetasan yang telah diisi air laut yang dilengkapi aerator untuk menyalurkan oksigen kedalam wadah penetasan dan diberi penerangan lampu untuk menghangatkan suhu dalam penetasan. Dibiarkan selama 48 jam sampai menetas dan menjadi naupli yang matang yang siap digunakan dalam percobaan.

Pelaksaan uji dilakukan dengan beberapa variasi konsentrasi, hal ini dimaksudkan untuk melihat variasi respon terhadap larva artemia salina. Selain itu, perlu disiapkan control negatif yang berisi air laut tanpa penambahan ekstrak, hal ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh air laut maupun factor lain terhadap kematian larva artemia salina sehingga kematian larva dapat dipastikan karna efek dari ekstrak sampel. Uji ini dilakukan 3 kali replikasi untuk memperoleh keakuratan data dan mengurangi kesalahan hasil dalam penelitian.

Ekstrak kental yang telah didapatkan dibuat larutan induk/larutan stok (1000 ppm) dengan menimbang 50 mg ekstrak lalu

dilarutkan menggunakan 1 tetes DMSO (Dimetil sulfoksida) untuk membantu melarutkannya lalu ditambahkan 50 ml air. Kemudian dibuat konsentrasi uji yang diambil dari larutan stok 100 ppm, 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm dan 800 ppm. Selanjutnya vial yang telah diberi label diisi dengan air laut 10 ml lalu ditambahkan larva artemia yang berumur 48 jam yang aktif bergerak sebanyak 10 ekor kedalam masing-masing vial kemudian ditambahkan ekstrak uji berdasarkan konsentrasi uji yang telah disiapkan. Termasuk control negative yang hanya diisi air laut tanpa penambahan ekstrak. Didiamkan selama 24 jam kemudian diamati larva yang mati. Pelarutan ekstrak dengan air laut sering menimbulkan masalah karna adanya perbedaan tingkat kepolaran, ekstrak sukar larut dalam air laut sehingga digunakan DMSO (dimetil sulfoksida) untuk membantu melarutkannya. Dimetil sulfoksida digunakan sebagai surfaktan yang memiliki ujung hidrofilik (larut dalam pelarut polar) dan hidrofobik (larut dalam pelarut nonpolar) (Hafidloh , 2014).

Berdasarkan tabel 4.1 Dapat diketahui bahwa masing-masing konsentrasi ekstrak digunakan untuk memperlihatkan pengaruh yang bervariasi pada setiap konsentrasi uji. Pengujian dalam wadah yang berupa vial dilakukan pengamatan setalah 24 jam dan dihitung banyaknya larva yang mati. Didapatkan hasil larva yang mati pada masing-masing konsentrasi yaitu memiliki persentase

kematian sebesar 800 ppm (96,6%), 600 ppm (86,6%), 400 ppm (73,3%) 200 ppm (53,3%) dan 100 ppm (46,6%) dan control negative menunjukkan tidak ada kematian larva.

Tabel 1 dan 2 menunjukkan bahwa semakin besar nilai konsentrasi masing-masing ekstrak maka mortalitas terhadap larva Artemia salina juga semakin besar. Meyer (1982) dalam nur jazilah (2014) Menyatakan bahwa suatu ekstrak menunjukkan aktivitas ketoksikan dalam BSLT jika ekstrak dapat menyebabkan kematian 50% hewan uji pada konsentrasi kurang dari 1000 ppm. Pernyataan ini menunjukkan bahwa ekstrak batang kayu kuning masuk dalam kategori toksik dengan nilai LC50 (144,5772 ppm) yang dinyatakan bahwa nilai LC50 ekstrak batang kayu kuning $LC50 < 1000$ ppm.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan bahwa ekstrak etanol batang akar kuning (*Arcangelisia flava* M.) memiliki efek toksitas terhadap larva udang (*Artemia salina* L.) dengan nilai LC50 sebesar 144,5772 ppm dinyakan dalam kategori toksik.

REFERENSI

- Hafidloh , D. (2014). Sitotoksis Ekstrak Daun Bunga Matahari (*Helianthus annus* L) Dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethaly Test) Dan Identifikasi Golongan Sengawa Aktifnya. *Unv islam negri maulana malik irahim*.

- Jelita, F. S. (2010). Uji toksisitas infusa acalypha siamensis dengan metode brine shrimp lethality test (bslt). *Jurnal Farmaka Vol 18 No 1. Diakses 24 november 2020.*
- Kolina , J. (2015). Uji sitotoksik ekstrak etanol batang kayu kuning (Arcangelisia flava (l.) Merr) terhadap larva udang (Arthemia salina) dengan menggunakan metode bslt (Brine Shrimp Lethaly Test). *Unv Negri Gorontalo.*
- Lestari, D. (2019). Lestari dwi Uji brine shrimp lethaly test (BSLT) umbi bawang tiwai (eleutherine bulbosa (Mill.) Urb) dan uji toksisitas akut fraksi aktif. *Jurnal riset kefarmsaian Indonesia vol.1 no.1.*
- Rachmawati, E., & Ulfa, E. (2018). Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Kayu Kuning (Arcangelisia flava Merr) terhadap Hepar dan Ginjal. *Global Medical and Health Communication, Vol. 6 No. 1. Fakultas Farmasi, Universitas Jember. Diakses 08 september 2020.*