

## Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Dadap Serep (*Erythrina subumbrans*) Terhadap Embrio Ikan Zebra (*Danio rerio*)

### *Acute Toxicity of Dadap Serep Leaf Ethanol Extract (*Erythrina subumbrans*) to Zebrafish Embryos (*Danio rerio*)*

Kharina Septi Lestari<sup>1\*</sup>, Aulia Nurfazri Istiqomah<sup>1</sup>, Elis Susilawati<sup>1</sup>, Nidaul Khasanah<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program Studi S1 Farmasi, Universitas Bhakti Kencana Bandung

\*Corresponding Author Email : [kharina.septi@bku.ac.id](mailto:kharina.septi@bku.ac.id)

DOI : <http://dx.doi.org/10.47653/farm.v11i1.736>

#### ABSTRAK

Dadap Serep (*Erythrina subumbrans*) merupakan tanaman daerah tropis dan subtropis yang tersebar di China, India, Sri Lanka, Myamar, Thailand, Laos, Vietnam, Malaysia, Indonesia dan Filipina, kandungan senyawa metabolit yang dimiliki tanaman dadap serep antara lain alkaloid, flavonoid, steroid dan saponin. Penggunaan ikan zebra dalam pengujian toksisitas merupakan salah satu model hewan yang sedang berkembang di Indonesia, kemiripan gen yang terdapat pada ikan zebra dengan manusia relatif tinggi berkisar 70%, sehingga menunjukkan bagaimana efek paparan zat toksik pada manusia. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan nilai LC<sub>50</sub> ekstrak daun dadap serep terhadap embrio ikan zebra (*Danio rerio*) dengan memberikan informasi mengenai keamanan dan toksisitas dari ekstrak daun dadap serep terhadap embrio ikan zebra (*Danio rerio*). Pengujian toksisitas embrio ikan zebra dilakukan berdasarkan protokol penelitian OECD No. 236 tahun 2013. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi yang digunakan dalam pengujian yaitu 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 12,5 ppm dan 6,25 ppm tingkat kelangsungan hidup embrio ikan zebra mengalami peningkatan konsentrasi yang akan meningkatkan kematian terhadap embrio. Nilai LC<sub>50</sub> ekstrak etanol daun dadap serep terhadap embrio ikan zebra termasuk kedalam kategori agak toksik yaitu 39,048 ppm.

**Kata Kunci:** Toksisitas Akut, Ekstrak Etanol Daun Dadap Serep, Embrio Ikan Zebra

#### ABSTRACT

*Dadap Serep (*Erythrina subumbrans*) is a tropical and subtropical plant that is spread in China, India, Sri Lanka, Myamar, Thailand, Laos, Vietnam, Malaysia, Indonesia and the Philippines, the content of metabolite compounds owned by dadap serep plants include alkaloids, flavonoids, steroids and saponins. The use of zebrafish in toxicity testing is one of the animal models that is developing in Indonesia, the similarity of genes contained in zebrafish with humans is relatively high around 70%, thus showing how the effects of exposure to toxic substances on humans. This study aims to determine the LC<sub>50</sub> value of spare palm leaf extract against zebrafish embryos (*Danio rerio*) by providing information about the safety and toxicity of spare palm leaf extract against zebrafish embryos (*Danio rerio*). Toxicity testing of zebrafish embryos was carried out based on OECD research protocol No. 236 of 2013. The results showed that the concentrations used in the test were 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 12.5 ppm and 6.25 ppm where the survival rate of zebrafish embryos experienced an increase in concentration which would increase the death of the embryo. The LC<sub>50</sub> value of the ethanol extract of the leaves of dadap serep against zebrafish embryos is included in the mildly toxic category of 39.048 ppm.*

**Keywords:** Acute Toxicity, Ethanol Extract of Dadap Serep Leaf, Zebrafish Embryo

## PENDAHULUAN

Perkembangan obat baru kian meningkat seiring dengan perkembangan zaman. Obat baru dapat berasal dari tumbuhan atau hewan, produk sampingan dari pertumbuhan mikroba, atau melalui sintesis kimia, modifikasi molekuler, dan bioteknologi (Ansel, 2014). Perkembangan obat baru tidak luput dari jasa para peneliti yang terus berusaha sehingga suatu obat baru diharapkan memiliki hasil yang lebih baik dari obat sebelumnya dari segi efektivitas maupun toksisitas.

Indonesia sebagai negara kepulauan yang merupakan salah satu dari paru-paru dunia menempati posisi ke-2 negara teratas dengan jumlah keanekaragaman hayati yang melimpah, sehingga masyarakat Indonesia telah memanfaatkan bahan alam sebagai obat tradisional sejak lama (Abriyani dkk., 2022). Dadap Serep (*Erythrina subumbrans*) merupakan salah satu dari banyak tanaman yang memiliki khasiat obat dan dimanfaatkan sebagai obat tradisional (Noor dan Putu, 2016).

Secara tradisional, daun dadap serep ini sering digunakan untuk mengobati demam, sakit perut, pelancar air susu, mencegah keguguran, peradangan dan kulit batangnya digunakan untuk pengencer dahak (Noor dan Putu, 2016). Kandungan senyawa metabolit yang dimiliki tanaman dadap serep antara lain alkaloid, flavonoid, steroid dan saponin. Sehingga penggunaan dadap serep ini memiliki aktivitas farmakologis seperti antidiabetes, antimikroba, dan antiinflamasi (Phukhatmuen *et al.*, 2021). Peningkatan pemanfaatan tanaman tradisional sebagai obat perlu dilakukan uji toksisitas untuk mengetahui aktivitas farmakologi dan tingkat keamanan suatu senyawa toksik yang terdapat dalam tanaman (Kpemissi *et al.*, 2020).

Pengujian toksisitas akut ditentukan dengan mengukur tingkat toksisitas suatu senyawa dalam waktu 24 jam, pengujian dalam suatu bahan dapat dikatakan toksik atau tidak dilihat berdasarkan nilai *Lethal Concentration* 50 (LC50) yang menyebabkan kematian 50% pada hewan uji. Uji pendahuluan diperlukan sebelum pengujian toksisitas untuk menentukan batas kisaran kritis (*critical range*) yang menjadi penentu konsentrasi dalam uji toksisitas (Pramadita *et al.*, 2022).

Salah satu metode yang dapat digunakan untuk melakukan uji toksisitas akut adalah *Fish Embryo Acute Toxicity* (FET) Test yaitu uji

toksitas akut dengan menggunakan embrio ikan. Metode FET dilakukan dengan menggunakan embrio dari Zebrafish (*Danio rerio*) (OECD, 2013). Zebrafish adalah ikan yang telah banyak digunakan dalam penelitian, penemuan obat-obat baru serta dapat digunakan sebagai model hewan uji untuk pengujian toksisitas (Sudrajat, S. E., 2019). Zebrafish digunakan sebagai model hewan uji karena gen yang terdapat pada zebrafish memiliki kesamaan sekitar 60 - 70% dengan gen yang ada pada manusia, sehingga pemetaan efek toksik atau penyakit dapat lebih tergambar (Harper, C., 2011).

Pengujian toksisitas embrio zebrafish dilakukan berdasarkan protokol penelitian OECD No. 236 tahun 2013 yang bertujuan untuk menentukan batas keamanan suatu sediaan yang dipaparkan pada embrio zebrafish. Perkembangan embrio zebrafish ini cepat sehingga lebih efisien dari segi waktu untuk penelitian (Fakri *et al.*, 2020). Keuntungan lain yang dimiliki *zebrafish* sebagai model hewan penelitian yaitu struktur tubuh yang transparan, perkembangbiakan yang cepat, pemeliharaan yang sederhana, kemampuan menghasilkan ratusan telur yang transparan sehingga mudah untuk diamati (Hardianti *et al.*, 2021).

Berdasarkan uraian diatas peneliti tertarik untuk melakukan pengujian toksisitas akut ekstrak etanol daun dadap serep (*Erythrina subumbrans*) menggunakan metode FET untuk mengetahui nilai LC50 dan tingkat toksisitas dari ekstrak etanol daun dadap serep (*Erythrina subumbrans*) sehingga konsumsi ekstrak etanol daun dadap serep (*Erythrina subumbrans*) sebagai bahan obat tradisional dapat lebih terkontrol untuk mencegah timbulnya efek toksik karena konsumsi berlebih.

## METODE PENELITIAN

Dalam penelitian ini menggunakan metode eksperimental secara *in vivo*, dengan hewan uji yaitu embrio ikan zebra. Penelitian diawali dengan tahap penyiapan alat bahan, determinasi hewan dan simplisia serta ekstraksi daun dadap serep menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol, karakteristik simplisia, skrining fitokimia, pembuatan medium E3, pembuatan larutan uji toksisitas, pengujian toksisitas akut embrio ikan zebra dan analisis data. Pengujian toksisitas embrio ikan zebra dilakukan

berdasarkan protokol penelitian OECD No. 236 tahun 2013, embrio ikan zebra yang diberikan senyawa uji selama 96 jam dan setiap 24 jam parameter yang diamati yaitu % kematian dari setiap kelompok uji, koagulasi embrio, tidak terjadi pembentukan *somit* (tulang belakang) tidak terjadi pelepasan *tail-bud* dari *yolk* dan tidak adanya denyut jantung.

Data hasil pengujian yang diperoleh dari ekstrak etanol daun dadap serep dianalisis menggunakan uji statistic probit pada software SPSS versi 28, nilai LC50 dihitung menggunakan program probit dengan lima konsentrasi, dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan.

### Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu Mikroskop (Olympus Mikroskop CX33) aquarium, lampu LED, penyaring air, filter aquarium, serokan, saringan, 24 well plate, mikroskop, cawan petri, pH meter, inkubator, rotary evaporator, timbangan analitik, peralatan gelas kimia, kertas saring, pipet, mikropipet dan tip.

### Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu daun dadap serep yang diperoleh dari Desa Purwaraja, Kecamatan Purwadadi, Kabupaten Ciamis, Jawa Barat, DCA (4 mg/L 3,4 dichloroaniline), air, medium E3, pakan ikan tetramin, etanol 96%, aquadest.

### Metode

Prosedur kerja yang dilakukan meliputi, persiapan bahan uji dan persiapan hewan uji.

Persiapan Bahan Uji

1. Pengumpulan bahan penelitian  
Daun dadap serep yang diperoleh dari Desa Purwaraja, Kecamatan Purwadadi, Kabupaten Ciamis, Jawa Barat.
2. Determinasi Tanaman Dadap Serep  
Determinasi tanaman dilakukan untuk memastikan bahwa identitas tanaman yang digunakan benar yaitu daun dadap serep (*Erythrina subumbrans*), determinasi ini dilakukan di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Jurusan Biologi FMIPA Universitas Padjadjaran Bandung.
3. Pembuatan Ekstrak Dadap Serep  
Simplisia yang digunakan dalam pembuatan ekstrak ini sebanyak 750gram dengan

pelarut etanol 96% metode maserasi, filtrat diuapkan menggunakan rotary evaporator untuk mendapatkan ekstrak kental.

### 4. Karakteristik Simplisia

#### a. Kadar Abu Total

Pemeriksaan kadar abu total dilakukan dengan menimbang sampel sejumlah 2-3 gram dan dimasukkan ke dalam krus silikat yang telah dipijarkan dan ditara, dipijarkan pada suhu  $800 \pm 25^\circ\text{C}$  selama 24 jam atau hingga arang habis, kemudian didinginkan dan ditimbang. Kadar abu total dihitung terhadap berat bahan uji, dinyatakan dalam % b/b (Kemenkes, 2017).

#### b. Kadar abu tidak larut asam

Pemeriksaan kadar abu tidak larut asam dilakukan dengan cara abu yang diperoleh pada penetapan kadar abu total ditambahkan dengan 25 mL asam klorida encer LP dan dididihkan selama 5 menit. Kemudian larutan tersebut disaring dan dikumpulkan residu dipijarkan dalam krus hingga bobot tetap pada suhu  $800 \pm 25^\circ\text{C}$ . Kadar abu yang tidak larut dalam asam dihitung terhadap berat bahan uji, dinyatakan dalam % b/b (Kemenkes, 2017).

#### c. Kadar Air

Penetapan kadar air dilakukan dengan menggunakan metode gravimetri. Ditimbang sejumlah 10 gram sampel simplisia, dimasukkan ke dalam wadah yang telah ditara. Selanjutnya, dikeringkan pada suhu  $105^\circ\text{C}$  selama 5 jam, dan ditimbang. Proses pengeringan dilanjutkan dan dilakukan penimbangan pada selang waktu 1 jam setiap pemanasan sampai perbedaan antara dua penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25% (Kemenkes, 2017).

#### d. Kadar sari larut air

Pemeriksaan kadar sari larut air dilakukan dengan melakukan penimbangan sejumlah 5 gram serbuk simplisia yang telah dikeringkan di udara. Selanjutnya dimasukkan ke dalam labu bersumbat, dan ditambahkan 100 mL air jenuh kloroform, dikocok berkali-kali selama 6 jam pertama, dan dibiarkan selama 18 jam. Kemudian dilakukan penyaringan, dan diuapkan sebanyak 20,0 mL filtrat hingga kering didalam cawan dangkal beralas datar yang telah dipanaskan  $105^\circ\text{C}$  dan ditara, dipanaskan sisa pada suhu  $105^\circ\text{C}$

hingga bobot tetap. Hitung kadar dalam % sari larut air (Kemenkes, 2017).

e. Kadar sari larut etanol

Pemeriksaan kadar sari larut air dilakukan dengan melakukan penimbangan sejumlah 5 gram serbuk simplisia yang telah dikeringkan di udara. Selanjutnya dimasukkan ke dalam labu bersumbat, dan ditambahkan 100 mL etanol P, dikocok berkali-kali selama 6 jam pertama, dan dibiarkan selama 18 jam. Kemudian dilakukan penyaringan, dan diuapkan sebanyak 20,0 mL filtrat hingga kering didalam cawan dangkal beralas datar yang telah dipanaskan 105°C dan ditara, dipanaskan sisa pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Hitung kadar sari larut etanol (Kemenkes, 2017).

f. Susut pengeringan

Susut pengeringan ditetapkan dengan cara dilakukan penimbangan sejumlah 2 gram simplisia dalam botol timbang dangkal bertutup yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu penetapan dan ditara. Kemudian diratakan bahan di dalam botol timbang dengan cara menggoyangkan botol, hingga merupakan lapisan setebal lebih kurang 5 sampai 10 mm, selanjutnya dimasukkan ke dalam ruang pengering, tutup dibuka, dan dikeringkan pada suhu penetapan hingga bobot tetap. Sebelum setiap pengeringan, botol dibiarkan dalam keadaan tertutup mendingin dalam eksikator hingga suhu ruang (Kemenkes 2017).

5. Skrining Fitokimia

a. Uji flavonoid

Ekstrak ditambahkan 3 mL n-heksan kemudian saring. Filtrat ditambah 15 mL etanol kemudian dibagi menjadi 3 tabung. Tabung pertama sebagai blanko, tabung kedua ditambahkan beberapa tetes HCl pekat dan ditambahkan sedikit serbuk Mg. reaksi positif jika terjadi perubahan warna kuning-merah. Tabung ketiga ditambahkan beberapa tetes HCl pekat kemudian dipanaskan. Reaksi positif jika berwarna merah (Ikalinus dkk., 2015; Sangi dkk., 2012).

b. Uji steroid/ terpenoid

Sebanyak 0,5 g ekstrak ditambahkan 15 mL etanol kemudian dibagi ke dalam 2 buah tabung reaksi. Tabung reaksi pertama ditambahkan 3 tetes asam asetat anhidrat kemudian ditambahkan 1

tetes asam sulfat pekat. Tabung reaksi kedua diisi larutan ekstrak saja, sebagai blanko. Tabung reaksi pertama kemudian dikocok perlahan. Terbentuknya warna hijau biru menunjukkan adanya steroid, warna merah tua atau merah-ungu menunjukkan adanya triterpenoid (Ikalinus dkk., 2015; Yuniar dkk., 2018).

c. Uji saponin

Ekstrak dididihkan dengan 20 mL aquadest. Filtrat dikocok dan didiamkan selama 15 menit. Terbentuknya busa yang stabil menandakan positif terdapat saponin (Ikalinus dkk., 2015).

d. Uji alkaloid

Ekstrak dilarutkan bersama 5 mL HCl 2N larutan disaring dan dibagi ke dalam 3 tabung reaksi. Tabung pertama ditambahkan HCl 2N sebagai blanko, tabung kedua ditambahkan beberapa tetes pereaksi wagner, reaksi positif ditandai dengan terbentuknya endapan coklat, dan tabung ketiga ditambahkan 2 tetes pereaksi mayer, reaksi positif ditandai dengan terbentuknya endapan putih atau kuning (Ikalinus dkk., 2015; Padmasari dkk., 2013).

e. Uji fenolik

Ekstrak dididihkan dengan 20 mL aquadest lalu disaring dan dibagi menjadi 3 tabung. Tabung pertama sebagai blanko, tabung kedua ditambahkan beberapa tetes  $\text{FeCl}_3$  dan terbentuk warna coklat kehijauan atau biru kehitaman menunjukkan adanya tannin. Tabung ketiga filtrat ditambahkan dengan sedikit larutan gelatin dan 5 mL NaCl 10%. Reaksi positif apabila terbentuk endapan kekuningan (Ikalinus dkk., 2015).

Persiapan Hewan Uji

1. Kode Etik

Pada penelitian ini dilakukan pengajuan kode etik hewan kepada Komisi Etik Penelitian Universitas Padjadjaran Bandung.

2. Determinasi Hewan

Pada penelitian ini dilakukan determinasi ikan zebra untuk memastikan bahwa identitas hewan yang digunakan benar. Determinasi hewan dilakukan di Museum Zoologi Insitut Teknologi Bandung.

3. Pemeliharaan Hewan Uji

*Zebrafish* yang digunakan dalam penelitian didapatkan dari toko "Kokobok Aquaspace",

kemudian ikan dipelihara dan dikembangbiakan di laboratorium uji. Akuarium yang digunakan sebagai habitat ikan selama proses pemeliharaan dan perkembangbiakan disesuaikan kondisinya mengikuti panduan dalam OECD No 26 tahun 2013.

#### 4. Pemijahan dan Seleksi Embrio

*Zebrafish* hanya digunakan dalam proses pemijahan untuk didapatkan dan dimanfaatkan embrio ikan sebagai subjek penelitian. Ikan yang sehat dipilih dengan rasio jantan dan betina yaitu 2:1 dan dipisahkan ke dalam akuarium khusus *breeding*. Setelah proses *breeding* ikan dikembalikan ke dalam akuarium dan embrio yang diperoleh dipisahkan untuk kemudian diuji dalam proses uji toksisitas.

#### 5. Pembuatan Media E3

Bahan yang digunakan pada pembuatan medium E3 dengan membuat larutan stok 60x yaitu 17,2 gram NaCl, 0,76 gram KCl, 2,9 gram CaCl<sub>2</sub> dan 4,9 gram MgSO<sub>4</sub> dilarutkan dalam 1L aquadest dan diatur pada pH 7,2 dengan larutan NaOH. Kemudian larutan stok medium E3 disterilkan menggunakan autoklaf dan disimpan pada suhu 4°C. Penyiapan larutan 1x medium E3, encerkan 16,5 ml larutan stok 60x dalam 1L aquadest (Fakri *et al.*, 2020).

#### 6. Pembuatan Finding Range Toksisitas Akut

*Finding range* dilakukan untuk menentukan konsentrasi yang akan digunakan dalam penelitian, konsentrasi awal yang digunakan yaitu 1000 ppm, 100 ppm dan 10 ppm dalam 100 mL medium E3 mendapatkan 5 konsentrasi yang akan digunakan dalam penentuan nilai LC<sub>50</sub> (OECD, 2013).

#### 7. Pengujian Toksisitas Akut pada Embrio Zebrafish

Pengujian toksisitas akut berdasarkan OECD No.236 tahun 2013 embrio terfertilisasi yang diberikan senyawa uji selama 96 jam dan diamati setiap 24 jam terhadap 4 indikator kematian yaitu koagulasi embrio, tidak terjadi pembentukan *somit* (tulang belakang), tidak terjadi pelepasan *tail-bud* dari *yolk* dan tidak adanya detak jantung (OECD, 2013).

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 1. Pengumpulan bahan penelitian

Daun dadap serep yang diperoleh dari Desa Purwaraja, Kecamatan Purwadadi, Kabupaten Ciamis, Jawa Barat.

#### 2. Determinasi Tanaman Dadap Serep

Determinasi tanaman dilakukan untuk memastikan bahwa identitas tanaman yang digunakan benar yaitu daun dadap serep (*Erythrina subumbrans*), determinasi ini dilakukan di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Jurusan Biologi FMIPA Universitas Padjadjaran Bandung.

#### 3. Pembuatan Ekstrak Dadap Serep

Simplisia yang digunakan dalam pembuatan ekstrak ini sebanyak 750gram dengan pelarut etanol 96% metode maserasi, filtrat diuapkan menggunakan *rotary evaporator* untuk mendapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental yang didapat pada daun dadap serep sebanyak 100,86 gram dengan hasil rendemen ekstrak sebanyak 13,44%.

#### 4. Karakteristik Simplisia

Hasil karakteristik simplisia daun dadap serep

No	Karakteristik	Hasil %	Syarat (MMI)
1	Kadar Abu Total	7,25	<6%
2	Kadar Abu Tidak Larut Asam	0,75	<1,5%
3	Kadar Air	6,16	<10%
4	Kadar Sari Larut Air	25	>13%
5	Kadar Sari Larut Etanol	13	>6%
6	Susut Pengeringan	8	<10%

#### 5. Skrining Fitokimia

No	Golongan Senyawa	Hasil
1	Alkaloid	+
2	Flavonoid	+
3	Saponin	+
4	Tanin dan Polifenol	+
5	Steroid dan Terpenoid	+

#### Persiapan Hewan Uji

##### 1. Kode Etik

Pada penelitian ini dilakukan pengajuan kode etik hewan kepada Komisi Etik Penelitian Universitas Padjadjaran Bandung.

##### 2. Determinasi Hewan

Pada penelitian ini dilakukan determinasi ikan zebra untuk memastikan bahwa identitas hewan yang digunakan benar. Determinasi hewan dilakukan di Museum Zoologi Insitut Teknologi Bandung.

##### 3. Pemeliharaan Hewan Uji

*Zebrafish* yang digunakan dalam penelitian didapatkan dari toko "Kokobok Aquaspace", kemudian ikan dipelihara dan dikembangbiakan di laboratorium uji. Akuarium yang digunakan sebagai habitat ikan selama proses pemeliharaan dan perkembangbiakan disesuaikan kondisinya mengikuti panduan dalam OECD No 26 tahun 2013.

#### 4. Pemijahan dan Seleksi Embrio

*Zebrafish* hanya digunakan dalam proses pemijahan untuk didapatkan dan dimanfaatkan embrio ikan sebagai subjek penelitian. Ikan yang sehat dipilih dengan rasio jantan dan betina yaitu 2:1 dan dipisahkan ke dalam akuarium khusus *breeding*. Setelah proses *breeding* ikan dikembalikan ke dalam akuarium dan embrio yang diperoleh dipisahkan untuk kemudian diuji dalam proses uji toksisitas.

#### 5. Pembuatan Media E3

Bahan yang digunakan pada pembuatan medium E3 dengan membuat larutan stok 60x yaitu 17,2 gram NaCl, 0,76 gram KCl, 2,9 gram CaCl<sub>2</sub> dan 4,9 gram MgSO<sub>4</sub> dilarutkan dalam 1L aquadest dan diatur pada pH 7,2 dengan larutan NaOH. Kemudian larutan stok medium E3 disterilkan menggunakan autoklaf dan disimpan pada suhu 4°C. Penyiapan larutan 1x medium E3, encerkan 16,5 ml

larutan stok 60x dalam 1L aquadest (Fakri *et al.*, 2020).

#### 6. Pembuatan Finding Range Toksisitas Akut

*Finding range* dilakukan untuk menentukan konsentrasi yang akan digunakan dalam penelitian, konsentrasi awal yang digunakan yaitu 1000 ppm, 100 ppm dan 10 ppm dalam 100 mL medium E3 nantinya mendapatkan 5 konsentrasi yang akan digunakan dalam penentuan nilai LC<sub>50</sub> (OECD, 2013).

#### 7. Pengujian Toksisitas Akut pada Embrio Zebrafish

Pengujian toksisitas akut berdasarkan OECD No.236 tahun 2013 embrio terfertilisasi yang diberikan senyawa uji selama 96 jam dan diamati setiap 24 jam terhadap 4 indikator kematian yaitu koagulasi embrio, tidak terjadi pembentukan *somit* (tulang belakang), tidak terjadi pelepasan *tail-bud* dari *yolk* dan tidak adanya detak jantung (OECD, 2013).

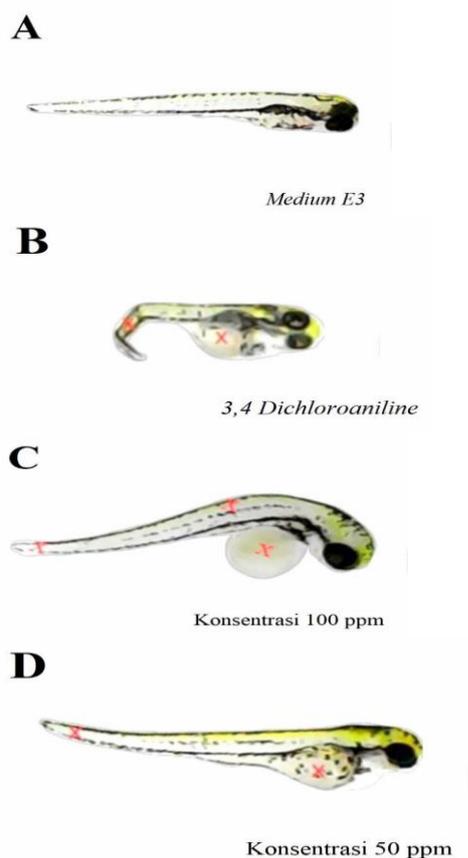
**Tabel 1.** Hasil Mortalitas EEDDS terhadap Embrio Ikan Zebra pada 96 Jam

Sampel	Konsentrasi EEDDS (ppm)					Kontrol	
	100	50	25	12,5	6,5	Medium E3	3,4 DCA
EEDDS	100%	46,67%	23,33%	13,33%	0%	0%	100%

Pada pengujian toksisitas akut embrio ikan zebra penggunaan *medium E3* sebagai kontrol negatif digunakan untuk nutrisi yang mengandung mineral berupa kalsium, zinc, magnesium, natrium dan kalium dibutuhkan ikan, sedangkan penggunaan DCA (3,4 *dichloroaniline*) sebagai kontrol positif digunakan untuk memberikan efek toksik pada perkembangan embrio karena sifat toksiknya. Hasil pengujian toksisitas akut embrio ikan zebra menunjukkan bahwa kontrol DCA (3,4 *dichloroaniline*) menunjukkan kematian  $\geq 30\%$  embrio mengalami koagulasi dan abnormalitas akibat penggunaannya yang memberikan efek toksik pada perkembangan embrio ikan zebra, sedangkan kontrol *medium E3* menunjukkan tingkat penetasan  $\geq 90\%$  selama 96 jam. Sehingga hasil kontrol positif dan kontrol negatif memenuhi validasi OECD 236 tahun 2013.

Hasil pengujian kelompok EEDDS dengan konsentrasi 100 ppm menghasilkan mortalitas 100%, konsentrasi 50 ppm menghasilkan mortalitas 46,67%, konsentrasi 25 ppm menghasilkan mortalitas 23,33%, konsentrasi 12,5 ppm menghasilkan mortalitas 13,33% dan konsentrasi 6,25 ppm menghasilkan mortalitas

0%, hasil ini menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak akan meningkatkan kematian embrio ikan zebra. EEDDS yang diberikan dapat menyebabkan koagulasi berwarna putih susu, setelah 24 jam embrio berkembang normal menunjukkan pembentukan *somit* dan terdapat pergerakan spontan, *somit* merupakan pertumbuhan awal embrio. Pelepasan *tailbud* dari *yolk* yaitu tubuh ikan memanjang dan membentuk garis lurus, *tailbud* merupakan ekor embrio dan *yolk* merupakan kuning telur embrio, secara normal detak jantung embrio ikan terlihat setelah 48 jam (OECD,2013). Tingkat kelangsungan hidup dapat mempengaruhi embrio ikan zebra yaitu pH, suhu, kimiawi dan air, kelangsungan hidup yang lebih tinggi menunjukkan bahwa embrio ikan zebra mampu bertahan terhadap lingkungan dibandingkan kelangsungan hidup yang lebih rendah (Thiagarajan *et al.*, 2019).



Gambar 1. Abnormalitas Embrio Ikan Zebra selama 96 jam

yang terjadi pada gambar 1 pada gambar A dengan *medium E3* menunjukkan embrio normal, gambar B dengan *3,4 dichloroaniline* menunjukkan abnormalitas yaitu ekor bengkok dan *edema yolk*, gambar C dengan konsentrasi 100 ppm menunjukkan abnormalitas yaitu *edema yolk*, ekor dan tulang belakang melengkung, sedangkan gambar D dengan konsentrasi 50 ppm menunjukkan abnormalitas *edema yolk* dan ekor melengkung. Abnormalitas terjadi dikarenakan senyawa yang terserap menghambat pertumbuhan dan perkembangan embrio serta dapat menyebabkan kematian pada embrio (Wiendarlina *et al.*, 2022). DCA (*3,4 Dichloroaniline*) merupakan bahan kimia yang sangat beracun dan lebih banyak memiliki efek toksik, penggunaan DCA (*3,4 Dichloroaniline*) terhadap manusia dapat menyebabkan aneuploidi dan toksisitas urothelial dalam sel manusia, sedangkan terhadap tikus menyebabkan gangguan ginjal, hati dan kandung kemih (Ibrahim *et al.*, 2020). DCA (*3,4 Dichloroaniline*) juga mempengaruhi morfologis, biokimia dan fisiologis, efek akuatik ini dapat menyebabkan perubahan abnormal pada tulang belakang, ekor hingga *edema*

pada *yolk* yang dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya yaitu senyawa kimia dan logam berat yang mengakibatkan kelainan (Thiagarajan *et al.*, 2019).

Hasil analisis data pada uji toksisitas akut EEDDS dengan SPSS 28 menggunakan analisis probit dikarenakan lebih tepat dalam memprediksi konsentrasi dalam rentang kematian hingga 96 jam. Nilai  $LC_{50}$  yang didapat yaitu 39,048 ppm sehingga tingkat toksisitas yang dimiliki berdasarkan *fish and wildlife service* termasuk kedalam kategori agak toksik terhadap embrio ikan zebra. Umumnya nilai  $LC_{50}$  yang lebih tinggi menunjukkan bahwa tingkat toksisitas yang lebih rendah, sedangkan nilai  $LC_{50}$  ketoksikan yang rendah menunjukkan bahwa sampel tersebut lebih berbahaya sehingga menyebabkan kematian atau kelainan embrio dalam jumlah besar (Thiagarajan *et al.*, 2019). Sehingga EEDDS memiliki toksisitas relatif agak toksik dan layak digunakan dalam konsentrasi <39,048 ppm, secara umum senyawa metabolit yang dimiliki tanaman dadap serep antara lain alkaloid, flavonoid, steroid dan saponin yang dapat menyebabkan efek toksik terhadap embrio ikan zebra. Senyawa metabolit yang diduga memberikan ketoksikan salah satunya yaitu saponin dapat menurunkan pertumbuhan dan penyerapan nutrisi yang dapat mengakibatkan kematian (Elekofhinsi, 2021).

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa nilai  $LC_{50}$  ekstrak etanol daun dadap serep terhadap embrio ikan zebra termasuk kedalam kategori agak toksik yaitu 39,048 ppm, sehingga EEDDS memiliki toksisitas relatif agak toksik dan layak digunakan dalam konsentrasi <39,048 ppm.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abriyani, E., Yuniarsih, N., Fikayuniar, L., & Sulastri, D. (2022). Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Clitoria Ternatea L dan Uji Toksisitas Terhadap Larva Udang *Artemia salina*. 5(2), 220–222.
- Ansel, Howard, C., & Loyd, V, Allen. (2014). Ansel's Pharmaceutical dosage forms and drug delivery systems. Tenth Edition. United states: William & Wilkins, a Wolters Kluwer business

- Elekofehinti, O. O., Iwaloye, O., Olawale, F., & Ariyo, E. O. (2021). Saponins in cancer treatment: Current progress and future prospects. *Pathophysiology*, 28(2), 250-272.
- Fakri, F., Idrus, L. S., Iskandar, M. A., Wibowo, I., & Adnyana, I. K. (2020). Acute toxicity of Keladi Tikus (*typhonium flagelliforme* (Lodd.) blume) ethanol extract on Zebrafish (*Danio Rerio*) embryo in Vivo. *Indonesian Journal of Pharmacy*, 31(4), 297-304. <https://doi.org/10.22146/ijp.1121>
- Hardianti, M., Yuniarto, A., & Hasimun, P. (2021). Review: Zebrafish (*Danio Rerio*) Sebagai Model Obesitas dan Diabetes Melitus Tipe 2. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 8(2), 69. <https://doi.org/10.25077/jsfk.8.2.69-79.2021>
- Harper, C., & Christian, L. (2011). *The Laboratory Zebrafish*.
- Ikalinus, R., Widyastuti, S., & Eka Setiasih, N. (2015). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa Oleifera*). *Indonesia Medicus Veterinus*, 4(1), 71-79.
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia. Edisi II*. Jakarta: Kementrian Kesehatan Republik Indonesia
- Kpemissi, M., Metowogo, K., Melila, M., Veerapur, V. P., Negru, M., Taulescu, M., Potârniche, A. V., Suhas, D. S., Puneeth, T. A., Vijayakumar, S., Eklu-Gadegbeku, K., & Aklikokou, K. (2020). Acute and subchronic oral toxicity assessments of *Combretum micranthum* (Combretaceae) in Wistar rats. *Toxicology Reports*, 7, 162-168. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2020.01.007>
- Noor Kholidha, A., & Putu Wira Putra Suherman, I. (2016). Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Dadap Serep (*Erythrina lithosperma* Miq) sebagai Antibakteri terhadap Bakteri *Salmonella typhi*. 4.
- OECD. (2013). *Oecd Guidelines for the Testing of Chemicals. Guidelines for the Testing of Chemicals*, July, 1-22. <http://dx.doi.org/10.1787/9789264070561-en>
- Padmasari, P. D., Astuti, K. W., & Warditiani, N. K. (2013). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 70% Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.). *Journal*, 366, 1-7.
- Phukhatmuen, P., Meesakul, P., Suthiphasilp, V., Charoensup, R., Maneerat, T., Cheenpracha, S., Limtharakul, T., Pyne, S. G., & Laphookhieo, S. (2021). Antidiabetic and antimicrobial flavonoids from the twigs and roots of *Erythrina subumbrans* (Hassk.) Merr. *Heliyon*, 7(4), e06904. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06904>
- Pramadita, S., Sulastri, A., & Desmaiani, H. (2022). Uji Toksisitas Akut LC50 Limbah Cair Industri Karet PT. X terhadap *Daphnia Magna* dengan Metode Batch. In *Jurnal Teknologi Lingkungan Lahan Basah* (Vol. 10, Issue 1).
- Ragelle, R., Crauste-Manciet, S., Seguin, J., Brossard, D., Scherman, S., Arnaud, P., Chabot, G.G. 2012. Nano emulsion Formulation of Fisetin Improves Bioavailability and Antitumor Activity In Mice. *I. J. Pharm*, 427: 452-459.
- Sangi, M. S., Momuat, L. I., & Kumaunang, M. (2012). Uji TOKSISITAS DAN SKRINING FITOKIMIA TEPUNG GABAH PELEPAH AREN (*Arenga pinnata*). *Jurnal Ilmiah Sains*, 12(2), 127. <https://doi.org/10.35799/jis.12.2.2012.716>
- Yuniar, M. I., Titik, L., & Indri, D. K. (2018). Identifikasi Kualitatif Senyawa Terpenoid Ekstrak N - Heksana Sediaan Losion Daun Jeruk Purut (*Citrus Hystrix Dc* ) Yuniar Indo Masadi, Titik Lestari, Indri Kusuma Dewi. *Jurnal Kebidanan Dan Kesehatan Tradisional*, 3(1), 40-32.