

Brine Shrimp Lethality Test Ekstrak Etanol Herba Pugun Tanah (*Picria fel terrae* L.)

Tetty Noverita Khairani¹⁾, Chemayanti Surbakti²⁾, Novika Sari Siregar³⁾

^{1,2,3}Program Studi Farmasi, Institut Kesehatan Helvetia, Medan, Indonesia; Corresponding author:
tettyloverita04@gmail.com

Received: 20 Mei 2021; Revised: 28 Juli 2021; Accepted: 31 Juli 2021

DOI: <https://doi.org/10.52622/jisk.v2i2.15>

Abstract

The Pugun Tanah herbs (*Picria fel terrae* L.), a species of plant from the family Scrophulariaceae. The study was to determine the percent mortality and LC₅₀ value of the ethanolic extract of Pugun Tanah herbs in *Artemia Salina* L. larvae by using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Treatment concentrations include 180.0 ppm; 200.0 ppm; 220.0 ppm; 240.0 ppm; 260.0 ppm; 280.0 ppm; and 300.0 ppm and 0.0 ppm as negative controls with three replications. Each concentration used 10 larvae of *Artemia salina* L. 48 hours old. Toxicity was identified based on percent larval mortality by probit analysis (LC₅₀). The result is a linear equation, $Y = 11.222X + 65,427$. The LC₅₀ value was reached when the concentration was 188.691 ppm. Toxicity of the ethanolic extract of Pugun Tanah herbs was tested by BSLT. It showed toxic properties, there was potential as an anticancer because LC₅₀ < 1000.0 ppm.

Keywords: *Pugun tano herb, brine shrimp, lethality Test*

Abstrak

Herba Pugun Tanah (*Picria fel terrae* L.), spesies tumbuhan dari famili *Scrophulariaceae*. Penelitian ditujukan untuk penentuan persen kematian dan nilai LC₅₀ dari ekstrak etanol herba Pugun Tanah pada larva *Artemia Salina* L. secara *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Konsentrasi perlakuan meliputi 180,0 ppm; 200,0 ppm; 220,0 ppm; 240,0 ppm; 260,0 ppm; 280,0 ppm; serta 300,0 ppm serta 0,0 ppm sebagai kontrol negatif dengan perlakuan tiga kali ulangan. Setiap perlakuan digunakan larva berumur 48 jam sebanyak 10 ekor. Toksisitas diidentifikasi berdasar persen kematian larva dengan analisis *probit* (LC₅₀). Hasil diperoleh persamaan linear, $Y = 11,222X + 65,427$. Nilai LC₅₀ tercapai saat konsentrasi 188,691 ppm. Toksisitas ekstrak etanol herba Pugun Tanah diuji secara BSLT menunjukkan sifat toksik, ada potensi sebagai antikanker karena LC₅₀ < 1000,0 ppm.

Kata Kunci: *Herba Pugun tanah, brine shrimp, lethality test*

1. PENDAHULUAN

Aneka ragam bahan alam Indonesia sangat melimpah ruah, sekitar 40.000 jenis tumbuhan tersebar di penjuru pelosok Negeri. Indonesia mempunyai potensi sebagai Negara produsen obat berbahan dasar alami. Senyawa kimia bahan alam hayati Indonesia banyak manfaatnya; sebagai bahan pangan, kosmetika dan obat-obatan atau yang lain (1). Tumbuhan menjadi alternatif pilihan yang kini diminati sebagai bahan obat pada pengobatan tradisional, karena kesadaran kembali ke alam yang relatif aman dan murah. Dan kini mendapat perhatian pada sentra pelayanan kesehatan (2). Keberadaan penelitian tentang obat tradisional (OT) diakui oleh masyarakat, sehingga mendongkrak peningkatan pemanfaatan tanaman bagi kesehatan dan sebagai pendorong pengembangan obat tradisional (1).

OT adalah campuran bahan tumbuhan, hewan, atau mineral, maupun sediaan galenik secara genertif digunakan untuk pengobatan. Kini makin banyak penggunaan bahan alam sebagai obat,

sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai keamanannya (3). Obat tradisional mengalami peningkatan penggunaan sebagai *promotive, preventive, curative, dan rehabilitative* (4). *Back to nature* dipercaya punya kelebihan dibanding obat modern, yaitu efek samping relatif kecil bila benar dan tepat dalam pemakaian. Antagonis maupun sinergi juga dimiliki OT. OT sesuai untuk penyakit metabolik dan degeneratif. Ramuan obat tradisional merupakan tulisan naskah kuno, yang diturunkan secara generatif melalui tradisi dari berbagai suku setiap bangsa (2).

Tumbuhan biasa dimanfaatkan sesuai dengan penggunaannya, misalnya efektif sebagai anti serangga, seperti: nyamuk, walang sangit, kutu atau lainnya (1), atau berpotensi sebagai obat, seperti: antirematik, asam urat, maag, sakit perut, antiibakteri (4), diuretik, hiperglikemia, antidiabetes, antihiperurisemia, antielmintik (5), antinflamasi, antikanker, antioksidan (6). Salah satu tanaman berkhasiat sebagai obat, yaitu Pugun Tanoh yang merupakan jenis tanaman dari famili *Scrophulariaceae* dan banyak dimanfaatkan untuk mengobati berbagai macam penyakit. Secara tradisional sebagai stimulan, diuretik, antimalaria, demam, dan kardioprotektor, infeksi herpes, kanker dan peradangan. Berbagai penelitian telah dilakukan meliputi: skrining fitokimia (7), sampai khasiat farmakologinya (8–10) bahkan uji toksisitas dari ekstrak herba Pugun Tanoh (11). Kandungan herba Pugun Tanoh antara lain: flavonoid, glikosida, saponin, tanin dan steroid (12).

Toksisitas diuji dengan mengamati respon kematian hewan percobaan. Uji ditujukan untuk pemaparan senyawa dan meneliti batas keamanan penggunaan. Penelitian ini diarahkan pada skrining awal senyawa aktif dengan BSLT sebagai metode *bioassay* uji toksisitas. BSLT sering digunakan untuk skrining senyawa aktif karena murah, mudah dan dipercaya. *Artemia salina* L. yang masih berupa larva sebagai hewan uji toksisitas senyawa aktif pada pengembangan antikanker (13).

2. METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat meliputi: gelas ukur, beaker gelas, tabung reaksi, erlenmeyer, blender, timbangan analitik, *rotary evaporator*, pipet tetes, maserator, pengaduk, spatula, filter kertas, lampu pijar, seperangkat alat tetas larva (wadah, lakban hitam, *sterofom*, aluminium foil, lampu). Bahan yang digunakan terdiri dari: ekstrak herba Pugun Tanoh, etanol, aquadest, air laut buatan, telur larva *Artemia salina* L., dan DMSO.

Pengambilan Sampel

Penelitian Eksperimen dengan desain *post test-only control group design*. Sampel herba Pugun Tanoh (*Picria fel terrae* L.) diambil secara *purposive* dari Kota Pancur Batu, Sumatera Utara, dan jangka waktu penelitian dari bulan Januari-September 2020.

Persiapan dan Pembuatan Simplisia

Herba Pugun Tanoh diambil pada pagi hari sebanyak 3 kg, dipisahkan dari kotoran, benda asing lain. Selanjutnya dicuci dari tanah dan pengotor yang melekat pada simplisia dan dirajang. Setelah kering, diblender hingga diperoleh serbuk simplisia (14).

Pembuatan Ekstrak Herba Pugun Tanoh

Metode yang digunakan adalah maserasi dengan perbandingan 1 : 10, serbuk simplisia dimaserasi selama 5 hari, sebanyak 300 g simplisia dimasukan ke dalam maserator, kemudian direndam dengan 2.250 ml etanol 96 persen, ditutupi aluminium foil dalam jangka 3 hari, sesekali diaduk, difilter sehingga diperoleh fitrat I dan residu. Residu direndam ulang selama dua hari dengan 75 ml etanol 96%., sesekali diaduk, selanjutnya disaring sehingga diperoleh fitrat II dan residu. Fitrat I dan II dievaporasi pada 40⁰C sampai diperoleh ekstrak kental dengan *rotary evaporator* (11).

Pembuatan Air Laut Buatan

Ditimbang dengan cara seksama 15 gr NaCl dan dilarutkan ke dalam 1 liter aquadest, kemudian pH diukur dengan pH-meter sampai sekitar 8-9 untuk membuat air laut buatan (ALB) yang akan digunakan pada pengembangbiakkan telur larva *Artemia salina* L. dan uji toksisitas (15).

Penetasan Larva

Larva ditetaskan dalam wadah yang terbagi menjadi bagian terang dan gelap dengan pembatas *sterofom*, tepi bawah dilubangi untuk saluran larva. Wadah diisi ALB hingga kedua lubang *sterofom*

terendam. Sesendok telur dimasukkan ke ruang gelap, ditutupi lakban dan aluminium foil. Penerangan ruang dipakai pencahayaan lampu neon. *Aerator* dipasang pada ruang terang agar ada supply oksigen saat penetasan telur menjadi larva dan pindah ke ruang terang. Larva usia 24 jam dipindah ke wadah lain hingga usia 48 jam yang siap sebagai hewan uji BSLT (15).

Persiapan Larutan Sampel Uji

Sebanyak 2 g ekstrak ditimbang dan dilarutkan dengan 2 ml DMSO, ditambah aquadest hingga 100,0 ml, sehingga didapatkan larutan induk 2000,0 ppm. Pengenceran dilakukan untuk membuat 180,0 ppm, 200,0 ppm, 220,0 ppm, 240,0 ppm, 260,0 ppm, 280,0 ppm, dan 300,0 ppm (15).

Uji Toksisitas dengan Metode BSLT

Konsentrasi larutan uji 180,0 ppm, 200,0 ppm, 220,0 ppm, 240,0 ppm, 260,0 ppm, 280,0 ppm, dan 300,0 ppm. dipipet 10 ml dimasukkan ke masing-masing tabung reaksi, ditambah larva umur 48 jam sebanyak 10 ekor. Ulangan dilakukan 3 kali, hasil dibandingkan dengan kontrol. Jumlah yang mati dihitung dengan *digital colony counter*. Ukuran kematian larva ditandai dengan tidak ada pergerakan selama pengamatan (16–18).

Pengolahan dan Analisis Data

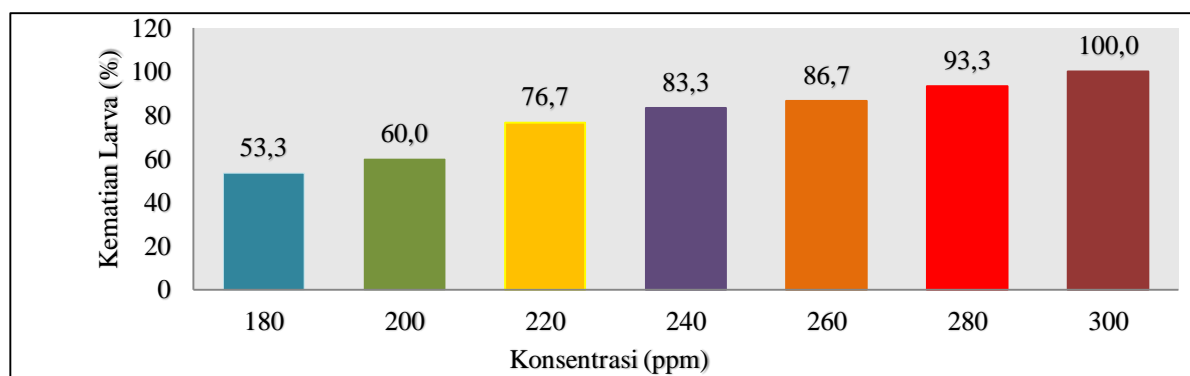
Persen kematian ditentukan dengan *Excel* melalui pembuatan garis linear dari nilai probit dengan logaritma kadar ekstrak. LC_{50} dihitung dari persamaan linear melalui substitusi nilai 5,0 sebagai Y (probit 50%), sehingga dihasilkan nilai X sebagai logaritma kadar ekstrak, LC_{50} merupakan antilogaritma X. Secara manual, nilai probit diperoleh dari konversi persen kematian ke nilai probit tabel. Selanjutnya penentuan logaritma kadar ekstrak dan membuat persamaan linear $Y=mX+b$, dimana Y dan X masing-masing sebagai nilai probit dan logaritma konsentrasi (18).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi herba Pugun Tanah dengan etanol 96% didapatkan ekstrak kental sebanyak 14,85 gram dan rendemen sebesar 4,95%. Kematian larva *Artemia salina* L. diamati setelah 24 jam diberi ekstrak etanol herba Pugun Tanah (Tabel 1), menunjukkan persen kematian yang tinggi. Saat konsentrasi 180 - 300 ppm memiliki total kematian larva sebanyak 16 - 30, dengan rata-rata 0,533 - 1,00 atau persen sebesar 53,3 - 100,0.

Tabel 1. Efek Konsentrasi Ekstrak Etanol Herba Pugun Tanah pada Larva *Artemia salina* L.

Perlakuan	Angka Kematian Larva <i>Artemia salina</i> L.							Kontrol Negatif
	Konsentrasi (ppm)							
	180,0	200,0	220,0	240,0	260,0	280,0	300,0	
I	6	7	8	8	9	10	10	0
II	5	6	7	8	9	9	10	0
III	5	6	8	9	8	8	10	0
Total	16	18	23	25	26	28	30	0
Rerata Kematian	0,533	0,600	0,766	0,836	0,866	0,933	1,00	0
Persen Kematian	53,3	60,0	76,7	83,3	86,7	93,3	100,0	0

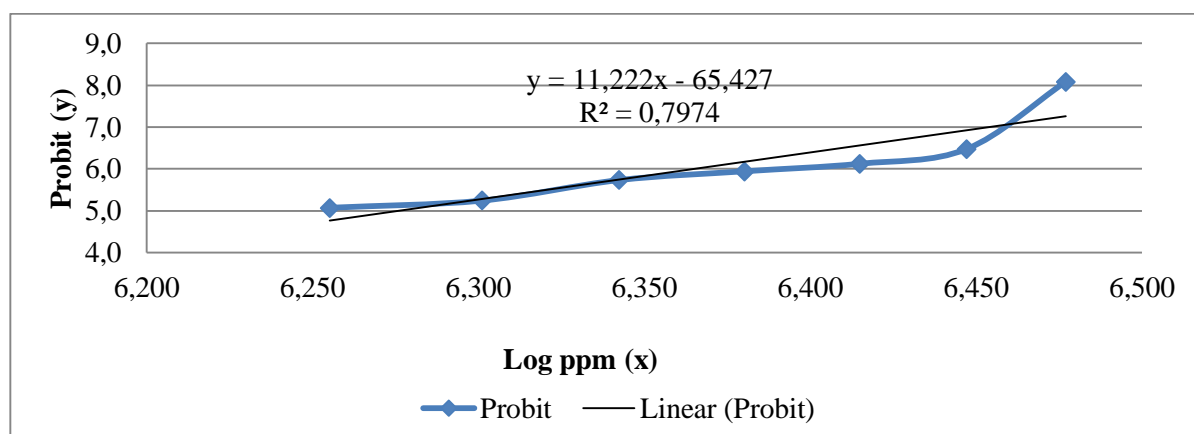


Gambar 1. Efek Konsentrasi Ekstrak Etanol Herba Pugun Tanah pada Larva *Artemia salina* L.

Gambar 1 sebagai ilustrasi efek konsentrasi ekstrak herba Pugun Tanah terhadap larva *Artemia salina* L. Persen kematian tertinggi dan terendah masing-masing pada konsentrasi 300 ppm dan 180 ppm. Hal ini menunjukkan peningkatan konsentrasi ekstrak terjadi peningkatan total kematian larva.

Tabel 2. Analisis Probit Nilai LC₅₀ Ekstrak Herba Pugun Tanah

Konsentrasi (ppm)	ppm	Log (ppm)	Probit	% Mati	Mortalitas	Total
180	1800000	6,255	5,08	53%	16	30
200	2000000	6,301	5,25	60%	18	30
220	2200000	6,342	5,74	77%	23	30
240	2400000	6,380	5,95	83%	25	30
260	2600000	6,415	6,13	87%	26	30
280	2800000	6,447	6,48	93%	28	30
300	3000000	6,477	8,09	100%	30	30



Gambar 2. Linearitas Konsentrasi Ekstrak Herba Pugun Tanah

Gambar 2 memberi informasi linearitas persen kematian dengan log konsentrasi ekstrak herba Pugun Tanah. Persamaan linear grafik diperoleh $Y = 11,222X + 65,427$. X sebesar 6,275; nilai LC₅₀ diantilogkan dan didapatkan nilai 188,691 ppm, menunjukkan kematian mencapai 50% saat konsentrasi ekstrak senyawa 188,691 ppm.

Penelitian memberi informasi bahwa ekstrak herba Pugun Tanah (*Picria fel terrae* L.) mempunyai efektivitas tinggi sehingga toksis. Ini terkait senyawa herba Pugun Tanah, yaitu: saponin dan flavonoid, dimana pada kadar tertentu berpotensi toksis dan menyebabkan letal. Mekanisme diprediksi karena peran senyawa saponin dan flavonoida herba Pugun Tanah yang bekerja sebagai inhibitor daya makan.

Fase yang digunakan adalah fase *nauplius* karena *Artemia salina* L. berada pada kondisi sangat aktif bermitosis identik dengan sel kanker. Ini penyebab BSLT sering digunakan untuk uji pendahuluan antikanker. Berdasarkan uji toksisitas dengan BSLT yang menunjukkan toksis, karena LC₅₀ < 1000 ppm maka ekstrak etanol herba Pugun Tanah berpotensi sebagai antikanker

4. KESIMPULAN

Ekstrak herba Pogun Tanah toksis terhadap *Artemia Salina* L. dengan BSLT. Nilai LC₅₀ ekstrak etanol herba Pugun Tanah ditentukan dengan analisis probit adalah 188,691ppm, dengan konsentrasi 300 ppm % dan kematiannya 100%.

5. DAFTAR PUSTAKA

- Suprianto, Faisal H, Subekti E. Efektifitas Lotion Anti Nyamuk Ekstrak Etanol Daun Kenikir (*Cosmos caudatus*). Jurnal Indah Sains dan Klinis. 2021;2(1):1–5. <https://doi.org/10.52622/jisk.v1i1.1>
- Kumala Sari LOR. Pemanfaatan Obat Tradisional dengan Pertimbangan Manfaat dan

- Keamanannya. Majalah Ilmu Kefarmasian. 2006;3(1):1–7. <https://doi.org/10.7454/psr.v3i1.3394>
3. Parwata MOA. *Obat Tradisional*. Denpasar: Universitas Udayana; 2016.
 4. Rumanti RM, Suprianto, Tarigan J, Ramadani AMS. Potensi Antibakteri Kombinasi Zingiber officinale var. Rubrum dengan Cinnamomum burmannii terhadap Staphylococcus aureus. *Jurnal Indah Sains dan Klinis*. 2021;2(1):6–10.
 5. Patilaya P, Husori DI, Wahyuni HS. Aktivitas Antelmintik Subfraksi dari Fraksi Etanol Daun Pugun Tanah [*Picria fel-terrae* (Lour.)]. In: *Talenta Conference Series: Tropical Medicine (TM)*. 2018. p. 111–3. <https://doi.org/10.32734/tm.v1i3.272>
 6. Satria D, Silalahi J, Haro G, Ilyas S, Hsb PAZ. Antioxidant and Antiproliferative Activities of An Ethylacetate Fraction of *Picria fel-terrae* Lour. Herbs. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2017;18(2):399. <https://doi.org/10.5220/0008359701900193>
 7. Surbakti C. Pengaruh Kombinasi Ekstrak Daun Pirdot (*Saurauia vulcani* Korth.) dan Herba Poguntano (*Picria fel-terrae* Lour.) terhadap Kadar SOD, HbA1c, Ekspresi Insulin pada Tikus Hiperglikemia. [Tesis]. Medan: Universitas Sumatera Utara; 2018.
 8. Satria D, Silalahi J, Haro G, Ilyas S, Hasibuan PAZ. Cytoprotective Activity of Ethylacetate Fraction of *Picria fel-terrae* Lour. Herbs. *Open Access Maced J Med Sci*. 2019;7(22):3865–7. <https://doi.org/10.3889/oamjms.2019.521>
 9. Dalimunthe A, Urip H, Rosidah G, Pandapotan NM. Evaluation of Diuretic Activity of *Picria fel-terrae* (Lour.) Leaves Extracts. *Asian J Pharm Clin Resc*. 2015;8:204–5.
 10. Furqan M, Hadisahputra S. Effects of Inhibition Cell Cycle and Apoptosis of Poguntano Leaves Ethylacetate Extract (*Picria fel-terrae* Lour.) on Breast Cancer Cells. *Int J Pharm Technol Res*. 2014;6:1096–9.
 11. Lestari P, Hadisahputra S, Ilyas S, Satria D. Combinational Effects of n-Hexane Extract of Poguntano leaves (*Picria fel-terrae* Lour.) with Doxorubicin on MCF-7 Breast Cancer Cells. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 2015;7(5):353–5.
 12. Huang Y, Cimanga K, Lasure A, Poel VB. Biological Activities of *Picria fel-terrae* Lour. *Pharm World Sci*. 1994;16(6):18.
 13. Ginting AY, Sumardi VM. Toksisitas Fraksi Sari n-Heksan Daun Kopasanda (*Chromolaena odorata* (L.) RM King & H. Rob) terhadap Larva Udang dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test). *Jurnal Indah Sains dan Klinis*. 2020;1(1):22–5.
 14. DepKes RI. *Cara Pembuatan Simplisia*. Vol. 4. Jakarta: DepKes, R I; 1985.
 15. Fatimatuzzahra F. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum canum* Sims) terhadap Larva *Artemia salina* Leach dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). [Skripsi]. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah; 2013.
 16. Casarett LJ, Doull J. *Toxicology: The Basic Science of Poisons*. New York: Macmillan; 1975.
 17. Klaassen CD. *Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons*. Vol. 1236. New York: McGraw-Hill; 2013.
 18. Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE, McLaughlin JL. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Planta med*. 1982;45(5):31–4. <https://doi.org/10.1055/s-2007-971236>