

## UJI TOKSISITAS EKSTRAK ETANOL 96 % DAUN CINCAU HIJAU (*Cyclea barbata* Miers) TERHADAP *Artemia salina* Leach. DENGAN METODE Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

I Kadek Deni Prayoga<sup>1</sup>, Dyah Ratna Ayu Puspita Sari<sup>2</sup>, Ni Wayan Rika Kumara Dewi<sup>3</sup>

<sup>1,2</sup>Program Studi Diploma Farmasi, Institut Teknologi dan Kesehatan Bintang Persada, Denpasar, Bali

<sup>3</sup>Program Studi Sarjana Farmasi Klinis Komunitas, Institut Teknologi dan Kesehatan Bintang Persada, Denpasar, Bali

e-mail: ayupuspitadyah8@gmail.com<sup>2</sup>

Received : Februari, 2024

Accepted : Maret, 2024

Published : April, 2024

### Abstract

Medicinal plants are one of the efforts used to control disease. The benefits of medicinal plants have been passed down from generation to generation by our ancestors. One plant that has medicinal properties is green grass jelly (*Cyclea barbata* Miers). In this research, the extraction method used was maceration, with 96% ethanol solvent. The ethanol extract of green grass jelly leaves was screened for phytochemicals and tested for toxicity using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method. Toxicity tests were carried out at various concentrations of 100 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm and 1000 ppm. The results of the analysis of secondary metabolites contained in the ethanol extract of green grass jelly leaves are alkaloids, flavonoids, tannins and steroids. In the toxicity test, the highest average death percentage was obtained at the 1000 ppm extract concentration variation of 73.33%. From the probit and log concentration data, a linear regression equation  $y =$  was obtained with an LC 50 value of 558,25 ppm. This shows that the 96% ethanol extract of green grass jelly leaves (*Cyclea barbata* Miers) has toxic potential because the LC 50 value is in the range of 30-1000 ppm.

**Keywords:** Green grass jelly, toxicity test, Brine Shrimp Lethality Test, Lethal Concentration 50

### Abstrak

Tanaman obat merupakan salah satu upaya yang digunakan dalam penanggulangan penyakit. Khasiat tanaman obat sudah di wariskan turun-temurun oleh nenek moyang kita. Salah satu tanaman yang memiliki khasiat obat adalah cincau hijau (*Cyclea barbata* Miers). Pada penelitian ini metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi, dengan pelarut etanol 96%. Ekstrak etanol daun cincau hijau dilakukan skrining fitokimia dan uji toksisitas dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Uji toksisitas dilakukan pada variasi konsentrasi 100 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm, dan 1000 ppm. Hasil analisis metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol daun cincau hijau adalah alkaloid, flavonoid, tanin, dan steroid. Uji toksisitas diperoleh persentase kematian rata-rata tertinggi pada variasi konsentrasi ekstrak 1000 ppm sebesar 73,33%. Dari data probit dan log konsentrasi diperoleh persamaan regresi linear  $y = 1,1368x + 1,8744$  dengan nilai LC 50 sebesar 558,25 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% daun cincau hijau (*Cyclea barbata* Miers) memiliki potensi toksik karena nilai LC 50 berada pada range 30-1000 ppm.

**Kata Kunci:** Daun cincau hijau, uji toksisitas, BSLT, LC50

## 1. PENDAHULUAN

Masyarakat Indonesia telah lama mengenal dan menggunakan tanaman obat sebagai salah satu upaya penanggulangan suatu penyakit. Pengetahuan tentang tanaman yang berkhasiat sebagai obat diperoleh dari pengalaman dan keterampilan nenek moyang yang telah diwariskan secara turun temurun dari generasi ke generasi berikutnya (Tekha dkk., 2015).

Salah satu tumbuhan yang banyak dimanfaatkan dalam pengobatan adalah cincau hijau (*Cyclea barbata* Miers). Secara empiris cincau hijau digunakan sebagai penurun panas, radang lambung, penurunan tekanan darah tinggi, diare, batuk, mual dan mencegah gangguan pencernaan (Fatmalia dan Bayyinah, 2018). Di Daerah Bali, daun cincau hijau biasanya diolah menjadi minuman tradisional yaitu minuman daluman yang memiliki manfaat sebagai sumber energi dan zat gizi yang baik (Nurul, 2017).

Berdasarkan penelitian oleh Oktavia et al. (2020), menunjukkan bahwa infusa dan ekstrak etanol 70% daun cincau hijau mengandung alkaloid, tanin, flavonoid, terpenoid, steroid dan saponin. Sedangkan penelitian lain menyatakan bahwa senyawa flavonoid yang terdapat pada cincau hijau rambat adalah 3,0 glikosida flavonol (Sukohar, 2017). Penelitian oleh Santi et al. (2017), diketahui bahwa ekstrak etanol daun cincau hijau memiliki efek sebagai antiinflamasi pada dosis 7,5 mg/kgBB dengan persen penurunan nyeri 36,75% (Islamiah, 2017). Penelitian lain juga menyebutkan ekstrak daun cincau hijau mengandung pektin hingga 40% (Lesy, 2013).

Aktivitas farmakologi ekstrak daun cincau hijau terhadap antibakteri pada bakteri *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi yang paling tinggi 80% menghasilkan diameter 7,55 mm (Sutandio, 2017). Penelitian lain juga melaporkan bahwa pada dosis 20,25 mg dan 40,5 mg ekstrak air daun cincau hijau dapat meningkatkan kadar mukus dan memperbaiki kerusakan mukosa lambung tikus yang diinduksi aspirin (Trimurtini, 2015). Pada penelitian lain ekstrak daun cincau hijau diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi dengan nilai IC50 49,45±0,64 µg/mL (Farida dkk., 2015).

Potensi farmakologi yang dimiliki oleh daun cincau hijau sebagai sumber obat tradisional ini juga harus selaras dengan keamanannya dalam terapi. Oleh karena itu,

perlu dilakukan uji toksisitas terhadap suatu bahan aktif yang terdapat dalam ekstrak daun cincau hijau. Uji toksisitas adalah suatu uji untuk mendeteksi efek toksik suatu zat pada sistem biologi dan untuk memperoleh data dosis-respon yang khas dari sediaan uji. Sedangkan uji toksisitas akut oral adalah suatu pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang muncul dalam waktu singkat setelah pemberian sediaan uji yang diberikan secara oral dalam dosis tunggal, atau dosis berulang yang diberikan dalam waktu 24 jam (BPOM RI, 2014).

BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) merupakan salah satu metode uji toksisitas yang banyak digunakan dalam penelusuran senyawa bioaktif yang bersifat toksik dari bahan alam. Suatu senyawa dikatakan toksik berdasarkan metode BSLT jika nilai IC50  $50 < 1000 \mu\text{g/ml}$  (Hesti dan Dita, 2021). Metode BSLT merupakan salah satu metode pengujian toksisitas akut yang paling banyak digunakan untuk mengetahui potensi batas keamanan dari suatu tanaman. Metode ini mudah, cepat, dan sederhana. Uji toksisitas dapat diketahui dengan mengamati kematian hewan coba dalam hal ini *Artemia salina*, respons kematian ini dianggap sebagai pengaruh senyawa yang diuji yaitu pada sampel daun cincau hijau.

## 2. METODE PENELITIAN

### 2.1 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu diantaranya: gelas ukur, gelas beker (iwaki), tabung reaksi (iwaki), pipet ukur (iwaki), pipet volume (iwaki), corong kaca (iwaki), batang pengaduk, labu ukur (iwaki), Termometer (termo alpa 3), Blender (Vitara), Timbangan analitik (Kenko), aquarium untuk penetasan telur udang *Artemia salina*, Lampu (Philip 40 watt) dan vial untuk BSLT.

Bahan yang digunakan adalah ekstrak daun cincau hijau (*Cyclea barbata* Miers), aquadest, etanol 96%, tween 80, larva udang *artemia salina*, air laut, aluminium foil.

### 2.2 Metode Penelitian

#### a. Pengumpulan dan Preparasi Sampel

Tanaman daun cincau hijau (*Cyclea barbata* Miers) yang diperoleh dari perkebunan milik warga Desa Jembrana timur. Daun cincau hijau yang telah dicuci dikeringkan dengan cara

diangin-anginkan selama 6 hari. Simplisia yang telah kering diserbuk menggunakan blender dan diayak dengan Mesh 60 sehingga diperoleh serbuk simplisia kering daun cincau hijau.

b. Pembuatan ekstrak etanol 96% daun cincau hijau

Pembuatan ekstrak etanol daun cincau hijau (*Cyclea barbata* Miers) dengan metode ekstraksi maserasi. Proses serbuk daun cincau hijau dimasukkan ke dalam bejana maserasi dengan perbandingan 1 : 5 yaitu sebanyak 200 gram, kemudian direndam dengan pelarut etanol 96% 1000 mL sampai seluruh sampel terendam sempurna selama 3 hari sambil sesekali diaduk. Bejana maserasi ditutup kemudian disimpan pada suhu ruangan yang terhindar dari sinar matahari. Ekstrak kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring dan menghasilkan filtrat 1. Pada tahap kedua residu ditambahkan dengan larutan etanol 96% sebanyak 1000 mL kemudian tutup rapat wadah dan tunggu sampai 2 hari sampai sesekali diaduk. Selanjutnya dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring. Hasil dari penyaringan ini menghasilkan filtrat 2 dan residu ke 2. Filtrat 1 dan 2 yang 23 diperoleh sebanyak 2 L kemudian dipisahkan dengan menggunakan rotary evaporator sehingga diperoleh ekstrak dengan berat yang konstan. Kemudian disimpan dalam desikator untuk menjaga kestabilan ekstrak.

c. Skrining Fitokimia

Pemeriksaan Alkaloid

Uji Alkaloid Serbuk daun cincau hijau sebanyak 1 gram ditambah dengan 1 mL HCl 2M dan 9 ml aquades kemudian dipanaskan selama 2 menit dan disaring, filtrat dibagi 3 bagian lalu masing-masing ditambah dengan pereaksi Mayer, Wagner dan Dragendorff (Setyowati dkk., 2014).

Pemeriksaan Flavonoid

Serbuk daun cincau hijau sebanyak 1 gram dilarutkan dalam 3 ml etanol dan menambahkan 0,1 gram serbuk magnesium dan 5 tetes HCl pekat (Setyowati dkk., 2014).

Pemeriksaan Tanin

Serbuk daun cincau hijau sebanyak 1 gram dididihkan dalam 50 mL aquades, kemudian filtrat disaring dan filtrat ditambahkan 1 mL larutan gelatin 1% dan diperhatikan endapannya (Hanani, 2015).

Pemeriksaan Saponin

Serbuk daun cincau hijau sebanyak 1 gram dikocok kuat dengan 10 mL air selama 10 detik (Setyowati dkk, 2014). 3.8.5. Pemeriksaan Polifenol Serbuk daun cincau hijau sebanyak 1 gram dididihkan dalam 10 mL aquades, kemudian filtrat disaring dan filtrat ditambahkan 3 tetes FeCl<sub>3</sub> 1% (Setyowati dkk., 2014).

Pemeriksaan Steroid dan Terpenoid

Serbuk daun cincau hijau sebanyak 1 gram dilarutkan dalam 3 mL kloroform, lalu dipipet sambil disaring menggunakan pipet. Filtrat tersebut diteteskan 3 tetes pereaksi Libermann Bouchard yang akan ditandai dengan cincin kecoklatan atau violet menunjukkan terpenoid sedangkan cincin biru hijau menunjukkan steroid (Hanani, 2015).

d. Uji Toksisitas Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Pemilihan Telur *Artemia salina* Leach

Pemilihan telur *Artemia salina* Leach dengan cara telur dalam akuades direndam selama satu jam. Telur yang baik akan mengendap sedangkan telur yang kurang baik akan mengapung (Rifda, 2017).

Penetasan telur *Artemia salina* Leach

Penetasan telur dilakukan dalam wadah bening dengan menggunakan media air laut. Wadah yang digunakan dibagi menjadi dua bagian oleh sekat berlubang, yaitu bagian gelap dan bagian terang. Sekat berlubang menjadi jalan untuk larva yang telah menetas untuk bergerak secara alamiah ke arah terang. Wadah diisi dengan satu liter air laut. Kemudian pada bagian gelap dimasukkan satu sendok (sendok teh) telur yang sebelumnya telah dicuci dengan cara direndam dengan aquadest selama 1 jam. Pada wadah bagian gelap ditutup dengan aluminium foil atau lakban hitam. Pada wadah bagian terang diberi penerangan dengan cahaya lampu neon 40 watt agar suhu penetasan 25-30°C tetap terjaga. Telur udang dibiarkan terendam selama 48 jam sampai telur menetas. Telur akan menetas dalam waktu 24-36 jam dan akan bergerak secara alamiah menuju daerah terang sehingga larva udang terpisahkan dari bagian telur atau kulit telur. Larva yang telah aktif bergerak siap digunakan sebagai hewan uji dalam penelitian (Fadli dkk., 2019).

Pembuatan Konsentrasi Larutan Uji dan Kontrol Ekstrak kental daun cincau hijau di timbang sebanyak 10 mg dilarutkan dengan 10 mL pelarut etanol 96% sehingga diperoleh larutan induk 10.000 ppm. Larutan dihomogenkan. Selanjutnya dibuat lagi larutan dengan konsentrasi 100 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm, dan 1000 ppm dengan pengenceran. Untuk larutan kontrol (0 ppm) dilakukan tanpa penambahan ekstrak.

Uji toksisitas dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)

Setelah tabung rekasi di siapkan. Larutan induk kemudian dipipet sebanyak 100 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm, dan 1000 ppm. Selanjutnya masing-masing larutan itu dimasukan ke dalam tabung reaksi lalu diuapkan pelarutnya. Setelah pelarutnya menguap, ke dalam masing-masing tabung reaksi tadi lalu ditambahkan 50 µL tween, 1 mL air laut hingga homogen dan 10 ekor larva udang dan ditambahkan air laut sampai volumenya 5 mL sehingga konsentrasi ekstrak mencapai 100 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm, dan 1000 ppm untuk mengetahui nilai LC50 pada setiap konsentrasi. Masing-masing konsentrasi diulang sebanyak 3 kali. Untuk konsentrasi 0 ppm dibuat sebagai kontrol tanpa penambahan ekstrak. Setelah 20 jam lakukan pengamatan terhadap kematian larva udang. Jumlah larva yang mati dicatat lalu lakukan analisis data untuk mencari konsentrasi kematian (LC50). Uji toksisitas dianalisis dengan menghitung jumlah larva udang yang mati dalam tiap tabung selama 20 jam. Efek toksik diperoleh dari pengamatan dengan menghitung % kematian (mortalitas) larva udang pada tiap konsentrasi. Persen kematian diperoleh dengan perhitungan :

$$\% \text{ kematian} = \frac{\text{Jumlah Larva yang mati}}{\text{Jumlah larva total awal}} \times 100\%$$

e. Teknik Analisa Data

Data pengujian toksisitas berdasarkan perhitungan jumlah larva yang mati dan jumlah larva yang masih hidup. Tingkat kematian diperoleh dengan membandingkan antara jumlah yang mati dibagi dengan jumlah total larva. Nilai 27 LC50 diperoleh melalui penentuan nilai probit menggunakan Microsoft Excel (Muaja et al., 2013). Efek toksisitas terhadap *Artemia salina* Leach. ditentukan berdasarkan analisis probit melalui tabel probit dan dibuat persamaan regresi linier.  $y = bx + a$  dimana :  $y =$

angka probit, dan  $x = \log$  konsentrasi persamaan tersebut dapat digunakan untuk mengetahui nilai LC50 dalam 20 jam komponen ekstrak etanol 96% daun cincau hijau dengan memasukkan nilai probit 5 (50% kematian) ke persamaan tersebut sehingga diperoleh konsentrasi yang menyebabkan 50% kematian.

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

a. Hasil determinasi tanaman

Determinasi tanaman yang dilakukan di Badan Riset Dan Inovasi Nasional (BRIN)–UPT Balai Konservasi Tanaman Kebun Raya Eka Karya, Bedugul-Bali. Hasil determinasi membuktikan bahwa tanaman yang digunakan benar tanaman cincau hijau yang berasal dari jenis *Cyclea barbata* Miers dengan suku Menispermaceae

b. Hasil pengumpulan dan pengeringan sampel daun cincau hijau

Sampel yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari kabupaten Jembrana bagian timur. Proses pengeringan sampel daun cincau hijau dilakukan dengan cara diangin-anginkan pada suhu kamar tanpa paparan cahaya matahari langsung. Pengeringan ini untuk mengurangi kadar air bahan sehingga dapat menghambat pertumbuhan mikroba yang tidak diinginkan, agar simplisia tahan disimpan lama dan tidak terjadi perubahan bahan aktif yang dikandungannya (Angreni, 2014). 4.3 Hasil ekstraksi daun cincau hijau Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk kedalam rongga sel yang mengandung zat-zat aktif sehingga zat aktif akan terlarut (Khoiriyah, 2014). Menurut Trifani (2012), Etanol digunakan 28-29 sebagai pelarut karena bersifat polar, universal, dan mudah didapat. Senyawa polar merupakan senyawa yang larut dalam air. Senyawa metabolit sekunder yang akan diambil pada daun Cincau hijau bersifat polar sehingga proses ekstraksi menggunakan pelarut polar. Etanol 96% dapat mengekstraksi senyawa alkaloid, flavonoid, steroid, dan tannin. Hasil ekstraksi yang diperoleh berupa ekstrak kental berwarna hijau kehitaman dengan persentase rendemen sebesar 17,758%. Ekstrak kental ditimbang dan dilakukan perhitungan persentase rendemen ekstrak sebagai berikut:

Tabel 1. Persentase Rendemen Ekstrak Etanol 96% Daun Cincau Hijau

Sampel	Bobot ekstrak (gram)	Bobot serbuk (gram)	Persentase rendemen (%)
Daun Cincau Hijau	11,2623	200	17,758

Hasil rendemen dari suatu sampel sangat diperlukan karena untuk mengetahui banyaknya ekstrak yang diperoleh selama ekstraksi. Rendemen ekstrak adalah perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal (Dewatisari et al., 2017). Selain itu, data hasil rendemen tersebut ada hubungannya dengan senyawa aktif yang terkandung dalam sampel juga semakin banyak. Persentase rendemen yang baik adalah tidak kurang dari 10%. Tingginya senyawa aktif yang terdapat pada suatu sampel ditunjukkan dengan tingginya jumlah rendemen yang dihasilkan (Pratiwi, 2021). Rendemen ekstrak adalah perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal. (Dewatisari et al., 2017).

c. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 96% Daun cincau hijau

Hasil skrining fitokimia merupakan analisis dengan metode kualitatif, Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui kandungann senyawa kimia atau metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak. Hasil skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 96% Daun Cincau Hijau dapat disajikan pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak etanol 96% daun cincau hijau

Golongan Senyawa	Reagen	Hasil Uji	Hasil positif berdasar pustaka
Alkaloid	Dragendroff	Positif	Terbentuk endapaan warna jingga atau kecoklatan (Putri,2021).
Flavonoid	HCl + Serbuk Mg	Positif	Terjadi perubahan warna kuning, (Putri,2021).
Tanin	FeCl3 1%	Positif	Terjadi perubahan warna biru kehitaman atau hijau

			kehitaman (Putri,2021).
Saponin	HCl 2N	Negatif	Tidak Terbentuk buih yang stabil (Putri, 2021)
Steroid	liebermann burchard	Positif	Terbentuk perubahan menjadi hijau kebiruan (Putri,2021)

Berdasarkan tabel diatas diperoleh data bahwa senyawa saponin dinyatakan negatif karena tidak terbentuk buih yang stabil kurang lebih selama 10 menit (Putri, 2021). Sedangkan pada penelitian lain menunjukkan bahwa daun cincau hijau mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid, alkaloid, saponin, dan tannin. (Oktavia et al., 2020). Pada fraksi etil asetat daun cincau hijau diketahui mengandung metabolit sekunder seperti alkaloid, fenol, flavonoid, tanin, saponin, steroid, dan terpenoid (Oktavia et al., 2020). Daun cincau hijau memiliki kandungan senyawa kimia yang bermanfaat sebagai antibakteri yaitu alkaloid, saponin dan flavonoid, tanin (Prayoga dkk., 2022). Flavonoid merupakan antioksidan yang berpotensi untuk mencegah pembentukan radikal bebas. Selain itu, flavonoid mempunyai peran sebagai antibakteri dan juga sebagai antivirus. Flavonoid merupakan senyawa polar karena memiliki sejumlah gugus hidroksil yang tidak tersubstitusi. Pelarut polar seperti etanol, metanol, etilasetat dapat digunakan untuk mengekstrak flavonoid dari jaringan tumbuhan (Djama'an, 2008).

d. Hasil analisis uji toksisitas ekstrak etanol 96% daun cincau hijau terhadap *Artemia salina* metode BSLT

Tabel 3. Hasil Uji Toksisitas ekstrak etanol 96 % Daun Cincau Hijau terhadap *Artemia Salina* dengan menggunakan metode BSLT

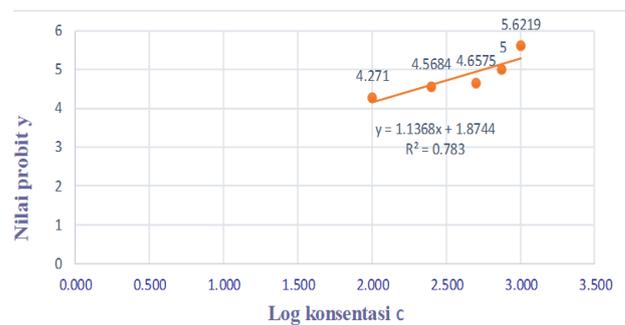
Konsentrasi (ppm)	Jumlah Larva Hidup	Jumlah Larva Mati	Total Larva	Persentase kematian (%)	Rata-rata kematian (%)	LC50
0	10	0	10	0	0%	0
	10	0	10	0		
	10	0	10	0		
100	8	2	10	20	23,33 %	8,54
	8	2	10	20		
	7	3	10	30		
250	7	3	10	30	33,33	10,95

	7	3	10	30	%	
	6	4	10	40		
500	6	4	10	40	36,66	12,57
	7	3	10	30		
	6	4	10	40	50%	14,37
750	5	5	10	50		
	5	5	10	50	73,33	16,86
1000	3	7	10	70		
	2	8	10	80	%	
	3	7	10	70		

Pada tabel 3 dapat dilihat terdapat penurunan kematian larva udang *Artemia salina*. Persentase larva pada konsentrasi 100 ppm dengan persentase kematian sebesar 23,33% , pada konsentrasi 250 ppm dengan persentase kematian sebesar 33,33%, pada konsentrasi 500 ppm dengan persentase kematian sebesar 36,66 % , pada konsentrasi 750 ppm dengan persentase kematian sebesar 50% dan pada konsentrasi 1000 ppm dengan persentase kematian 73,33%. Pada tabel 4.3 dapat dilihat kontrol negatif atau 0 ppm tidak didapatkan larva yang mati , berarti kematian larva *Artemia salina* Leach murni diakibatkan oleh ekstrak. Persentase kematian tertinggi larva terdapat pada konsentrasi 1000 ppm yaitu sebesar 73,33%.

Uji toksisitas ekstrak etanol 96% daun cincau hijau (*Cyclea barbata* Miers) dilakukan untuk mengetahui berapa nilai  $LC_{50}$  terhadap larva *Artemia Salina* dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Letahility Test*). Uji toksisitas dilakukan untuk mengetahui pengobatan dan dosis yang aman digunakan oleh masyarakat. Uji toksisitas akut merupakan suatu pengujian untuk mendeteksi gejala ketoksikan yang mungkin muncul pada manusia dalam waktu singkat setelah pemberian sediaan uji secara oral dalam dosis tunggal atau dosis berulang yang diberikan dalam waktu 24 jam kemudian diamati selama 14 hari. Prinsip uji toksisitas akut secara oral yaitu sediaan uji pada beberapa tingkatan dosis tertentu diberikan kepada beberapa kelompok hewan uji dengan satu dosis per kelompok dan selanjutnya dilakukan pengamatan gejala ketoksikan atau adanya kematian. Kemudian, hasil uji toksisitas menggunakan hewan uji hanya dapat dijadikan sebagai petunjuk adanya toksisitas relatif bila terjadi pemaparan pada manusia (BPOM RI, 2014). Sedangkan hasil uji toksisitas secara BSLT pada ekstrak etanol 50% daun cincau hijau dengan nilai  $LC_{50}$  92,24 bpj, ekstrak kering etanol 50%  $LC_{50}$  159,92 bpj dan

ekstrak kering air nilai  $LC_{50}$  168,42 bpj (Priyanto, 2014).



Gambar 1. Grafik nilai  $LC_{50}$

Jumlah larva *Artemia Salina* pada masing-masing botol vial (konsentrasi 0 ppm, 100 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm, dan 1000 ppm) dengan 3 kali replikasi adalah 10 ekor, sehingga total larva digunakan adalah 180 larva. Jumlah persentase kematian larva *Artemia Salina* leach pada setiap botol vial disajikan pada Tabel 4.3 Persentase kematian adalah persentase kematian larva pada setiap botol vial. Kemudian dilakukan perhitungan nilai rata-rata persentase kematian setiap konsentrasi 0 ppm, 100 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm, dan 1000 ppm sebelum analisis probit untuk mencari nilai  $LC_{50}$  log konsentrasi ekstrak etanol 96% daun cincau Hijau disajikan pada gambar 1.

Nilai probit (y) diperoleh melalui tabel probit pada data persentase kematian larva *Artemia salina*. Dari grafik di atas didapatkan persamaan  $y = 1,1368x + 1,8744$  sehingga didapatkan nilai  $LC_{50}$  yang sama dengan metode manual yaitu sebesar 558,25 ppm. pada penelitian lain ekstrak daun cincau hijau menunjukkan aktivitas tertinggi dengan nilai  $LC_{50}$   $124 \pm 2 \mu\text{g/mL}$ . Ekstrak daun cincau hijau memiliki nilai  $LC_{50}$  sebesar  $176 \pm 14 \mu\text{g/mL}$  terhadap penghambatan AChE. Ekstrak daun cincau dapat bekerja pada AChE dan BChE dengan dosis yang sedikit lebih tinggi dibandingkan dengan galantamine (Uddin et al., 2021). Sedangkan hasil uji toksisitas secara BSLT pada ekstrak etanol 50% daun cincau hijau dengan nilai  $LC_{50}$  92,24bpj, ekstrak kering etanol 50%  $LC_{50}$  159,92 bpj dan ekstrak kering air nilai  $LC_{50}$  168,42 bpj. (Apriyatno 2014). Dan pada ekstrak cincau hijau dipilih fraksi EA.7(etil asetat.7.) mempunyai nilai  $LC_{50}$  sebesar 4,82 bpj dengan bobot 0,89 g ( Yunahara, 2014). Uji toksisitas akut ekstrak etanol 96% Daun Cincau Hijau (*Cyclea barbata* Miers) terhadap larva

*Artemia salina* Leach dapat disimpulkan memiliki potensi toksisitas akut karena nilai LC<sub>50</sub> dari ekstrak etanol 96% Daun Cincau Hijau (*Cyclea barbata* Miers) 558,25 ppm kurang dari 1.000 ppm yang artinya ekstrak etanol 96% daun cincau hijau juga memiliki potensi toksik terhadap hewan uji karena mengandung alkaloid. Banyak alkaloid yang beracun bagi hewan uji (Poernomo, 2023).

#### 4. KESIMPULAN

Nilai LC<sub>50</sub> dari ekstrak etanol 96% Daun Cincau Hijau (*Cyclea barbata* Miers) adalah 588,25 ppm. Termasuk dalam toksisitas akut karena didapatkan nilai LC<sub>50</sub> kurang dari 1.000 ppm.

#### DAFTAR PUSTAKA

Amaliyah, N. (2017). *Penyehatan Makanan dan Minuman*. Yogyakarta : Deepublish.

Arrosyid, M., Sutaryono, & Muliana, R. (2019). Uji efektivitas ekstrak etanol daun cincau hijau (*Cyclea barbata* Miers) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. *Cerata Jurnal Ilmu Farmasi*, 10(2).

Asmardi A, Roza RM, Fitmawati. Aktivitas antibakteri ekstrak daun *Cyclea barbata* Miers. Terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*. *JOM FMIPA*. 2014; 1(2): 1-9.

BPOM RI, (2014) Pedoman Uji Toksisitas Nonklinis Secara *In vivo*, no 7. Cantika, T. S. & Tri, U., S., (2016), Manfaat Ekstrak Daun Cincau Hijau (*Cyclea barbata* Miers) sebagai Alternatif Terapi Hipertensi.

De Padua LS. Bunyaprahatsara N. and Lemmes RHMJ, 1999, PROSEA: Plant Resources of South-East Asia. *Medicinal and Poisonous Plants 1*. PROSEA Foundation, 12 (1). 219–222

Farida, Y., Gangga, E., Kartiningsih, Elisa, & Teguh. 2015. Characteristic of 70 % Ethanol Extract from *Cyclea barbata* Miers leaves and Antioxidant Activity using DPPH Method. *Proceedings of The 9th Joint Conference on Chemistry, The 9th Joint Conferences on Chemistry*, 369–376.

Fadli, Suhaimi. & Idris, Muhammad. 2019. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun salam (*Syzygium Polyanthum* (Wight) Walp.) dengan Metode Bslt (Brine Shrimp Lethality Test). *Medical Sains*, 4(1).

Nurlela, J. (2015). The Effect Of Leaf Green Grass Jelly Extract ( *Cyclea barbata* Miers ) To Motility In Mice Balb/ C Male That Exposed Smoke. *Journal Majority*, 4(4), 57–63.

Nuralifah, Jabbar A, Parawansah, Iko R. (2018). Uji toksisitas akut ekstrak etanol daun notika (*Archboldiodendron calosercium* (Kobuski)) terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan menggunakan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Majalah Farmasi, Sains, dan Kesehatan Pharmauho*.:4(1); 1-5.

Oktavia, S. N., Wahyuningsih, E., Andasari, S. D., & Normaidah, N. (2020). Skrining fitokimia dari infusa dan ekstrak etanol 70% daun cincau hijau (*Cyclea barbata* Miers). *Cerata Jurnal Ilmu Farmasi*, 11(1).

Permanasari, D. A. (2015). Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Cincau Hijau ( *Cyclea barbata* Miers) Sebagai Penghambat Pembentukan Biofilm Bakteri *Salmonella typhi*. *Fakultas Kedokteran Universitas Jember*, 35– 43.

Ratu AP. Dan Wirasti, (2018) Uji Toksisitas Daun Beluntas (*Pluchea indica* Less), Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.), Kulit Biji Jengkol (*Archidendron Pauciflorum*) dan Kulit Rimpang Kencur (*Kaempferia galangal* Linn) dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Jurnal Farmasi Sains dan Praktis*, Vol.IV, No.2, Oktober 2018. Pekalongan: Stikes Muhammadiyah Pekalongan.

Sundari F, Amalia L, Ekawidyan Kr. Minuman cincau hijau dapat menurunkan tekanan darah pada ontia dewasa penderita hipertensi ringan dan sedang. *J Gizi Pangan IPB*. 2014; 9(2):203-10.

Setyowati, W.A.E, dkk. (2014). Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio zibethinus* Murr.) *Jurnal Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia VI*. ISBN ( 979363175-0): 271-280.

Saragih, D., Ridwanto, R., Sartika, D., Dikki, M., Munandar N. asution. 2022. Toxicity Test of

Windu Shrimp (*Penaeus monodon*) Skin Chitosan With Brine Shrimp Lethality Test Method. Indonesian Journal of Chemical Science and Techonology, 05 (1), pp. 4–6.

Tetti, M. (2014). Ekstraksi, Pemisahan Senyawa , dan Identifikasi Senyawa Aktif. Jurnal Kesehatan, 7 (2): 361-367.

Trimurtini, I., 2015. Efek Anti Ulkus Ekstrak Air Daun Cincau Hijau (*Cyclea Barbata* Miers) Terhadap Mukosa dan Kadar Mukus Gaster Tikus Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Aspirin. Med. Kartika 4.