

UJI TOKSISITAS EKSTRAK KULIT JERUK LEMON (*Citrus limon* (L.) Osbeck) TERHADAP LARVA UDANG (*Artemia salina* Leach)

Nur Hasanah, Ika Yulianti

Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Kharisma Persada

Tangerang Selatan, 15417

E-mail: nurhasanah@masda.ac.id

ABSTRAK

Salah satu tanaman di Indonesia yang sangat terkenal yaitu jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Osbeck). Kulit jeruk lemon mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid, tanin, steroid, dan triterpenoid. Senyawa flavonoid dan triterpenoid diduga dapat bersifat toksik pada kadar tertentu. Untuk itu perlu dilakukannya uji toksisitas, salah satu pengujian toksisitas dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Aktivitas toksik diketahui dari jumlah kematian larva udang karena pengaruh ekstrak pada konsentrasi yang diberikan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi toksik pada ekstrak etanol, fase n-heksana dan fase etil asetat dan mengetahui nilai LC_{50} tertinggi pada ekstrak etanol, fase n-heksana dan fase etil asetat. Penelitian ini menggunakan jenis penelitian *true eksperimental*. Sampel yang digunakan adalah ekstrak etanol kulit jeruk lemon sebagai zat aktif, kemudian di partisi dengan n-heksan dan etil asetat. Lalu dibuat larutan uji 1000 ppm, 600 ppm, 400 ppm, 200 ppm, 100 ppm, 50 ppm, 35 ppm, 15 ppm, 5 ppm dan kontrol negatif tanpa larutan ekstrak (0 ppm). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa setiap pelarut berpotensi sangat toksik dengan $LC_{50} = 12,88$ ppm pada pelarut etanol, fase n-heksana memiliki $LC_{50} = 1,77$ ppm dan fase etil asetat memiliki $LC_{50} = 19,95$ ppm. LC_{50} tertinggi ada pada fase n-heksana dengan $LC_{50} = 1,77$ ppm.

Kata Kunci : Kulit jeruk lemon, *Artemia salina*, *Citrus limon*, Toksisitas, BSLT

ABSTRACT

One of the most famous plants in Indonesia is lemon (*Citrus limon* (L.) Osbeck). Lemon fruit is one source of vitamin C and antioxidants, lemon juice ethanol extract contains secondary metabolite compounds flavonoids, glycosides, tannins, steroids, and triterpenoids. Flavonoids and triterpenoids may be toxic to some degree. For that it is necessary to do toxicity test, one of toxicity test by using method of *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Toxic activity is known from the number of deaths of shrimp larvae (*Artemia Salina* Leach) due to the influence of extracts or natural material compounds at concentrations given. To determine the toxic potential of ethanol extract, n-hexane phase and ethyl acetate phase and to know the highest LC_{50} value in ethanol extract, n-hexane phase and ethyl acetate phase. This research use experimental research type with true experimental approach. The sample used was lemon peel ethanol extract as an active substance, then in partition with n-hexane and ethyl acetate. The test solution is 1000 ppm, 600 ppm, 400 ppm, 200 ppm, 100 ppm, 50 ppm, 35 ppm, 15 ppm, 5 ppm and negative control without extract solution (0 ppm). Indicates that each solvent is potentially very toxic with $LC_{50} = 12.88$ ppm in ethanol solvent, the n-hexane phase has $LC_{50} = 1.77$ ppm and the ethyl acetate phase has $LC_{50} = 19.95$ ppm. The highest LC_{50} is in the n-hexane phase with $LC_{50} = 1.77$ ppm.

Keywords : Lemon peel, *Artemia salina*, *Citrus limon*, Toxicity, BSLT

PENDAHULUAN

Di Negara Asia terutama Cina, Korea dan India untuk penduduk pedesaan, obat herbal menjadi pilihan pertama untuk pengobatan. Di Negara maju seperti Australia, Canada (59-60%), Amerika Serikat (62%), Singapura (76%) dan Jepang (50%) pun saat ini cenderung beralih ke pengobatan tradisional terutama obat herbal menunjukkan gejala peningkatan yang sangat signifikan (Kurdi, 2010). Di Indonesia sendiri pemanfaatan tanaman sebagai bahan obat sudah sejak lama dilakukan oleh masyarakat. Dengan keanekaragaman etnis yang ada, maka pemanfaatan tanaman sebagai obat juga semakin beranekaragam (Handayani, 2015).

Kekayaan alam Indonesia, menyimpan berbagai tumbuhan yang berkhasiat obat dari 40 ribu jenis tumbuhan yang tumbuh di dunia, 30 ribu diantaranya tumbuh di Indonesia. Sebanyak 26% yang telah dibudidayakan dan 74% masih tumbuh liar di hutan. Dari 26% yang telah dibudidayakan, sebanyak 940 jenis tanaman telah digunakan sebagai obat tradisional, sedangkan menurut WHO, lebih dari 20.000 spesies tumbuhan berkhasiat obat digunakan oleh penduduk di seluruh dunia (Arsyah, 2014).

Salah satu tanaman di Indonesia yang sangat terkenal yaitu jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Osbeck). Jeruk lemon merupakan salah satu bahan alami yang dapat dimanfaatkan buah dan kulitnya. Buah lemon mengandung asam-asam yang berperan pada pembentukan rasa asam buah. Buah lemon merupakan salah satu sumber vitamin C dan antioksidan yang berkhasiat bagi kesehatan manusia, tetapi sebenarnya buah ini juga mengandung zat gizi esensial lainnya, seperti karbohidrat, potassium, folat, kalsium, thiamin, niacin, vitamin B₆, fosfor, magnesium, tembaga, riboflavin, asam pantotenat, dan senyawa fitokimia. (Nizhar, 2012). Kulit lemon terdiri dari dua lapisan yaitu lapisan luar dan lapisan dalam. Lapisan luar, mengandung minyak esensial yang terdiri dari citral (5%) dan limonen, α -terpineol, geranil asetat dan linali. Lapisan dalam, mengandung kumarin, glikosida dan flavonoid (Dev, 2016). Menurut Chitra (2012), ekstrak etanol kulit jeruk lemon mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid, glikosida, tanin, steroid, dan triterpenoid.

Senyawa flavonoid dan triterpenoid diduga dapat bersifat toksik pada kadar tertentu (Cahyadi, 2009). Untuk itu perlu dilakukannya uji toksisitas, salah satu

pengujian toksisitas dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethaly Test* (BSLT). Beberapa keuntungan menggunakan metode BSLT adalah metode yang telah teruji untuk mengamati toksisitas suatu senyawa di dalam ekstrak kasar tumbuhan dengan tingkat kepercayaan 95%, metode penapisan farmakologi awal yang mudah, cepat dan murah, metode ini sering digunakan untuk pencarian senyawa antikanker dan tahap awal isolasi senyawa toksik yang terkandung dalam suatu ekstrak (Lindawati, 2006). Aktivitas toksik diketahui dari jumlah kematian larva udang (*Artemia Salina Leach*) karena pengaruh ekstrak atau senyawa bahan

alam pada konsentrasi yang diberikan (Silva, 2007). Suatu ekstrak atau senyawa bahan alam yang diketahui memiliki aktivitas toksik melalui metode BSLT (nilai $LC_{50} < 1000$ ppm) dapat dikembangkan lebih lanjut sebagai obat antikanker (Meyer, 1982).

Berdasarkan uraian di atas dapat diketahui masalah dalam penelitian ini adalah masih banyak tanaman yang belum diketahui kadar toksisitasnya sehingga perlu diteliti lebih lanjut. Oleh karena itu, peneliti bermaksud untuk melakukan penelitian yang berjudul “Uji toksisitas ekstrak kulit jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Osbeck) Terhadap Larva Udang (*Artemia salina Leach*)”.

METODE

Bahan

Ekstrak kulit jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Osbeck), Etanol 70%, telur udang (*Artemia salina Leach*), Aquadest, N-Heksan dan Etil Asetat.

Pembuatan ekstrak etanol

400 mg serbuk kulit jeruk lemon di maserasi dalam 3 liter etanol selama 3 hari. Ekstrak dievaporasi sampai diperoleh ekstrak kental.

Pembuatan partisi ekstrak

4 gram ekstrak dilarutkan dengan n-heksan kemudian dilarutkan dengan 20

ml aquadest, setelah larut masukkan ke dalam corong pisah dan tambahkan n-heksan 30 ml, 20 ml dan 15 ml dilakukan pengocokan sebanyak 3 kali. Kocok hingga rata, sekali –kali buka penutup corong pisah kemudian diamkan sampai terjadi pemisahan dari fase air dan fase n-heksan. Kemudian hasil fase air di partisi lagi dengan etil asetat sebanyak 30 ml, 20 ml dan 15 ml dilakukan 3 kali pengocokan. Fase n-heksan dan fase etil asetat dievaporasi sampai diperoleh ekstrak kental.

Penetasan larva udang

Untuk penetasan larva udang dengan menggunakan botol air mineral yang dibagi menjadi dua bagian. Bagian atas penutup botol dimasukkan ke bagian bawah lalu dilubangi untuk jalan masuknya selang yang terhubung dengan aerator, lalu dihidupkan aerator. Kemudian dituangkan air laut ke dalam botol, selanjutnya dituangkan 1 sendok teh telur udang, lalu didiamkan selama 48 jam. Dipisahkan cangkang telur dengan larva yang sehat dan bergerak aktif ke dalam wadah yang berbeda.

Pembuatan konsentrasi ekstrak yang akan diuji

Ekstrak kental kulit jeruk lemon (*Citrus limon (L.) Osbeck*) ditimbang sebanyak 200 mg, dilarutkan dengan air laut sebanyak 100 mL. larutan tersebut

digunakan sebagai larutan induk dengan konsentrasi 2000 ppm. Konsentrasi yang digunakan untuk pengujian yang dilakukan secara dua kali (duplo) ini yaitu 1000 ppm, 600 ppm, 400 ppm, 200 ppm, 100 ppm, 50 ppm, 35 ppm, 15 ppm dan 5 ppm.

Uji toksisitas dengan metode BSLT

Pada uji BSLT akan digunakan tabung reaksi. Langkah pertama yang dilakukan adalah membagi 9 kelompok tabung untuk masing-masing konsentrasi dan 1 kelompok untuk kontrol negatif. Percobaan ini dilakukan pengulangan 2 (duplo). 10 ekor larva udang dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi masing-masing 10 ml pada setiap konsentrasi. Kemudian tabung dibiarkan di udara terbuka selama 24 jam. Lalu lakukan perhitungan larva yang mati.

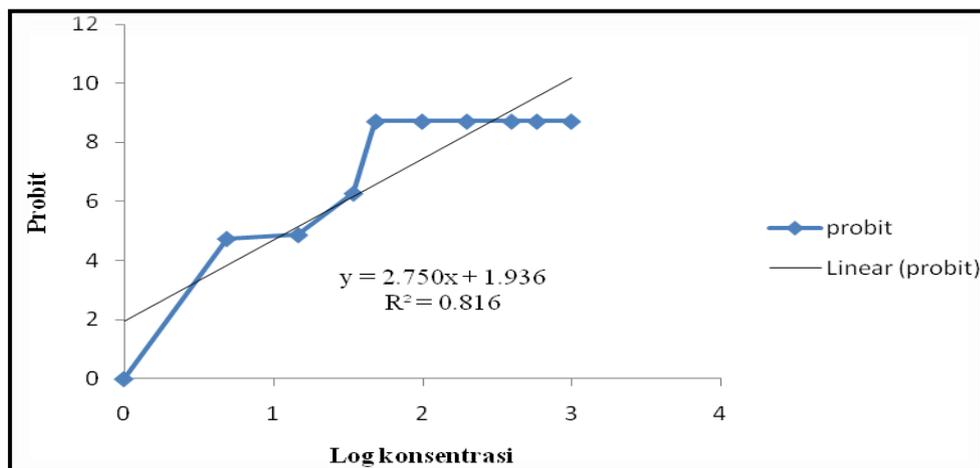
HASIL

Uji Toksisitas Ekstrak Kulit Jeruk Lemon (*Citrus limon (L.) Osbeck*)

a. Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Lemon (*Citrus limon (L.) Osbeck*)

Tabel 1. Hasil Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Lemon (*Citrus limon (L.) Osbeck*) dengan Nilai LC₅₀.

Konsentrasi (ppm)	%Kematian	Probit	Nilai LC ₅₀ (ppm)
0	0	0	0,0
5	40	4,7467	
15	45	4,8743	
35	90	6,2816	
50	100	8,719	
100	100	8,719	12,88
200	100	8,719	
400	100	8,719	
600	100	8,719	
1000	100	8,719	



Gambar 1. Grafik Analisis Regresi Linier Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Lemon (*Citrus limon (L.) Osbeck*)

Berdasarkan tabel 1. hasil uji toksisitas ekstrak etanol kulit jeruk lemon (*Citrus limon (L.) Osbeck*) dengan nilai LC_{50} , terdapat berbagai macam konsentrasi sehingga menghasilkan persen kematian dan probit yang berbeda pula. Pada konsentrasi 0 ppm yang digunakan sebagai kontrol negatif, menghasilkan persen kematian sebanyak 0%, probitnya yaitu 0 dan nilai LC_{50} yaitu 0,0 ppm karena pada konsentrasi 0 ppm tidak menggunakan ekstrak. Pada konsentrasi 5 ppm, menghasilkan persen kematian sebanyak 40% dan probitnya yaitu 4,7467. Pada konsentrasi 15 ppm, menghasilkan persen kematian sebanyak 45% dan probitnya yaitu 4,8743. Pada konsentrasi 35 ppm, menghasilkan persen kematian sebanyak 90% dan probitnya yaitu 6,2816. Pada

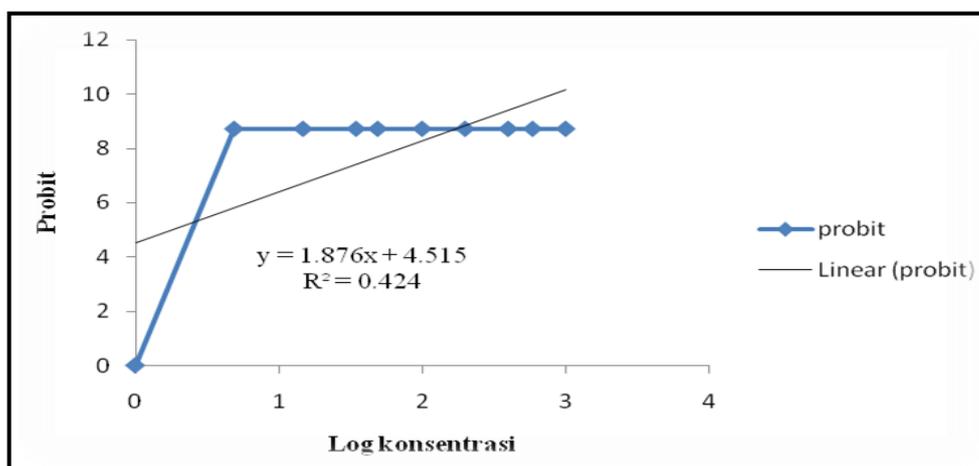
konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm dan 1000 ppm, menghasilkan persen kematian 100% dan probitnya 8,719. Pada konsentrasi 5 ppm, 15 ppm, 35 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm dan 1000 ppm menghasilkan nilai LC_{50} sebesar 12,88 ppm.

Berdasarkan gambar 1. grafik analisis regresi linier ekstrak etanol kulit jeruk lemon (*Citrus limon (L.) Osbeck*), diperoleh persamaan regresi linier dengan nilai persamaan yaitu $y = 2,750x + 1,936$ dan nilai $R^2 = 0,816$.

b. Fase n-Heksana Ekstrak Kulit Jeruk Lemon (*Citrus limon (L.) Osbeck*)

Tabel 2. Hasil Uji Toksisitas Fase n-Heksana Ekstrak Kulit Jeruk Lemon (*Citrus limon (L.) Osbeck*) dengan Nilai LC₅₀

Konsentrasi (ppm)	% Kematian	Probit	Nilai LC ₅₀ (ppm)
0	0	0	0,0
5	100	8,719	
15	100	8,719	
35	100	8,719	
50	100	8,719	
100	100	8,719	1,77
200	100	8,719	
400	100	8,719	
600	100	8,719	
1000	100	8,719	



Gambar 2. Grafik Analisis Regresi Linier Fase n-Heksana Ekstrak Kulit Jeruk Lemon (*Citrus limon (L.) Osbeck*)

Berdasarkan tabel 2. hasil uji toksisitas fase n-heksana ekstrak kulit jeruk lemon (*Citrus limon (L.) Osbeck*) dengan nilai LC₅₀, terdapat berbagai macam konsentrasi sehingga menghasilkan persen kematian dan probit yang berbeda pula. Pada konsentrasi 0 ppm yang digunakan sebagai kontrol negatif, menghasilkan persen kematian sebanyak 0%,

probitnya yaitu 0 dan nilai LC₅₀ yaitu 0,0 ppm karena pada konsentrasi 0 ppm tidak menggunakan ekstrak. Pada konsentrasi 5 ppm, 15 ppm, 35 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm dan 1000 ppm, menghasilkan persen kematian 100%, probitnya 8,719 dan nilai LC₅₀ sebesar 1,77 ppm.

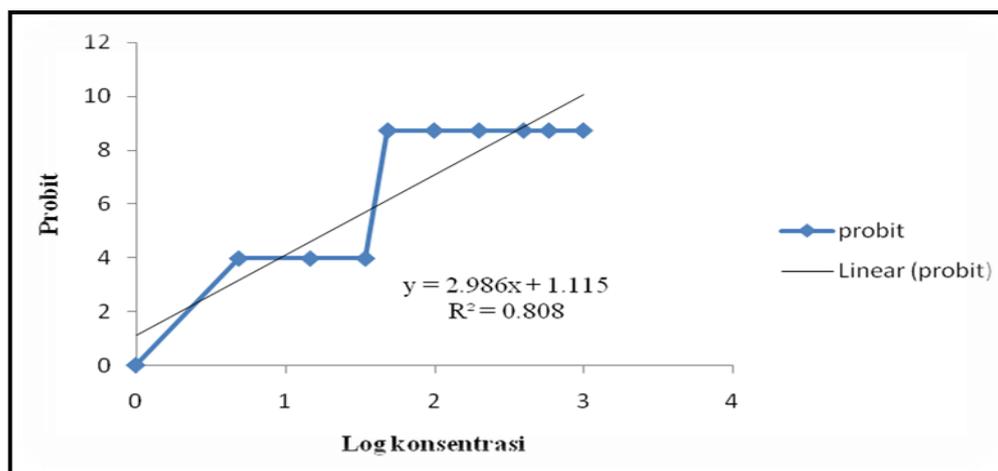
Berdasarkan gambar 2 grafik analisis regresi linier fase n-heksana

ekstrak kulit jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Osbeck, diperoleh persamaan regresi linier dengan nilai persamaan yaitu $y = 1,876x + 4,515$ dan nilai $R^2 = 0,424$.

c. Fase Etil Asetat Ekstrak Kulit Jeruk Lemon (*Citrus limon* (L.) Osbeck)

Tabel 3. Hasil Uji Toksisitas Fase Etil Asetat Kulit Jeruk Lemon (*Citrus limon* (L.) Osbeck) dengan Nilai LC₅₀

Konsentrasi (ppm)	%Kematian	Probit	Nilai LC ₅₀ (ppm)
0	0	0	0,0
5	15	3,9636	
15	15	3,9636	
35	15	3,9636	
50	100	8,719	
100	100	8,719	19,95
200	100	8,719	
400	100	8,719	
600	100	8,719	
1000	100	8,719	



Gambar 3. Grafik Analisis Regresi Linier Fase Etil Asetat Ekstrak Kulit Jeruk Lemon (*Citrus limon* (L.) Osbeck)

Berdasarkan tabel 3. hasil uji toksisitas fase etil asetat ekstrak kulit jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Osbeck) dengan nilai LC₅₀, terdapat berbagai macam konsentrasi sehingga menghasilkan persen kematian dan probit yang berbeda pula. Pada konsentrasi 0 ppm yang digunakan

sebagai kontrol negatif, menghasilkan persen kematian sebanyak 0%, probitnya yaitu 0 dan nilai LC₅₀ yaitu 0,0 ppm karena pada konsentrasi 0 ppm tidak menggunakan ekstrak. Pada konsentrasi 5 ppm, 15 ppm dan 35 ppm menghasilkan persen kematian sebanyak 15% dan probitnya 3,9636.

Pada konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm dan 1000 ppm, menghasilkan persen kematian 100% dan probitnya 8,719. Pada konsentrasi 5 ppm, 15 ppm, 35 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm dan 1000 ppm menghasilkan nilai LC_{50} sebesar 19,95 ppm.

DISKUSI

Uji Toksisitas Ekstrak Kulit Jeruk Lemon (*Citrus limon (L.) Osbeck*)

Uji toksisitas pada penelitian ini menggunakan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). Metode ini menggunakan hewan coba berupa larva udang (*Artemia salina Leach*) karena spesies ini memiliki kesamaan tipe DNA dan RNA dengan mamalia. Dimana tipe DNA-dependent RNA polymerase yang dimiliki oleh *Artemia salina Leach* sama dengan mamalia.

Adapun fungsi yang dimiliki oleh DNA-dependent RNA polymerase yaitu untuk pembentukan protein dan protein merupakan komponen utama semua sel. Jadi ketika DNA-dependent RNA polymerase dihambat maka tidak akan terjadi pembukaan pilinan DNA menjadi RNA, lalu tidak terjadi juga penerjemah kodon pada tiap-tiap kodon yang ada di RNA tersebut sehingga tidak dapat terbentuk protein baru. Penghentian pembentukan protein ini akan menyebabkan gangguan metabolisme dan

Berdasarkan gambar 3. grafik analisis regresi linier fase etil asetat ekstrak kulit jeruk lemon (*Citrus limon (L.) Osbeck*) diperoleh persamaan regresi linier dengan nilai persamaan yaitu $y = 2,986x + 1,115$ dan nilai $R^2 = 0,808$.

akhirnya menyebabkan kematian sel (Reskianigsih, 2014).

Uji toksisitas dilakukan untuk mengetahui LC_{50} pada suatu bahan alam. Kategori LC_{50} adalah $LC_{50} \geq 1000$ ppm termasuk dalam kategori tidak toksik, LC_{50} 30-1000 ppm termasuk dalam kategori toksik dan $LC_{50} \leq 30$ ppm termasuk dalam kategori sangat toksik (McLaughlin, 1998).

Sampel yang digunakan yaitu ekstrak kulit jeruk lemon (*Citrus limon (L.) Osbeck*) yang diperoleh menggunakan metode ekstraksi. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dengan pelarut etanol. Serbuk simplisia kulit jeruk lemon sebanyak 400 gram direndam dengan etanol selama 3 hari kemudian disaring, lalu filtrat dikentalkan dengan *water bath* hingga menjadi ekstrak kental kemudian ekstrak kental di partisi dengan n-heksana dan etil asetat. Adapun penggunaan pelarut berdasarkan tingkat polaritas.

Pelarut polar menggunakan etanol, pelarut semi polar yang digunakan etil asetat dan pelarut non polar yang digunakan n-heksan. Pemilihan pelarut yang berbeda ini dimaksudkan agar senyawa-senyawa yang memiliki kepolaran berbeda dapat larut ke dalam pelarut yang sesuai.

Pemilihan Etanol sebagai pelarut karena lebih efektif, kapang dan bakteri sulit tumbuh dalam etanol diatas 20%, tidak beracun, netral, absorpsinya baik, etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit.

Etanol dapat melarutkan alkaloid, kurkumin, kumarin, glikosida, flavonoid, steroid, lemak, tanin dan saponin hanya sedikit larut (Sa'adah, 2015). Pemilihan n-heksana sebagai pelarut karena mudah diuapkan, relatif aman dan murah. Pelarut n-heksan dapat digunakan untuk melarutkan senyawa metabolit sekunder seperti steroid, lemak, sterol, kumarin, dan terpenoid (Tanaya, 2015).

Adapun pemilihan etil asetat sebagai pelarut karena mudah menguap (bersifat volatil), berwujud cairan yang tidak beracun, tidak berwarna dan memiliki aroma khas (Ocktaviandini, 2015). Pelarut etil asetat dapat digunakan untuk melarutkan senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, triterpenoid dan tanin (Tanaya, 2015).

Pada penelitian ini menggunakan berbagai konsentrasi yaitu 1000 ppm, 600 ppm, 400 ppm, 200 ppm, 100 ppm, 50 ppm, 35 ppm, 15 ppm, 5 ppm dan 0 ppm (kontrol negatif) untuk mengetahui pada konsentrasi mana yang memiliki LC_{50} (*Lethal Concentration 50*). Penelitian ini sudah sesuai dengan teori karena untuk mendapat ekstrak yang dinyatakan toksik menggunakan konsentrasi dibawah 1000 ppm.

a. Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Lemon (*Citrus limon (L.) Osbeck*)

Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit jeruk lemon mengandung flavonoid, triterpenoid, steroid dan tanin. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Chitra (2012), senyawa metabolit sekunder pada ekstrak etanol kulit jeruk lemon adalah flavonoid, glikosida, tanin, steroid/ triterpenoid.

Berdasarkan tabel 1. hasil uji toksisitas ekstrak etanol kulit jeruk lemon (*Citrus limon (L.) Osbeck*) dengan nilai LC_{50} , terdapat berbagai macam konsentrasi sehingga menghasilkan persen kematian dan probit yang berbeda pula. Pada konsentrasi 0 ppm yang digunakan sebagai kontrol negatif, menghasilkan persen kematian sebanyak 0%, probitnya yaitu 0 dan nilai LC_{50} yaitu

0,0 ppm karena pada konsentrasi 0 ppm tidak menggunakan ekstrak.

Pada konsentrasi 5 ppm, menghasilkan persen kematian sebanyak 40% dan probitnya yaitu 4,7467. Pada konsentrasi 15 ppm, menghasilkan persen kematian sebanyak 45% dan probitnya yaitu 4,8743. Pada konsentrasi 35 ppm, menghasilkan persen kematian sebanyak 90% dan probitnya yaitu 6,2816. Pada konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm dan 1000 ppm, menghasilkan persen kematian 100% dan probitnya 8,719.

Pada konsentrasi 5 ppm, 15 ppm, 35 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm dan 1000 ppm menghasilkan nilai LC_{50} sebesar 12,88 ppm, termasuk kategori sangat toksik. Hal ini sesuai dengan McLoughlin (1998) yang menyatakan bahwa $LC_{50} \leq 30$ ppm termasuk dalam kategori sangat toksik. Perhitungan LC_{50} dapat dilihat pada lampiran 18.

Berdasarkan gambar 1 grafik analisis regresi linier ekstrak etanol kulit jeruk lemon (*Citrus limon (L.) Osbeck*), diperoleh persamaan regresi linier dengan nilai persamaan yaitu $y = 2,750x + 1,936$ dan nilai $R^2 = 0,816$.

Pada penelitian ini didapatkan bahwa ekstrak kulit jeruk lemon mempunyai potensi toksisitas. Hal

tersebut berkaitan dengan senyawa yang terdapat dalam kulit jeruk lemon yang dapat menyebabkan kematian larva. Mekanisme kematian pada larva disebabkan oleh adanya flavonoid yang berperan sebagai *stomach poisoning* (racun perut). Proses ini menyebabkan larva mengalami gangguan pada saluran cernanya.

Selain itu, senyawa ini menghambat reseptor rasa yang berada di permukaan mulut larva sehingga larva tidak bisa mendeteksi makanan dan akhirnya mati karena kelaparan (Reskianingsih, 2014). Berdasarkan dari pernyataan tersebut maka senyawa yang terdapat pada ekstrak kulit jeruk lemon yang berperan sebagai racun perut pada larva udang sehingga menyebabkan kematian larva adalah flavonoid.

b. Fase n-Heksana Ekstrak Kulit Jeruk Lemon (*Citrus limon (L.) Osbeck*)

Berdasarkan tabel 2 hasil uji toksisitas fase n-heksana ekstrak kulit jeruk lemon (*Citrus limon (L.) Osbeck*) dengan nilai LC_{50} , terdapat berbagai macam konsentrasi sehingga menghasilkan persen kematian dan probit yang berbeda pula.

Pada konsentrasi 0 ppm yang digunakan sebagai kontrol negatif, menghasilkan persen kematian

sebanyak 0%, probitnya yaitu 0 dan nilai LC_{50} yaitu 0,0 ppm karena pada konsentrasi 0 ppm tidak menggunakan ekstrak. Pada konsentrasi 5 ppm, 15 ppm, 35 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm dan 1000 ppm, menghasilkan persen kematian 100%, probitnya 8,719 dan nilai LC_{50} sebesar 1,77 ppm termasuk ke dalam kategori sangat toksik. Hal ini sesuai dengan McLoughlin (1998) bahwa $LC_{50} \leq 30$ ppm termasuk dalam kategori sangat toksik. Perhitungan LC_{50} dapat dilihat pada lampiran 18.

Pada fase n-heksana didapatkan bahwa kematian larva mencapai 100% hal ini diduga bahwa senyawa non polar dapat larut sempurna. Senyawa non polar pada kulit jeruk lemon yang menyebabkan kematian larva adalah triterpenoid. Triterpenoid berperan sebagai *stomach poisoning* atau racun perut (Nguyen, 1999).

Senyawa toksik yang ada pada ekstrak dapat masuk melalui bagian mulut larva dan diabsorpsi masuk ke dalam saluran pencernaan terjadi proses absorpsi melalui membran sel. Setelah proses absorpsi dilanjutkan dengan distribusi senyawa toksik ke dalam tubuh larva. Perubahan gradient konsentrasi yang drastic antara di dalam dan diluar sel yang menyebabkan senyawa toksik mampu

meyebar dengan baik ke dalam tubuh larva. Efek kerusakan metabolisme yang ditimbulkan terjadi secara cepat dapat dideteksi dalam waktu 24 jam hingga menyebabkan 50% kematian larva (Ningsyah, *et al*, 2015).

c. Fase Etil Asetat Ekstrak Kulit Jeruk Lemon (*Citrus limon (L.) Osbeck*)

Berdasarkan tabel 4.3 hasil uji toksisitas fase etil asetat ekstrak kulit jeruk lemon (*Citrus limon (L.) Osbeck*) dengan nilai LC_{50} , terdapat berbagai macam konsentrasi sehingga menghasilkan persen kematian dan probit yang berbeda pula.

Pada konsentrasi 0 ppm yang digunakan sebagai kontrol negatif, menghasilkan persen kematian sebanyak 0%, probitnya yaitu 0 dan nilai LC_{50} yaitu 0,0 ppm karena pada konsentrasi 0 ppm tidak menggunakan ekstrak. Pada konsentrasi 5 ppm, 15 ppm dan 35 ppm menghasilkan persen kematian sebanyak 15% dan probitnya 3,9636. Pada konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm dan 1000 ppm, menghasilkan persen kematian 100% dan probitnya 8,719.

Pada konsentrasi 5 ppm, 15 ppm, 35 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm dan 1000 ppm menghasilkan nilai LC_{50} sebesar 19,95 ppm termasuk kategori sangat toksik.

Hal ini sesuai dengan McLoughlin (1998) bahwa $LC_{50} \leq 30$ ppm termasuk dalam kategori sangat toksik.

Pada fase etil asetat terdapat senyawa semi polar yang bersifat toksik di duga dapat menyebabkan kematian adalah tanin. Tanin pada umumnya menghambat aktivitas enzim dengan jalan membentuk ikatan kompleks dengan protein pada enzim substrat yang dapat menyebabkan gangguan pencernaan dan merusak dinding sel, sehingga mekanisme kerja tanin sebagai racun perut (Sumilih, 2010).

Setiap pelarut berpotensi sangat toksik tetapi LC_{50} tertinggi ada pada pelarut n-heksan dengan $LC_{50} = 1,77$ ppm dapat dilihat pada tabel 4.3 hasil uji toksisitas fase n-heksana ekstrak kulit jeruk lemon (*Citrus limon (L.) Osbeck*) dengan nilai LC_{50} . Alasan ekstrak kulit jeruk lemon memiliki tingkat toksisitas tertinggi pada pelarut non polar karena senyawa ekstrak kulit jeruk lemon yang menyebabkan toksik dapat larut dengan baik pada pelarut non polar.

SIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan terhadap ekstrak kulit jeruk lemon ini, dapat diambil kesimpulan bahwa pada

Berdasarkan hasil uji toksisitas ekstrak kulit jeruk lemon (*Citrus limon (L.) Osbeck*) menunjukkan hasil yang sangat toksik sehingga perlu adanya perhatian mengenai penggunaan kulit jeruk lemon sebagai obat tradisional. Selain itu, perlu dilakukan uji keamanan dosis penggunaan kulit jeruk lemon sehingga dapat dijadikan obat tradisional.

Menurut PERMENKES No.760/MENKES/PER/IX/ 1992 tentang Fitofarmaka, menyatakan bahwa obat tradisional yang didaftarkan sebagai jamu harus melengkapi uji toksisitas dan uji farmakologi eksperimental untuk memastikan keamanan bahan alam tersebut. Hal ini sesuai dengan Meyer (1982) yang menyatakan bahwa suatu ekstrak atau senyawa bahan alam yang diketahui memiliki toksik melalui metode BSLT (nilai $LC_{50} < 1000$ ppm) dapat dikembangkan lebih lanjut sebagai obat antikanker.

Berdasarkan pernyataan tersebut maka, ekstrak kulit jeruk lemon ini dapat di kembangkan sebagai obat antikanker di masa yang akan datang.

ekstrak kulit jeruk lemon (*Citrus limon (L.) Osbeck*) memiliki toksisitas terhadap larva udang (*Artemia salina Leach*),

sedangkan pada ekstrak etanol, fase n-heksan dan fase etil asetat memiliki sangat toksik dengan nilai LC₅₀ 12,88 ppm, LC₅₀ 1,77 ppm dan LC₅₀ 19,95 ppm,

dan pada fase n-heksan memiliki toksisitas paling tinggi dengan nilai LC₅₀ sebesar 1,77 ppm yang termasuk kategori sangat toksik.

DAFTAR PUSTAKA

- Arsyah CD. 2014. *Kajian Etnobotani Tanaman Obat Herbal Dan Pemanfaatannya Dalam Usaha Menunjang Kesehatan Keluarga Di Dusun Turgo, Purwobinangun, Pake, Sleman*. [Skripsi]. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga. Yogyakarta.
- Cahyadi R. 2009. *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Buah Pare (Momordica Charantia L) Terhadap Larva Artemia Salina Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BST)*. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro. Semarang
- Chitra, D BR Ginting. 2012. *Karakteristik Simplisia Dan Skrining Fitokimia Serta Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Dari Beberapa Jenis Kulit Jeruk*. [Skripsi]. Fakultas Farmasi. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Dev C, Rishi Shrivastava RN. 2016. Basketful Benefit Of Citrus Limon. *J. Pharm Journal*. 7 (6). Hal 1-6
- Handayani A. 2015. Pemanfaatan Tumbuhan Berkhasiat Obat Oleh Masyarakat Sekitar Cagar Alam Gunung Simpang, Jawa Barat. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon Journal*. Vol.1 (6). Hal.1425-1432
- Lisdawati V, Wiryowidagdo S dan Kardono LB. 2006. Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) Dari Berbagai Fraksi Ekstrak Daging Buah Dan Kulit Biji Mahkota Dewa (*Phaleri macrocarpa*). *Bul. Penelitian Kesehatan*. Vol.34 (3). Hal.111-118.
- McLaughlin JL, Rogers LL. 1998. The Use Of Biological Assays To Evaluate Botanicals. *USA. Drug Information Journal*. Vol.32. Hal 512-524.
- Meyer, B.N., Ferrigni,N.R., Putnam,J.E., Jacobsen,L.B, Nichols,D.E., dan McLaughlin,J.L.1982. Brine Shrimp:A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Planta Medica Journal* Vol 45 (5). Hal. 31-34
- Ningdyah A R., Alimuddin A H., jayuska A. Uji Toksisitas Dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) Terhadap Hasil Fraksinasi Ekstrak Kulit Buah Tampoi (*Baccaurea macrocarpa*). *JKK Journal*. Vol. 4 (1). Hal/75-83.
- Nizhar M Ullyl. 2012. *Level Optimum Sari Buah Lemon (Citrus limon) sebagai bahan penggumpal pada pembentukan curd keju cottage*. [Skripsi]. Fakultas Peternakan. Universitas Hasanuddin. Makasar.
- Ocktaviandini M. 2015. *Kajian Perbedaan Konsentrasi Pelarut Etil Asetat Terhadap Karakteristik Ekstrak Zat Warna Dari Sabut Kelapa (Cocos nucifera L)*. [Skripsi]. Fakultas Teknik. Universitas Pasundan. Bandung
- Permenkes RI. 1992. *Fitofarmaka*. Menteri Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta
- Reskianingsih A. 2014. *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Buah*

- Phaleria macrocarpa* (scheef) Boerl Terhadap Larva *Artemia salina* Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). [Skripsi]. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Jakarta.
- Sa'adah H, Nurhasnawati H. 2015. Perbandingan Pelarut Etanol dan Air Pada Pembuatan Ekstrak Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine Americana* Merr) Menggunakan Metode Maserasi. *Jurnal Ilmiah Manuntung*. Vol 1 (2). Hal.149-153.
- Silva,T.M., Nascimento,R.J., Batista, M.B.,Agra,M.F.,dan Camara,C.A. 2007. Brine Shrimp Bioassay Of Some Species Of *Solanum* From Northeastern Brazil. *Revista Brasileirade Farmacognosia*. 17(1). Hal.35-38
- Sumilih S., Ambarwati, dan Dwi A. 2010. Efektivitas Ekstrak Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum* Val.) dalam Membunuh Larva *Aedes aegypti*. *Jurnal Kesehatan*. Vol 3(10). Hal. 78-88.
- Tanaya V, Retnowati R, Suratno. 2015. Fraksi Semi Polar Dari Daun Mangga Kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm). *Kimia Student Journal*. Vol 1 (1). Hal. 778-784

