

UJI TOKSISITAS EKSTRAK DAUN TALAS (*Colocasia esculenta* L.) TERHADAP LARVA UDANG (*Artemia salina* Leach) DENGAN METODE *BRINE SHRIMP LETHALITY TEST* (BSLT)

Nurul Azizah Irmawal^{1*}, Safriani Rahman¹, Selpida Handayani¹

¹Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia, Makassar, Sulawesi Selatan

*Corresponding email: 15020190073@umi.ac.id

ABSTRACT

Taro plants contain several chemical components such as alkaloids, flavonoids, tannins, steroids and saponins which are thought to have toxic effects on *Artemia salina* shrimp larvae. This study aims to determine the toxicity of taro leaf extract to *Artemia salina* shrimp larvae and determine the LC₅₀ value by utilizing the *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) method. This study begins with the extraction of taro leaves using a multistage maceration method using three kinds of solvents with different levels of solubility including n-hexane, ethyl acetate and ethanol 96% solvents. Each thick extract (n-hexane, ethyl acetate, ethanol 96%) produced was identified for its compound content and then tested for toxicity using a concentration series of 50, 100, 250 and 500 ppm. Each concentration was divided into 3 replicates (3 vials) which included 10 *Artemia salina* larvae. After 24 hours, the mortality percent was observed and calculated using probit analysis. Based on the results of phytochemical screening, taro leaf extract contains alkaloid, tannin, flavonoid, steroid and saponin compounds. The results of toxicity testing showed the LC₅₀ value of taro leaf extract was 555.90 in n-hexane extract, 401.79 in ethyl acetate extract and 57.41 in 96% ethanol extract. This indicates that taro leaf extract is toxic to *Artemia salina* larvae because it has an LC₅₀ value of <1000 µg/ml.

Keywords: Taro leaf; toxicity; BSLT; *Artemia salina* Leach.

ABSTRAK

Tanaman talas mengandung beberapa komponen kimia berupa alkaloid, flavonoid, tanin, steroid dan saponin yang diduga dapat memberikan efek toksik terhadap larva udang *Artemia salina*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui toksisitas ekstrak daun talas terhadap larva udang *Artemia salina* serta menentukan nilai LC₅₀ dengan memanfaatkan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Penelitian ini diawali dengan melakukan ekstraksi pada daun talas menggunakan metode maserasi bertingkat dengan memakai tiga macam pelarut yang berbeda tingkat kepolaran meliputi pelarut n-heksan, etil asetat dan etanol 96%. Masing-masing ekstrak kental (n-heksan, etil asetat, etanol 96%) yang dihasilkan diidentifikasi kandungan senyawanya kemudian diuji toksisitasnya menggunakan seri konsentrasi 50, 100, 250 dan 500 ppm. Setiap konsentrasi dibagi menjadi 3 replikasi (3 vial) yang dimasukkan kedalamnya 10 ekor larva *Artemia salina*. Setelah 24 jam, diamati dan dihitung persen kematiannya menggunakan analisis probit. Berdasarkan hasil skrining fitokimia, ekstrak daun talas mengandung senyawa alkaloid, tanin, flavonoid, steroid dan saponin. Hasil pengujian toksisitas menunjukkan nilai LC₅₀ dari ekstrak daun talas sebesar 555,90 pada ekstrak n-heksan, 401,79 pada ekstrak etil asetat dan 57,41 pada ekstrak etanol 96%. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun talas bersifat toksik terhadap larva *Artemia salina* karena memiliki nilai LC₅₀ <1000 µg/ml.

Kata Kunci: Daun talas; toksisitas; BSLT; *Artemia salina* Leach.

PENDAHULUAN

Talas merupakan tanaman pangan berupa herba menahun. Talas termasuk dalam suku talas-talasan (*Araceae*), berperawakan tegak, tingginya satu atau lebih cm merupakan tanaman semusim atau sepanjang tahun [1]. Secara empiris, daun talas digunakan oleh masyarakat sebagai obat *scrofula*, radang kulit bernanah, *psoriasis*, tumor di rongga perut, berak darah,

keseleo, ketombe, bisul dan luka bakar [2]. Selain itu, daun talas juga dapat mengurangi masalah-masalah pencernaan, seperti produksi gas yang berlebih, kembung, diare, dan kram perut. Talas mengandung potassium yang mampu mengurangi tekanan darah pada pembuluh darah. Oleh karena itu, tumbuhan ini baik untuk dikonsumsi oleh penderita darah tinggi [3]. Menurut hasil pengujian skrining fitokimia, ekstrak daun talas mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, steroid dan saponin. Senyawa-senyawa tersebut memiliki peranan penting dalam proses penyembuhan luka [4].

Pada penelitian Putra dan Said (2015) telah dilakukan uji toksisitas ekstrak etanol umbi talas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Dari penelitian tersebut diperoleh hasil dimana ekstrak etanol umbi talas ternyata bersifat toksik karena memiliki nilai $LC_{50} < 1000$ $\mu\text{g/ml}$ yaitu sebesar 33,997 $\mu\text{g/ml}$ (7,97 $\mu\text{g/ml}$ -151,231 $\mu\text{g/ml}$) [5]. Selain itu, pada penelitian Firmansyah & Sandistira (2020), juga telah dilakukan uji toksisitas menggunakan ekstrak daun talas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Dalam penelitian tersebut digunakan metode ekstraksi maserasi dan cairan penyari berupa etanol 96 %. Sehingga diperoleh hasil dimana ekstrak daun talas bersifat toksik dengan kategori sedang dan nilai LC_{50} sebesar 108,8178 ppm [6]. Dari data inilah, Peneliti tertarik ingin melakukan pengujian yang sama menggunakan sampel daun talas tetapi dengan metode ekstraksi bertingkat yaitu menggunakan tiga macam cairan penyari yang berbeda tingkat kepolarannya. Adapun tujuan dilakukannya ekstraksi bertingkat dalam penelitian ini diharapkan agar semua komponen senyawa aktif yang terkandung dalam daun talas (*Colocasia esculenta* L.) dapat tertarik berdasarkan tingkat kepolarannya.

Penggunaan obat tradisional memang memiliki harga yang murah, alami, dan bahan-bahannya mudah didapat, namun bahan alami juga perlu diuji toksisitasnya untuk mengetahui keamanannya agar tidak menimbulkan efek yang tidak diinginkan. Oleh karena itu, perlu dilakukan uji toksisitas. Metode awal yang sering digunakan untuk mengamati toksisitas senyawa dalam ekstrak tumbuhan adalah *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Cara ini ditunjukkan dengan tingkat kematian larva udang *Artemia salina* Leach yang disebabkan oleh ekstrak uji. Hasil yang diperoleh dihitung sebagai nilai LC_{50} (*lethalconcentration*) ekstrak uji, yaitu besarnya konsentrasi ekstrak yang dapat menyebabkan kematian larva udang sebesar 50% selama masa inkubasi 24 jam [7].

Berdasarkan latar belakang tersebut di atas, maka perlu dilakukan penelitian tentang uji toksisitas ekstrak daun talas (*Colocasia esculenta* L.) terhadap Larva udang (*Artemia salina* Leach) dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2022 sampai bulan Juni 2023 di Laboratorium Farmakognosi-Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia Makassar.

Alat dan Bahan yang digunakan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas, mikropipet, neraca analitik (*Sartorius*), seperangkat alat maserasi, seperangkat alat penetasan telur larva, seperangkat alat rotavapor, timbangan portable (*Pocket Scale*) dan vial. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah air laut, aluminium foil, aquades, CH_3COOH , daun talas (*Colocasia esculenta* L.), dimetil sulfoksida (DMSO), etanol 96%, etil asetat, ekstrak ragi, FeCl_3 , HCl, H_2SO_4 kertas saring, kertas whatman, kloroform, larva udang *Artemia salina* Leach, Mg (Magnesium) dan n-heksan.

Prosedur Kerja

Pengambilan dan Pengolahan Sampel

Daun talas (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) berasal dari kabupaten luwu, sulawesi selatan. Lalu dilakukan pengolahan simplisia untuk memisahkan daun talas dari bagian tumbuhan yang terdapat kotoran atau bahan asing lainnya. Daun talas yang telah terkumpul dicuci untuk menghilangkan kotoran yang melekat. Pencucian dilakukan dengan air mengalir, ditiriskan dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan ditempat yang tidak terkena sinar matahari langsung. Simplisia yang kering kemudian disortasi kering untuk memisahkan benda-benda asing seperti pengotoran lain yang terjadi selama pengeringan. Setelah disortasi ditimbang kembali dan diperoleh berat simplisia. Setelah dilakukan penimbangan simplisia dihaluskan dengan menggunakan blender untuk menghasilkan serbuk simplisia. Serbuk simplisia yang sudah jadi disimpan dalam plastik untuk mencegah lembab dan pengotoran lainnya sebelum di ekstraksi [8].

Pembuatan Ekstrak Daun Talas (Colocasia esculenta L.)

Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi bertingkat. Pelarut yang digunakan adalah pelarut dengan kepolaran yang makin meningkat yaitu n-heksan, etil asetat dan etanol 96 %. Masing-masing pelarut yang digunakan sebanyak 1000 mL (1:10). Serbuk simplisia ditimbang sebanyak 100gram kemudian dimasukkan ke dalam wadah maserasi. Maserasi pertama simplisia direndam dengan 1000 mL n-heksan selama 3 x 24 jam sambil sesekali dilakukan pengadukan. Filtrat dipisahkan untuk diuapkan menggunakan kertas saring sedangkan ampas dimaserasi kembali dengan pelarut etil asetat 1000 mL sambil sesekali dilakukan pengadukan dan dilakukan pemisahan ampas dan filtrat. Perlakuan yang sama untuk pelarut etanol. Semua ekstrak cair yang dihasilkan selanjutnya dipekatkan dengan menggunakan alat rotary evaporator dengan suhu 50⁰C [9].

Uji Skrining Fitokimia

Uji Alkaloid

Sebanyak 0,5gram ekstrak daun talas ditambahkan 1 mL asam klorida 2N dan 6 mL air suling, lalu dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit, didinginkan dan disaring. Filtrat dipakai untuk tes alkaloid. Diambil 3 tabung reaksi lalu ke dalam masing-masing tabung reaksi dimasukkan 0,5 mL filtrat. Pada masing-masing tabung ditambahkan 2 tetes pereaksi. Terbentuknya endapan putih terhadap pereaksi Mayer, endapan cokelat pada pereaksi wagner dan endapan jingga atau merah dengan pereaksi dragendorff menunjukkan hasil positif uji alkaloid [10].

Uji Tanin

Sebanyak 1 mL ekstrak daun talas ditambahkan 2- 3 tetes larutan FeCl₃ 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau [11].

Uji Flavonoid

Sebanyak 1 mL ekstrak daun talas ditambahkan dengan 2 tetes HCl pekat. Kemudian ditambahkan 0,2gram bubuk Magnesium. Hasil positif ditunjukkan dengan timbulnya warna merah tua selama 3 menit [11].

Uji Steroid dan Triterpenoid

Sebanyak 1 mL ekstrak daun talas ditambahkan kloroform sebanyak 20 tetes, setelah itu dikocok. Masing-masing asetat anhidrat dan asam sulfat pekat sebanyak 2 tetes ditambahkan pada filtrate. Steroid memberikan warna biru atau hijau, sedangkan terpenoid memberikan warna merah atau ungu [10].

Uji Saponin

Sebanyak 1 ml ekstrak daun talas ditambahkan aquades hingga ekstrak terendam. didihkan selama 2-3 menit dan dinginkan kemudian di kocok. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih setinggi 1 cm selama tidak kurang dari 10 menit. Kemudian bila ditambahkan 1 tetes HCL 2 N buih tidak hilang [11].

Pengujian Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

Penetasan Telur Artemia salina leach

Telur udang ditetaskan 2 hari sebelum dilakukan pengujian. Disiapkan air laut, kemudian disaring dengan kertas whatman. Disiapkan juga bejana untuk penetasan telur udang. Wadah yang digunakan dibagi menjadi dua bagian, bagian gelap dan terang kemudian ditambahkan 1000 mL air laut. Satu ruang dalam bejana tersebut diberi penerangan dengan cahaya lampu pijar/neon 40-60watt untuk menghangatkan, sedangkan di ruang sebelah lainnya diberi air laut tanpa penyorotan yang ditutup dengan aluminium foil. Kemudian, sebanyak 50gram Telur udang yang sebelumnya telah dicuci ditempatkan/direndam pada bagian gelap dari wadah berisi air laut. Telur udang yang terendam air laut dibiarkan selama 2 x 24 jam sampai menetas menjadi benur (Nauplius) [12].

Pembuatan larutan uji

Masing-masing ekstrak (n-heksan, etil asetat, etanol 96%) daun talas ditimbang sebanyak 100 mg, kemudian ditempatkan pada labu takar 50 mL. Kemudian masing-masing ekstrak ditambahkan dengan air laut untuk melarutkan. Jika tidak larut, maka ditambahkan dimetil sulfoksida (DMSO) 1% sebanyak 2 tetes atau tidak melebihi 0,5 μ L. Setelah homogen, dicukupkan dengan air laut hingga volumenya mencapai 50 mL sehingga didapatkan konsentrasi larutan stok 2000 ppm. Dari larutan stok tersebut, dibuat variasi konsentrasi didalam vial yaitu konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 250 ppm dan 500 ppm dengan cara pengenceran. Untuk membuat konsentrasi 50 ppm, dipipet sebanyak 0,25 mL larutan stok, lalu dicukupkan dengan air laut hingga volumenya mencapai 10 mL. Kemudian untuk membuat konsentrasi 100 ppm, 250 ppm dan 500 ppm, maka dipipet larutan stok secara berurutan 0,5 mL, 1,25 mL, 2,5 mL, lalu dicukupkan dengan air laut hingga volumenya mencapai 10 mL [13].

Pengujian Toksisitas

Untuk menguji efek toksik dari ekstrak daun talas (n-heksan, etil asetat, etanol 96%), maka diujikan pada larva *Artemia salina* Leach. Setiap pengujian dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan. 1 kelompok kontrol negatif menggunakan air laut dan 3 kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak daun talas (n-heksan, etil asetat, etanol 96%). Setiap kelompok terdiri dari 4 perlakuan dan setiap perlakuan terdiri dari 3 replikasi (3 vial). Masing-masing perlakuan (vial) diberikan 10 ekor larva *Artemia salina* Leach dan dicukupkan volumenya hingga 10 mL dengan air laut. Untuk melihat kematian larva *Artemia salina* Leach, vial uji disimpan selama 24 jam di tempat yang cukup mendapatkan sumber cahaya. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam. Hasil pengamatan yang berupa kematian larva kemudian dihitung presentase kematiannya. Data yang diperoleh diolah dengan menggunakan analisis probit [13].

Analisis Data

Pengolahan data untuk uji toksisitas menggunakan analisis probit yang dilakukan dengan menggunakan metode analisis probit manual, maka dapat diketahui nilai probit dengan mengkonversi nilai persen kematian larva pada tiap konsentrasi ke nilai probit

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

Setelah mendapatkan persentase kematian, nilai probit dari tiap kelompok hewan uji ditentukan melalui tabel probit. Kemudian menentukan log konsentrasi [14].

HASIL DAN DISKUSI

Pada penelitian ini telah dilakukan uji toksisitas menggunakan ekstrak daun talas (*Colocasia esculenta* L.) terhadap larva udang *Artemia salina* dengan memanfaatkan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). BSLT merupakan uji pendahuluan atau praskrining aktivitas biologis yang sederhana untuk menentukan toksisitas suatu senyawa atau ekstrak secara akut menggunakan hewan coba larva *Artemia salina*. Metode ini dipilih karena memiliki beberapa kelebihan diantaranya waktu uji yang cepat, mudah, tidak memerlukan peralatan khusus, sederhana, murah, jumlah organisme banyak, hasilnya representatif dan dapat dipercaya [12].

Tahapan pengujian dalam penelitian ini adalah penyiapan alat dan bahan, pengumpulan dan pengolahan sampel, pembuatan ekstrak, uji skrining fitokimia, penyiapan larva *Artemia salina*, pembuatan larutan uji dan uji toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Adapun sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak daun talas (n-heksan, etil asetat, etanol 96%) yang diperoleh dari hasil ekstraksi menggunakan metode maserasi bertingkat. Maserasi dipilih karena metode ini merupakan jenis ekstraksi dingin yang dalam pengerjaannya tidak memerlukan proses pemanasan sehingga dapat meminimalisir kerusakan komponen kimia yang bersifat termolabil yang terkandung dalam sampel [15]. Proses maserasi bertingkat dilakukan dengan menggunakan tiga macam pelarut yang berbeda tingkat kepolarannya. Dimulai dari pelarut yang bersifat nonpolar yaitu n-heksan, kemudian dilanjutkan dengan pelarut etil asetat yang memiliki tingkat kepolaran yang rendah serta pelarut etanol yang tingkat kepolarannya lebih tinggi [13]. Hasil yang diperoleh dari proses ekstraksi dapat dilihat pada table 1.

Pada table 1 menunjukkan hasil persen rendamen ekstrak daun talas menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat dan etanol secara berturut-turut adalah 1,721%, 2,246% dan 7,382%. Dari hasil tersebut terlihat bahwa ekstrak etanol mengandung lebih banyak persen rendamen dibandingkan dengan ekstrak n-heksan dan etil asetat. Dari hasil tersebut terlihat bahwa ekstrak etanol mengandung persen rendemen lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak n-heksan dan etil asetat. Hal ini menunjukkan kemampuan pelarut etanol 96% dalam menyari lebih besar dibandingkan dengan pelarut n-heksan dan etil asetat. Selain itu, juga disebabkan karena kepolaran senyawa yang terdapat pada daun talas mempunyai kepolaran yang hampir sama dengan pelarut etanol sehingga senyawa yang diekstrak oleh pelarut ini jumlahnya lebih banyak dibandingkan dengan pelarut n-heksan dan etil asetat [16]. Menurut Dewatisari dkk (2017) rendamen ekstrak adalah perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal. Perhitungan rendamen ekstrak dilakukan dengan tujuan untuk menilai mutu suatu ekstrak. Nilai suatu rendamen yang kadarnya tinggi menunjukkan banyaknya suatu komponen bioaktif yang terkandung didalamnya [15].

Komponen senyawa yang terkandung dalam sampel daun talas dapat diketahui dengan melakukan uji skrining fitokimia. Uji ini merupakan tahap pendahuluan dalam suatu penelitian fitokimia yang bertujuan untuk memberi gambaran terkait golongan senyawa yang terkandung dalam sampel yang digunakan [17]. Adapun uji skrining fitokimia yang dilakukan pada penelitian ini meliputi uji alkaloid, tannin, flavonoid, steroid, triterpenoid dan saponin. Hasil yang diperoleh dapat dilihat pada table 2.

Pada tabel 2 menunjukkan ekstrak daun talas (*Colocasia esculenta* L.) yang menggunakan pelarut etanol mengandung lebih banyak komponen bioaktif dibandingkan dengan ekstrak daun talas yang menggunakan pelarut n-heksan dan etil asetat. Komponen bioaktif yang terdeteksi pada ekstrak etanol diantaranya yaitu alkaloid, tanin, flavonoid dan saponin. Pada ekstrak etil asetat, komponen bioaktif yang terdeteksi adalah alkaloid, tannin dan steroid sedangkan pada ekstrak n-heksan komponen bioaktif yang terdeteksi adalah alkaloid, tannin dan saponin. Pada pengujian fitokimia ini ekstrak daun talas (*Colocasia esculenta* L.) tidak terdeteksi mengandung komponen triterpenoid.

Uji senyawa alkaloid menunjukkan hasil positif pada ketiga ekstrak yang diujikan yaitu n-heksan, etil asetat dan etanol 96%. Hal ini ditandai dengan adanya endapan putih pada pereaksi meyer, endapan coklat pada pereaksi wagner dan endapan jingga pada pereaksi dragendorff. Menurut Harbone (1987), pelarut nonpolar (n-heksan) dikenal efektif terhadap alkaloid [18]. Menurut Hanani (2016), alkaloid dalam tumbuhan umumnya berbentuk garam dan bersifat larut dalam pelarut polar seperti etanol dan air [19]. Sedangkan menurut Hardiana dkk (2012), alkaloid mengandung nitrogen sebagai bagian dari sistem sikliknya serta mengandung substituent yang bervariasi seperti gugus amina, amida, fenol dan metoksi

sehingga bersifat semi polar [20]. Oleh karena itu, senyawa alkaloid dapat tertarik pada pelarut n-heksan, etil asetat dan etanol 96%.

Uji senyawa tanin menunjukkan hasil positif pada ekstrak etil asetat dan etanol 96%, tetapi tidak pada ekstrak n-heksan. Adanya senyawa tanin pada ekstrak ditandai dengan perubahan warna larutan ekstrak menjadi hijau kehitaman. Perubahan warna tersebut disebabkan karena adanya reaksi yang terjadi antara gugus senyawa tannin dengan reagen FeCl_3 1%. Tanin merupakan senyawa makromolekul dari senyawa polifenol yang bersifat polar. Umumnya senyawa ini akan larut dalam pelarut polar (etanol). Meskipun demikian, senyawa ini juga dapat tertarik oleh pelarut semi polar (etil asetat), karena gugus hidroksil pada senyawa tannin mampu berikatan dengan gugus metoksil atau gugus hidroksil pada etil asetat [21]. Senyawa ini tidak terdeteksi pada pelarut n-heksan karena adanya perbedaan sifat polaritas [22].

Uji senyawa flavonoid menunjukkan hasil positif pada ekstrak etanol 96% tetapi tidak pada ekstrak n-heksan dan etil asetat. Flavonoid merupakan golongan senyawa fenol yang bersifat polar. Senyawa ini umumnya akan larut oleh pelarut dengan sifat kepolaran yang sama seperti etanol. Sementara pelarut n-heksan yang bersifat nonpolar dan pelarut etil asetat yang bersifat semi polar dianggap kurang efektif dalam melarutkan senyawa polar seperti flavonoid [21].

Uji senyawa saponin menunjukkan hasil positif pada ekstrak etanol 96% tetapi tidak pada ekstrak n-heksan dan etil asetat. Saponin merupakan jenis glikosida karena adanya gugus gula (karbohidrat) dalam strukturnya sehingga kelarutan senyawa ini dalam pelarut polar sangat besar. Senyawa ini tidak terdeteksi pada ekstrak n-heksan dan etil asetat kemungkinan karena adanya perbedaan polaritas [22].

Uji senyawa steroid/triterpenoid menunjukkan hasil positif steroid pada ekstrak n-heksan dan etil asetat tetapi tidak pada ekstrak etanol 96%. Hal ini ditandai dengan adanya perubahan warna larutan ekstrak menjadi hijau. Menurut widiyati (2006), steroid dan triterpenoid dapat larut dalam pelarut yang bersifat nonpolar seperti kloroform atau n-heksan [23]. Menurut Hartati et al (2021), senyawa steroid umumnya bersifat non polar dan juga mampu terekstrak dalam pelarut semipolar seperti etil asetat [24]. Dalam pengujian ini senyawa steroid ataupun triterpenoid tidak terdeteksi pada ekstrak etanol 96% disebabkan karena pelarut etanol memiliki tingkat kepolaran yang tinggi sehingga tidak mampu mengekstrak senyawa steroid dan triterpenoid yang bersifat nonpolar [25].

Untuk melihat kemampuan ekstrak daun talas dalam memberikan efek toksik terhadap larva *Artemia salina* maka dilakukan uji toksisitas dengan menggunakan seri konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 250 ppm dan 500 ppm. Selain itu juga dibuat larutan kontrol atau pembanding untuk membuktikan bahwa respon kematian larva hanya berasal dari ekstrak yang digunakan bukan disebabkan karena faktor perlakuan maupun pengaruh dari media yang digunakan. Hasil pengamatan terhadap kematian larva dapat dilihat pada table 3.

Pada tabel 3 menunjukkan dari ketiga ekstrak (n-heksan, etil asetat, etanol 96%) terlihat bahwa ekstrak etanol yang menyebabkan kematian larva lebih banyak dibandingkan dengan ekstrak n-heksan dan etil aset. Selain itu, dalam pengujian ini kematian larva tertinggi berada pada konsentrasi 500 ppm sedangkan kematian larva terendah berada pada konsentrasi 50 ppm. Dari pernyataan tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu ekstrak, maka semakin besar pengaruhnya terhadap kematian larva. Pada kontrol tidak ditemukan adanya kematian larva sehingga dapat disimpulkan bahwa air laut tidak mempengaruhi kematian dari larva yang diujikan.

Kandungan kimia dalam ekstrak daun talas (*Colocasia esculenta* L.) yang dipercaya dapat memberikan efek toksik terhadap larva *Artemia salina* yaitu alkaloid, saponin, tanin, steroid dan flavonoid. Menurut Vitalia dkk (2016), saponin bersifat toksik karena mampu menurunkan aktivitas enzim pencernaan dan penyerapan makanan. Mekanisme kematian larva juga berhubungan dengan fungsi senyawa tanin, steroid, alkaloid dan flavonoid. Cara kerja dari

senyawa-senyawa tersebut adalah dengan bertindak sebagai *stomach poisoning* atau racun perut sehingga apabila senyawa-senyawa ini masuk ke dalam tubuh larva akan mengakibatkan alat pencernaannya terganggu. Selain itu, senyawa ini juga dapat menghambat reseptor perasa pada mulut larva yang mengakibatkan larva gagal mendapatkan stimulus rasa sehingga tidak mampu mengenali makanannya dan pada akhirnya menyebabkan larva mati kelaparan [15]. Menurut Sandriani dkk (2014), senyawa metabolit golongan flavonoid dapat menyebabkan kematian pada larva udang *Artemia salina*. Dengan adanya flavonoid dalam lingkungan sel, menyebabkan gugus OH- pada flavonoid berikatan dengan protein integral membrane sel. Hal ini menyebabkan pemasukan ion Na^+ yang tidak terkendali ke dalam sel dan menyebabkan membrane sel menjadi pecah. Pecahnya membrane sel inilah yang menyebabkan kematian sel [26].

Perhitungan nilai LC_{50} dapat ditentukan dengan cara membuat grafik persamaan regresi linear dari data yang diperoleh untuk mendapatkan nilai $y = bx + a$. Grafik dapat dilihat pada gambar 1, 2 dan 3. Pada gambar 1 menunjukkan ekstrak n-heksan daun talas menghasilkan persamaan regresi linear $y = 2,0627x + 0,6631$ dengan nilai $R^2 = 0,9954$. Kemudian pada gambar 2 (ekstrak etil asetat daun talas) menunjukkan persamaan regresi linear $y = 2,1975x + 0,7244$ dengan nilai $R^2 = 0,988$. Sedangkan pada gambar 3 (ekstrak etanol daun talas) menunjukkan persamaan regresi linear $y = 3,1596x + 0,5605$ dengan nilai $R^2 = 0,9798$. Dimana nilai R^2 dari ketiga ekstrak tersebut hampir mendekati 1. Ini membuktikan bahwa konsentrasi dari ketiga ekstrak memiliki hubungan dengan nilai kematian larva. Hal ini sesuai dengan pernyataan (Susanti et al., 2023) dimana suatu konsentrasi ekstrak dan mortalitas kematian larva memiliki hubungan yang kuat apabila nilai R^2 mendekati 1.

Penentuan nilai LC_{50} dilakukan dengan analisa probit yang diperoleh dari data mortalitas. *Lethal concentration 50* (LC_{50}) adalah kadar yang menyebabkan kematian 50% hewan uji pada percobaan selama waktu tertentu [27]. Hasil uji toksisitas dapat dilihat pada table 4.

Pada tabel 4 menunjukkan nilai LC_{50} dari ekstrak n-heksan sebesar $555,90 \pm 0,829 \mu\text{g/mL}$, ekstrak etil asetat $401,79 \pm 0,801 \mu\text{g/mL}$ dan ekstrak etanol $57,41 \pm 0,738 \mu\text{g/mL}$. Dari ketiga ekstrak tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol memiliki toksisitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak n-heksan dan etil asetat. Hal ini disebabkan karena kandungan senyawa toksik yang terdapat pada ekstrak etanol jumlahnya lebih banyak dan memiliki aktivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan senyawa-senyawa yang terkandung dalam ekstrak n-heksan dan etil asetat. Menurut Meyer et al., (1982) dalam jurnal [27] menyatakan bahwa apabila nilai LC_{50} suatu senyawa hasil isolasi atau ekstrak tanaman kurang $1000 \mu\text{g/mL}$, maka senyawa tersebut dapat diduga memiliki efek toksik. Berdasarkan pernyataan tersebut dapat dikatakan bahwa ekstrak daun talas (*Colocasia esculenta* L.) bersifat toksik terhadap Larva *Artemia salina* Leach.

KESIMPULAN

Berdasarkan analisis data hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat ditarik kesimpulan bahwa ekstrak daun talas (*Colocasia esculenta* L.) mempunyai efek toksisitas terhadap larva udang *Artemia salina* Leach. Adapun nilai LC_{50} dari masing-masing ekstrak daun talas yaitu n-heksan $555,90 \mu\text{g/mL}$, ekstrak etil asetat $401,79 \mu\text{g/mL}$ dan ekstrak etanol $57,41 \mu\text{g/mL}$.

REFERENSI

- [1] Ansori MR. Talas (*Colocasia esculenta* [L.] Schott) sebagai Obat Herbal untuk Mempercepat Penyembuhan Luka. Jurnal Agromed Unila. 2015;2(2):108–112.
- [2] Herwin, Baits M, Ririn. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Talas Ketan (*Colocasia esculenta*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Salmonella thypi* Secara Difusi Agar. As-Syifaa. 2016;8(1):69–75.

- [3] Rahim S, Baderan DWK. Mengenal Biodiversitas Tumbuhan Dari Geosite Danau Limboto-Gorontalo (Suatu Tinjauan Ekologi Biodiversitas dan Lingkungan Danau). Yogyakarta: Deepublish; 2022
- [4] Khairany N, Idiawati N, Wibowo MA. Analisis Sifat Fisik Dan Kimia Gel Ekstrak Etanol Daun Talas (*Colocasia esculenta (L.) Schott*). Jurnal Kimia Khatuistiwa. 2015;12(1):44–51.
- [5] Putra B, Assagaf SAD. Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Umbi Talas (*Colocasia esculenta L. Schoot*) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test Terhadap *Artemia salina* Leach. As-Syifaa. 2015;7(1):19-25.
- [6] Firmansyah, Sandistira A. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Daun Talas (*Colocasia esculenta L.*) Terhadap Larva Udang (*Artemia salina Leach*) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Jurna Kesehatan Yamasia Makassar. 2020;4(1):79-86.
- [7] Widyasari R, Puspitasari D, Wildaniah W, Wahida RC. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Kulit Buah Jeruk Sambal (*Citrus microcarpa Bunge*) Terhadap Larva *Artemia salina L.* Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Medical sains. 2018;3(1):51–58.
- [8] Nurhayati R, Purnawati E, Anggraini LD. Analisis Kualitatif Fitokimia Kandungan Flavonoid Ekstrak Etanol dan Fraksi Metanol Daun Talas (*Colocasia esculenta (L.)Schott*) Menggunakan Metode KLT-Densitometri. Jurnal Pharma Bhakta. 2022;2(2):24–29.
- [9] Istiqomah, Yahdi, Dewi YK. Uji Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Kulit Batang Kesambi (*Schleichera oleosa (Lour) Oken*) Menggunakan Metode Ekstraksi Bertingkat. Jurnal Kimia & Pendidikan Kimia. 2021;3(1):23–31.
- [10] Masniawati A, Johannes E, Winarti W. Analisis Fitokimia Umbi Talas Jepang *Colocasia esculenta L. (Schott) var. antiquorum* dan Talas *Kimpul Xanthosoma sagittifolium L. (Zchott)* dari Dataran Rendah. Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan. 2021;12(2):7–14.
- [11] Rumouw D, Identifikasi dan Analisis Kandungan Fitokimia Tumbuhan Alam Berkhasiat Obat Yang Dimanfaatkan Masyarakat Sekitar Kawasan Hutan Lindung Sahedaruman. Jurnal LPPM Bidang Sains dan Teknologi. 2017;4(2): 53-56
- [12] Kurniawan H, Ropiqa M. Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Ekor Kucing (*Acalypha hispida Burm.f.*) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Journal Syifa Sciences and Clinical Research. 2021;3(2):52–62.
- [13] Vitalia N, Najib A, Ahmad AR. Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pletekan (*Ruellia tuberosa L.*) Dengan Menggunakan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Jurnal Fitofarmaka Indonesia. 2016;3(1): 5-11.
- [14] Rafiqah, Mastura, Hasibuan MP. Uji Toksisitas Fraksi Etanol Tanaman Obat yang Digunakan Masyarakat Menggunakan Metode Brine Shrimp Lethality Test. Chemical Jurnal Pendidikan Kimia dan Ilmu Kimia. 2019;2(1):14–20.
- [15] Dewatisari WF, Rumiayati L, Rakhmawati I. Rendamen dan Skrining Fitokimia pada Ekstrak Daun *Sansevieria sp.* Jurnal Penelitian Pertanian. 2017;17(3):197–202.
- [16] Adiyasa KGP, Wrasiasi LP, Wartini NM. Efektivitas Jenis Pelarut dan lama Ekstraksi Terhadap Karakteristik Concrete Minyak Atsiri Kulit Jeruk Mandarin (*Citrus reticulata*). Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri. 2015;3(4):21–29.

- [17] Riwanti P, Izazih F. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 96% *Sargassum polycystum* dan Profile dengan Spektrofotometri Infrared. *Acta Holistica Pharmacia*. 2019;2(1):34–41.
- [18] Harbone JB. *Phytochemical Methods*. Bandung: Penerbit ITB; 1987
- [19] Hanani E. *Analisis Fitokimia*. Jakarta: EGC; 2016
- [20] Hardiana R, Rudiyanasyah, Zaharah TA. Aktivitas Antioksidan Senyawa Golongan Fenol Dari Beberapa Jenis Tumbuhan Family Malvaceae. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. 2012;1(1):8-13
- [21] Putri DM, Lubis SS. Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Daun Kalayu (*Erioglossum rubiginosum* (Roxb.) Blum). *Amina*. 2020;2(3):120–125.
- [22] Astuti MD, Umaningrum D, Mustikasari K. Toksisitas Ekstrak N-Heksan dan Metanol Daun kelopak Tambahan Tumbuhan Permot (*Passiflora foetida* L.). *Sains dan Terapan Kimia*. 2014;8(2):80–86.
- [23] Widiyati E. Penentuan Adanya Senyawa Triterpenoid Dan Uji Aktivitas Biologis Pada Beberapa Spesies Tanaman Obat Tradisional Masyarakat Pedesaan Bengkulu. *Jurnal Gradien*. 2006;2(1):116-122.
- [24] Hartati S, Danial M, Salempa P. Isolasi dan Identifikasi Senyawa metabolit Sekunder Ekstrak etil Asetat Daun Kayu Jawa (*Lannea coromandelica* (Houtt) Merr). *Jurnal Chemical*. 2021;122(1):84–93.
- [25] Hanifa, NI, Wirasisya D, Mulianti AE, Utami SB, Listyacahyani SA. Phytochemical Screening of Decoction and Ethanolic Extract of *Amomum dealbatum* Roxb. Leaves. *Jurnal Biologi Tropis*. 2021;21(2):510–518.
- [26] Sandriani A, Oratmangun, Fatimawali, Bodhi W. Uji Toksisitas Ekstrak Tanaman Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* L.) Terhadap *Artemia salina* Dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) Sebagai Studi Pendahuluan Potensi Anti kanker. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 2014;3(3):11-18
- [27] Rinaldi FF, Ibrahim A, Fadraersada J, Rijai L. Identifikasi Metabolit Sekunder Dan Pengujian Toksisitas Ekstrak Metanol Kulit Kayu Laban (*Vitex pinnata* L.) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). 2016;133-139.

TABEL

Tabel 1. Hasil Perhitungan Persen Rendamen Ekstrak Daun Talas (*Colocasia esculenta* L.)

Jenis Pelarut	Jumlah pelarut (mL)	Berat Simplisia (g)	Berat Ekstrak (g)	Rendamen (%)
n-heksan	1000	100	1,721	1,721
Etil Asetat	1000	100	2,246	2,246
Etanol 96%	1000	100	7,382	7,382

Tabel 2. Hasil Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Talas (*Colocasia esculenta* L.)

Uji	Pereaksi	Indikator	Esktrak Kental		
			n-Heksan	Etil asetat	Etanol 96%
Alkaloid	Mayer	Endapan putih	-	-	+
	Wagner	Endapan coklat	+	+	+
	Dragendorff	Endapan merah atau jingga	-	+	+
Tanin	FeCl ₃	Warna hijau atau biru kehitaman	-	+	+
Flavonoid	HCL pekat + Magnesium	Warna merah jingga	-	-	+
Steroid/ Triterpenoid	Kloroform + asam asetat anhidrat + H ₂ SO ₄	Warna biru atau hijau	+(steroid)	+(steroid)	-
Saponin	Air (dipanaskan) + HCL 2N	Adanya buih setinggi 1 cm	-	-	+

Keterangan : (+) = Mengandung senyawa fitokimia yang di ujikan

(-) = Tidak mengandung senyawa fitokimia yang di ujikan

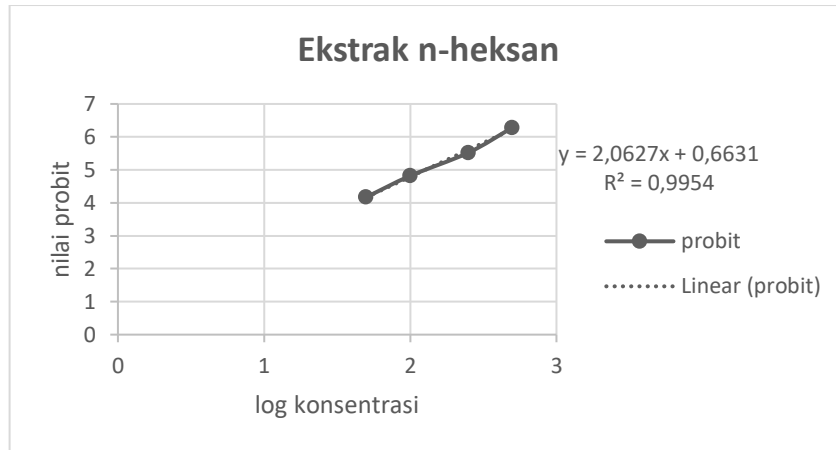
Tabel 3. Hasil pengamatan kematian larva udang (*Artemia salina* Leach) setelah 24 jam pada ekstrak daun Talas (*Colocasia esculenta* L.) dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Sampel Uji	Rep	Jumlah larva udang yang mati tiap seri konsentrasi sampel uji				
		50 ppm	100 ppm	250 ppm	500 ppm	kontrol negatif
Ekstrak n-heksan	1	2	4	7	9	0
	2	1	5	6	10	0
	3	3	4	8	8	0
Total kematian		6	13	21	27	-
% Kematian		20%	43,33%	70%	90%	0%
Nilai probit		4,17	4,82	5,52	6,28	-
Ekstrak Etil Asetat	1	4	4	8	10	0
	2	2	6	7	10	0
	3	3	7	9	9	0
Total kematian		9	17	24	29	-
% Kematian		30%	56,66%	80%	96,66%	0%
Nilai probit		4,48	5,33	5,84	6,75	-
Ekstrak Etanol 96%	1	3	8	10	10	0
	2	5	9	9	10	0
	3	4	8	10	10	0
Total kematian		12	25	29	30	-
% Kematian		40%	83,33%	96,66%	100%	0%
Nilai probit		4,75	5,95	6,75	8,09	-

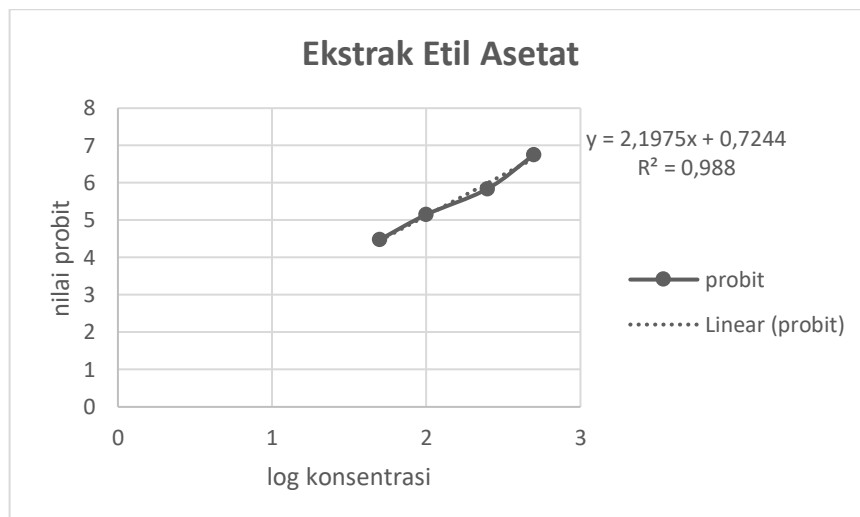
Tabel 4. Hasil Uji toksisitas Ekstrak Daun Talas (*Colocasia esculenta* L.)

Ekstrak	LC ₅₀ (µg/mL)	Keterangan
n-heksan	555,90 ± 0,829 µg/mL	Toksik rendah
Etil asetat	401,79 ± 0,801 µg/mL	Toksik rendah
Etanol 96%	57,41 ± 0,738µg/mL	Toksik sedang

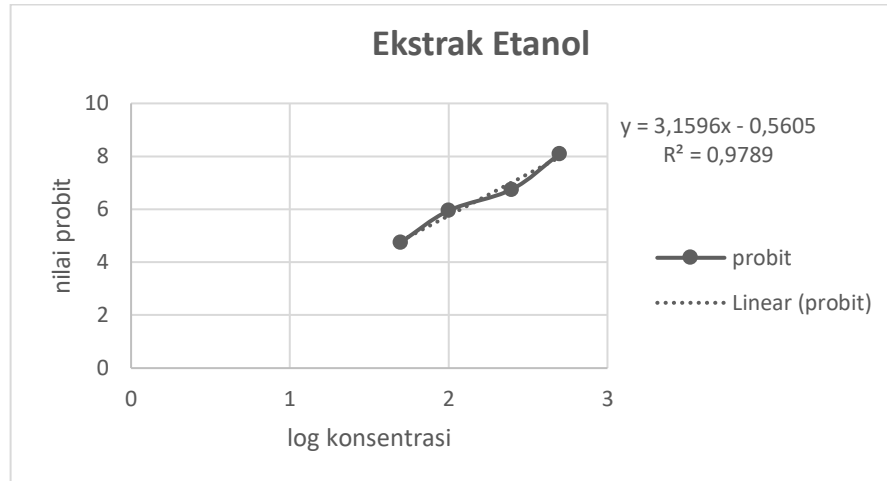
GAMBAR



Gambar 1. Grafik hubungan log konsentrasi terhadap probit ekstrak n-heksan daun talas (*Colocasia esculenta* L.)



Gambar 2. Grafik hubungan log konsentrasi terhadap probit ekstrak etil asetat daun talas (*Colocasia esculenta* L.)



Gambar 3. Grafik hubungan log konsentrasi terhadap probit ekstrak etanol daun talas (*Colocasia esculenta* L.)