

UJI TOKSISITAS EMPAT DAUN TANAMAN OBAT DENGAN METODE BST (*BRINE SHRIMP TEST*)

TOXICITY TEST ON FOUR PLANT LEAVES MEDICINE WITH BST (BRINE SHRIMP TEST) METHOD

Dewy Resty Basuki, Fita Sari

Info Artikel

Sejarah Artikel:

Diterima: 7 Maret 2017

Disetujui: 1 Juni 2017

Dipublikasikan: 16 Juni 2017

Kata Kunci:

Uji toksisitas, Obat
Tinggalkan, metode
BST

Keywords :

*Toxicity test, Leave
Medicine, BST method*

Abstrak

Latar belakang: Uji *Brine Shrimp Test* (BST) merupakan metode awal yang digunakan untuk melihat adanya toksisitas. Metode ini juga dapat digunakan untuk skrining aktivitas farmakologi dari ekstrak tanaman obat. Daun adalah bagian dari tanaman obat yang banyak digunakan. **Tujuan:** Mengetahui toksisitas empat daun tanaman obat yang telah diketahui aktivitas farmakologinya. **Metode:** Uji toksisitas ekstrak etanol empat daun tanaman obat dengan metode *Brine Shrimp Test* (BST). Jumlah sampel total untuk penelitian EEDGC 300 ekor larva *Artemia salina* Leach. Tiap kelompok terdiri dari sepuluh ekor larva dengan lima replikasi dengan konsentrasi ekstrak EEDGC 0, 60, 120, 180, 240, dan 300 ppm. Kekasaran permukaan diukur dengan *Surface Roughness Tester* dan hasilnya diuji statistik dengan *One Way Anova*. **Hasil:** Ekstrak daun gelombang cinta, EEDM, EEDTA, dan EEDT memiliki efek toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan harga LC_{50} berturut-turut adalah 216,5; 10,7; 249 ; dan 208,6 ppm. **Simpulan dan saran:** EEDGC, EEDM, EEDTA, dan EEDT berpotensi toksik terhadap *Artemia salina* Leach. Penelitian selanjutnya diharapkan dapat membandingkan dengan minuman bersoda karena dapat menyebabkan abrasi dan menurunkan kekerasan permukaan.

Abstract

Background: *Brine Shrimp Test* (BST) was the original method used to seeing toxicity. This method could was used for screening pharmacological activity. Most of the medicine plant part used was the leaves. **Objective:** Known toxicity of four leaves medicine plants that have been known pharmacological activity. **Methods:** The toxicity test four type leaves ethanol extracts of medicinal plants by the method of *Brine Shrimp Test* (BST). The number of samples for research EEDGC total of 300 larvae of *Artemia salina* Leach. Each group consisted of ten larvae with five replication and each group with concentrations of 0, 60, 120, 180, 240, and 300 ppm. Measured surface roughness surface roughness tester and the results do one way ANOVA statistical test. **Results:** EEDGC have toxic effects on the larvae *Artemia salina* with LC_{50} 216,5 ppm, EEDM toxic effect against with 10,7 ppm, to EEDTA have toxic effects with LC_{50} 249 ppm, and to EEDT has an effect on *Artemia salina* Leach. **Conclusions and suggestion:** EEDGC, EEDM, EEDTA, and EEDT potentially toxic. Future research is expected to compare with soft drinks because it can cause abrasion and reduce surface hardness.

Korespondensi :

^{1,2} Staf Pengajar Fakultas Farmasi Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri. E-mail: dewyresty@yahoo.com

PENDAHULUAN

Kekayaan alam Indonesia sangat beragam, baik tanaman maupun hewan. Tembelean merupakan tanaman tegak dengan ketinggian 0,5-4,0 meter. Daun tembelean mengandung zat aktif seperti flavonoid, saponin, alkaloid, tanin, dan minyak atsiri. Daun tembelean memiliki rasa yang pahit, dingin, serta beracun tetapi memiliki khasiat menurunkan panas, menghilangkan nyeri, dan gatal¹.

Hasil penelitian Hidayati² menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun tembelean memiliki kandungan saponin dan flavonoid yang berfungsi sebagai anti inflamasi pada tikus putih (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) dengan dosis 720 mg/kg BB. Ekstrak daun majapahit memiliki kandungan senyawa biaktif seperti polifenol dan saponin³. Hasil uji kandungan daging buah majapahit menunjukkan adanya senyawa alkaloid, tanin, dan flavonoid⁴. Daun dan akar tanaman gelombang cinta juga memiliki kandungan senyawa aktif berupa saponin, flavonoid dan tanin, sedangkan daun tanjung mengandung senyawa aktif alkaloid, tanin, dan saponin⁵.

Toksikologi merupakan ilmu yang mempelajari tentang racun pada makhluk hidup. Potensi toksisitas terbagi menjadi beberapa ukuran, salah satunya *Letal Concentration* (LC). *Letal Concentration* merupakan kematian yang timbul akibat suatu senyawa yang dihasilkan oleh sekelompok hewan uji setelah diberikan *treatment*. *Brine Shrimp Lethality Test* (BST) merupakan metode uji toksisitas yang digunakan untuk mengetahui kandungan senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai antikanker⁶.

Berdasarkan uraian tersebut dilakukanlah penelitian ini yang bertujuan untuk mengetahui toksisitas daun tanaman tanjung, tembelean, gelombang cinta, dan

majapahit dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan rancangan eksperimen sungguhan (*true experimental*). Pengujian dengan daun tanjung dibagi menjadi tujuh kelompok yaitu kelompok kontrol, ekstrak etanol daun tanjung (EEDTA) dengan dosis 50, 100, 200, 300, 400 dan 500 ppm. Pengujian dengan menggunakan daun tembelean dibagi menjadi enam kelompok yaitu kontrol negatif, ekstrak etanol daun tembelean (EEDT) dengan dosis 50, 100, 200, 300 dan 500 ppm. Penelitian pada daun gelombang cinta (EEDGC) dibagi menjadi enam kelompok yaitu EEDGC dengan konsentrasi 0, 60, 120, 180, 240, dan 300 ppm, sedangkan *treatment* dengan daun majapahit dibagi menjadi delapan kelompok yaitu kelompok kontrol negatif, EEDM dengan dosis 5, 10, 20, 40, 80, 160, dan 320 ppm.

Pembuatan Ekstrak

Daun tanaman tanjung, gelombang cinta, tembelean, dan majapahit diserbuk hingga halus kemudian diayak. Sebanyak 750 ml etanol 70% ditambahkan ke dalam 300 gram serbuk daun. Proses maserasi dilakukan selama 5x24 jam dan sesekali diaduk. Filtrat ditampung, kemudian residu diremaserasi dengan etanol 70% sebanyak 250 ml (5x24 jam). Filtrat dipekatkan dengan menggunakan *waterbath* hingga didapatkan ekstrak kental.

Karakterisasi Simplisia

Karakterisasi simplisia mencakup pemeriksaan organoleptik, mikroskopik, susut pengeringan, kadar air, kadar abu total, kadar abu larut air, kadar abu tidak larut asam, kadar sari yang larut dalam air, dan kadar sari yang larut dalam etanol⁷. Skrining fitokimia dan KLT (Kromatografi Lapis Tipis)

dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa yang ada pada ekstrak.

Uji Fitokimia

1) Flavonoid

Sampel dilarutkan dalam etanol absolut dan dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 2 tetes HCl pekat. Sampel tersebut dihangatkan di atas penangas selama 15 menit, selanjutnya dilakukan pengamatan. Perubahan warna sampel menjadi merah kuat atau violet menunjukkan adanya kandungan flavonoid⁸.

2) Saponin

Sebanyak 1mg sampel dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1ml *aquadest*. Kocok dan didiamkan. Buih yang terbentuk dan tidak hilang selama 30 menit menunjukkan adanya kandungan saponin⁸.

3) Alkaloid

Sampel ditambah dengan HCl 2M dan dipanaskan di atas penangas sambil diaduk, kemudian didinginkan hingga mencapai suhu kamar. NaCl serbuk ditambahkan pada sampel kemudian diaduk dan disaring. Filtrat yang didapat ditambah dengan HCl 2M hingga volume tertentu. Filtrat dibagi dalam 2 tabung reaksi. Tabung I ditambah reagen Wagner dan tabung II sebagai blanko. Terbentuknya endapan menunjukkan adanya kandungan alkaloid. Pereaksi Wagner dibuat dengan 2 gram KI dan 1,27 gram Iodium, kemudian dilarutkan ke dalam *aquadest* sampai volume 100 mL⁸.

4) Tanin

Ekstrak dididihkan dengan 20 mL air lalu disaring, kemudian ditambahkan beberapa tetes Feriklorida 1%. Terbentuknya warna coklat kehijauan atau biru kehitaman menunjukkan adanya kandungan senyawa tanin⁸.

Pembuatan Larutan Baku

Ekstrak daun tembelean ditimbang sebanyak 100 mg, kemudian ditambahkan air laut hingga mencapai volume 100 mL sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 1000 ppm. Larutan tersebut kemudian dimasukkan ke dalam botol vial sebanyak 10 mL dengan konsentrasi 50, 100, 200, 300, 500, dan 0 ppm (kontrol negatif).

Persiapan Hewan Uji

Telur *Artemia salina* Leach dimasukkan ke dalam akuarium berisi air laut yang dilengkapi dengan penerangan cahaya lampu dan aerator. Telur akan menetas dalam waktu 24-48 jam yang disebut dengan nauplii dan siap untuk digunakan sebagai target uji toksisitas.

Pelaksanaan Uji Toksisitas

Pelaksanaan uji toksisitas dilakukan dengan memasukkan 10 ekor larva udang *Artemia salina* Leach berumur 48 jam ke dalam vial yang tiap vial berisi ekstrak daun tanjung dibagi menjadi tujuh kelompok yaitu kontrol, ekstrak etanol daun tanjung (EEDTA) dengan konsentrasi 50, 100, 200, 300, 400 dan 500 ppm. Pengujian dengan menggunakan daun tembelean dibagi menjadi enam kelompok yaitu kontrol negatif, ekstrak etanol daun tembelean (EEDT) dengan konsentrasi 50, 100, 200, 300 dan 500 ppm. Penelitian pada daun gelombang cinta (EEDGC) dibagi menjadi enam kelompok yaitu EEDGC dengan konsentrasi 0, 60, 120, 180, 240, dan 300 ppm, sedangkan *treatment* dengan daun majapahit dibagi menjadi delapan kelompok yaitu kelompok kontrol negatif, EEDM dengan konsentrasi 5, 10, 20, 40, 80, 160, dan 320 ppm. Kontrol negatif dibuat tanpa penambahan sampel ekstrak yaitu hanya terdiri dari air laut dan larva udang. Tiap kelompok perlakuan dilakukan replikasi sebanyak lima kali. Vial diletakkan di bawah penerangan cahaya lampu kemudian dihitung jumlah larva udang *Artemia salina*

Leach yang mati setelah 24 jam dengan alat bantu kaca pembesar. Kriteria standar untuk menilai kematian larva udang *Artemia salina* Leach adalah apabila larva udang tidak menunjukkan pergerakan selama 10 detik saat dilakukan observasi⁹.

Analisis Data

Uji statistik berdasarkan uji parametrik, dilakukan dengan cara menentukan nilai LC50 dari EEDT, EEDGC, EEDM dan EEDTA terhadap larva *Artemia salina*. Hasil yang diperoleh dicari regresi liniernya. Kemudian dikorelasikan dengan uji Pearson pada SPSS20, dilanjutkan dengan uji Kolmogrov Smirnov.

HASIL PENELITIAN

Tabel 1. Pengujian pada *Artemia salina* Leach

	Σ Larva Sebelum Pengujian			
	EEDM	EEDTA	EEDT	EEDGC
Replikasi 1	10	10	10	10
Replikasi 2	10	10	10	10
Replikasi 3	10	10	10	10
Replikasi 4	10	10	10	10
Replikasi 5	10	10	10	10
Σ Larva yang mati	-	-	-	-
Rata-rata ± SD	-	-	-	-
Persentase Kematian	-	-	-	-

Keterangan : Ekstrak Etanol Daun Majapahit (EEDM), Ekstrak Etanol Daun Tanjung (EEDTA), Ekstrak Etanol Daun Tembelekan (EEDT), Ekstrak Etanol Daun Gelombang Cinta (EEDGC).

Tabel 2. Pengujain pada *Artemia salina* Leach

	Kontrol			
	EEDM	EEDTA	EEDT	EEDGC
Replikasi 1	0	0	0	0
Replikasi 2	0	0	0	0
Replikasi 3	0	0	0	0
Replikasi 4	0	0	0	0
Replikasi 5	0	0	0	0
Σ Larva yang mati	-	-	-	-
Rata-rata ± SD	-	-	-	-
Persentase Kematian	-	-	-	-

Tabel 3. Pengaruh Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Tanjung terhadap Larva *Artemia salina* Leach

	Konsentrasi Ekstrak (ppm) EEDTA					
	50	100	200	300	400	500
Replikasi 1	2	2	4	5	7	8
Replikasi 2	1	3	5	5	6	9
Replikasi 3	2	4	5	5	7	8
Replikasi 4	2	3	4	6	8	9
Replikasi 5	2	4	4	6	8	10
Σ Larva yang mati	9	16	22	27	36	44
Rata-rata ± SD	1,8 ± 0,44	3,2 ± 0,83	4,4 ± 0,54	5,4 ± 0,54	7,2 ± 0,83	8,8 ±

Persentase Kematian	18	32	44	54	72	0,83 88
----------------------------	----	----	----	----	----	------------

Tabel 4. Pengaruh Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Tembelean terhadap Larva *Artemia salina* Leach

	Konsentrasi Ekstrak (ppm) EEDT				
	50	100	200	300	500
Replikasi 1	2	3	6	7	10
Replikasi 2	1	3	5	6	9
Replikasi 3	1	3	5	7	10
Replikasi 4	2	4	6	8	10
Replikasi 5	3	3	4	7	9
Σ Larva yang mati	9	16	26	35	48
Rata-rata \pm SD	1,8 \pm 0,44	3,2 \pm 0,83	4,4 \pm 0,54	5,4 \pm 0,54	7,2 \pm 0,83
Persentase Kematian	18	32	44	54	72

Tabel 5. Pengaruh Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Majapahit terhadap Larva *Artemia salina* Leach

Nama	Konsentrasi ekstrak (ppm)	Total larva sebelum pengujian	Total larva mati (masing-masing replikasi 10 larva)		
			Rep 1	Rep 2	Rep 3
Kontrol	0	30	0	0	0
EEDM	5	30	4	4	4
	10	30	5	5	5
	20	30	6	6	6
	40	30	7	7	7
	80	30	8	8	8
	160	30	9	9	9
	320	30	10	10	10

Tabel 6. Pengaruh Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Gelombang Cinta terhadap Larva *Artemia salina* Leach

Replikasi	Kontrol (-)	Jumlah kematian larva tiap konsentrasi (ppm)					Volume akhir media (ml)
		60	120	180	240	300	
1	0	1	2	3	5	7	5
2	0	2	2	4	6	7	5
3	0	2	3	4	6	7	5
4	0	2	3	4	6	7	5
5	0	2	2	4	6	7	5
Total kematian	0	9	12	19	29	35	
Rata-rata kematian	0	1,8	2,4	3,8	5,8	7	
Persentase kematian	0	18	24	38	58	70	

Metode ekstraksi yang dipilih dalam penelitian ini adalah maserasi. Hal tersebut

PEMBAHASAN

dikarenakan pelaksanaannya yang sederhana dan untuk menghindari kemungkinan terjadinya penguraian zat aktif yang terkandung dalam sampel oleh pengaruh suhu, karena metode ini tidak menggunakan proses pemanasan. Pelarut yang digunakan adalah etanol 70%. Pelarut ini dipilih karena etanol 70% sangat efektif untuk mengekstraksi bahan aktif dengan hasil yang optimal dengan kontaminasi minimal dari zat lain dalam cairan pengekstraksi. Ekstrak kental menghasilkan rendemen sebanyak 12,162%. Kriteria ekstrak kental yang baik adalah apabila ekstrak tersebut memiliki kandungan air maksimal sebanyak 30%¹⁰.

Pemeriksaan simplisia dilakukan untuk mengetahui spesifikasi simplisia yang diteliti. Spesifikasi dilakukan untuk mengetahui kejelasan bahan asal atau lingkungan dan proses pembuatan simplisia yang berpengaruh pada kandungan senyawa aktif. Karakterisasi simplisia mencakup pemeriksaan organoleptik, mikroskopik, susut pengeringan, kadar air, kadar abu total, kadar abu larut air, kadar abu tidak larut asam, kadar sari yang larut dalam air, dan kadar sari yang larut dalam etanol⁷. Skrining fitokimia dan kromatografi lapis tipis dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa yang ada pada ekstrak. Pemeriksaan mikroskopik dilakukan untuk melihat komponen spesifik dari daun majapahit yaitu sisik kelenjar dan stomata tipe parasitik. Susut pengeringan dilakukan dengan tujuan untuk memberikan batasan maksimal (rentang) tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan. Susut pengeringan daun majapahit sebesar 8,6%. Uji kadar air dilakukan dengan tujuan memberikan batasan minimal atau rentang tentang besarnya kandungan air dalam bahan. Kadar air daun majapahit adalah 9,61%.

Hasil pemeriksaan tersebut dapat digunakan sebagai acuan dalam membuat ekstrak daun majapahit yang baik, tidak berjamur, atau ditumbuhi mikroorganisme lain. Uji kadar abu dilakukan dengan tujuan memberikan gambaran kandungan mineral pada sampel daun majapahit sampai terbentuknya ekstrak dengan melihat kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, dan kadar abu larut air dengan nilai masing-masing adalah 9,69%, 17,84%, dan 44,93%. Kadar ekstrak yang larut dalam air dan etanol menunjukkan jumlah konstituen yang terekstraksi oleh pelarut dalam kondisi spesifik. Hasil uji kadar ekstrak yang larut dalam air 3,034% dan etanol 50%; 70%; 96% masing-masing senilai 0,922%; 3,229%; dan 2,975%.

Berdasarkan hasil uji fitokimia yang dilakukan pada penelitian ini didapatkan bahwa ekstrak etanol daun tembelean mempunyai kandungan senyawa flavonoid, saponin, alkaloid, dan tanin, serta memiliki potensi toksisitas akut. Hal tersebut diduga terkait dengan adanya senyawa yang pada kadar tertentu memiliki potensi toksisitas akut serta dapat menyebabkan kematian larva *Artemia salina* Leach. Mekanisme kematian larva berhubungan dengan fungsi senyawa flavonoid yang terkandung dalam daun tembelean yang dapat menghambat daya makan larva (*antifedant*). Cara kerja senyawa tersebut adalah dengan bertindak sebagai *stomach poisoning* atau racun perut. Oleh karena itu, bila senyawa ini masuk ke dalam tubuh larva, maka akan mengakibatkan gangguan sistem pencernaan. Selain itu, senyawa ini menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva. Hal tersebut mengakibatkan larva gagal mendapatkan stimulus rasa untuk mengenali makanannya sehingga larva mati kelaparan¹¹.

Berdasarkan penelitian ini didapatkan jumlah kematian larva udang *Artemia salina* Leach pada setiap perlakuan ekstrak etanol daun tembelean dan ekstrak etanol daun tanjung secara berturut-turut dengan konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, dan 500 ppm. Berdasarkan data yang diperoleh dapat dihitung total kematian dengan cara menjumlahkan larva yang mati pada setiap konsentrasi. Rata-rata kematian larva diperoleh dengan membagi total kematian larva pada tiap konsentrasi dengan jumlah replikasi yaitu lima. Persentase kematian larva dihitung dari rata-rata kematian pada tiap konsentrasi. Berdasarkan Tabel 4 menunjukkan bahwa berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun tembelean berpengaruh linier terhadap kematian larva *Artemia salina* Leach. Nilai LC_{50} ekstrak etanol daun tembelean dianalisis dengan SPSS dan didapatkan persamaan regresi linear $y=14,320x+0,171$ dan $R^2=0,982$, sehingga didapatkan harga LC_{50} ekstrak etanol daun tembelean sebesar 208,6 ppm.

Berdasarkan hasil analisis data yang dilakukan secara statistik parametrik dengan metode analisis regresi linier didapatkan nilai LC_{50} ekstrak etanol daun tanjung sebesar 249 ppm, sehingga dapat dikatakan bahwa ekstrak etanol daun tanjung memiliki potensi toksisitas.

Penelitian ini menggunakan hewan uji berupa larva udang *Artemia salina* Leach yang berumur 48 jam setelah penetetasan sesuai dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST). Sebelum diberi perlakuan, larva udang *Artemia salina* Leach yang digunakan dipastikan sudah terlepas dari cangkangnya dengan tujuan agar pergerakannya lebih mudah diamati. Kriteria standar untuk menilai kematian larva udang *Artemia salina* Leach adalah bila larva *Artemia salina* Leach tidak menunjukkan pergerakan selama 10 detik

pada saat observasi¹². Kontrol negatif dalam penelitian ini dibuat tanpa menggunakan ekstrak etanol daun tembelean dan hanya terdiri dari air laut. Kontrol negatif berfungsi untuk menghilangkan pengaruh-pengaruh lain di luar ekstrak yang menyebabkan kematian larva udang, misalnya suhu, dan pH air laut, sehingga dapat dibuktikan bahwa kematian larva *Artemia salina* Leach hanya disebabkan oleh bahan uji.

Ekstrak etanol daun tanjung mempunyai potensi toksisitas seperti halnya ekstrak etanol daun tembelean. Mekanisme alkaloid pirolizidin sebagai senyawa toksik akan terjadi apabila pirolizidin masuk ke dalam tubuh kemudian teroksidasi di mitokondria menjadi senyawa metabolit yang reaktif⁶. Tanin pada umumnya menghambat aktivitas enzim dengan jalan membentuk ikatan kompleks dengan protein pada enzim substrat yang dapat menyebabkan gangguan pencernaan dan merusak dinding sel, sehingga mekanisme kerja tanin sebagai racun perut. Saponin dapat menurunkan aktivitas enzim pencernaan serta penyerapan makanan (*stomach poisoning*). Flavonoid merupakan salah satu jenis senyawa yang bersifat racun, mempunyai bau yang sangat tajam, dan sebagian besar merupakan pigmen berwarna kuning yang dapat larut dalam air maupun pelarut organik. Kegunaan dari flavonoid adalah sebagai zat pembunuh serangga melalui sistem pernafasan, sehingga mekanisme kerja flavonoid sebagai racun pernafasan¹⁰.

Berdasarkan penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun gelombang cinta mempunyai potensi sitotoksik. Hal tersebut berkaitan dengan kandungan senyawa saponin, flavonoid, dan tanin yang terdapat pada daun gelombang cinta. Hasil skrining fitokimia menunjukkan adanya kandungan flavonoid turunan senyawa

polifenol yang dikenal memiliki aktivitas antikanker. Flavonoid merupakan pigmen tumbuhan golongan senyawa bahan alam dari senyawa fenolik. Di dalam tubuh manusia, flavonoid bertindak sebagai antioksidan yang sangat baik untuk pencegahan kanker. Manfaat lain dari flavonoid adalah melindungi struktur sel, memiliki hubungan sinergis dengan vitamin C (meningkatkan efektivitas vitamin C), anti inflamasi, mencegah keropos tulang, dan sebagai antibiotik¹³.

Mekanisme kerja antioksidan memiliki dua fungsi. Fungsi pertama merupakan fungsi utama dari antioksidan yaitu sebagai pemberi atom hidrogen. Antioksidan (AH) yang mempunyai fungsi utama tersebut sering disebut sebagai antioksidan primer. Senyawa ini dapat menyumbangkan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipida (R^* , ROO^*) atau mengubah radikal bebas menjadi bentuk yang lebih stabil. Sementara turunan radikal antioksidan (A^*) tersebut memiliki keadaan lebih stabil dibanding radikal lipida. Selain flavonoid, senyawa lain yang terkandung dalam daun gelombang cinta adalah saponin dan tanin. Cara kerja senyawa tersebut adalah dengan bertindak sebagai racun perut sama dengan senyawa yang terkandung dalam daun tembelekan.

Suatu senyawa dinyatakan mempunyai potensi toksisitas menurut metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST) jika mempunyai harga LC50 kurang dari atau sama dengan 1000 ppm. *Lethal Concentration 50* (LC50) merupakan konsentrasi zat yang menyebabkan terjadinya kematian sebanyak 50 % pada hewan percobaan yaitu larva *Artemia salina* Leach. *Brine Shrimp Lethality Test* (BST) merupakan salah satu metode uji toksisitas yang banyak digunakan dalam

penelusuran senyawa bioaktif yang bersifat toksik dari bahan alam. Metode ini dapat digunakan sebagai *Bioassay-Guided Fractionation* dari bahan alam karena mudah, cepat, murah, dan cukup reproduibel¹⁴. Pengujian terhadap ekstrak etanol daun gelombang cinta menunjukkan harga LC50 sebesar 216,5 ppm sehingga dapat dinyatakan bahwa ekstrak etanol daun gelombang cinta memiliki potensi akut pada perlakuan hewan coba *Artemia salina* Leach menurut metode BST.

Hasil uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* terhadap rata-rata kematian larva *Artemia salina* Leach mendapatkan nilai signifikan lebih besar dari 0,05 yaitu sebesar 0,995 sehingga dapat dikatakan bahwa data terdistribusi normal. Hasil analisis linier ekstrak etanol daun gelombang cinta menghasilkan persamaan $LC50 = 0,023(x) + 0,02$ ($R^2 = 0,974$). Berdasarkan hasil tersebut dapat dinyatakan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun gelombang cinta berpengaruh terhadap peningkatan kematian larva *Artemia salina* Leach (dengan parameter LC50) sebesar 97,4%. Uji ekstrak etanol daun gelombang cinta dipengaruhi oleh variabel lainnya, misalnya pH, cahaya, dan kadar oksigen dalam air laut sebesar 2,6%.

Hasil uji tersebut dilanjutkan dengan uji korelasi Pearson dan didapatkan nilai korelasi $r=0,987$. Hasil uji korelasi Pearson menunjukkan adanya hubungan yang kuat antara kenaikan konsentrasi ekstrak etanol daun gelombang cinta terhadap kenaikan rata-rata kematian larva *Artemia salina* Leach. Ekstrak daun majapahit memiliki harga LC50 sebesar 10,7 ppm yang dianalisis dengan metode probit. Hasil analisis probit SPSS 20 menunjukkan bahwa kenaikan konsentrasi ekstrak etanol daun majapahit sebanding dengan kenaikan rata-rata kematian larva

Artemia salina Leach. Berdasarkan hasil uji statistik SPSS 20 dapat dikatakan bahwa ekstrak etanol daun majapahit dan ekstrak etanol daun gelombang cinta mempunyai potensi sitotoksisitas terhadap larva *Artemia salina* Leach.

Mekanisme flavonoid sebagai antikanker ada beberapa teori. Pertama, melalui mekanisme pengaktifan jalur apoptosis sel kanker. Mekanisme apoptosis sel pada teori ini merupakan akibat fragmentasi DNA. Fragmentasi ini diawali dengan dilepasnya rantai proksimal DNA oleh senyawa oksigen reaktif seperti radikal hidroksil. Kedua, flavonoid sebagai penghambat proliferasi tumor/kanker yang salah satunya dengan menginhibisi aktivitas protein kinase sehingga menghambat jalur transduksi sinyal dari membran sel ke inti sel⁸.

SARAN

Penelitian selanjutnya diharapkan dapat membandingkan dengan minuman bersoda karena dapat menyebabkan abrasi dan menurunkan kekerasan permukaan.

REFERENSI

1. Dalimarta, S. 2008. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jilid 1. Trubus Agriwidya. Jakarta. Hal 34.
2. Hidayati, N.A., Shanti Listyawati, and Ahmad Dwi Setyawan. 2008. Kandungan Kimia dan Uji Anti Inflamasi Ekstrak Etanol *Lantana camara* L. pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) Jantan. *Bioteknologi*. 5(1) : 10-17.
3. Dewi, M.K., Evie Ratnasari, and Guntur. 2014. Antibacterial Activity of Majapahit (*Crescentia cujete*) Leaves Extract on *Ralstonia solanacearum*. *LenteraBio*. 3(1). 51–57.
4. Ogbuagu, M.N. 2008. The Nutritive and Anti Nutritive Ompositions Of Calabash (*Crescentia cujete*) Fruit Pulp. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 7(9). 1069-1072.
5. Noor, S.M., M. Asniari Poeloengan, and Titin Yulianti. 2006. Analysis of Secondary Compounds and Testing of Antibacterial Activity of *Minusops elengi* L. Extract on *Salmonella typhi* and *Shigella boydii*. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veterine. *Balai Penelitian Veteriner*. Fakultas Farmasi. ISTN. Jakarta.
6. Sukardiman and Ekasari W. 2006. Uji Antikanker dan Induksi Apoptosis Fraksi Kloroform dari Daun Pepaya (*Carica papaya*) terhadap Kultur Sel Kanker. *Penelitian Kesehatan*. 24. Fakultas Farmasi. Universitas Airlangga.
7. Rivai, M. Ayu Hesti Wahyuni, and Humaira Fadhilah. 2013. Pembuatan dan Karakterisasi Ekstrak Kering Simplisia Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.). *Jurnal Farmasi Higea*. 5(1). Sains Farmasi dan Farmakologi.
8. Sangi, M., M. R. J. Runtuwene., H. E. I.Simbala dan V. M. A. Makang. 2008. Analisa Fitokimia Tumbuhan Obat Di Minahasa Utara. *Chem. Prog*. 1(1):47-53.
9. Stapleton, F.B., Jones, D.P., and Green, R.S. 2007. *Acute Renal Failure In Neonates : Incidence, Etiology, and Outcome*. *Pediatric Research Laboratory*. LeBonheur Children Medical Centre. University of Tennessee.
10. Sumilih, S., Ambarwati, and Dwi Astuti. 2010. Efektivitas Ekstrak Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum* Val.) dalam Membunuh Larva *Aedes aegypti*. *Jurnal Kesehatan*. ISSN 1979-7621. 3(10). 78-88.
11. Rita, W.S., Suirta, I.W., and Sabikin, A. 2008. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Yang Berpotensi Sebagai Antitumor Pada

- Daging Buah Pare (*Momordica charantia* L.). *Jurnal Kimia*. 2(1). 1-6.
12. Carballo, J.L., Hernandez-Inda, Z.L., Perez, P., and Garcia-Gravaloz, M.D. 2002. *Comparison Between Two Brine Shrimp Assays to Detect in Vitro Cytotoxicity in Marine Natural Products*. BMC Biotechnology.
13. Hamid, A.A., Aiyelaagbe, O.O., Usman, L.A., Ameen, O.M., and Lawal, A. 2010. Antioxidant : Its Medidal and Pharmacological Application. *African Journal of Pure and applied Chemistry*. 4(8). 142-151.
14. Lisdawati, V. Wiryowidagdo, S., and Kardono, L.B.S. 2006. *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) dari Berbagai Fraksi Ekstrak Daging Buah dan Kulit Biji Mahkota Dewa (Phaleri macrocarpa)*. *Buletin Penelitian Kesehatan*. 34(3). 111-118.