

## SKRINING FITOKIMIA DAN UJI TOKSISITAS EKSTRAK ETIL ASETAT DAUN BIDARA (*ZIZIPHUS MAURITIANA L.*) DENGAN MENGGUNAKAN METODE BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BSLT)

Lila Wahyuni<sup>1</sup>, Elza Rachman Panca Priyanda<sup>2</sup>, Tasya Regita<sup>3</sup>

<sup>1,2,3</sup>STIKes Har-Kausyar

Email: [lilaw877@gmail.com](mailto:lilaw877@gmail.com)<sup>1</sup>, [ezarachman9@gmail.com](mailto:ezarachman9@gmail.com)<sup>2</sup>, [regitatasya2@gmail.com](mailto:regitatasya2@gmail.com)<sup>3</sup>

### ABSTRAK

Indonesia memiliki kekayaan hayati yang melimpah, termasuk tanaman berkhasiat obat seperti daun bidara (*Ziziphus mauritiana L.*) yang secara tradisional digunakan untuk berbagai keperluan kesehatan. Pemanfaatan tanaman ini harus didukung dengan adanya suatu penelitian ilmiah guna memastikan kandungan senyawa aktif serta keamanannya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder dan toksisitas ekstrak etil asetat daun bidara menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etil asetat. Uji skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan steroid. Uji toksisitas dilakukan terhadap larva *Artemia salina* dengan konsentrasi ekstrak 0 (kontrol negatif), 25, 50, 100, dan 500 ppm. Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak memiliki nilai  $LC_{50}$  sebesar 283,139  $\mu\text{g/mL}$ , yang dikategorikan sebagai toksik. Kematian larva disebabkan oleh senyawa bioaktif dalam ekstrak yang mengganggu fungsi metabolisme dan sistem saraf larva. Dengan demikian, daun bidara memiliki potensi senyawa toksik dan perlu diteliti lebih lanjut untuk aplikasi farmasi, khususnya sebagai antitumor.

**Kata Kunci:** *Ziziphus Mauritiana L.*, Skrining Fitokimia, Toksisitas, BSLT,  $LC_{50}$ , *Artemia Salina*.

### ABSTRACT

Indonesia has abundant biological wealth, including medicinal plants such as bidara leaves (*Ziziphus mauritiana L.*) which are traditionally used for various health purposes. The use of this plant must be supported by scientific research to ensure the content of active compounds and its safety. This study aims to determine the content of secondary metabolite compounds and the toxicity of ethyl acetate extract of bidara leaves using the *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) method. The extraction process is carried out using the maceration method using ethyl acetate solvent. Phytochemical screening tests showed that the extract contains alkaloids, flavonoids, saponins, tannins, and steroids. The toxicity test was carried out on *Artemia salina* larvae with extract concentrations of 0 (negative control), 25, 50, 100, and 500 ppm. The test results show that the extract has an  $LC_{50}$  of 283,139  $\mu\text{g/mL}$ , which is categorized as toxic. Larval death is caused by bioactive compounds in the extract which disrupt the metabolism function and nervous system of the larvae. Thus, bidara leaves have the potential of toxic compounds and need further investigation for pharmaceutical applications, especially as an anticancer.

---

**Keywords:** *Ziziphus Mauritiana L.*, *Phytochemical Screening*, *Toxicity*, *BSLT*, *LC50*, *Artemia Salina*.

---

## PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang kaya akan keanekaragaman hayati, termasuk berbagai jenis tanaman yang tumbuh di seluruh wilayahnya. Beragam tumbuhan ini memiliki potensi sebagai bahan obat, baik dalam pengobatan tradisional maupun modern. Sejak dahulu kala, masyarakat Indonesia telah memanfaatkan ramuan tradisional untuk mengatasi berbagai macam penyakit. Sebagian besar merupakan tumbuhan berkhasiat yang telah dimanfaatkan secara tradisional dari generasi ke generasi, dan beberapa di antaranya telah diteliti secara ilmiah untuk mengetahui komposisi zat aktif, manfaat, serta keamanannya (Hadijannah, 2018). Salah satu tumbuhan yang dikenal mengandung senyawa aktif dengan efek terapeutik adalah daun bidara (*Ziziphus mauritiana* L.).

Berbagai senyawa alami yang ditemukan dalam daun bidara (*Ziziphus mauritiana* L.), di antaranya alkaloid, saponin, flavonoid, steroid, serta tanin. Senyawa-senyawa ini memiliki potensi sebagai antioksidan, antibakteri, dan antitumor. Akan tetapi, tingkat efektivitas dan keamanannya sangat ditentukan oleh dosis pemakaian. Penggunaan yang melebihi takaran yang dianjurkan justru berpotensi menyebabkan efek toksik atau keracunan (Nurul, *et al.*, 2019).

Sebuah zat dikategorikan sebagai racun apabila mampu menimbulkan kematian pada organisme hidup. Untuk menilai tingkat toksisitas suatu tanaman, salah satu metode yang dapat digunakan adalah *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Melalui pengujian ini, dapat diperoleh nilai  $LC_{50}$ , yakni konsentrasi zat yang menyebabkan kematian pada 50% hewan uji dalam jangka waktu tertentu (Khasanah, 2020).

Penelitian oleh Hadijannah (2018) menunjukkan bahwa ekstrak etanol dari daun bidara sangat toksik, dengan nilai  $LC_{50}$  sebesar 19,5524 ppm berdasarkan uji BSLT. Sementara itu, menurut Aqmallia (2020), seduhan daun bidara dengan air juga bersifat toksik, dengan nilai  $LC_{50}$  sebesar 12,20 ppm menggunakan metode yang sama.

Berdasarkan latar belakang yang telah dijelaskan, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian secara eksperimen terhadap skrining fitokimia dan uji toksisitas ekstrak etil asetat daun bidara (*Ziziphus mauritiana* L.) dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

## **METODE PENELITIAN**

Penelitian yang digunakan adalah eksperimental yang dilaksanakan di Laboratorium Farmasi STIKes Har-Kausyar Rengat serta Laboratorium Farmasi Universitas Fort De Kock di Bukittinggi, Sumatera Barat, dengan periode pelaksanaan mulai Januari hingga Mei 2025. Sampel yang digunakan adalah ekstrak dari daun bidara dengan Larva *Artemia salina Leach* sebagai hewan uji menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dan didapatkan hasil akhir nilai LC<sub>50</sub> dari ekstrak daun bidara.

### **Alat dan bahan**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik, blender, pipet volume, corong pisah, penangas air, plat tetes, erlenmeyer, beaker glass, tabung reaksi, pipet tetes, *vacuum rotary evaporator*, botol kaca gelap, kertas saring, vial, aluminium foil, mikropipet, kaca pembesar, alat pembiakan larva udang *artemia salina* yang terdiri dari wadah gelap, aerator, lampu uv.

Adapun bahan yang digunakan antara lain: daun bidara, aquadestilata, pereaksi mayer, wagner, FeCl<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, HCl 2 N, Liebermen Burchardat, etil asetat, DMSO, telur *Artemia salina Leach*, air laut.

## **Prosedur Kerja**

### **1. Pembuatan Serbuk Simplisia Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana* L.)**

Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana* L.) segar ditimbang sebanyak 1 Kg, kemudian dilakukan sortasi basah untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan asing lainnya yang terdapat pada daun bidara dan dicuci dengan air bersih lalu dirajang kecil-kecil kemudian di keringkan daun bidara tersebut dengan diangin-anginkan pada suhu kamar yaitu 25-27°C hingga kering. Setelah dikeringkan, sampel dihaluskan dengan menggunakan blender hingga halus, lalu serbuk simplisia disimpan dalam wadah tertutup rapat dan disimpan di tempat yang tidak terkena sinar matahari.

### **2. Ekstrak Simplisia Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana* L.)**

Simplisia daun bidara ditimbang sebanyak 300 gram, lalu dimasukkan ke dalam wadah maserasi. Kemudian ditambahkan pelarut etil asetat sebanyak 1,2 liter dengan perbandingan 1:4 (w/v). Campuran disimpan selama 3 hari pada suhu ruangan dan diaduk sesekali. Setelah proses ini, campuran disaring untuk memperoleh filtrat dan residu. Maserasi kemudian diulangi sekali lagi. Filtrat yang terkumpul selanjutnya diuapkan menggunakan *rotary*

*evaporator* pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental. Setelah itu, rendemen ekstrak dihitung dengan menggunakan rumus berikut:

$$\% \text{ Rendemen ekstrak} = \frac{\text{Bobot simplisia (akhir)} \times 100\%}{\text{Bobot awal}}$$

### Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia mencakup pengujian terhadap kandungan flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, serta terpenoid/steroid:

a. Uji Alkaloid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak dilarutkan menggunakan etil asetat lalu dimasukkan kedalam 2 tabung reaksi yang berbeda. Pada tabung reaksi pertama, filtrat ditambahkan 2 tetes pereaksi Wagner, hasil positif jika terjadi perubahan warna menjadi merah tua atau kecoklatan (Dewi, *et al.*, 2021). Sedangkan pada tabung reaksi kedua, filtrat ditambahkan 2 tetes pereaksi Mayer, hasil positif jika menunjukkan adanya endapan putih atau kuning (Lia, *et al.*, 2023).

b. Uji Flavonoid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak di letakkan diatas plat tetes, kemudian di tetesi dengan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, hasil ditunjukkan dengan munculnya perubahan warna menjadi hijau kehitaman atau hijau kekuningan (Rukmini, *et al.*, 2020).

c. Uji Saponin

Sebanyak 0,5 gram filtrat dilarutkan dengan air suling, kemudian dipanaskan, didinginkan, dan dikocok selama 10 detik. Adanya saponin ditandai dengan terbentuknya buih yang tetap ada selama minimal 10 menit dan tidak hilang meskipun ditambahkan 1 mL asam klorida (HCl) 2 N (Dewi, *et al.*, 2021).

d. Uji Tanin

Masukkan 0,5 gram ekstrak dilarutkan menggunakan etil asetat lalu tambahkan 3 tetes FeCl<sub>3</sub> 1%. Jika terbentuk larutan berwarna coklat kehijauan atau hijau kehitaman, menunjukkan adanya tannin (Dewi, *et al.*, 2021).

e. Uji Terpenoid/Steroid

Masukkan 0,5 gram ekstrak dilarutkan menggunakan etil asetat, setelah itu letakkan diatas plat tetes dan biarkan hingga kering, lalu tambahkan 2 tetes pereaksi Liebermen

burchard. Senyawa steroid ditandai dengan munculnya warna hijau, sementara senyawa terpenoid ditandai dengan munculnya warna merah atau kuning (Muthmainnah, 2017).

### 3. Uji Toksisitas Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana* L.)

Menurut (Ramadan *et al.*, 2015) dalam uji toksisitas ini dilakukan dengan beberapa tahap yaitu :

#### 1) Penyiapan Larva

Telur udang *Artemia salina leach* (supreme plus) ditetaskan dalam alat penetas yang menggunakan wadah berisi air laut, dilengkapi dengan aerasi serta lampu. Proses penetasan ini berlangsung selama 48 jam hingga larva terbentuk.

#### 2) Penyiapan Air Laut

Air laut yang dipakai dalam penelitian ini berasal dari sekitar pantai Carocok, Padang, Sumatera Barat, karena pH air laut di sana sesuai dengan yang dibutuhkan untuk penelitian ini.

#### 3) Pembuatan Konsentrasi Sampel Uji

Timbang 1 gram ekstrak etil asetat dari daun bidara, lalu larutkan dalam 100 mL etil asetat hingga terbentuk larutan induk dengan konsentrasi 10.000 µg/mL. Dari larutan induk ini, ambil 5 mL dan tambahkan etil asetat hingga mencapai volume 100 mL dalam labu ukur, sehingga larutan menjadi 500 ppm. Untuk membuat larutan 100 ppm, ambil 20 mL larutan 500 ppm dan masukkan ke labu ukur 100 mL, lalu tambahkan etil asetat sampai tanda batas. Selanjutnya, ambil 50 mL larutan 100 ppm, masukkan ke labu ukur 100 mL, dan tambahkan etil asetat hingga tanda batas, sehingga diperoleh larutan konsentrasi 50 ppm. Setelah itu, untuk larutan konsentrasi 25 ppm, dipipet kembali larutan konsentrasi 50 ppm sebanyak 50 mL, dimasukkan kedalam labu ukur dan di tambahkan etil asetat hingga tanda batas. Pengujian dilakukan dengan konsentrasi 500, 100, 50 dan 25 ppm.

#### 4. Uji Toksisitas dengan Larva *Artemia Salina Leach*

Kalibrasi dilakukan pada vial berkapasitas 10 mL untuk larutan uji dan kontrol. Pada vial larutan uji, pelarut dibiarkan menguap terlebih dahulu, lalu ditambahkan 50 µL DMSO menggunakan pipet mikro (sekitar dua tetes). Kemudian, sebanyak 10 larva *Artemia salina* dimasukkan ke dalam masing-masing vial, kemudian ditambahkan air laut hingga mencapai tanda batas kalibrasi. Setelah 24 jam, jumlah *Artemia* yang mati diamati untuk perhitungan

nilai LC<sub>50</sub> dengan bantuan tabel. Untuk vial kontrol, juga dimasukkan 10 larva *Artemia salina* dan ditambahkan air laut hingga tanda kalibrasi.

Setelah itu, hitung jumlah larva *Artemia salina* yang mati pada setiap konsentrasi dengan cara melihat langsung dan mencatatnya. Larva dianggap mati jika tidak bergerak sama sekali, sedangkan jika masih ada sedikit gerakan, larva dianggap hidup. Jumlah total larva yang mati adalah hasil penjumlahan semua larva mati di tiap konsentrasi. Untuk menghitung rata-rata kematian, bagi total larva mati pada tiap konsentrasi dengan jumlah larva awal pada konsentrasi tersebut, lalu kalikan dengan 100% agar didapat persentase kematian (YudisTira, 2024).

**Analisis Data**

Untuk mengetahui efek ekstrak etil asetat daun bidara (*Ziziphus mauritiana* L.) pada larva udang *Artemia salina*, analisis statistik dilakukan menggunakan metode probit. Proses ini dilakukan dengan membandingkan jumlah larva yang mati terhadap total larva untuk memperoleh persentase kematian. Persentase kematian ini kemudian dicari nilai probitnya dari tabel khusus. Nilai probit tersebut dimasukkan ke dalam rumus regresi untuk menghitung nilai LC<sub>50</sub>.

Persen kematian:

$$LC_{50} = \frac{\text{Jumlah larva mati pada kelompok perlakuan} - \text{jumlah larva mati pada kontrol}}{\text{Jumlah total larva uji}}$$

Persamaan regresi:

$$y = a + bx$$

$$LC_{50} = \text{anti log } x$$

Keterangan:

- x : Log Konsentrasi
- y : Nilai Probit
- a : Titik potong (intercept) pada grafik
- b : Kemiringan garis (slope) dari regresi linear.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil Maserasi

Pada penelitian ini sampel yang digunakan yaitu daun bidara yang diambil dari satu pohon yang berada di Jalan Pengairan, Km.2, Pekan Heran. Daun bidara yang digunakan adalah daun yang masih segar dan diambil sebanyak 1 kg. Tahap pertama adalah membuat simplisia daun bidara dengan beberapa langkah. Mulai dari pengambilan daun bidara, lalu dipotong kecil-kecil dan dikeringkan pada suhu ruang. Pengeringan ini bertujuan untuk mengawetkan simplisia agar tahan lama dan menghentikan reaksi enzim yang bisa merusak senyawa aktif dalam daun bidara (Marliza, 2021).

Sampel yang sudah kering kemudian diblender agar menjadi lebih halus. Penghalusan ini bertujuan supaya serbuk punya permukaan lebih luas, sehingga pelarut bisa masuk lebih mudah dan melarutkan zat penting, membuat proses ekstraksi jadi lebih efektif. Ekstrak dibuat menggunakan metode maserasi dengan metode dingin dan menggunakan pelarut etil asetat. Etil asetat dipilih karena mudah menguap, tidak menyerap air, dan tingkat toksisitasnya rendah. Dari 1 kg daun bidara (*Ziziphus mauritiana* L.) yang sudah dihaluskan, diperoleh 353 gram serbuk simplisia. Kemudian 300 gram serbuk simplisia ditimbang untuk dilakukan proses maserasi selama 1×24 jam dan dibiarkan sampel selama 3 hari (setiap 24 jam dilakukan penggoncangan), setelah 3 hari lakukan remaserasi (pengulangan) menggunakan pelarut baru.

Metode maserasi dipilih karena prosesnya sederhana dan tidak memerlukan peralatan yang mahal. Selain itu, metode ini juga menjaga keamanan kandungan kimia dalam simplisia karena tidak melibatkan pemanasan. Cara kerjanya, pelarut menembus dinding sel tanaman lalu zat aktif keluar ke pelarut karena perbedaan konsentrasi. Hasilnya adalah cairan ekstrak yang kemudian diuapkan dengan alat *rotary evaporator* sampai menjadi ekstrak kental. Dari penelitian ini, diperoleh ekstrak kental sebanyak 14,705 gram. Ekstrak ini disimpan dalam botol kaca tertutup rapat di lemari es supaya tidak berjamur. Setelah ekstraksi, dihitung persen rendemen yaitu 4,90%. Persen rendemen menunjukkan berapa banyak hasil yang didapat dari proses ekstraksi dan seberapa efektif prosesnya. Nilai rendemen menunjukkan seberapa banyak senyawa aktif yang terkandung dalam daun bidara serta seberapa efektif proses ekstraksi yang dilakukan. Senyawa aktif adalah zat dari tumbuhan atau hewan yang memberikan manfaat bagi manusia, seperti sifat antioksidan, antibakteri, antiinflamasi, dan antikanker. Kandungan kimia dalam daun bidara dapat dikenali melalui uji skrining fitokimia,

yang menjadi langkah awal untuk mengidentifikasi berbagai jenis senyawa dalam simplisia atau tanaman yang diuji.

**Tabel 4.1. Hasil perhitungan persen rendemen ekstrak daun bidara**

No.	Sampel	Jumlah ekstrak daun bidara		
		Berat Simplisia (gr)	Berat Ekstrak (gr)	Rendemen (%)
1.	Daun bidara	300 gr	14,705 gr	4,90 %

**Uji Skrining Fitokimia**

Komponen kimia dalam daun bidara bisa diketahui dengan uji skrining fitokimia. Uji ini adalah langkah awal untuk mengenali jenis senyawa yang ada dalam simplisia atau tanaman yang diuji (Dewatisari, *et al.*, 2018). Dari hasil uji skrining fitokimia pada ekstrak etil asetat daun bidara, diperoleh hasil sebagai berikut:

**Tabel 4.2. Hasil Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Daun Bidara**

No.	Metabolit Sekunder	Pereaksi	Tanda Positif	Hasil	Keterangan
1.	Alkaloid	Mayer	Endapan Putih	Negatif (-)	Tidak ada endapan putih
		Wagner	Merah tua atau kecoklatan	Positif (+)	Adanya perubahan warna menjadi kecoklatan
2.	Flavonoid	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> Pekat	Hijau kehitaman atau hijau kekuningan	Positif (+)	Adanya perubahan warna menjadi hijau kehitaman
3.	Saponin	HCl 2 N	Terbentuk busa stabil	Positif (+)	Positif terbentuk busa stabil
4.	Tanin	FeCl <sub>3</sub>	Coklat kehijauan atau hijau kehitaman	Positif (+)	Adanya perubahan warna menjadi hijau kehitaman
5.	Terpenoid	Liebermen Burchardat	Merah atau kuning	Negatif (-)	Tidak terjadi perubahan warna
6.	Steroid	Liebermen Burchardat	Hijau	Positif (+)	Adanya perubahan warna menjadi hijau

Berdasarkan hasil skrining fitokimia di atas menunjukkan hasil positif pada uji flavonoid, saponin, tanin, dan steroid. Uji alkaloid juga menunjukkan hasil positif pada reagen wagner.

Prinsip uji alkaloid didasarkan pada reaksi pengikatan, yakni terbentuknya ikatan kovalen koordinasi antara atom nitrogen yang memiliki pasangan elektron bebas dengan ion logam. Dalam prosedur uji alkaloid, ekstrak terlebih dahulu dilarutkan dalam etil asetat, lalu dibagi ke dalam dua tabung reaksi. Tabung pertama ditetesi pereaksi Wagner, sedangkan tabung kedua diberi pereaksi Mayer. Adanya perubahan warna menjadi merah tua atau coklat pada tabung pertama menandakan sampel positif mengandung alkaloid (Dewi, *et al.*, 2021). Pada tabung reaksi kedua, sampel positif alkaloid jika terbentuk endapan berwarna putih atau kuning (Lia, *et al.*, 2023). Dalam penelitian ini, sampel positif alkaloid saat diuji dengan pereaksi Wagner, tapi negatif alkaloid saat diuji dengan pereaksi Mayer karena hasil menunjukkan adanya gelembung dan tidak terdapat endapan putih. Gelembung tersebut disebabkan oleh adanya senyawa lain dalam ekstrak yang bereaksi dengan pereaksi Mayer, atau dapat juga terjadi karena kesalahan pada saat pengujian. Selain itu jika ekstrak masih mengandung banyak air, air tersebut mungkin bereaksi dengan pereaksi Mayer dan hal tersebut juga dapat menyebabkan terjadinya gelembung.

Flavonoid adalah senyawa metabolit sekunder yang termasuk dalam kelompok polifenol, banyak ditemukan di berbagai tanaman, dan memiliki berbagai manfaat untuk kesehatan (Arifin, 2018). Pada penelitian ini, ketika ekstrak daun bidara ditambahkan  $H_2SO_4$  pekat, warnanya berubah menjadi hijau kehitaman. Perubahan warna ini terjadi karena flavonoid bereaksi dengan asam sulfat pekat melalui sistem konjugasi pada gugus kalkon (YudisTira, 2024).

Saponin adalah senyawa yang punya dua bagian, satu yang suka air (hidrofilik) dan satu yang tidak suka air (hidrofobik). Bagian yang bersifat hidrofilik akan menarik air, sementara bagian yang bersifat hidrofobik menarik udara, sehingga ketika dikocok dapat menghasilkan busa. Penambahan HCl 2N meningkatkan polaritas senyawa tersebut, sehingga bagian hidrofiliknya dapat berikatan lebih kuat, membuat busa yang terbentuk menjadi lebih stabil. Pada struktur misel, sisi polar mengarah ke luar sedangkan sisi non-polar mengarah ke dalam. Susunan ini memungkinkan terbentuknya busa (Dewi, *et al.*, 2021). Dalam penelitian ini, sampel positif mengandung saponin karena terbentuk busa yang stabil dan tetap ada setelah ditambah pereaksi HCl 2N.

Dalam penelitian ini, hasil uji tanin positif karena ditandai dengan adanya perubahan warna menjadi hijau kehitaman. Warna hijau tersebut muncul karena reaksi antara larutan FeCl<sub>3</sub> dengan gugus hidroksil yang terdapat pada senyawa tanin. Warna hitam kehijauan menunjukkan bahwa sampel mengandung tanin terkondensasi (Dewi, *et al.*, 2021).

Uji terpenoid dan steroid, menggunakan reagen Liebermann-Burchard. Tujuan penambahan reagen ini adalah untuk membentuk turunan asetil dari reaksi asetilasi gugus OH membentuk cincin warna biru atau hijau dan berwarna merah atau ungu (Komang, *et al.*, 2016). Uji terpenoid positif jika warna berubah jadi merah atau kuning, sedangkan uji steroid positif jika muncul warna hijau (Muthmainnah, 2018). Uji senyawa steroid menunjukkan hasil positif jika warna berubah menjadi hijau. Warna ini muncul karena terjadi reaksi kimia, yaitu pelepasan molekul air dan pembentukan ikatan baru. Proses ini dimulai dengan pelepasan atom hidrogen, yang menyebabkan perubahan ikatan rangkap. Senyawa tersebut kemudian mengalami resonansi dan berperan dalam reaksi sebagai elektrofil dan karbokation (Nurjannah, *et al.*, 2022). Pada penelitian ini, sampel daun bidara terdeteksi mengandung senyawa steroid, yang ditandai dengan munculnya warna hijau setelah penambahan pereaksi Liebermann-Burchard.

### Uji Toksisitas Ekstrak Etil Asetat Daun Bidara

Dalam penelitian ini, toksisitas ekstrak etil asetat dari daun bidara terhadap larva *Artemia salina* Leach diuji menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Metode BSLT sering digunakan untuk skrining tanaman obat yang berpotensi sebagai antikanker karena prosesnya cepat, sederhana, dan tidak memerlukan regulasi etika khusus terkait bahan uji ini (Ningdyah, *et al.*, 2015). Prinsip utama BSLT adalah menilai kemampuan senyawa aktif dalam ekstrak untuk membunuh larva *Artemia salina* Leach melalui efek toksiknya (Fatimah&Santoso, 2020). Kelebihan metode ini meliputi kemudahan pelaksanaan, kecepatan dalam memperoleh hasil, serta efisiensi waktu yang dibutuhkan (YudisTira, 2024).

Pada pengujian toksisitas ekstrak etil asetat daun bidara (*Ziziphus mauritiana* L.), setiap vial diisi dengan 10 ekor larva *Artemia salina* Leach, dan masing-masing konsentrasi diuji dalam tiga kali pengulangan. Konsentrasi yang digunakan dalam pengujian meliputi 500 ppm, 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, serta 0 ppm yang berfungsi sebagai kontrol negatif. Dengan demikian, total konsentrasi yang diuji ada 5, masing-masing dengan 3 vial uji (pengulangan), sehingga jumlah keseluruhan larva *Artemia Salina* Leach yang digunakan adalah:

5 konsentrasi × 3 pengulangan × 10 larva = 150 ekor larva.

Jumlah ini memastikan data yang diperoleh cukup untuk analisis statistik dan perhitungan nilai toksisitas (LC<sub>50</sub>).

**Tabel 4.3. Nilai LC<sub>50</sub> Ekstrak Etil Asetat Daun Bidara**

Konsentrasi Uji (µg/mL)	Log Kosentrasi	Jumlah larva uji (ekor)	Jumlah larva mati				Persen kematian (%)	Nilai probit	LC <sub>50</sub>	Kategori
			R1	R2	R3	Σ				
500	5	30	4	5	4	4,3	43%	4,82	283,139 µg/MI Toksik	
100	4	30	4	0	3	2,3	23%	4,26		
50	3	30	2	0	2	1,3	13%	3,87		
25	2	30	2	0	2	1,3	13%	3,87		
0	1	30	0	0	0	0	0%	0		

Dalam penelitian ini, uji toksisitas ekstrak etil asetat daun bidara (*Ziziphus mauritiana* L.) menunjukkan bahwa seluruh konsentrasi uji menyebabkan kematian larva *Artemia salina*, kecuali pada kelompok kontrol yang hanya mengandung air laut. Konsentrasi tertinggi, yaitu 500 ppm, menyebabkan tingkat kematian larva paling besar sebesar 43%. Sebaliknya, konsentrasi terendah, yaitu 50 ppm dan 25 ppm, menghasilkan tingkat kematian paling rendah, masing-masing sebesar 13%.

Perbedaan jumlah larva yang mati pada tiap konsentrasi menunjukkan adanya hubungan antara konsentrasi ekstrak dan tingkat toksisitas. Secara umum, semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin banyak larva yang mati. Hal ini menandakan bahwa ekstrak etil asetat daun bidara memiliki potensi toksik yang bergantung pada dosis terhadap *Artemia salina*.

Menurut penelitian Hadijannah (2018), uji toksisitas ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus mauritiana* L.) dilakukan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) menghasilkan nilai LC<sub>50</sub> sebesar 19,55 ppm, yang masuk dalam kategori sangat toksik. Penelitian lain oleh Aqmallia (2020) menggunakan seduhan daun bidara dengan pelarut air dan metode BSLT, menghasilkan nilai LC<sub>50</sub> sebesar 12,20 ppm. Nilai tersebut juga mengindikasikan bahwa sampel bersifat toksik.

Hasil-hasil tersebut mengindikasikan bahwa daun bidara mengandung senyawa bioaktif dengan tingkat toksisitas yang tinggi terhadap *Artemia salina*, tanpa memandang jenis pelarut yang dipakai dalam ekstraksi.

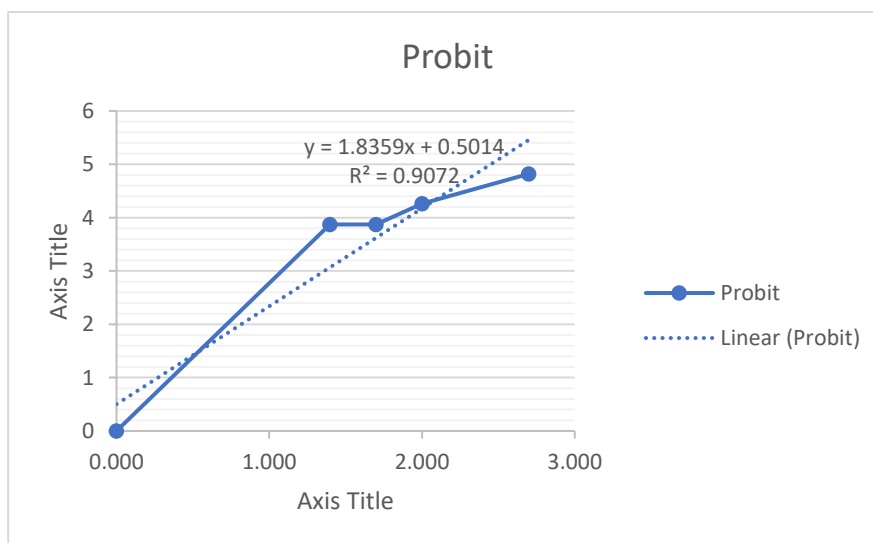
Pada penelitian ini, hasil analisis probit pengujian toksisitas ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana* L.) yang dihitung menggunakan *Microsoft Excel* diperoleh nilai  $LC_{50}$  sebesar 283,139  $\mu\text{g}/\text{Ml}$ . Pada metode BSLT, jika  $LC_{50} < 1000$  ppm, maka dapat dikatakan bahwa ekstrak yang digunakan termasuk ke dalam kategori toksik. Hal tersebut sesuai dengan rentang tingkat nilai toksisitas dibawah ini:

**Tabel 2.1. Tingkat Nilai Toksisitas**

No.	Nilai $LC_{50}$ ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	Tingkat Toksisitas
1.	<30	Sangat Toksik
2.	<b>30-1000</b>	<b>Toksik</b>
3.	>1000	Tidak Toksik

Sumber : Ningdyah, 2015

Nilai  $LC_{50}$  ini sesuai dengan kurva yang di tunjukkan pada gambar dibawah ini:



**Gambar 4.1. Kurva Kalibrasi BSLT Ekstrak Etil Asetat Daun Bidara**

Berdasarkan kurva pada gambar diatas menunjukkan bahwa pada setiap konsentrasi terjadi kenaikan jumlah kematian larva. Hal ini disebabkan karena semakin tinggi konsentrasi, maka semakin besar jumlah larva yang mati.

Kematian larva *Artemia salina* Leach disebabkan oleh senyawa metabolit sekunder yang ada dalam ekstrak etil asetat daun bidara (*Ziziphus mauritiana* L.). Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak ini mengandung alkaloid, flavonoid, steroid, saponin, dan tanin.

Senyawa-senyawa tersebut diketahui memiliki aktivitas biologis yang dapat bersifat toksik terhadap organisme uji seperti *Artemia salina*. Mekanisme toksisitasnya melibatkan gangguan terhadap sistem metabolisme, membran sel, atau enzim vital dalam tubuh larva, sehingga menyebabkan kematian.

Saponin merupakan senyawa yang bersifat amfipatik, artinya memiliki bagian polar dan nonpolar, serta larut dalam air dengan sifat seperti sabun (surfaktan). Sifat ini memungkinkan saponin membentuk busa dan mengikat oksigen terlarut dalam media perairan. Ikatan ini menyebabkan penurunan konsentrasi oksigen yang tersedia bagi larva *Artemia salina*. Kekurangan oksigen (hipoksia) akan mengganggu respirasi seluler larva, yang pada akhirnya menyebabkan kematian (Khasanah, 2020).

Flavonoid diduga berperan dalam kematian larva *Artemia salina* melalui mekanisme gangguan terhadap sistem pencernaan. Senyawa ini dapat menghambat aktivitas enzim-enzim pencernaan dan mengganggu proses penyerapan nutrisi dalam tubuh larva. Flavonoid juga dikenal sebagai racun perut (*stomach poison*) yang dapat membuat larva kelaparan karena terganggu kemampuan pencernaan dan penyerapan makanannya. Kondisi ini secara bertahap menurunkan fungsi vital larva dan akhirnya menyebabkan kematian.

Alkaloid diketahui berkontribusi terhadap kematian larva *Artemia salina* melalui mekanisme yang melibatkan sistem saraf dan saluran pencernaan. Senyawa tersebut bisa berfungsi sebagai racun yang masuk ke dalam tubuh larva lewat mulut. Setelah masuk, alkaloid mengganggu fungsi sistem saraf pusat dan menghambat kemampuan larva dalam merespons rangsangan, termasuk dalam hal mengenali dan merasakan makanan. Akibatnya, larva mengalami gangguan makan (anoreksia) yang berujung pada kelaparan dan kematian (Khasanah, 2020).

Dari hasil uji toksisitas ekstrak etil asetat daun bidara terhadap larva *Artemia salina* Leach diperoleh persamaan regresi linear  $y = 1,835x + 0,501$ , dengan nilai koefisien determinasi ( $R^2$ ) sebesar 0,907 menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang sangat kuat antara log konsentrasi ekstrak (x) dan nilai probit kematian larva (y), karena angkanya mendekati 1. Hal ini berarti variasi konsentrasi ekstrak mampu menjelaskan 90,7% variasi dalam tingkat kematian larva. Dengan kata lain, semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan, semakin tinggi pula angka kematian larva yang diamati (Wirasari, *et al.*, 2020).

## KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan penelitian ini, ekstrak etil asetat daun bidara mengandung beberapa senyawa seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan steroid. Hasil uji toksisitas dengan metode BSLT menunjukkan bahwa ekstrak tersebut bersifat toksik, dengan nilai  $LC_{50}$  sebesar 283,139 ppm. Sifat toksik ini disebabkan oleh adanya senyawa metabolit sekunder dalam daun bidara.

## DAFTAR PUSTAKA

- Arifin, Bustanul. Dan Sanusi Ibrahim. 2018. Struktur, Bioaktivitas, dan Antioksidan Flavonoid. *Jurnal Zarah* 6(1): 21-29.
- Fanani, Aqmallia. (2020). *Uji Toksisitas Seduhan Daun Bidara (Ziziphus mauritiana) Menggunakan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test)*. Tesis Diploma, Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang.
- Dewatisari, W.F., Rumiyantri, L., dan Rakhmawati, I. Rendemen dan Skrining Fitokimia pada Ekstrak Daun *Sansevieria sp.* *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*. 2018; 17(3):197
- Dewi, I.S., Septawati, T., & Rachma, F. A. (2021). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit dan Biji Terong Belanda (*Solanum betaceum Cav.*) Prosiding Seminar Nasional UNIMUS, 4, 1210-1218.
- Fatimah, Rosa., & Santoso, B.S.A., 2020. Toksisitas Akut Dekok Daun Kersen (*Muntingia calabura*) Menggunakan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). *Pharmacy Medical Journal*. Akademi Farmasi Putra Indonesia: Malang.
- Hadijannah, Siti. 2018. Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana L.*) Terhadap Larva Udang (*Artemia Salina Leach*) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (Bslt). Fakultas Farmasi Dan Kesehatan Institut Kesehatan Helvetia Medan.
- Khasanah NW, Karyadi B, Sundaryono A. Uji Fitokimia dan Toksisitas Ekstrak Umbi *Hydnophytum sp.* terhadap *Artemia salina Leach*. *PENDIPA J Sci Educ*. 2020;4(1):47-53.
- Komang Mirah Meigaria, I Wayan Mudianta, dan Ni Wayan Martiningsih, “Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Aseton Daun Kelor (*Moringa oleifera*)”, *Jurnal Wahana Matematika dan Sains*, Vol. 10, Nomor 2, Oktober 2016, hlm. 2.
- Lia, N.A. *et al.*, 2023. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana*) Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes Bacteria*. *Jurnal Mulawarman Pharmaceutical Conference*. Fakultas Farmasi. Universitas Mulawarman: Samarinda, Kalimantan Timur.

- 
- Marliza, H dan Oktaviani, D. 2021. Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol Daun Kemumu (*Colacasia gigantea* Hook.f) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Bencoolen Journal of Pharmacy*. 1 (1): 38-45.
- Muthmainnah B. (2017). Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Etanol Buah Delima (*Punica Franatum L.*) Dengan Metode Warna. 549(2), 40-42.
- Ningdyah, Arimbi Wahyu, et al., 2015. Uji Toksisitas dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) terhadap Hasil Fraksinasi Ekstrak Kulit Buah Tampoi (*Baccaurea Macrocarpa*) , *Jkk*, 4 (1), 75-83.
- Nurjannah, Iin., Mustariani, B.A.A., dan Suryani, N. 2022. Skrining Fitokimia dan Uji Antibakteri Ekstrak Kombinasi Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) dan Kelor (*Moringa oleifera L.*) Sebagai Zat Aktif pada Sabun Antibakteri. Program Studi Tadris Kimia. Fakultas Tarbiyah dan Keguruan UIN Mataram: Indonesia.
- Nurul, et al., 2019. Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Bidara (*Ziziphus spina-Christi L.*) Terhadap Pertumbuhan *Propionibacterium acne*. Program Studi Farmasi UNIDA GONTOR.
- Ramadan, F., Wardatun, S., & Wiendarlina, I. Y. (2015). Tosisitas kadar tanin serta flavonoid ekstrak etanol daun mangkokan (*Nothopanax scutellarium* (Burm. f.) Merr.).
- Rukmini, A., Utomo, D. H., & Laily, A. N. (2020). *Family Piperaceae Phytochemical Screening*. *Jurnal Biologi dan Pembelajarannya (JB&P)*, 7(1), 28-32.
- Wirasari, Nurhasanah., Handayani, V., dan Herman, H., 2023. Uji Toksisitas Ekstrak Daun Kemiri (*Aleurites moluccana*) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Makassar Natural Product Journal*. Fakultas Farmasi. Universitas Muslim Indonesia. Makassar: Sulawesi Selatan
- YudisTira. 2024. Skrining Fitokimia Dan Uji Toksisitas Ekstrak Etil Asetat Daun Pandan Wangi (*Pandanus Amaryllifolius Roxb.*) Dengan Metode Bslt (*Brine Shrimp Lethality Test*). Program Studi Sarjana Farmasi. Fakultas Farmasi Dan Ilmu Kesehatan. Universitas Abdurrab: Pekanbaru.