

Skrining Fitokimia dan Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol Daun Diwoka (*Piper macropiper* Pennant) asal Wamena, Papua

Phytochemical Screening and Citotoxic Assay of Diwoka Leaves (*Piper macropiper* Pennant) Ethanolic Extract from Wamena, Papua

Frengchy Jalsan Charles Tabuni, Claudius Hendraman Boli Tobi, Septriyanto Dirgantara, Mustika Endah Pratiwi, David Waranda Rumanasen, Felycitrae Ekalaya Appa, Andre Anusta Barus

Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Cenderawasih, Jayapura, Indonesia

*Email Korespondensi: hendriantoby@gmail.com

Abstrak

Banyak spesies tanaman di Indonesia yang belum teridentifikasi dan diteliti manfaatnya. Salah satu tumbuhan obat tradisional asal Papua yang belum banyak dieksplorasi potensinya sebagai bahan obat adalah Diwoka (*Piper macropiper* Pennant). Studi senyawa bioaktif mencakup pendekatan fitokimia dan farmakologis yang diawali dengan studi toksisitas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui senyawa terkandung dalam ekstrak etanol daun Diwoka serta keamanannya. Metode skrining fitokimia yang digunakan adalah metode reagen dan metode uji sitotoksik yang digunakan adalah *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun Diwoka mengandung golongan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan terpenoid. Uji sitotoksik ekstrak etanol daun Diwoka terhadap larva udang menunjukkan potensi sitotoksik dalam kategori "toksik" ($LC_{50} = 79.33$ ppm). Penelitian ini merupakan penelitian pendahuluan yang menunjukkan hasil bahwa ekstrak etanol daun Diwoka memiliki senyawa metabolit sekunder yang berpotensi memiliki aktivitas farmakologi dan dapat dikembangkan sebagai obat bahan alam.

Kata Kunci: BSLT, Diwoka, Papua, *Piper macropiper* Pennant., Sitotoksik

Abstract

Many plant species in Indonesia have not been identified and their utilities have not been studied. One of the traditional medicinal plants from Papua whose potential as a drug ingredient has not been widely explored is Diwoka (*Piper macropiper* Pennant). The study of bioactive compounds includes phytochemical and pharmacological approaches that begin with toxicity studies. This study aimed to

determine the compounds contained in the ethanol extract of Diwoka leaves and its safety. The phytochemical screening method used was the reagent method and the cytotoxic test method used was the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). The results of the study showed that the ethanol extract of Diwoka leaves contains alkaloids, flavonoids, saponins, tannins and terpenoids. The cytotoxic test of the ethanol extract of Diwoka leaves on shrimp larvae showed a cytotoxicity potential included in the "toxic" category ($LC_{50} = 79.33$ ppm). This study is a preliminary study that shows that the ethanol extract of Diwoka leaves has secondary metabolite compounds that have the potential to have pharmacological activity and can be developed as natural medicine.

Keywords: BSLT, Diwoka, Papua, *Piper macropiper* Pennant., Cytotoxic

Diterima: 27 Maret 2025

Disetujui: 28 Agustus 2025

DOI: <https://doi.org/10.25026/jsk.v7i4.2532>



Copyright (c) 2025, Jurnal Sains dan Kesehatan (J. Sains Kes.).
Published by Faculty of Pharmacy, University of Mulawarman, Samarinda, Indonesia.
This is an Open Access article under the CC-BY-NC License.

Cara Sitasi:

Tabuni, F. J. C., Tobi, C. H. B., Dirgantara, S., Pratiwi, M. E., Rumanasen, D. W., Appa, F. E., Barus, A. A., 2025. Skrining Fitokimia dan Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol Daun Diwoka (*Piper macropiper* Pennant) asal Wamena, Papua. *J. Sains Kes.*, 7(4). 306-314. DOI: <https://doi.org/10.25026/jsk.v7i4.2532>

1 Pendahuluan

Pengembangan obat bahan alam yang dipelajari dalam studi fitofarmasi bertujuan untuk mengeksplorasi, mengidentifikasi, mengisolasi, dan memahami senyawa-senyawa kimia yang terkandung dalam tumbuhan, khususnya yang memiliki potensi farmakologis atau terapeutik [1]. Banyak spesies tanaman di dunia ini yang belum teridentifikasi dan belum diteliti manfaatnya. Berdasarkan penelitian pada jurnal *New Phytologist*, terdapat sekitar 100.000 spesies tanaman yang belum diidentifikasi lebih lanjut [2]. Hal ini membuat banyak peneliti yang hingga saat ini masih berusaha untuk mengidentifikasi hingga mengisolasi senyawa murni yang berasal dari tanaman-tanaman di seluruh dunia. Salah satu daerah di Indonesia yang berpotensi memiliki keanekaragaman flora yang dapat dikembangkan sebagai obat bahan alam yaitu Papua.

Papua merupakan kepulauan tropis yang terletak di sebelah barat garis khatulistiwa yang ditutupi oleh pegunungan yang luas dan hutan belantara yang memiliki keanekaragaman flora. Diperkirakan terdapat sekitar 15.000-20.000 jenis tumbuhan di Papua [3]. Hal ini berdampak positif terhadap perkembangan ilmu pengetahuan dan pemanfaatan obat tradisional yang pada akhirnya akan meningkatkan kualitas hidup masyarakat [4]. Salah satu jenis tumbuhan obat tradisional asal Papua yang belum banyak dieksplorasi potensinya sebagai bahan obat adalah *Piper macropiper* Pennant (Gambar 1). *Piper macropiper* Pennant dikenal oleh suku Dani, Kabupaten Jayawijaya dengan nama Diwoka. *Piper macropiper* Pennant dari famili Piperaceae merupakan tumbuhan merambat hijau dengan daun berbentuk hati, ujung runcing, tumbuh berseling, bertangkai dan mengeluarkan bau yang sedap jika diremas. Tumbuhan ini dimanfaatkan oleh suku Dani

sebagai sayur, bumbu masak, sebagai pengobatan sariawan, dan malaria, serta untuk menambah nafsu makan [5].



Gambar 1. Diwoka (*Piper macropiper* Pennant)

Suatu bahan alam dapat memberikan khasiat sebagai obat untuk suatu penyakit tertentu karena bahan alam tersebut mengandung senyawa bioaktif [1]. Studi senyawa bioaktif mencakup pendekatan fitokimia dan farmakologis. Pendekatan fitokimia diawali dengan skrining fitokimia dari senyawa yang disebut metabolit sekunder. bertujuan untuk memberikan gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam tanaman yang diteliti. Sampel tanaman yang digunakan dalam uji fitokimia dapat berupa daun, batang, buah, bunga dan akar yang mempunyai khasiat obat dan digunakan sebagai bahan baku dalam pembuatan obat modern maupun tradisional [6]. Metabolit sekunder dapat bekerja secara tunggal, sinergis, atau komplementer. Letak geografis, suhu, iklim dan kesuburan tanah suatu wilayah sangat menentukan kualitas dan kuantitas senyawa metabolit sekunder dalam suatu tanaman [7]. Skrining fitokimia merupakan suatu metode yang digunakan untuk mempelajari komponen

senyawa aktif yang terdapat dalam sampel, yaitu struktur kimianya, biosintesisnya, distribusi alami dan fungsi biologisnya, isolasi dan perbandingan komposisi senyawa kimia dari berbagai jenis tanaman [8]. Skrining fitokimia kualitatif awal dilakukan sesuai dengan metode standar yang dijelaskan oleh [9].

Pendekatan farmakologis dari studi senyawa bioaktif tanaman diawali dengan uji toksisitas. Penggunaan senyawa apapun termasuk senyawa bahan alam memiliki potensi untuk bersifat toksik tergantung pada ambang konsentrasi atau dosisnya dalam tubuh. Oleh karena itu, diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui standar keamanan suatu sampel dengan mendeteksi toksisitas akutnya untuk mengetahui nilai LC_{50} (*Lethal Concentration 50%*) atau LD_{50} (*Lethal Dose 50%*), berbagai gejala toksik, spektrum toksik dan efek memamatkannya [10]. Salah satu metode yang digunakan untuk melakukan uji toksisitas adalah metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach sebagai hewan uji. Metode BSLT juga berkorelasi dengan daya sitotoksik senyawa antikanker, sehingga sering digunakan sebagai penyaringan awal senyawa bioaktif yang diduga memiliki sifat antikanker [11].

Penelitian ini merupakan penelitian pendahuluan yang dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol daun Diwoka (*Piper macropiper* Pennant.) dan mengetahui keamanan ekstrak etanol daun diwoka melalui uji toksisitas pada larva udang.

2 Metode Penelitian

2.1 Bahan Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun Diwoka (*Piper macropiper* Pennant). Bahan yang digunakan yaitu air garam buatan non-iodium, ammonia 25%, pereaksi dragendorff, serbuk magnesium, NaOH 1 N, etanol 70%, diklorometan, n-heksana, kertas saring, larva udang *Aretmia salina* L, aquadest

2.2 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi alat gelas yaitu; gelas ukur, gelas kimia, labu erlenmeyer, pipet tetes, botol vial,

mikropipet, corong kaca, corong pisah. Alat non gelas yaitu; timbangan analitik, blender, alat *rotary evaporator*, ayakan no. 50 mesh, *hot plate*, akuarium, *water pump aquarium*.

2.3 Pengumpulan dan Preparasi Sampel

Sampel penelitian diperoleh dari kota Wamena, Papua Pegunungan. Daun Diwoka dicuci bersih dari kotoran-kotoran, kemudian dipotong-potong menjadi bagian lebih kecil, potongan daun Diwoka kemudian dikeringkan atau diangin-anginkan tidak mengenai langsung paparan sinar matahari, daun Diwoka yang sudah kering di blender hingga menjadi serbuk.

2.4 Ekstraksi

Simplisia yang telah diserbukkan sebanyak 200 gram dimaserasi dengan pelarut etanol 70% sebanyak 1 liter. Sampel dalam pelarut kemudian diaduk selama 15 menit dan kemudian dimaserasi selama 3×24 jam. Pengadukan dilakukan setiap 24 jam. Setelah perendaman selama 3×24 jam, diambil filtrat dengan penyaringan. Filtrat kemudian dikentalkan dalam *rotary vacuum evaporator* pada suhu 60 °C. Pada proses ini diperoleh ekstrak etanol kental daun Diwoka [12].

2.5 Uji Bebas Etanol

Ekstrak daun Diwoka diuji dengan bebas etanol 70% dan menggunakan uji kualitatif. Dalam pengujian ini, ekstrak diberi tambahan 2 tetes H₂SO₄ pekat dan 1ml larutan kalium dikromat. Adanya etanol dalam ekstrak ditunjukkan oleh perubahan warna dari jingga menjadi hijau kebiruan [13].

2.6 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan tahap penelitian awal yang bertujuan untuk memberikan gambaran mengenai golongan senyawa yang terdapat pada tanaman yang diteliti. Metode skrining fitokimia dilakukan dengan melihat reaksi uji warna dengan menggunakan pelarut sebagai pereaksi warna meliputi pemeriksaan terhadap golongan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan fitosterol (terpenoid)[14].

2.6.1 Pemeriksaan Alkaloid

Ekstrak dilarutkan dengan 5 ml HCl 2N. Larutan kemudian dibagi 2 tabung reaksi. Tabung ditambahkan pereaksi Dragendorff

sebanyak 3 tetes dan terbentuknya endapan merah bata-jingga. Pada tabung kedua ditambahkan pereaksi Mayer sebanyak 3 tetes dan terbentuknya endapan putih-kekuningan.

2.6.2 Pemeriksaan Flavonoid

Fraksi sebanyak 2 ml dipanaskan, kemudian ditambahkan etanol 1 ml. Serbuk magnesium dan HCl 2N ditambahkan ke dalam larutan jika larutan membentuk merah menunjukkan adanya flavonoid.

2.6.3 Pemeriksaan Saponin

Fraksi ditambahkan dengan 10 ml akuades dalam tabung reaksi dikocok selama 10 detik secara vertikal. Terbentuknya busa yang mantap selama tidak kurang dari 10 menit, setinggi 1 cm yang tidak hilang setelah penambahan HCl 2N, menunjukkan adanya saponin.

2.6.4 Pemeriksaan Tanin

Ekstrak ditambahkan dengan 1 ml larutan FeCl₃ 10%. Jika terbentuk warna biru tua, biru kehitaman atau hitam kehijauan menunjukkan adanya senyawa polifenol dan tanin.

2.6.5 Pemeriksaan Terpenoid

Sampel sebanyak 0,5 gram ditambahkan 2 ml kloroform. Filtrat ditambahkan beberapa tetes H₂SO₄ 2N. Adanya terpenoid ditunjukkan dengan terjadinya warna kuning.

2.7 Uji Toksisitas

Semua sampel diolah menjadi larutan stok dengan cara melarutkan 1 g ekstrak daun Diwoka masing-masing ke dalam 100 mL pelarut yang sesuai. Larutan stok ini memiliki konsentrasi 1000 ppm. Kemudian, larutan stok 1000 ppm diencerkan menjadi berbagai konsentrasi, yaitu 10 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm, dan 1000 ppm. Sebagai kontrol negatif, dilakukan pengujian tanpa penambahan ekstrak atau pelarut.

Larva yang berumur 48 jam dapat digunakan untuk melakukan uji toksisitas. Telur *Artemia salina* Leach dierami dalam wadah penetas telur yang terbagi menjadi dua bagian ruang terpisah: satu ruang gelap dan satu ruang yang diterangi oleh lampu pijar dengan kekuatan 40-60 watt. Penyekat di antara keduanya memiliki lubang berdiameter 2 mm. Air laut dimasukkan ke dalam wadah tersebut

dan dioksidasi menggunakan aerator. Sekitar 1gram telur larva *Artemia salina* Leach diambil dan direndam dalam 2 liter air laut. Telur-telur tersebut akan menetas setelah sekitar 24 jam menjadi larva [15].

Larutan uji dimasukkan ke dalam vial dan kemudian dikeringkan secara perlahan hingga seluruh pelarut menguap selama beberapa hari pada suhu ruangan, sehingga aroma pelarut tidak lagi tercium. Proses pengeringan ini memastikan bahwa hasil penimbangan menunjukkan bobot yang stabil dan konsisten. Larutan kontrol negatif dibuat dengan cara yang serupa tanpa penambahan ekstrak. Larutan kontrol terdiri dari 5mL air laut yang mencakup pelarut serta 1-2 tetes DMSO 1%. Penambahan 1-2 tetes (sekitar 50-100 µL) DMSO 1% bertujuan untuk meningkatkan kelarutan senyawa. DMSO merupakan cairan tak berwarna dengan rumus (CH₃)₂SO yang berperan sebagai pelarut yang mampu melarutkan senyawa polar dan non-polar.

Vial yang berisi sampel dengan pelarut yang telah diuapkan diisi dengan 1 mL air laut. Kemudian, setiap vial diisi dengan 10 ekor larva menggunakan pipet tetes. Air laut ditambahkan ke setiap vial hingga mencapai volume 5 mL. Larva yang digunakan adalah larva *A. salina* L berumur 48 jam setelah menetas. Larva pada usia ini sangat responsif karena dinding selnya masih lembut, sehingga konsentrasi sampel yang rendah pun dapat menimbulkan efek yang dapat diamati. Jumlah larva *A salina* L. yang mati dihitung setelah 24 jam, dan pengujian dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan untuk setiap kondisi [15].

Untuk persentase kematian larva *A. salina* L, dapat dihitung dengan rumus pada persamaan 1.

$$\% \text{ Kematian} = \frac{\text{Jumlah larva } A. \text{ salina L mati}}{\text{Jumlah larva uji}} \times 100\% \quad (\text{Persamaan 1})$$

Jika terjadi kematian pada kontrol uji dapat dikoreksi dengan rumus Aboot pada persamaan 2.

$$\% \text{ Kematian} = \frac{\text{Jumlah larva } A. \text{ salina L (mati - kontrol)}}{\text{Jumlah larva uji}} \quad (\text{Persamaan 2})$$

2.8 Analisis Data

Data hasil penelitian adalah data primer yang didapatkan dari jumlah larva *Artemia salina* L yang mati 24 jam setelah perlakuan pada tiap-tiap konsentrasi ekstrak daun Diwoka (*Piper macropiper* Pennant). Data tersebut selanjutnya dianalisis dengan analisis probit. Efek toksisitas terhadap *Artemia salina* L ditentukan berdasarkan analisis probit melalui tabel probit dan dibuat persamaan regresi linier antara log konsentrasi dan nilai probit dan dibuat persamaan regresi linier antara log konsentrasi dan nilai probit (Persamaan 3).

$$y = bx + a \quad (\text{Persamaan 3})$$

Keterangan:
y = angka probit, dan
x = log konsentrasi

Persamaan tersebut dapat digunakan untuk mengetahui nilai LC₅₀ komponen daun Diwoka (*Piper macropiper* Pennant) dengan memasukkan nilai probit 5 (50% kematian) ke persamaan tersebut sehingga diperoleh konsentrasi yang menyebabkan 50% kematian. Kekuatan toksisitas suatu bahan dapat diklasifikasikan berdasarkan nilai LC₅₀ seperti pada Tabel 1 [16].

Tabel 1. Kriteria Kekuatan Toksisitas

Toksisitas	Konsentrasi (ppm)
Sangat Toksik	≤ 30 ppm
Toksik	31 ppm - 1000 ppm
Tidak toksik	> 1000 ppm

3 Hasil dan Pembahasan

Penelitian ini menggunakan daun Diwoka (*Piper macropiper* Pennant) yang diperoleh dari hutan Pegunungan Tengah Papua. Tumbuhan ini mirip dengan daun sirih (*Piper betle*) dan dapat tumbuh pada ketinggian 1600 m di atas permukaan laut di Pegunungan Tengah

Jayawijaya Papua. Ekstrak kental yang diperoleh dari hasil ekstraksi yaitu sebesar 7.1 gram dengan rendemen sebesar 3.6%. Sebelum pengujian lanjutan, ekstrak yang diperoleh diuji bebas etanol untuk memastikan bahwa hasil skrining fitokimia dan toksisitas tidak mendapat pengaruh dari etanol sebagai pelarut. Berdasarkan hasil penelitian uji bebas etanol yang dilakukan bahwa ekstrak etanol daun Diwoka menunjukkan larutan berwarna jingga dan tidak berubah menjadi hijau

mengindikasikan bahwa ekstrak etanol daun Diwoka sudah bebas dari etanol. Etanol merupakan alkohol primer yang dapat dioksidasi menjadi asetaldehida (CH_3CHO) dan kemudian menjadi asam asetat (CH_3COOH). Kalium dikromat ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) dalam suasana asam bertindak sebagai oksidator, yang artinya kalium dikromat akan menerima elektron dari etanol. Ketika kalium dikromat yang memiliki warna asli jingga direduksi menjadi ion kromium(III) (Cr^{3+}) yang berwarna hijau [17].

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Diwoka

Senyawa Bioaktif	Pereaksi	Hasil	Interpretasi
Alkaloid	Dragendroff	Terbentuk endapan merah jingga	+
	Mayer	Tidak terbentuk endapan putih	-
Flavonoid	Larutan uji + serbuk mg + HCl 2N	Terdapat perubahan warna merah	+
Saponin	Larutan ekstrak + 1 tetes HCl 2N & Aquades	Terdapat busa yang stabil.	+
Tanin	Larutan ekstrak 1 ml, larutan besi (III) klorida 10%	Larutan berwarna hijau kehitaman.	+
Terpenoid	Larutan ekstrak 1 ml + 0,5 ml kloroform 0,5 asetat anhidrat + 2 ml H_2SO_4 pekat	Terbentuk dua fase pada perbatasan larutan	+

Keterangan:

(+) Mengandung senyawa bioaktif

(-) Tidak mengandung senyawa bioaktif

Hasil uji skrining fitokimia ekstrak etanol 70% Diwoka pada Tabel 2 menunjukkan bahwa ekstrak mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan terpenoid. Pada pereaksi *dragendroff*, senyawa alkaloid ditunjukkan dengan terbentuk endapan merah bata atau coklat orange, atau jingga, karena senyawa alkaloid akan berinteraksi dengan ion tetraiodobismutat (III). Hasil positif senyawa alkaloid pada pereaksi *mayer* ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih hingga kekuningan. Senyawa alkaloid akan berinteraksi dengan ion tetraiodomercurat (II) sehingga membentuk senyawa kompleks dan mengendap. Hal ini dikarenakan ion merkuri merupakan ion logam berat yang mampu mengendapkan senyawa alkaloid yang bersifat basa [18]. Reaksi antara magnesium dan asam klorida menghasilkan gelembung gas H_2 , dan dalam uji ini, logam Magnesium dan HCl berperan dalam mereduksi inti benzopiron pada struktur flavonoid, sehingga menyebabkan perubahan warna menjadi merah, kuning, atau jingga [19].

Buih yang dihasilkan pada pengujian ini bersifat stabil. Penambahan HCl mampu membuat busa lebih mantap dan stabil. Busa yang timbul disebabkan karena senyawa

saponin mengandung senyawa yang sebagian larut dalam air (*hidrofilik*) dan senyawa yang larut dalam pelarut nonpolar (*hidrofobik*) sebagai surfaktan yang dapat menurunkan tegangan permukaan. Saat digojok, gugus hidrofil akan berikatan dengan air sedangkan gugus hidrofob akan berikatan dengan udara sehingga membentuk buih [19]. Senyawa tanin adalah senyawa yang bersifat polar karena adanya gugus OH, oleh karena itu ketika sampel ditambahkan FeCl_3 10% akan terjadi perubahan warna seperti biru tua atau hijau kehitaman yang menandakan adanya senyawa tanin. Warna biru kehitaman yang terjadi akibat senyawa tanin akan terhidrolisis oleh FeCl_3 [19].

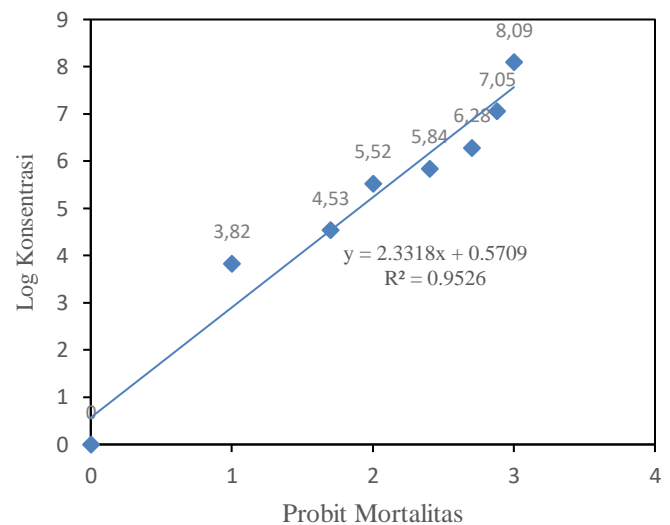
Pereaksi Lieberman-Burchard merupakan campuran antara asam asetat anhidrat dan H_2SO_4 pekat. Ketika H_2SO_4 pekat ditetesi melalui dinding tabung reaksi maka anhidrat asetat bereaksi dengan asam sehingga atom C pada anhidrat membentuk karbokation. Karbokation yang terbentuk bereaksi dengan atom O pada gugus -OH yang ada pada senyawa triterpenoid. Reaksi ini merupakan reaksi esterifikasi yaitu pembentukan senyawa ester oleh senyawa triterpenoid dengan anhidrat asetat [20].

Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) merupakan uji pendahuluan/praskrining aktivitas biologis yang sederhana untuk menentukan toksisitas suatu senyawa atau ekstrak secara akut menggunakan hewan coba larva udang (*Artemia salina* nauplii). Parameter yang ditunjukkan untuk menunjukkan adanya aktivitas biologi pada suatu senyawa pada *Artemia salina* Leach adalah jumlah kematian larva udang karena pengaruh pemberian senyawa dengan dosis yang telah ditentukan. Salah satu organisme yang sangat sesuai sebagai hewan uji untuk mengetahui bioaktivitas senyawa melalui uji toksisitas adalah *brine shrimp* (udang laut) dari jenis *Artemia salina* Leach. Uji ini menggunakan larva udang laut atau nauplii. Beberapa kelebihan dari uji bioaktivitas dengan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach adalah cepat waktu ujinya, mudah, tidak memerlukan peralatan khusus, sederhana (tanpa teknik aseptik), murah (tidak perlu serum hewan), jumlah organisme banyak, memenuhi kebutuhan validasi statistik dengan sedikit sampel, hasilnya representatif dan dapat dipercaya [21]

Sebagai media penetasan telur, *Artemia salina* Leach digunakan air garam buatan dengan bantuan aerator (dengan kekuatan aerasi sedang) untuk memastikan kadar oksigen terlarut yang cukup. Gelembung udara dari aerator juga berfungsi mengaduk telur secara merata agar tidak mengendap di dasar wadah, karena hal ini dapat menyebabkan telur sulit menetas akibat kekurangan oksigen [22]. *Artemia salina* karena udang ini merupakan zooplankton yang hidup di perairan dengan kadar garam tinggi. Pertumbuhan optimal *Artemia salina* Leach terjadi pada suhu 25°C-30°C dan pH 7,3-8. Oleh karena itu, air garam buatan dengan pH 7,5 digunakan dalam penelitian ini, karena mendekati pH yang sesuai untuk habitat larva *Artemia salina* Leach.

Dalam penelitian ini, digunakan 10 larva *Artemia salina* Leach sebagai hewan uji untuk tiap konsentrasi. Hasil pengujian dari tabel menunjukkan bahwa ekstrak daun diwoka (*Piper macropiper* Pennant) pada konsentrasi tertinggi yaitu 1000 ppm menyebabkan kematian rata-rata sebesar 100%, dengan nilai probit 8,09. Sebaliknya, pada konsentrasi terendah 10 ppm, rata-rata kematian terendah tercatat sebesar 12%, dengan nilai probit 3,82.

Kontrol negatif menunjukkan tidak adanya kematian larva udang.



Gambar 2. Hasil Analisis Toksisitas Ekstrak Daun Diwoka

Sebagaimana yang ditunjukkan oleh persamaan regresi linear pada Gambar 2, persamaan regresi linear yang diperoleh dari nilai probit mortalitas dan Log konsentrasi adalah $Y = 2.3318x + 0.5709$. Berdasarkan persamaan regresi linear tersebut, diperoleh nilai LC_{50} sebesar 79.33 ppm.

Nilai LC_{50} yang diperoleh dari ekstrak etanol daun Diwoka adalah 79.33 ppm sehingga dapat dikatakan ekstrak etanol daun Diwoka memiliki potensi toksisitas akut yang masuk dalam kategori "toksik" menurut metode BSLT. Menurut [16], uji toksisitas terhadap larva udang *Artemia salina* Leach atau *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dapat digunakan sebagai uji pendahuluan pada penelitian yang mengarah pada uji sitotoksik. Teori tersebut juga menyatakan bahwa suatu ekstrak menunjukkan aktivitas ketoksikan dalam BSLT jika ekstrak dapat menyebabkan kematian 50 % hewan uji pada konsentrasi kurang dari 1000 ppm. Nilai LC_{50} dari ekstrak etanol yang lebih kecil dari 1.000 ppm menunjukkan bahwa ekstrak tersebut mempunyai potensi untuk dapat dikembangkan sebagai zat antikanker.

Senyawa yang ada pada ekstrak dapat masuk melalui bagian mulut *Artemia salina* dan diabsorpsi masuk ke dalam saluran pencernaan melalui membran sel, kemudian dilanjutkan

dengan proses distribusi senyawa toksik ke dalam tubuh *Artemia salina*, dan terjadi proses kerusakan pada reaksi metabolisme. Struktur anatomi tubuh *Artemia salina* pada tahap naupli masih sangat sederhana, yaitu terdiri dari lapisan kulit, mulut, antena, saluran pencernaan dan calon thoracopoda. Perubahan gradien konsentrasi antara di dalam dan di luar sel yang menyebabkan senyawa toksik mampu menyebar dengan cepat ke tubuh *Artemia salina*. Efek kerusakan metabolisme yang ditimbulkan terjadi secara cepat dapat dideteksi dalam waktu 24 jam, hingga menyebabkan 50% kematian *Artemia salina* [21].

Mekanisme kerja kematian larva diperkirakan bahwa senyawa-senyawa yang terdapat pada ekstrak daun Diwoka dapat menghambat daya makan larva (*antifedant*) dengan cara bertindak sebagai *stomach poisoning* (racun perut). Oleh karena itu, bila senyawa-senyawa ini masuk ke dalam tubuh larva udang, alat pencernaannya akan terganggu. Racun perut menyerang organ utama pencernaan serangga yaitu bagian ventrikulus [21].

Senyawa alkaloid memiliki karakter toksin, *repellent* dan *antifeedant* pada serangga sehingga mengganggu pertumbuhan dan perkembangan larva. Dalam jumlah sedikit alkaloid hanya bersifat *antifeedant* dan membunuh larva secara perlahan karena menurunnya nafsu makan dan baru akan menyebabkan kematian dalam beberapa waktu karena kelaparan. Tetapi dalam jumlah besar alkaloid bekerja sebagai racun kontak dan racun pencernaan yang akan langsung membunuh larva dan menyebabkan kematian karena menyerang organ vital seperti sistem syaraf dan mempengaruhi aktivitas jantung [21].

Senyawa flavonoid memiliki cara kerja sebagai racun pernafasan dan racun metabolisme yang dapat langsung menyebabkan kematian dalam waktu singkat. Senyawa flavonoid dapat menghambat saluran pencernaan serangga dan juga bersifat toksik. Selain itu, senyawa ini menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva. Hal ini mengakibatkan larva gagal mendapatkan stimulus rasa sehingga tidak mampu mengenali makanannya sehingga larva mati kelaparan [21].

4 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, dapat disimpulkan bahwa daun diwoka (*Piper macropiper* Pennant) mengandung golongan senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid. Pengujian toksisitas dengan metode BSLT menunjukkan bahwa daun Diwoka (*Piper macropiper* Pennant) memiliki potensi toksisitas dengan nilai LC₅₀ sebesar 79,3293 ppm.

5 Pernyataan

5.1 Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada pengelola laboratorium bahan alam Jurusan Farmasi Universitas Cenderawasih atas fasilitasnya dalam pelaksanaan penelitian.

5.2 Penyandang Dana

Penelitian ini tidak mendapatkan pendanaan dari sumber manapun.

5.3 Kontribusi Penulis

Semua penulis berkontribusi dalam penulisan artikel ini.

5.4 Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan yang muncul dan berpengaruh dalam penulisan naskah ini.

6 Daftar Pustaka

- [1] Mayasari S, Ningsih AW, Charles I, Seran AA, Djamal JM, Pratiwi ME, et al. Fitofarmasi. PT. Adikarya Pratama Globalindo; 2024.
- [2] Forest Digest. <https://www.forestdigest.com/detail/2435/tumbuhan-dan-fungi-punah>. 2023. Unidentified Plants and Fungi Will Soon Become Extinct.
- [3] Munazar R, Nurhayati M. Khazanah Tumbuhan Di Papua Pada Koleksi Perpustakaan Pusat Konservasi Tumbuhan-Kebun Raya Bogor LIPI. Fihris: Jurnal Ilmu Perpustakaan dan Informasi. 2020;15(2):181-200.
- [4] Susanto A, Rahmawati S. Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea Batatas* L). ARTERI: Jurnal Ilmu Kesehatan. 2019;1(1):1-7.
- [5] Kameubun KMB, Rehiara R, Deminggus F. Pemanfaatan Tumbuhan Diwoka (*Piper macropiper* Pennant.) oleh Suku Dani, Wamena.

- 2020;8(1):37-45. Available from: <http://ejournal.uncen.ac.id/index.php/JIPI>
- [6] Nortjie E, Basitere M, Moyo D, Nyamukamba P. Extraction methods, quantitative and qualitative phytochemical screening of medicinal plants for antimicrobial textiles: a review. *Plants*. 2022;11(15):2011.
- [7] Agustina S, Ruslan R, Wiraningtyas A. Skrining fitokimia tanaman obat di kabupaten Bima. *Cakra kimia*. 2016;4(1):71-6.
- [8] Zahra N, Mukhlisah NRI, Hidayati AR. Effect of Solvent Extraction on Yield and Phytochemical Screening of Kedondong (*Spondias dulcis*) Leaf Extracts. *Jurnal Biologi Tropis*. 2024;24(4):549-55.
- [9] Evans WC. Trease and Evans' pharmacognosy. Elsevier Health Sciences; 2009.
- [10] Rasyid MI, Yuliani H, Angraeni L. Toxicity test LC50 of pineung nyen teusalee Seeds (*Areca catechu*) extract by brine shrimp lethality test (BSLT) Methode. In: IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. IOP Publishing; 2020. p. 012052.
- [11] Abriyani E. Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Bunga Telang (*Clitoria Ternatea* L) Dan Uji Toksisitas Terhadap Larva Udang *Artemia Salina* Dengan Metode BSLT. *Journal of Pharmacopolium*. 2022;5(2).
- [12] Tobi CHB, Pratiwi ME. Identifikasi Senyawa Flavonoid dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Terpurifikasi Daun Beluntas (*Pluchea Indica* L.) terhadap *Staphylococcus aureus*: Qualitative-Quantitative Test of Flavonoid Compound and Antibacterial Activity of Beluntas Leaves Purified Extract against *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Sains dan Kesehatan*. 2023;5(5):766-76.
- [13] Saraswati M. Uji Aktivitas Penyembuhan Luka Bakar Salep Ekstrak Etanol Buah Parijoto (*Medinilla Speciose*) pada Punggung Kelinci. *Pratama Medika: Jurnal Kesehatan*. 2024;3(2):150-68.
- [14] Tobi CHB, Bakri NF, Pratiwi ME. Minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration of Areca nut ethanolic extract against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Riset Informasi Kesehatan*. 2024;13(2):170-7.
- [15] Yani DF, Ramadan N, Athiah R, Maghpiroh A, Sunarsih T. Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Kerai Payung (*Filicium Decipiens*) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *SPIN Jurnal Kimia & Pendidikan Kimia*. 2023;5(1):27-36.
- [16] Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DEJ, McLaughlin JL. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Med*. 1982;45(05):31-4.
- [17] Kolo SMD, Obenu NM, Rohy NT. Pengaruh perlakuan awal ampas biji jewawut (*Setaria italica* L.) dengan Microwave irradiation untuk produksi bioetanol. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*. 2022;18(2):183-92.
- [18] Rubianti I, Azmin N, Nasir M. Analisis Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Golka (*Ageratum conyzoides*) Sebagai Tumbuhan Obat Tradisional Masyarakat Bima. *JUSTER: Jurnal Sains dan terapan*. 2022;1(2):7-12.
- [19] Sulistyarini I, Sari DA, Wicaksono TA. Skrining fitokimia senyawa metabolit sekunder batang buah naga (*Hylocereus polyrhizus*). *Cendekia Eksakta*. 2020;5(1).
- [20] Takaeb MJ, Leo MI. Identifikasi Metabolit Sekunder pada Sopi Kualin (SOKLIN) yang Dibuat Dengan dan Tanpa Fermentasi di Desa Kualin Nusa Tenggara Timur. *Jurnal Sains dan Edukasi Sains*. 2023;6(2):111-6.
- [21] Kurniawan H, Ropiqa M. Uji toksisitas ekstrak etanol daun ekor kucing (*Acalypha hispida* Burm. f.) dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Journal Syifa Sciences and Clinical Research (JSSCR)*. 2021;3(2):52-62.
- [22] Hidayana V. Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol Rimpang Temu Hitam (*Curcuma Aeruginosaroxb.*) Terhadap Larva Udang (*Artemiasalina* Leach). *Jurnal Kesehatan Perintis*. 2015;2(2).