

Uji Toksisitas Ekstrak Kulit Buah Tanaman Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC.) Dengan Menggunakan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Isti Aprilyanie*, Virsa Handayani, Rezki Amriati Syarif

Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia

Article info	Abstract
<p>*Email: istiapriyanierusli96@gmail.com</p> <p>Keywords: <i>Toxicity, extract, fruit peel, Kaffir lime (Citrus hystrix DC.), BSLT. aureus</i></p>	<p>Kaffir lime peel extract (<i>Citrus hystrix</i> DC.) contains flavonoids and alkaloids still rarely used as medicine; however, its toxicity is lack of the research until now. The research aimed to determine the effects of toxicity in the extracts by Brine Shrimp Lethality test (BSLT). The extraction used maceration and infusion. The former used ethanol of 70% with the thick extract of 3.81 mg and the letter used aquadest with the dried extract of 2.77 mg. The screening-was conducted by observing the color change in the extract and obtained the toxicity effects at the concentration of 1 ppm, 3 ppm, 5 ppm, 7 ppm, and 9 ppm by obtaining LC₅₀ values for both the ethanol extract of 0.98 ppm and water extract of 1.20 ppm. The results showed that the water and ethanol extracts of kaffir lime peel had toxic properties.</p>

I. Pendahuluan

Obat tradisional merupakan obat-obatan yang berasal dari alam dan telah dikenal oleh masyarakat Indonesia sejak zaman dahulu. Selain digunakan secara turun-temurun dimasyarakat, obat ini lebih mudah didapatkan. Namun butuh penelitian pada tanaman yang belum diketahui toksisitasnya (Purwanto, Rismawati, dan Sadiyah 2015, h. 616).

Tanaman jeruk purut dapat berkhasiat untuk menyembuhkan influenza, untuk mengatasi ketombe, mengatasi kulit bersisik, dan mengatasi kelelahan. Daun jeruk purut berkhasiat sebagai bumbu masakan, stimulant dan penyegar dan untuk mengatasi badan letih dan lemah sehabis sakit berat (Najib et al.2017, h. 10).

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Nathanael J, Wijayanti N, dan Atmodjo P.K (2015) Jeruk purut mengandung flavonoid, karotenoid, limonoid dan mineral. Flavonoid utama dalam jeruk adalah naringin, narirutin, dan hesperidin yang terdapat pada kulit buah, dan bulir-bulir daging buah jeruk. Flavonoid berfungsi sebagai bahan antioksidan yang mampu menetralkan oksigen reaktif dan berkontribusi terhadap pencegahan penyakit kronis seperti kanker.

Salah satu metode pengujian senyawa yang berpotensi sebagai anti penyakit kronis adalah dengan pengujian toksisitas dan yang akan dilakukan yaitu uji toksisitas ekstrak kulit buah tanaman jeruk purut dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

Berdasarkan uraian di atas, penelitian menggunakan ekstrak kulit buah tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dimana suatu metode uji toksisitas terhadap larva udang *Artemia salina* Leach yang dianalogikan dengan kemampuan suatu bahan obat yang memiliki efek antikanker.

Toksisitas merupakan suatu efek berbahaya dari senyawa kimia atau suatu obat terhadap organ target. Pada umumnya, setiap senyawa kimia mempunyai potensi sebagai racun jika diberikan pada organisme hidup (Vitalia, Najib, & Ahmad 2016, h. 124).

Suatu zat dapat dikatakan beracun apabila zat tersebut dapat berpotensi memberikan efek berbahaya bagi makhluk hidup (Mansuroh 2013, h. 8).

Toksisitas didefinisikan sebagai kapasitas yang melekat pada suatu bahan kimia untuk menyebabkan cedera. Oleh sebab itu, semua bahan kimia termasuk obat-obat memiliki beberapa derajat toksisitas (Harvey 2013, h. 631).

Menurut Mansuroh 2013, h. 9 Pengujian toksisitas dapat dilakukan secara invitro maupun invivo. Salah satu pengujian secara invitro yaitu dengan menggunakan uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Metode BSLT memiliki prosedur yang sederhana, cepat dan tidak membutuhkan biaya yang besar, serta hasilnya akurat (Frenski, Roslizawati, & Pertiwi 2014, hh. 60-61).

LC₅₀ (*Lethal Concentration-50*) adalah kadar atau konsentrasi suatu zat, yang dinyatakan dalam miligram bahan kimia per meter kubik media uji (*part per million* atau ppm), yang bisa menyebabkan terjadinya 50% kematian pada

hewan coba dari suatu kelompok spesies setelah hewan coba tersebut dipaparkan dalam waktu tertentu (Inayah, Ningsih & Adi 2013, h. 93).

Penentuan potensi bioaktif dilakukan dengan membandingkan nilai LC_{50} masing-masing dari ekstrak memiliki ketentuan : (Inayah, Ningsih & Adi 2013, h. 96).

- $LC_{50} < 30$ ppm ekstrak sampel berpotensi sebagai antikanker (sitotoksik)
- LC_{50} 30-200 ppm ekstrak sampel berpotensi sebagai anti mikroba
- LC_{50} 200-1000 ppm ekstrak sampel berpotensi sebagai pestisida.

Ekstrak adalah sediaan padat, kental, atau cair yang dibuat dengan mengekstraksi simplisia menggunakan air, alkohol, atau hidroalkohol, dengan metode ekstraksi dan pelarut yang sesuai dengan monografi masing-masing (Mun'im & Hanani 2011, h. 6).

Ekstraksi cara dingin dapat dibedakan sebagai berikut :

a. Maserasi

Maserasi adalah cara ekstraksi simplisia dengan cara direndam dalam pelarut pada suhu kamar sehingga kerusakan atau degradasi metabolit dapat diminimalkan. Pada maserasi, terjadi proses keseimbangan konsentrasi antara larutan diluar dan di dalam sel sehingga diperlukan penggantian pelarut secara berulang. Kinetik adalah cara ekstraksi, seperti maserasi yang dilakukan dengan pengadukan, sedangkan digesti adalah cara maserasi yang dilakukan pada suhu yang lebih tinggi dari suhu kamar, yaitu 40-60°C (Hanani 2015, h. 11).

b. Perkolasi

Perkolasi adalah cara ekstraksi simplisia menggunakan pelarut yang selalu baru, dengan mengalirkan pelarut melalui simplisia hingga senyawa tersari sempurna. Cara ini memerlukan waktu lebih lama dan pelarut yang lebih banyak. Untuk meyakinkan perkolasi sudah sempurna, perkolat dapat di uji adanya metabolit dengan pereaksi yang spesifik (Hanani 2015, h. 11).

Ekstraksi cara panas dapat dibedakan sebagai berikut :

a. Soxhletasi

Soxhletasi adalah cara ekstraksi menggunakan pelarut organik pada suhu didih dengan alat soxhlet. Pada soxhletasi, simplisia dan ekstrak berada pada labu berbeda. Pemanasan mengakibatkan pelarut menguap dan uap masuk ke dalam labu pendingin. Hasil kondensasi jatuh bagian simplisia sehingga ekstraksi berlangsung terus-menerus dengan jumlah pelarut relatif konstan. Ekstraksi ini

dikenal sebagai ekstraksi sinambung (Hanani 2015, h. 11).

b. Refluks

Refluks adalah cara ekstraksi dengan pelarut pada suhu titik didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Agar hasil penyarian lebih baik atau sempurna, refluks umumnya dilakukan berulang-ulang (3-6 kali) terhadap residu pertama. Cara ini memungkinkan terjadinya penguraian senyawa yang tidak tahan panas (Hanani 2015, h. 11).

c. Infusa

Infus adalah sediaan cair yang dibuat dengan menyari simplisia nabati dengan air pada suhu 90°C selama 15 menit (Ditjen POM, 1979, h.12).

d. Dekok

Dekok adalah cara ekstraksi yang mirip dengan infusa hanya saja waktu ekstraksinya lebih lama yaitu 30 menit dan suhunya mencapai titik didih air (Hanani 2015, h. 13).

e. Destilasi (Penyulingan)

Destilasi merupakan cara ekstraksi untuk menarik atau menyari senyawa yang ikut menguap dengan air sebagai pelarut. Pada proses pendinginan, senyawa dan uap air akan terkondensasi dan terpisah menjadi destilasi air dan senyawa yang diekstraksi (Hanani 2015, h. 13).

II. Metode Penelitian

1. Pengambilan dan pengolahan sampel

Pengambilan Sampel penelitian kulit Buah Tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) yang di ambil di Sulawesi Selatan (kabupaten Sidrap).

Pengolahan Bahan bahan penelitian berupa kulit Buah Tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) yang telah dikumpulkan, kemudian disortasi basah dengan melakukan pencucian untuk menghilangkan pengotor lainnya yang masih menempel pada sampel. Lalu dilakukan sortasi kering dan perubahan bentuk dengan cara sampel dipotong-potong kecil. Setelah itu sampel dikeringkan di dalam lemari pengering dengan suhu kurang dari 50 °C. Kemudian diserbukkan dan siap untuk di ekstraksi (Indartiyah *et al*, 2011 h. 38)

2. Pembuatan ekstrak sampel

Ekstraksi ekstrak kulit buah tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) dilakukan dengan dua metode yaitu ekstraksi maserasi dan infusa.

a. Maserasi

Ekstrak kulit buah tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) yang telah diserbuk di masukkan ke dalam wadah maserasi sebanyak 100 gram, kemudian di tambahkan etanol 70% 350 mL hingga terendam selama 24 jam, setelah itu dilakukan penyaringan. Proses ekstraksi dilakukan sebanyak 3 kali. Hasil penyaringan kemudian dikumpulkan dan di uapkan dengan rotavapor (*rotary vacuum evaporatory*) hingga di peroleh ekstrak kental etanol (Inayah, Ningsih, & Adi 2013, h. 95; Hanani 2015, h. 11)

b. Infusa

Serbuk sampel Ekstrak kulit buah tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) 100 gram dimasukkan ke dalam panci infusa, tambahkan air dicukupkan 500 mL. Bahan-bahan tersebut kemudian dipanaskan diatas penangas air selama 15 menit terhitung mulai suhu mencapai 90°C sambil sesekali diaduk. Dilakukan penyaringan dan diperoleh ekstrak cair. Ekstrak cair yang diperoleh selanjutnya di *freeze dry* untuk memperoleh ekstrak air kulit jeruk purut (Soemiati & Elya 2002, h. 150; Hanani 2015, h. 13).

3. Uji Skrining

Skrining fitokimia dilakukan terhadap ekstrak kulit buah tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) yaitu sebagai berikut :

a. Uji Flavonoid

Larutan uji sebanyak 1 mL ditambahkan serbuk seng secukupnya lalu ditetesi dengan larutan HCl 2N sebanyak 10 tetes. Positif mengandung flavonoid jika terjadi perubahan warna menjadi hitam kemerahan (Hanani, E, Mun'im, & Sekarini 2005).

b. Uji Alkaloid

Larutan uji ditambahkan 1 mL asam klorida 2 N dan 9 mL aquadest, dipanaskan selama 2 menit, didinginkan dan disaring. Percobaan dilakukan sebagai berikut: Larutan uji ditambahkan Baucharat LP, positif mengandung alkaloid jika terbentuk endapan coklat sampai hitam. Larutan uji ditambahkan Mayer LP, positif mengandung alkaloid jika terbentuk endapan putih sampai kuning. Larutan uji ditambahkan Dragendorff LP, positif mengandung alkaloid jika terbentuk endapan jingga coklat (Harbone 1987).

c. Uji Saponin

Identifikasi saponin dilakukan dengan melarutkan ekstrak dalam 10 mL air panas kemudian dikocok kuat-kuat

selama 10 detik, kemudian terbentuk buih (Setyowati *et al.* 2014, h.3).

d. Uji Tanin

Larutan uji sebanyak 1 mL ditambahkan dengan 3-4 tetes FeCl₃, jika muncul warna biru kehitaman atau hijau kehitaman menunjukkan sampel mengandung positif tanin (Hakim,A,R dan Saputri,R 2017, h.36).

4. Pengujian *Brine Shrimp Lethality Test*

a. Penyiapan larva

Disiapkan air laut, kemudian disaring dengan kertas whatman. Bejana penetas diberi sekat sehingga memiliki dua sisi ruang, yaitu sisi terbuka dan sisi tertutup (gelap). Telur *Artemia Salina* Leach di masukkan ke dalam bejana yang sudah berisikan air laut kemudian di sinari dengan lampu pijar 15 watt. Pada bejana diisi dengan ±50-100 mg telur udang untuk penetasan. Setelah 24 jam, telur yang telah menetas menjadi *nauplii* di pidahkan ke tempat lain, dan 24 jam kemudian *nauplii* tersebut dapat di gunakan sebagai hewan uji (Djamil & Anelia 2009, h. 68; Ningdyah, Alimuddin & Jayuska 2015, (1) h. 77).

b. Pembuatan Larutan Uji

Ekstrak etanol 70% dan ekstrak air kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) dibuat dengan konsentrasi 1 ppm, 3 ppm, 5 ppm, 7 ppm dan 9 ppm. Larutan stok dibuat dengan menimbang 50 mg ekstrak yang dilarutkan dalam 50 mL air laut. Jika sampel tidak larut/ sukar larut, ditambahkan dimetil sulfoksida (DMSO) 1% sebanyak 0,1-50,0 µg atau 2 tetes saja dan ditambahkan aquades hingga volumenya mencapai 50 mL sehingga didapatkan konsentrasi larutan stok 1000 ppm (Djamil & Anelia 2009, h. 68; Ningdyah, Alimuddin & Jayuska 2015, no.1, h. 77).

Dari larutan stok ini, selanjutnya di buat lagi konsentrasi 1 ppm, 3 ppm, 5 ppm, 7 ppm dan 9 ppm dengan cara pengenceran. Untuk konsentrasi 1 ppm larutan stok dipipet 0,01 mL ke dalam vial kemudian ditambahkan air laut sampai batas tanda. Konsentrasi 3 ppm larutan stok dipipet 0,03 mL ke dalam vial kemudian ditambahkan air laut sampai batas tanda. Konsentrasi 5 ppm larutan stok dipipet 0,05 mL ke dalam vial kemudian ditambahkan air laut sampai batas tanda. Konsentrasi 7 ppm larutan stok dipipet 2,5 mL ke dalam vial kemudian ditambahkan air laut sampai batas tanda. Konsentrasi 9 ppm larutan stok dipipet 0,09 mL ke dalam vial

kemudian ditambahkan air laut sampai batas tanda (Oratmangun, Fatimawali & Bodhi 2014, h.318-319).

c. Pengujian Toksisitas Ekstrak

Uji toksisitas pada masing – masing ekstrak sampel. Disiapkan wadah untuk pengujian, untuk masing – masing konsentrasi ekstrak sampel membutuhkan 3 wadah dan 1 wadah sebagai kontrol negatif. Selanjutnya pada tiap konsentrasi larutan dimasukkan ke dalam vial dan 10 ekor larva udang *Artemia salina* Leach. Untuk kontrol negatif dimasukkan 10 mL air laut tanpa larutan uji. Pengamatan dilakukan selama 24 jam terhadap kematian larva udang *Artemia salina* Leach. Untuk setiap konsentrasi larutan uji dan kontrol negatif di lakukan 3 kali pengulangan. Kemudian dihitung jumlah larva yang mati dan masih hidup dari tiap vial kemudian dihitung dengan analisa probit untuk menentukan LC₅₀ (Djamil & Anelia 2009, h. 68; Ningdyah, Alimuddin & Jayuska 2015, h. 77; Oratmangun, Fatimawali & Bodhi 2014, h.318-319).

d. Pengumpulan dan Analisis Data

Untuk mencari hubungan antara konsentrasi larutan ekstrak uji dengan respon kematian larva udang *Artemia salina* Leach maka masing-masing ekstrak uji dianalisis menggunakan analisis statik probit. Dimana larutan ekstrak yang diuji dikatakan mempunyai efek toksik apabila nilai LC₅₀ lebih dari 1000 µg/mL.

III. Hasil dan Diskusi

Hasil yang diperoleh dalam ekstraksi sampel kulit buah tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) menggunakan dua pelarut yaitu etanol dan air dengan persen rendamen. Dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Persen rendamen ekstrak etanol dan ekstrak air kulit buah tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.)

Metode ekstraksi	Jenis pelarut	Vol. pelarut (mL)	Berat sampel kering (g)	Berat ekstra (mg)	Persen rendemen (%)
Maserasi	Etanol 70%	350	100	3,81	3,81
Infusa	Aquade st	500	100	2,77	2,77

Rendemen ekstrak merupakan faktor yang sangat penting karena menunjukkan banyaknya

senyawa organik yang larut dalam pelarut tersebut sesuai dengan polaritasnya (Astuti 2013).

Dari hasil rendamen dengan menggunakan metode ekstraksi maserasi menghasilkan ekstrak kental yaitu 3,81 mg dan menghasilkan sampel kering sebanyak 100 gram dengan persen rendamen 3,81% sedangkan untuk metode ekstraksi infusa menghasilkan ekstrak kering yaitu 2,77 gram dan menghasilkan sampel kering sebanyak 100 gram dengan persen rendamen 2,77%. Perhitungan persen rendamen bertujuan untuk mengetahui kadar metabolit sekunder yang terbawa oleh pelarut, namun tidak dapat ditentukan jenis senyawa apa yang terbawa (Ukieyanna 2012).

Pemilihan metode ekstraksi berdasarkan tipe bahan yang di ekstrak dan komponen yang di inginkan (Sarker, Latif, & Gray 2006). Adapun prinsip dari ekstraksi didasarkan pada perpindahan massa komponen zat yang terlarut ke dalam pelarut sehingga terjadi perpindahan pada lapisan antar muka dan berdifusi masuk ke pelarut (Harbone 1996).

Ekstraksi dengan cara infusa digunakan pelarut air sesuai cara ekstraksi infusa yaitu cara ekstraksi dengan menggunakan pelarut air (Hanani 2015, hh. 11-12). air merupakan salah satu pelarut yang dapat menarik senyawa yang memiliki tingkat kepolaran yang lebih tinggi yaitu hingga 9,0 (Seidel 2006). Hasil penyaringan ekstrak air dikumpulkan dan dihilangkan pelarutnya dengan menggunakan alat *freeze dry*. *Freeze dry* dapat digunakan untuk mengeringkan ekstrak cair maupun kental, lebih ditekankan untuk ekstrak dengan penyari air dan juga lebih aman terhadap resiko terjadinya degradasi senyawa pada ekstrak air (Yulvianti *et al.* 2015, h.103). Prinsip dari metode ini adalah membekukan sisa pelarut yang masih terdapat pada ekstrak, lalu divakum pada tekanan rendah dengan menggunakan suhu -40°C (Hasanah & Mufrod 2013). Hasil freeze drying diperoleh ekstrak kering sebanyak 2,77 mg.

Tabel 2. Data hasil skrining fitokimia ekstrak kulit buah tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.)

Uji	Pereaksi	Hasil pengamatan		Kesimpulan	
		Ekstrak etanol	Ekstrak air	Ekstrak etanol	Ekstrak air
Flavonoid	Seng + HCl 2N	Oran ge	Hita m	+	-
Alkaloid	Mayer	Enda pan putih	Enda pan Kuning	+	+

Alkaloid	Dragendorff	Kuning	Kuning	-	-
Alkaloid	Bauchardat	Kuning	Kuning	-	-
Saponin	Air panas + HCl	Berbusih	Berbusih	+	+
Tanin	Air panas + FeCl ₃	Biru Kehitaman	Biru Kehitaman	-	-

Keterangan : (+) positif mengandung senyawa uji
(-) negatif mengandung senyawa uji

Skrining fitokimia ekstrak etanol dan ekstrak air kulit buah tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.). Hasil pengujian yang diperoleh pada ekstrak etanol yang positif mengandung flavonoid, alkaloid, dan saponin sedangkan pada ekstrak air yang positif mengandung alkaloid, dan saponin. Dapat dilihat pada tabel 2.

Hasil positif alkaloid pada uji Mayer ditandai dengan terbentuknya endapan putih. Diperkirakan endapan tersebut adalah kompleks kalium-alkaloid. Pada pembuatan pereaksi Mayer, larutan merkuri(II) klorida ditambah kalium iodida akan bereaksi membentuk endapan merah merkuri(II) iodida. Jika kalium iodida yang ditambahkan berlebih maka akan terbentuk kalium tetraiodomerkurat(II) (Svehla, 1990). Alkaloid mengandung atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas sehingga dapat digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion logam (McMurry, 2004). Pada uji alkaloid dengan pereaksi Mayer, diperkirakan nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam K⁺ dari kalium tetraiodomerkurat(II) membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap.

Pada uji tanin diperoleh hasil negatif, adanya tanin akan mengendapkan protein pada gelatin. Tanin bereaksi dengan gelatin membentuk kopolimer mantap yang tidak larut dalam air (Harborne, 1996). Reaksi ini lebih sensitif dengan penambahan NaCl untuk mempertinggi penggambaran dari tanin-gelatin. Timbulnya busa pada uji Forth menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Rusdi, 1990). Reaksi pembentukan busa pada uji saponin Selain uji Forth juga dilakukan uji Lieberman-Burchard yang merupakan uji karakteristik untuk sterol tidak jenuh dan triterpen (Santos et al., 1978).

Brine Shrimp Lethality Test adalah salah satu metode skrining untuk menentukan toksisitas suatu bahan atau merupakan tahap awal untuk mengetahui apakah suatu senyawa tersebut berpotensi sebagai antikanker yang selanjutnya

dapat dilakukan uji sitotoksik. Uji sitotoksik dapat diketahui dari jumlah kematian larva udang *Artemia salina* Leach. karena pengaruh ekstrak atau senyawa bahan alam pada konsentrasi yang diberikan (Purwanto, Rismawati & Sadiyah 2015, h. 617).

Fase pertumbuhan larva udang *Artemia salina* Leach yang digunakan dalam penelitian ini adalah fase *naupliis* karena pada saat itu larva udang *Artemia salina* Leach berada pada fase yang paling aktif membelah secara mitosis (Mardany, Chrystomo & Karim 2016, no.8, h.20). Telur larva udang *Artemia salina* Leach ditetaskan dalam kotak yang terdiri dari dua bagian yaitu ruangan yang pertama ditutup dengan aluminium foil sedangkan ruangan yang kedua dibiarkan terbuka atau diberi lampu pijar untuk menjaga suhu dan menarik udang yang telah menetas melalui lubang sekat, sehingga anak udang yang disebut *nauplii* dapat terpisahkan dari bagian telur atau kulit telur. Kotak penetasan juga dilengkapi dengan aerator sebagai sumber O₂ (Chasani, Fitriaji, & Purwati 2013, h.91) dan pada umur 48 jam larva *Artemia salina* Leach siap digunakan sebagai hewan uji karena pada umur 48 jam anggota tubuh larva sudah lengkap dibandingkan pada saat larva udang *Artemia salina* Leach itu menetas (Muaja, Koleangan & Runtuwene 2013, h.117) dan pertumbuhannya sangat cepat sehingga diasumsikan sebagai pertumbuhan sel yang abnormal serta daya tahan hidupnya yang baik (Barrung, 2015, h.5)

Pengujian ini dilakukan selama 24 jam pada masing-masing kelompok yaitu kelompok uji (ekstrak etanol dan ekstrak air) bertujuan untuk mengetahui dan membandingkan besarnya konsentrasi ekstrak yang diberikan mempengaruhi jumlah kematian larva udang *Artemia salina* Leach (Setyowati & Cahyanto 2016, h.45) dan kontrol negatif (air laut) bertujuan untuk meyakinkan bahwa kematian larva *Artemia salina* Leach disebabkan oleh pemaparan komponen - komponen bioaktif dari ekstrak, serta masing – masing kelompok uji dan kontrol negatif diberi 1 tetes ragi sebagai sumber nutrisi. Penelitian ini dilakukan secara replikasi, bertujuan agar data yang diperoleh lebih akurat dan dapat dipercaya (Chasani, Fitriaji & Purwati 2013, h. 92,94).

Tabel 3. Data hasil pengamatan kematian larva udang *Artemia salina* leach selama 24 jam dari ekstrak air kulit buah tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

Sampel uji	Replika	Jumlah larva udang yang mati tiap konsentrasi				
		1	3	5	7	9

Ekstrak air kulit buah tanaman jeruk purut (<i>Citrus hystrix</i> DC.)	1	8	7	8	9	10
	2	5	7	8	9	10
	3	5	8	8	9	10
Total kematian	18	22	24	27	30	
Persen kematian	60 %	73,3 %	80 %	90 %	100 %	

Tabel 4. Data hasil pengamatan kematian larva udang *Artemia salina* leach selama 24 jam dari ekstrak Etanol kulit buah tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

Sampel uji	Replikasi	Jumlah larva udang yang mati tiap konsentrasi				
		1	3	5	7	9
Ekstrak Etanol kulit buah tanaman jeruk purut (<i>Citrus hystrix</i> DC.)	1	7	8	9	9	10
	2	7	8	8	9	10
	3	6	7	8	9	10
Total kematian		20	23	25	27	30
Persen kematian		66,6 %	76,6 %	83,3 %	90 %	100 %

Dari data tersebut dapat diketahui bahwa berbagai konsentrasi ekstrak etanol dan ekstrak air kulit buah tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) pada percobaan ini memperlihatkan pengaruh yang berbeda terhadap tingkat kematian larva udang *Artemia salina* leach. Pada umumnya, semakin besar tingkat konsentrasi suatu larutan uji mengakibatkan naiknya angka kematian larva udang *Artemia salina* leach (hewan uji). Jumlah larva udang *Artemia salina* leach di uji dengan 3 kali replikasi yaitu 30 ekor. Jumlah total larva udang *Artemia salina* leach yang digunakan pada masing-masing ekstrak yaitu 300 ekor larva udang *Artemia salina* leach. Total kematian diperoleh dengan menjumlahkan larva udang *Artemia salina* leach yang mati pada setiap konsentrasi (Oratmangun, Fatimawali & Bodhi 2014, h.320-321).

Tabel 5. Hasil perhitungan rata-rata % kematian dari larva udang *Artemia salina* leach ekstrak kulit buah tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.)

Ekstrak	Konsentrasi (ppm)	Toksistas (%)	LC ₅₀ (ppm)	Ket.
Air	1	60	1,20	Sangat toksik
	3	73,3		
	5	80		
	7	90		
	9	100		
Etanol	1	66,6	0,98	Sangat toksik
	3	76,6		
	5	83,3		
	7	90		
	9	100		
Kontrol	0	0		Tidak toksik

Analisis data yang digunakan untuk menentukan nilai LC₅₀ adalah analisis probit. Analisis probit yaitu jenis regresi yang digunakan untuk menganalisis variabel respon binomial. Analisis probit umumnya digunakan dalam toksikologi untuk menentukan toksistas relatif dari bahan kimia untuk organisme hidup (Vincent 2008). Total kematian diperoleh dengan menjumlahkan larva yang mati pada setiap konsentrasi. Kemudian dihitung persentase kematian larva dari rata-rata kematian pada tiap konsentrasi. Data kemudian dianalisis dengan menggunakan persamaan regresi linear dengan melakukan transformasi data konsentrasi ke bentuk logaritma serta mengubah nilai persen kematian larva kedalam satuan probit. Berdasarkan analisis regresi linier antara log konsentrasi dan nilai probit larva udang akan diketahui nilai LC₅₀. Dimana LC₅₀ (*Lethal Concentration* 50%) adalah tingkat konsentrasi ekstrak yang dibutuhkan untuk mematikan 50% dari hewan yang diuji. Hasil LC₅₀ yang diperoleh dari ekstrak etanol yaitu sebesar 0,98 ppm dan ekstrak air yaitu sebesar 1,20 ppm (dapat dilihat pada tabel 5). Dalam pengamatan bioaktivitas ini dilakukan berdasarkan nilai Lethal Concentration 50% (LC₅₀). Apabila LC₅₀ < 30 ppm maka ekstrak sangat toksik dan berpotensi mengandung senyawa bioaktif antikanker. Meyer (1982) menyebutkan tingkat toksistas suatu ekstrak:

- LC₅₀ ≤ 30 ppm = Sangat toksik
- 31 ppm ≤ LC₅₀ ≤ 1.000 ppm = Toksik
- LC₅₀ > 1.000 ppm = Tidak toksik

Pada penelitian ini didapatkan bahwa ekstrak kulit buah tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) mempunyai potensi toksistas. Hal tersebut berkaitan dengan senyawa yang terdapat dalam kulit buah tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) yaitu flavonoid, alkaloid dan saponin, dimana pada kadar tertentu memiliki potensi toksistas serta dapat menyebabkan kematian dalam

kulit buah tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) mekanisme kematian larva udang *Artemia salina* leach berhubungan dengan fungsi senyawa flavonoid, alkaloid dan saponin dalam kulit buah tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) yang dapat menghambat daya makan larva udang *Artemia salina* leach (Muaja, Koleangan & Runtuwene 2013, h.118).

Cara kerja senyawa flavonoid, alkaloid dan saponin adalah dengan bertindak sebagai racun

IV. Kesimpulan & Saran

1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa;

1. Ekstrak kulit buah tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) dapat memberikan efek toksisitas terhadap larva udang *Artemia salina* leach
2. Ekstrak kulit buah tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) mendapatkan nilai LC_{50} (*Lethal Concentration-50*) dari pengujian toksisitas yang dimiliki oleh ekstrak etanol kulit buah tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) sebanyak 0,98 ppm sedangkan ekstrak air kulit buah tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) sebanyak 1,20 ppm yang dimana bersifat sangat toksik.

2. Saran

Disarankan untuk dilakukan pengujian toksisitas akut dengan menggunakan metode yang berbeda dan pengujian lanjutan dalam skrining sebagai obat.

Daftar Pustaka

- Abeyasinghe, D.C., Li, X., Sun, C., Zhang, W., Zhou, C. and Chen, K., 2007. 'Bioactive compounds and antioxidant capacities in different edible tissues of citrus fruit of four species', *Food chem*, vol 104, no 4 pp 1338-1344.
- Astarini, N., Perry, B & Yulfi, Z., 2010, 'Minyak Atsiri dari Kulit Jeruk Buah *Citrus grandis*, *Citrus aurantium* (L), dan *Citrus aurantifolia* (Rutaceae) Sebagai Senyawa Antibakteri dan Insektisida', S.Si Skripsi, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah, Surakarta.
- Astuti, F 2013, 'Analisis Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Semanggi Air *Marsilea crenata* Presl.' S.Pi Skripsi, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Baradja, F. 2008. *Rokok Musuh atau Kawan*. Lembaga Menanggulangi Masalah Merokok. Jakarta.
- perut. Oleh karena itu, bila senyawa-senyawa ini masuk kedalam tubuh larva udang *Artemia salina* leach, alat pencernaannya akan terganggu. Selain itu, senyawa ini menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva udang *Artemia salina* leach. Hal ini mengakibatkan larva udang *Artemia salina* leach gagal mendapatkan stimulus rasa sehingga tidak mampu mengenali makanannya sehingga larva udang *Artemia salina* leach mati kelaparan (Muaja, Koleangan & Runtuwene 2013, h.118).
- Barrung, E.B., 2015, *Isolasi dan Identifikasi Protein dari Makroalga Coklat Padina australis serta Potensinya Sebagai Antikanker*, Skripsi tidak diterbitkan, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar. p.5
- Bestari, B,K & Wati D,N,K 2016, 'Penyakit Kronis Lebih dari Satu Menimbulkan Peningkatan Perasaan Cemas Pada Lansia di Kecamatan Cibinong' *Jurnal Keperawatan Indonesia*, pp 49-54.
- Chasani M, Fitriaji RB, Purwati. 2013. *Fraksionasi ekstrak metanol kulit batang ketapang (Terminalia catappa Linn.) dan uji toksisitasnya dengan metode BLST (Brine Shrimp Lethality Test)*. *Jurnal Molekul* pp. 89-100
- Ching, L.S. and Mohammed, S., 2001, 'Alpha-tocopherol content in 62 edible tropical plants' *J. of agric. And Food Chem*, vol 49, no 6, pp 3101-3105.
- Dalimartha, S., 2006, *Tanaman Obat di Lingkungan Sekitar*, Puspa Swara, Jakarta.
- Dirjen POM 1977, *Materia Medika Indonesia Jilid I*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Dirjen POM 1979, *Farmakope Indonesia*, edisi 3, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Dirjen POM, 1986, *Sediaan Galenik*, Departemen Kesehatan RI, Jakarta.
- Djamil, R & Anelia, T 2009, 'Penapisan Fitokimia, Uji BSLT, dan Uji Antioksidan Ekstrak Metanol Beberapa Spesies *Papilionaceae*', *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, vol. 7, no. 2, pp. 65-71.

- Frengki, Roslizawati & Pertiwi, D 2014, 'Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Sarang Semut Lokal Aceh (*Mymercodia* sp.) dengan Metode BSLT terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach', *Jurnal Medica Veterinaria*, vol. 8, no. 1, pp. 60-62.
- Hanani, E 2015, *Analisis Fitokimia*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, pp. 10-11.
- Harbone, JR 1987, *Metode Fitokimia, Penuntun cara modern mengekstraksi tumbuhan*, edk 2, Padmawinata, Penerbit ITB, Bandung.
- Harvey, RA & Champe, PC 2013, *Farmakologi Ulasan Bergambar*, edk 4, EGC, Jakarta, pp. 631.
- Hidayat, RS & Napitupulu, RM 2015, *Kitab Tumbuhan Obat*, KDT, Jakarta, pp. 185.
- Inayah, N, Ningsih, R, Adi, T, K 2012, 'Uji Toksisitas dan Identifikasi Awal Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Etanol dan n-Heksana Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) Kering Pantai Kenjeran Surabaya', *Alchemy*, vol. 2, no. 1, pp. 92-100.
- Indrayani, L, Soetjipto, H & Sihasale, L 2006, 'Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pencut Kuda (*Stachytarpheta jamacencis* L. Vahl) Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach', *J. of Science*, vol. 12, pp.57-61.
- Indartiyah, N, Siregar, I, Agustina, Y.D, Wahyono, S, Djauhari, E, Hartono, B, Fika, W, Maryam, Supriyatna, Y. 2011, 'Pedoman Teknologi Pengananan Pascapanen Tanaman Obat', Direktorat Jenderal Hortikultura.
- Integrated Taxonomic Information System*, 2017, *Citrus hystrix* DC. (online). <http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt>. Diakses tanggal 25 Desember 2017.
- Jannata, R.H., Gunadi, A., dan Ermawati, T., 2014. Daya Antibakteri Ekstrak Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*, *e-Jurnal Pustaka Kesehatan*, pp.23-28.
- Kanwar, A.S. 2007. Brine shrimp *Artemia salina* a marine animal for simple and rapid biological assays. (Review). *Journal of Chinese Clinical Medicine*.
- Khasanah L.A, Kawiji, Utami R, dan Aji Y.M, 2014 'Pengaruh Perlakuan Pendahuluan Terhadap Karakteristik Mutu Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC.)', *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, pp.48-55.
- Kooltheat, N., Kamuthachand, L., anthapanya, M., Samakchan, N., Sranujit, R.P., Potup, P., Ferrante, A. and Usuwanthim, K., 2016, "Kafir lime leaves extract inhibits biofilm formation by *Streptococcus mutans*", *J. Nutrition*, vol 32 no 4, pp 486-490.
- Mansuroh, F 2013, 'Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Kulit Akar Ginseng Kuning (*Rennellia Erriptica* Korth.) Terhadap Mencit (*Mus Musculus*)', S.Farm Skripsi, Fakultas Farmasi, UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta, pp. 8-9.
- Mardany, M. P., Chrystomo, L.Y., and Karim, A.K., 2016. Skrining Fitokimia dan uji aktivitas sitotoksik dari tumbuhan sarang semut (*Myrmecodia beccarii* Hook. F.) Asal Kabupaten Marauke, *Jurnal Biologi papua*, 8 (1), pp13-22.
- Matheos, H, Runtuwene, MRJ & Sudewi, S 2014, 'Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Daun Kayu Bulan', *Pharmacoin*, vol. 3, no. 3, pp. 235-246.
- Meyer, B.N., Ferrigni, N.R, Putnam, J.E, Jacobsen, L.B, Nichols, D.E, dan McLaughlin, J.L, 1982. *Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents*. *Planta Medica* 45: 31-34.
- Muaja AD, Koleangan HSJ, Runtuwene MRJ. 2013. Uji toksisitas dengan metode BSLT dan analisis kandungan fitokimia ekstrak daun soyogik (*Sauria bracteosa* DC) dengan metode soxhletasi. *Jurnal MIPA Unsrat Online*. pp.115–118
- Mudjiman, A. 1995. Makanan Ikan. Jakarta: PT. Penerbit Swadaya.
- Mun'im, A & Hanani, E 2011, *Fitoterapi Dasar*, Dian Rakyat, Jakarta, pp. 6.
- Najib, A., Ahmad, A, R., Malik, A., Amin, A., Faradiba, H., Handayani, V., Syarif, R, A., Dahlia, A, A., Waris, R., Handayani, S., Hasnaeni, D., Wisdawati 2017, *Kumpulan Penelitian Tanaman Obat*, edk 1, Tim SCM & Ath Production, CV. SYAHADAH CREATIVE MEDIA (SCM), Watampone-Sulawesi Selatan, pp 8-11.
- Nathanael. J., Wijayanti. N., dan Atmodjo. K. 'Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Kulit Jeruk

- Purut (Citru hystrix) Pada Sel Hela Cervical Cancer Cell Line.*
- Ningdyah, AW, Alimuddin, AH & Jayuska, A 2015, 'Uji Toksisitas dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) Terhadap Hasil Fraksinasi Ekstrak Kulit Buah Tampoi (*Baccaurea macrocarpa*)', *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, vol. 4, no. 1, pp. 75-83.
- Oratmangun, S.A, Fatimawali & Bodhi, W 2014, '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', *PHARMACON : J. Ilmiah Farmasi*, vol. 3, no. 3, pp. 316-324.
- Purwanto, N, Rismawati, E & Sadiyah, ER 2015, 'Uji Ekstrak Biji Salak (*Salacca Zalacca* (Gaert) Voss) dengan Menggunakan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)', *Prosiding Penelitian SpeSIA Unisba, Bandung*, pp. 616-622
- Rangotwat, A, Paulina, & Widya 2016, 'Formulasi dan Uji Antibakteri Sediaan Losio Ekstrak Metanol Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* Poir) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*', *JIF*, Vol. 5, No. 4, hal. 94.
- Septiana, A.T. dan A. Asnani. 2012. Kajian sifat fisikokimia ekstrak rumput laut coklat *Sargassum duplicatum* menggunakan berbagai pelarut dan metode ekstraksi. *Agrointek*. p.27
- Setyowati, WAE, Ariani, SRD, Mulyani, B & Rahmawati, CP 2014, 'Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio zibethinus* Murr.) Varietas Petruk', pp. 271-280.
- Setyowati, WAE dan Cahyanto, MAS, *Kandungan Kimia Dan Uji Aktivitas Toksik Menggunakan Metode Bslt (Brine Shrimp Lethality Test) Dari Ekstrak Daun Kersen (Muntingia calabura)*, 2016 *Jurnal Kimia Dan Pendidikan Kimia (Jkpk)*. p.45
- Soemiati, A & Elya, B 2002, 'Uji Pendahuluan Efek Kombinasi Antijamur Infus Daun Sirih (*Piper betle* L.), Kulit Buah Delima (*Punica granatum* L.), & Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica* Val) Terhadap Jamur *Candida Albicans*', *Makara*, vol. 6, no. 3, pp. 149-154.
- Suhirman, S, Hernani, & Syukur, C 2006, 'Uji Toksisitas Ekstrak Lempuyang Gajah (*Zingiber zerumbet*) Terhadap Lava Udang (*Artemia salina* Leach)', *Bul. Littro*, vol 17, no. 1, pp. 30-38.
- Tjay, TH & Rahardja K 2008, *Obat-Obat Penting : Khasiat penggunaan dan efek-efek sampingnya*, edk 6, PT Elex Media Komputindo Kelompok Kompas-Gramedia, Jakarta, pp. 4.
- Ukieyanna, E 2012, 'Aktivitas antioksidan, kadar fenolik, dan flavonoid total tumbuhan suruhan (*Peperomia pellucid* L. Kunth), *Skripsi*, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Vincent. 2008. Analisa Hubungan Komponen Good Corporate Governance terhadap Manajemen Laba dengan Kinerja Keuangan pada Perusahaan Manufaktur yang Terdaftar di BEI. *Jurnal Akuntansi/Tahun XII* 3:289-302.
- Vitalia, N, Najib, A, & Ahmad, AR 2016, 'Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pletekan (*Ruellia tuberosa* L.) dengan Menggunakan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, vol. 3, no. 1, pp. 124-129