

**UJI TOKSISITAS EKSTRAK METANOL DAUN *Ficus elastica* Roxb. ex  
Hornem dan *Ficus benjamina* TERHADAP LARVA *Artemia salina* Leach  
DENGAN MENGGUNAKAN METODE *BRINE SHRIMP LETHALITY*  
*TEST* (BSLT)**

**SKRIPSI**



**UIN SUNAN AMPEL  
S U R A B A Y A**

**Disusun Oleh:**

**AN ABDI SALAM  
NIM: H71217047**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL  
SURABAYA  
2021**

## PERNYATAAN KEASLIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : An Abdi Salam

NIM : H71217047

Program Studi : Biologi

Angkatan : 2017

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul: “UJI TOKSISITAS EKSTRAK METANOL DAUN *Ficus elastica* Roxb. ex Hornem dan *Ficus benjamina* TERHADAP LARVA *Artemia salina* Leach DENGAN MENGGUNAKAN METODE *BRINE SHRIMP LETHALITY TEST* (BSLT)”. Apabila suatu saat nanti terbukti saya melakukan tindakan plagiat, maka saya bersedia menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian pernyataan keaslian ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 02 Januari 2021

Yang menyatakan,



An Abdi Salam.  
NIM H71217047

## HALAMAN PERSETUJUAN

Skripsi

Uji Toksisitas Ekstrak Metanol Daun *Ficus elastica* Roxb. ex Hornem dan *Ficus benjamina* terhadap Larva *Artemia salina* Leach Dengan Menggunakan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Diajukan oleh:

An Abdi Salam

NIM: H71217047

Telah diperiksa dan disetujui  
di Surabaya, 02 Januari 2021

Dosen Pembimbing Utama



Eva Agustina, M. Si  
NIP 198908302014032008

Dosen Pembimbing Pendamping



Hanik Faizah, S. Si, M. Si  
NUP 201409019

## PENGESAHAN TIM PENGUJI SKRIPSI

Skripsi An Abdi Salam ini telah dipertahankan  
di depan tim penguji skripsi  
di Surabaya, 07 Januari 2021

Mengesahkan,  
Dewan Penguji

Penguji I



Eva Agustina, M. Si  
NIP 198908302014032008

Penguji II



Hanik Faizah, S. Si, M. Si  
NUP 201409019

Penguji III



Irul Hidayati, M. Kes.  
NIP 198102282014032001

Penguji IV



Drs. Abdul Manan, M. Pd.I  
NIP 197006101998031002

Mengetahui,  
Dekan Fakultas Sains dan Teknologi  
UIN Sunan Ampel Surabaya



Dr. Hj. Evi Fatimatur Rusydiyah, M. Ag.  
NIP 197312272005012003



**KEMENTERIAN AGAMA**  
**UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL SURABAYA**  
**PERPUSTAKAAN**

Jl. Jend. A. Yani 117 Surabaya 60237 Telp. 031-8431972 Fax.031-8413300  
E-Mail: [perpus@uinsby.ac.id](mailto:perpus@uinsby.ac.id)

---

LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI  
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademika UIN Sunan Ampel Surabaya, yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : An Abdi Salam  
NIM : H71217047  
Fakultas/Jurusan : SAINS DAN TEKNOLOGI/ BIOLOGI  
E-mail address : anabdisalam@gmail.com

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya, Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif atas karya ilmiah :

Skripsi     Tesis     Desertasi     Lain-lain (.....)  
yang berjudul :

UJI TOKSISITAS EKSTRAK METANOL DAUN *Ficus elastica* Roxb. ex Hornem dan *Ficus benjamina* TERHADAP LARVA *Artemia salina* Leach DENGAN MENGGUNAKAN METODE BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BSLT)

.....

beserta perangkat yang diperlukan (bila ada). Dengan Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif ini Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya berhak menyimpan, mengalih-media/format-kan, mengelolanya dalam bentuk pangkalan data (database), mendistribusikannya, dan menampilkan/mempublikasikannya di Internet atau media lain secara **fulltext** untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta ijin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan atau penerbit yang bersangkutan.

Saya bersedia untuk menanggung secara pribadi, tanpa melibatkan pihak Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya, segala bentuk tuntutan hukum yang timbul atas pelanggaran Hak Cipta dalam karya ilmiah saya ini.

Demikian pernyataan ini yang saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 25 Januari 2021

Penulis

(An Abdi Salam)















perkembangbiakannya dengan segala manfaat untuk segenap kehidupan (Shihab, 2002).

Penggunaan tanaman sebagai pengobatan herbal memiliki khasiat yang sangat luar biasa. Menurut Amri (2014) pengobatan secara herbal memberikan dampak yang lebih efektif menyembuhkan penyakit jika dibandingkan dengan pengobatan menggunakan obat berbahan dasar kimiawi. Salah satu hal yang dapat diunggulkan dari pengobatan herbal tersebut yakni pada penggunaan bahan dasarnya yang memiliki sifat alami sehingga dapat menekan efek samping yang ditimbulkan seminimal mungkin. Selain hal tersebut, menurut Muaja dkk. (2013) tanaman herbal sendiri lebih mudah untuk didapatkan dan harganya lebih terjangkau atau bisa dikatakan lebih murah.

Tanaman yang diketahui banyak mengandung berbagai khasiat untuk pengobatan, diantaranya adalah *Ficus elastica* Roxb. ex Hornem dan *Ficus benjamina*. Tanaman *F. elastica* Roxb. ex Hornem dikenal luas oleh masyarakat karena manfaat pada tumbuhan tersebut dapat digunakan untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit seperti maag, haid tidak lancar, bisul, dan juga dapat digunakan sebagai bahan dasar obat herbal untuk mencegah penyakit stroke. Penelitian yang telah dilakukan oleh Almahy *et al.* (2001) menunjukkan bahwa flavonoid yang terdapat pada daun *F. elastica* yakni flavonoid rutin dan morin sehingga pada penelitiannya berkemungkinan bahwa bercak yang timbul pada deteksi flavonoid ekstrak etanol kulit batang *F. elastica* yakni kuersetin, kaempferin, myrisitin, rutin, morin.. Sementara, menurut penelitian Khanna dan Kannabiran (2007), ekstrak etanol 70% daun karet kebo atau *F. elastica* L. Mengandung flavonoid dan saponin. Selain itu, getah *F. elastica* mengandung flavonoid, alkaloid, asam organik dan triterpen (Hari *et al.*, 2011).

*F. benjamina* juga dikenal luas oleh masyarakat sebagai bahan alami yang dapat mengobati beberapa penyakit seperti influenza, amandel, kejang-kejang, bronchitis, radang usus. batuk rejan (pertusis), malaria, dan disentri (Dalimartha, 2000). Penelitian yang dilakukan Farihah (2008) menunjukkan pada bagian daun, akar dan kulit batang *F. benjamina* mengandung beberapa senyawa kimia diantaranya saponin, flavonoid dan polifenol. Hasil penelitian



*Artinya: Dialah, Yang telah menurunkan air hujan dari langit untuk kamu, sebahagiannya menjadi minuman dan sebahagiannya (menyuburkan) tumbuh-tumbuhan, yang pada (tempat tumbuhnya) kamu menggembalakan ternakmu. (QS. An-Nahl:10).*

Menurut tafsir Kemenag RI (2020) ayat ini menegaskan bahwa Allah swt menunjukkan nikmat yang diperoleh manusia berasal dari langit secara langsung atau tidak langsung. Nikmat Allah yang mereka peroleh secara langsung yakni air hujan yang dapat diolah menjadi air minum dan keperluan-keperluan lainnya dalam kehidupan sehari-hari, seperti mandi, mencuci, dan kebutuhan lainnya. Turunnya air hujan juga dapat menjadikan udara menjadi sejuk dan membuat badan menjadi sehat. Lalu terdapat pula nikmat Allah yang didapatkan secara tidak langsung dari air hujan tersebut, yakni air hujan bisa mengairi sawah dan menghidupkan berbagai macam tumbuhan. Tumbuhan-tumbuhan tersebut mempunyai banyak manfaat bagi kehidupan manusia dan makhluk lain.

Keunggulan bahan alami dalam penggunaannya sebagai pengobatan penyakit telah terbukti lebih efektif jika dibandingkan dengan obat berbahan dasar kimiawi, namun penggunaan suatu bahan alami juga perlu adanya penelitian terlebih dahulu mengenai sifat-sifat ketoksikannya sebelum tanaman herbal tersebut dapat digunakan untuk pengobatan, supaya dalam penggunaannya lebih efektif dan aman (Ramdhini, 2010). Untuk mengetahui gejala yang merugikan suatu zat jika terpapar kepada manusia, yakni salah satunya dengan mempelajari gejala kumulatif, dosis yang dapat menimbulkan gejala toksik pada manusia, mutagenik, efek karsinogenik serta teratogenik. Selama ini, pengetahuan-pengetahuan yang di dapatkan mengenai tanaman obat hanya didapatkan pada pengalaman empiris dan masih sangat diperlukan uji secara ilmiah.

Salah satu langkah untuk meneliti sifat toksik suatu bahan yaitu dengan melakukan uji toksisitas. Uji toksisitas dapat digunakan sebagai acuan mengenai gambaran potensi toksik suatu zat pada mekanisme biologi suatu organisme, serta untuk memperoleh dosis dan respon yang efektif dari sampel tertentu dapat ditentukan. Setelah dilakukan uji toksisitas, data yang didapatkan

digunakan sebagai dasar untuk mengembangkan obat-obatan khususnya pada keefektifan dosis suatu senyawa tertentu (Naidu, dkk., 2014).

Metode untuk uji toksisitas salah satunya yakni metode BSLT atau *Brine Shrimp Lethality Test* yang merupakan suatu *bioassay* sebagai metode pertama yang digunakan sebagai penelitian pada bahan alam yang memiliki sifat toksik. Metode ini sering digunakan dikarenakan relatif mudah, murah, cepat, dan hasilnya dapat dipercaya (Meyer dkk., 1982). Uji toksisitas yang terdapat pada metode ini adalah uji toksisitas yang dimana efek toksik dari suatu senyawa ditentukan dengan waktu yang relatif singkat, yaitu rentang waktu selama 24 jam setelah pemberian larutan uji (Suherman dkk., 2006). Prosedur penggunaan metode BSLT yakni dengan menentukan nilai  $LC_{50}$  yang didapatkan dari aktivitas zat aktif suatu tanaman terhadap larva udang *Artemia salina*.

*A. salina* Leach, merupakan organisme yang tergolong sederhana dari biota laut yang berukuran sangat kecil. *A. salina* Leach digunakan sebagai hewan coba karena mempunyai kepekaan yang cukup tinggi terhadap sifat toksik. Menurut Ansel (1989) terdapat kelebihan pada penggunaan *Artemia salina* sebagai hewan uji, yakni pada *A. salina* memiliki kulit dengan lapisan yang tipis sehingga kemungkinannya lebih besar untuk terjadi difusi zat yang akan mempengaruhi metabolisme didalam tubuhnya, selain itu *A. salina* merupakan hewan yang memiliki pori-pori yang besar, sehingga memungkinkan terjadinya penyerapan zat lebih banyak. Menurut Lisdawati (2006) penggunaan metode BSLT untuk pengujian toksisitas pada ekstrak tanaman dapat digunakan sebagai metode awal untuk penyaringan senyawa-senyawa toksik yang terdapat dalam ekstrak tersebut.

Metode BSLT telah digunakan dalam pengujian toksisitas ekstrak tanaman pada banyak penelitian. Penelitian yang dilakukan oleh Braja (2008) menunjukkan hasil bahwa Ekstrak etanol daun *F. elastica* terdapat flavonoid dan saponin yang bersifat toksik berdasarkan uji BSLT. Selanjutnya, pada penelitian yang dilakukan oleh Aritan dkk. (2019) menunjukkan hasil bahwa

Ekstrak etanol daun *Ficus septica* Burm F yang di uji toksisitasnya dengan menggunakan metode BSLT menunjukkan nilai LC50 sebesar 39,710 dan terkandung senyawa flavonoid, alkaloid, dan tanin. Penelitian yang dilakukan oleh Hasanah & Wijayanti (2019) yakni uji Toksisitas akut pada Kombucha daun *Ficus carica* dengan menggunakan metode BSLT menunjukkan nilai LC50 sebesar 139,99 ppm dan berpotensi toksik sedang.

Penelitian mengenai uji toksisitas ekstrak daun *F. elastica* Roxb. ex Hornem dan *F. benjamina* dengan berbagai jenis pelarut telah dilaksanakan pada penelitian terdahulu, namun pengembangan pada jenis pelarut metanol dan kombinasi pada kedua ekstrak tersebut belum pernah dilaksanakan sebelumnya. Berdasarkan uraian tersebut, maka pada penelitian ini akan dilakukan uji toksisitas ekstrak metanol daun *F. elastica* roxb. ex hornem dan *F. benjamina* terhadap larva *A. salina* leach dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

## 1.2 Rumusan Masalah

1. Apa saja jenis senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak metanol daun *Ficus elastica* Roxb. ex Hornem dan *Ficus benjamina*?
2. Bagaimanakah tingkat toksisitas dan nilai LC50 ekstrak Metanol daun *Ficus elastica* Roxb. ex Hornem dan *Ficus benjamina* serta kombinasinya terhadap Larva *Artemia salina* Leach dengan menggunakan metode BSLT (*Brine Shrimp Letality Test*) ?

## 1.3 Tujuan

1. Untuk mengetahui apa saja jenis senyawa yang terdapat dalam ekstrak metanol daun *Ficus elastica* Roxb. ex Hornem dan *Ficus benjamina* serta kombinasinya yang mempunyai potensi toksisitas terhadap larva udang *Artemia salina* Leach.
2. Untuk mengetahui tingkat toksisitas dan nilai LC50 Ekstrak Metanol Daun *Ficus elastica* Roxb. ex Hornem dan *Ficus benjamina* serta kombinasinya terhadap Larva *Artemia salina* Leach dengan menggunakan metode BSLT (*Brine Shrimp Letality Test*)











mempunyai banyak aktivitas farmakologi diantaranya sebagai antiinflamasi, antioksidan, antimikroba, sehingga perlu dilakukan isolasi terhadap golongan flavonoid tersebut. Fraksi etilasetat yang diperoleh dari hasil fraksinasi ekstrak metanol dan dari hasil pemisahan lanjutan dengan menggunakan kromatografi kolom dihasilkan isolat yang menunjukkan hasil flavonoid dengan golongan flavon berdasarkan data spektrofotometri UV-Vis (Ratnawati *et al.*, 2011).

Penelitian tentang tumbuhan *F. benjamina* yang dilakukan oleh Almahy *et al.*, (2003) menunjukkan bahwa pada daun *F. benjamina* terkandung beberapa senyawa kimia diantaranya yakni cinnamic acid, narigenin, lactosa, quercetin, dan caffeic acid. Beberapa senyawa tersebut diketahui memiliki aktivitas sitotoksik terhadap cell line T-Lymphoblastic Leucemic (CEMSS), lalu pada bagian kulit batang tumbuhan *F. benjamina* terkandung stigmasterol.

Farihah (2008) pada penelitian yang dilakukan, menunjukkan bahwa terdapat sifat toksik pada daun *F. benjamina* terhadap *Artemia salina* Leach.

Penelitian yang dilakukan oleh Hasti *et al.*, (2011) juga menunjukkan pada berbagai fraksi pada ekstrak etanol yakni fraksi nheksan dan etil asetat akar gantung tumbuhan *F. benjamina* memiliki efek analgetika.

#### 2.1.5 Efek Farmakologi Beringin (*Ficus benjamina*)

Beringin atau *F. benjamina* memiliki khasiat tersendiri yang biasa digunakan oleh masyarakat untuk mengobati berbagai macam penyakit tertentu, terlebih lagi pada bagian akar udara dan daunnya. Akar udara pohon ini memiliki manfaat untuk membantu penyembuhan penyakit pilek, demam, radang amandel, dan rematik. Daunnya memiliki manfaat untuk mengatasi penyakit malaria, radang usus akut, bronkitis, disentri, kejang panas pada anak dan influenza. Selain beberapa penyakit tersebut, akar udara dan daun beringin juga bermanfaat sebagai antiperitik, antibiotik, antiradang, peluruh keringat (diaforetik), dan peluruh kencing (deuretik) (Dalimartha, 1999).

#### 2.2 Tanaman Karet Kebo (*Ficus elastica* Roxb. ex Hornem)



Indonesia mulai diperkenalkan tentang perkebunan karet yakni pada tahun 1864, pengenalan perkebunan karet tersebut dibuka oleh salah satu tokoh perkebunan yakni Hofland lebih tepatnya di wilayah Pamanukan dan Ciasem, Jawa Barat. kegiatan pengenalan perkebunan karet tersebut untuk pertamakalinya kepada masyarakat Indonesia, tanaman yang ditumbuhkan pada areal perkebunan karet tersebut yaitu *F. elastica*. Dari penanaman pada perkebunan karet tersebut muncul sebuah nama lokal *F. elastica* yang biasa kita kenal dengan tumbuhan Karet Kebo. Lalu setelahnya, pada jenis karet *Hevea brasiliensis* Muell. Arg dilakukan penanaman di daerah Sumatera Timur yakni pada tahun 1902 dan mengalami perkembangan pada tahun 1906 dengan adanya penanaman yang dilakukan di pulau jawa (Nazaruddin & Paimin, 2005).

### 2.2.3 Karakteristik Karet Kebo (*Ficus elastica* Roxb. ex Hornem)

*F. elastica* merupakan salah satu tanaman yang memerlukan bantuan dari cahaya matahari penuh hingga sedikit naungan dan tanah berhumus yang diketahui pada tanah tersebut terkondisikan dengan drainase yang baik (Dwiyani, 2013). Tanaman *F. elastica* memiliki bentuk pohon yang unik dan dapat kita amati pada gambar 2.2, pada tanaman ini memiliki sebutan lokal yakni yang biasa kita kenal dengan sebutan Karet Kebo. Terdapat karakteristik morfologi yakni sebagai berikut ini :

#### a. Akar

*F. elastica* atau karet kebo memiliki sistem perakaran yakni akar tunggang serta pada *F. elastica* didapati memiliki akar udara yang terlihat mirip dengan pohon beringin jika diamati, sistem perakaran tunggang pada *F. elastica* ini menimbulkan kemampuan dalam penopangan bagian batang tanaman yang sedang tumbuh tinggi. Pada sistem perakaran ini juga dapat menyebar cukup luas sehingga tanaman dapat mengalami pertumbuhan sekalipun pada kondisi yang tidak menguntungkan untuk mengalami pertumbuhan bagi *F. elastica* atau karet kebo untuk melakukan proses pertumbuhan (Setiawan, 2017).

## b. Batang

*F. elastica* memiliki batang yang tegak dan berkayu serta memiliki bentuk bulat silindris, memiliki warna coklat tua pada bagian batangnya, berpermukaan halus dan pada percabangannya tidak beraturan sehingga dapat berpengaruh pada pohon sehingga terlihat rindang. pada bagian akarnya diketahui mengeluarkan akar-akar yang menggantung dari batangnya atau cabang yang sudah tua dan terlihat berukuran lebih besar. Batang dari tumbuhan *F. elastica* memiliki bentuk pohon yang berusia panjang atau dapat disebut dengan perennial. Tinggi tanaman *F. elastica* biasa dijumpai dengan tinggi kisaran pada ukuran 20 m sampai 30 m. Pada tanaman karet kebo, percabangan dari bagian batangnya yakni percabangan simpodial, yakni merupakan suatu percabangan tumbuhan dimana batang pokok dan batang percabangannya sukar untuk dibedakan, karena pada tumbuhan yang memiliki jenis percabangan simpodial umumnya ketika percabangan batang pada tanaman ini mengalami perkembangan lebih lanjut, maka yang akan terjadi adalah pertumbuhan percabangan batang tersebut dapat menghentikan pertumbuhan dari batang pokoknya.

Menurut Wibawani & Ainun (2015) pada tanaman jenis ficus khususnya pada *F. elastica* dan *F. callosa* terdapat sebuah seludang pembuluh mengelilingi xylem dan floem, ciri tersebut cenderung dimiliki oleh jenis tumbuhan C4 yang lebih dominan memiliki sifat adaptif di daerah panas. Hal ini berbeda jika dibandingkan dengan beberapa jenis ficus lainnya yang tidak terdapat seludang pembuluh mengelilingi xylem dan floemnya beberapa jenis tumbuhan ficus lainnya seperti pada *F. septica*, *F. rubiginosa*, *F. pisocarpa*, dan *F. Benjamina*.

## c. Daun

Daun *F. elastica* merupakan daun tunggal yang diketahui sistem daunnya tersusun secara selang-seling dan bertangkai. Pertulangan



Buah tumbuhan *F. elastica* memiliki bentuk membulat, jika diamati berbentuk seperti telur ayam dengan panjang buahnya sekitar 1cm serta memiliki warna kuning kehijau-hijauan. Buahnya merupakan buah buni atau yang dikenal dengan buah berdaging yang dihasilkan dari bakal buahnya sendiri atau ovarium tunggal, lapisan pembungkusnya memiliki tekstur yang lunak, lapisan terluarnya memiliki tekstur yang berbeda dengan lapisan pembungkusnya yakni bertekstur lebih tipis dan lapisan dalamnya memiliki tekstur yang lebih tebal, lunak dan banyak terkandung air. *F. elastica* memiliki ukuran buah dengan diameter sekitar 1 cm sampai 2 cm. Bijinya memiliki bentuk bulat yang berwarna putih. Biji *F. elastica* biasanya terdapat dalam setiap ruang buahnya. Pada *F. elastica* secara umum memiliki jumlah biji yakni sebanyak tiga. Namun, terkadang dalam *F. elastica* dijumpai biji dengan jumlah enam yang menyesuaikan dengan jumlah ruang buahnya. Biji pada *F. elastica* memiliki kulit yang keras dan berwarna khas coklat tua kehitaman dan dilengkapi dengan banyak bercak-bercak berpola seperti pola pada batik (Setiawan, 2017). Ficus memiliki kemampuan untuk berbuah dengan waktu yakni sepanjang tahun hal tersebut menurut Nason (1998) menjadikan ficus sebagai golongan tumbuhan yang dapat digunakan sebagai *key species* dalam suatu hutan hujan tropis.

#### 2.2.4 Kandungan Karet Kebo (*Ficus elastica* Roxb. ex Hornem)

*F. elastica* memiliki banyak kandungan bermanfaat yang dapat dimanfaatkan pada berbagai macam kebutuhan di berbagai bidang, khususnya pada bidang kesehatan. Kandungan tumbuhan ficus tersebut ditunjukkan oleh beberapa penelitian yang telah dilakukan oleh beberapa peneliti. seperti dalam penelitian yang telah dilakukan oleh El-Hawari dkk. (2012) menunjukkan bahwa pada tanaman berspesies *Ficus* terdapat beberapa kandungan yakni diantaranya seperti glikosida, flavonoid, asam fenolat, alkaloid, steroid, saponin, kumatin, tannin, dan triterpenoid. Kandungan-kandungan senyawa tersebut dapat digunakan dalam pengolahan berbagai jenis ragam kebutuhan, misalnya dalam bidang

kesehatan kandungan-kandungan senyawa tersebut dapat digunakan sebagai bahan dasar dalam pembuatan obat-obatan yang dapat menyembuhkan berbagai penyakit spesifik. Lalu, dalam tumbuhan berspesies *Ficus* khususnya *F. elastica* sendiri juga memiliki senyawa-senyawa spesifik yang terkandung didalam tumbuhan tersebut, diantaranya menurut penelitian Braja (2008) yaitu terdapat flavonoid dan saponin pada ekstrak etanol 70% daun *F. elastica*. Tidak hanya pada bagian daunnya saja, pada bagian getah tumbuhan *F. elastica* juga terdapat beberapa kandungan zat yang memiliki manfaat tertentu. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Hari dkk. (2011) menunjukkan bahwa dalam getah *F. elastica* terdapat beberapa kandungan-kandungan yang dapat digunakan dalam pengolahan pada berbagai bidang yaitu flavonoid, alkaloid, asam organik dan triterpen.

*F. elastica* atau tanaman Karet kebo, terkandung beberapa bahan kimia dalam tanaman tersebut. Salah satu diantara bahan kimia tersebut yakni getah yang berupa senyawa karet atau lateks. Karet kebo juga memiliki rasa yang cenderung pedas dan sifatnya yakni netral (Suriani dkk., 2017).

#### 2.2.5 Efek Farmakologi Karet Kebo (*Ficus elastica* Roxb. ex Hornem)

Pada *F. elastica* atau tanaman karet kebo sendiri menurut Suriani dkk. (2017) dapat digunakan sebagai tumbuhan untuk mengobati beberapa jenis penyakit, dari beberapa jenis penyakit tersebut diketahui diantaranya yaitu seperti bisul, maag, *amenorrhoea* sekunder, dan penyakit rematik persendian. Pada pemanfaatan tumbuhan *F. elastica* untuk mengobati berbagai macam penyakit, langkah-langkah pengolahan yang tepat untuk memanfaatkannya sebagai pengobatan tradisional yakni dengan cara bisa langsung dikonsumsi dengan cara melakukan perebusan 30-50 g akar lalu diminum sesuai selera. Lalu, bisa juga digunakan sebagai obat dengan cara pemakaian luar pada daerah yang berindikasi terdapat suatu penyakit tertentu yang dapat diobati dengan tanaman *F. elastica*, langkah pengobatan yang dilakukan ketika melakukan pengobatan dengan *F. elastica*, beberapa diantaranya adalah penyakit rematik dan bisulan. pada bagian luar tubuh yaitu bisa dengan

melakukan penggilingan akar *F. elastica* terlebih dahulu secukupnya hingga halus dan di bubuhkan atau ditempatkan pada bagian yang sakit.

Pada beberapa penelitian juga menunjukkan bahwa pada tanaman *F. elastica*, memiliki potensi untuk menghambat pertumbuhan sel kanker dan sebagai bahan dasar agent anti bakteri spesifik, hal ini diperkuat dengan adanya penelitian yang dilakukan oleh Mbosso dkk. (2012) dalam penelitian tersebut ditunjukkan secara spesifik bahwa pada kulit akar udara pada tumbuhan *F. elastica* memiliki kandungan ficusamide yang aktif dan dapat berperan aktif sebagai agent anti bakteri pada *Staphylococcus saprophyticus* serta memiliki kemampuan dalam penghambatan pertumbuhan sel kanker paru A549.

Selain dapat digunakan sebagai bahan alam agent anti kanker dan dapat digunakan sebagai pengobatan berbagai jenis penyakit dengan kandungan-kandungan senyawa aktif didalamnya, *F. elastica* juga dapat digunakan sebagai Biolarvasida beberapa nyamuk yang dapat berpotensi sebagai vektor penyebaran penyakit yang berbahaya dan banyak mengancam korban jiwa khususnya bagi manusia. Pemanfaatan *F. elastica* sebagai Biolarvasida tersebut mengacu dalam sebuah penelitian yang dilakukan oleh Govindrajan (2010), penelitian tersebut menunjukkan bahwa pada tumbuhan *F. elastica* yang merupakan golongan tumbuhan satu genus dengan tumbuhan *F. benghalensis* dapat dilakukan pengolahan pada daunnya, dengan dilakukan pengekstraksian menggunakan pelarut yakni benzen, hasil dalam penelitian tersebut menunjukkan bahwa *F. elastica* dapat berperan aktif sebagai Biolarvasida dalam larva nyamuk diantaranya yaitu larva *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti*, dan *Culex quinquefasciatus* yang memiliki rentan usia yakni pada usia instar III. Pada penelitian ini konsentrasi yang efektif untuk pemanfaatan *F. elastica* sebagai agent Biolarvasida yakni dengan nilai LC<sub>50</sub> 145,83; 116,09 dan 98,55 ppm. Lalu, dalam penelitian yang dilakukan oleh Braja (2008) pada *F. elastica* yang dilakukan pengolahan dengan cara pengekstrakan dengan menggunakan kloroform pada bagian daunnya, menunjukkan bahwa ekstrak tersebut memiliki sifat toksik pada larva *Artemia salina* Leach (BSLT). Pada penelitian tersebut memunculkan suatu nilai

kefektifan konsentrasi ekstrak daun *F. elastica* dengan menggunakan kloroform yakni dengan nilai LC<sub>50</sub> sebesar 260,223 ppm.

### 2.3 Toksisitas

Manusia selalu melakukan interaksi dengan berbagai macam bahan atau senyawa kimia, interaksi tersebut dapat berjalan pada bahan atau senyawa kimia alami maupun buatan. Senyawa-senyawa tersebut ada yang tidak menimbulkan efek berbahaya namun juga terdapat bahan atau senyawa kimia yang dapat menimbulkan efek yang berbahaya. Banyak tanaman dan hewan menghasilkan zat-zat beracun baik untuk tujuan defensif dan ofensif. Racun alami binatang, tanaman dan bakteri terdiri dari berbagai jenis bahan kimia, yang dapat menyebabkan berbagai efek beracun dan dapat menyebabkan keracunan pada manusia (Timbrell, 2002). Toksisitas bisa diartikan sebagai segala sesuatu yang mempunyai efek berbahaya yang berasal dari zat kimia atau obat kepada organisme target (Hayes, 1984). Menurut Lu (1991) menjelaskan bahwa toksikan dapat terdistribusi pada berbagai bagian-bagian tubuh, hal ini disebabkan oleh adanya penyerapan pada saluran pencernaan, paru-paru, dan kulit (Lu, 1991). Jika ditinjau secara harfiah, tujuan dari pengembangan obat tradisional yakni untuk dimanfaatkan sebagai obat yang diperlukan oleh manusia, berkaitan dengan hal tersebut, uji toksisitas pada tanaman sebagai bahan dasar obat tradisional diharuskan dapat menunjukkan keamanannya, sehingga aman untuk digunakan nantinya (Depkes RI, 2000).

Toksisitas adalah suatu kemampuan senyawa kimia atau molekul yang dapat memunculkan gejala kerusakan dalam bagian yang memiliki kepekaan pada bagian dalam maupun bagian luar tubuh makhluk hidup (Durham, 1975). Toksisitas bisa diartikan sebagai kemampuan suatu zat untuk menimbulkan gejala kerusakan (Katzung, 1987). Toksisitas merupakan sifat relatif toksikan yang berketerkaitan dengan potensinya yang dapat mengakibatkan efek negatif bagi makhluk hidup yang mana dapat dipengaruhi oleh faktor-faktor, diantaranya adalah komposisi dan jenis toksikan, konsentrasi toksikan, waktu dan frekuensi pemaparan, sifat lingkungan, dan spesies biota penerima. Menurut penelitian Halang (2004) melaporkan bahwa toksikan dapat

menimbulkan efek negatif bagi biota dalam bentuk perubahan struktur maupun fungsional, efek negatif tersebut baik secara akut maupun kronis atau sub kronis. Efek tersebut dapat bersifat reversibel sehingga dapat pulih kembali dan dapat pula bersifat irreversibel yang tidak mungkin untuk pulih kembali.

Toksisitas berkaitan erat dengan toksikan yang memiliki potensi untuk menimbulkan gejala negatif bagi makhluk hidup, toksikan yakni suatu zat (berdiri sendiri atau dalam campuran zat, limbah, dan sebagainya) yang dapat menimbulkan efek negatif bagi semua atau sebagian dari berbagai macam tingkat organisasi biologis (populasi, individu, organ, jaringan, sel, biomolekul) dalam bentuk merusak struktur maupun fungsi biologisnya. Parameter yang digunakan sebagai penunjuk adanya aktivitas biologis suatu senyawa pada *Artemia salina* adalah suatu kematian. Keuntungan penggunaan artemia sebagai hewan uji adalah kepraktisannya dalam pelaksanaannya, waktu yang relatif tergolong singkat dan konsentrasi kecil sudah dapat menimbulkan aktivitas biologi tertentu pada hewan uji (Meyer *et al.*, 1982).

Pengujian toksisitas yang dilakukan pada suatu ekstrak tanaman, secara umum dilakukan guna mengetahui tingkatan keamanan suatu ekstrak yang diuji. Pengujian toksisitas dapat dilakukan menggunakan hewan uji. Salah satu hewan uji yang sesuai adalah brine shrimp atau udang laut dengan jenis spesies yakni *A. salina*, pada hewan uji ini diketahui merupakan jenis udang-udangan primitif, pertama kali ditemukan di wilayah Lymington, Inggris pada tahun 1755 dan termasuk kedalam golongan family crustaceae tingkat rendah dari phylum arthropoda (Sukandar, 2007).

## 2.4 Uji Toksisitas

Uji toksisitas dapat dikelompokkan secara umum, pengelompokan pada uji toksisitas tersebut dapat dibedakan menjadi 3 kelompok yang berdasarkan waktu uji toksisitas tersebut berlangsung, yaitu yang pertama terdapat uji toksisitas akut, yang dilakukan dengan cara memberikan perlakuan bahan alam pada hewan uji sebanyak satu kali dalam jangka waktu pengujian selama 24 jam. Selanjutnya, terdapat uji toksisitas subkronis, adalah uji toksisitas dengan waktu jangka pendek yang dilakukan dengan cara memberikan perlakuan

bahan alam secara berulang-ulang, biasanya dapat dilakukan setiap hari atau bisa juga dilakukan sebanyak lima kali seminggu, selama jangka waktu kurang lebih 10% dari masa hidup hewan uji yang digunakan. Berikutnya, terdapat uji toksisitas kronik, adalah uji toksisitas yang merupakan uji toksisitas jangka panjang, dapat dilakukan dengan cara memberikan perlakuan atau bahan alam secara berulang-ulang selama masa hidup hewan uji yang digunakan dalam penelitian atau sebagian besar masa hidupnya (Loomis, 1978).

Permenkes RI no.760/Menkes/sk/ix/1992 (2020) menunjukkan bahwa terdapat macam – macam uji toksisitas yang digunakan dalam kepentingan fitofarmaka atau pembuatan obat menggunakan bahan alam yang telah dibuktikan dan teruji pada keamanan dan khasiat yang ditimbulkan secara ilmiah, yakni dengan menggunakan uji praklinik dan uji klinik. Macam – macam uji toksisitas tersebut meliputi sebagai berikut :

- a. Uji toksisitas akut. Pada uji toksisitas akut meliputi pemberian beberapa dosis tunggal yang dilakukan bertingkat secara teratur pada beberapa kelompok hewan uji yang digunakan dalam penelitian dan memiliki jenis yang sama.
- b. Uji toksisitas sub akut. Uji toksisitas sub akut dapat dilakukan dengan beracuan pada hasil uji toksisitas akut. Pada uji toksisitas sub akut, dapat menunjukkan suatu gambaran mengenai toksisitas calon bahan alam fitofarmaka pada penggunaan berulang untuk jangka waktu yang cukup relatif lama.
- c. Uji toksisitas kronik. Uji toksisitas kronik merupakan uji yang diprioritaskan pada calon bahan alam fitofarmaka yang dalam pelaksanaannya dilakukan secara berulang atau berlanjut pada jangka waktu yang relatif sangat lama dan bisa diestimasi selama lebih dari 6 bulan. Uji toksisitas pada kelompok ini memberikan gambaran mengenai toksisitas atau keamanan bahan alam calon fitofarmaka pada penggunaan dosis yang sesuai, secara berulang selama masa hidup hewan uji yang digunakan.

d. Uji toksisitas spesifik. Pada uji toksisitas ini yakni dapat dimisalkan pada uji teratogenesis, karsinogenesis, mutagenesis, uji toksisitas terhadap janin, uji pada fungsi reproduksi dan uji-uji toksisitas yang lainnya. Perlu atau tidaknya dilakukan uji-uji tersebut berdasarkan pada kemungkinan terjadinya efek-efek toksik tersebut, sehubungan dengan pemakaiannya pada manusia. Misalnya uji teratogenesis atau uji toksisitas yang dilakukan pada janin, harus dilaksanakan apabila pemakaian klinik fitofarmaka nantinya diberikan saat masa-masa terjadinya organogenesis dan kehamilan. Uji mutagenesis dan karsinogenesis. Uji mutagenesis dan karsinogenesis harus dilakukan apabila fitofarmaka dipakai secara kronik, pelaksanaan pada uji ini wajib memenuhi langkah-langkah standar yang telah ditentukan. Untuk sediaan yang digunakan dengan cara topikal, disyaratkan untuk dilakukan uji toksisitas secara topikal misalnya pada iritasi kulit pada model hewan percobaan yang sesuai.

Uji toksisitas akut adalah suatu uji dengan melakukan pemberian suatu senyawa hewan uji pada waktu tertentu atau uji sifat ketoksikan suatu senyawa yang dipaparkan dengan dosis tunggal pada hewan uji tertentu dan melakukan pengamatan pada kurun waktu 24 jam. Pengertian dari istilah toksisitas akut yakni untuk menentukan suatu gejala yang ditimbulkan dan tingkat kematian hewan uji akibat pemaparan senyawa tersebut. Pengamatan aktivitas biologi uji toksisitas akut yakni dengan melakukan pengamatan gejala klinik yang ditimbulkan, kematian hewan uji atau pengamatan organ (Loomis, 1978).

Uji toksisitas adalah uji pra-klinik yang difungsikan sebagai langkah awal dalam mengetahui bagaimana potensi toksik suatu senyawa kimia atau bahan alam. uji toksisitas memiliki tujuan akhir yaitu untuk mengkategorikan tingkat keamanan dan efektifitas penggunaan senyawa kimia atau bahan alam tertentu yang nantinya akan digunakan sebagai obat suatu penyakit pada manusia. Uji toksisitas jika ditinjau secara etika tidak memungkinkan langsung dilakukan pengujian pada manusia. Oleh karenanya, pengujian tersebut dapat dilakukan pada binatang yang bertindak sebagai hewan coba, hewan bersel tunggal atau sel kultur. Data-data hasil uji toksisitas dapat diekstrapolasikan pada manusia, sehingga diperoleh batasan-batasan nilai yang dapat diterapkan pada manusia

ketika hendak mengolah suatu senyawa kimia yang terdapat dalam bahan alam tertentu (Wirasuta & Niruri, 2006).

Uji toksisitas dapat digunakan sebagai uji penentu potensi suatu zat atau senyawa sebagai racun, dapat mengetahui kondisi biologis atau lingkungan sumber sifat toksik dan mengkarakterisasi efek yang ditimbulkan dari suatu zat tertentu. Uji toksisitas terbagi menjadi dua yakni uji *in vivo* dan *in vitro*. Uji *in vivo* meliputi uji toksisitas akut, uji subkronik dan uji kronik. Sedangkan pada uji *in vitro* meliputi uji mutagenesis “prokariot dan eukariot” dan penyimpangan-penyimpangan yang terjadi pada kromosom akibat suatu toksikan (Wirasuta dan Niruri, 2006).

## **2.5 BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)**

Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) adalah salah satu metode yang biasa difungsikan sebagai metode uji dalam mengetahui potensi toksik suatu senyawa yang diproduksi dari suatu ekstrak tanaman terhadap sel dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* sebagai bioindikatornya. Metode BSLT juga dapat digunakan sebagai skrining awal untuk aktivitas antikanker senyawa kimia dalam ekstrak tanaman (Lisdawati dkk., 2006).

*Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) adalah salah satu metode yang digunakan pada pengujian bahan-bahan yang memiliki sifat toksik dan pada metode ini dapat difungsikan sebagai suatu *bioassay* yang pertama pada penelitian bahan alam serta dapat digunakan sebagai pengujian agen antitumor, pestisida, dan skrining ekstrak tumbuhan untuk aktivitas farmakologinya (kuete, 2013). Uji toksisitas yakni menggunakan metode BSLT diketahui prosedurnya dengan menentukan nilai  $LC_{50}$  dari aktivitas komponen aktif suatu tanaman terhadap gejala yang ditimbulkan oleh larva *A. salina* Leach sebagai hewan uji (Meyer dkk., 1982).

Metode BSLT digunakan sebagai metode uji toksisitas dipilih dengan beberapa sebab, diantaranya yakni metode BSLT adalah metode penyaringan farmakologi awal yang dikenal lebih mudah dan murah, cepat serta tidak membutuhkan suatu langkah atau metode spesialisasi tertentu. (Baud dkk.

2014). selanjutnya, pemilihan metode BSLT yakni telah teruji dan terpercaya hasilnya ketika digunakan metode ini dalam suatu pengujian, dengan tingkat keakuratan sebesar 95% untuk mengamati tingkat toksisitas suatu senyawa. Tujuan pada pengujian tersebut yakni sebagai langkah untuk mengetahui sifat toksik suatu senyawa alam, Sehingga dapat dijadikan acuan referensi ketika hendak melakukan pengolahan tertentu pada senyawa alam tersebut. Sifat toksik dari suatu senyawa tersebut nantinya dapat dikembangkan sebagai obat anti kanker.

Tingkat toksisitas pada ekstrak dapat ditentukan pada nilai LC50nya. Nilai LC50 ditentukan dengan menggunakan sebuah perhitungan analisis yakni analisis probit. Dari persentase data kematian larva artemia yang didapatkan setelah uji selanjutnya dikonversikan ke nilai probit untuk menghitung harga LC50. Apabila nilai LC50 menunjukkan nilai <1000 µg/ml maka senyawa yang telah diuji tersebut dapat dikatakan toksik. Apabila pengujian dengan larva artemia menghasilkan nilai LC50 sebesar < 1000 µg/ml maka dapat dilanjutkan dengan pengujian antikanker menggunakan biakan sel kanker. Cara tersebut akan menghemat waktu dan biaya pada suatu penelitian toksisitas (Meyer *et al.*, 1982).

#### 2.5.1 Hewan Uji (*Artemia salina*)

Hewan uji yang hendak digunakan pada penelitian toksisitas dengan menggunakan metode BSLT adalah larva udang *Artemia salina*. *A.salina* (Brine Shrimp) adalah salah satu jenis zooplankton yang tergolong Famili Artemiidae. (Hiola dkk., 2014). Negara-negara yang terdapat didunia menyebut *A. salina* dengan bermacam-macam nama atau sebutan lokal tersendiri, diantaranya yakni sebagai berikut ini: Inggris menyebutnya dengan sebutan brine shrimp, Italia dan Spanyol menyebutnya dengan (Verme de sale), lalu di negara Belanda menjulukinya dengan sebutan (brineworm), Rusia menyebutnya (Sofereg), dan di negara Arab *A.salina* memiliki nama lokal (bahar el dud) dan lain-lain. (Penggabean, 1984).

##### a. Klasifikasi *Artemia salina*



*A. salina*, yaitu bagian dalam atau *embrionik* dan bagian luar atau *korion*. Diantara dua bagian tersebut terdapat lapisan-lapisan yang biasa disebut dengan selaput kutikuler luar. Kista *A. salina* memiliki diameter 200 hingga 300  $\mu\text{g}$  dan bobot keringnya memiliki berat sebesar 3.65  $\mu\text{g}$  dengan berat masing-masing yakni 0.75  $\mu\text{g}$  cangkang dan 2.9  $\mu\text{g}$  untuk berat embrio. (Rizaldy, 2013).

Menurut Adi dkk. (2006) menjelaskan pada usia kista tertua *Artemia* yang ditemukan disuatu wilayah Danau Salt Great oleh salah satu perusahaan pemboran, jika ditinjau berdasarkan metode *carbon dating*, kista *A. salina* tersebut memiliki usia sekitar 10.000 tahun. Setelah ditemuka kista tersebut dan dilakukan uji penetasan kista, kista tersebut masih bisa menetas meskipun memiliki usia yang lebih dari 10.000 tahun.

## 2. Larva *Artemia salina*

larva *A. salina* setelah mengalami penetasan disebut nauplius atau naupli. Naupli dalam tahapan pertumbuhannya dapat memasuki fase perubahan bentuk sebanyak 15 kali. Pada perubahan-perubahan bentuk tersebut adalah satu tingkatan yang disebut instar dan pada tiap-tiap tahap dalam perubahannya, instar mengalami *moulting* atau ganti kulit. (Pitoyo, 2004).

Fase instar I *A. salina* (larva awal) memiliki warna coklat dengan sedikit warna oranye, karena masih terkandung kuning telur atau yolk dan ukurannya berkisar antara 400 hingga 500 mikron. Pada fase instar I tersebut, *A. salina* belum bisa melakukan pengambilan nutrisi karena mulut dan anusnya masih belum tersusun dengan sempurna. Setelah kurang lebih selama 12 jam, larva *A. salina* dengan usia instar I akan mengalami pergantian kulit menjadi instar II (Adi dkk., 2006). Larva *A. salina* ketika melalui tahap naupli pada struktur penyusunnya terdapat sepasang antenulla dan antena, hanya mempunyai satu mata atau *ocellus*, dan mempunyai sepasang mandibula dibagian belakang



bagian pada kanan dan kiri saluran pencernaannya. (Sugianti, 2007).

*A. salina* ketika memasuki fase dewasa, pada hewan ini telah mempunyai insting kemampuan untuk berenang dengan menggunakan anggota badannya. *A. salina* dewasa mempunyai satu mata pada bagian wilayah tengah, dua mata lateral, dan otak yang berbentuk cukup sederhana yang jika diamati lebih detail bentuknya menyerupai seperti cincin yang mengitari daerah di bagian mulut. *A. salina* dewasa memiliki panjang tubuh yang berbeda pada setiap jantan dan betinanya, panjang tubuh jantan memiliki ukuran sebesar 8-10 mm dan panjang betina tubuh betina memiliki panjang sekitar 10-12 mm, serta mempunyai warna yang bervariasi, variasi warna pada *A. salina* bergantung pada konsentrasi garam pada air dilingkungan hidupnya *green tored* (merah pada konsentrasi tinggi) (Dumitrascu, 2011).

#### 4. Siklus hidup *Artemia salina*

Siklus hidup pada *A. salina* diketahui terdapat 3 fase yakni fase kista, fase naupli dan fase dewasa (Ningdyah dkk., 2015). Fase kista adalah fase ketika *A. salina* berwujud sebuah telur yang terlapisi oleh cangkang. Selanjutnya, kista dapat menetas menjadi embrio yang masih didapati menempel pada wilayah kulit, hal ini terjadi setelah 15 sampai 20 jam. Pada fase kista, embrio menyempurnakan perkembangannya dan mengalami perubahan menjadi naupli yang telah memiliki kemampuan untuk berenang bebas. Selanjutnya, akan dilanjutkan oleh fase perkembangan larva atau disebut sebagai fase instar hingga menuju fase dewasa (Adi dkk., 2006).

*A. salina* memiliki 2 jenis tertentu, jika diamati berdasarkan cara berkembang biaknya, dua jenis tersebut meliputi biseksual dan parthenogenesis. Perkembangbiakan *A. salina* masing-masing dapat terjadi, sesuai dengan jenisnya. Baik pada perkembangbiakan jenis biseksual maupun perkembangbiakan berjenis

pertenogenesis, keduanya berlangsung secara ovovivipar maupun ovipar. (Ramdhini, 2010).

Pada perkembang biakan secara ovovivipar, larva *A. salina* pada fase *nauplius* langsung dikeluarkan yang semula berada pada indukannya, sedangkan pada jenis perkembangbiakan ovipar induk *A. salina* akan mengeluarkan telur berlapis cangkang yang biasa disebut *siste* (sista) atau kista (Ramdhini, 2010).

*A. salina* pada fase dewasa dapat menghasilkan kista berkisar antara 50-300 butir. Terbentuknya lapisan cangkang kista dimulai ketika berada pada lingkungan yang memiliki kadar oksigen rendah atau *euroksibion*, oleh karenanya untuk menanggulangi peristiwa kesulitan dalam pernapasan pada telur tersebut, maka terbentuklah hemoglobin yang berada pada darahnya. Jika suatu kista *A. salina* berada dilingkungan yang dapat dikatakan baik, maka kista akan mengalami tahap penetasan menjadi larva yang disebut dengan nauplius. Nauplius akan terus mengalami perkembangan menjadi artemia dewasa setelah mengalami 15 kali perubahan bentuk hingga sebanyak 15 kali dalam kurun waktu 8 hari (Adi dkk. 2006).

*A. salina* jika memasuki telah memasuki tahapan menjadi kista maka ukuran tubuhnya berkisar antara 0,2 sampai 0,3 mm, dan ketika telah memasuki fase nauplia ukuran tubuhnya dapat mencapai 0,45 mm pada kurun waktu 24-36 jam. Hidrasi lengkap *A. salina* pada fase kista hanya membutuhkan waktu sekitar 1 jam. Nauplia kemudian akan memasuki fase menjadi kista dewasa dengan ukuran tubuh yakni maksimal pada 13 mm dalam kurun waktu sekitar 3 minggu bergantung ketersediaan pangan dilungkungan sekitarnya. Kista *A. salina* juga diketahui memiliki ketahanan hidup pada kondisi lingkungan yang ekstrim dengan suhu 80°C. Kista terhidrasi dan tewas pada suhu rendah dibawah 0°C serta pada suhu tinggi *A. salina* akan terhidrasi dan mati pada



melindungi embrio dari pengaruh gejala perubahan lingkungan yang dapat mengancam kelangsungan hidup telur *A.salina*. Kista tersebut memiliki kemampuan untuk mengapung pada permukaan perairan karena kadar garam yang tinggi (Penggabean, 1984 ). *A.salina* dewasa menghasilkan kista pada kisaran nilai kadar garam yakni sebesar 150 ppt dan akan mengalami penetasan saat lingkungan terkondisikan baik (Rizaldy, 2013). Menurut Hiola dkk. (2014) untuk memudahkan proses penetasan telur *A.salina* dapat menggunakan air laut yang sudah terkondisikan memiliki salinitas antara 10-30 ppt.

*A.salina* dapat mempertahankan hidupnya dan mengalami perkembangan dengan sangat baik pada kisaran suhu antara 25-30 °C dengan salinitas tertentu yakni 30 ppt, karena tidak dibutuhkannya energi yang sangat banyak untuk melakukan adaptasi dengan lingkungan sekitarnya. *A.salina* dapat mengkonsumsi plankton, detritus dan butiran halus melalui air yang telah masuk pada mulutnya (Penggabean, 1984).

#### 2.5.2 Alasan Penggunaan Hewan uji

Penggunaan *Artemia salina* yang dimaksudkan pada penelitian ini sebagai hewan uji dengan menggunakan metode BSLT, memiliki beberapa sebab tersendiri, *pertama*, *A.salina* memiliki tingkat sensitifitas yang tergolong tinggi pada perubahan atau gejala-gejala lingkungan dan kontaminasi bahan kimia yang berada pada suatu lingkungan tertentu (Ningdyah dkk., 2015).

*Kedua*, menurut Solis *et.al* (1993) menyatakan bahwa dalam penggunaan *A.salina* sebagai hewan uji dalam penelitian toksisitas beralasan bahwa *A.salina* memiliki kesamaan respon dengan mamalia. Kesamaan yang dimiliki oleh *A.salina* tersebut dapat berupa tipe DNA-*dependent RNA polymerase* yang sama dengan yang dimiliki oleh mamalia dan serta *A.salina* mempunyai *oubaine-sensitive Na<sup>+</sup> dan K<sup>+</sup> dependent TPAase*.

Kematian suatu sel pada makhluk hidup dapat diidentifikasi

berdasarkan pembentukan proteinnya. *DNA-dependent RNA polymerase* yakni merupakan suatu proses dimana transkripsi RNA oleh *RNA polymerase* akan diarahkan oleh DNA. Apabila *RNA polymerase* terhabat, maka DNA tidak dapat melakukan proses sintesis RNA sehingga RNA tidak akan terbentuk, hal tersebut yang dapat mengakibatkan penghambatan pada proses sintesis protein selanjutnya dan juga berpengaruh pada metabolisme sel yang juga mengalami gangguan sehingga sel mengalami kematian (Mutiyani, 2013).

Selain mempunyai *DNA-dependent* dan *RNA polymerase Artemia salina* juga mempunyai *ouabain-sensitive Na<sup>+</sup> dan K<sup>+</sup> dependent TPAase*. *Na<sup>+</sup> dan K<sup>+</sup> dependent TPAase* adalah enzim yang dapat melakukan hidrolisis ATP menjadi ADP dan dapat memanfaatkan energi untuk memasukkan  $2K^+$  pada sel dan akan mengeluarkan  $3Na^+$  yang berasal dari sel, kegunaan dari *ouabain* sendiri yakni sebagai penghambat ion  $Na^+$  dan  $K^+$  dan berperan dalam proliferasi sel. Jika suatu senyawa yang memiliki sifat toksik diketahui mempengaruhi *ouabain* maka yang akan terjadi adalah proliferasi sel menjadi terganggu sehingga mengakibatkan kematian sel pada organisme yang mengalami peristiwa tersebut (Mutiyani, 2013).

*Ketiga, A.salina* sangat umum untuk difungsikan sebagai hewan uji pada pelaksanaan pengujian toksisitas, karena memiliki keuntungan tersendiri ketika *A. salina* digunakan sebagai hewan uji, yakni pada kesederhanaan dalam pelaksanaan, diperlukan waktu yang tergolong relatif singkat, serta pada perlakuan dengan konsentrasi yang rendah dapat menimbulkan aktivitas atau gejala biologis tertentu pada *A. salina* (Sugianti, 2007).

*A. salina* Leach banyak difungsikan secara luas terlebih lagi pada penelitian pengujian toksisitas, karena pada *A.salina* tergolong hewan uji yang mempunyai jumlah besar pada ketersediaan telur dorman (kista) yang dapat dilakukan pemanenan di wilayah danau garam (Mayora, 2010). Telur dari *A.salina* juga diketahui dapat hidup dalam kondisi lingkungan yang kering selama bertahun-tahun, dan untuk proses

penetasan telurnya dibutuhkan waktu selama kurang lebih 48 jam (Kurniawan, 2011).

*A. salina* juga mempunyai karakter fisiologi yang sama dengan manusia, seperti pada sistem saraf pusat, vascular dan digestivus (Hanifah, 2015). *A. salina* didapati memiliki kulit dengan lapisan yang sangat tipis dan memiliki pori-pori yang cukup besar sehingga memudahkan senyawa-senyawa aktif masuk ke dalam tubuh. Kematian *Artemia salina* yang diakibatkan oleh suatu zat toksik yang dihasilkan oleh suatu senyawa aktif tertentu bisa dianalogikan sebagai kematian sel pada organisme (Hanifah, 2015).

*A. salina* Leach juga memiliki respon stress yang teridentifikasi sama dengan respon stress pada manusia. Respon *A. salina* jika dihadapkan dengan situasi yang penuh tekanan atau *stressful*, dapat memberikan keuntungan pada kemampuan bertahannya, sistem reproduksi, dan perilaku pada hewan. Jumlah stressor dan pengaruh stress pada *A. salina* dapat dikatakan relatif sederhana, walaupun demikian, *A. salina* mempunyai berbagai macam lingkungan untuk kelangsungan hidupnya atau lingkungan yang multidimensi. *A. salina* memiliki perkembangan yang lebih cepat pada adaptasi lingkungannya jika dibandingkan dengan lingkungan fisik dan budaya pada manusia, sehingga suatu respon maladaptif atau penyakit yang didapati oleh *A. salina* sangat cepat timbul. Seperti *A. salina*, otak pada manusia mempunyai peran untuk dapat merespon stressor suatu perilaku dan gejala yang timbul secara fisiologis. *A. salina* juga demikian, mempunyai kemampuan yang sama untuk dapat mengenali dan menyeleksi teman atau *A. salina* yang lain untuk menjaga adaptasi secara ekologi, seperti yang terjadi pada manusia sendiri (Gajardo, 2012).







metanol *Ficus benjamina* dan kombinasi kedua ekstrak yang digunakan dengan perbandingan 1:1 pada uji toksisitas menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

### **3.4.2 Variabel Terikat**

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah presentase kematian dan nilai LC50 larva *Artemia salina* Leach setelah pemberian ekstrak Metanol Daun *Ficus elastica* Roxb. ex Hornem dan *Ficus benjamina* dan kombinasi kedua ekstrak.

### **3.4.3 Variabel Kontrol**

Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah waktu pengamatan selama 24 jam, jenis spesies hewan uji yang digunakan pada penelitian yakni *Artemia salina* Leach, metode ekstraksi yang digunakan yakni maserasi, suhu yang digunakan untuk penetasan larva *A.salina* Leach 25-30<sup>0</sup>C, jumlah larva yang digunakan dalam setiap perlakuan 10 larva.

## **3.5 Prosedur Penelitian**

### **3.5.1 Determinasi Tanaman**

Determinasi tanaman akan dilaksanakan di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi untuk memastikan spesies Tanaman Karet Kebo (*Ficus elastica* Roxb. ex Hornem) dan Beringin (*Ficus benjamina*). Determinasi tanaman yang telah dilakukan di Balai Konservasi Tanaman Kebun Raya Purwodadi – LIPI (Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia) menyatakan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah Beringin dengan nama ilmiah *Ficus benjamina* dan Karet kebo dengan nama ilmiah *Ficus elastica*, dapat dilihat pada lampiran 2.

### **3.5.2 Ekstraksi Daun *Ficus elastica* Roxb. ex Hornem dan *Ficus benjamina***

Metode ekstraksi dilakukan secara maserasi. Simplisia daun segar *Ficus elastica* Roxb. ex Hornem dan *Ficus benjamina* yang telah berbentuk serbuk kering dan halus sebanyak 125 gram dimasukkan ke

dalam Erlenmeyer 500ml. Sampel yang telah dimasukkan pada erlenmeyer selanjutnya direndam dengan Metanol dengan perbandingan 1:4 dan dilakukan pengadukan dan kemudian dimaserasi selama 3x24 jam. Selanjutnya, pada hasil rendaman disaring untuk memisahkan antara filtrat dan ampasnya. Perendaman dilakukan sampai filtrat terlihat mendekati bening. Selanjutnya filtrat dipekatkan dengan rotary evaporator pada suhu 55<sup>0</sup>C hingga didapatkan ekstrak kental Metanol daun *Ficus elastica* Roxb. ex Hornem dan *Ficus benjamina*. Filtrat dituang dalam cawan penguap, kemudian diuapkan di dalam lemari asam (Agustina, 2017).

### **3.5.3 Uji Fitokimia Ekstrak Metanol Daun *Ficus elastica* Roxb. ex Hornem dan *Ficus benjamina***

#### **a. Uji Fenol hidrokuinon (pereaksi FeCl<sub>3</sub>)**

Uji fenol hidrokuinon dapat dilakukan dengan cara sebanyak 1 gram sampel diekstrak dengan 20 mL etanol 70%. Ekstrak sebanyak 1 mL kemudian ditambahkan 2 tetes larutan FeCl<sub>3</sub> 5%. Pembentukan warna hijau atau hijau biru menunjukkan senyawa fenol yang terdapat pada sampel (Syafitri dkk., 2014).

Menurut penelitian Syafitri dkk. (2014) pada hasil uji kualitatif yang dilakukan, jika terdapat perbedaan tingkat kepekatan pada warna yang ditimbulkan setelah pengujian, hal tersebut dapat menunjukkan bahwa terdapat perbedaan pada jumlah senyawa yang dihasilkan dan berkemungkinan besar terjadi karena adanya perbedaan jenis kepolaran pada ekstrak yang digunakan.

#### **b. Uji Flavonoid**

Uji flavonoid dapat dilakukan dengan melakukan penambahan serbuk magnesium 0.1 mg pada sampel uji dan 0.4 mL amil alkohol (campuran asam klorida 37 % dan etanol 95 % dengan volume yang sama) dan 4 mL alkohol kemudian campuran dikocok. Lalu diamati pembentukan warna yang terjadi, pembentukan warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol menunjukkan hasil flavonoid (Syafitri dkk., 2014).

#### **c. Uji Tanin**

Uji tanin dapat dilakukan dengan langkah awal yaitu dengan cara mengisolasi senyawa sebanyak 200 mg dilarutkan pada 5 mL aquades panas dan diaduk. Setelah dingin dilakukan sentrifugasi dan bagian cairan didekantisir dan diberi larutan NaCl 10% kemudian dilakukan penyaringan. Setelahnya, filtrat ditambahkan 2 tetes larutan FeCl<sub>3</sub> 1% (1 g FeCl<sub>3</sub> dilarutkan dalam 100 mL akuades), dan diamati perubahan warna yang terjadi, apakah perubahan warna tersebut menjadi hijau violet atau tidak, jika hijau violet maka hasilnya positif (Malik dkk., 2014).

**d. Uji Sterol dan Triterpenoids**

Uji sterol dan triterpenoid dapat dilakukan dengan langkah awal pengisolasian senyawa yang dilarutkan pada kloroform, kemudian disaring dan filtratnya diuji dengan metode uji salkowski, yang dilakukan dengan cara beberapa tetes asam sulfat pekat ditambahkan ke larutan kloroform dan diamati perubahan warnanya, warna merah di lapisan bawah menunjukkan adanya sterol dan warna kuning keemasan menunjukkan terdapat senyawa triterpenoid (Agustina, 2017).

**e. Uji Saponin**

Uji saponin dapat dilakukan dengan cara sebanyak 0.5 g ekstrak ditambahkan 5 ml aquades dalam tabung reaksi. Dilakukan pengocokan dengan kuat pada larutan dan diamati terbentuknya buih yang stabil. Buih tersebut dicampur dengan 3 tetes minyak zaitun dan dikocok dengan kuat setelahnya diamati untuk pembentukan emulsinya (Agustina, 2017).

**f. Uji Alkaloid**

Uji alkaloid dapat dilakukan dengan cara Isolasi senyawa dan diambil sedikit, dilakukan penambahan HCl 2M dan dipanaskan di atas penangas air sambil diaduk, kemudian didinginkan hingga suhunya mencapai suhu kamar. Ditambahkan NaCl serbuk, dilakukan pengadukan dan disaring, kemudian filtrat ditambah HCl 2M hingga mencapai volume tertentu. Filtrat dibagi pada 2 tabung reaksi yang berbeda, tabung pertama ditambahkan reagen Wagner dan tabung yang lainnya sebagai blanko. Tabung pertama diamati terbentuknya endapan dan dibandingkan dengan

blanko. Jika terbentuk endapan, maka sampel dinyatakan positif terkandung alkaloid (Agustina, 2017).

### **3.5.3 Uji Toksisitas Ekstrak Metanol Daun *Ficus elastica* Roxb. ex Hornem dan *Ficus benjamina***

#### **a. Penetasan Larva *Artemia salina* Leach.**

Penetasan larva udang *Artemia salina* Leach dilakukan pada wadah plastik sebagai wadah atau media dalam penetasan telur. Wadah dikondisikan terbagi menjadi dua bagian, yaitu untuk yang pertama bagian ruang terang dan yang kedua bagian ruang gelap. Kedua bagian tersebut dibatasi dengan sterofoam yang pada tepi bawahnya telah terkondisikan dalam keadaan berlubang sebagai tempat keluarnya telur yang sudah menetas. Selanjutnya, Memasukkan sebanyak 1 liter air laut pada wadah hingga kedua lubang yang terdapat pada sterofoam terendam. Salah satu ruang pada wadah tersebut diberi penerangan berupa cahaya lampu pijar untuk mengondisikan kehangatan suhu dalam penetasan dan merangsang proses penetasan, suhu yang digunakan yakni sebesar 25-30<sup>0</sup>C (suhu ruang). Untuk persiapan penerangan, lampu dikondisikan menyala selama 48 jam untuk menetas telur. Pada ruangan yang satunya, diisi 1 gram telur udang di bagian gelap tanpa penyinaran ditutup dengan aluminium foil dan lakban hitam. Setelah 48 jam, telur akan menetas menjadi larva dan akan bergerak secara alamiah menuju bagian ruang yang terang. Pada larva yang bergerak menuju bagian ruang yang terang menandakan bahwa larva tersebut bersifat fototropik, Larva yang sehat bersifat fototropik dan dapat dijadikan hewan uji pada metode BSLT (Kurniawan, 2009).

#### **b. Pembuatan stok konsentrasi uji**

Pembuatan larutan stok pada penelitian ini yakni 2000 ppm dibuat dengan cara melarutkan 0,02 g ekstrak dan 0,1 ml DMSO hingga mencapai 10 ml air laut (air laut yang digunakan untuk aklimatisasi penetasan telur *A. salina*) yang kemudian dilanjutkan dengan pembuatan seri konsentrasi uji. Pembuatan konsentrasi kombinasi ekstrak dibuat dengan perbandingan











yang tidak terlampau jauh, artinya bahwa pada kedua ekstrak diketahui memiliki kandungan senyawa aktif yang tidak terlampau jauh pula. Karena menurut penelitian Sayuti (2017) menunjukkan bahwa terdapat hubungan antara hasil rendemen pada sampel dengan banyaknya kandungan senyawa aktif dari suatu sampel tersebut. sehingga jika diketahui nilai rendemen semakin banyak pada sampel tersebut maka dapat disimpulkan terdapat kandungan senyawa aktif yang semakin banyak pula.

## 4.2 Uji Fitokimia

Uji fitokimia adalah uji kualitatif yang difungsikan guna mengetahui ada atau tidaknya senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada suatu bahan alam. Senyawa metabolit sekunder dapat dihasilkan dari reaksi sekunder metabolit primer. Menurut Harborne (1987) menyatakan bahwa senyawa metabolit sekunder yang biasa ditemukan pada tanaman atau bahan alam antara lain yakni flavonoid, saponin, tannin, triterpenoid, alkaloid dan sterol. Adapun macam uji fitokimia yang telah dilakukan pada penelitian ini ada 7 macam yaitu : uji fenol hidrokuinon, uji flavonoid, uji tanin, uji sterol dan triterpenoid, uji saponin, uji alkaloid.

Berdasarkan hasil uji fitokimia yang telah dilakukan terdapat beberapa perbedaan jenis senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam masing-masing sampel. Sampel dari ekstrak metanol daun *F.benjamina* positif mengandung Fenol, Flavonoid, Tanin, dan Saponin. Sedangkan sampel ekstrak metanol daun *F.elastica* positif mengandung Fenol, Flavonid, Tanin, Triterpenoids dan Saponin. Berdasarkan penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Sukadan (2011) pada uji fitokimia ekstrak etanol daun *F.benjamina* terkandung senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid, alkaloid, steroid, saponin dan polifenol. Lalu, penelitian yang dilakukan oleh Setiawan (2017) pada ekstrak etanol daun *F.elastica* terkandung senyawa metabolit sekunder yakni golongan Alkaloid, flavonoid dan saponin. Hasil pengujian fitokimia pada penelitian ini dapat diamati pada tabel 4.2 :









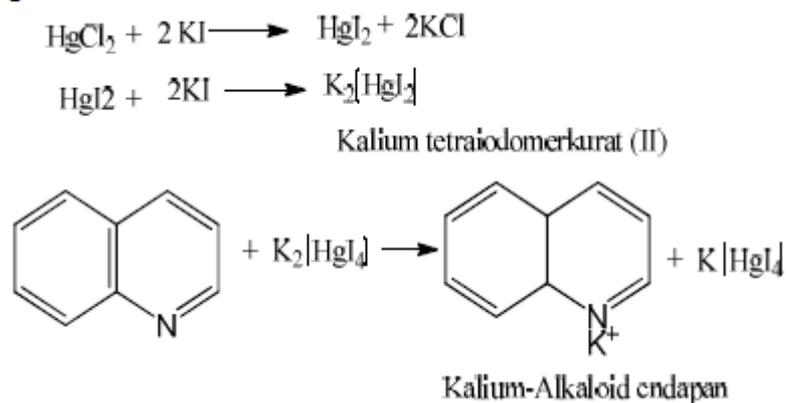












Gambar 4.13 Reaksi uji Alkaloid

(Sumber: Nugrahani dkk, 2017)

Potensi toksisitas yang dimiliki oleh ekstrak metanol daun *F.elastica* dan *F.benjamina* dipengaruhi oleh kandungan metabolit sekunder yang dimiliki oleh ekstrak tersebut. Berdasarkan hasil penelitian ini diketahui pada hasil pengujian fitokimia pada ekstrak metanol daun *F.benjamina* menunjukkan hasil positif terkandung fenol, flavonoid, tanin, dan saponin. Sedangkan pada ekstrak metanol daun *F.elastica* menunjukkan hasil positif terkandung fenol, flavonoid, tanin, triterpenoid dan saponin. Muaja dkk. (2013) menjelaskan bahwa adanya senyawa fenolik yakni flavonoid dan tanin pada ekstrak dapat mengakibatkan kematian pada larva *A. salina*. Kedua ekstrak pada penelitian ini menunjukkan hasil positif terhadap flavonoid dan tanin. Terdapat mekanisme-mekanisme pada kematian larva *A. salina*, mekanisme tersebut terbagi menjadi 3 bagian berkaitan pada fungsi dari senyawa fenolik, mekanisme pertama yakni penghambatan daya makan larva *A.salina* (antifedant). Kedua, senyawa fenolik dapat bertindak sebagai racun perut atau stomach poisoning. Efek dari stomach poisoning tersebut, apabila senyawa pada ekstrak tersebut masuk ke dalam tubuh larva *A. salina* maka akan menimbulkan efek gangguan pada sistem digestivusnya. Ketiga, senyawa-senyawa fenolik dapat menghambat reseptor perasa yang terdapat pada bagian mulut larva *A. salina* dan dapat berakibat pada larva yakni gagal mendapatkan stimulus rasa dan larva tidak dapat mengenali makanannya sehingga larva

dapat mengalami kekurangan asupan nutrisi dan respon berikutnya larva akan mengalami kematian karena kelaparan (Cahyadi, 2009).

Kedua ekstrak dalam penelitian ini juga memiliki hasil positif pada kandungan saponin, saponin adalah senyawa yang memiliki kemampuan untuk menurunkan tegangan permukaan pada selaput saluran digestivus, sehingga dinding saluran digestivus pada larva *A. salina* yang terpapar senyawa tersebut mengalami kerusakan. Hal ini menimbulkan dampak pada penyerapan nutrisi yang digunakan sebagai pendukung kelangsungan hidup larva *A. salina* (Atmoko & Ma'ruf, 2009). Menurut penelitian Mappasomba dkk. (2019) melaporkan bahwa senyawa golongan saponin juga dapat melakukan pengikatan oksigen yang terdapat pada air sehingga kadar oksigen yang berada didalam air mengalami penurunan dan mengakibatkan kematian pada larva *A. salina* karena kekurangan oksigen.

Selanjutnya, berdasarkan hasil penelitian ini menunjukkan adanya hasil positif terkandung senyawa triterpenoid pada ekstrak metanol daun *F. elastica*, namun pada ekstrak metanol daun *F. benjamina* menunjukkan hasil negatif. Menurut penelitian Mappasomba dkk. (2019) menyatakan bahwa pada senyawa golongan triterpenoid memiliki kemampuan untuk memblokir siklus sel pada fase gap 2 atau fase interfase dengan cara menstabilkan benang-benang spindle pada fase mitosis sehingga dapat mengakibatkan proses mitosis terhambat. Pada tahap berikutnya akan terjadi hambatan pada proses proliferasi sel dan pemacuan apoptosis. Sehingga dari terjadinya proses apoptosis dan penghambatan pertumbuhan sel dapat menimbulkan kematian pada larva *A. salina* dalam uji toksisitas menggunakan metode BSLT sehingga pengujian ini dapat digunakan sebagai salah satu upaya dalam pencarian obat-obat yang memiliki potensi sebagai antikanker.

Pengujian toksisitas pada ekstrak tentunya berkaitan erat dengan senyawa-senyawa yang terkandung dalam ekstrak tersebut. Menurut Ramdhini (2010), ekstrak yang terdapat senyawa yang bersifat toksik, terhadap larva udang *A. salina* dianggap menunjukkan aktivitas biologi, sehingga pada pengujian ini secara umum sering digunakan pada skrining awal terhadap senyawa bioaktif

yang berpotensi sebagai antitumor atau antikanker. Hal ini juga dipengaruhi oleh penggunaan larva *A.salina* pada fase naupli atau larva berumur 48 jam. Fase ini adalah fase yang paling aktif membelah secara mitosis, sehingga sangat identik dengan sel kanker (Subekti, 2014). Sel kanker adalah sel jaringan tubuh yang mengalami ketidak normalan pada pertumbuhannya dan tidak terkendali. Sel kanker dapat mengalami pertumbuhan dengan cepat dan bersifat ganas, serta dapat melakukan penyebaran melalui pembuluh darah dan getah bening, oleh karenanya sel kanker bisa tumbuh dan bermetastatis di tempat atau media yang lain (Dwitiyanti, 2015). Senyawa flavonoid dan tanin yang terkandung dalam ekstrak diketahui mempunyai suatu mekanisme aktivitas antikanker tersendiri dengan mekanisme masing-masing. Namun dalam penelitian ini senyawa flavonoid maupun tanin yang terkandung dalam kedua ekstrak tidak memiliki potensi anti kanker, hal ini diduga ekstrak metanol ekstrak metanol daun *F.elastica* dan *F.benjamina* tidak terkandung senyawa flavonoid spesifik yang memiliki fungsi sebagai anti kanker seperti prenylated flavonoid. Senyawa prenylated flavonoid yakni senyawa flavonoid yang memiliki kandungan tambahan rantai isoprenoid (penambahan 5 atom karbon C pada gugus fenol). Jenis dari senyawa prenylated flavonoid antara lain pinostrobin, noractocarpin dan albanin (Nazilah, 2019).

### 4.3 Uji Toksisitas

Uji toksisitas dilakukan untuk mengetahui potensi toksisitas atau tingkat toksisitas dari ekstrak metanol daun *F.benjamina* dan *F.elastica* serta kombinasinya. Hasil ini berupa data yang dianalisis dengan analisis probit untuk mengetahui nilai  $LC_{50}$  masing-masing ekstrak yang didapatkan dari perhitungan kematian larva *A.salina* yang diakibatkan oleh ekstrak yang diujikan. Penelitian yang dilakukan oleh Ningdyah dkk. (2015) menunjukkan bahwa terdapat korelasi antara tingkat konsentrasi ekstrak dengan tingkat kematian larva. Tingkat kematian larva berbanding lurus dengan tingkat konsentrasi ekstrak yang diberikan. Berdasarkan hasil pada penelitian ini korelasi antara tingkat konsentrasi dengan tingkat kematian larva ditunjukkan pada gambar 4.14, 4.15 dan 4.16:











$$x = 2,37636$$

$$LC50 = \text{antilog } x = \text{antilog } 2,37636 = 237,882 \text{ ppm}$$

Hasil dari nilai  $R^2$  pada ketiga ekstrak tersebut diketahui memiliki nilai yang sama yaitu mendekati angka 1, artinya bahwa pada hasil tersebut menandakan pengaruh yang semakin kuat dari nilai probit terhadap log konsentrasi. Hal tersebut sesuai dengan Asaduzzaman dkk. (2015) yang menyatakan bahwa semakin kecil nilai  $R^2$  maka pengaruh probit pada log konsentrasi semakin lemah dan sebaliknya jika diketahui nilai  $R^2$  mendekati angka 1 maka pengaruh nilai probit terhadap log konsentrasi semakin kuat.

Toksisitas merupakan kemampuan suatu zat yang bisa menimbulkan efek berbahaya terhadap mekanisme biologis pada organisme. Uji toksisitas yakni uji pra-klinik yang dilakukan guna mengetahui potensi toksik suatu senyawa kimia atau bahan alam (Wirasuta dan Niruri, 2006). Berdasarkan hasil pengujian toksisitas dalam penelitian ini, menunjukkan bahwa pada pemberian ekstrak pada tingkat konsentrasi yang tinggi dapat membunuh larva udang *A.salina*. Berikut adalah data hasil uji toksisitas yang dapat diamati pada tabel 4.3 :

Tabel 4.3 Hasil uji toksisitas

	Konsentrasi (ppm)	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata Kematian	log Konsentrasi (X)	% mortalitas	Probit (Y)	LC50 SPSS (ppm)
<b>Ekstrak metanol daun <i>F. elastica</i></b>	2000	10	10	8	9,3333333	3,301029996	93,333	6,4985	273,8
	1000	9	9	5	7,6666667	3	76,667	5,7257	
	500	7	5	6	6	2,698970004	60	5,2533	
	200	5	3	3	3,6666667	2,301029996	36,667	4,6575	
	100	4	3	2	3	2	30	4,4756	
	50	2	1	1	1,3333333	1,698970004	13,333	3,8877	
	20	2	1	0	1	1,301029996	10	3,7184	
	0	0	0	0	0	0	0	0	
<b>Ekstrak metanol daun <i>F. benjamina</i></b>	2000	10	8	9	9	3,301029996	90	6,2816	295,434
	1000	8	9	5	7,3333333	3	73,333	5,6219	
	500	6	6	4	5,3333333	2,698970004	53,333	5,0828	
	200	6	3	4	4,3333333	2,301029996	43,333	4,8313	
	100	3	3	2	2,6666667	2	26,667	4,375	
	50	2	2	1	1,6666667	1,698970004	16,667	4,0299	
	20	2	1	0	1	1,301029996	10	3,7184	
	0	0	0	0	0	0	0	0	
<b>Kombinasi ekstrak metanol daun <i>F. benjamina</i> dan <i>F. elastica</i></b>	2000	10	10	9	9,6666667	3,301029996	96,6667	6,826	237,716
	1000	8	9	5	7,3333333	3	73,3333	5,6219	
	500	7	7	5	6,3333333	2,698970004	63,3333	5,3398	
	200	6	4	3	4,3333333	2,301029996	43,3333	4,8313	
	100	5	3	1	3	2	30	4,4756	
	50	3	2	1	2	1,698970004	20	4,1684	
	20	2	1	0	1	1,301029996	10	3,7184	
	0	0	0	0	0	0	0	0	

Penilaian toksisitas suatu bahan dapat diamati dari tingkat mortalitas larva *A.salina*. Tingkat mortalitas dapat ditentukan berdasarkan nilai LC50 yang didapatkan setelah 24 jam pemaparan atau pengujian suatu senyawa terhadap hewan uji. Nilai LC50 adalah konsentrasi dimana senyawa alam dapat mengakibatkan kematian sebesar 50% populasi hewan uji. Nilai LC50 pada menunjukkan informasi mengenai tingkat toksik suatu zat. Hasil analisis probit dengan menggunakan aplikasi SPSS 16.0 pada penelitian ini menunjukkan nilai LC50 dari ekstrak metanol daun *F.elastica* adalah 273,8 ppm, nilai LC50 dari ekstrak metanol daun *F.benjamina* 295,434 ppm, sedangkan untuk nilai

LC50 dari kombinasi ekstrak metanol daun *F.elastica* dan *F.benjamina* adalah 237,716 ppm.

Ketiga hasil pengujian toksisitas pada nilai LC50 menunjukkan bahwa nilai tersebut menurut kategori toksisitas menurut Aras (2013) pada tabel 3.3 pada ekstrak metanol daun *F.elastica* dan *F.benjamina* termasuk dalam kategori toksik, lalu pada kombinasi ekstrak metanol daun *F.elastica* dan *F.benjamina* termasuk pada kategori sangat toksik. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Fariyah (2008) menunjukkan bahwa pada ekstrak daun *F.benjamina* dengan berbagai macam ekstrak memiliki nilai toksisitas yang berbeda, yakni pada ekstrak kloroform memiliki nilai toksisitas sebesar 311,0179 Gg/mL, ekstrak etil asetat sebesar 408,6619 Gg/mL dan ekstrak etanol 70% sebesar 317,6995 Gg/mL. Selanjutnya, penelitian yang dilakukan oleh Braja (2008) menunjukkan bahwa pada ekstrak daun *F.elastica* juga memiliki nilai toksisitas dengan berbagai macam ekstrak, pada ekstrak kloroform memiliki nilai toksisitas sebesar  $260,22 \pm 36,51$ , ekstrak etil asetat sebesar  $362,78 \pm 63,73$  dan ekstrak etanol 70% memiliki nilai sebesar  $146,56 \pm 0,0587$  mg/ml. Hasil pada kedua penelitian toksisitas tersebut diketahui bahwa pada pengujian toksisitas daun *F.elastica* dan *F.benjamina* dengan berbagai macam jenis pelarut yaitu kloroform, etil asetat dan etanol 70% menunjukkan nilai yang berbeda dan tergolong pada kategori toksik. Sedangkan perbedaan pada kedua penelitian tersebut dengan penelitian ini yakni adanya pengembangan uji toksisitas menggunakan jenis pelarut metanol pada daun *F.elastica* dan *F.benjamina* terlebih juga terdapat pengujian toksisitas pada kombinasi kedua ekstrak tersebut yang sebelumnya belum pernah ditemukan. Penelitian Noviard, dkk (2019) yaitu mengenai pengujian toksisitas pada kombinasi ekstrak etanol 70% daun petai cina (*Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit) dan kulit jengkol (*Archidendron jiringa* (Jack) I.C.Nielsen). Hasil pada penelitian tersebut menjelaskan bahwa kombinasi ekstrak daun petai cina dan kulit jengkol memberikan hasil yang lebih baik jika dibandingkan dengan ekstrak tunggal. Hal tersebut dapat diamati pada nilai LC50 yang diperoleh dari kombinasi kedua ekstrak dan ekstrak tunggal pada penelitian tersebut.

Ketiga hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun *F.elastica* dan *F.benjamina* beserta kombinasinya tergolong kedalam kategori toksik, namun tidak memiliki potensi anti kanker. Senyawa murni dianggap memiliki aktivitas biologis anti kanker apabila nilai LC50 nya bernilai <200 µg/mL dan jika nilai LC50nya memiliki nilai <1000 µg/mL maka ekstrak dianggap memiliki aktivitas biologi (Meyer, 1982). Ketiga nilai LC50 tersebut termasuk dalam kategori toksik dan sangat toksik terhadap larva *A. salina*. Sesuai dengan hasil uji toksisitas yang diperoleh, ekstrak metanol daun *F.elastica* dan *F.benjamina* beserta kombinasinya efektif digunakan sebagai bahan obat suatu penyakit karena terkandung senyawa metabolit sekunder dengan nilai LC50<1000 µg/mL sehingga tergolong ekstrak yang memiliki aktivitas biologi dan pada hasil dalam penelitian ini diketahui tidak memiliki potensi anti kanker. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Koneri dan Hanny (2016) menunjukkan bahwa jika LC50 mempunyai nilai lebih rendah dari 1000 ppm maka senyawa yang terkandung dapat dinyatakan sebagai senyawa yang tergolong senyawa bioaktif, dan apabila LC50 bernilai yang dihasilkan lebih dari 1000 ppm maka senyawa yang terkandung dalam ekstrak tersebut adalah senyawa yang tergolong bukan senyawa bioaktif.

Hasil pada penelitian ini menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak metanol daun *F.elastica* dan *F.benjamina* memberikan hasil yang berbeda, yaitu pada kombinasi ekstrak tergolong sangat toksik pada kategori toksisitas sedangkan pada masing-masing ekstrak metanol daun *F.elastica* dan *F.benjamina* tergolong toksik berdasarkan kategori toksisitas menurut Aras (2013). Hal tersebut dapat diamati berdasarkan nilai LC50 yang dihasilkan oleh kombinasi ekstrak yang memiliki nilai lebih rendah jika dibandingkan dengan ekstrak tunggal, nilai tersebut dapat diartikan bahwa tingkat toksisitas pada kombinasi ekstrak menunjukkan hasil yang lebih yang lebih baik jika dibandingkan dengan ekstrak tunggal. Sifat toksisitas yang lebih baik dari ekstrak tunggal pada kombinasi ekstrak tersebut ditimbulkan oleh kelebihan yang dimiliki oleh kombinasi ekstrak, yakni pada efek sinergisitasnya. Efek sinergisitas merupakan efek atau gejala yang ditimbulkan oleh dua maupun lebih senyawa yang mempunyai efek terapi yang sama, sehingga dapat menimbulkan efek









- Artini, P. E. U. D., Astuti, K. W., & Warditiani, N. K. (2013). Uji fitokimia ekstrak etil asetat rimpang bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.). *Jurnal Farmasi Udayana*, 2(4), 279805.
- Asaduzzaman, M., Rana, M., Hasan, S., Hossain, M., & Das, N. 2015. *Cytotoxic (Brine Shimp Lethality Bioassay) And Antioxidant Investigation Of Barringtonia Acutangula (L).* *International Journal Of Pharma Sciences And Research (Ijpsr)*, 6(8), 1179–1185.
- Asem A, Pouyani NR & Escalente PD LR. 2010 The genus *Artemia* Leach. Iran: *Lat. Am. J Aquat Res*; P. 501-506
- Asyrofi, H. O. 2017. Efek Antimikroba Ekstrak Etanol Akar Gantung Beringin (*Ficus Benjamina*) Terhadap *Acinetobacter Baumannii* Dengan Metode Dilusi Agar (Doctoral dissertation, Universitas Brawijaya).
- Atmoko, T., dan A. Ma'ruf. 2009. Uji Toksisitas dan Skrining Fitokimia Ekstrak Tumbuhan Sumber Pakan Orangutan terhadap Larva *Artemia salina* L. *Jurnal Penelitian Hutan dan Konservasi Alam*. Vol 4 (1) : 37-45.
- Atun, S. 2014. *Jurnal Konserfasi Cagar Budaya Borobudur*. Vol 8 (2) : 53-61
- Backer, C.A. & van den Brink, R.C., 1965. *Flora of Java: Spermatophytes Only Volume 2*, Netherland, Noordhoff-Groningen.
- Braja, M., 2008, Uji Toksisitas Ekstrak Daun *Ficus elastica* Nois ex Blume Terhadap *Artemia salina* Leach dan Profil Kromatografi lapis Tipis. *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Baud, G. S., Sangi, M. S., & Koleangan, H. S. 2014. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Batang Tanaman Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* L.) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Jurnal Ilmiah Sains*, 14(2), 106-112.
- Burke, RW, BI Diamondstone, RA Velapoldi, and O. Menis. 1974. Mechanisms of The Liebermann-Burchard and Zak Color Reactions for Cholesterol. *Jurnal Clirical Chemistry* 20 (7) : 1 – 7.
- Cahyadi, R. 2009. Uji toksisitas akut ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L) Terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan metode Brine shrimp lethality test (BST). Universitas Dipenogoro Repository.5: 1-8.

- Carballo JL, Hernandez-Inda ZL, Perez P, Garcia-Gravaloz MD. 2002. Comparison between two brine shrimp assays to detect in vitro cytotoxicity in marine natural products. *BMC Biotechnology*, 2:1472-6570.
- Dalimartha, S., 1999. *Atlas Tumbuhan Indonesia, jilid II*, Trubus Agriwidya, Jakarta. Depkes RI, 1986, Sediaan Galenik, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Dalimartha, S., 2000, *Atlas Tumbuhan Indonesia, jilid II*, Trubus Agriwidya, Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Pedoman Pelaksanaan Uji Klinik Obat Tradisional*. Direktorat Jendral POM Direktorat Pengawasan Obat Tradisional, Jakarta: 2-18
- Desmiaty, Y., Ratnawati, J., & Andini, P. 2009. Penentuan Jumlah Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) Secara Kolorimetri Komplementer. In *Seminar Nasional POKJANAS TOI XXXVI Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta*.
- Dumitrascu M. 2011. *Artemia salina*. *Balneo-Research Journal*; 2(4):119-22.
- Durham, W.F. 1975. *Toxicity in N.I. Sax (ed): Dangerous Properties of Industrial Materials*. Van Nostrand Reinhold Co. New York.
- Dwitiyanti. Agustus, 2015. Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) sebagai Antikanker Payudara. *Pharmacology Science Research*. Vol 2 (2) : 79-88.
- Dwiyani, R., 2013. *Mengenal Tanaman Pelindung Di Sekitar Kita*. Udaya University Press. Denpasar.
- El-Hawary, AK, Abbas, AS, Elsayed, AA, & Zalata, KR. 2012. *Molecular subtypes of breast carcinoma in Egyptian women: clinicopathological features*. *Pathol Res Pract*, vol.28, pp. 382-386.
- El-Hawary, S.S., Wassel, G.M., El-Menshawly, B.S., Ibrahim, N.A., Mahmoud, K., & Ayoub, M.M., 2012, Antitumor and Antioxidant Activity of *Ficus*

- elastica* Roxb. and *Ficus bengalensis* Linn. Family Moraceae, *World Applied Sciences Journal*, 19(11) Hlm 1532-1539.
- Fariyah, 2008. Uji Toksisitas Ekstrak Daun *Ficus benjamina* L terhadap *Artemia salina* Leach dan Profil Kromatografi Lapis Tipis. *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Fitriyani, A., Winarti, L., Muslichah, S., & Nuri, N. 2011. Anti-inflammatory Activity of *Piper crocatum* Ruiz & Pav. Leaves methanolic extract in rats. *Traditional Medicine Journal*, 16(1), 34-42.
- Gajardo GM, Beardmore JA. 2012. The brine shrimp *Artemia*: Adapted to clinical life conditions. *Frontiers in Physiology*; (3): 1-8.
- Hafidloh, D. 2014. Sitotoksik ekstrak daun bunga matahari (*Helianthus annuus* L) dengan metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) dan identifikasi golongan senyawa aktifnya. *Doctoral dissertation*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Halang, B. 2004. Toksisitas Air Limbah Detergen terhadap Ikan Mas (*Cyprinus carpio*). *Bioscientiae*. vol.1 . Hal 39-49 Januari 2004. Lampung.
- Hanifah, N.Z. 2015. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Daun Sirsak (*Annona muricata*) terhadap Larva *Artemia salina* dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Program Studi Pendidikan Dokter. Fakultas Kedokteran dan Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Harborne, 1986. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, edisi II. Diterjemahkan oleh Padmawinata, K. Dan Soediro, I., ITB, Bandung.
- Hari, B.N.V., Kumar, P.S. & Devi, D.R., 2011, Comparative in-vitro anthelmintic activity of the latex of *Ficus religiosa*, *Ficus elastica* and *Ficus bengalensis*, *Jurnal of Phytology*, 3(3), pp.26-30.
- Harvey A. 2000. Strategies for discovering drugs from previously unexplored natural products. *Drug Discov Today*. 5 (7): 294-300
- Haryati, N.A., Saleh, C., & Erwin. 2015. Uji Toksisitas dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Merah Tanaman Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium*

- Walp.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*.  
*Jurnal Kimia Mulawarman* ,Vol. 13 No.1:35-40.
- Hasanah, U., & Wijayanti, E. D .2019. Toksisitas Akut Kombucha Daun Tin (*Ficus Carica*) Berdasarkan Nilai Lc50 Terhadap Larva Udang (*Artemia Salina*). *Doctoral dissertation*. Akademi Farmasi Putera Indonesia Malang.
- Hasti, S., Sandi, N.H. dan Firdaus,M., 2009, Uji Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Akar Gantung Beringin (*Ficus benjamina L.*) Pada Tikus Putih Betina (*Rattus norvegicus*), *Laporan Penelitian*, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau, Pekanbaru.
- Hasti, S., Sandi, N.H., Sari,E.N. dan Sinaga,S., 2011, Uji Efek Analgetika Ekstrak Etanol, Fraksi Etil Asetat Dan Fraksi Heksan Akar Gantung Beringin (*Ficus benjamina L.*) Pada Mencit Putih Jantan (*Mus Musculus*), *Prociding Seminar Farmasi Up Date ke 3*, Medan.
- Hayes, A.W. 1984. *Principles and Methods of Toxicology*. Student Ed. Raven Press, New York: 1,4,11-19.
- Herawati, D. 2012. *Cara Produksi Simplisia Yang Baik*. Seafast Center: Bogor.
- Heyne, K.,1987,*Tumbuhan Berguna Indonesia, Volume II*, Yayasan Sarana Wana Jaya : Diedarkan oleh Koperasi Karyawan, Badan Litbang Kehutanan, Jakarta..
- Hiola, R., Tuiyo, R dan Syamsuddin. 2014. Pengaruh Salinitas yang Berbeda terhadap Penetasan Kista *Artemia sp.* di Balai Benih Ikan Kota Gorontalo Provinsi Gorontalo. *Nike : Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 2 (2): 52-55.
- Hutapea, J.R. 1994. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia III*. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Jakarta.
- Indiastuti DN, et.al. 2008. Skrining pendahuluan toksisitas beberapa tumbuhan Benalu terhadap larva udang *Artemia salina* Leach. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia* Vol.6 No.2.

- Kalvika. 2009. Pengujian Aktivitas Ekstrak Metanol dan Fraksi Daun Beringin (*Ficus benyamina* L.) terhadap *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*. *Tugas Akhir Sarjana Jurusan Farmasi*. FMIPA Unjani.
- Katzung, B.G., 1987, *Basic and Clinical Pharmacology, 3rd Edition*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, pp. 858.
- Kemenag, RI. 2020. *Tafsir QS. Al-An'am ayat 95*. Diakses tanggal 22 mei 2020 < <https://quran.kemenag.go.id/sura/6>>
- Kemenag, RI. 2020. *Tafsir QS. An-nahl ayat 10*. Diakses pada 22 Mei 2020. < <https://quran.kemenag.go.id/sura/16>>
- Khanna, V.G. & Kannabiran, K.2007.Larvacidal effect of *Hemidesmus indicus*, *Gymnema sylvestre*, and *Eclipta prostrata* against *Culex quiquefasciatus* mosquito larvae. *Afr J Biotechnol.*, 6 (3), 307-311.
- Kiyohara H, Matsumoto T, Yamada H. Combination effects of herbs in a multi-herbal formula: Expression of juzen-taiho-to's immuno-modulatory activity on the intestinal immune system. *Evid.-Based Complement. Altern. Med.* 2004; 1:83–91.
- Kristianti, A. N. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Airlangga University Press. Surabaya.
- Kuete V. 2013. *Medicinal plant research in Africa: Pharmacology and chemistry*. USA: Elsevier.
- Kurniawan A. 2011. Aktivitas antioksidan dan potensi hayati dari kombinasi ekstrak empat jenis tanaman obat Indonesia. *Skripsi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor
- Kurniawan H. 2009. Uji toksisitas akut ekstrak metanol daun Kesum (*Polygonum minus* Huds) terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Tesis*. Pontianak : Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Tanjungpura.
- Koneri, Roni dan Hanny Hesky Pontoring. 2016. *Uji Ekstrak Biji Mahoni (Swietenia Macrophylla) Terhadap Larva Aedes Aegypti Vektor Penyakit Demam Berdarah*. *Jurnal MKMI*, Vol. 12 No. 4

- Leonti, M.; Verpoorte, R. Traditional Mediterranean and European herbal medicines. *J. Ethnopharmacol* 2017; 199:161–167.
- Lisdawati, V., Mutiatikum, D., & Alegantina, S. 2008. Karakterisasi daun miana (*Plectranthus scutellarioides* (L.) Bth.) dan buah sirih (*Piper betle* L.) secara fisiko kimia dari ramuan lokal antimalaria daerah Sulawesi Utara. *Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan*, 18(4), 160802.
- Lisdawati, V., Wiryowidagdo, S., dan L.B.S. Kardono. 2006. Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) dari berbagai Fraksi Ekstrak Daging Buah dan Kulit Biji Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*). *Buletin Penelitian Kesehatan*. Vol 34 (3) : 111-118.
- Loomis, T.A., 1978, *Essential of Toxicology, Edisi III*, IKIP Semarang, Semarang, pp. 228-233.
- Lu, F. C., 1991, *Toksikologi Dasar Asas, Organ Sasaran dan Penilaian Risiko*, diterjemahkan oleh Nugroho, E., Edisi kedua. UI Press, Jakarta: 86-97; 206- 236; 295-301
- Malik, A., Edward, F., & Waris, R. 2014. Skrining Fitokimia dan Penetapan Kandungan Flavonoid Total Ekstrak Metanolik Herba Boroco (*Celosia argentea* L.). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 1(1).
- Mappasomba, M., Wirasmanto, B., Malaka, M. H., Wahyuni, W., & Sahidin, I. (2019). Penapisan Fitokimia Dan Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Beberapa Tanaman Obat Terhadap Larva Udang *Artemia Salina* Leach. *Pharmauho: Jurnal Farmasi, Sains, dan Kesehatan*, 5(2), 30-34.
- Marliana, S. D., & Suryanti, V. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. *Jurnal Biofarmasi*, 3(1), 26-31.
- Maulana, R. 2019. Penentuan Kadar Total Fenolik Dan Flavonoid Ekstrak Metanol Daun Karet Kebo (*Ficus Elastica* L.) (Doctoral Dissertation, Stikes Bth Tasikmalaya).
- Mayorga P, *et al.* 2010. Comparison of bioassays using the anostracan crustaceans *Artemia salina* and *Thamnocephalus platyurus* for plant extract toxicity

- screening. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*; 20(6).
- Mbosso, E.J.T., Jules, J.C.A., Franck, M., Bruno, N.L., Silvere, L., Benjamin, L., *et al.*, 2012, Ceramide, cerebroside and triterpenoid saponin from the bark of aerial roots of *Ficus elastica* (Moraceae), *Phytochemistry* (83), Pp 95-103.
- Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols Dj, McLaughlin JL. 1982. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta medica*. (45): 31-34.
- Muaja, A.D., Koleangan, H.S.J., dan M.R.J.Runtuwene. 2013. Uji Toksisitas dengan Metode BSLT dan Analisis Kandungan Fitokimia Ekstrak Daun Soyogik (*Saurauia bracteosa* DC) dengan Metode Soxhletasi. *Jurnalmpa Unsrat Online*. Vol 2 (2) : 115-118.
- Muntaha, A., Haitami., dan N.Hayati. 2015. Perbandingan Penurunan Kadar Formalin pada Tahu yang direbus dan direndam Air Panas. *Medical Laboratory Technology Journal*. Vol 1 (2) : 84-90.
- Mutiyani, N. 2013. Uji Toksisitas Akut Ekstrak etil Asetat Daun *Grasinia benthami* Pieree dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Skripsi*. Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Naidu, J.R., Ismail, R., and S. Sasidharan. 2014. Acute Oral Toxicity and Brine Shrimp Lethality of Methanol Extract of *Mentha spicata* L (Lamiaceae). *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 13 (1) : 101-107.
- Nason, J.D., E.A. Herre. & J.L. Hamrick. 1998. The Breeding Structure of a Tropical Keystone Plant Resource. *Nature*. 391:685—687.
- Nazaruddin dan Paimin. F.B. 2005. *Karet, Strategi Pemasaran, Budi Daya dan Pengolahan*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Nazilah, N.R.K. 2019. Uji Aktivitas Antioksidan dan Skrining Potensi Antikanker Ekstrak Metanol Buah Kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*). *Skripsi*. Program Studi Biologi, Fakultas Sains Dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Sunan Ampel, Surabaya

- Ningdyah, A.W., Alimuddin, A.H., dan A. Jayuska. 2015. Uji Toksisitas dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) terhadap Hasil Fraksinasi Ekstrak Kulit Buah Tampoi (*Baccaurea macrocarpa*). *JKK*. Vol 4 (1): 75-83.
- Noviardi, H., Yuningtyas, S., Ben, A., & Citoreksoko, P. 2019. Toksisitas kombinasi ekstrak etanol 70% daun petai cina (*Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit) dan kulit jengkol (*Archidendron jiringa* (Jack) IC Nielsen) dengan metode Brine Shrimp Lethality Test. *Riset Informasi Kesehatan*, 8(1), 9-15.
- Nugrahani, R., Andayani, Y., & Hakim, A. 2017. Skrining fitokimia dari ekstrak buah buncis (*Phaseolus vulgaris* L) dalam sediaan serbuk. *Procedia Kimia*, 1(1).
- Nurung, S. H. H. (2016). Penentuan Kadar Total Fenolik, Flavonoid, dan Karotenoid Ekstrak Etanol Kecambah Kacang Hijau (*Vigna radiata* L.) Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. *Skripsi*. Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran Ilmu Kesehatan, UIN Alauddin Makassar, Makassar.
- Pasya, A.F. 2004. *Dimensi Sains dan Al-Qur'an Menggali Ilmu Pengetahuan dari Al-Qur'an*. Penerbit Tiga Serangkai. Solo.
- Penggabean, M.G.L. 1984. Teknik Penetasan dan Pemanenan *Artemia salina*. *Oseana*, 9 (2) : 57-65.
- Permenkes RI, 2020. Permenkes RI no.760/Menkes/sk/ix/1992. Diakses tanggal 15 Juni2020<[http://jdih.pom.go.id/produk/peraturan%20menteri/7\\_1992\\_760-Menkes-Per-IX-1992\\_ot.pdf](http://jdih.pom.go.id/produk/peraturan%20menteri/7_1992_760-Menkes-Per-IX-1992_ot.pdf)>
- Pitoyo. 2004. *Artemia salina (Kegunaan, Biologi, dan Kulturnya)*. INFIS Manual Seri No. 12. Direktorat Jendral Perikanan Dan International Development Research Centre.
- Podungge, F. 2012. *Kandungan Fenol, Senyawa Fitokimia, Dan Aktivitaas Antioksidan Rumput Laut Padina australis* . Departemen Teknologi

Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor.

- Purba, R. 2007. Analisis Fitokimia dan Uji Bioaktivitas Daun Kaca (*Peperonia pellucida*), *Jurnal Kimia Wulawarman*. Hal 1-7.
- Purnama, M. 2016. Pemberian Pakan Alami yang Berbeda pada Benih Ikan Tawes (*Barbonymus gonionotus*) terhadap Pertumbuhan dan Kelangsungan Hidup. *Skripsi*. Program Studi Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Teuku Umar, Meulaboh.
- Putri, W. D. R., Zubaidah, E., dan Sholahudin, N. 2012. Ekstraksi Pewarna Alami Daun Suji, Kajian Pengaruh Blanching dan Jenis Bahan Pengekstrak. *Jurnal Teknologi Pertanian* 4 (1) : 13-24.
- Rahmiati, S., Woro, S. 2012. Kajian interaksi obat antihipertensi pada pasien hemodialisis di bangsal rawat inap RSU PKU Muhammadiyah Yogyakarta Periode Tahun 2010. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 2(1), 97-110.
- Ramdhini, R.N. 2010. Uji Toksisitas terhadap *Artemia salina* Leach. dan Toksisitas Akut Komponen Bioaktif *Pandanus conoideus* var *conoideus* Lam. Sebagai Kandidat Antikanker. *Skripsi*. Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Ratnawati, J., & Sunardi, C. 2011. Isolasi Flavonoid Fraksi Etilasetat Daun Beringin (*Ficus Benyamina* L.). *Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia*, 4(2), 70-75.
- Rauf, A., Rahmawaty, D.B.T.J.Said. 2012. *Tekhnologi pemanfaatan lahan berbasis pengelolaan DAS*. Sumatera utara.
- Rizaldy, F. 2013. Efektifitas Nauplii *Artemia* yang diperkaya dengan Susu Bubuk Afkir sebagai Pakan terhadap Kelangsungan Hidup Larva Nilem (*Osteochilus hasselti*). *Skripsi*. Program Studi Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Padjadjaran, Bandung.
- Rizaldy, F. 2013. Efektifitas Nauplii *Artemia* yang diperkaya dengan Susu Bubuk Afkir sebagai Pakan terhadap Kelangsungan Hidup Larva Nilem

- (*Osteochilus hasselti*). *Skripsi*. Program Studi Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Padjadjaran, Bandung.
- Roanisca, O., & Mahardika, R. G. 2017. Screening Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Aseton Pucuk Iding-iding (*Stenochlaena palustris*) Bangka. In PROCEEDINGS OF NATIONAL COLLOQUIUM RESEARCH AND COMMUNITY SERVICE (Vol. 1).
- Samin, A. A., Bialangi, N., & Salimi, Y. K. 2013. Penentuan kandungan fenolik total dan aktivitas antioksidan dari rambut jagung (*Zea mays L.*) yang tumbuh di daerah gorontalo. *Skripsi*. Gorontalo: Universitas Negeri Gorontalo.
- Sangi, M., Runtuwene, M.R.J., Simbala, H.E.I. dan Makang, V.M.A. 2008, Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat Di Kabupaten Minahasa Utara, Fakultas MIPA UNSRAT Manado, Manado.
- Sastrohamidjojo, Hardjono. 2001. *Spektroskopi Inframerah*. Yogyakarta:Fmipa Ugm, 13-16.
- Sayuti, M. 2017. Pengaruh perbedaan metode ekstraksi, bagian dan jenis pelarut terhadap rendemen dan aktifitas antioksidan bambu laut (*Isis hippuris*). *Technology Science and Engineering Journal*, 1(3).
- Sa'adah, L. (2010). Isolasi dan identifikasi senyawa tanin dari daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi l.*). *Skripsi*. Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Setiabudi, D. A. dan Tukiran. 2017. Uji Skrining Fitokimia Metanol Kulit Batang Tumbuhan Klampok Watu (*Syzygium litorale*). *UNESA Journal of Chemistry*, Vol 6 (3): 155-160.
- Setiawan, A. R., 2017. Kajian Inhibisi Ekstrak Etanol Daun Bandotan (*Ageratum Conyzoides L.*) Dan Daun Karet Kebo (*Ficus Elastica L.*) Terhadap Aktivitas Protease Ekstrak Getah Pepaya. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Al-Ghifari, Bandung.
- Setyowati, W. A. Eko, S. R. Dwi Ariani, Ashadi, B. Mulyani, C. P. Rahmawati. 2014. Skrining fitokimia dan identifikasi komponen utama ekstrak metanol kulit durian (*Durio zibethinus Murr.*) varietas petruk. *Makalah*

*dipresentasikan pada Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia VI.*

- Shihab, M.Q. 2002. *Tafsir Al Misbah: Pesan, kesan, dan keserasian Al-Qur'an*. Lentera Hati, Jakarta.
- Solis, P.N., Wright, C.W., Anderson, M.M., Gupta, M.F., Philipson, J.D. 1993. A Microwell Cytotoxicity Assay using *Artemia salina* (Brine Shrimp). *Planta Medica*. Vol 59 (3) : 250-252.
- Sriwahyuni, I. 2010. Uji fitokimia ekstrak tanaman anting-anting (*Acalypha Indica* Linn) dengan variasi pelarut dan uji toksisitas menggunakan brine shrimp (*Artemia salina* leach). *Skripsi*. Universitas Negeri Islam Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Subekti, N.K. 2014. Uji Toksisitas AKUT Ekstrak Metanol Daun Laban Abang (*Aglaiia elliptica* BLUME) terhadap Larva Udang (*Artemia salina* LEACH) dengan Metode BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BSLT). *Skripsi*. Program Stidu Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Sugianti, N. 2007. *Brine Shtimp Lethality Test* Ekstrak Etanol Daun Tumbuhan Tembelekan (*lantana camara* L.) beserta Profil Kromatografi Lapis Tipisnya. *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta.
- Suherman S, Hernani, Syukur C. 2006. Uji toksisitas ekstrak lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet*) terhadap larva udang (*Artemia salina* Leach.) *Bul. Litro*. Vol. XVII No. 1; 30 – 38.
- Sukadana, I. M. 2011. Kandungan Senyawa Steroid-Alkaloid pada Ekstrak n-Heksana Daun Beringin (*Ficus benjamina* L). *Jurnal Kimia (Journal of Chemistry)*.
- Sukandar, D., Hermanto, S., & Lestari, E. 2007. Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) Dengan Metode Brine

- Shrimp Lethality Test (BSLT). Penerbit UIN Syarif Hidayatullah: Jakarta.
- Sukandar D, Hermanto S., & Lestari E. 2009. Uji potensi aktivitas antikanker ekstrak daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb) dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *JKTI* Vol.11 No.1.
- Suriani, Ismail B, Noviana Estom P. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Secara Bioautografi Ekstrak Daun Karet Kebo (*Ficus Elastica*) Terhadap *Staphylococcus Epidermidis*. *Majalah Farmasi*. Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia Timur, Makassar. Vol.14. No. 02. ISSN 1829-9008.
- Syafitri, N. E., Bintang, M., & Falah, S. 2014. Kandungan Fitokimia, Total Fenol, dan Total Flavonoid Ekstrak Buah Harendong (*Melastoma affine* D. Don). *Current Biochemistry*, 1(3).
- Timbrell, John A.2002. *Introduction to toxicology Ed. 3*. Taylor & Francis, London: 163-167.
- Van Steenis, CGGJ. 2008. *Flora. Pradnya Paramita*. 163-167. Jakarta.
- Wibawani, A, I & Ainun, N, L,. 2015. Identifikasi Tanaman Berdasarkan Tipe Fotosintesis Pada Beberapa Spesies Anggota Genus *Ficus* Melalui Pengamatan Anatomi Daun. *Jurnal Biologi*. Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang. El-Hayah Vol.5 No.2. Hal: 43-47.
- Widuri, G.R. 2007. Uji Toksisitas Ekstak Kloroform dan ekstrak Etanol Daun Singkong (*Manihot utilissima* Pohl.) terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach dan Profil Kromatografi Lapis Tipisnya. *Skripsi*. Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Wirasuta, I.M.A.G. dan Niruri, R. 2006. *Toksikologi Umum*. Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana, Bali.
- Yuan, H., Ma, Q., Ye, L., Piao, G. 2016. The traditional medicine and modern medicine from natural products. *Molecules*, 21, 559.