

**UJI TOKSISITAS AKUT INFUSA DAUN SIRSAK (*Annona muricata*) PADA LARVA *Artemia salina* MENGGUNAKAN METODE BRINE SHRIMP LETHALITY TEST****Arinta Mayang<sup>1)</sup>, Bilal SA Santoso<sup>1\*)</sup>**<sup>1)</sup>Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang Jl. Barito No. 5 Malang, (0341) 491132

Korespondensi: bilalsas67@gmail.com

**ABSTRACT**

*Annona muricata* is a family of Annonaceae that has been known as a medicinal plant. Sirsak leaves contain alkaloids, tannins, and several other chemical contents including acetogenin. The aim of this study was to determine the acute toxicity of the infusion of Sirsak leaves on the *Artemia salina* larvae by the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method. This experimental study used 5 treatment concentrations (10 mg/L, 50 mg/L, 100 mg/L, 500 mg/L, 1000 mg/L) and 1 negative control. All treatments were repeated 3 times. The number of *Artemia salina* larvae used for each concentration was 10 larvae. The number of dead larvae was counted after 24 hours of treatment. Based on probit analysis, the LC50 value of Sirsak leaf infusion was 38,73 mg/L. The conclusion of this research is the infusion of Sirsak leaves is toxic.

**Keywords:** Sirsak leaves, toxicity, BSLT**ABSTRAK**

Sirsak (*Annona muricata*) adalah keluarga Annonaceae yang telah dikenal sebagai tanaman obat. Daun Sirsak mengandung alkaloid, tanin, dan beberapa kandungan kimia lainnya termasuk acetogenin. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan toksisitas akut dari infus daun Sirsak pada larva *Artemia salina* dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Studi eksperimental ini menggunakan 5 konsentrasi perlakuan (10 mg/L, 50 mg/L, 100 mg/L, 500 mg/L, 1000 mg/L) dan 1 kontrol negatif. Semua perawatan diulang 3 kali. Jumlah larva *Artemia salina* yang digunakan untuk setiap konsentrasi adalah 10 larva. Jumlah larva mati dihitung setelah 24 jam perlakuan. Berdasarkan analisis probit, nilai LC50 infus daun Sirsak adalah 38,73 mg/L. Kesimpulan penelitian ini adalah infus daun Sirsak bersifat toksik.

**Kata kunci:** daun sirsak, toksisitas, BSLT

## PENDAHULUAN

Bahan alam (herbal) tanpa penambahan bahan kimia sintesis saat ini banyak diteliti karena secara empiris menghasilkan dampak yang bagus pada kesehatan manusia. Diantaranya adalah penelitian tentang rebusan bahan alam berkhasiat antioksidan (Guru dan Santoso, 2018) dan jus segar untuk mengobati penyakit (Santoso dkk., 2018).

Salah satu bahan alam yang berkhasiat sebagai obat herbal atau obat tradisional yaitu daun sirsak (Pai dkk., 2016). Daun sirsak secara tradisional dapat digunakan sebagai obat untuk menyembuhkan penyakit malaria, disenteri, demam berdarah, dan lain-lain (Moghadamtousi dkk., 2015; Olowa dan Demayo, 2015). Kandungan senyawa dalam daun sirsak antara lain annonaceous acetogenin (Sun dkk., 2016), steroid / terpenoid (Ningsih dkk., 2016), flavonoid, kumarin, alkaloid, dan tanin (Gavamukulya dkk., 2014). Annonaceous acetogenin merupakan senyawa yang memiliki potensi antiproliferasi (Sun dkk., 2014).

Beberapa senyawa turunan acetogenin yang pernah ditemukan adalah asimicin, bulatacin, dan squamocin (Pradana dkk., 2015). Senyawa-senyawa aktif tersebut ditemukan dalam tanaman lain ternyata bersifat toksik (Wahyuni dan Loren, 2015). Oleh karena itu perlu dilakukan uji toksisitas untuk mengetahui efek toksik akut dari infusa daun sirsak.

Pada penelitian ini menggunakan sediaan infusa (proses infundasi), dengan harapan akan menyerupai yang biasanya dilakukan oleh masyarakat dalam membuat jamu yaitu dengan cara merebus. Infundasi merupakan metode yang sederhana yaitu menyari untuk mendapatkan kandungan zat aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati (Depkes RI, 2008).

LC50 atau lethal concentration 50 adalah konsentrasi sampel yang me-

nyebabkan kematian 50% hewan uji dalam waktu tertentu (Boyd, 2005). Berdasarkan nilai LC50 akan dapat diketahui tingkat toksisitas akut infusa daun sirsak, apabila nilai LC50 kurang dari 1000 mg/L, maka infusa daun sirsak diduga memiliki efek toksik (Nguta dkk., 2012).

Salah satu metode yang sering digunakan untuk uji toksisitas akut adalah Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). BSLT ini terbukti memiliki tingkat kepercayaan hingga 95%. Prinsip uji toksisitas akut ini adalah melihat persentase kematian larva *Artemia salina* dalam jangka waktu 24 jam (Kumala dan Sapitri, 2011).

## METODE PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian yaitu air laut, aquades, daun sirsak dan larva.

Alat-alat yang digunakan berupa alat-alat gelas yaitu neraca analitik, tabung reaksi, corong kaca, panci, kompor, pipet tetes, batang pengaduk, termometer, gelas ukur 100 mL, gelas beker, dan seperangkat alat penetas udang.

### Tahap Penelitian

1. Determinasi tanaman daun sirsak.
2. Penyiapan telur dan penetasan larva *Artemia salina*.
3. Pemeriksaan daun sirsak, pengumpulan bahan daun sirsak.
4. Pembuatan infusa menggunakan metode infundasi selama 15 menit dengan suhu 90° C.
5. Pengujian toksisitas akut, diujikan pada 10 larva udang setiap konsentrasi dan dilakukan 3 replikasi.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Infusa hasil infundasi daun sirsak didapatkan sebanyak 150 mL. Dari infusa tersebut dibuat beberapa konsentrasi infusa untuk uji BSLT. Larutan uji yang dibuat adalah

konsentrasi 10 mg/L, 50 mg/L, 100 mg/L, 500 mg/L, 1000 mg/L, dan kontrol negatif.

Uji toksisitas akut menggunakan metode BSLT merupakan uji toksisitas akut dimana efek toksik dari suatu senyawa dapat ditentukan dalam waktu yang singkat, yaitu rentang waktu 24 jam setelah pemberian dosis.

Hewan uji yang digunakan pada penelitian ini yaitu larva *Artemia salina* yang berusia 48 jam karena memiliki saluran pencernaan yang terbentuk lengkap sehingga peka terhadap suatu zat yang dimasukkan. *Artemia salina* digunakan sebagai hewan uji dalam BSLT karena memiliki respon terhadap senyawa kimia yang mirip dengan mamalia (Aqiila dkk., 2017). Untuk mencari nilai LC50 yang akurat, perlu dipilih beberapa dosis yang mematikan larva uji sekitar 50%, lebih dari 50%, dan kurang dari 50%. Oleh karena itu, uji orientasi (trial) dilakukan terlebih dahulu untuk menentukan konsentrasi larutan uji sebenarnya yang akan digunakan. Setelah uji orientasi dilakukan, diperoleh konsentrasi larutan uji yang digunakan yaitu 10 mg/L, 50 mg/L, 100 mg/L, 500 mg/L, 1000 mg/L, sedangkan kontrol negatif berupa air laut dan larva udang tanpa adanya penambahan ekstrak untuk menguji pengaruh air laut maupun faktor lain yang berpengaruh terhadap kematian larva. Penelitian ini dilakukan 3 kali pengulangan (triplo) untuk mendapatkan data yang lebih baik dan lebih akurat. Masing-masing konsentrasi dan kontrol negatif diisi 10 ekor larva, sehingga larva yang digunakan seluruhnya berjumlah 180 ekor.

#### **Tingkat Kematian Larva**

Tingkat kematian larva tidak hanya dipengaruhi oleh komponen senyawa yang terkandung di dalam senyawa uji, akan tetapi juga dipengaruhi oleh konsentrasi senyawa

uji. Tingkat kematian larva berbanding lurus dengan konsentrasi senyawa uji (Santos dkk., 2010). Seperti yang terlihat pada tabel 1, semakin tinggi konsentrasi infusa daun Sirsak maka semakin mematikan larva udang.

Pada tabel 1 diatas, dapat dilihat kematian larva tertinggi pada konsentrasi 1000 mg/L dan terendah 10 mg/L. Selain itu, terdapat peningkatan kematian larva *Artemia salina* yang selaras dengan peningkatan konsentrasi infusa daun Sirsak. Pada kontrol negatif tidak didapatkan larva yang mati, sehingga kematian larva murni karena infusa yang diberikan bukan karena pengaruh air laut.

Jumlah larva setiap tabung yang digunakan untuk 3 kali replikasi adalah 30 ekor. Jumlah rata-rata kematian larva diperoleh dengan menjumlahkan larva yang mati lalu dibagi dengan jumlah replikasi pada setiap konsentrasi dan perlakuan.

Persentase kematian dapat diperoleh dengan cara mencari jumlah larva yang mati lalu dibagi dengan jumlah total larva yang digunakan pada tiap konsentrasi. Hasil dari analisis probit yang dihitung dengan menggunakan microsoft excel (Rochmat dkk., 2017) dapat digunakan untuk mencari nilai LC50.

Infusa yang diuji dengan menggunakan metode BSLT mampu mendeteksi tingkat toksisitas suatu senyawa dari tumbuhan, jika nilai LC50 < 100 mg/L maka bersifat toksik kuat,  $100 \text{ mg/L} \leq \text{LC50} \leq 500 \text{ mg/L}$  bersifat toksik,  $500 \text{ mg/L} \leq \text{LC50} \leq 1000$  bersifat toksik lemah, dan jika nilai LC50 >1000 mg/L maka bersifat tidak toksik (Karchesy dkk., 2016). Pada hasil uji menunjukkan bahwa nilai LC50 infusa daun Sirsak sebesar 38,73 mg/L sehingga bersifat toksik.

#### **KESIMPULAN**

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa infusa daun Sirsak bersifat toksik yaitu mempunyai nilai LC50 sebesar 38,73 mg/L.

#### UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih peneliti di-persembahkan untuk Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Aqiila, G.R., Taufiqurrahman, I., dan Wydiamala, E., 2017. Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Ramania (*Bouea macrophylla* Griffith) Terhadap Mortalitas Larva *Artemia salina* Leach. *Dentino*, 2: 170–176.
- Boyd, C.E., 2005. LC50 calculations help predict toxicity. *Global aquaculture advocate*, 8: 84–87.
- Depkes RI, 2008. Farmakope Herbal Indonesia Edisi I. Dirjen Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan-Depkes RI, Jakarta-Indonesia.
- Gavamukulya, Y., Abou-Ellella, F., Wamunyokoli, F., dan AEL-Shemy, H., 2014. Phytochemical screening, anti-oxidant activity and in vitro anticancer potential of ethanolic and water leaves extracts of *Annona muricata* (Graviola). *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 7: S355–S363.
- Guru, A.O. dan Santoso, B.S.A., 2018. 'Aktivitas Antioksidan Minuman Fungsional Campuran Daun Teh (*Camellia sinensis*), Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L) Dan Daun Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni M)', Diploma Thesis,. Akademi Farmasi Putera Indonesia Malang.
- Karchesy, Y.M., Kelsey, R.G., Constantine, G., dan Karchesy, J.J., 2016. Biological screening of selected Pacific Northwest forest plants using the brine shrimp (*Artemia salina*) toxicity bioassay. *SpringerPlus*, 5: 510.
- Kumala, S. dan Sapitri, D.W., 2011. Phytochemical screening and toxicological evaluation using Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) of some fractions of prasman leaves (*Eupatorium triplinerve* V) extract. *Indonesian Journal of Cancer Chemoprevention*, 2: 193–197.
- Moghadamtousi, S.Z., Fadaeinasab, M., Nikzad, S., Mohan, G., Ali, H.M., dan Kadir, H.A., 2015. *Annona muricata* (Annonaceae): a review of its traditional uses, isolated acetogenins and biological activities. *International journal of molecular sciences*, 16: 15625–15658.
- Nguta, J.M., Mbaria, J.M., Gakuya, D.W., Gathumbi, P.K., Kabasa, J.D., dan Kiama, S.G., 2012. 'Evaluation of acute toxicity of crude plant extracts from kenyan biodiversity using brine shrimp, *artemia salina* l.(artemiidae)', dalam: *The Open Conference Proceedings Journal*. hal. 30–34.
- Ningsih, D.R., Zufahair, Z., dan Kartika, D., 2016. Identification of secondary metabolites compounds and antibacterial activities on the extract of soursop leaf. *Molekul*, 11: 101–111.
- Olowa, L. dan Demayo, C.G., 2015. Ethnobotanical uses of medicinal plants among the Muslim Maranaos in Iligan City, Mindanao, Philippines. *Advances in Environmental Biology*, 9: 204–215.
- Pai, B.M., Rajesh, G., Shenoy, R., dan Rao, A., 2016. Anti-microbial efficacy of soursop leaf extract (*Annona muricata*) on oral pathogens: An in-vitro study. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*, 10: 1–4.

- Pradana, P.Y., Suratmo, S., dan Retnowati, R., 2015. Isolasi dan karakterisasi senyawa turunan acetogenin dari daun sirsak (*Annona muricata*) serta uji toksisitas. *Jurnal Ilmu Kimia Universitas Brawijaya*, 1: 798–804.
- Rochmat, A., Adiati, M.F., dan Bahiyah, Z., 2017. Pengembangan Biolarvasida Jentik Nyamuk *Aedes aegypti* Berbahan Aktif Ekstrak Beluntas (*Pluchea indica* Less.). *Reaktor*, 16: 103–108.
- Santos, S.R., Silva, V.B., Melo, M.A., Barbosa, J.D., Santos, R.L., de Sousa, D.P., dkk., 2010. Toxic effects on and structure-toxicity relationships of phenylpropanoids, terpenes, and related compounds in *Aedes aegypti* larvae. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 10: 1049–1054.
- Santoso, B.S.A., Sudarsono, S., Nugroho, A.E., dan Murti, Y.B., 2018. Hypoglycemic Activity and Pancreas Protection of Combination Juice of Mengkudu (*Morinda citrifolia* Linn.) Juice and Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) Juice on Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Indonesian Journal of Pharmacy*, 29: 16–22.
- Sun, S., Liu, J., Kadouh, H., Sun, X., dan Zhou, K., 2014. Three new anti-proliferative Annonaceous acetogenins with monotetrahydrofuran ring from graviola fruit (*Annona muricata*). *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 24: 2773–2776.
- Sun, S., Liu, J., Zhou, N., Zhu, W., Dou, Q.P., dan Zhou, K., 2016. Isolation of three new annonaceous acetogenins from Graviola fruit (*Annona muricata*) and their anti-proliferation on human prostate cancer cell PC-3. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 26: 4382–4385.
- Wahyuni, D. dan Loren, I., 2015. Perbedaan Toksisitas Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) dengan Ekstrak Biji Srikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti* L. *Saintifika*, 17: 38–48.

## LAMPIRAN

**Tabel 1. Hasil pengamatan uji toksisitas**

Konsentrasi (mg/L)	Perlakuan			Log (mg/L)	Probit	%Kematian	Jumlah Larva (mati)	Total
	R1	R2	R3					
10	2	7	1	1.00	4,56	33	10	30
50	5	4	6	1.70	5,00	50	15	30
100	9	5	5	2.00	5,33	63	19	30
500	7	10	7	2.70	5,84	80	24	30
1000	10	10	8	3.00	6,84	93	28	30
Kontrol (-)	0	0	0	-	-	0	0	30