

**PHOTOCHEMICAL SCREENING AND TOXICITY TESTING OF RED MIANA LEAF  
(*Coleus hybridus*) ETHANOL EXTRACT USING BRINE SHRIMP LETHALITY TEST  
(BSLT) METHOD**

**SKRINING FITOKIMIA DAN UJI TOKSISITAS EKSTRAK ETANOL DAUN  
MIANA MERAH (*Coleus hybridus*) DENGAN METODE BRINE SHRIMP LETHALITY  
TEST (BSLT)**

**Laurencia D.B. Artantyo<sup>1)\*</sup>, Fatimawali<sup>1)</sup>, Olvie Syenni Datu<sup>1)</sup>**

<sup>1)</sup>Program Studi Farmasi Fakultas MIPA UNSRAT Manado, 95115

\*diva.artantyo@gmail.com

**ABSTRACT**

*The leaves of Coleus hybridus are used by Indonesian people to treat coughs, asthma, diarrhea and help recovery after childbirth. Several studies have reported that the Coleus plant has potential as a cancer drug. This study aimed to analyze the secondary metabolite content of Coleus hybridus leaves and determine the LC<sub>50</sub> value from the toxicity test of Coleus hybridus leaf extract against Artemia salina Leach larvae. Coleus hybridus leaves were macerated using ethanol, the macerate was concentrated using an oven to obtain a thick extract. Phytochemical tests include testing for alkaloids, flavonoids, tannins, saponins, steroids and triterpenoids. The extract was tested for toxicity using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method. The ethanol extract used at concentrations of 1000 g/mL, 500 g/mL, 250 g/mL, 125 g/mL, 62.5 g/mL, 31.25 g/mL and 0 g/mL (control), then observed for 24 hours. The toxicity effects of the extracts were analyzed by probit analysis using SPSS 25.0. The results showed that the ethanol extract of the leaves of Coleus hybridus contained flavonoids, tannins, saponins and steroids. The results of the toxicity test obtained an LC<sub>50</sub> value of 323.225 g/mL, so it can be concluded that the ethanol extract of Coleus hybridus leaves is in the category of low toxic.*

**Keywords:** *Coleus hybridus leaves, Phytochemical Screening, BSLT, Cytotoxicity, LC<sub>50</sub>.*

**ABSTRAK**

Daun *Coleus hybridus* digunakan masyarakat Indonesia untuk mengobati batuk, asma, diare dan membantu pemulihan setelah melahirkan. Beberapa penelitian melaporkan tanaman *Coleus* berpotensi sebagai obat kanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengklasifikasi kandungan metabolit sekunder dari daun *Coleus hybridus* dan menentukan nilai LC<sub>50</sub> dari uji toksisitas ekstrak daun *Coleus hybridus* terhadap larva *Artemia salina Leach*. Daun *Coleus hybridus* dimaserasi menggunakan etanol, maserat dipekatan menggunakan oven sehingga diperoleh ekstrak kental. Pengujian fitokimia meliputi uji alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, steroid dan triterpenoid. Ekstrak diuji toksisitasnya dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Ekstrak etanol yang digunakan konsentrasi 1000 µg/mL, 500 µg/mL, 250 µg/mL, 125 µg/mL, 62,5 µg/mL, 31,25 µg/mL dan 0 µg/mL (kontrol), kemudian diamati selama 24 jam. Efek toksisitas ekstrak dianalisis dengan analisis probit menggunakan SPSS 25.0. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun *Coleus hybridus* memiliki kandungan flavonoid, tanin, saponin dan steroid. Hasil uji toksisitas diperoleh nilai LC<sub>50</sub> sebesar 323,225 µg/mL, sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun *Coleus hybridus* masuk kategori kurang toksik (low toxic).

**Kata kunci:** Daun *Coleus hybridus*, Skrining Fitokimia, BSLT, Sitotoksitas, LC<sub>50</sub>.

## PENDAHULUAN

Penggunaan tanaman obat atau herbal sebagai pengobatan tradisional merupakan pilihan pengobatan yang kini makin diminati karena relatif aman dan murah, salah satunya adalah untuk terapi kanker. Obat kemoterapi telah banyak ditemukan untuk terapi kanker namun hasilnya belum memuaskan, disamping kurang selektif dalam penggunaan obat yang ada, juga ditemukan efek samping yang cukup besar dari obat tersebut (Hendrawati, 2009; Farida *et al.*, 2009). Dari berbagai penelitian, obat tradisional telah diakui keberadaannya oleh masyarakat, dengan demikian meningkatkan manfaat tanaman bagi kesehatan dan menciptakan kondisi yang mendorong pengembangan obat tradisional (Hendrawati, 2009).

Kanker merupakan salah satu masalah kesehatan terbesar di Indonesia dan menjadi penyebab kematian tertinggi kedua setelah penyakit kardiovaskuler. *Global burden of Cancer Study* (Globocan) dari *World Health Organization* (WHO) mencatat, total kasus kanker di Indonesia pada tahun 2020 mencapai 396,914 kasus dan total kematian sebesar 234,511 kasus. Metode terapi yang lazim dilakukan untuk mengatasi kanker adalah kemoterapi, sinar atau radiasi ataupun pembedahan (Nafrinaldi & Gan, 1995), metode tersebut sering kali kurang efektif ataupun tidak aman untuk sel-sel yang normal, sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut untuk menemukan obat baru dari alam (Pamilih, 2009; Tjay & Rahardja, 2007).

Masyarakat lokal di Sulawesi Utara yang bermukim di sekitar kawasan hutan telah banyak memanfaatkan sumber daya hutan khususnya tumbuhan untuk memenuhi kebutuhan hidupnya seperti keperluan pangan, bahan konstruksi rumah, dan lainnya, begitu pula obat-obatan tradisional, kayu bakar dan sebagainya. Pengetahuan mengenai pengobatan secara tradisional, terutama yang bahan bakunya berasal dari alam telah dikenal sejak zaman purba ditanah Minahasa. Pengetahuan ini biasanya diturunkan dari generasi ke generasi (Khino *et al.*, 2011).

Tanaman *Coleus hybridus* dari beberapa penelitian merupakan satu spesies tanaman dari famili Lamiaceae yang berpotensi sebagai tanaman obat tradisional. Tanaman miana merah (*Coleus hybridus*) merupakan genus *Coleus* sinonimnya piladang (*Coleus*

*scutellarioides*) (Borek, *et al.*, 2016) atau *Plectranthus scutellarioides*. Tanaman miana merah memiliki sedikit literatur penelitian tentang metabolit sekunder, bioaktivitas, atau potensi berkhasiat obat. Tanaman *Coleus* merupakan tanaman herba yang memiliki batang tegak atau herba baring yang berakar banyak, harum serta memiliki tinggi umunya 0,5-1 meter namun beberapa tanaman bisa memiliki tinggi hingga 2 meter (Suva, *et al.*, 2016).

Menurut Julianus (2011), air rebusan daun miana merah (*Coleus hybridus*) secara empiris telah digunakan oleh masyarakat di beberapa daerah di Sulawesi Utara khususnya di wilayah Minahasa untuk mengobati batuk, wasir, terlambat haid, dan kencing manis. Pada penelitian untuk penggunaan daun miana sebagai senyawa antikanker ditemukan bahwa terdapat 4 fraksi toksik dari daun miana diantaranya adalah fraksi asam palmitat, asam stearat, 9- Oktadekenamida dan Ester dioktil heksadioat. Empat senyawa diidentifikasi pada fraksi paling toksik (LC50 90,72) menggunakan Gas Chromatography-Mass Spectrometry (Swantara, 2010).

Efek farmakologis dari tumbuhan disebabkan adanya senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya. Efektivitas komponen aktif tersebut sebagai obat herbal dapat ditentukan melalui analisis awal berupa analisis toksisitas. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa beberapa genus *Coleus* memiliki aktivitas toksisitas. Untuk itu, pada penelitian ini akan dilakukan pengujian terhadap spesies *Coleus hybridus* agar dapat mengetahui apakah terdapat aktivitas toksisitas atau tidak. Berdasarkan informasi diatas serta untuk menunjang dan melengkapi informasi yang bermanfaat bagi masyarakat umum mengenai tanaman obat miana merah.

Metode yang sering digunakan pada analisis toksisitas yaitu Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Uji ini menggambarkan tingkat ketoksikan ekstrak terhadap larva *Artemia salina*. Uji ini merupakan uji tahap awal untuk menentukan aktivitas sitotoksik karena uji ini lebih mudah dan sederhana. Penggunaan metode ini untuk mengetahui bioaktivitas secara umum dalam ekstrak tumbuhan mulai diperkenalkan pada tahun 1982, kemudian pada tahun 1991 dimodifikasi sebagai uji pendahuluan untuk aktivitas sitotoksik. Pengujian dengan menggunakan hewan uji

larva udang *Artemia salina* ini memiliki sensitivitas yang sangat tinggi terhadap senyawa sitotoksik. Oleh karena itu, metode BSLT sangat disarankan untuk pengujian toksisitas karena memiliki korelasi hingga tingkat kepercayaan 95% terhadap uji spesifik antikanker (Anderson, 1991).

Pada penelitian terdahulu menunjukkan adanya korelasi positif antara toksisitas brine shrimp dengan sitotoksitas 9KB (karsinoma nasofaring pada manusia). Uji BSLT telah digunakan 20 tahun terakhir dan telah mununtun ditemukannya efek sitotoksik dari berbagai bahan alam (Arum Syarie, 2010). Kelebihan metode BSLT ialah cepat, rendah biaya dan sederhana. Hasil uji ini dapat dimanfaatkan untuk mengidentifikasi bioaktivitas tanaman yang lebih luas. Penelitian ini bertujuan mempelajari aktivitas toksisitas ekstrak etanol daun miana merah yang diuji terhadap larva *A. Salina*.

## METODOLOGI PENELITIAN

### Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Farmasi dan Instrumen di Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi pada bulan Desember 2021- Januari 2022.

### Jenis Penelitian

Penelitian merupakan penelitian eksperimental laboratorium.

### Alat dan Bahan

#### Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah tisu, blender, gunting, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet, penggaris, *rotary evaporator*, timbangan, sarung tangan, masker, gelas beker, batang pengaduk, cawan petri, *waterbath*, kertas saring, ayakan mesh 80, corong, kaca pembesar, *hotplate*, aerator, lampu, labu takar, erlenmeyer, gelas ukur, aluminium foil, spatula, toples kaca, pot salep, dan wadah plastik berukuran sedang.

#### Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun miana merah (*Coleus hybridus*), etanol 96%, air laut, *Artemia salina* L., akuades, garam non iodium, CHCl<sub>3</sub> (kloroform), NH<sub>3</sub> (amoniam), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (asam sulfat), pereaksi Meyer, C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub> (asetat

anhidrat), HCl (asam klorida), Mg (magnesium) dan FeCl<sub>3</sub> (besi (III) klorida).

### Pengambilan dan Penyiapan Sampel

Sampel yang digunakan ialah daun miana merah (*Coleus hybridus*) yang diambil di Kelurahan Lapangan, kecamatan Mapanget, Kota Manado, Sulawesi Utara. Daun miana merah yang diperoleh akan dilakukan sortasi, pencucian dan pengeringan. Sortasi dan pencucian yang dilakukan pada daun miana merah bertujuan untuk membersihkan dari kotoran-kotoran yang melekat ataupun bagian dari tanaman lain yang tidak akan digunakan yang terbawa saat pengumpulan daun menggunakan air bersih. Sedangkan pengeringan bertujuan untuk menghilangkan air yang terdapat dalam sampel yang dapat menyebabkan terjadinya reaksi enzimatik yang mengakibatkan rusaknya sampel karena susunan senyawa yang terdapat dalam daun tersebut telah berubah (Ningsih *et al*, 2016).

### Identifikasi Tanaman

Identifikasi tanaman dilakukan di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi Manado.

### Ekstraksi Sampel

Serbuk kering daun miana merah diekstraksi dengan metode maserasi. Serbuk daun miana merah yang digunakan sebesar 200 g dan diekstraksi dengan pelarut etanol 96% sebanyak 1000 mL selama 5 hari. Setelah 5 hari dilakukan lagi remaserasi 1 kali selama 3 hari dengan ditambahkan pelarut etanol 96% mencapai 600 mL.

Pemilihan metode maserasi dikarenakan pelaksanaannya lebih mudah dan tidak memerlukan peralatan yang spesifik. Selain itu, metode maserasi dapat digunakan untuk

jenis senyawa yang tahan panas maupun yang tidak tahan panas dan dapat digunakan untuk jenis senyawa yang belum diidentifikasi (Herawati *et al.*, 2012). Proses ini sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam, karena selama perendaman terjadi peristiwa plasmolisis yang menyebabkan terjadi pemecahan dinding sel akibat perbedaan tekanan didalam dan diluar sel, sehingga senyawa yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dan proses ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang diinginkan (Ningsih *et al.*, 2016).

#### Uji Fitokimia

Uji fitokimia ialah uji kualitatif yang dilakukan untuk mengenali komponen bioaktif yang terkandung dalam ekstrak etanol 96% daun *Coleus hybridus*. Analisis fitokimia yang dilakukan meliputi uji alkaloid, flavonoid, tanin, saponin serta triterpenoid/steroid. Tata cara analisis yang digunakan bersumber pada Harborne (1987).

##### a. Alkaloid

Sebanyak 0,5 g ekstrak daun miana merah (*Coleus hybridus*) dimasukkan ke dalam tabung reaksi, selanjutnya ditambahkan 2 mL kloroform ( $\text{CHCl}_3$ ) dan 10 mL amonia ( $\text{NH}_3$ ), kemudian ditambahkan 10 tetes asam sulfat ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) 2 M untuk memperjelas terjadinya pemisahan 2 fase yang berbeda. Campuran dikocok dan dibiarkan hingga membentuk 2 lapisan. Bagian atas dari fase yang terbentuk diambil dan dipindahkan dalam 3 tabung reaksi dengan volume masing-masing 2,5 mL. Setelah itu ketiga larutan ditambahkan masing-masing reagen Meyer, Dragendorf dan Wagner. Terjadinya endapan putih (untuk reagen Meyer), merah jingga (untuk reagen Dragendorf) dan coklat (untuk reagen Wagner) menandakan adanya alkaloid.

##### b. Flavonoid

Sebanyak 0,5 g ekstrak etanol daun miana merah (*Coleus hybridus*) dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 5 mL etanol dan dipanaskan selama 5 menit dalam tabung reaksi. Setelah dipanaskan, ditambahkan beberapa tetes asam klorida ( $\text{HCl}$ ) pekat. Kemudian ditambahkan 0,2 g serbuk magnesium ( $\text{Mg}$ ). Adanya flavonoid ditunjukkan oleh timbulnya warna merah bata.

##### c. Tanin

Sebanyak 0,5 g ekstrak etanol daun miana merah (*Coleus hybridus*) dimasukkan ke dalam tabung reaksi, selanjutnya ditambahkan dengan 10 mL air panas, kemudian ditetesi besi (III) klorida ( $\text{FeCl}_3$ ), keberadaan tannin dalam sampel ditandai dengan munculnya warna hijau kebiruan.

##### d. Saponin

Sebanyak 0,5 g ekstrak etanol daun miana merah (*Coleus hybridus*) ditambahkan dengan 10 mL akuades kemudian dikocok selama kurang lebih 1 menit. Selanjutnya didiamkan selama 10 menit dan diamati buih atau busa yang terbentuk. Keberadaan senyawa saponin dalam sampel ditandai dengan terbentuknya buih yang stabil selama 10 menit.

##### e. Steroid/Triterpenoid

Sebanyak 0,5 g ekstrak etanol daun miana merah (*Coleus hybridus*) ditambahkan dengan 1 mL kloroform ( $\text{CHCl}_3$ ). Selanjutnya campuran dikocok. Ditambahkan masing-masing asetat anhidrat ( $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_3$ ) dan asam sulfat ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) pekat sebanyak 2 tetes. Larutan dikocok perlahan lalu dibiarkan selama beberapa menit. Jika mengandung steroid maka larutan memberikan warna biru atau hijau dan apabila mengandung triterpenoid maka larutan memberikan warna merah atau ungu.

#### Uji Toksisitas dengan Metode BSLT Penyiapan Larva *Artemia Salina* L.

Penetasan telur *Artemia salina* L. dilakukan dengan cara merendam sebanyak 50 mg telur *A. salina* dalam wadah yang berisi air laut dibawah cahaya lampu 25 watt. Telur *A. salina* akan menetas dan menjadi larva setelah 24 jam (Mudjiman, 1988). Larva *A. salina* yang baik digunakan untuk uji BSLT yaitu yang berumur 48 jam sebab jika lebih dari 48 jam dikhawatirkan kematian *A. salina* bukan disebabkan toksisitas melainkan oleh terbatasnya persediaan makanan (Meyer *et al.*, 1982).

#### Pembuatan Konsentrasi Sampel Uji

Konsentrasi larutan uji untuk BSLT adalah 1000 µg/mL, 500 µg/mL, 250 µg/mL, 125 µg/mL, 62,5 µg/mL, 31,25 µg/mL, dan larutan kontrol. Untuk pembuatan larutan stok, ekstrak kental etanol 96% ditimbang sebanyak 500 mg, kemudian dilarutkan dengan ke dalam air laut sebanyak 500 mL, hingga diperoleh konsentrasi larutan stok 1000 µg/mL.

- Larutan konsentrasi 1000 µg/mL dibuat dengan cara diambil 10 mL dari larutan stok.
- Larutan konsentrasi 500 µg/mL dibuat dengan cara diambil 5 mL dari larutan stok dan ditambahkan air laut hingga 10 mL.
- Larutan konsentrasi 250 µg/mL dibuat dengan cara diambil 5 mL dari larutan 500 µg/mL dan ditambahkan air laut hingga 10 mL.
- Larutan konsentrasi 125 µg/mL dibuat dengan cara diambil 5 mL dari larutan 250 µg/mL dan ditambahkan air laut hingga 10 mL.
- Larutan konsentrasi 62,5 µg/mL dibuat dengan cara diambil 5 mL dari larutan 125 µg/mL dan ditambahkan air laut hingga 10 mL.
- Larutan konsentrasi 31,25 µg/mL dibuat dengan cara diambil 5 mL dari larutan 62,5 µg/mL dan ditambahkan air laut hingga 10 mL.
- Larutan kontrol dibuat dengan mengambil 10 mL air laut saja.

#### Pelaksanaan Uji Toksisitas

Pada uji toksisitas masing-masing konsentrasi dilakukan 3 duplikasi dengan tiap kelompok sebanyak 10 ekor larva *Artemia salina* L. Disiapkan wadah untuk pengujian, untuk masing - masing konsentrasi ekstrak sampel membutuhkan 3 wadah dan 3 wadah sebagai kontrol untuk masing - masing duplikasi. Selanjutnya pada tiap konsentrasi larutan dimasukkan 10 ekor larva *A. salina*. Pengamatan dilakukan selama 24 jam terhadap kematian larva *A. salina* dimana setiap konsentrasi dilakukan 3 duplikasi dan dibandingkan dengan kontrol. Kriteria standar untuk menilai kematian larva *A. salina* yaitu

bila larva *A. salina* tidak menunjukkan pergerakan selama 60 detik observasi.

#### Analisis Data

Data yang dikumpulkan adalah data primer yang didapatkan dari jumlah larva udang yang mati 24 jam setelah perlakuan pada tiap-tiap konsentrasi ekstrak daun miana merah. Data hasil penelitian dari uji toksisitas akan dianalisis dengan analisis probit menggunakan SPSS 25.0 for Windows untuk mengetahui nilai LC<sub>50</sub>, serta disajikan dalam bentuk tabel.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Ekstraksi

Besar rendemen hasil ekstraksi 200 g serbuk daun miana merah dalam 1000 mL etanol dihitung dalam persen rendemen. Hasil ekstraksi daun miana merah diperoleh rendemen ekstrak kental sebanyak 25,9 g. Persen rendemen ekstrak daun miana merah didapat dengan membagi jumlah rendemen ekstrak dengan berat serbuk sebelum ekstraksi kemudian dikalikan 100%. Persen rendemen yang didapat yaitu 12,95%.

#### Uji Fitokimia

Pengujian fitokimia dilakukan menggunakan metode yang berdasarkan pada Harborne (1987). Hasil pengujian dapat dilihat pada Tabel 1. Pengujian fitokimia ini menunjukkan bahwa ekstrak daun miana merah positif memiliki senyawa metabolit sekunder yakni steroid, flavonoid, tanin dan saponin. Sedangkan untuk metabolit sekunder triterpenoid dan alkaloid menunjukkan hasil negatif. Keberadaan metabolit sekunder tersebut menunjukkan bahwa daun miana merah mempunyai efek farmakologis dan berpotensi untuk dijadikan sebagai bahan obat-obatan.

**Tabel 1.** Hasil Uji Fitokimia dari Ekstrak Etanol Daun Miana Merah (*Coleus hybridus*)

Senyawa Metabolit	Penambahan	Perubahan Positif	Perubahan Warna	Hasil Pengujian
Alkaloid	2 mL kloroform + 10 tetes asam sulfat	Pereaksi Meyer: endapan putih Pereaksi Dragendorf: merah jingga Pereaksi	merah jingga	-

		Wagner: coklat		
Flavonoid	10 tetes asam klorida pekat + 0,2 g serbuk magnesium	Warna merah bata	Warna merah bata	+
Tanin	10 mL air panas + 5 tetes besi (III) klorida	Warna hijau kebiruan	Warna hijau kebiruan	+
Saponin	10 mL akuades	Terbentuknya buih stabil selama 10 menit	Terbentuknya buih stabil selama 10 menit	+
Steroid dan Triterpenoid	1 mL kloroform + 2 tetes asetat anhidrat + 2 tetes asam sulfat pekat	Steroid: warna biru atau hijau Triterpenoid: warna merah atau ungu	Warna hijau kebiruan	+ Steroid - Triterpenoid

### Pengujian Toksisitas dengan Metode BSLT

Pengujian toksisitas dilakukan dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) menggunakan larva *Artemia salina* L. Kemampuan toksisitas dari ekstrak etanol daun miana merah dalam mematikan larva udang yang telah diberikan perlakuan dengan konsentrasi 1000, 500, 250, 125, 62,5 dan 31,25 µg/mL beserta larutan kontrol yang hanya berisi air laut dapat dilihat dalam Tabel 2. Penambahan larutan kontrol dilakukan untuk mengetahui pengaruh air laut maupun faktor lain terhadap kematian larva, sehingga

kematian larva dapat dipastikan karena efek dari ekstrak yang ditambahkan.

Air laut yang digunakan merupakan air laut sintetik yang dibuat dengan cara melarutkan garam non iodium sebanyak 20 g dalam 1000 mL akuades. Dapat diketahui bahwa masing-masing konsentrasi ekstrak daun miana merah yang digunakan memperlihatkan pengaruh yang berbeda. Jumlah larva tiap uji adalah 10 ekor dan tiap konsentrasi dilakukan hingga 3 kali duplikasi. Jumlah total larva udang *A. salina* yang digunakan adalah 210 ekor larva.

**Tabel 2.** Persentase Jumlah Kematian Larva Udang

Pengujian	Larutan Kontrol	Jumlah Kematian Setiap Konsentrasi					
		31,25 µg/mL	62,5 µg/mL	125 µg/mL	250 µg/mL	500 µg/mL	1000 µg/mL
1	0	2	2	3	4	10	10
2	0	2	2	3	3	8	10
3	1	1	3	6	6	9	10
Total Kematian Larva	1	5	7	12	13	27	30
Rata-rata	0,3	1,6	2,3	4	4,3	9	10
Persentase Kematian	3%	16%	23%	40%	43%	90%	100%

Berdasarkan Tabel 2, dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi maka semakin besar juga tingkat kematian larva udang, dimana diperoleh tingkat kematian tertinggi pada konsentrasi 1000 µg/mL dan kematian terendah pada konsentrasi 31,25 µg/mL.

Mekanisme kematian larva udang berhubungan dengan senyawa metabolit sekunder ekstrak yang bersifat toksik yang dapat menghambat daya makan larva udang.

Ketika senyawa tersebut tertelan oleh larva, alat pencernaannya akan terganggu. Selain itu, senyawa ini menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva udang. Larva udang tidak bisa makan, sehingga menyebabkan larva udang mati (Meyer *et al.*, 1982).

Menurut Meyer *et al.*, (1982), ekstrak dapat disebut bersifat toksik apabila memiliki nilai LC<sub>50</sub> dengan konsentrasi kurang dari 1000 µg/mL, semakin kecil nilai LC<sub>50</sub> menunjukkan

bahwa senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak tersebut semakin kuat. Nilai LC50 merupakan konsentrasi yang dapat menyebabkan kematian 50% larva selama waktu tertentu. Sampel uji dapat dikatakan aktif jika nilai LC50 lebih kecil dari 1000 µg/mL.

**Tabel 3.** Hasil Analisis Probit Nilai LC50 menggunakan SPSS 25.0

PROBIT <sup>a</sup>	Confidence Limits						
	Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) <sup>b</sup>		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
.010	128.196	..	..	2.108	..	..	
.020	142.869	..	..	2.155	..	..	
.030	153.037	..	..	2.185	..	..	
.040	161.161	..	..	2.207	..	..	
.050	168.086	..	..	2.226	..	..	
.060	174.214	..	..	2.241	..	..	
.070	179.770	..	..	2.255	..	..	
.080	184.896	..	..	2.267	..	..	
.090	189.684	..	..	2.278	..	..	
.100	194.201	..	..	2.288	..	..	
.150	214.077	..	..	2.331	..	..	
.200	231.315	..	..	2.364	..	..	
.250	247.205	..	..	2.393	..	..	
.300	262.404	..	..	2.419	..	..	
.350	277.320	..	..	2.443	..	..	
.400	292.258	..	..	2.466	..	..	
.450	307.475	..	..	2.488	..	..	
.500	323.225	..	..	2.510	..	..	
.550	339.781	..	..	2.531	..	..	
.600	357.473	..	..	2.553	..	..	
.650	376.728	..	..	2.576	..	..	
.700	398.143	..	..	2.600	..	..	
.750	422.821	..	..	2.626	..	..	
.800	451.854	..	..	2.655	..	..	

Hasil dari analisis probit menggunakan SPSS 25.0 menunjukkan nilai LC50 dari ekstrak etanol daun miana merah adalah 323,225 µg/mL dan menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun miana merah bersifat toksik. Sehingga berdasarkan nilai LC50 yang diperoleh dengan metode BSLT, tanaman miana merah dapat dilakukan penelitian lanjutan untuk dikembangkan sebagai obat antikanker.

Menurut Meyer (1982), ada 3 kategori mengklasifikasikan tingkat toksisitas suatu ekstrak. Ekstrak etanol daun miana merah yang telah di uji pada penelitian ini jika dikategorikan menunjukkan bahwa ekstrak masuk ke dalam kategori low toxic. Walaupun dalam kategori low toxic, ekstrak masih dikatakan aktif sebagai antikanker karena nilai LC50 yang dihasilkan dari analisis probit menunjukkan konsentrasi masih dibawah 1000 µg/mL. Semakin kecil nilai LC50 yang diperoleh, maka semakin tinggi sifat toksisitasnya.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Ekstrak etanol 96% daun miana merah (*Coleus hybridus*) mengandung senyawa metabolit sekunder yakni steroid, flavonoid, tanin dan saponin yang dapat memberikan aktivitas farmakologis.
2. Ekstrak etanol 96% daun miana merah (*Coleus hybridus*) memiliki sifat toksik dengan kategori low toxic terhadap larva udang dengan nilai LC50 sebesar 323,225 µg/mL.

## SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan ini, tanaman miana merah (*Coleus hybridus*) perlu dilakukan penelitian lebih lanjut, karena daun miana merah (*Coleus hybridus*) memiliki berbagai senyawa metabolit sekunder yang bermanfaat. Perlu juga dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap ekstrak etanol daun miana merah yang terbukti bersifat toksik dengan kategori low toxic berpotensi sebagai bahan obat antikanker.

## DAFTAR PUSTAKA

- A. Nurul Qalbi BM, Jasri Djangi & Muhaedah. (2017). Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Kloroform Daun Tumbuhan Iler (*Coleus scutellarioides*, Linn, Benth). Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Makassar.
- Anderson, J. E., Goetz C.M., Mc Laughlin J.L. (1991). A Blind comparison of Simple Bench-top Bioassay and Human Tumor Cell Cytotoxicities as Antitumor Prescreens, Natural Product Chemistry, Elsevier, Amsterdam.
- Ariani, S. R. D., Endang S., Elfi S. V. H. & Setiyani. (2008). Uji Aktivitas Ekstrak Metanol Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) sebagai Antifertilitas Kontrasepsi pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Indo J.Chem.*, 8 (2), 264-270.

- Chemistry Study Program,  
Faculty of Educations, Sebelas  
Maret University.
- Arum Syarie, S. (2010). “Uji Toksisitas Daun *Gracinia porrecta* Wall var. *Schizogyna Boerl* dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia dari Ekstrak dan yang Aktif”. Skripsi. Universitas Indonesia.
- Asaduzzaman, M., Rana, M., Hasan, S., Hossain, M., & Das, N. (2015). Cytotoxic (brine shrimp lethality bioassay) and antioxidant investigation of *Barringtonia acutangula* (L.). *International Journal of Pharma Sciences and Research (IJPSR)*, 6(8), 1179–1185.
- Borek, M., R. Bączek-Kwinta, and M. Rapacz. (2016). “Photosynthetic Activity of Variegated Leaves of *Coleus × Hybridus* Hort. Cultivars Characterised by Chlorophyll Fluorescence Techniques.” *Photosynthetica* 54(3):331–39.
- Dede Indra Syari, Rhida Aini, Wiza Septia, Rudi Hendra Sy & Hilwan Yuda Teruna. (2018). UJI AKTIVITAS TOKSISITAS DARI EKSTRAK TANAMAN MIANA MERAH (*Coleus hybridus*) MENGGUNAKAN METODE BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). Mahasiswa Program Studi Pasca Sarjana Kimia dan Mahasiswa Program Sarjana Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Kampus Binawidya Pekanbaru.
- Departemen Kesehatan RI. (1995). *Farmakope Indonesia* Edisi IV, 551, 713. Jakarta.
- Dewi, I.D.A.D.Y., Astuti, K.W.1, Warditiani, N.K. (2013). Skringing Fitokimia Ekstrka Etanol 95% Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Udayana. Bali.
- Farida, Y., T. Martati, B. Edward. (2009). Uji Aktivitas Biologi Secara BSLT dan Uji Sitotoksik dengan Metode MTT dari Ekstrak n-Heksana dan Ekstrak Metanol Daun Keladi Tikus (*Typhonium divaricatum* (L) Decne). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 8 (2): 118-124.
- Gajardo, G., & Beardmore, J. (2012). The brine shrimp *Artemia*: adapted to critical life conditions. *Frontiers in Physiology*, 3, 1–

8. doi:  
10.3389/fphys.2012.00185
- Harborne, J. B. (1987). *Metode Fitokimia, Edisi ke-2*. ITB, Bandung.
- Hendrawati, A. R. S. (2009). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* Linn.) Terhadap *Artemia salina* Leach dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). [skripsi]. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang.
- Julianus *et al.* (2011). *Tumbuhan Obat Tradisional di Sulawesi Utara*. Ed ke-2. Manado: Balai Penelitian Kehutanan Manado.
- Kanwar, A. (2007). Brine shrimp (*Artemia salina*) a marine animal for simple and rapid biological assays. *Journal of Chinese Clinical Medicine*, 2(4), 236–240.
- Kristianti, A. N, N. S. Aminah, M. Tanjung, dan B. Kurniadi. (2008). *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Jurusan Kimia Laboratorium Kimia Organik FMIPA Universitas Airlangga. P.47-48.
- Kumala, S. 2009. Aktivitas antibakteri ekstrak daun iler (*Coleus antropurpureus* (L) Beth) terhadap beberapa bakteri Gram (+) dan bakteri Gram (-) *Jurnal Bahan Alam Indonesia* vol 7 no 1.
- Kumalasari, Aristin Nanda Djuraidah, Anik Alamudi, Aam. (2015). *Analisis Probit untuk Menentukan Pestisida yang Efektif bagi Crocidolamia Pavonana*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Kusumawati, Dwi Endah, Fachriyan Hasmi Pasaribu, and Maria Bintang. (2014). “Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Endofit dari Tanaman Miana (*Coleus Scutellariodes* [L.] Benth.) terhadap *Staphylococcus Aureus* dan *Escherichia Coli*.” *Current Biochemistry* 1(1):45–50.
- Lestari, M. ..., T. Himawan, A. .. Abadi, and R. Retnowati. (2015). “Toxicity and Phytochemistry Test of Methanol Extract of Several Plants from Papua Using Brine Shrimp Lethality Test (BSLT).” *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 7(4):866–72.
- Meyer, B.N., Ferrigni, Putnam, J.E. Jacobsen, L.B. Nichols, Mclaughin. (1982). *Brine Shrimp: A Convinient General Bioassay for Active Plant Constituents*. *Planta Medica*. 45: 31-34.
- Mudjiman, A. (1988). *Udang Renik Air Asin (Artemia salina)*. Bhatara Karya Aksara, Jakarta.
- Murtini, J.T., Triwibowo, R., Indriatri, N., dan Ariyani, F. (2010). Uji Toksisitas Sub Kronik *Spirulina platensis* Secara *In-Vivo*. *Jurnal Pascapaen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. 5(2). Hal. 123-134.
- Mustikasari, K & Ariyani, D. (2008). Studi Potensi Binjai (*Mangifera caesia*) dan Kasturi (*Mangifera casturi*) sebagai Antidiabetes melalui Skrining Fitokimia pada Akar dan Batang. *Jurnal Sains dan Terapan Kimia* 2 (2) : 64-73.
- Ningsih, D.R., Zusfahair, D. Kartika. (2016). *Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Serta Uji Aktivitas Ekstrak Daun Sirsak Sebagai*

- Antibakteri. Molekul.* **11** (1): 101-111.
- Nafrinaldi, & Gan, S. (1995). Antikanker dan Imunosupresan. In G. G. Sulistia (Ed.), *Farmakologi dan Terapi* (4 ed.). Jakarta: Bagian Farmakologi FKUI.
- Nugraheni, M., U. Santoso, Suparmo, and H. Wuryastuti. (2011). "Potential of Coleus Tuberosus as an Antioxidant and Cancer Chemoprevention Agent." *International Food Research Journal* 18(4):1471–80.
- Nugroho Y A. 2003. Karakterisasi, uji toksisitas akut oral dan uji mukolitik tanaman mayana (*Plectranthus scutellarioides* (L) R. Br.). Laporan Penelitian. Jakarta : *Penelitian dan Pengembangan Kesehatan* 2003: hal. 5.
- Padmasari, P D., Astuti K.W., Warditiani, N K. (2013). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 70% Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.). *Jurnal Farmasi Udayana* 2 (4) : 1-4.
- Pamilih, H. (2009). *Uji Sitotoksik Ekstrak Etil Asetat Herba Bandoan (Ageratum conyzoides L.) Terhadap Sel Kanker Payudara (T47D) dan Profil Kromatografi Lapis Tipis.* (S1), Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Ravishankar D, rajora AK, Greco F, Osborn HMI. 2013. Flavonoids as prospective compounds for anti-cancer therapy. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology.* 30:1-11.
- Ren W, Qiao Z, Wang H, Zhu L, Zhang L. 2003. Flavonoids: promising anticancer agents. *Medicinal Research Reviews.* 23(4): 519-534.
- Seniwaty., Raihanah., Nuhgraeni, I K dan Umaningrum, D. (2009). Skrining Fitokimia dari Alang-alang (*Imperata Cylindrica* L.Beauv) dan Lidah Ular (*Hedyotis Corymbosa* L.Lamk). *Sains dan Terapan Kimia* 3 (2) : 124-133.
- Sudaryono, A. (2011). Teratogenitas Senyawa Flavonoid dalam Ekstrak Metanol Daun Benalu (*Dendrophthoe pentandra* (L) Miq.) pada *Mus musculus.* *Jurnal Exacta* 9 (1):1-8.
- Suva, Manoj A., Ankita M. Patel, and Neeraj Sharma. (2016). "Coleus Species: Solenostemon Scutellarioides." *Inventi Journals (P)* 2015(2):1–5.
- Swantara IMD. (2010). Isolasi dan Identifikasi Fraksi toksik Ekstrak Tumbuhan Iler (*Coleus scutellarioides* [L.] Benth). *Indonesian Journal of Cancer* 4(1) : 9-13.
- Tjay, T.H., & Rahardja, K. (2007). *Obat-Obat Penting: Khasiat, Penggunaan dan Efek-Efek Sampingnya.* Jakarta: Elex Media Komputindo.
- Tomahayu, R.T. (2014). Identifikasi Senyawa Aktif dan Uji Toksisitas Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* Ten.Steenis) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Thesis.* Universitas Negeri Gorontalo.
- Widayanti, S. M., A. W. Permana, H. D. Kusumaningrum. (2009). Kapasitas Kadar Antosianin Ekstrak Tepung Kulit Buah Manggis (*Garcinia*

- mangostana* L.) Pada Berbagai Pelarut Dengan Metode Maserasi. *J. Pascapanen*, 6 (2): 61-68.
- Wirasuta dan Niruri. (2006). *Toksikologi Umum*. Bandung: Universitas Udayana
- Yildirim I, Kutlu T. 2015. Anticancer agents: saponin and tannin. *Journal of Biological Chemistry*. 9(6):332-340.
- Zakari, A., & Kubmarawa, D. (2016). In vitro cytotoxicity studies and qualitative investigation of phytochemicals of stem bark extracts of *Detarium microcarpum* (Caesalpinioideae), *Echinaceae angustifolia* (Compositae) and *Isobertinia doka* (Fabaceae). *National Journal of Multidisciplinary Research and Development*, 1(1), 22–26.