

UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK KULIT BATANG SELUTUI PUKA (*Tabernaemontana macrocarpa* Jack.) MENGGUNAKAN METODE BRINE SHRIMP LETHALITY TEST

Ni Putu Dyah Claudia Sari¹, Fitri Handayani^{2*}, Nurul Fatimah³

^{1,2,3}Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Samarinda

e-mail: sausanrukan@yahoo.co.id

ABSTRAK

Selutui puka adalah salah satu tumbuhan yang secara empiris oleh masyarakat suku Dayak di Desa Karang, Kecamatan Mook Manar Bulant, Kabupaten Kutai Barat Provinsi Kalimantan Timur digunakan sebagai obat kanker pada bagian kulit batang. Tujuan penelitian untuk mengetahui sifat toksik dan nilai LC_{50} ekstrak n-heksana, etil asetat dan etanol kulit batang selutui puka (*Tabernaemontana macrocarpa* Jack.) terhadap larva *Artemia salina* Leach. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan tahapan penelitian yaitu pengambilan sampel, determinasi tumbuhan, pembuatan simplisia, pembuatan ekstrak n-heksana, etil asetat dan etanol, skrining fitokimia, penetasan telur larva *Artemia salina* Leach dan uji toksisitas akut ekstrak n-heksana, etil asetat dan etanol terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan masing-masing konsentrasi 50 ppm, 100 ppm dan 200 ppm. Diperoleh ekstrak kental n-heksana sebanyak 4,34 g (rendemen 2,17%), ekstrak etil asetat sebanyak 2,70 g (rendemen 1,35%) dan ekstrak etanol sebanyak 7,05 g (rendemen 3,53%). Hasil skrining fitokimia kulit batang selutui puka ekstrak n-heksana mengandung senyawa alkaloid dan triterpenoid. Ekstrak etil asetat mengandung senyawa flavonoid dan triterpenoid. Ekstrak etanol mengandung senyawa alkaloid, triterpenoid, flavonoid, tanin, saponin, dan triterpenoid. Nilai LC_{50} ekstrak n-heksana 241,617 ppm (sangat toksik), ekstrak etil asetat 140,955 ppm (sangat toksik) dan ekstrak etanol 103,618 ppm (sangat toksik). Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak n-heksana, etil asetat dan etanol kulit batang selutui puka bersifat sangat toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach.

Kata kunci: Kulit Batang, *Tabernaemontana macrocarpa* Jack, *Artemia salina* Leach, Toksisitas

ABSTRACT

Selutui puka is one of the wild plants empirically by the Dayak tribe community in Karang Village, Mook Manar Bulant District, West Kutai Regency, East Kalimantan Province which is used as a cancer drug on the bark of the trunk. The purpose of the study was to determine the toxic properties and LC_{50} value of n-hexane extract, ethyl acetate and ethanol of the bark of the trunk of a puka (*Tabernaemontana macrocarpa* Jack.) against the larvae of *Artemia salina* Leach. This research is an experimental study with research stages namely sampling, plant determination, making simplicia, making n-hexane extracts, ethyl acetate and ethanol, phytochemical screening, hatching eggs of *Artemia salina* Leach larvae and acute toxicity tests of n-hexane extracts, ethyl acetate and ethanol against *Artemia salina* Leach larvae with concentrations of 50 ppm, 100 ppm and 200 ppm respectively. Obtained n-hexane extract of 4.34 g (amendment of 2.17%),

ethyl acetate extract of 2.70 g (amendment of 1.35%) and ethanol extract of 7.05 g (amendment of 3.53%). The results of phytochemical screening of the bark of selutui puka n-hexane extract contain alkaloid and triterpenoid compounds. Ethyl acetate extract contains flavonoid and triterpenoid compounds. Ethanol extract contains alkaloids, triterpenoids, flavonoids, tanins, saponins, and triterpenoids. LC50 values of n-hexane extract 241.617 ppm (highly toxic), ethyl acetate extract 140.955 ppm (highly toxic) and ethanol extract 103.618 ppm (highly toxic). This study shows that n-hexane, ethyl acetate and ethanol extracts of Selutui puka stem bark are highly toxic to Artemia salina Leach larvae.

Keywords: Stem Bark, Tabernaemontana macrocarpa Jack, Artemia salina Leach, Toxicity

PENDAHULUAN

Selutui puka adalah tumbuhan liar di kawasan hutan Kalimantan dan pertumbuhannya tidak terganggu. Tumbuhan selutui puka (*Tabernaemontana macrocarpa* Jack.) adalah salah satu tumbuhan obat tradisional yang digunakan sebagai obat berbagai macam penyakit seperti sakit gigi, herpes dan kudis (Pratiwi *et al.*, 2014) serta digunakan sebagai racun yang diletakan pada ujung panah (Muhamad *et al.*, 2017). Getah selutui puka digunakan untuk mengobati demam, tipes, anemia, kejang, penyakit kuning, hipertensi (Ngaisona, 2016) serta untuk pengobatan luar seperti penyakit kudis dan kulit melepuh (Handayani *et al.*, 2019a). Air rebusan daun dan buah selutui puka digunakan sebagai obat sakit gigi, tumor dan kanker (Handayani *et al.*, 2019b). Pada kulit batang selutui puka diduga memiliki efek toksik berdasarkan informasi secara empiris masyarakat suku Dayak di Desa Karangan, Kecamatan Mook Manar Bulant, Kabupaten Kutai Barat Provinsi Kalimantan Timur mempercayai tumbuhan selutui puka khususnya pada bagian batangnya digunakan sebagai obat kanker, hal ini sesuai dengan penelitian Pratiwi *et al* (2014) melakukan uji toksisitas batang selutui puka berdasarkan kepolaran dengan nilai toksisitas LC₅₀ ekstrak n-heksana, etil asetat dan etanol secara berurutan sebesar 567,886 ppm (toksik), 119,339 ppm (sangat toksik) dan 120,516 ppm (sangat toksik), sehingga pada kulit batang berpotensi juga sebagai antikanker.

Simplisia kulit batang selutui puka mengandung alkaloid, flavonoid, saponin dan steroid (Handayani *et al.*, 2022). Ekstrak kulit batang selutui puka pada fraksi n-heksana dan etil asetat mengandung terpenoid, steroid serta fraksi metanol mengandung alkaloid, saponin, dan terpenoid (Muhammad *et al.*, 2017). Alkaloid, flavonoid dan triterpenopid adalah senyawa sebagai antikanker yaitu

dengan cara menghambat mekanisme pembelahan serta pengaktifan jalur apoptosis sel kanker (Gusungi *et al.*, 2020).

Penarikan senyawa aktif dari bahan alam dipengaruhi beberapa faktor seperti metode ekstraksi dan pemilihan pelarut (Hasnaeni *et al.*, 2019). Metode ekstraksi cara dingin seperti maserasi bertingkat yang dilakukan berdasarkan tingkat kepolaran pelarut yang terkandung dalam ekstrak, dimana senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar dan senyawa non polar akan larut dalam pelarut non polar (Arifianti *et al.*, 2014). Bahan aktif akan terlarut oleh zat pelarut yang sesuai dengan kepolarannya. Pelarut yang bersifat polar contohnya etanol, metanol, aseton dan air. Pelarut semi polar diantaranya etil asetat dan pelarut non polar n-heksana (Zuraida *et al.*, 2017).

Tujuan penelitian untuk mengetahui sifat toksik dan nilai LC₅₀ ekstrak n-heksana, etil asetat dan etanol kulit batang selutui puka (*Tabernaemontana macrocarpa* Jack.) terhadap larva *Artemia salina* Leach.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi : aerator (Kiyosaki®), batang pengaduk, blender (Miyako®), *aluminium foil*, bohlam lampu 40 watt (Phillips®), botol plastik, cawan petri, cawan porselin, corong, gelas kimia (Pyrex®), gelas ukur (Pyrex®), kaca arloji, kaca pembesar, labu ukur, *magnetic stirrer*, mikropipet (Vitalab®), penangas air, timbangan (Ohaus®) pengayak mesh 80, penjepit kayu, pH meter, pipet tetes, pisau *stainless*, rak tabung, spatel, tabung reaksi, timbangan analitik, toples kaca, vial, vacuum dan *colony counter*.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi : kulit batang selutui puka, etanol 70%, etil asetat, n-heksana, air laut, aquadest, aluminium foil, amil alkohol, dan asam asetat anhidrat, dimetil sulfoksida (DMSO), asam asetat pekat, hidroklorida 2N, hidroklorida pekat, kertas saring, kloroform, natrium bikarbonat, pereaksi bouchardat, pereaksi dragendorf, pereaksi meyer, serbuk Mg dan FeCl₃ 1%. Objek makhluk hidup yang digunakan adalah larva *Artemia salina* Leach yang berumur 24 jam.

Determinasi Tumbuhan

Determinasi tumbuhan dilakukan di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Mulawarman.

Pembuatan Simplisia

Kulit batang diambil dari tumbuhan selutui puka di Desa Karang, Kecamatan Mook Manar Bulant, Kabupaten Kutai Barat, Kalimantan Timur. Batang selutui puka dengan diameter kurang lebih 2-5 cm dan dipotong dengan ukuran panjang 10 cm. Batang selutui puka yang telah dikumpulkan dibersihkan dari daun dan ranting halus. Batang yang sudah dipotong dicuci dengan air mengalir, disikat kulit batang hingga bersih. Perajangan pada batang dengan cara dikerat kulit batang menggunakan pisau *stainless*, pada arah membujur di kedua sisinya yang berhadapan. Kulit batang yang telah terlepas segera dikeringkan di bawah sinar matahari langsung. Kulit batang yang telah mengering dibuat menjadi sediaan serbuk dengan cara dihaluskan menggunakan blender hingga diperoleh serbuk halus, kemudian diayak dengan ayakan mesh 80.

Pembuatan Ekstrak

Metode ekstraksi pada penelitian ini adalah metode maserasi bertingkat menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat dan etanol. Maserasi dilakukan secara bertingkat berdasarkan kepolarannya dengan menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat dan etanol secara berturut-turut. Serbuk simplisia ditimbang sebanyak 200 g, kemudian diekstraksi dengan cara maserasi bertingkat dengan pelarut pertama n-heksana dimasukkan ke dalam erlenmayer sebanyak 2 L selama 3 x 24 jam sambil sesekali dilakukan pengadukan menggunakan *magnetic stirrer*. Ampas dan filtrat dipisahkan menggunakan kertas saring dan vacum. Ampas diangin-anginkan terlebih dahulu sebelum dimaserasi kembali dengan pelarut etil asetat sebanyak 2 L sambil sesekali dilakukan pengadukan kembali menggunakan *magnetic stirrer* selama 3 x 24 jam dan dilakukan pemisahan kembali ampas dan filtrat. Perlakuan yang sama pada pelarut etanol. dihitung rendemen yang diperoleh dengan rumus:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak yang diperoleh (gram)}}{\text{bobot simplisia awal (gram)}} \times 100\%$$

Skrining fitokimia

Uji Alkaloid

Ditimbang 0,5 g masing-masing ekstrak dengan pelarut yang sudah ditentukan, ditambahkan 5 mL asam klorida 10% lalu dikocok kemudian ditambahkan 5 mL amoniak 10%. Larutan ekstrak dan preaksi diekstraksi dengan kloroform kemudian diuapkan atau ditangas di penasngas. Hasil fitratnya ditambahkan 1,5 mL asam klorida 10%, dibagi ke dalam tiga tabung setiap ekstrak. Tabung pertama ditambahkan 2-3 tetes preaksi mayer, jika terbentuk endapan putih kekuningan menunjukkan adanya alkaloid. Tabung kedua ditambahkan 2-3 tetes preaksi deagendrof, jika terbentuk endapan merah bata menunjukkan adanya alkaloid. Tabung kedua ditambahkan 2-3 tetes preaksi bouchardat, jika terbentuk endapan coklat sampai menunjukkan adanya alkaloid. Sampel dinyatakan positif mengandung alkaloid apabila minimal dua dari tiga uji di atas menunjukkan hasil yang positif.

Uji Flavonoid

Sebanyak 0,5 g ekstrak ditambahkan 10 mL air, didihkan dan disaring kemudian 3 mL fitrat ditambahkan serbuk Mg, 1 mL HCl pekat, 2 mL alkohol lalu dikocok dan amati. Bila warna kuning, jingga atau merah terbentuk pada lapisan amil alkohol hal ini, menunjukkan bahwa terdapat senyawa flavonoid pada ekstrak tersebut.

Uji Saponin

Sebanyak 0,5 g ekstrak ditambahkan 10 mL air kemudian didihkan selama 5 menit lalu disaring, diamil 3 mL fitrat dikocok vertikal selama 10 menit, diamkan 10 menit. Diamati, bila terbentuk busa, ditambahkan 1 tetes asam klorida 2 N, bila busa masih terbentuk permanen hal ini, menunjukkan bahwa terdapat senyawa saponin pada ekstrak tersebut.

Uji Tanin

Sebanyak 0,5 g ekstrak ditambahkan 10 mL air kemudian didihkan selama 5 menit lalu disaring, diamil 3 mL fitrat ditambahkan beberapa tetes larutan besi (II) klorida 1%. Diamati, bila warna biru atau hijau kehitaman terbentuk hal ini, menunjukkan terdapat senyawa tanin.

Uji Steroid dan Terpenoid

Sebanyak 0,5 g ekstrak kulit batang selutui puka diekstraksi dengan 10 mL eter, kemudian 0,5 mL ekstrak ditambahkan pelarut Liebermann-Buchard. Warna biru atau hijau menunjukkan adanya steroid dan warna merah atau ungu menunjukkan adanya terpenoid (Pratiwi *et al.*, 2014).

Penetasan Telur Larva *Artemia salina* Leach

Telur *Artemia salina* Leach sebanyak 50 - 150 mg ditetaskan dalam wadah berisi 500 mL air laut. Telur akan menetas dalam kisaran waktu antara 18 - 48 jam dan akan bergerak secara alamiah menuju daerah terang. Telur larva menetas menjadi naupli yang matang dan siap digunakan untuk percobaan berumur 24-36 jam setelah menetas (Handayani *et al.*, 2019b).

Uji Toksisitas Akut

Ekstrak n-heksana, etil asetat dan etanol kulit batang selutui puka dilarutkan dengan DMSO untuk dibuat variasi konsentrasi dalam vial yaitu 50 ppm, 100 ppm, dan 200 ppm. Masing-masing vial ditambahkan 10 mL air laut, kemudian dimasukkan 10 ekor larva *Artemia salina* Leach ke dalam vial. Setiap konsentrasi dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Pembuatan kontrol dilakukan dengan 10 ekor larva *Artemia salina* Leach dalam air laut tanpa pemberian ekstrak. Diamati dan dihitung jumlah larva *Artemia salina* Leach setelah 24 jam. Dianalisa probit untuk menentukan LC₅₀.

Analisis Data

Analisis data dilakukan untuk melihat pengaruh masing-masing ekstrak kulit batang selutui puka terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan menggunakan analisis probit. Perhitungan dilakukan dengan membandingkan antara larva mati terhadap jumlah keseluruhan, sehingga diperoleh persen kematian dilihat dalam nilai tabel probit. Dari data tersebut akan diketahui nilai probit dimasukkan ke dalam persamaan regresi sehingga diperoleh nilai LC₅₀ dengan menggunakan metode analisis probit (Sampoerna *et al.*, 2022).

Analisa data hasil penelitian uji toksisitas diolah dan disajikan dalam bentuk tabel dan kurva. Data dari uji toksisitas ini dilihat dari tabel probit dan dianalisis menggunakan *Microsoft Office Excel* untuk mencari regresi linier

dengan menghubungkan antara nilai probit dengan log konsentrasi (Fadli *et al.*, 2019).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil determinasi menunjukkan bahwa tumbuhan selutui puka merupakan tumbuhan dengan spesies *Tabernaemontana macrocarpa* Jack., famili Apocynaceae. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan tiga pelarut dan diperoleh ekstrak n-heksana sebagai pelarut non polar sebanyak 4,34 g (rendemen 2,17%), ekstrak etil asetat sebagai pelarut semi polar sebanyak 2,7 g (rendemen 1,35%) dan ekstrak etanol sebagai pelarut polar sebanyak 7,05 g (rendemen 3,53%).

Hasil skrining fitokimia dapat dilihat pada tabel 1 di bawah ini :

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Kulit Batang Selutui Puka

Metabolit Sekunder	Ekstrak		
	n-heksana	Etil asetat	Etanol 70%
Alkaloid	+	-	+
Flavonoid	-	+	+
Saponin	-	-	+
Tanin	-	-	+
Steroid	-	-	-
Terpenoid	+	+	+

Keterangan :

+ : mengandung metabolit sekunder

- : tidak mengandung metabolit sekunder

Tabel 1 menunjukkan uji senyawa terpenoid menghasilkan positif pada ekstrak etanol, n-heksana dan etil asetat. Penelitian Rahmawati, *et al* (2021) menyatakan aktivitas sitotoksik senyawa terpenoid dalam ekstrak metanol menghasilkan sitotoksik kuat, dimana dalam pelarut polar metanol dapat menarik senyawa terpenoid. Hal ini sesuai dengan hasil metabolit sekunder yang menyatakan terpenoid positif terhadap seluruh ekstrak pelarut baik non polar, semi polar dan polar. Terpenoid menunjukkan aktifitas farmakologi yang signifikan seperti antiviral, antibakteri, antiinflamasi yang sebagai inhibitor sintesis kolesterol dan juga sebagai antikanker (Balafif *et al*, 2013).

Ekstrak n-heksana dan etanol kulit batang selutei puka positif mengandung alkaloid, namun negatif pada ekstrak etil asetat. Riskiana dan Vifta (2021) melakukan penelitian tentang pengaruh pelarut terhadap aktivitas antioksidan alga coklat genus *Sarssum* pada metabolit sekunder juga menghasilkan positif untuk ekstrak n-heksana dan etanol, tetapi negatif untuk ekstrak etil asetat. Alkaloid adalah senyawa metabolit sekunder terbanyak, dimana dalam pencariannya harus dilakukan pemisahan campuran dari senyawa lainnya karena alkaloid ditemukan dalam kadar yang sangat kecil (Ningrum *et al.*, 2016), sehingga dalam ekstrak etil asetat menghasilkan lebih sedikit alkaloid yang dapat larut dalam pelarut non polar dan polar yang menyebabkan tidak terdeteksi. Fungsi alkaloid pada tumbuhan yaitu untuk melindungi diri dari serangga, herbivora, pengatur tumbuhan, senyawa yang dapat menyuplai nitrogen dan unsur yang dibutuhkan tumbuhan. Senyawa alkaloid berkhasiat sebagai anti diare, anti diabetes, anti mikroba dan anti malaria serta termasuk salah satu senyawa sebagai antikanker (Gusungin *et al.*, 2020).

Pengujian senyawa flavonoid pada ekstrak etil asetat dan etanol menghasilkan nilai positif. Flavonoid terdapat pada tumbuhan dalam bentuk glikosida yang berkaitan dengan suatu gula sehingga bersifat polar, karena gula dapat larut dalam pelarut polar. Kemampuan dalam melarutkan senyawa flavonoid berbeda-beda, tergantung dari jumlah dan posisi gugus hidroksil tiap jenis flavonoid sehingga hal tersebut akan mempengaruhi kelarutan flavonoid dalam pelarut. Sesuai dalam pernyataan Anggia dan Lukmayani (2022) menyatakan pelarut yang biasa digunakan untuk ekstraksi flavonoid diantaranya adalah etil asetat dan etanol. Flavonoid memiliki berbagai efek bioaktifitas termasuk anti virus, anti inflamasi (Qiunghu *et al.*, 2016), anti penuaan dan antioksidan (Vanessa *et al.*, 2014). Selain antioksidan, flavonoid juga berpotensi sebagai antikanker yang disebabkan karena adanya kandungan fenolik (Dewi *et al.*, 2018).

Uji senyawa saponin memberikan hasil positif pada ekstrak etanol. Saponin merupakan metabolit sekunder yang mengandung gugus gula terutama glukosa sehingga saponin bersifat polar dan dapat larut dalam pelarut etanol.

Saponin berkhasiat sebagai antioksidan, anti inflamasi, anti bakteri, dan anti jamur sehingga bisa digunakan untuk proses penyembuhan luka (Novitasari dan Dinda, 2016). Saponin bersifat racun karena dapat menyebabkan hemolysis darah, tetapi saponin memiliki efek terapeutik yang memiliki efek pada jantung sehingga disebut glikosida jantung dan bersifat hipolipidemik yang berfungsi terhadap kanker (Hanani, 2014).

Uji senyawa golongan tanin memberikan hasil yang positif pada ekstrak etanol. Sesuai dalam penelitian Pandey dan Tripathi (2014) yang menyatakan etanol dapat larut dalam air, etanol, dan metanol dimana tanin merupakan senyawa fenol yang memiliki berat molekul besar dan mengandung asam tanat yang memiliki efek sebagai antibakteri, antienzimatis, antioksidan dan antimutagen (Hidjrawan, 2018) serta mengandung senyawa fenolik yang berkaitan dengan adanya aktivitas antikanker (Sasongko *et al.*, 2017).

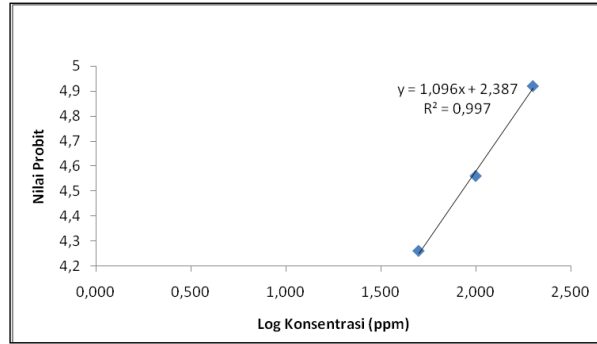
Hewan uji yang digunakan adalah larva *Artemia salina* Leach. Telur larva ditetaskan 1-2 hari sebelum dilakukan pengujian toksisitas. Sebelum dilakukan penetasan terlebih dahulu telur direndam dalam air suling beberapa waktu hingga terjadi pemisahan telur yang mengendap dan telur yang mengapung. Hal ini disebut tahap hidrasi dimana terjadi penyerapan air oleh sebab itu telur yang diawetkan dalam bentuk kering tersebut akan menjadi bulat dan aktif bermetabolisme, sehingga telur mengendap yang digunakan sebagai hewan uji yang diperkirakan akan menetas. Penetasan dilakukan dalam wadah plastik dengan cara merendam telur udang ke dalam air laut secukupnya dengan diberi penerangan cahaya lampu pijar 40 watt agar suhu penetasan 25–30°C tetap terjaga dan untuk merangsang proses penetasan, digunakan aerator untuk menjaga kadar oksigen yang dibutuhkan. Pengujian dilakukan pada hewan uji larva *Artemia salina* Leach setelah berumur 24-48 jam (Handayani *et al.*, 2019b), karena pada fase awal pertumbuhan *Artemia salina* Leach sangat rentan terhadap toksin dan sebaliknya pengujian dilakukan pada *Artemia salina* Leach dengan umur lebih dari 48 jam dikhawatirkan kematian larva bukan disebabkan oleh ketoksikan ekstrak melainkan disebabkan oleh terbatasnya persediaan makanan. Hasil uji toksisitas akut dapat dilihat pada tabel 2 berikut :

Tabel 2. Hasil Uji Toksisitas Terhadap Larva *Artemia salina* Leach

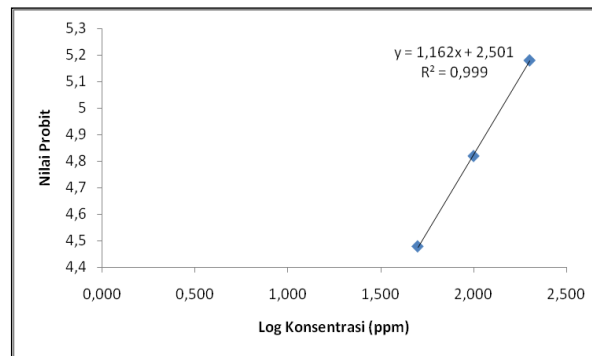
Ekstrak	Konsentrasi (ppm)	Rata-rata Kematian (%)	Nilai Probit	Nilai LC ₅₀ (ppm)
n-heksana	0	0	0	241,617 (Sangat toksik)
	50	23	4,26	
	100	33	4,56	
	200	47	4,92	
Etil asetat	0	0	0	140,955 (Sangat toksik)
	50	30	4,48	
	100	43	4,82	
	200	57	5,18	
Etanol 70%	0	0	0	103,618 (Sangat toksik)
	50	30	4,48	
	100	47	4,92	
	200	70	5,52	

Tabel 2 menunjukkan bahwa konsentrasi yang bervariasi membuktikan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan maka semakin tinggi jumlah kematian larva. Nilai LC₅₀ yang berbeda pada setiap ekstrak dapat disebabkan oleh perbedaan kandungan metabolit sekundernya. Kandungan metabolit sekunder dapat mempengaruhi aktivitas farmakologis dari tumbuhan. Faktor ekstraksi dan pelarut berbeda juga mempengaruhi komponen aktif yang tertarik sehingga dapat menyebabkan bioaktifnya yang berbeda (Azmir *et al.*, 2013).

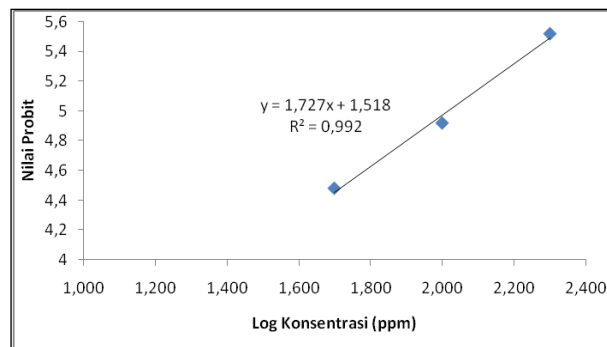
Nilai rata-rata persentasi kematian larva yang diperoleh selanjutnya dianalisa menjadi nilai probit dengan menggunakan tabel probit kemudian dibentuk kurva hubungan antara log konsentrasi (x) dan nilai probit (y) sehingga diperoleh persamaan garis lurus untuk membentuk nilai LC₅₀ menggunakan regresi linier sederhana dengan program *Microsoft Excel*. Gambar berikut menunjukkan hasil dari hubungan analisis regresi log konsentrasi dengan probit % kematian ekstrak n-heksana, etil asetat dan etanol kulit batang selutui puka :



Gambar 1. Grafik Regresi Linier Ekstrak n-heksana Kulit Batang Selutui Puka



Gambar 2. Grafik Regresi Linier Ekstrak Etil Asetat Kulit Batang Selutui Puka



Gambar 3. Grafik Regresi Linier Ekstrak Etanol 70% Kulit Batang Selutui Puka

Gambar 1 menunjukkan dari regresi linier ekstrak n-heksana diperoleh nilai $y = 1,0962x + 2,3875$ dengan $R^2 = 0,9973$ yang kemudian dimasukkan kedalam persamaan garis $y = bx + a$, dimana diketahui $a = 2,3875$ dan $b = 1,0962$ kemudian dimasukkan nilai $y = 5$, nilai 5 didapat dari tabel probit yang mewakili 50% kematian hewan uji. Gambar 2 menunjukkan ekstrak etil asetat dari regresi linier diperoleh nilai $y = 1,1627x + 2,5013$ dengan $R^2 = 0,9997$ yang kemudian dimasukkan kedalam persamaan garis $y = bx + a$, dimana diketahui a

= 2,5013 dan $b = 1,1627x$ kemudian dimasukkan nilai $y = 5$. Gambar 3 menunjukkan regresi linier pada ekstrak etanol diperoleh nilai $y = 1,7274x + 1,5185$ dengan $R^2 = 0,9922$ yang kemudian dimasukkan ke dalam persamaan garis $y = bx + a$, dimana diketahui $a = 1,5185$ dan $b = 1,7274$ dan dimasukkan kembali nilai $y = 5$.

Berdasarkan nilai probit diperoleh nilai LC_{50} ekstrak n-heksana, etil asetat dan etanol secara berturut-urut sebesar 241,617 ppm, 140,617 ppm, dan 103,618 ppm. Ekstrak senyawa memiliki tingkat nilai toksisitas, diantaranya LC_{50} 0-250 ppm (sangat toksik), 250-500 ppm (toksik), 500-750 ppm (sedang) dan 750-1000 ppm (tidak toksik). Semakin kecil nilai LC_{50} maka semakin potensial tumbuhan tersebut digunakan dalam pengobatan kanker (Harmita dan Radji, 2008). Hal ini menunjukkan pada penelitian ini, seluruh ekstrak uji masuk kedalam kategori sangat toksik. Urutan ketoksikan dalam penelitian ini dimulai dari ekstrak etanol kemudian ekstrak etil asetat dan terakhir ekstrak n-heksana.

Nilai LC_{50} yang berbeda pada setiap ekstrak dapat disebabkan oleh perbedaan kandungan metabolit sekundernya. Kandungan metabolit sekunder dapat mempengaruhi aktivitas farmakologis dari tumbuhan tersebut. Faktor ekstraksi dan pelarut yang berbeda juga mempengaruhi komponen aktif yang tertarik sehingga dapat menyebabkan bioaktivitas yang (Azmir *et al.*, 2013).

Alkaloid dan flavonoid diketahui bersifat toksik karena dapat bekerja sebagai racun pernapasan bahkan senyawa alkaloid dapat menyebabkan keracunan perut atau *stomach poisoning* yang menghambat daya makan pada organisme, sehingga mengalami kekurangan nutrisi dan pada akhirnya mati. Demikian dengan senyawa saponin dan tanin yang juga mengganggu proses pencernaan. Saponin mengakibatkan penurunan aktivitas enzim pencernaan dan penyerapan makanan sehingga dapat menghambat perkembangan, mengganggu pertumbuhan dan menghambat reproduksi. Tanin menghalangi proses mencerna makanan dan juga menyebabkan gangguan penyerapan air pada organisme, sehingga dapat mematikan organisme (Harborne, 1987).

SIMPULAN

Ekstrak n-heksana, etil asetat dan etanol kulit batang selutui puka (*Tabernaemontana macrocarpa* Jack.) bersifat sangat toksik terhadap larva *Artemia Salina* Leach. Nilai LC₅₀ ekstrak n-heksana 241,617 ppm (sangat toksik), ekstrak etil asetat 140,955 ppm (sangat toksik) dan ekstrak etanol 103,618 ppm (sangat toksik).

DAFTAR PUSTAKA

- Anggia, F.L.A. & Lukmayani, Y., 2022. Studi Literatur Aktivitas Antidabetes Ekstrak Daun Kersen (*Muntingin calabura* L.). *Bandung Conference Series: Pharmacy* 2(2): 1-8
- Arifanti, L., Oktarina, R.D., & Kusumawati, I., 2014. Pengaruh Jenis Pelarut Pengekstraksi Terhadap Kadar Sinensetin Dalam Ekstrak Daun *Orthosiphon stamineus* Bent. *E-jurnal Planta Husada* 2(1): 1-4
- Azmir, J., Zaidul, I.S.M., Rahman, M.M., Sharif, K.M., Mohamed, A., Sahena F., Jahurul, M.H.A., Ghafoor, K., Norulaini, N.A.N. & Omar, A.K.M., 2013. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials, A review. *Journal of Food Engineering* 117(4): 426-436
- Balafif, R.A.R., Andayani, Y., & Gunawan, R., 2013. Analisis Senyawa Triterpenoid dari Hasi Fraksinasi Ekstrak Air Buah Buncis (*Phaseolus Vulgaris* Linn). *Chem Prog* 6(2): 56-61
- Dewi, S.R., Ulya, N. & Argon, B.D., 2018. Kandungan Flavonoid dan Aktifitas Antioksidan Ekstrak *Pleurotus ostreatus*. *Jurnal Rona Teknik Pertanian* 11(1): 1-10
- Fadli., Suhaimi. & Idris M., 2019. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium Polyanthum* (Wight) Walp) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Jurnal Medical Science* 4(1): 35-42
- Gusungin, D.E., Marisit, W., Hariyadi., & Potalangi, N.O., 2020. Studi Aktivitas Antioksidan dan Antikanker Payudara (MCF-7) Ekstrak Etanol Daun Benalu Langsung *Dendrophthoe pentandra*. *Jurnal Biofarmasetika Tropis* 3 (1): 166-175
- Hanani, E. 2014. *Analisis Fitokimia*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC
- Handayani, F., Anita, A., & Natalia, H., 2019a. Karakterisasi Skrining Fitokimia Simplisia Daun Selutui Puka (*Tabernaemontana macrocarpa* Jack.). *Jurnal Ibnu Sina* 4(1): 49-58
- Handayani, F., Sentat, T., & Rahim, A., 2019b. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Selutui Puka (*Tabernaemontana macrocarpa* Jack.) Pada Larva *Artemia Salina* Leach. *Jurnal Dunia Farmasi* 4(1): 1-7

- Handayani, F., Apriliana, A., & Arlanda, D., 2022. Karakterisasi Simplisia Kulit Batang Selitui Puka (*Tabernaemontana macrocarpa* Jack.). *Chemical Studies Journal* 5(2): 37-42
- Harborne, JB. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Bandung: ITB
- Harmita, dan Radji, M. 2008. *Analisis Hayati Edisi III*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC
- Hasnaeni., Wisdawati., & Usman, S., 2019. Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen dan Kadar Fenolik Ekstrak Tumbuhan Kayu Beta-Beta (*Lunasia amara Blanco*). *Jurnal Farmasi Galanika* 5(2): 175-182
- Hidjrawan, Y., 2018. Identifikasi Senyawa Tanin Pada Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa blimbi* L.). *Jurnal Optimalisasi* 4(2): 78-82
- Muhamad., Alimadin, A.H., & Rudiansyah. 2017. Isolasi Senyawa Alkaloid Ekstrak Metanol Kulit Batang Tumbuhan Peler Kambing (*Tabernaemontana macrocarpa* Jack.). *Jurnal Kimia Khatulistiwa* 6(3): 86-91
- Ngaissona, P., Loumpangou, N.C., Namkona, F.A. Koane, J.N., Tsiba, G. Syssa-Magale, JL & Ouamba, J.M., 2016. Phytochemical Screening And Evaluation Of The Antioxidant Activity Of The Polar Extracts *Picalima Nitida* Stapf. (*Apocynaceae*) Family. *J Of Pharmacognosy And Phytochemistry* 5(4): 198-204
- Ningrum, R., Elly, P. & Sukarsono. 2016. Identifikasi Senyawa Alkaloid Dari Batang Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa*) Sebagai Bahan Ajar Biologi Untuk SMA Kelas X. *Jurnal pendidikan biologi Indonesia* 2(3): 231-236
- Novitasari A.E., & Dinda Z.P., 2016. Isolasi dan Identifikasi Saponin Pada Ekstrak Daun Mahkota Dewa Dengan Ekstraksi Maserasi. *Jurnal Sains* 6(12): 11
- Panday, A., & Tripathi, S., 2014. Concept of Standardization, Extration and Pre Phytochemical Screening Strategis For Herbal Drug. *Journal of Pharmacogosity and Phtyochemistry* 2(5): 115-119
- Pratiwi,D.R., Bintang, M., & Simanjuntak, P., 2014. Lelutung Tongkak (*Tabernaemontana macrocarpa* Jack.) Sebagai Sumber Zat Bioaktif Antioksidan dan Antikanker. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Samarinda* 12(2): 267-272
- Qinghu, W., Jinmei, J., Nayintai, D., Narenchaoketu, H., Jingjing, H., & Baiyinmuqier, B., 2016. AntiInflammatory effects, nuclear magnetic

resonance identification and highperformance liquid chromatography isolation of the total flavonoids from *Artemisia frigida*. *Journal of Food And Drug Analysis* 24(2): 385-391

Rahmawati N., Rusnedy R. & Septian D., 2021. Aktivitas Sitotoksik Senyawa Terpenoid Dari Ekstrak Metanol Daun Akar Kaik-Kaik (*Uncaria cordata* (Lour.) Merr). *Pharmacoscript* 4(1): 87-97

Riskiana, N.P.Y.C., & Vifta, R.L., 2021. Kajian Pengaruh Pelarut Terhadap Aktivitas Antioksidan Alga Coklat Genus *Sargassum* dengan Metode DPPH. *Journal of Holistics and Health Sciences* 3(2): 201-213

Saomperna, M., dan Nasution M.P., 2022. Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Kulit Buah Pisang Kepok (*Musa Paradisiaca* L.) Dengan Metode BSLT. *Journal of Health and Medical science* 1(3): 203-21

Sasongko, A., Nugroho, R.W., & Setiawan, S.C., 2017. Penentuan Ekstrak Fenol Umbi Bawang Dayak Hasil ekstrak dengan Metode *Ultrasound Assisted Ektration* (UAE) dan *Ultrasonic-Micriwave Assisted Extration* (UMAE). *Jurnal Sains Terapan* 3(2): 42-47

Vanessa, M., Munhoza, R. L., José, R.P., Joao, A.C., Zequic, E., Leite, M., Gisely, C., Lopesa, J.P., & Melloa. 2014. Extraction Of Flavonoids From *Tagetes Patula* Process Optimization And Screening For Biological Activity. *Rev Bras Farmacogn* 24(1): 576-583

Zuraida., Sulistiyani., Sajuthi, D., & Suparto I.H., 2017. Fenol Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak Kulit Batang Pulau (*Alstonia scholaris* R.Br). *Jurnal Penelitian Hasil Hutan* 35(3): 211-219