

Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Rumput Knop (*Hyptis capitata* Jacq.) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

Acute Toxicity of Knop Weed Leaves Ethanolic Extract (Hyptis capitata Jacq.) Using Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

Nelsiani To'bungan^{1*}, Wibowo Nugroho Jati¹, dan Felicia Zahida¹

¹Fakultas Teknobiologi, Universitas Atma Jaya Yogyakarta, Indonesia

Abstract

The safety of using knop weed (*Hyptis capitata* Jacq.) as a traditional medicine is still limited. Safety testing through toxicity test is important to do before further benefit testing. One of the acute toxicity tests that can be performed as an early stage toxicity test is the acute toxicity test with the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method. Knop weed leaves are extracted with ethanol by maceration. Ethanol extract of knop weed leaves with concentrations of 1000, 500, 250, 125 and 62.5 µg/ml were exposed to *Artemia salina* (L.) larvae for 24 hours. The level of toxicity is determined based on LC₅₀ obtained based on the number of dead larvae, through probit analysis. The phytochemical content of the Knop weed leaves ethanolic extract was tested through qualitative phytochemical tests. The LC₅₀ of Knop weed leaves ethanolic extract was 173,780 µg/ml. Knop weed leaves ethanolic extract contains alkaloids and steroids.

Keywords: Toxicity, *Hyptis capitata* Jacq., Phytochemicals

Abstrak

Informasi mengenai keamanan penggunaan rumput Knop (*Hyptis capitata* Jacq.) sebagai obat tradisional masih terbatas. Uji keamanan melalui uji toksisitas penting untuk dilakukan sebelum dilakukan uji manfaat lebih lanjut. Salah satu uji toksisitas akut yang dapat dilakukan sebagai uji toksisitas tahap awal adalah uji toksisitas akut dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Daun rumput Knop diekstrak dengan penyari etanol dengan metode maserasi. Ekstrak etanol daun rumput Knop dengan konsentrasi 1000, 500, 250, 125 dan 62,5 µg/ml dipaparkan pada larva *Artemia salina* (L.) selama 24 jam. Tingkat toksisitas ditentukan berdasarkan nilai LC₅₀ yang diperoleh berdasarkan jumlah larva yang mati, melalui analisis probit. Kandungan fitokimia ekstrak etanol daun rumput Knop diuji melalui uji fitokimia kualitatif. Nilai LC₅₀ ekstrak etanol daun rumput Knop sebesar 183,91 µg/ml. Ekstrak etanol daun rumput Knop mengandung alkaloid dan steroid.

Kata Kunci: Toksisitas, *Hyptis capitata* Jacq., fitokimia

* Corresponding Author:

Nelsiani To'bungan

Fakultas Teknobiologi, Universitas Atma Jaya, Yogyakarta

Jl. Babarsari No. 44, Depok, Sleman, Yogyakarta, Indonesia, 55281

Email : nelsitobungan@gmail.com

Pendahuluan

Rumput Knop (*Hyptis capitata* Jacq.) (Gambar 1.) merupakan salah satu tumbuhan yang memiliki sejarah etnobotani (Khairiyah *et al.*, 2016). Rumput Knop merupakan tumbuhan herba yang dapat tumbuh hingga mencapai 2 meter (Datar *et al.*, 2007). Beberapa suku di Indonesia, telah menggunakannya sebagai obat tradisional untuk mengobati berbagai macam penyakit. Bagian tumbuhan ini yang digunakan sebagai obat pun bervariasi di masing-masing suku. Pucuk dan daun adalah bagian tumbuhan yang paling banyak dimanfaatkan sebagai obat luka dalam, luka terbuka, diabetes, penurunan panas dan kejang pada bayi (Khairiyah *et al.*, 2016); (Rupa *et al.*, 2017).



Gambar 1. Rumput Knop (*Hyptis capitata* Jacq.)

Penelitian terkait potensi rumput Knop sebagai kandidat obat masih sangat terbatas. Begitu pula dengan uji keamanannya. Uji keamanan penting untuk dilakukan sebelum dilakukan uji potensi atau manfaat. Uji keamanan suatu sediaan dapat ditelaah dengan melakukan uji toksisitas. Uji toksisitas paling awal disebut uji toksisitas akut.

Uji toksisitas akut merupakan salah satu jenis uji toksisitas yang dilakukan dengan cara memberikan zat kimia yang sedang diuji sebanyak satu kali atau beberapa kali dalam jangka waktu 24 jam. Penelitian semacam ini, dimaksudkan untuk menentukan LC_{50} atau

LD_{50} obat atau sediaan tertentu. Hal ini juga dimaksudkan untuk menunjukkan organ sasaran yang mungkin dirusak dan efek toksik spesifiknya, serta menjadi petunjuk terkait dosis yang sebaiknya digunakan dalam pengujian jangka waktu lama. Beberapa hal yang perlu diperhatikan sebelum melakukan uji toksisitas adalah pemilihan spesies hewan, cara pemberian, cara perlakuan, dosis dan jumlah hewan yang akan digunakan serta berbagai faktor lingkungan lainnya. Beberapa senyawa bioaktif yang telah berhasil diisolasi dan aktivitasnya dimonitor dengan BSLT menunjukkan adanya korelasi terhadap suatu uji spesifik antikanker. Suatu senyawa dikatakan toksik jika LC_{50} nya lebih kecil atau sama dengan $1000\mu\text{g/ml}$ (Harmita & Radji, 2006).

Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) adalah salah satu metode uji toksisitas awal suatu ekstrak tumbuhan atau sediaan bahan alam lain, berdasarkan kemampuan untuk membunuh larva yang dibiakkan di laboratorium (*nauplii*). *Nauplii* dipaparkan dengan ekstrak tanaman dengan konsentrasi yang berbeda selama 24 jam. Jumlah *nauplii* motil dihitung untuk menentukan efektifitas ekstrak. Metode ini sederhana, hemat biaya dan membutuhkan sedikit bahan uji (Sarah *et al.*, 2017)

Materi dan Metode

Pemrosesan Simplisia rumput Knop

Rumput Knop (*Hyptis capitata* Jacq.), diambil dari perkebunan kelapa sawit yang terletak di desa Bungapati, Kec. Tana Lili, Kabupaten Luwu Utara, Sulawesi Selatan. Rumput Knop diambil pada pagi hari, lalu dicuci bersih dengan air mengalir, ditiriskan dan dikeringkan dengan menggunakan cahaya matahari. Saat pengeringan rumput Knop ditutup menggunakan kain hitam.

Ekstraksi

Ekstraksi pada serbuk daun *H. capitata* Jacq. dilakukan dengan metode maserasi, menggunakan pelarut etanol. Serbuk yang telah didapatkan, ditimbang sebanyak 100 gram kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Sebanyak 500 ml pelarut etanol dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang

telah berisi serbuk. Pelarut ditambahkan sedikit demi sedikit sambil sedikit diaduk. Erlenmeyer ditutup dengan menggunakan aluminium foil dan didiamkan selama 3x24 jam sambil sesekali diaduk. Setelah 3x24 jam, campuran disaring dan dikeringanginkan dalam cawan porselen, hingga larutan pengekstraksi menguap sempurna.

Uji fitokimia

Uji fitokimia yang dilakukan adalah uji fitokimia kualitatif.

Uji Alkaloid

Ekstrak etanol daun rumput Knop sebanyak 0,5 gram dicampur dengan 5 ml kloroform dan 5 ml amoniak kemudian dipanaskan, dikocok dan disaring. Sebanyak 5 tetes asam sulfat 2 N ditambahkan pada masing-masing filtrat, kemudian kocok dan didiamkan. Bagian atas dari masing-masing filtrat diambil dan diuji dengan pereaksi Meyer, Wagner, dan Dragendorf. Terbentuknya endapan jingga, cokelat, dan putih menunjukkan adanya alkaloid (Mondong *et al.*, 2015).

Uji Flavonoid

Ekstrak etanol daun rumput Knop 100 ppm sebanyak 1 ml ditambahkan ke dalam tabung reaksi, lalu dididihkan dengan 10 ml air dalam penangas air. Sebanyak 1 ml HCl ditambahkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan serbuk Mg (Magnesium) sebanyak 100 mg. Hasil positif flavonoid menunjukkan warna merah atau kuning atau jingga (Noer *et al.*, 2018).

Uji terpenoid/steroid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak etanol daun rumput Knop dimasukkan ke dalam 2 tabung reaksi. Sampel pertama ditambahkan dengan 2ml asam sulfat pekat. Hasil positif steroid ditunjukkan dengan warna hijau atau hijau biru. Sampel kedua ditambahkan asam sulfat pekat dan anhidrida asetat. Hasil positif terpenoid ditunjukkan warna merah atau merah ungu (Rafiqi *et al.*, 2017).

Uji Saponin

Akuades sebanyak 10 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan

0,5 gram ekstrak etanol daun rumput Knop. Tabung reaksi dikocok, kemudian diberi 1 tetes HCl 2N. Tabung reaksi didiamkan, lalu diamati ada tidaknya busa stabil yang terbentuk. Adanya kandungan saponin, ditunjukkan dengan terbentuknya busa stabil (Noer *et al.*, 2018).

Uji Tanin

Ekstrak etanol daun rumput Knop sebanyak 0,1 gram dimasukkan ke tabung reaksi, lalu ditambahkan akuades sebanyak 10 ml. Tabung reaksi didiamkan 5 menit, kemudian dilakukan penyaringan. Hasil saringan didiamkan 5 menit dan ditambahkan 5 tetes larutan FeCl₃ 1%. Hasil positif tannin ditandai dengan terbentuknya warna biru ataupun hijau kehitaman (Marlinda *et al.*, 2012).

Penetasan *Artemia salina*

Sebanyak 0,5 gram telur artemia dimasukkan ke dalam botol plastik yang telah diisi 1 liter air laut. Wadah penetasan diletakkan pada suhu ruang dan diberi aerator. Lalu dibiarkan sampai 36 jam. Sampai telur menetas menjadi larva.

Uji toksisitas Akut BSLT

Ekstrak etanol daun rumput Knop dilarutkan dengan Dimetilsulfoxide (DMSO) dengan perbandingan 1:5. Larutan stok dibuat dengan konsentrasi 1000 µg/ml. Selanjutnya, larutan stok diencerkan untuk membuat seri konsentrasi ekstrak 500, 250, 125 dan 62,5 µg/ml. Masing-masing tabung diisi dengan 10 ml air laut. Sebanyak sepuluh ekor larva yang telah berumur 36 jam dimasukkan ke dalam tabung yang telah berisi air laut, kemudian kemudian masing-masing tabung diberikan 5 ml ekstrak etanol daun rumput Knop sesuai konsentrasi. Setiap pengujian selalu disertai dengan kontrol dan tiap konsentrasi dibuat dalam 3 kali replikasi. Terdapat pula tabung kontrol negatif yang diisi air laut dan masing-masing 10 larva, serta tabung kontrol yang diisi larva, air laut dan DMSO. Tabung disimpan selama 24 jam tanpa penutup dan penyinaran lampu. Setelah 24 jam, jumlah larva yang mati dihitung untuk mengetahui nilai probit dan dianalisis untuk mengetahui harga LC₅₀.

Tabel 1. Hasil Pengujian BSLT

Bahan Uji	Konsentrasi (µg/ml)	Log konsentrasi	Jumlah kematian	Total A. salina (L.)/Ulangan	% mati	Probit	LC ₅₀ (µg/ml)
Ekstrak etanol	1000	3	29	30	97	6,88	
daun rumput	500	2,70	28	30	93	6,48	
Knop	250	2,40	24	30	80	5,84	183.91
	125	2,10	7	30	23	4,26	
	62,5	1,80	2	30	7	3,52	

Analisis Data

Data uji toksisitas berupa persentase kematian larva pada tiap konsentrasi ekstrak etanol daun rumput Knop dianalisis dengan analisis probit menggunakan program Ms. Excel 2010. Data uji fitokimia dianalisis secara deskriptif.

Hasil

Uji toksisitas akut ekstrak etanol daun rumput Knop ditentukan berdasarkan jumlah larva *Artemia salina* (L.) yang mati setelah dipaparkan ekstrak etanol daun rumput Knop berbagai konsentrasi selama 24 jam. Hasil uji toksisitas akut ekstrak etanol daun rumput Knop dapat dilihat pada Tabel 1.

Uji fitokimia ekstrak etanol rumput Knop dilakukan dengan uji fitokimia kualitatif. Hasil uji fitokimia ekstrak etanol daun rumput Knop dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Rumput Knop

Pengujian	Hasil
Alkaloid	
Wagner	-
Meyer	+
Dragendroff	-
Terpenoid	-
Steroid	+
Saponin	-
Flavonoid	-
Tannin	-

Pembahasan

Uji toksisitas akut merupakan uji toksisitas yang perlu untuk dilakukan untuk mengetahui keamanan suatu bahan atau sediaan. *Brine Shrimp Lethality Test* merupakan salah satu metode untuk

melakukan uji toksisitas akut. Metode ini menggunakan larva *Artemia salina* (L.), yang merupakan udang air asin.

Pada Tabel 1. Dapat dilihat jumlah *Artemia salina* (L.) yang mati untuk kelompok perlakuan cukup bervariasi di tiap konsentrasi. Sementara pada kelompok kontrol menunjukkan tidak ada *Artemia salina* (L.), yang mati. Hal ini menunjukkan bahwa kematian *Artemia salina* (L.), pada kelompok perlakuan, disebabkan oleh adanya perlakuan ekstrak etanol daun rumput Knop. Berdasarkan analisis probit diperoleh persamaan $y=2,9698x-1,7254$, dengan nilai $y=5$ dan nilai $R^2=0,9533$. Nilai LC₅₀ ditentukan melalui persamaan tersebut, dan diperoleh LC₅₀ sebesar 183,91µg/ml.

Nilai LC₅₀ suatu sediaan/bahan yang lebih kecil dari 1000µg/ml, selain menunjukkan bahwa sediaan tersebut toksik, juga menunjukkan potensinya sebagai antitumor (Umaru *et al.*, 2018). Metode uji toksisitas akut dengan *Brine Shrimp Lethality Test* merupakan tahapan awal untuk penapisan senyawa bioaktif yang memiliki potensi sebagai antitumor (Marraskuranto *et al.*, 2008). Oleh sebab itu perlu dilakukan uji manfaat lebih lanjut, untuk mengetahui potensi rumput Knop sebagai antitumor atau agen pengobatan untuk penyakit lain.

Pada uji fitokimia yang dilakukan pada ekstrak etanol daun rumput Knop (Tabel 2.) , diperoleh informasi bahwa ekstrak etanol daun rumput Knop mengandung alkaloid dan steroid. Penelitian yang dilakukan Rupa *et al.*, 2017 menyatakan bahwa daun rumput Knop mengandung alkaloid dan triterpenoid. Tumbuhan memanfaatkan alkaloid sebagai racun yang melindungi tubuh dari serangga atau herbivor (Rohyani *et al.*, 2015). Sedangkan steroid

pada tumbuhan berperan sebagai senyawa yang dapat menghambat proses penuaan, yang sekaligus dapat menunda ataupun menghambat pengguguran (Suryelita *et al.*, 2017). Senyawa alkaloid dan steroid memiliki efek farmakologis, sehingga penting diteliti dan dikembangkan lebih lanjut tentang potensinya sebagai bahan obat.

Dalam konsentrasi tertentu alkaloid dan steroid dapat berdampak negatif bagi organisme hidup. Alkaloid dan steroid bersifat antifedan, yang menurunkan kepekaan reseptor perasa pada mulut larva *Artemia salina* (Agustini and Setyaningrum, 2017; Putri *et al.*, 2012). Hal ini yang menyebabkan kematian larva yang terpapar ekstrak etanol daun rumput Knop yang juga mengandung alkaloid dan steroid.

Kesimpulan

Uji toksisitas akut ekstrak etanol daun rumput Knop (*H. capitata* Jacq.), dengan metode BSLT menunjukkan nilai LC₅₀ sebesar 183,91 µg/ml. Nilai tersebut menunjukkan ekstrak etanol daun rumput Knop toksik terhadap *Artemia salina* (L.). Metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol daun rumput Knop (*H. capitata* Jacq.), adalah alkaloid dan steroid.

Saran

Diperlukan uji fitokimia lebih lanjut untuk mengetahui jenis alkaloid dan steroid yang terkandung di dalam ekstrak.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih untuk Universitas Atma Jaya Yogyakarta yang telah mendanai penelitian ini melalui Hibah Internal Universitas Atma Jaya Yogyakarta.

Referensi

Agustini., N. wayan S., & Setyaningrum, M. (2017). Identifikasi Senyawa Aktif dan Toksisitas Hayati Ekstrak n-heksana, Etil Asetat dan etanol Mikroalga *Tetraselmis chuii* Secara Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Warta Industri Hasil Pertanian*, [online] 34(1), 8. Available from: <https://doi.org/10.32765/wartaihp.v34i1.4063>

- Datar, M. N., Lakshminarasimhan, P., & Rao, P. S. N. (2007). *Hyptis capitata* Jacq. (Lamiaceae)-a new record for northern Western Ghats. *Indian J. Forest*, 30(3), 355-356.
- Khairiyah, N., Anam, S., & Khumaidi, A. (2016). Studi etnofarmasi tumbuhan berkhasiat obat pada Suku Banggai di Kabupaten Banggai Laut, Provinsi Sulawesi Tengah. *GALENIKA Journal of Pharmacy*, 2(1), 1-7.
- Marlinda, M., Sangi, M. S., & Wuntu, A. D. (2012). Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.). *Jurnal MIPA*, [online] 1(1), 24. Available from : <https://doi.org/10.35799/jm.1.1.2012.427>
- Marraskuranto, E., Fajarningsih, N. D., Januar, H. I., & Wikanta, T. (2008). Aktivitas Antitumor (Hela dan T47d) dan Antioksidan Ekstrak Makroalga Hijau *Ulva fasciata*. *Jurnal Pascapanen Dan Bioteknologi Kelautan Dan Perikanan*, [online] 3(2), 107. Available from : <https://doi.org/10.15578/jpbkp.v3i2.21>
- Mondong, F. R., Sangi, M. S., Kumaunang, M., & Herb, L. (2015). Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Patikan Emas (*Euphorbia prunifolia* Jacq.) dan Bawang Laut (*Proiphys amboinensis* (L.) Herb). *Journal MIPA Unsrat*, 4(1), 81-87.
- Noer, S., Pratiwi, R. D., Gresinta, E., Biologi, P., & Teknik, F. (2018). Penetapan Kadar Senyawa Fitokimia (Tanin, Saponin dan Flavonoid sebagai Kuersetin) Pada Ekstrak Daun Inggu (*Ruta angustifolia* L.). *Eksata: Jurnal Ilmu-Ilmu MIPA*, 18(1), 19-29.
- Putri, M. K. D., Pringgenies, D., & Radjasa, O. K. (2012). Uji Fitokimia Dan Toksisitas Ekstrak Kasar Gastropoda (*Telescopium telescopium*) Terhadap Larva *Artemia salina*. *Journal of Marine Research*, 1(2), 58-66.
- Rafiqi, R., Arifin, B., & Hasnirwan. (2017). Aktivitas Antioksidan dan Kandungan

- Fenolik Total Berbagai Fraksi dari Ekstrak Metanol Daun Melinjo (*Gnetum gnemon* L.). *Jurnal Kimia Unand*, 6(4), 27-32.
- Rohyani, I. S., Aryanti, E., & Suripto. (2015). Kandungan fitokimia beberapa jenis tumbuhan lokal yang sering dimanfaatkan sebagai bahan baku obat. *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia*, [online] 1, 388-391. Available from: <https://doi.org/10.13057/psnmbi/m010237>
- Rupa, D., Sulistyaningsih, C. Y., Dorly, D., & Ratnadewi, D. (2017). Identification of Secretary Structure, Histochemistry and Phytochemical compound of Medical Plant *Hyptis capitata* Jacq. *Biotropia*, [online] 24(2), 94-103. Available from: <https://doi.org/10.11598/btb.201>
- Sarah, Q. S., Anny, F. C., & Misbahuddin, M. (2017). Brine shrimp lethality assay. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, [online] 12(2), 186-189. Available from: <https://doi.org/10.3329/bjp.v12i2.32796>
- Suryelita, S., Etika, S. B., & Kurnia, Nivi, S. (2017). Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Steroid dari Daun Cemara Natal (*Cupressus funebris* Endl.). *Eksakta*, 18(1), 87-94.
- Umaru, I. J., Badruddin, F., & Umaru, H. (2018). Cytotoxicity Brine Shrimp Activity of *Leptadenia Hastata* (PER) Decne Leaves, Stem-Bark and Root Extract. *International Journal of Biochemistry & Physiology*, [online] 3(2), 1-8. Available from : <https://doi.org/10.23880/ijbp-16000127>
- Yohana, S. P., Elis, T., Muhammad, R. U., & Andi, M. (2015). Identifikasi Tumbuhan Berkhasiat Obat dan Potensi Pemanfaatannya Pada Beberapa Desa di Sekitar Gunung Sesean Kabupaten Toraja Utara. [Skripsi]. Universitas Hasanuddin, Indonesia.