



PENAPISAN FITOKIMIA DAN UJI TOKSISITAS FRAKSI DAUN KAYU PUTIH (*Malaleuca leucadendra* L.) DENGAN METODE *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Abdul Rahman H. Djakaria¹, Hamsidar Hasan^{2*}, Muhammad Taupik³, Dizky
Ramadani Putri Papeo⁴, Wiwit Zuriati Uno⁵, Rifka Anggraini Anggai⁶

^{1,2,3,4,5,6} Jurusan Farmasi., Fakultas Olahraga dan Kesehatan, Universitas Negeri Gorontalo
Jl. Jenderal Sudirman No. 06 Kota Gorontalo 96128, Indonesia

* Penulis Korespondensi. Email: hamsidar.hasan@ung.ac.id (Phone/Whatsapp : +62 821-9531-2988)

ABSTRACT

Melaleuca leucadendra is one of the plants that has potential as a traditional medicine. The aim of this research is to identify chemical components and test the toxicity effects using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method on eucalyptus leaf fractions (*Malaleuca Leucadendra*). The extraction method used is multilevel maceration with solvents based on different polarity levels, namely *n*-hexane, chloroform, ethyl acetate and methanol. Identification of chemical components using tube tests and TLC tests, toxicity testing using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method. The results of the phytochemical screening of all fractions, namely *n*-hexane, chloroform, ethyl acetate and methanol, were positive for containing alkaloids, flavonoids, tannins and terpenoids. The results of toxicity testing using shrimp larvae with *n*-hexane, chloroform, ethyl acetate and methanol fractions showed LC₅₀ values of 218.43 µg/mL respectively; 81.20 µg/mL; 111.85 µg/mL; and 58.52 µg/mL. All LC₅₀ values are included in the toxic category.

Copyright © 2026 JPNP. All rights reserved.

Keywords:

Malaleuca Leucadendra, Toxicity, BSLT, LC₅₀

Received:

2025 -10-08

Accepted:

2026 -01-29

Online:

2026 -02-14

ABSTRAK

Melaleuca leucadendra merupakan salah satu tanaman yang memiliki potensi sebagai obat tradisional. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi komponen kimia dan menguji efek toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) pada fraksi daun kayu putih (*Malaleuca Leucadendra*). Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi bertingkat dengan pelarut berdasarkan tingkat kepolaran yang berbeda yaitu *n*-heksan, kloroform, etil asetat dan metanol. Identifikasi komponen kimia dengan menggunakan uji tabung dan uji KLT, pengujian toksisitas menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Hasil skrining fitokimia semua fraksi yaitu *n*-heksan, kloroform, etil asetat dan metanol positif mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, terpenoid. Hasil pengujian toksisitas menggunakan larva udang dengan fraksi *n*-heksan, kloroform, etil asetat dan metanol didapatkan diperoleh nilai LC₅₀ masing-masing sebesar 218,43 µg/mL; 81,20 µg/mL; 111,85 µg/mL; dan 58,52 µg/mL. Semua nilai LC₅₀ termasuk kedalam kategori toksik.

Kata Kunci:

Malaleuca Leucadendra, Toksisitas, BSLT, LC₅₀

Diterima:

08-10-2025

Disetujui:

29-01-2026

Online:

14-02-2026

Pendahuluan

Indonesia merupakan negara yang memiliki kekayaan sumber daya alam yang tersebar di beberapa pulau. Salah satu kekayaan alam tersebut adalah berbagai macam tanaman yang memiliki ciri khas dari masing-masing daerah tempat tumbuhnya. Tanaman-tanaman yang tersebar di Indonesia tersebut sebagian besar memiliki manfaat atau khasiat sebagai sumber obat yang berasal dari alam dan dapat dijadikan sebagai obat herbal terkait penggunaannya secara empiris maupun ilmiah. Salah satu tanaman yang memiliki potensi atau manfaat sebagai obat alam yaitu *Melaleuca leucadendra*, yang berasal dari suku *Myrtaceae*. Pemanfaatan tanaman ini hampir semua bagian tanaman (kulit batang, daun, ranting, dan buah) dapat dimanfaatkan sebagai obat. *Melaleuca leucadendra*, atau yang biasa disebut kayu putih, adalah tanaman tradisional, dimana daunnya yang telah digunakan secara turun-temurun

Beberapa penelitian menyebutkan bahwa ekstrak daun Kayu putih mengandung senyawa flavonoid, fenol, tanin, terpenoid, dan saponin. Kandungan senyawa flavonoid yang terdapat didalam daun kayu putih tersebut memiliki efek antikanker. Senyawa fenolik dan flavonoid mempunyai aktivitas terhadap uji toksisitas [13,20,21]. Uji toksisitas pada ekstrak tanaman biasanya dilakukan untuk mengetahui tingkat keamanan suatu ekstrak dan salah satu prasyarat suatu tanaman dapat dikembangkan sebagai obat dan produk lainnya. Salah satu metode awal yang digunakan untuk mengetahui aktivitas toksisitas dari suatu ekstrak atau senyawa bahan alam adalah BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) [22].

Metode BSLT merupakan salah satu uji toksisitas yang paling sederhana dan dapat dilakukan dengan mudah yang menggunakan larva udang laut *Artemia salina*. Keuntungan dari metode ini adalah mudah dikerjakan, murah, cepat dan cukup akurat [15].

Metode

Desain Penelitian yang digunakan adalah desain eksperimental laboraorium berupa penapisan fitokimia untuk mengidentifikasi metabolit sekunder pada fraksi daun kayu putih (*Malaleuca leucadendra*) dan untuk mengetahui nilai LC50 menggunakan uji toksisitas terhadap larva *Artemia Salina* menggunakan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*).

Bahan

aquadest, DMSO 1%, etanol 70 %, etil asetat, alumunium foil, FeCl₃, HCl 2 N, HCl pekat, H₂SO₄, kertas saring, kloroform, lempeng KLT, logam Mg, metanol, NaCl 0,9%, n-heksan, reagen dragendrof, reagen mayer, sampel daun Kayu putih (*Malaleuca Leucadendra*), telur larva *Artemia salina*, tisu.

Pembuatan Ekstrak Daun Kayu Putih (*Malaleuca Leucadendra*)

Simplisia Daun Kayu Putih yang telah dibuat dalam bentuk serbuk ditimbang sebanyak 300 gram, kemudian diekstraksi menggunakan empat pelarut yang berbeda yaitu n-heksan, kloroform, etil asetat, dan metanol dengan menggunakan metode maserasi bertingkat. Sampel kemudian dimasukan ke dalam bejana maserasi dan ditambahkan n-heksan sebanyak 2000 mL sampai sampel terendam dengan sempurna serta didiamkan selama 3 x 24 jam sambil sesekali diaduk (setiap 6 jam). Setelah 3 x 24 jam residu dipisahkan dari filtrat dan ampas simplisia dikeringkan dengan diangin-anginkan. Setelah residu kering, dimaserasi kembali selama 3 x 24 jam dengan kloroform

2000 mL sambil sesekali diaduk (setiap 6 jam), setelah 3 x 24 jam residu dipisahkan dari filtrat, setelah maserasi dengan kloroform selesai, residu dikeringkan kemudian dimaserasi dengan pelarut etil asetat dengan prosedur yang sama, kemudian dimaserasi dengan menggunakan pelarut metanol. Hasil masing-masing fraksi tersebut kemudian dievaporasi menggunakan alat *Rotary Evaporator* sampai terbentuk ekstrak kental, kemudian dihitung persen rendamennya menggunakan rumus sebagai berikut [19]:

$$\% \text{Rendamen} = \frac{\text{Berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{Berat sampel awal}} \times 100\%$$

Penapisan Fitokimia Pada Daun Kayu Putih.

Uji Alkaloid

Sebanyak 2 mL fraksi ditambahkan pereaksi Dragendorff kemudian dikocok. Hasil positif akan terbentuk endapan berwarna jingga yang menandakan positif mengandung alkaloid [11].

Uji Flavonoid

Sebanyak 2 mL fraksi ditambahkan 0,05 mg serbuk Mg dan 1 mL HCl pekat, kemudian dikocok. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga [2].

Uji Tanin

Sebanyak 1 mL fraksi ditambahkan dengan beberapa tetes FeCl_3 10%. Jika terjadi warna biru tua atau hitam kehijauan menunjukkan adanya tanin, perubahan warna yang terjadi disebabkan reaksi penambahan FeCl_3 dengan salah satu gugus hidroksil yang ada pada senyawa tanin. Penambahan FeCl_3 yang menyebabkan perubahan warna menunjukkan adanya tanin terkondensasi [2].

Uji Saponin

Sebanyak 2 mL fraksi dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 mL air panas lalu didinginkan, kemudian dikocok selama 10 detik lalu ditambahkan 1 tetes HCl 2 N. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil setinggi 1-10 cm selama tidak kurang dari 10 menit [2].

Uji Terpenoid

Sebanyak 2 mL fraksi ditambahkan CH_3COOH glasial sebanyak 10 tetes dan H_2SO_4 pekat sebanyak 2 tetes, kemudian dikocok dan dibiarkan selama beberapa menit. Adanya terpenoid akan terbentuk warna merah atau ungu [9].

Uji Steroid

Sebanyak 2 mL fraksi ditambahkan CH_3COOH glasial sebanyak 10 tetes dan H_2SO_4 pekat sebanyak 2 tetes, kemudian dikocok dan dibiarkan selama beberapa menit. Adanya steroid akan terbentuk warna biru atau hijau [9].

Analisis Menggunakan KLT (Kromatografi Lapis Tipis)

Dibuat eluen yang terbentuk dari campuran dua pelarut yaitu n-heksan dan etil asetat sebagai fase gerak, serta plat KLT sebagai fase diam. Eluen yang dibuat dimasukkan ke dalam chamber dan dijenuhkan menggunakan kertas saring. Ditotolkan masing-masing fraksi n-heksan, fraksi kloroform, fraksi etil asetat, dan fraksi metanol daun Kayu Putih pada plat KLT dan dimasukkan ke dalam chamber, kemudian dielusi dan didiamkan sampai kering, kemudian diamati pada sinar UV 254 nm dan 366 nm [23].

Penyiapan Larva Udang

Penetasan larva udang dilakukan di dalam wadah plastik yang memiliki 2 bagian yaitu bagian gelap dan bagian terang. Kedua bagian dipisahkan dengan steroform yang tepi bawahnya telah dilubangi sehingga telur yang menetas bisa keluar dari lubang tersebut. Wadah tersebut diisi 2 L air laut buatan hingga lubang pada steroform tenggelam. Bagian

ruang gelap diisi satu sendok telur lalu ditutup dengan lakban hitam dan aluminium foil dan diberi aerator sebagai sumber oksigen dari larva *Artemia salina*. Bagian sisi lain diberikan penerangan cahaya lampupijar/neon 40-60 watt. Setelah telur menetas menjadi larva yang berusia 24 jam kemudian akan berenang ke wadah terang. Larva yang digunakan pada uji toksisitas menggunakan metode BSLT adalah larva yang berusia 36-48 jam, *Artemia salina* yang berumur 36-48 jam adalah larva yang sudah memiliki mulut dan sistem pencernaan yang sempurna sehingga ekstrak uji yang ada disekitar larva dapat merangsang kematian dari larva [12].

Penyiapan Konsentrasi Larutan Uji

Pembuatan larutan induk dengan konsentrasi 1000 µg/mL pada setiap fraksi Daun Kayu Putih yaitu fraksi n-heksan, fraksi kloroform, fraksi etil asetat dan fraksi metanol. Setiap fraksi dilarutkan dengan air laut buatan, ditimbang 10 mg tiap fraksi lalu dimasukkan ke dalam 10 mL air laut. Penggunaan air laut dikarenakan siklus hidup *artemia salina* dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya pH, cahaya, suhu, kadar garam, dan aerasi O₂, pH terbaik untuk siklus hidup *artemia salina* pada pH > 8 (antara 8-9) sehingga digunakan air laut sebagai media penetasan. Kemudian pada setiap fraksi ditambahkan DMSO 1% 1-3 tetes (50-150 µl) untuk melarutkan fraksi dalam air laut buatan, DMSO diklasifikasikan dalam pelarut yang paling tidak beracun, dibandingkan pelarut lain terhadap kematian larva *Artemia salina*. Kadar toksisitas DMSO terhadap *Artemia salina* terjadi pada konsentrasi 2.5%. Selanjutnya dibuat konsentrasi larutan uji 240 µg/mL, 120 µg/mL, 60 µg/mL, 30 µg/mL, dan 15 µg/mL dengan pengenceran dan dibuat kontrol negatif 0 µg/mL yang berfungsi untuk memastikan kematian larva disebabkan hanya dikarenakan ekstrak uji bukan disebabkan air laut atau faktor lain.

Uji Toksisitas Menggunakan Metode BSLT

Pada penelitian yang dilakukan dimana untuk uji toksisitas dengan menggunakan metode BSLT. Penelitian dilakukan dengan 3 kali pengulangan (triplo) sehingga masing-masing kelompok konsentrasi memiliki 3 vial. Selanjutnya, masing-masing vial diisi dengan konsentrasi larutan uji, yakni 240 µg/mL, 120 µg/mL, 60 µg/mL, 30 µg/mL, dan 15 µg/mL, kemudian ditambahkan sampai 10 mL pada tiap konsentrasi. Sedangkan untuk kelompok kontrol langsung ditambahkan 10 mL air laut buatan. Larva yang telah berumur 36-48 jam sebanyak 10 ekor dimasukkan ke dalam masing-masing vial kelompok konsentrasi dan kelompok kontrol. Kemudian vial dibiarkan selama 24 jam kemudian dihitung larva udang yang mati. Larva yang mati memiliki ciri tidak bergerak selama beberapa detik.

Analisis Data

Data pengujian BSLT dianalisis menggunakan metode Sam. Berdasarkan perhitungan jumlah larva yang mati dan yang masih hidup. Tingkat kematian atau (%) mortalitas diperoleh dengan membandingkan antara jumlah larva yang mati dibagi dengan jumlah total larva.

Nilai LC diperoleh dengan cara menghitung menurut [16]:

Rumus:

$$y = a + bc.$$

Nilai y menyatakan larva udang yang mengalami kematian sejumlah 50% setelah masa inkubasi 24 jam. Nilai a dan b diperoleh dengan perhitungan menggunakan rumus regresi linear berdasarkan data dari tiga titik konsentrasi yang digunakan. Nilai x yang diperoleh merupakan konsentrasi larutan yang menyebabkan kematian terhadap 50% larva.

Keterangan:

y = Probit

x = Log konsentrasi

a = Slop (Kemiringan dan garis regresi linear)

b = intercept (garis potong)

Nilai LC₅₀ dihitung dengan menggunakan *Microsoft excel*

Hasil dan Pembahasan

Hasil Ekstraksi Daun Kayu Putih (*Malaleuca leucadendra* L.)

Tabel 1. Hasil Ekstraksi Daun Kayu Putih (*Malaleuca leucadendra* L.)

Pelarut	Berat Sampel (gram)	Berat Ekstrak (gram)	Rendemen (%)
N-heksan	300	53,6	7,86
Kloroform	264	46,2	17,5
Etil asetat	249	41	16,46
Metanol	234	36,4	15,55

Berdasarkan tabel di atas hasil ekstraksi sampel daun Kayu Putih (*Malaleuca leucadendra* L.) menggunakan maserasi bertingkat menghasilkan berat fraksi n-heksan 53,6 gram dengan berat sampel awal 300 gram diperoleh rendemen 17,86%, untuk fraksi kloroform berat awal 284 gram dengan hasil fraksi 46,2 gram sehingga diperoleh rendemen 16,26%, untuk fraksi etil asetat berat awal 269 diperoleh berat fraksi 41 gram dengan rendemen 15,24%, dan fraksi methanol berat awal 254 gram dengan hasil fraksi 36,4 gram dan diperoleh rendemen 14,33%.

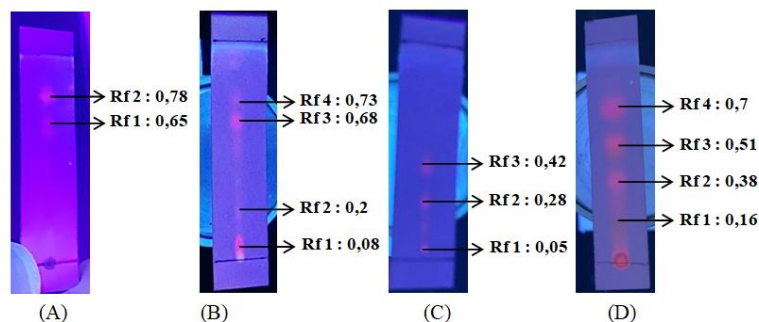
Hasil Skrining Fitokimia Daun Kayu Putih (*Malaleuca leucadendra* L.)

Tabel 2. Hasil Uji Warna Fraksi Daun Kayu Putih (*Malaleuca leucadendra* L.)

Fraksi	Metabolit Sekunder					
	Alkaloid	Flavonoid	Saponin	Steroid	Tanin	Terpenoid
N-heksan	+	+	-	-	+	+
Kloroform	+	+	-	-	+	+
Etil asetat	+	+	-	-	+	+
Metanol	+	+	-	-	+	+

Pada tabel 2 ini menunjukkan bahwa hasil skrining fitokimia dari fraksi daun Kayu Putih (*Malaleuca leucadendra* L.) adalah fraksi n-heksan mengandung alkaloid, flavonoid, tanin dan terpenoid, pada fraksi kloroform mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, dan terpenoid, selanjutnya pada etil asetat positif mengandung alkaloid, flavonoid, tanin dan terpenoid, sedangkan fraksi metanol positif mengandung alkaloid, flavonoid, tanin dan terpenoid.

Kromatografi Lapis Tipis



Gambar 1 Profil KLT fraksi (*Malaleuca leucadendra* L.) dengan UV 366 (A: Fraksi n-heksan, B: Fraksi kloroform, C: Fraksi etil asetat, D: Fraksi methanol)

Hasil Uji Toksisitas Daun Kayu Putih (*Malaleuca leucadendra* L.)

Tabel 3. Hasil Uji Toksisitas Fraksi Daun Kayu Putih (*Malaleuca leucadendra* L.)

Fraksi	C mcg /mL	mati	hidup	AM	AH	M/T	Mortalitas %	Log C (X)	Probit (Y)	LC50
N- Heksan	240	16	14	46	14	0,76	76,66	2,38	5,73	116.58
	120	12	18	30	32	0,48	48,38	2,07	4,96	
	60	8	22	18	54	0,25	25	1,77	4,33	
	30	6	24	10	78	0,11	11,36	1,47	3,80	
	15	4	26	4	104	0,03	3,70	1,17	3,20	
Kloroform	240	21	9	68	9	0,88	88,31	2,38	6,20	69.48
	120	17	13	47	22	0,68	68,11	2,07	5,48	
	60	13	17	30	39	0,43	43,47	1,77	4,83	
	30	10	20	17	59	0,22	22,36	1,47	4,24	
	15	7	23	7	82	0,07	7,86	1,17	3,56	
Etil Asetat	240	19	11	64	11	0,85	85,33	2,38	6,06	79.40
	120	14	16	45	27	0,62	62,5	2,07	5,32	
	60	13	17	31	44	0,41	41,33	1,77	4,78	
	30	10	20	18	64	0,21	21,95	1,47	4,22	
	15	8	22	8	72	0,1	10	1,17	3,27	
Metanol	240	23	7	76	7	0,91	91,56	2,38	6,31	64.56
	120	19	11	53	18	0,74	74,64	2,07	5,65	
	60	14	16	34	34	0,5	50	1,77	5,00	
	30	11	19	20	53	0,27	27,39	1,47	4,40	
	15	9	21	9	74	0,10	10,84	1,17	3,25	

Keterangan:

C = Konsentrasi uji

Mati = Jumlah larva yang mati

Hidup = Jumlah larva yang hidup

AM = Akumulasi larva yang mati

AH = Akumulasi larva yang hidup

M/T = Perbandingan akumulasi larva yang mati dengan total larva

%Mortalitas = Persentase larva yang mati

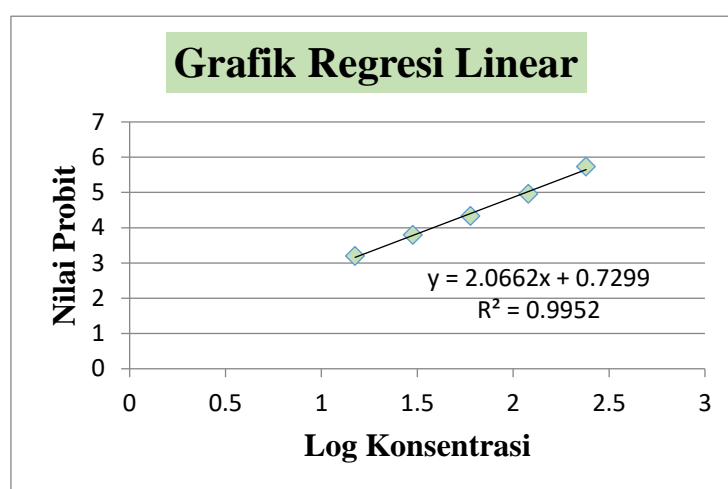
Log C = Logaritma dari konsentrasi uji

Nilai Probit = Nilai toksisitas

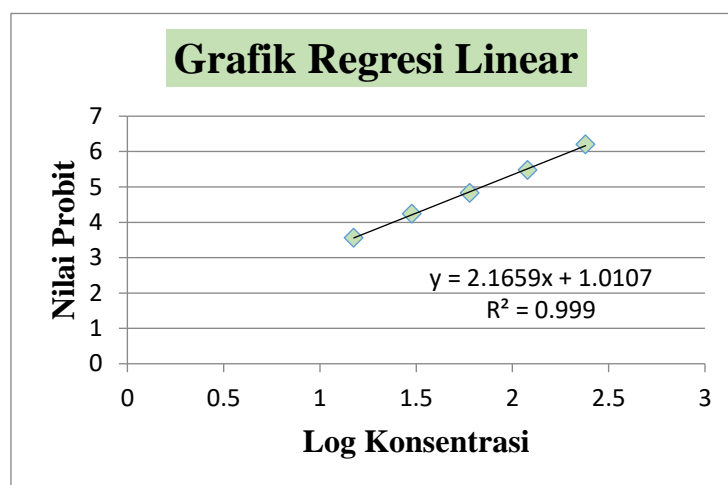
Nilai LC50 = Konsentrasi fraksi yang menyebabkan 50% kematian larva

Pada **Tabel 3** di atas menunjukkan bahwa hasil uji toksisitas dengan menggunakan metode BSLT dengan 5 konsentrasi yang berbeda-beda secara berturut-turut yaitu 240 µg/mL, 120 µg/mL, 60 µg/mL, 30 µg/mL, dan 15 µg/mL. Nilai LC50 yang didapatkan fraksi n-heksan yaitu 218,43 µg/mL, fraksi kloroform yaitu 81.20 µg/mL, fraksi etil asetat 111,85 µg/mL, dan fraksi metanol yaitu 58,52 µg/mL. Semua nilai LC50 termasuk dalam kategori toksik karena <1000 µg/mL.

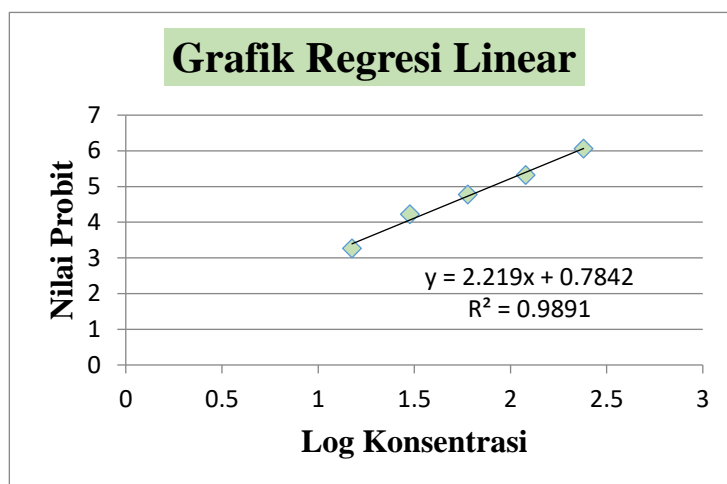
Hasil Analisis dan Pengolahan Data



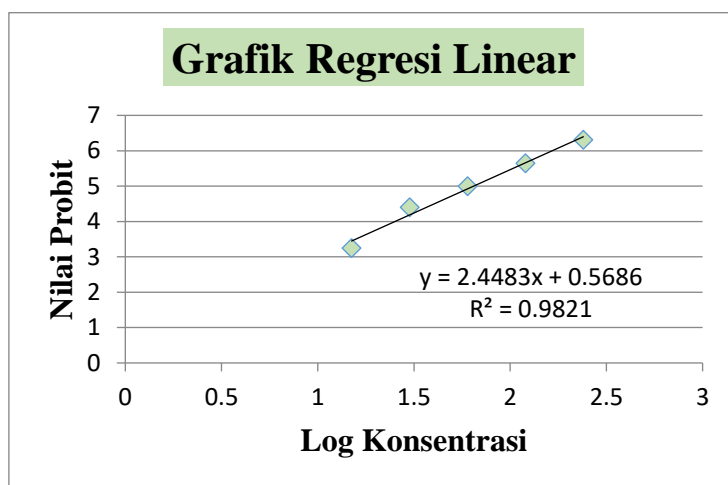
Gambar 2. Grafik Regresi Linear Dari Fraksi N-Heksan Daun Kayu Putih (*Malaleuca leucadendra* L.)



Gambar 3. Grafik Regresi Linear Dari Kloroform Daun Kayu Putih (*Malaleuca leucadendra* L.)



Gambar 4. Grafik Regresi Linear Dari Etil Asetat Daun Kayu Putih
 (*Malaleuca leucadendra* L.)



Gambar 5. Grafik Regresi Linear Dari Metanol Daun Kayu Putih
 (*Malaleuca leucadendra* L.)

Hasil grafik analisis probit dari fraksi n-heksan daun kayu putih dapat dilihat pada gambar 4 menghasilkan persamaan $y = 2,0662x + 0,7299$, $R^2 = 0,9952$, pada fraksi kloroform daun kayu putih dapat dilihat pada gambar 4.3 menghasilkan persamaan $y = 2,1659x + 1,0107$, $R^2 = 0,999$, pada fraksi etil asetatdaun kayu putih dapat dilihat pada gambar 4.4 menghasilkan persamaan $y = 2,219x + 0,7842$, $R^2 = 0,9891$, pada fraksi metanol daun kayu putih dapat dilihat pada gambar 4.5 menghasilkan persamaan $y = 2,4483x + 0,5686$, $R^2 = 0,9821$. Grafik di bawah menunjukkan log konsentrasi terhadap nilai probit yang didapatkan dari persentase larva yang mati.

Pembahasan

Berdasarkan pada gambar 4.1, pada fraksi n-heksan daun kayu putih (*Malaleuca leucadendra* L.) pada perbandingan eluen n-heksan : etil asetat (8:2) didapatkan 2 noda terbaik berwarna merah muda dengan noda pertama mendapatkan nilai R_f 0,78 dan noda kedua mendapatkan nilai R_f 0,65. Pada fraksi kloroform daun kayu putih (*Malaleuca leucadendra* L.) pada perbandingan eluen n-heksan : etil asetat (8:2) didapatkan 4 noda terbaik berwarna merah muda dengan noda pertama mendapatkan

nilai Rf 0,08, noda kedua dengan Rf 0,2, noda ketiga dengan Rf 0,68 dan noda keempat dengan nilai Rf 0,73. Pada fraksi etil asetat daun kayu putih (*Malaleuca leucadendra* L.) pada perbandingan eluen n-heksan : etil asetat (8:2) didapatkan 3 noda berwarna merah muda dengan noda pertama mendapatkan nilai Rf 0,05, noda kedua dengan nilai Rf 0,28 dan noda ketiga dengan nilai Rf 0,42. Sedangkan pada fraksi metanol daun kayu putih (*Malaleuca leucadendra* L.) pada perbandingan eluen n-heksan : etil asetat (8:2) didapatkan 4 noda berwarna merah muda dengan noda pertama mendapatkan nilai Rf 0,16, noda kedua dengan nilai Rf 0,38, noda ketiga dengan nilai Rf 0,51 dan noda keempat dengan nilai Rf 0,7. Hal ini sudah sesuai berdasarkan nilai Rf yang diperoleh dari pengujian kromatografi lapis tipis daun kayu putih (*Malaleuca leucadendra* L.) fraksi n-heksan, kloroform, etil asetat dan metanol diduga mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, steroid dan tanin. Hasil ini diperkuat dengan penelitian Pine (2016), nilai Rf untuk senyawa steroid adalah 0.53, nilai Rf untuk senyawa flavonoid berkisar antara 0.2 – 0.8 (Gita, 2016), Rahmiani (2019), dimana nilai Rf untuk alkaloid adalah 0.62 dan Nilai Rf senyawa tanin terletak pada 0,07-0,77 [8].

Uji toksisitas ekstrak daun kayu putih (*Malaleuca leucadendra* L.) terhadap larva *Artemia salina* dilakukan sebanyak 3 kali replikasi (pengulangan) agar data yang diperoleh lebih akurat. Masing-masing ekstrak dibuat dengan konsentrasi 1000 µg/mL sebagai larutan induk dan dibuat larutan uji dengan varian konsentrasi yang berbeda-beda yaitu 240 µg/mL, 120 µg/mL, 60 µg/mL, 30 µg/mL, 15 µg/mL, dan kontrol negatif yaitu konsentrasi 0 µg/mL tanpa ada penambahan ekstrak. Pemilihan konsentrasi dipilih berdasarkan prinsip kerja dari metode BSLT, dimana hasil ujinya dikatakan efektif terhadap larva *Artemia salina* Leach apabila ekstrak yang diujikan menyebabkan kematian pada kurang dari 1000 ppm.

Beberapa larutan uji tersebut akan dimasukkan kedalam vial dan dimasukkan sebanyak 10 ekor larva *Artemia salina* kemudian dibiarkan selama 24 jam. Setelah 24 jam, diamati kematian larva yang terjadi. Berdasarkan hasil pengujian toksisitas kali ini dengan menggunakan ekstrak dari daun kayu putih (*Malaleuca leucadendra* L.) pada larutan kontrol tidak didapatkan kematian larva, sehingga kematian larva murni karena ekstrak yang diberikan bukan karena pengaruh air laut atau pelarut yang digunakan. Hal ini sesuai literatur, Kelompok kontrol berfungsi untuk memastikan kematian larva disebabkan hanya karena ekstrak uji dan bukan disebabkan oleh air laut atau faktor lain [14].

Pada tabel 4.3 yang diduga menyebabkan kematian pada penelitian ini terhadap larva *Artemia salina* yaitu senyawa flavonoid, alkaloid, tanin dan steroid. Karena senyawa metabolit sekunder tersebut memiliki efek toksik yang dapat menjadi penyebab kematian pada larva *Artemia salina*. Cara kerja senyawa-senyawa tersebut adalah dengan bertindak sebagai *stomach poisoning* atau racun perut. Hal ini sesuai dengan literatur bahwa senyawa metabolit sekunder flavonoid dapat menurunkan aktivitas enzim pencernaan dan penyerapan makanan dan bertindak sebagai *stomach poisoning* atau racun perut sehingga larva *Artemia salina* menjadi kelaparan dan mati (Putri dkk, 2012). Senyawa-senyawa yang terdapat pada ekstrak tanaman dapat menghambat daya makan larva (*antifedant*) dengan cara bertindak sebagai *stomach poisoning* (racun perut), bila senyawa-senyawa ini masuk ke dalam tubuh larva udang, alat pencernaannya akan terganggu. Sedangkan senyawa metabolit sekunder alkaloid dapat membunuh larva udang karena alkaloid merupakan komponen aktif yang bekerja di saraf yang dapat menyebabkan gangguan pencernaan karena alkaloid dapat

bertindak sebagai racun melalui mulut larva. Sesuai dengan hasil penelitian [10], senyawa alkaloid dapat membunuh larva udang karena alkaloid merupakan komponen aktif yang bekerja di saraf yang dapat menyebabkan gangguan pencernaan karena alkaloid dapat bertindak sebagai racun melalui mulut larva. Hal ini mengakibatkan larva gagal mendapatkan stimulus rasa sehingga tidak mampu mengenali makanannya dan larva mati kelaparan. Pada senyawa tanin dapat menghambat serangga dalam mencerna makanan dan menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva [5]. Sedangkan untuk senyawa metabolit sekunder steroid merupakan hormon pertumbuhan yang mempengaruhi pergantian kulit larva. Steroid akan mengakibatkan dinding sel kitin pada tubuh larva menebal, sehingga pertumbuhan larva akan terganggu dan menyebabkan kematian pada larva [9].

Hasil yang didapatkan pada uji toksisitas dengan menggunakan metode BSLT fraksi daun kayu putih (*Malaleuca leucadendra* L.) dapat dilihat pada gambar (4.2; 4.3; 4.4; 4.5) secara berturut-turut yaitu Kenaikan konsentrasi suatu ekstrak akan diikuti dengan kenaikan presentasi kematian larva *Artemia salina*, semakin besar konsentrasi maka semakin besar pula tingkat kematian yang terjadi pada larva *Artemia salina*, dimana semakin tinggi konsentrasi maka semakin tinggi juga tingkat kepekatan senyawa yang terkandung di dalam konsentrasi tersebut sehingga dapat memperbesar tingkat kematian larva menunjukkan bahwa konsentrasi fraksi memiliki pengaruh yang besar terhadap kematian larva *Artemia salina*, semakin tinggi tingkat konsentrasi fraksi maka akan semakin tinggi tingkat kematian pada larva *Artemia salina*. Penjelasan ini juga didukung oleh penelitian [14], yang menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi uji maka akan menghasilkan jumlah kematian larva yang semakin tinggi. Untuk hasil analisis probit dapat dilihat pada gambar (4.2; 4.3; 4.4; 4.5) yang mana didapatkan nilai LC₅₀ untuk fraksi n-heksan sebesar 116.58 µg/mL, fraksi kloroform sebesar 69.48 µg/mL, fraksi etil asetat sebesar 79.40 µg/mL dan fraksi metanol sebesar 64.56 µg/mL. Untuk kontrol negatif 0 µg/mL tidak ada larva yang mati sehingga hal tersebut mengkonfirmasi bahwa air laut dan DMSO 1% bukan merupakan faktor penyebab matinya larva *Artemia salina*. Kematian larva *Artemia salina* disebabkan oleh kandungan senyawa bioaktif dalam ekstrak daun kayu putih (*Malaleuca leucadendra* L.) yang diduga memiliki potensi toksik yaitu flavonoid, alkaloid, tanin dan steroid.

Kesimpulan

Metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak daun Kayu putih (*Malaleuca leucadendra* L.) adalah Flavanoid, alkaloid, tannin, dan steroid. Nilai toksisitas atau LC₅₀ dari daun Kayu putih (*Malaleuca leucadendra* L.) yang diperoleh menggunakan metode BSLT pada fraksi n-heksan sebesar 116.58 µg/mL, fraksi kloroform sebesar 69.48 µg/mL, fraksi etil asetat sebesar 79.40 µg/mL dan fraksi metanol sebesar 64.56 µg/mL. Dapat ditarik kesimpulan bahwa semua Fraksi daun Kayu putih (*Malaleuca leucadendra* L.) bersifat toksik.

Referensi

- [1] Agustina, W. & Setyowati, E., 2016. Kandungan Kimia dan Uji Aktivitas Toksik Menggunakan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) dari Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*). *Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia*. 1(2), pp.41–47.
- [2] Anwar A. 2014. *Uji Aktivitas Diuretik Infusa Daun Sawi Hijau (Brassica juncea L.) Terhadap Tikus Putih Jantan Galur Wistar*. Surakarta: Universitas Setia Budi
- [3] Effendy. 2007. *Kimia Koordinasi Jilid 1*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Malang (UNM).

- [4] Fadli. 2019. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium Polyanthum* (Wight) Walp.) Dengan Metode Bslt (Brine Shrimp Lethality Test). *Medical Sains* . 4(1):35-42
- [5] Hasan H., Cahya N. RD. Abdulkadir W S. & 2022. Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Kulit Terong Ungu (*Solanum melongena* L.) Menggunakan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, 4(1)
- [6] Gita, P. 2016. Potensi Daun Alpukat (*Persea americana*, Mill.) Sebagai Minuman Teh Herbal Yang Kaya Antioksidan. *Jurnal Industri Inovatif*, 6 (1): 1-7
- [7] Harborne JB. 2006. *Metode Fitokimia Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: ITB.
- [8] Hidayah N. 2016. Pemanfaatan Senyawa metabolit Sekunder Tanaman (Tanin dan Saponin) dalam Mengurangi Emisi Metan Ternak Ruminansia. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*, 11(2)
- [9] Khasanah, Nur Wakidatul. 2020. Uji Fitokimia dan Toksisitas Ekstrak Umbi *Hydnophytum* sp. Terhadap *Artemia salina* Leach. *Journal of Science. Education*. Vol 4 No
- [10] Julianto, T. S. 2019. *Fitokomia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia*. Yogyakarta: Penerbit Universitas Islam Indonesia
- [11] Kurniawan H. 2012. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Daun Kesum (*Polygonum minus* Huds) Terhadap Larva *Artemia salina*. Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Pontianak Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Tanjungpura.
- [12] Muaja D A Harry S J. Koleangan, Max RJ Runtuwene 2013. Uji Tokusitus dengan Metode BSLI dan Analisis Kandungan Fitokimia Ekstrak *Daten Sovogik* (*Sauranta bracteosa* DC) dengan Metode Soxhletasi. *Jurnal MIPA UNSRAT* 2 (2) 115-118.
- [13] Nurul K. Subekti. 2014. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Daun Laban Abang (*Alaia elliptica* BLUME) Terhadap Larva Udang (*Artemia salina* Leach) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Skripsi. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN.
- [14] Parlin D. A., Nasution M. P, Haris M. N., Anny S. D. 2022. *Skrining Fitokimia Dan Uji Sitotoksisitas Ekstrak Etanol Daun Matoa (Pometia Pinnata) Dengan Metode Bslt*. *Jurnal Farmasi, Sains, dan Kesehatan*. 38-48
- [15] Putri, Mukti K, dkk. 2012. Uji Fitokimia dan Toksisitas Ekstrak Kasar *Gastropoda* (*Telescopium telescopium*) Terhadap Larva *Artemia salina*. *Journal of Marine Research*. Volume 1, No. 2, Hal 58-66.
- [16] Rahmiani, D. 2019. Penetapan Kadar Non Spesifik Ekstrak Batang Parang Romang (*Boehremia Virgata* (Vosrt) Guill). *Skripsi*. Makassar: Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan UIN Allaudin Makassar.
- [17] Rizki Nasfi Ramdhini. 2010. Uji Toksisitas Terhadap *Artemia Salina* Leach. Dan Uji Toksisitas Akut Komponen Bioaktif *Pandanus Conoideus* var. *conoideus* Lam. Sebagai Kandidat Antikanker. (Skripsi). Jurusan Biologi. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Unoversitas Sebelas Maret. Surakarta.
- [18] Sani R. N., Nisa F. C. Andriani R. D., Maligan J. M. 2014. Analisis rendemen dan skrining fitokimia ekstrak etanol mikroalga laut *Tetraselmis chuti*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 2(2), 121-126.
- [19] Sarah T. N. J. 2020. *Efektivitas Ekstrak Daun Kayu Putih (Melaleuca leucadendron L.) sebagai Antibakteri secara In Vitro*. Lampung: Fakultas Kedokteran. Universitas Lampung. 45-48.

- [20] Sutomo, Fahriah, Arnida. 2021. Skrining fitokimia dan uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun racun ayam (*brucea javanica* [1.] Merr.) Asal kalimantan selatan. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 6(1), 59-68.
- [21] Surya A. 2018. Toksisitas Ekstrak Daun Matoa (*Pometia Pinnata*) Terhadap Larva (*Artemia Salina* L) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test. *Jurnal Analis Kesehatan Klinik Sains*. 13-17.
- [22] Suryadarma P 2014. Kinet Dehidrasi Minyak Jarak Dengan Katalis Campuran Natrium Bisulfat dan Atapulgit. *J Tek Ind Pert*. 14(2), 51-55.