

UJI TOKSISITAS SARI DAUN JERUK BALI, JERUK NIPIS, DAN JERUK PURUT DENGAN METODE *BRINE SHRIMP LETHALITY TEST* (BSLT).

Novi Fajar Utami¹, Sofyan Ramani², Wakhidah Nur Arwany²

¹Program Studi Farmasi, Universitas Pakuan, Bogor, Indonesia

²Program Studi Farmasi, Sekolah Tinggi Teknologi Industri dan Farmasi Bogor, Indonesia

E-mail: novisjaf@gmail.com

Abstrak

Sari daun jeruk bali (*Citrus maxima*), jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dan jeruk purut (*Citrus hystrix*) telah dimanfaatkan secara turun-temurun sebagai bahan masakan dan pengobatan, akan tetapi daya toksisitas dari ketiganya belum diketahui. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan toksisitas ketiga sari daun jeruk terhadap larva udang *Artemia salina* Leach. Uji toksisitas dilakukan dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dengan konsentrasi 5, 50, 100, 500 dan 1000 ppm dan dianalisis dengan menggunakan analisis probit untuk mendapatkan nilai LC_{50} . Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai LC_{50} sari daun jeruk bali sebesar 624,12 ppm, sari daun jeruk nipis sebesar 183,19 ppm dan sari daun jeruk purut sebesar 118,01 ppm. Ketiga sari daun jeruk bersifat toksik dengan potensi sebagai pestisida dan anti bakteri.

Kata kunci : Toksisitas, *Citrus maxima*, *Citrus aurantifolia*, *Citrus hystrix*, BSLT.

Abstract

Leaves extract of grapefruit (*Citrus maxima*), lemon (*Citrus aurantifolia*), and lime (*Citrus hystrix*) has been used for generations as a cooking ingredient and treatment, but the power of the three unknown toxicity. This study aimed to compare the toxicity of three orange leaves extract against larvae of shrimp *Artemiasalina* Leach. Toxicity test was conducted using *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) with concentrations of 5, 50, 100, 500 and 1000 ppm and analyzed using probit analysis to obtain the LC_{50} values. The results showed that the leaf extract LC_{50} value of 624.12 ppm grapefruit, lemon leaf extract amounted to 183.19 ppm and lime leaf extract amounted to 118.01 ppm. Third orange leaf extract is toxic with potential as pesticides and anti-bacterial.

Keywords : Toxicity, *Citrus maxima*, *Citrus aurantifolia*, *Citrus hystrix*, BSLT.

PENDAHULUAN

Jeruk merupakan tanaman buah tahunan yang banyak ditanam di kebun dan dimanfaatkan oleh masyarakat pada bagian buah dan daun dengan cara pengolahan atau langsung dikonsumsi. Jeruk termasuk dalam genus *Citrus*, dalam pengobatan tradisional banyak digunakan sebagai obat disentri, gangguan pencernaan, asma, sampai antikanker (Nath, dkk., 2006). Kandungan kimia daun tanaman jeruk yaitu

minyak atsiri, flavonoid, alkaloida, saponin, tanin, terpenoid dan steroida (Adrianto, dkk., 2014). Senyawa-senyawa ini memiliki kontribusi penting untuk aktivitas antikanker (Loh, dkk. 2011).

Salah satu metode pengujian senyawa yang berpotensi sebagai antikanker adalah dengan pengujian sitotoksik. Daya sitotoksik dari sari daun jeruk bali (SDJB), sari daun jeruk nipis (SDJN) dan sari daun jeruk purut (SDJP) belum pernah dibandingkan sebelumnya. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan menganalisis dan membandingkan potensi ketiga sari daun jeruk tersebut sebagai sitotoksik. Uji potensi sitotoksik dilakukan dengan menguji toksisitas daun tersebut. Uji toksisitas suatu senyawa dapat dilakukan dengan berbagai macam metode. Penelitian ini menerapkan metode uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dengan menggunakan larva udang *Artemiasalina*, Leach sebagai hewan uji.

Uji toksisitas diperuntukkan dalam dua hal baik untuk evaluasi keamanan senyawa atau untuk mendeteksi aktivitas antikanker suatu senyawa (Arifuddin, 2013). Suatu ekstrak tanaman atau senyawa hasilisolasi yang memiliki nilai *Lethal Concentration 50* (LC_{50}) < 1000 μ g/mL dapat diduga memiliki efeksitotoksik (Dwiatmaka, 2000). Hasil uji BSLT yang menunjukkan bahwa ekstrak tumbuhan bersifat aktif maka dapat dikembangkan ke penelitian lebih lanjut untuk mengisolasi senyawa sitotoksik tumbuhan sebagai usaha pengembangan obat antikanker.

METODE PENELITIAN

Pembuatan Sari Daun Jeruk

Masing-masing daun jeruk no 5 dari pucuk diambil dengan cara dipetik daunnya yang masih segar. Kemudian daun disortir, dibersihkan dengan cara dicuci di bawah air mengalir yang bersih. Daun yang sudah siap masing-masing timbang 100 gram, ditambah akuades 100 mL kemudian diolah menggunakan blender dan disaring. Sari daun jeruk yang sudah jadi siap untuk diuji.

Analisis Fitokimia

Analisa fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa kimia dalam SDJB, SDJN, SDJP. Analisis fitokimia dilakukan meliputi analisis alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, terpenoid, dan steroid.

a. Uji Alkaloid

Sebanyak 0,5 g sari daun yang telah diketahui berat jenisnya dimasukkan tabung reaksi dan ditambahkan 5 mL ammonia 30% dan ditambahkan 20 mL kloroform. Pada larutan fase organik diambil dan diekstraksi dengan 10 mL asam klorida 10%, lapisan asam dipisahkan ke dalam tabung reaksi lain. Lapisan asam ini diteteskan pada lempeng tetes dan ditambahkan pereaksi Mayer, Wagner dan Dragendorff. Terbentuknya endapan merah bata dengan Dragendorff, endapan coklat dengan Wagner dan endapan putih dengan pereaksi Mayer menunjukkan adanya alkaloid (DepKes RI, 1995).

b. Uji Flavonoid

Identifikasi flavonoid dapat diidentifikasi dengan reaksi warna, diantaranya :

1. Uji Shinoda

Sampel ditambahkan 2-3 tetes etanol kemudian ditambahkan serbuk Mg dan beberapa tetes asam klorida 5 M. Warna merah hingga lembayung menunjukkan adanya senyawa flavonoid.

2. Sampel ditambahkan 2-3 tetes etanol, kemudian ditambahkan serbuk Zn dan beberapa tetes asam klorida 5 M. Tidak berwarna atau berwarna merah muda lemah menunjukkan adanya flavonoid (Hanani, 2015).

c. Uji Saponin

Sebanyak 0,5 gram sampel ditimbang, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 10 mL air. Sampel yang ada pada tabung reaksi dikocok. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya busa yang stabil dengan penambahan asam klorida (Hanani, 2015).

d. Uji Tanin

Sebanyak 2 gram sampel ditimbang, kemudian ditambahkan etanol 80% (30ml), menggunakan pendingin tegak selama 15 menit, kemudian disaring. Filtrat yang didapat diuapkan di atas penangas. Aquades panas pada sisa penguapan ditambahkan lalu diaduk. Setelah dingin larutan disentrifugasi, dipisahkan cairan atas dengan cara dekantasi, dan larutan digunakan sebagai larutan percobaan yang akan digunakan dalam pengujian tersebut :



1. Filtrat ditambahkan larutan 10% gelatin, akan timbul endapan putih
2. Filtrat ditambahkan NaCl-gelatin (larutan 1% gelatin dalam 10% NaCl dengan perbandingan 1:1). Timbul endapan dan bandingkan dengan hasil pada butir 1
3. Filtrat ditambahkan larutan 3% besi (III) klorida, terjadi warna hijau biru hingga kehitaman (Hanani, 2015).

e. Uji Terpenoid dan Steroid

Ditimbang Sebanyak 0,5 g sampel yang telah diketahui berat jenisnya dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 2 ml kloroform. Kemudian tambahkan hati-hati 3 ml asam sulfat pekat. Adanya steroid ditunjukkan oleh warna biru atau hijau, sedangkan triterpenoid memberikan warna merah atau ungu (Hanani, 2015).

Penentuan Berat Jenis

Penentuan berat jenis dilakukan untuk mempermudah dalam pengerjaannya dengan cara mengkonversikan dari satuan mL ke satuan berat. Prosedur dalam penentuan berat jenis zat cair menggunakan piknometer adalah sebagai berikut : Menimbang piknometer kosong bersih dan kering yang telah ditentukan volumenya dalam bentuk gram. Kemudian isi piknometer dengan sari daun setelah itu timbang dalam gram. Dihitung berat jenis dengan menggunakan rumus

$$\text{Berat jenis zat cair} = \frac{\text{piknometer isi} - \text{piknometer kosong}}{\text{Volume piknometer}}$$

Uji Toksisitas dengan Metode BSLT

Mula-mula dilakukan penetasan larva udang *Artemia salina*, L terlebih dahulu selama kurang lebih 2 x 24 jam (2 hari) dengan serangkaian alat BSLT. Selanjutnya sari daun jeruk masing-masing yang telah diketahui berat jenisnya, ditimbang 5 gram masing-masing sampel kemudian dilarutkan dalam labu ukur 100 mL dengan air laut sehingga diperoleh konsentrasi 50.000 ppm sebagai larutan induk, dari larutan induk tersebut dibuat larutan sampel dalam beberapa konsentrasi dengan pengenceran menjadi 5, 50, 100, 500, dan 1000 ppm. Selanjutnya dipipet masing-masing sampel sebanyak 0,001 mL, 0,01 mL, 0,02 mL, 0,1 mL, dan 0,2 mL ke dalam vial 10 mL, masukkan larva udang *Artemia salina*, L. masing-masing 10 ekor. Diberikan 1 (satu) tetes suspensi ragi kemudian tambahkan air laut sampai tanda batas. Sedangkan larutan kontrol hanya berisi air laut tanpa penambahan sampel. Untuk setiap konsentrasi dilakukan tiga kali pengulangan (triplo). Larutan

dibiarkan selama 24 jam, kemudian dihitung jumlah larva yang mati dan masih hidup dari tiap vial. Kemudian jumlah larva udang yang mati dihitung dan dianalisa untuk menentukan LC_{50} .

Prinsip pengujian daya racun ini berdasarkan pada jumlah kematian larva udang *rtemia salina*, L. Yang kemudianakan dianalisa dengan table probit sesuai presentasinya terhadap masing-masing konsentrasi untuk menentukan nilai LC_{50} .

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Pembuatan Sari Daun Jeruk dan Penentuan Berat Jenis

Masing-masing daun jeruk yang sudah diketahui berat awalnya dilakukan pembuatan ekstrak sari daun jeruk dengan menggunakan alat blender sehingga diperoleh hasil dari masing-masing sari daun jeruk yaitu sari daun jeruk bali sebanyak 65 mL, sari daun jeruk nipis sebanyak 118 mL, dan sari daun jeruk purut sebanyak 117 mL dengan karakteristik masing-masing daun jeruk yang didapat memiliki bau aromatik khas dan berwarna hijau.

Uji karakteristik sari daun jeruk dengan penentuan berat jenis sebagai massa suatu bahan per satuan volume bahan tersebut dengan tujuan pengujian pada penelitian ini mempermudah dalam pengerjaannya dengan cara mengkonversikan dari mL ke satuan gram/mL. Prosedur penentuan berat jenis sari daun jeruk dibedakan menjadi 3 (tiga) sari daun yaitu jeruk bali, jeruk nipis, dan jeruk purut. Berdasarkan hasil tersebut selanjutnya pembuatan sari daun jeruk bali, daun jeruk nipis, dan daun jeruk purut kemudian siap dilakukan uji toksisitas dalam keadaan segar. Hasil penentuan berat jenis dari ketiga sari daun jeruk dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Penentuan Berat Jenis

Jenis Sari Daun Jeruk	Berat Jenis (g/mL)
Jeruk Bali	1,0154 g/ml
Jeruk Nipis	1,0199 g/ml
Jeruk Purut	1,0128 g/ml

Hasil Analisis Fitokimia

Analisis fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi keberadaan senyawa aktif yang diduga memiliki khasiat sebagai sitotoksik. Hasil analisis fitokimia menunjukkan bahwa sari daun jeruk positif mengandung senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, saponin, dan terpenoid. Hasil Analisis Fitokimia Sari Daun Jeruk dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Analisis Fitokimia Sari Daun Jeruk

Pengujian	SDJB	SDJN	SDJP	Keterangan
Alkaloid:				
1. Mayer	-	-	-	Tidak ada endapan
2. Wagner	-	-	-	Tidak ada endapan
3. Dragendorf	-	-	-	Tidak ada endapan
Flavonoid	+	+	+	Kuning
Tanin	-	-	-	Coklat
Saponin	+	+	+	Buih Stabil
Steroid	-	-	-	Hijau tua
Terpenoid	+	+	+	Merah kecoklatan

Keterangan : (+) Positif (-) Negatif

Hasil Uji Toksisitas Sari Daun Jeruk dengan BSLT

Hasil uji toksisitas berdasarkan persamaan regresi dan pengaruh kematian larva udang dengan nilai LC_{50} dapat dilihat pada tabel berikut ini Tabel 3.

Tabel 3. Hasil LC_{50} Sari Daun Jeruk

Jenis Sari Daun Jeruk	Nilai LC_{50} (ppm)
Daun jeruk bali	624,12
Daun jeruk nipis	183,19
Daun jeruk purut	118,01

Hasil pengujian menunjukkan bahwa SDJP dan SDJN pada konsentrasi 500 ppm memberikan respon kematian >50% terhadap *Artemia salinal*, sedangkan pada SDJB memberikan respon kematian >50% terhadap *Artemia salina*, Leach setiap perlakuan pada konsentrasi 1000 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa SDJP dan SDJN berpotensi sebagai antibakteri terhadap aktivitas bioaktif dengan nilai LC_{50} yang diperoleh berkisar 30-200 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan pada sari daun jeruk bali dengan

kategori sedang bagi hewan uji karena nilai LC_{50} yang diperoleh berkisar 500-750 $\mu\text{g/mL}$ dan memiliki potensi bioaktif sebagai pestisida.

Hasil analisis probit pada penelitian ini menunjukkan bahwa nilai LC_{50} SDJP dan SDJN berada pada tingkat toksisitas yang sama berdasarkan pengklasifikasian (Anderson, *et.al.*, 1991), sedikit berbeda dimana nilai LC_{50} SDJP sebesar 118,01 ppm lebih tinggi dari nilai LC_{50} SDJN yaitu sebesar 183,19 ppm. Sedangkan SDJB berada pada tingkat toksisitas sedang dengan nilai LC_{50} sebesar 624,12 ppm. Data tersebut menunjukkan SDJP memiliki potensi sitotoksik lebih baik dibandingkan dengan SDJN dan SDJB. Hasil ini menunjukkan bahwa ketiga spesies sari daun bersifat aktif. Suatu senyawa dapat dikatakan aktif jika $LC_{50} < 750-1000$ ppm.

SIMPULAN

Uji toksisitas SDJB, SDJN, dan SDJP terhadap larva udang *Artemia salina*, L. dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) memiliki nilai LC_{50} yaitu SDJB sebesar 624,12 ppm, SDJN sebesar 183,19 ppm, dan SDJP sebesar 118,01 ppm. Hasil ini menunjukkan bahwa ketiga sari daun jeruk bersifat aktif dengan SDJP dan SDJN memiliki potensi toksik sebagai antibakteri. Sedangkan SDJB memiliki potensi toksik sebagai pestisida.

DAFTAR PUSTAKA

- Adrianto Hebert, Subagyo Yotopranoto, Hamidah. 2014. Efektivitas Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*), Jeruk Limau (*Citrus amblycarpa*), dan Jeruk Bali (*Citrus maxima*) Terhadap Larva *Aedes aegypti*. *Aspirator* vol. 6 (1): 1-6.
- Arifuddin, M. 2013. *Sitotoksitas Bahan Aktif Lamun dari Kepulauan Spermonde Kota Makassar Terhadap Artemia salina Linnaeus 1758* [Skripsi]. Makassar: Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan. Universitas Hasanuddin.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Departemen Kesehatan RI. Jakarta.
- Dwiatmaka, Y. 2001. *Identifikasi Simplek dan Toksisitas Akut Secara BSLT Ekstrak Kulit Batang Pule (Alstonia scholaris)*. Program Pasca Sarjana Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

- Hanani, E. 2014. *Analisis Fitokimia*. Penerbit Buku kedokteran EGC. Jakarta.
- Loh, F.S, R.M. Awang, D. Omar. 2011. Insecticidal properties of Citrushystrix DC leaves essential oil against Spodoptera litura fabricius. *J. Med.Plants Res.* 5 (16) 3739–3744.
- Nath, D. R., Bhuyan, M., Goswami, S., 2006. Botanicals as Mosquito Larvicides. *Defence Science Journal*, 56, 507-511.