

Acute Toxicity Test of The Jamu Turmeric Tamarind on *Artemia Salina* Leach Larvae

Muhammad Abdurrahman Fardiaz^{1*}, Kholisatun Nafila Az-Zahro¹, Intan Dzulqaidah¹, Diana Ayu Savitri¹, Iman Surya Pratama¹, Lalu Husnul Hidayat¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Mataram, Mataram, Nusa Tenggara Barat, Indonesia;

Article History

Received : April 12th, 2023

Revised : May 10th, 2023

Accepted : June 18th, 2023

*Corresponding Author:

Muhammad Abdurrahman Fardiaz,
Program Studi Farmasi,
Fakultas Kedokteran,
Universitas Mataram,
Mataram, Nusa Tenggara
Barat, Indonesia;
Email:
fardiaz.abd@gmail.com

Abstract: Jamu is an ingredient from plant, animal material, mineral material, or a mixture of these ingredients for treatment based on experience. One of the jamu that are often consumed by Indonesian people, especially women, is the turmeric tamarind jamu. The turmeric and tamarind jamu is believed by most women to relieve pain during menstruation period. However, its current use has not been accompanied by the optimum dosage and side effects. Therefore, the toxicity test was carried out as an initial screening to predict the toxic levels that might be caused by the turmeric tamarind jamu. In this study, the bioactive substances in turmeric tamarind jamu will be identified, as well as the level of toxicity based on the LC₅₀ value. Using variations in extract concentration, this study used a fully randomized approach. The powdered sample of turmeric tamarind jamu brand X was dissolved in water and then tested for phytochemical screening. Phytochemical screening including flavonoids, alkaloids, tannins, steroids/terpenoids, and saponins screening was carried out qualitatively, the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method was used to carry out the toxicity. The results of the phytochemical screening showed that the turmeric tamarind jamu contains alkaloids, flavonoids, tepenoid, steroid and tannins. The results of the toxicity test of the turmeric tamarind jamu showed the LC₅₀ value in 3366.656 ppm and classified as non-toxic because it had LC₅₀ value more than 1000 ppm.

Keywords: acute toxicity, jamu, turmeric tamarind.

Pendahuluan

Jamu adalah ramuan bahan berupa tumbuhan, hewan, mineral, sediaan serian (generik), maupun campuran dari bahan yang secara turun temurun telah digunakan untuk pengobatan berdasarkan pengalaman dan dapat diaplikasikan di masyarakat (Permenkes No. 003/Menkes/Per/I/2010). Banyak masyarakat Indonesia menggunakan jamu karena diyakini memberikan manfaat kesehatan yang signifikan, baik dalam mencegah dan mengobati penyakit tertentu, serta dalam menjaga kebugaran, kecantikan, dan meningkatkan daya tahan tubuh (Biofarmaka IPB, 2013).

Riset menunjukkan bahwa 49,53% penduduk Indonesia menggunakan jamu

untuk mencegah dan mengobati penyakit tertentu. Masyarakat mengkonsumsi jamu sebanyak 95,6% menyatakan merasakan manfaat minum jamu. Hasil Riskesdas tahun 2010 juga menunjukkan bahwa masyarakat yang mengkonsumsi jamu berbentuk cairan sebesar 55,3%, sedangkan yang mengkonsumsi jamu dalam bentuk rajangn, pil, serbuk, tablet, dan kapsul sebesar 44,7% (Badan Litbang Kesehatan, 2010).

Salah satu jamu yang sering dikonsumsi masyarakat Indonesia khususnya wanita adalah jamu kunyit asam. Jamu ini terbuat dari campuran kunyit dan asam jawa. Jamu kunyit asam, berbeda dengan herba lain yang bercita rasa pahit, rasanya segar, manis, dan sedikit asam. Jamu kunyit asam diyakini dapat meredakan rasa nyeri ketika menstruasi

sehingga umumnya dikonsumsi oleh wanita yang sedang mengalami menstruasi (Mulyani *et al.*, 2014). Namun, dosis optimal dan efek samping saat ini tidak diketahui saat menggunakannya. Akibatnya, uji toksisitas dilakukan sebagai penyaringan awal untuk setiap potensi toksisitas dari ramuan kunyit asam.

Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) digunakan untuk uji toksisitas. Prinsip BSLT yaitu dengan melakukan pengamatan parameter-parameter toksisitas terhadap larva *Artemia salina* dimana hewan uji akan dipaparkan dengan ekstrak uji yang telah dibuat dengan varian konsentrasi yang berbeda dan dilakukan pengamatan selama waktu tertentu. Tingkat ketoksikan dinyatakan dalam LC₅₀ (Nastiti *et al.*, 2017). Berdasarkan informasi diatas, peneliti tertarik melakukan penelitian tentang uji toksisitas akut jamu kunyit asam terhadap larva *Artemia Salina* Leach.

Bahan dan Metode

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April dan Mei tahun 2022. Laboratorium Uji Obat Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Mataram dijadikan sebagai lokasi penelitian.

Skrining fitokimia Jamu Kunyit Asam

Jamu kunyit asam merek x dibeli di supermarket. Dibuat larutan sampel dengan ditimbang 1g serbuk jamu kunyit asam dan dilarutkan dengan 50 mL aquadest.

Alkaloid

Sampel sebanyak 5 mL ditambahkan kedalam 0,2 mL asam klorida 2 N didalam tabung reaksi sejumlah 3 tabung. Pada tabung 1 pereaksi Mayer ditambahkan sejumlah 1 mL. Pada tabung 2 pereaksi Wagner ditambahkan sejumlah 1 mL. Pada tabung 3 pereaksi Dragendorff ditambahkan sejumlah 1 mL. Jika pereaksi Mayer menghasilkan endapan putih atau kuning, pereaksi Wagner menghasilkan endapan coklat, dan pereaksi Dragendorff menghasilkan endapan jingga, maka larutan sampel diketahui mengandung alkaloid.

Flavonoid

Larutan sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi sebanyak 5 mL. Selanjutnya sejumlah 0,2 g Mg dan 5-10 tetes HCl pekat ditambahkan kedalam tabung reaksi kemudian digojog. Jika warna larutan sampel berubah menjadi pink-merah tua atau kuning-oranye, flavonoid di dalamnya telah terdeteksi.

Saponin

Larutan sampel sejumlah 5 mL ditambahkan kedalam tabung reaksi. Air panas sebanyak 10 mL dituangkan ke dalam tabung reaksi, yang kemudian dikocok kuat-kuat selama sepuluh detik setelah didinginkan sebentar. Jika busa naik hingga ketinggian 1-10 cm selama <10 menit dan tetap ada bahkan setelah satu tetes HCl 2 N ditambahkan, larutan tersebut ditemukan mengandung saponin.

Triterpenoid/Steroid

Larutan sampel sejumlah 5 mL ditambahkan dalam tabung reaksi. Selanjutnya kloroform sejumlah 2 mL dan asam sulfat pekat sejumlah 3 mL dimasukkan kedalam tabung reaksi. Ketika cincin kuning terbentuk pada antarmuka dua cairan, larutan tersebut ditemukan mengandung terpenoid. Setelah dua menit, cincin akan berubah menjadi coklat kemerahan dan tes positif steroid jika berubah menjadi merah.

Tanin

Larutan sampel sebanyak 5 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, Selanjutnya FeCl₃ 5% b/v ditambahkan sejumlah 1 mL. Larutan dinyatakan positif mengandung tanin apabila terbentuk warna hijau tua.

Penetasan Telur *Artemia salina*

Disiapkan wadah penetasan dari sebuah wadah kaca aquarium. Sejumlah 4 L air laut ditambahkan ke dalam wadah penetasan yang telah diberi sekat berlubang. Telur *Artemia salina* sejumlah 100 mg atau 0,1 g dituang ke dalam sisi gelap wadah penetasan dan diaduk rata menggunakan sendok dan diberikan aerator. Telur dibiarkan menetas menjadi larva selama 48 jam.

Uji Pendahuluan

Pembuatan Suspensi Fermipan

Fermipan ditimbang sebanyak 30 mg/0.03 g kemudian dilarutkan dalam 100 mL air laut.

Pembuatan Larutan Uji

Larutan induk 20000 ppm dibuat dengan 1000 mg sampel ditimbang kemudian dilarutkan dengan air laut 50 mL. Dengan pengenceran bertingkat dibuat larutan uji berkonsentrasi 10000 ppm, 1000 ppm, 100 ppm, 10 ppm, 1 ppm, 0.1 ppm. Setelah itu ditambahkan 10 larva *Artemia salina*, 1 tetes suspensi Fermipan, dan 10 mL sisa air laut pada setiap larutan uji. Ditentukan konsentrasi batas atas dan batas bawah. Kemudian dihitung konsentrasi untuk uji definitif berdasarkan nilai F dengan rumus pada persamaan 1 (Lazuardi, 2016).

$$F = \frac{n-1 \sqrt{\frac{\text{batas atas}}{\text{batas bawah}}}}{\quad} \quad (1)$$

Pembuatan Kontrol Negatif

Sejumlah 5 mL air laut dipipet dan dimasukkan ke dalam wadah pengujian, dimasukkan 10 ekor Larva *Artemia salina* Suspensi fermipan ditambahkan sebanyak 1 tetes, dan sisa air laut ditambahkan ad 10 mL.

Uji Definitif

Membuat larutan induk 20000 ppm dengan 1000 mg/1 g sampel ditimbang kemudian dilarutkan dengan air laut 50 mL. Dilakukan pengenceran bertingkat untuk memperoleh larutan uji berkonsentrasi 10000 ppm, 5640 ppm, 3168 ppm, 1780 ppm, 1000 ppm. Dimasukkan 10 ekor Larva *Artemia salina* kedalam masing-masing larutan uji, ditambahkan suspensi Fermipan sebanyak 1 tetes, dan sisa air laut ditambahkan ad 10 mL. Direplikasi sebanyak 2 kali untuk masing-masing larutan uji

Penentuan nilai LC₅₀

Pengamatan terhadap pergerakan larva dilakukan setelah 24 jam. Jumlah larva yang mati dihitung pada masing-masing wadah pengujian. Nilai LC₅₀ ditentukan melalui analisa probit berdasarkan persentase kematian yang diperoleh

Pengamatan Morfologi Larva *Artemia salina*

Salah satu larva *Artemia salina* yang

berada pada wajah pengujian dari masing-masing konsentrasi diambil menggunakan pipet Pasteur. Larva diletakkan di atas kaca objek yang tidak ditutup. Pengamatan dilakukan menggunakan perbesaran 10x. Hasil pengamatan didokumentasikan

Hasil dan Pembahasan

Skrining Fitokimia

Alkaloid, flavonoid, terpenoid, steroid, dan tanin ditemukan pada sampel serbuk obat herbal sebagai hasil dari skrining fitokimia. Tabel 1 menampilkan sampel hasil skrining fitokimia.

Tabel 1. Hasil skrining fitokimia

No	Golongan Senyawa	Reagen	Hasil
1.	Alkaloid	Mayer	+
		Wagner	+
		Dragendorf	+
2.	Flavonoid	0.2 g Mg + 5-10 tetes HCl	+
		2 mL kloroform	
3.	Triterpenoid	+ 3 mL asam pekat	+
		2 mL kloroform	
4.	Steroid	+ 3 mL asam pekat	+
		Gelatin 1% dan NaCl	+
5.	Tanin		
6.	Saponin	Pengojogan 10 detik dan HCl 2N	+

Uji Toksisitas

Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) digunakan untuk uji toksisitas larva *Artemia salina* sebagai hewan uji. Metode ini memiliki keunggulan dapat digunakan untuk tahap awal penyaringan toksisitas senyawa aktif ekstrak tanaman. Selain itu, hasil pengujian dapat dipercaya, dan metode ini digambarkan sederhana, cepat, murah, dan sederhana. Produk jamu kunyit dan asam jawa dalam penelitian ini diuji selama 24 jam pada larva *Artemia salina* dalam uji toksisitas jangka pendek. Parameter yang teramati adalah jumlah larva yang mati dan bertahan hidup di setiap konsentrasi. *Artemia salina* digunakan karena termasuk hewan invertebrata yang memiliki sensitivitas tinggi terhadap toksisitas sehingga sering digunakan dalam uji toksisitas dan penelitian

ekotoksikologi (Neves *et al.*, 2017).

Artemia salina tersedia secara komersial sehingga homogenitas populasi terjamin, mudah beradaptasi, daya tetas tinggi, sampel yang dibutuhkan sedikit, sederhana, cepat, hemat biaya, tidak diperlukan pelatihan khusus serta teknik aseptis serta memiliki tanggapan atau respon stres yang sama dengan manusia yaitu respon perilaku dan fisiologis terhadap stres lingkungan (Ghisalberti, 2008). Prinsip BSLT yaitu dengan melakukan pengamatan parameter-parameter toksisitas terhadap *Artemia salina*, dimana hewan uji akan dipaparkan dengan ekstrak uji yang telah dibuat dengan varian konsentrasi yang berbeda dan dilakukan pengamatan selama waktu tertentu.

Tingkat ketoksikan dinyatakan dalam LC₅₀. LC₅₀ yaitu besaran konsentrasi yang menyebabkan kematian 50% populasi hewan uji. Penyesuaian kondisi eksperimen pengujian yang harus dipenuhi yaitu temperature 28-30 °C, intensitas cahaya lampu pijar 60 Watt, dan pH 7,5 -9 (Hamidi *et al.*, 2014). Pengujian diawali dengan uji pendahuluan yang bertujuan untuk memperoleh rentang konsentrasi kritis yang merupakan interval konsentrasi tertinggi saat semua hewan uji hidup dan konsentrasi terendah yang menyebabkan semua hewan uji

mati selama durasi pengamatan. Hasil uji pendahuluan ditunjukkan pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji pendahuluan

Konsentrasi Larutan (ppm)	Jumlah Larva Awal	Jumlah Kematian Larva	Keterangan
0.1	10	0	
1	10	0	
10	10	0	
100	10	0	
1000	10	1	Batas bawah
10000	10	10	Batas atas

Hasil uji pendahuluan, diperoleh konsentrasi batas atas dan batas bawah dan ditentukan rentang konsentrasi untuk uji nyata dengan menggunakan faktor pengali (F). Nilai F diperoleh dari persamaan yakni 1.78. Sehingga konsentrasi yang digunakan pada uji nyata adalah 1000, 1780, 3168, 5640, dan 10000 ppm. Hasil pengujian nyata menunjukkan bahwa konsentrasi berturut-turut 10.000, 5640, 3168, 1780, dan 1000 ppm jamu asam dan kunyit dapat membunuh larva *Artemia salina*. Tabel 3 menampilkan persentase larva *Artemia salina* yang mati pada setiap konsentrasi pengujian.

Tabel 3. Hasil uji nyata

Konsentrasi (ppm)	Log ppm	Jumlah Kematian			% Mortality	Probit
		P1	R1	R2		
10000	4.0	10	10	10	100%	6.965
5640	3.8	8	10	9	90%	6.280
3168	3.5	2	2	2	20%	4.160
1780	3.3	0	0	4	13%	3.870
1000	3.0	0	0	0	0%	3.250

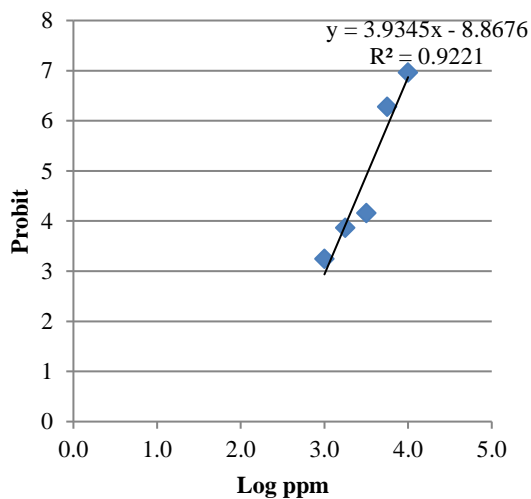
Semakin tinggi konsentrasi maka jumlah kematian larva *Artemia salina* semakin banyak. Hal ini disebabkan penggunaan sampel jamu asam dan kunyit dengan konsentrasi tinggi akan mengubah kondisi fisiologis larva *Artemia salina*. Setiap wadah uji berisi 10 individu, dengan total 220 larva, dan setiap konsentrasi diulang tiga kali. Hasil uji nyata yang diperoleh selanjutnya dilakukan analisa probit. Kurva hubungan antara Log ppm dan Probit ditunjukkan pada gambar 1.

Larva *Artemia salina* digunakan dalam penelitian ini saat berumur minimal 48 jam atau instar II-III. karena instar merespon zat uji lebih

kuat. Kondisi membran kulit *Artemia salina* yang sangat tipis, yang memungkinkan zat dan lingkungan yang memiliki efek pada metabolisme dalam tubuh berdifusi, kemungkinan berkontribusi terhadap sensitivitas spesies. Alasan lain pemilihan umur ini adalah dibandingkan saat larva menetas, anggota tubuh larva sudah lengkap pada umur ini (Wibowo *et al.*, 2013).

Hasil analisis probit pada larutan uji jamu kunyit asam diperoleh dengan cara memasukkan nilai probit 50% pada persamaan regresi dan hasilnya dihitung antilog. Larutan uji memiliki nilai LC₅₀ sebesar 3366,356 ppm.

Nilai LC_{50} yang menunjukkan tingkat toksik suatu zat pada konsentrasi yang dapat membunuh hingga 50% atau setengah populasi pada konsentrasi < 1000 ppm merupakan dasar potensi bioaktivitas. Suatu zat dianggap tidak beracun jika nilai LC_{50} > 1000 ppm (Clarkson et al., 2004). Konsentrasi > 1000 ppm, seperti 3366,656 ppm, aktivitas toksik pada larutan uji asam kunyit dapat mengakibatkan kematian lima puluh persen hewan uji atau setengah dari populasi hewan uji. Mengacu pada pernyataan in disimpulkan bahwa larutan kunyit herbal tidak beracun.



Gambar 1. Kurva hubungan log ppm dengan probit

Pengamatan Morfologi Larva *Artemia salina*

Larva *Artemia salina* normal dan yang telah terpapar larutan uji jamu kunyit asam diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 10x. Hasil pengamatan ditunjukkan pada gambar 2-7. *Artemia salina* yang baru menetas disebut nauplius atau larva. Nauplius berwarna orange berbentuk oval dengan panjang 400 mikron, lebar 170 mikron, dan berat 0,002 mg. Sepasang antena dan sepasang antena membentuk Nauplius. Dibandingkan dengan antena, antena lebih pendek dan lebih kecil. Selain itu, terdapat bintik mata yang disebut ocellus di antara antena, sepasang mandibula di belakang antena, dan labrum berada di sisi perut (Wibowo et al., 2013).

Morfologi larva *Artemia salina* yang terpapar laruta uji diduga mengalami kerusakan pada bagian mandibula, stigma, antena, dan antenula. Apabila terjadi kerusakan pada

mandibula, pergeseran stigma, penyusutan pada kedua antena, perubahan bentuk antenula, kehilangan sepasang antenula, dan perubahan warna tubuh dapat menyebabkan gangguan osmoregulasi dan ketidakseimbangan pergerakan *Artemia salina* (Ntungwe et al., 2020).



Gambar 2. Larva kontrol negatif



Gambar 3. Larva larutan uji 10.000 ppm



Gambar 4. Larva larutan uji 5640 ppm



Gambar 5. Larva larutan uji 3168 ppm



Gambar 6. Larva larutan uji 1780 ppm



Gambar 7. Larva larutan uji 1000 ppm

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa jamu kunyit asam mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, terpenoid, steroid, dan tannin. Nilai LC_{50} jamu kunyit asam menggunakan metode BSLT sebesar 3366.656 ppm yang memiliki derajat toksisitas kategori tidak toksik.

Ucapan Terima Kasih

Peneliti ucapkan terima kasih pada pihak yang terlibat dalam penelitian ini, baik moral maupun materil.

Referensi

- Badan Litbang Kesehatan. (2010). Laporan Hasil Riset Kesehatan Dasar Tahun 2010. Jakarta: Badan Litbang Kesehatan.
- Biofarmaka IPB. (2013). *Quality of Herbal Medicine Plants and Traditional Medicine*. <http://biofarmaka.ipb.ac.id/brc-news/brc-article/587-Quality-of-herbal-medicine-plants-and-traditional-medicine-2013>
- Clarkson, C., Maharaj, V. J., Crouch, N. R., Grace, O. M., Pillay, P., Matsabisa, M. G., Bhagwandin, N., Smith, P. J., & Folb, P. I. (2004). In Vitro Antiplasmodial Activity Of Medicinal Plants Native To Or Naturalised In South Africa. *Journal of Ethnopharmacology*, 92(2–3), 177–191. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.02.011>
- Ghisalberti, E.L. (2008). *Detection and Isolation of Bioactive Natural Products dalam Bioactive Natural Product: Detection, Isolation and Structural Determination* (2nd ed). New York: CRC Press.
- Hamidi, R.M., Jovanova, B., & Kadifkova, P.T. (2014). Toxicological evaluation of The Plant Products Using Brine Shrimp (*Artemia salina* L.) Model. *Macedonian Pharmaceutical Bulletin*, 60(1), 9–18. DOI: <https://doi.org/10.33320/maced.pharm.bull.2014.60.01.002>
- Kemendes Republik Indonesia. (2010). *Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia, Nomor 003/MENKES/PER/I/2010, Tentang Sainifikasi Jamu dalam Penelitian Berbasis Pelayanan Kesehatan*. http://www.hukor.depkes.go.id/up_prod_permenkes/PMK%20No.003%20ttg%20Sainifikasi%20Jamu%20Dalam%20Penelitian%20Berbasis%20Pelayanan%20Kesehatan.pdf

- Lazuardi, M. (2016). *Bagian Umum Ilmu Farmasi Veteriner*. Jakarta: Ghalia Indonesia.
- Mulyani, S., Harsojuwono, B. A., & Puspawati, G. A. K. D. (2014). Potensi Minuman Kunyit Asam (*Curcuma Domestica* Val Sebagai Minuman Kaya Antioksidan. *Agritech*, 34(1), 65–71. DOI: <https://doi.org/10.22146/agritech.9524>
- Nastiti, M., Erwin, & Kusuma, I. W. (2017, September). Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Pada Daun Terap (*Artocarpus elasticus*) Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Prosiding Seminar Nasional Kimia*, Dec. 2017, Samarinda, Indonesia, pp: 69–73. URL: <http://jurnal.kimia.fmipa.unmul.ac.id/index.php/prosiding/article/view/548>
- Neves, R. A. F., Fernandes, T., Dos Santos, L. N., & Nascimento, S. M. (2017). Toxicity Of Benthic Dinoflagellates on Grazing, Behavior and Survival of The Brine Shrimp *Artemia Salina*. *PLoS ONE*, 12(4), 1–17. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175168>
- Ntungwe N, E., Domínguez-Martín, E. M., Roberto, A., Tavares, J., Isca, V. M. S., Pereira, P., Cebola, M.-J., & Rijo, P. (2020). *Artemia* species: An Important Tool to Screen General Toxicity Samples. *Current Pharmaceutical Design*, 26(24), 2892–2908. DOI: <https://doi.org/10.2174/1381612826666200406083035>
- Wibowo, S., Suryaningrum D.T.H., Utomo, B.S.B., & Syamdidi. (2013). *Artemia Untuk Pakan Ikan dan Udang*. Jakarta: Penebar Swadaya.