**UJI TOKSISITAS EKSTRAK ETANOL KULIT BATANG CEPCEPAN (*Castanopsis costata* BL *)* DENGAN METODE *BRINE SHRIMP LETHALITY TEST*** (**BSLT)**

Toxicity Test of Ethanol Extract *Cepcepan* Bark (Castanopsis costata BL.) Method *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Nadroh Br. Sitepu, Rini Bahar

Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Medan

nadroh1980@gmail.com

**ABSTRAK**

Cepcepan biasa digunakan oleh Masyarakat suku Karo sebagai obat gangguan pencernaan dan untuk obat luar seperti luka. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan ada tidaknya potensi toksisitas pada ekstrak etanol kulit batang cepcepan dengan metode Brine Shrimp lethality Test (BSLT). Penelitian ini adalah penelitian eksperimental pemeriksaan uji toksisitas pada ekstrak etanol kulit batang cepcepan dengan metode BSLT. Uji toksistas terdiri dari tiga perlakuan konsentrasi yaitu 1000 ppm, 100 ppm, 10 ppm, beserta kontrol negatif yang masing-masing dilakukan enam kali pengulangan. Pada tiap konsentrasi menggunakan 10 ekor larva *Artemia* *salina* Leach dan dilakukan pengamatan mortalitas larva setelah 48 jam. Dari hasil uji toksistas dengan metode BSLT diperoleh persentase kematian larva artemia 10 ppm : 15%, 100 ppm : 57%, 1000 ppm : 75% dan nilai LC50 =71,20328 data dianalisa dengan menggunakan analisa probit. Hasil LC50 < 1000 ppm menunjukkan ekstak etanol kulit batang cepcepan bersifat toksik.

**Kata kunci:** Cepcepan, *Castanopsis costata*, Toksisitas, BSLT

***ABSTRACT***

*Cepcepan* commonly used by the Karonese as indigestion and for external application drugs like in wounds. This study aimed to prove the existence of potential toxicity of bark *cepcepan* ethanol extract using Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method. This research was an experimental. Examination of toxicity test on ethanol extract of bark *cepcepan* with BSLT method. The toxicity test consisted of three treatments concentrations of 1000 ppm, 100 ppm, 10 ppm, and a negative control, each of them was repeated six times. At every concentration 10 Artemia salina Leach larvae were used and the larval mortality was observed after 48 hours. Through the result of toxicity test using BSLT method, the percentage of artemia larvae death was 10 ppm: 15%, 100 ppm: 57%, 1000 ppm : 75% and value of LC50 = 71,20328 ppm. The data were analyzed using probit analysis. The result of LC50 <1000 ppm showed that the ethanol extract of the *cepcepan* bark was toxic.

**Keywords:** Cepcepan, *Castanopsis costata*, Toxocity, BSLT

**PENDAHULUAN**

Masyarakat yang tinggal di sekitar hutan Tangkahan Taman Nasional Gunung Leuser, Kabupaten Langkat, Sumatera Utara yang banyak dihuni oleh suku Karo, telah mengenal dan sekaligus memanfaatkan beberapa jenis tumbuhan yang berpotensi sebagai obat tradisional. Tumbuhan yang biasa digunakan antara lain dikenal dengan nama daerah cepcepan (*Castanopsis* *costata BL)* biasanya dimanfaatkan sebagai obat nyeri perut bagian dalam,gangguan pencernaan dan untuk obat luar seperti luka. Penggunaan beberapa jenis tumbuhan obat oleh masyarakat di daerah Tangkahan masih berdasarkan informasi yang turun temurun, dan belum diteliti secara ilmiah (Mumpuni, 2004).

Untuk menguji keamanan suatu obat, dapat dilakukan dengan uji toksisitas. Uji toksisitas dilakukan untuk mengetahui efek toksik yang ditimbulkan. Toksisitas adalah efek berbahaya dari bahan kimia suatu obat pada organ target, berhubungan dengan kanker yang merupakan salah satu ancaman utama di bidang kesehatan. Guna mendukung pencarian obat kanker yang spesifik, saat ini banyak dilakukan penggalian dari bahan-bahan alam (Anindita, 2009).

Metode BSLT *(Brine Shrimp Lethality Test)* dipilih karena metode ini sering digunakan untuk praskrining terhadap senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak tumbuhan dan pengerjaanya sederhana, cepat, murah, mudah, dapat dipercaya, dan hasilnya representatif (Meyer dkk*.,* 1982). Uji toksisitas dengan menggunakan BSLT ini dapat ditentukan dari jumlah kematian *Artemia salina Leach* akibat pengaruh ekstrak atau senyawa bahan alam. Ekstrak dinyatakan bersifat toksik menurut metode BSLT ini jika memiliki LC50 kurang dari 1000 g/ml. Jika hasil uji BSLT menunjukkan bahwa ekstrak tumbuhan bersifat toksik maka dapat dikembangkan ke penelitian lebih lanjut untuk mengisolasi senyawa sitotoksik tumbuhan sebagai usaha pengembangan obat alternatif anti kanker. Jika hasil uji BSLT menunjukkan bahwa ekstrak tumbuhan tidak bersifat toksik maka dapat dikembangkan ke penelitian lebih lanjut untuk meneliti khasiat-khasiat lain dari ekstrak tersebut (Anindita 2009). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah ekstrak etanol kulit batang cepcepan mempunyai efek toksisitas dengan metode (BSLT) dan untuk mengetahui persentase kematian larva *Artemia salina Leach* setelah pemberian ekstrak etanol kulit batang cepcepan serta nilai LC50.

**METODOLOGI**

**Alat dan Bahan**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini gelas ukur, beaker glass, labu tentukur, pipet tetes, pipet olume, blender, neraca analitik, batang pengaduk, Lup, vial atau botol kaca, kain flannel hitam, lumpang dan stamper, kain saring, penangas air, seperangkat alat penetasan telur (wadah plastik berbentuk kotak dan *sterofoam*), pengatur udara, aluminium foil, lampu, rotary evaporator, corong, bejana maserasi.

 Sedangkan bahan yang digunakan adalah ekstrak kulit batang cepcepan, aquadest, Larva *Artemia salina* Leach, etanol 96%, Dimetilsulfoksid (DMSO).

**Prosedur penelitian**

1. Determinasi Tanaman

 Determinasi tanaman dilakukan di Herbarium Medanense (MEDA) Uniersitas Sumatera Utara.

1. Pembuatan larutan ekstrak etanol kulit batang cepcepan

 Dengan cara mengambil kulit batang cepcepan yang telah diserbukan. Timbang sebanyak 10 bagian (100 g) serbuk kulit batang cecpcepan, lalu tambahkan cairan penyari (etanol 96%) sebanyak 75 bagian (750 ml) (WHO, 2000). Setelah lima hari serkai, dan ampasnya dibilas dengan sisa cairan penyari 25 bagian sampai diperoleh 100 bagian. Kemudian maserat dibiarkan selama dua hari, lalu enap tuangkan kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental (Depkes RI, 2000).

1. Pembuatan Konsentrasi Ekstrak
2. Pembuatan larutan A, B dan C
3. Larutan A (10 mg/ml)

 Larutan A dibuat dengan menimbang 100 mg ekstrak, kemudian ekstrak dimasukkan kedalam labu tentukur dan dilarutkan dengan DMSO sebanyak 1 ml dan tambahkan air laut sampai 10 ml (10 mg/ml).

1. Larutan B ( 1 mg/ml)

 Larutan B dibuat dengan mengambil 1 ml dari larutan A kemudian dilarutkan dalam air laut buatan sampai 10 ml.

1. Larutan C ( 0,1 mg/ml)

 Larutan C dibuat dengan mengambil 1 ml dari larutan B kemudian dilarutkan dalam air laut buatan sampai 10 ml.

 Untuk konsentrasi 1000 µg/ml dibuat dari larutan A (10 mg/ml ). Untuk konsentrasi 100 µg/ml dibuat dari larutan B (1 mg/ml). Dan konsentrasi 10 µg/ml dibuat dari larutan C (0.1 mg/ml).

1. Penyiapan larva *Artemia salina* Leach
2. Penetasan Telur Artemia salina Leach

 Satu wadah dibagi menjadi dua bagian, yaitu ruang terang dan ruang gelap. Kedua bagian tersebut dibatasi dengan sterofoam. Pada bawah sterofoam dilubangi sebagai tempat keluarnya telur yang telah menetas. Kemudian tambahkan air laut buatan (dua sendok teh garam dalam 1 liter air) ke dalam wadah hingga kedua lubang pada sterofoam terendam. Masukan 1 g telur artemia kedalam Salah satu ruang dalam wadah tersebut, dan hidupkan pompa udara kemudian ditutup dengan aluminium foil dan lakban. Sedangan di ruangan sebelahnya diberi penerangan dengan cahaya lampu 40-60 watt untuk menghangatkan suhu dalam penetasan agar suhu penetasan 250C - 310C tetap terjaga dan merangsang proses penetasan. Telur udang yang terendam air laut buatan dibiarkan selama 2 x 24 jam sampai menetas menjadi benur (nauplius) yang matang dan siap digunakan dalam percobaan. Telur akan menetas dalam waktu 18-48 jam dan akan bergerak secara alamiah menuju daerah terang sehingga larva udang terpisahkan dari bagian telur atau kulit telur. Larva yang sehat bersifat fototropik dan siap dijadikan hewan uji setelah berumur 48 jam. Nauplius dipisahkan dari telurnya dengan dipipet ke dalam vial yang berisi air laut buatan.

1. Uji toksisitas BSLT

 Pipet 10 ekor larva Artemia salina Leach berumur 48 jam dan masih bergerak aktif dipindahkan ke dalam cawan petri. Untuk memudahkan pengamatan dan perhitungan larva dapat menggunakan lup. Larutan A dimasukkan kedalam labu tentukur dan dilarutkan dengan DMSO sebanyak 1 ml dan tambahkan air laut sampai 10 ml, pindahkan kedalam vial. Larutan B dimasukan kedalam labu tentukur 10 ml dan tambahkan air laut sampai 10 ml, pindahkan kedalam vial. Larutan C dengan mengambil 1 ml dari larutan B, Kemudian masukan kedalam labu tentukur 10 ml dan tambahkan air laut sampai 10 ml kemudian pindahkan kedalam vial.

Buat konsentrasi 1000 ppm dengan cara memipet satu ml larutan dari larutan A, Masukan kedalam labu tentukur 10 ml. Pipet sepuluh ekor larva artemia salina dan masukan kedalam labu tentukur, cukupkan sampai garis tanda.

 Konsentrasi 100 ppm dengan cara memipet satu ml larutan dari larutan B, Masukan kedalam labu tentukur 10 ml, tambahkan air laut buatan, Pipet sepuluh ekor larva artemia salina dan masukan kedalam labu tentukur, cukupkan sampai garis tanda. Konsentrasi 10 ppm dengan cara memipet satu ml larutan dari larutan C, Masukan kedalam labu tentukur 10 ml, tambahkan air laut pipet sepuluh ekor larva A*rtemia salina* dan masukan kedalam labu tentukur, cukupkan sampai garis tanda. Lakukan enam kali replikasi untuk setiap konsentrasi tertentu sampel dan kontrol. Biarkan di udara terbuka selama 24 jam. Setelah 24 jam, kemudian dihitung jumlah larva yang masih hidup pada masing-masing vial. Kriteria standar untuk mengukur kematian larva udang yaitu apabila larva udang tidak menunjukkan pergerakan selama 30 detik pengamatan.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Hasil pengujian toksisitas pada larva *Artemia saline* pada konsentrasi 10 ppm, 100 ppm dan 1000 ppm sebruk kulit batang Cepcepan dapat dilihat pada tabel 1. Berdasarkan tabel 1, jumlah kematian larva terbanyak terdapat konsentrasi 1000 ppm. Hal ini sesuai dengan teori, bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak semakin banyak jumlah larva yang mati. Selain itu dari persentase kematian larva tersebut dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak menghasilkan jumlah kematian larva yang semakin tinggi pula.

**Tabel 1. Hasi Uji Toksisitas pada 10 ekor larva *artemia salina***

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Replikasi** | **Jumlah Kematian Larva** | **K(-)** |
| **Konsentrasi** |
| 10 ppm | 100 ppm | 1000 ppm |
| **1** | 1 | 6 | 8 | 0 |
| **2** | 1 | 5 | 8 | 0 |
| **3** | 2 | 5 | 7 | 0 |
| **4** | 2 | 6 | 7 | 0 |
| **5** | 1 | 6 | 7 | 0 |
| **6** | 2 | 6 | 8 | 0 |
| **Total Kematian** | 9 | 34 | 45 | 0 |
| **Rata- Rata** | 1,5 | 5,7 | 7,5 | 0 |
| **Persentase****Kematian** | 15% | 57% | 75% | 0 |

Keterangan: K(-) = Kontrol negatif = air laut

 Sedangkan untuk mendapatkan nilai LC50 dilakukan dengan menggunakan analisa probit dengan konsentrasi 10 ppm (log konsentrasi 1) , 100 ppm (log konsentrasi 2) dan 1000 ppm (log konsentrasi 3) sebagai nilai x. Diperoleh grafik perbandingan regresi linier yang dapat dilihat pada gambar 1.

 Dari grafik 1 didapatkan persamaan garis lurus y = 1,22x + 2,74.

5 = 1,22x + 2,74

5 – 2,74 = 1,22 x

x = 1.8525

LC50 = antilog x = antilog 1,8525 = 71,20328 ppm



**Gambar 1. Grafik Regresi Linier Konsentrasi Ekstrak etanol Kulit Batang Cecepan Terhadap Nilai Probit**

 Berdasarkan uji toksisitas etanol kulit batang cepcepan (*Castanopsis costata*) didapatkan hasil LC50 sebesar 71,20328 ppm. *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) adalah salah satu metode untukmenentukan sifat toksik suatu senyawa atau ekstrak secara akut dengan menggunakan hewan coba *Artemia salina.* Tujuan dari penggunaan metode ini adalah sebagai uji pendahuluan yang dapat mendukung penemuan senyawa-senyawa antikanker [(Mudi, 2009)](http://www.blogger.com/blogger.g?blogID=8397486723151146591#_ENREF_26). Toksisitas merupakan indikator yang sangat berguna dalam kaitannya dengan aktifitas biologi. Toksisitas memberikan arahan yang penting terhadap adanya senyawa aktif yaitu triterpenoid secara farmakologi dan senyawa antitumor /antikanker. telah diuji meliputi: antimikroba, antiviral, antitumor, antihipertensi, stimulan pertumbuhan, zat neurotoksik, dan lain-lain (Pringgenies, 2013). Menurut Meyer (1982) Suatu senyawa dinyatakan mempunyai potensi toksisitas jika mempunyai nilai LC50 kurang dari 1000 ppm. Hasil penelitiian menunjugkan nilai LC50 yang diperoleh sebesar 71,20328 ppm, sehingga dapat dikatakan ekstrak etanol kulit batang cepcepan (*Castanopsis costata* BL) pada percobaan ini memiliki potensi toksisitas menurut metode BSLT.

**KESIMPULAN**

Hasil uji toksistas dengan metode BSLT diperoleh persentase kematian larva artemia 10 ppm: 15%, 100 ppm : 57%, 1000 ppm: 75% dan nilai LC50: 71,20328 ppm dengan menggunakan analisis probit sehingga diklasifikasikan sebagai toksik.Ekstrak etanol kulit batang cepcepan memiliki potensi Toksisitas terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan menggunkan metode *Brine Shrimp Lethality test* (BSLT).

**UCAPAN TERIMAKASIH**

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Medan atas bantuan fasilitas Laboratorium penelitian yang diberikan dan Direktorat Poltekkes Kemenkes Medan.

**DAFTAR PUSTAKA**

Anindita, 2009, Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Kemangi, (Ocimum Sanctum Linn.) Terhadap Larva Artemia Salina Leach dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT), Skripsi Tidak Diterbitkan, Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.

Depkes RI, 2000, Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat, Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta: 9-11, 13-17.

Meyer, B.N., dkk., 1982, Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents, Planta Medica 45: 32-33.

Mudi, S. Y., & Salisu, A., 2009, *Sutudies on Brine Shrimp Lethalty and Activity of* *stem Bark Extract ofAcacia Senegal I*, On Respiratory Tract PathogenicBacteria. Int. J. Biomed. & Hlth. Sci Vol, 5(3).

Mumpuni, 2004, Inventarisasi Tumbuhan Obat di Kawasan Hutan Tangkahan Taman Nasional Gunung Leuser Kabupaten Langkat. Skripsi Jurusan FMIPA Universitas Sumatera Utara Medan.

Pringginies, dkk, 2013, *Karakterisasi Tinta Cumi- cumi (Sepiotheuthis lessoniana) dan Toksisitasnya*, Semarang: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro. Hal. 250-251.

WHO, 2000, General Guidelines for Methodologies and Evaluation of Traditional Medicine. Geneva: 28 – 30.