



**UJI TOKSISITAS**  
**EKSTRAK DAUN SINGKONG (*Manihot esculenta* Crantz)**  
**TERHADAP LARVA *Artemia salina* Leach**  
**DENGAN METODE *BRINE SHRIMP LETHALITY TEST***

Skripsi

disusun sebagai salah satu syarat  
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains Biologi

Oleh

Rizki Budiyo Putri

4411413024

**JURUSAN BIOLOGI**  
**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**  
**UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG**

2017

## PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi saya yang berjudul “**UJI TOKSISITAS EKSTRAK DAUN SINGKONG (*Manihot esculenta* Crantz) TERHADAP LARVA *Artemia salina* Leach DENGAN METODE BRINE SHRIMP LETHALITY TEST**” disusun berdasarkan hasil penelitian saya dengan arahan dosen pembimbing. Sumber informasi atau kutipan yang berasal dari karya yang diterbitkan telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir skripsi ini. Skripsi ini belum pernah diajukan untuk memperoleh gelar dalam program sejenis di perguruan tinggi manapun.

Semarang, 20 Oktober 2017



Rizki Budiyono Putri

NIM. 4411413024

**UNNES**  
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG

## PENGESAHAN

Skripsi dengan judul

Uji Toksisitas Ekstrak Daun Singkong (*Manihot esculenta* Crantz ) terhadap Larva *Artemia salina* Leach dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BST)

disusun oleh

Rizki Budiyo Putri

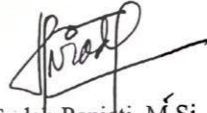
4411413024

telah dipertahankan dihadapan sidang Panitia Ujian Skripsi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang pada 9 Oktober 2017.

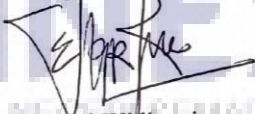


Prof. Dr. Zaenuri, S.E., M.Si., Akt.  
NIP 19641223 198803 1001

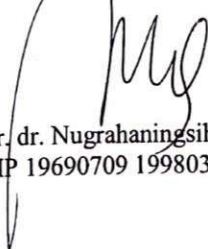
Sekretaris

  
Dra. Endah Peniati, M.Si.  
NIP 19651116 199103 2001


Penguji Utama

  
Prof. Dr. Ir Priyantini Widhiyaningrum, M.S.  
NIP 19600419 198610 2 001

Anggota Penguji/  
Pembimbing I

  
Dr. dr. Nugrahaningsih W.H., M.Kes.  
NIP 19690709 199803 2001

Anggota Penguji/  
Pembimbing II

  
Dr. Nur Kusuma Dewi, M.Si.  
NIP 19600410 198403 2001

## ABSTRAK

**Budiyono Putri, Rizki. 2017. Uji Toksisitas Ekstrak Daun Singkong (*Manihot esculenta* Crantz) Terhadap Larva *Artemia salina* Leach dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test*. Skripsi, Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang. Dr. dr. Nugrahaningsih WH dan Dr. Nur Kusuma Dewi,**

Obat tradisional masih akrab dengan masyarakat. Telah banyak tanaman yang diolah untuk dijadikan obat tradisional maupun obat modern yang diolah dipabrik. Salah satu tanaman yang dimanfaatkan sebagai obat adalah daun Singkong (*Manihot esculenta* Crantz). Untuk dapat digunakan sebagai obat, diperlukan uji toksisitas untuk mengetahui keamanan daun singkong dengan mengetahui nilai LC50 melalui uji toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (Cahyadi, 2009).

Penelitian dilakukan di laboratorium Fisiologi Hewan Jurusan Biologi Unnes. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan pendekatan *Post Test-Only Grup Design*. Dengan variabel bebas ekstrak daun singkong dengan konsentrasi 100% dan variabel tergantung tingkat kematian larva *Artemia salina* Leach. Ada lima kelompok perlakuan dan tiap perlakuan lima kali ulangan. Kelompok K 10 Larva udang tanpa ekstrak. Kelompok p1 10 larva diberi 1000 µg/ml ekstrak daun singkong. Kelompok p2 larva diberi 2000 µg/ml ekstrak daun singkong. Kelompok p3 10 larva diberi 5000 µg/ml ekstrak daun singkong. Kelompok p4 10 larva diberi 10000 µg/ml ekstrak daun singkong.

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan ditemukan kematian pada semua kelompok perlakuan. Pada p1 ditemui total 2 kematian, pada p2 ditemui total 1 kematian, pada p4 ditemui total 3 kematian dan terbanyak pada p3 ditemui total 12 kematian. Selanjutnya dari hasil tersebut dikalkulasi dengan analisis probit pada aplikasi *SPSS 21.0 for windows* untuk dicari nilai LC50 nya. Nilai LC50 pada ekstrak aquades daun singkong pada penelitian ini adalah sebesar 4938,200 µl/ml. Mekanisme kematian larva berhubungan dengan fungsi senyawa metabolik sekunder seperti triterpenoid, saponin dan flavonoid dalam daun singkong yang dapat menghambat daya makan larva (antifedant). Cara kerja senyawa-senyawa tersebut adalah dengan bertindak sebagai stomach poisoning atau racun perut.

Kesimpulan penelitian ini, uji toksisitas ekstrak aquades daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) pada larva *Artemia salina* Leach dengan Metode *Brine Shrimp lethality Test* memiliki nilai LC50 sebesar 4938,200 µg/ml.

**Kata kunci:** *Artemia salina* Leach, *Brine Shrimp lethality Test*, ekstrak daun singkong, uji toksisitas

## MOTTO

1. “Sesungguhnya Allah tidak akan mengubah nasib suatu kaum kecuali kaum itu sendiri yang mengubah nasibnya” ( QS Ar Ra’d : 11 )
2. Selalu ada jalan untuk orang yang niat dan mau berusaha ( Budiyo )
3. Belajar dari masa lalu, berberbuat yang lebih baik untuk hari ini, berjuang dan berdoa yang terbaik untuk esok ( Rizki Budiyo Putri )
4. Sesulit apapun masalah yang kamu hadapi, jangan pernah menyerah. Ingatlah, orang-orang hebat lahir dari kesulitan yang luar biasa ( Albert Einstein )

## PERSEMBAHAN

Untuk Ayanda Budiyo, Ibunda Srigati serta Kakakku Baskoro Budiyo dan Istiqomah  
Untuk keluarga besar eyang Sarpani (Alm) juga keluarga besar eyang Kasri (Alm)  
Untuk teman-teman Biologi

**UNNES**  
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG

## PRAKATA

Alhamdulillah, segala puji bagi Allah yang telah melimpahkan berkah, rahmat, hidayah, dan inayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi. Skripsi ini disusun untuk memenuhi syarat tugas akhir pada program studi Biologi Universitas Negeri Semarang guna memperoleh gelar S1. Penyelesaian skripsi ini tidak terlepas dari bantuan, pengarahan dan bimbingan dari pihak lain.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang besar kepada:

1. Rektor Universitas Negeri Semarang selaku pimpinan ditingkat universitas yang telah memberi kesempatan menimba ilmu di Universitas Negeri Semarang.
2. Dekan fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Unniversitas Negeri Semarang yang telah membantu kelancaran administrasi di tingkat fakultas.
3. Ketua jurusan Biologi dan ketua Prodi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang yang membatu kelancaran administrasi dalam penyelesaian skripsi.
4. Dr. dr. Nugrahaningsih WH, M.Kes. selaku dosen wali serta dosen pembimbing utama yang telah memberikan arahan, motivasi, saran dan masukan serta kesabaran beliau dalam membimbing penulis untuk menyelesaikan skripsi dan telah menaungi penulis pada penelitian payung beliau serta memberi tema untuk skripsi ini.
5. Dr. Nur Kusuma Dewi, M.Si. selalu dosen pembimbing kedua yang telah memberikan arahan, saran dan masukan serta kesabaran beliau dalam membimbing penulis untuk menyelesaikan skripsi.
6. Prof. Dr. Ir Priyantini Widiyaningrum, M.S. selalu dosen penguji yang telah memberikan arahan, saran dan masukan serta kesabaran beliau dalam membimbing penulis untuk menyelesaikan skripsi.

7. Kedua orang tua tercinta, ayahanda Budiyono dan Srigati serta kakak tersayang Baskoro Budiyono dan Istiqomah yang selalu menyayangi, memberi doa, semangat material dan spiritual kepada penulis
8. Kepala Laboratorium beserta staf Biologi Universitas Negeri Semarang yang telah memberi ijin menggunakan laboratorium. Terutama ibu Kartika Widyaningrum
9. Bapak Agus beserta staf Laboratorium Pakan Alam Balai Besar Perikanan dan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara yang telah membantu proses pengadaan telur *Artemia salina* Leach, memberi ijin membawa air laut dari BBPBAP juga meminjamkan fasilitas lain untuk kepentingan penelitian skripsi ini.
10. Saudara-saudara sanak family keluarga besar dari ibu maupun ayah yang selalu memberi semangat dan mendoakan penulis. Terutama pakde Juhadi.
11. Saudari Siti Wijayanti yang membantu dan mengenalkan dengan staf BBPBAP, bolak-balik ke Jepara, selalu membantu proses penelitian serta menghibur dalam suka maupun duka selama penelitian dan penulisa skripsi berjalan.
12. Teman-teman sesama penelitian payung Ibu Nugrahaningsih WH yang saling memberi semangat dalam mengerjakan. Terutama Titi Alfath yang penelitiannya sejalan dengan penulis dan berjuang bolak-balik ke Jepara bersama.
13. Para sahabat penulis di Kos Panji Sukma 1 lantai 2 (Risma, Febri, Isti, Nur, Ratna, Ana, Siti dan adik-adik tingkat lainnya) yang menemani perjuangan selama 3 tahun, selalu memberi semangat menghibur, dan mendoakan penulis dalam mengerjakan skripsi.
14. Teman-teman Biologi angkatan 2013 (Biogenic) yang memberi semangat dan berjuang bersama selama 4 tahun ini.
15. Keluarga besar jurusan Biologi yang tidak bisa di sebutkan satu persatu, kebersamaan kita menjadi semangat untuk selalu berjuang dalam menyelesaikan kuliah.

Penulis menyadari dalam penyusunannya masih kurang sempurna, untuk itu penulis berharap saran dan kritik yang membangun agar penyusunannya menjadi sempurna. Akhirnya penulis berharap semoga penyusunan skripsi ini dapat memberi nilai tambah bagi penulis khususnya dan semoga bermanfaat bagi masyarakat.

Semarang, September 2017

Rizki Budiyo Putri

NIM. 4411413024





## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
HALAMAN JUDUL .....	i
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI .....	ii
PENGESAHAN .....	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	iv
ABSTRAK .....	v
KATA PENGANTAR .....	vi
DAFTAR ISI .....	vii
DAFTAR TABEL .....	viii
DAFTAR GAMBAR .....	ix
DAFTAR LAMPIRAN .....	x
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
A. Latar Belakang .....	1
B. Rumusan Masalah .....	3
C. Manfaat Penelitian .....	3
D. Tujuan Penelitian .....	3
E. Penegasan Istilah .....	3
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA DAN KERANGKA BERFIKIR</b>	
A. Tinjauan Pustaka .....	5
1. Uji Toksisitas .....	5
2. Singkong ( <i>Manihot esculenta</i> Crantz) .....	8
3. <i>Artemia salina</i> Leach .....	11
4. Metode <i>Brine Shrimp lethality Test</i> .....	15
B. Kerangka Berfikir .....	17
<b>BAB III METODE</b>	
A. Lokasi dan Waktu Penelitian .....	18
B. Populasi dan Sampel .....	18
C. Variabel Penelitian .....	19

D. Rancangan Penelitian .....	19
E. Alat dan Bahan .....	19
F. Prosedur Penelitian .....	19
G. Data dan Metode Pengumpulan Data .....	22
H. Metode Analisis Data .....	23
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
A. Hasil Penelitian .....	24
B. Pembahasan .....	26
<b>BAB V SIMPULAN DAN SARAN</b>	
A. Simpulan .....	38
B. Saran .....	38
DAFTAR PUSTAKA .....	39
LAMPIRAN-LAMPIRAN .....	43



**UNNES**  
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
1. Jumlah kematian <i>Artemia salina</i> Leach pada uji Pendahuluan .....	24
2. Jumlah kematian <i>Artemia salina</i> Leach pada penelitian .....	26
3. Nilai LC50 beberapa tanaman .....	33
4. Tingkat toksisitas menurut Moshi 2010 .....	34



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Morfologi larva <i>Artemia salina</i> Leach .....	13
2. Siklus hidup <i>Artemia salina</i> Leach .....	14
3. Bagan kerangka berfikir tentang penelitian Uji Toksisitas Ekstrak Daun Singkong ( <i>Manihot esculenta</i> Crantz) Terhadap Larva <i>Artemia salina</i> Leach dengan Metode <i>Brine Shrimp lethality Test</i> .....	17



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Analisis Probit dari <i>SPSS For Windows 21.0</i> untuk uji pendahuluan .....	43
2. Analisis Probit dari <i>SPSS For Windows 21.0</i> untuk uji toksisitas ekstrak daun singkong ( <i>Manihot esculenta</i> Crantz) terhadap <i>Artemia salina</i> Leach dengan metode <i>Brine Shrimp lethality Test</i> .....	49
3. Dokumentasi .....	54
4. Surat Ijin Penelitian .....	59
5. Surat Keterangan telah Melakukan Penelitian .....	60
6. Surat Tugas Dosen Pembimbing .....	61
7. Surat Siap Ujian Proposal .....	62
8. Surat Siap Ujian Skripsi .....	63
9. Surat Pengajuan Tema Skripsi .....	64
10. Surat Pengajuan Topik Skripsi .....	65



## BAB 1 PEDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Masyarakat Indonesia telah mengenal pemanfaatan tanaman sebagai obat – obatan terutama obat tradisional. Obat tradisional mudah akrab di masyarakat karena murah dan mudah diperoleh. Banyak macam obat tradisional yang berasal dari tanaman dan telah diteliti kandungan kimia dan khasiatnya. Namun masih banyak tanaman yang belum diketahui toksisitasnya.

Salah satu tanaman yang dikenal dan dimanfaatkan oleh masyarakat adalah tanaman singkong (*Manihot esculenta* Crantz). Tanaman singkong banyak tumbuh subur diberbagai wilayah Indonesia. Banyak varietas ditemukan di berbagai wilayah yang berbeda dari seluruh Indonesia. Bagian yang banyak dimanfaatkan pada singkong selain umbinya adalah daunnya.

Masyarakat Indonesia sejak lama telah menggunakan daun singkong sebagai hidangan dan dipercaya serta digunakan sebagai obat tradisional untuk mengobati penyakit terutama darah rendah. Bagi sebagian orang percaya mengonsumsi daun singkong baik untuk menaikkan tekanan darah. Sehingga dihindari oleh masyarakat yang mengalami tekanan darah tinggi atau hipertensi dan bagus untuk orang yang tekan darahnya rendah atau hipotensi. Hal inilah yang mengundang penelitian mengenai kandungan yang terdapat pada daun singkong.

Daun Singkong (*Manihot esculenta*) memiliki kandungan protein, vitamin C, flavonoid, saponin, tannin dan triterpenoid (Nisa, 2013). Kandungan vitamin C yang lebih tinggi daripada sayuran lainnya yaitu per 100 gram daun singkong mencapai 275 mg. Kadar proteinnya juga cukup tinggi. Sumber vitamin A, setiap 100 gram yaitu mencapai 3.300 RE sehingga baik untuk kesehatan mata. Kandungan seratnya tinggi sehingga dapat memperlancar buang air besar dan mencegah kanker usus serta penyakit jantung.

Flavonoid pada daun singkong dapat berperan sebagai antimikroba. Triterpenoid berperan sebagai antifagus dan insektisida serta mempengaruhi sistem saraf manusia. Senyawa triterpenoid, saponin dan flavonoid diduga bersifat

toksik pada kadar tertentu. Selain itu, pada daun singkong juga mengandung sianida kadar rendah (Iftita, 2016).

Selain mempunyai kandungan-kandungan yang baik untuk kesehatan, daun singkong juga mengandung asam sianida serta kandungan lain yang kemungkinan menyebabkan efek toksik. Asam sianida jika dikonsumsi dalam jumlah yang banyak akan menyebabkan keracunan. Dengan kata lain daun singkong mempunyai potensi toksik meskipun rendah.

Selain itu, pemakaian bahan alam sebagai obat tradisional di masyarakat dijamin keamanannya oleh pemerintah. Dengan mengimplementasikannya dalam Permenkes No.760/Menkes/Per/IX/1992 tentang obat tradisional dan fitofarmaka. Sebelum menjadi suatu sediaan fitofarmaka, setiap bahan alam harus melewati beberapa tahapan meliputi uji farmatologi eksperimental, uji toksisitas, uji klinis, uji kualitas dan pengujian lain sesuai persyaratan yang berlaku demi menjamin keamanan masyarakat dalam mengkonsumsinya.

Untuk mengikuti prosedur dari pemerintah tersebut, diperlukan uji toksisitas sebagai tahap awal untuk menggunakan daun singkong sebagai obat atau suplemen untuk manusia. Pada penelitian ini juga bertujuan untuk mengetahui keamanan penggunaan ekstrak daun singkong sebagai obat untuk manusia dengan menghitung LC50 menurut hasil dari metode *Brine Shrimp lethality Test* (BST). Metode ini sering digunakan sebagai skrining awal terhadap senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak bahan alam karena relatif lebih murah, cepat, dan hasilnya dapat dipercaya, serta merupakan skrining awal obat.

Bentuk ekstrak dipilih dengan harapan akan didapatkan kandungan senyawa aktif yang ada dalam daun singkong. Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan sumber informasi mengenai keamanan penggunaan ekstrak daun singkong sebagai salah satu tanaman yang telah dikenal dan digunakan secara luas oleh masyarakat dan sekiranya dapat dikembangkan menjadi obat atau suplemen tertentu.

## **B. Rumusan Masalah**

Rumusan masalah pada penelitian ini, yaitu berapa nilai LC50 ekstrak daun singkong yang diuji toksisitas terhadap *Artemia salina* Leach dengan metode *Brine Shrimp lethality Test* ?

## **C. Tujuan Penelitian**

Tujuan pada penelitian ini, yaitu mengetahui nilai LC50 ekstrak daun singkong yang diuji toksisitas terhadap *Artemia salina* Leach dengan metode *Brine Shrimp lethality Test*.

## **D. Manfaat Penelitian**

### **1. Manfaat teoritis**

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi landasan untuk penelitian selanjutnya yang berkaitan dengan keamanan penggunaan ekstrak daun singkong sebagai obat atau suplemen bagi manusia.

### **2. Manfaat praktis**

Memberi informasi kepada masyarakat luas mengenai keamanan penggunaan ekstrak daun singkong.

## **E. Penegasan Istilah**

### **1. Uji Toksisitas**

Uji toksisitas yang dimaksud pada penelitian ini adalah uji tunggal dimana derajat efek toksik dari suatu senyawa ditentukan dalam waktu singkat, yaitu rentang waktu selama 24 jam setelah pemberian dosis uji ekstrak daun singkong terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan metode BST. Selanjutnya dihitung nilai LC50 nya.

### **2. Ekstrak Daun Singkong**

Ekstrak daun singkong merupakan sediaan yang dibuat dengan mengekstraksi daun singkong. Pada penelitian ini menggunakan singkong varietas marsinah. Daun singkong didapatkan dari Lerep, kecamatan Ungaran,



kabupaten Semarang. Metode yang digunakan untuk proses ekstraksi adalah maserasi dengan pelarut aquades. Pelarutnya diuapkan dan didapatkan ekstrak dalam bentuk bubuk dengan konsentrasi dianggap 100% atau 100 mg/ml. Digunakan aquades sebagai pelarut karena kedepannya diharapkan dari ekstrak daun singkong ini dapat digunakan sebagai obat/suplemen untuk manusia.

### **3. *Brine Shrimp lethality Test***

Merupakan metode untuk uji toksisitas standart yang menggunakan larva *Artemia salina* Leach sebagai hewan coba yang merupakan indikator suatu *bioassay* (analisis atau pengukuran suatu zat untuk menentukan keberadaan dan dampaknya) yang pertama di alam, juga untuk penelitian bahan alam yang dalam penelitian ini digunakan ekstrak daun singkong. Dengan cara menghitung jumlah kematian pada larva *Artemia salina* Leach berusia 48 jam yang diberi perlakuan. Untuk mudahnya metode ini dapat disebut juga uji BST.

### **4. *Artemia salina* Leach**

Merupakan sejenis udang-udangan yang termasuk dalam filum *Arthropoda* yang hidup planktonik di perairan yang kadar garamnya tinggi (kadar 5-150 permil), dengan suhu sekitar 25 - 30° C, kadar Oksigen 2 - 7 ppm dan pH 7,3 - 8,4. Pada penelitian ini telur *Artemia salina* diperoleh dari Balai Besar Perikanan dan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA DAN KERANGKA BERFIKIR

#### A. Tinjauan Pustaka

##### 1. Uji Toksisitas

Toksisitas merupakan kemampuan suatu molekul atau senyawa kimia yang dapat menimbulkan kerusakan pada bagian yang peka didalam maupun dibagian luar tubuh mahluk hidup (Durham,1975). Suatu senyawa kimia dapat dikatakan sebagai racun jika senyawa tersebut dapat menimbulkan efek yang merusak. Efek yang ditimbulkan sangat tergantung dengan kadar racun (toksin) yang diberikan dengan dilakukan pengukuran besarnya kadar atau konsentrasi bahan yang dapat menimbulkan pengaruh pada organisme uji (Loomis, 1978 dalam Ambara, 2007).

Uji toksisitas adalah uji tunggal dimana derajat efek toksik dari suatu senyawa ditentukan dalam waktu singkat, yaitu rentang waktu selama 24 jam setelah pemberian dosis uji ekstrak daun singkong terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan metode BST dengan perbandingan konsentrasi perlakuan 1000 µg/ml, 2000 µg/ml, 5000 µg/ml dan 10000 µg/ml yang dinyatakan dengan nilai LC50 (Cahyadi, 2009).

Uji toksisitas pada ekstrak tanaman biasanya dilakukan untuk mengetahui tingkat keamanan suatu ekstrak. Pengujian toksisitas biasanya dengan menggunakan hewan uji. Salah satu hewan uji yang sesuai adalah brine shrimp (udang laut) *A. salina* Leach, sejenis udang-udangan primitif dan pertama kali ditemukan di Lymington, Inggris pada tahun 1755 dan termasuk family crustaceae tingkat rendah dari phylum arthropoda (Sukandar dalam Vitalia, 2013).

Selain menggunakan *A. Salina* ada juga metode uji toksisitas menggunakan mencit dan menghitung letal dosis (LD50) guna mengetahui besarnya dosis tunggal yang dapat menyebabkan kematian 50% sekelompok hewan uji serta mengetahui keamanan suatu bahan sehingga dapat dihasilkan suatu obat tradisional yang dapat dipertanggungjawabkan penggunaannya secara

ilmiah. Sedangkan hewan uji lain yang bisa digunakan adalah mencit (Elya, 2010).

Pengujian toksisitas umum, dibedakan menjadi tiga kelompok berdasarkan lama uji berlangsung, yaitu uji toksisitas akut yang dilakukan dengan memberikan bahan alam sebanyak satu kali dalam jangka waktu 24 jam; uji toksisitas subkronis merupakan uji toksisitas jangka pendek yang dilakukan dengan memberikan bahan alam secara berulang, biasanya setiap hari atau lima kali seminggu, selama jangka waktu kurang lebih 10% dari masa hidup hewan uji toksisitas kronik merupakan uji toksisitas jangka panjang yang dilakukan dengan memberikan bahan alam berulang-ulang selama masa hidup hewan uji atau sebagian besar masa hidupnya (Loomis, 2001).

Pengamatan hewan uji dilakukan sejak masa persiapan hewan uji, sebelum diberi perlakuan. Perlakuan berupa pemberian bahan alam pada masing-masing hewan uji dengan dosis tunggal. Batas dosis harus dipilih sedemikian rupa dengan harapan dapat menimbulkan respon pada 10% – 90% hewan uji (Farmakologi dan Terapi, 2007).

Pada permenkes no 760/Menkes/sk/ix/1992 macam – macam uji toksisitas untuk keperluan fitofarmaka adalah sebagai berikut :

#### Pengujian Toksisitas

a. Uji toksisitas akut.

Uji toksisitas akut menyangkut pemberian beberapa dosis tunggal yang meningkat secara teratur pada beberapa kelompok hewan dari jenis yang sama.

b. Uji toksisitas sub akut.

Rancangan uji toksisitas sub akut dibuat berdasarkan hasil uji toksisitas akut. Uji toksisitas sub akut. Dapat memberikan gambaran tentang toksisitas calon fitofarmaka pada penggunaan berulang untuk jangka waktu yang relatif lama.

c. Uji toksisitas kronik

Uji toksisitas kronik diprioritaskan pada calon fitofarmaka yang penggunaannya berulang/ berlanjut dalam jangka waktu sangat lama (lebih dari 6 bulan). Uji toksisitas kronik memberikan gambaran tentang toksisitas

atau keamanan calon fitofarmaka pada penggunaan dosis lazim secara berulang selama hayat hewan.

d. Uji toksisitas pesifik

Uji toksisitas ini misalnya uji teratogenisitas, uji karsinogenisitas, uji mutagenisitas, uji toksisitas terhadap janin, uji terhadap fungsi-fungsi reproduksi dan lain-lain. Perlu tidaknya uji-uji ini dilakukan tergantung pada kemungkinan terjadinya efek-efek toksik tersebut, sehubungan dengan pemakaiannya pada manusia. Misalnya uji teratogenisitas atau uji toksisitas terhadap janin harus dikerjakan bila pemakaian klinik fitofarmaka nantinya diberikan pada masa-masa organogenesis dan kehamilan.

e. Uji mutagenisitas dan karsinogenisitas

Uji mutagenisitas dan karsinogenisitas harus dikerjakan bila fitofarmaka dipakai secara kronik, pelaksanaan pengujian, harus memenuhi cara-cara standar (baku) yang lazim. Untuk sediaan-sediaan yang digunakan secara topikal dipersyaratkan untuk dilakukan pengujian toksisitas secara topikal misalnya iritasi kulit dengan model hewan percobaan yang sesuai.

Macam-macam uji toksisitas pesifik

- Toksisitas pada janin.
- Mutagenisitas.
- Toksisitas topikal.
- Toksisitas oral.
- Dan lain-lain

Selain itu ada pula uji toksisitas akut untuk menetapkan potensi toksisitas akut LD<sub>50</sub>, menilai berbagai gejala toksik, spektrum efek toksik, dan mekanisme kematian. Tujuan uji toksisitas akut adalah untuk mendeteksi adanya toksisitas suatu zat, menentukan organ sasaran dan kepekaannya, memperoleh data bahayanya setelah pemberian suatu senyawa secara akut dan untuk memperoleh informasi awal yang dapat digunakan untuk menetapkan tingkat dosis yang diperlukan untuk uji toksisitas selanjutnya (Soeksmanto, 2009).

## 2. Singkong (*Manihot esculenta* Crantz)

Singkong juga disebut *Manihot esculenta* Crantz. Singkong memiliki nama daerah diantaranya: singkong, *huwi dangdeur*, *sampeu* (Sunda), singkong, *telo pohong*, *ketela kaspé* (Jawa), *puhung*, *pohong*, *telo belandha* (Madura), *wolaang kayu*, *uwi kayu* (Sulawesi Utara), *kesawi*, ketela kayu (Bali), *pangala*, *kusbin*, *peka reta* (Papua), ubi *kayee* (Aceh) (Huriana, 2006)

Singkong yang juga dikenal sebagai ketela pohon dalam bahasa Inggris bernama *cassava* adalah pohon tahunan tropika dan subtropika dari keluarga *Euphorbiaceae* (Anonima, 2007 dalam Pratiwi 2008). Batangnya tegak setinggi 1,5-4 m dengan bentuk batang bulat dengan diameter 2,5-4 cm, berkayu dan bergabus. Batang berwarna kecoklatan atau keunguan dan bercabang ganda tiga (Danarti dan Najijati, 1996). Daun singkong termasuk daun majemuk menjari dengan anak daun berbentuk ellips yang berujung runcing. Warna daun muda hijau kekuningan atau hijau keunguan. Tangkai daun panjang dengan warna hijau, merah, kuning atau kombinasi dari ketiganya. Bunga muncul pada setiap ketiak percabangan. Bunga betina tumbuh lebih dahulu dan matang pada saat tanaman berumur 3-4 minggu. Bila tidak dibuahi dalam 24 jam bunga akan layu dan gugur. Bunga jantan akan matang dalam waktu sebulan kemudian sehingga penyerbukannya terjadi secara silang (Danarti dan Najijati, 1996 dalam Pratawi 2008).

Umbinya dikenal luas sebagai makanan pokok penghasil karbohidrat dan daunnya sebagai sayuran yang merupakan umbi atau akar pohon yang panjang dengan fisik rata-rata bergaris tengah 2-3 cm dan panjang 50-80 cm tergantung dari jenis singkong yang ditanam. Daging umbinya berwarna putih atau kekuning-kuningan. Umbi singkong tidak tahan simpan meskipun ditempatkan di lemari pendingin. Gejala kerusakan ditandai dengan keluarnya warna biru gelap akibat terbentuknya asam sianida yang bersifat racun bagi manusia. Umbi singkong merupakan sumber energi yang kaya karbohidrat namun sangat miskin protein. Sumber protein yang bagus justru terdapat pada daun singkong karena mengandung asam amino metionin (Pratiwi, 2008).

Kedudukan tanaman singkong (*Manihot esculenta* Crantz) dalam taksomoni adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Sub divisio	: Angiospermae
Classis	: Dicotyledoneae
Sub classis	: Apetalae (Monoclamydeae)
Ordo	: Euphorbiales
Familia	: Euphorbiaceae
Genus	: Manihot
Spesies	: <i>Manihot esculenta</i> Crantzsin. <i>Manihot utilisima</i> Pohl.

Varietas-varietas ketela pohon unggul yang biasa ditanam, antara lain: Marsinah, Valenca, Mangi, Betawi, Basiorao, Bogor, SPP, Muara, Mentega, Andira 1, Gading, Andira 2, Malang 1, Malang 2, dan Andira 4.

Ketela pohon merupakan komoditi perdagangan dunia yang potensial. Negara – negara sentra ketela pohon adalah Thailand dan Suriname. Sedangkan sentra utama ketela pohon di Indonesia adalah di Jawa Tengah dan Jawa Timur. Tanaman ini kaya kandungan kimia seperti hidrat arang, kalsium, karbohidrat, fosfor, lemak, protein, vitamin A, vitamin B1, vitamin C dan zat besi (daun). Tanaman ini berkhasiat sebagai antikanker, antioksidan, antitumor dan penambah nafsu makan (Huriana, 2006 dalam Pratiwi, 2008).

Singkong (*Manihot esculenta* Crantz) yang termasuk dalam famili *Euphorbiaceae* merupakan tanaman yang sudah lama dikenal dan dibudidayakan oleh masyarakat Indonesia. Hal tersebut terlihat dari daerah penyebaran komoditas tersebut di hampir seluruh provinsi di Indonesia. Singkong sebagai sumber karbohidrat, dan banyak dimanfaatkan untuk bahan pangan, pakan, serta bahan baku industri. Singkong merupakan bahan makanan pokok ketiga di Indonesia setelah padi dan jagung. Singkong menghasilkan daun dan umbi. Hasil umbinya dapat diolah menjadi gapek dan tepung tapioka, sedangkan daun dapat dikonsumsi sebagai sayur (Hafzah, 2003).

Menurut BPS (2009), produksi singkong di Indonesia mengalami peningkatan yang cukup pesat dari tahun 2005-2009, yaitu sebesar 19.321.183 ton pada tahun 2005 menjadi 21.786.691 pada tahun 2009, atau mengalami peningkatan sebesar 11,32%. Peranan singkong cukup besar dalam memenuhi kebutuhan pangan, mengatasi ketimpangan ekonomi, dan mengembangkan industri. Pada sistem ketahanan pangan, singkong tidak hanya berperan sebagai penyangga pangan tetapi juga sebagai sumber pendapatan rumah tangga petani. Sebanyak 2,5 milyar penduduk di Asia, Afrika, dan Amerika Latin menggunakan singkong sebagai bahan pangan, pakan, dan sumber pendapatan (CGIAR, 2000).

Singkong mengandung banyak manfaat untuk kebutuhan tubuh. Selain mengandung karbohidrat, singkong juga mengandung protein, vitamin, zat besi, kalsium, dan fosfor. Kandungan zat besi yang tinggi terdapat pada kulit umbi dibandingkan dalam umbi. Zat besi juga terdapat di dalam daun singkong. Daun singkong juga mengandung vitamin A dan asam sianida (HCN). Asam sianida dikelompokkan sebagai senyawa racun dan merupakan faktor pembatas dalam pemanfaatan tanaman singkong (Akinfala *et al.*, 2002).

Tanaman singkong merupakan salah satu tanaman pangan alternatif pengganti beras sebagai makanan pokok. Keunggulan tanaman singkong dibandingkan tanaman pertanian lain seperti beras adalah mudah untuk dibudidayakan, tahan terhadap serangan hama dan penyakit, mampu bertahan pada kondisi kekurangan air atau curah hujan yang rendah, dapat berproduksi dengan baik di tanah yang miskin hara. Selain itu umbinya dapat diolah menjadi berbagai produk, seperti gapek, tepung tapioka, tapai, dan keripik (Elida & Hamidi, 2009).

Daun Singkong mengandung banyak protein, beberapa mineral, vitamin B1, vitamin B2, vitamin C dan karoten. Pada penelitian yang pernah dilakukan, vitamin C dapat mempercepat proses penyembuhan luka. Daun Singkong juga mengandung banyak karbohidrat, lemak, zat besi, fosfor, kalsium dan air, flavonoid, saponin dan triterpenoid. Flavonoid dan saponin diketahui memiliki aktivitas antimikroba dan antivirus. Demikian juga triterpenoid yang diketahui

memiliki aktivitas antivirus dan antibakteri, serta dapat mengobati kerusakan pada kulit (Nisa, 2013).

Kandungan senyawa dalam daun singkong adalah flavonoid, triterpenoid, saponin, tannin dan vitamin C (Nurdiana, 2013). Menurut hasil penelitian, daun singkong termasuk jenis sayuran yang banyak mengandung flavonoid. Kandungan utama flavonoid daun singkong adalah rutin yang merupakan glikosida kuersetin dengan disakarida yang terdiri dari glukosa dan shamnosa (Sukrasno dkk, 2007).

Tanaman singkong (*Manihot esculenta* Crantz) merupakan tanaman yang memiliki banyak manfaat dalam kehidupan sehari-hari, khususnya sebagai sumber kalori pangan di Indonesia. Dalam pemanfaatannya, daun singkong hanya digunakan sebagai sayur dan makanan ternak. Sehingga diperlukan cara pengolahan yang baru untuk daun singkong agar manfaat daun singkong dapat dirasakan oleh masyarakat. Daun singkong memiliki berbagai kandungan, salah satunya yaitu flavonoid golongan kuersetin. Penelitian sebelumnya menunjukkan flavonoid golongan kuersetin dalam *Aloe vera* dan *Uncaria gambir* Roxb mampu menurunkan kadar glukosa darah. Dari pernyataan ini dimungkinkan untuk memanfaatkan daun singkong untuk dijadikan obat atau suplemen bagi manusia (Warditiani, 2011).

### **3. *Artemia salina* Leach**

*Artemia salina* Leach adalah sejenis udang-udangan primitif yang termasuk dalam filum *Arthropoda* yang hidup planktonik di perairan yang kadar garamnya tinggi (kadar 5-150 permil), dengan suhu sekitar 25-30°C, kadar Oksigen 2-7 ppm, dan pH 7,3-8,4 serta digunakan sebagai hewan coba uji toksisitas akut bahan alam dengan metode *Brine Shrimp lethality Test* (Cahyadi, 2009).

Larva *Artemia salina* Leach ini merupakan organisme sederhana dari biota laut yang sangat kecil dan mempunyai kepekaan yang cukup tinggi terhadap toksik (Parwati dan Simanjuntak, 1998). Telurnya memiliki daya tahan hidup selama beberapa tahun dalam keadaan kering. Telur udang dalam air laut akan menetas menjadi larva (nauplii) dalam waktu 24 - 28 jam (Pujiati *et al.*, 2002). Bila bahan yang diuji memberikan efek toksik terhadap larva *Artemia salina*



Leach, maka hal ini merupakan indikasi awal dari efek farmakologi yang terkandung dalam bahan tersebut. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa *A. salina* memiliki korelasi positif terhadap ekstrak yang bersifat bioaktif (Suhirman, 2006).

*Artemia* adalah sejenis udang-udangan primitif. *Artemia* semula diberi nama *Cancer salinus* oleh Linnaeus pada tahun 1778, tetapi kemudian pada tahun 1919 diubah menjadi *Artemia salina* Leach. Klasifikasi *Artemia salina* dalam ilmu sistematika hewan adalah sebagai berikut (Bougis 1979 dalam Fathiyawati, 2008):

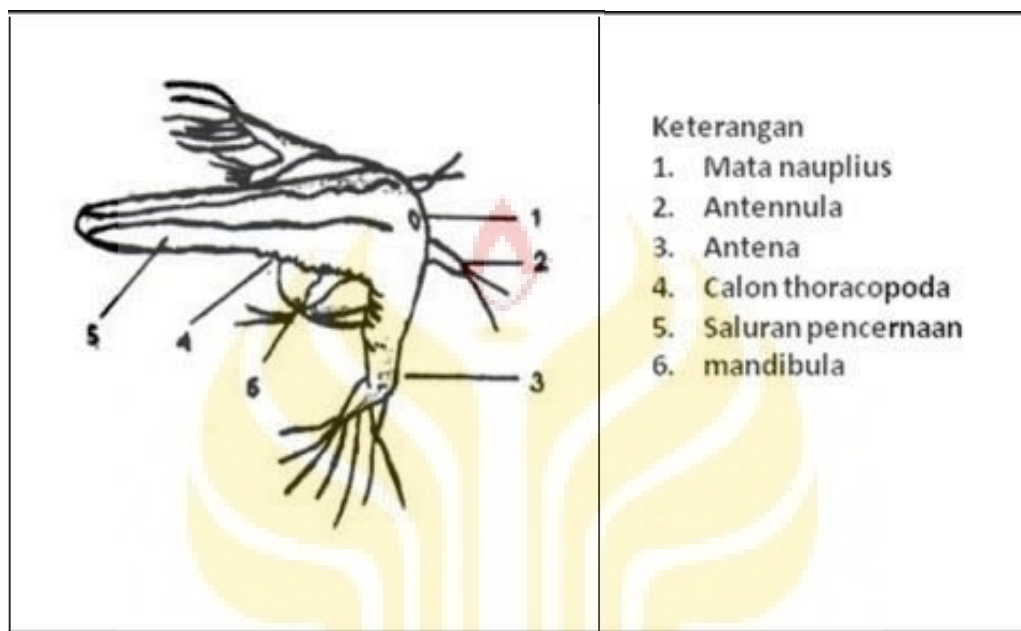
Kingdom	: Animalia
Philum	: Arthropoda
Classis	: Crustacea
Sub clas	: Branchiopoda
Ordo	: Anostraca
Famili	: Artemilidae
Genus	: Artemia
Spesies	: <i>Artemia salina</i> Leach.

#### a. Morfologi

*Artemia* diperdagangkan dalam bentuk telur istirahat yang disebut dengan kista. Bila dilihat dengan mata telanjang berbentuk bulatan-bulatan kecil berwarna coklat (Isnansetyo dan Kuniastuty, 1995 dalam Fathiyawati, 2008). Telur *Artemia* beratnya 3,6 mikrogram, diameter sekitar 300 mikron. Saat menetas berat *Artemia* hanya sekitar 15 mikrogram dan panjangnya 0,4 mm (Djarajah, 1995 dalam Fathiyawati, 2008). Kista yang berkualitas baik akan menetas sekitar 18-24 jam, apabila diinkubasi dalam air bersalinitas 5-7/mil. Beberapa tahapan proses penetasan *Artemia* yaitu tahap hidrasi, tahap pecahnya cangkang, tahap payung atau tahap pengeluaran. Tahap hidrasi terjadi penyerapan air sehingga kista yang diawetkan dalam bentuk kering tersebut akan menjadi bulat dan aktif bermetabolisme.

*Artemia* yang baru menetas disebut larva, berwarna oranye, berbentuk bulat lonjong dengan panjang sekitar 400 mikron, lebar 170 mikron, dan berat

0,002 mg. Larva berangsur-angsur mengalami perkembangan dan perubahan morfologis dengan 15 kali pergantian kulit hingga menjadi dewasa. Pada saat pergantian kulit disebut dengan *instar* (Isnansetyo dan Kuniastuty, 1995 dalam Fathiyawati, 2008).



Gambar 1. Morfologi larva *Artemia salina* Leach

#### b. Lingkungan Hidup

*Artemia* hidup secara planktonik diperairan laut yang kadar garamnya (salinitasnya) berkisar antara 15-300 per mil dan suhunya berkisar antara 26°C-31°C serta nilai pH nya antara 7,3-8,4. Keistimewaan *Artemia* sebagai plankton adalah memiliki toleransi (kemampuan beradaptasi dan mempertahankan diri) pada kisaran kadar garam yang sangat kuat (Mudjiman, 1995 dalam Fathiyawati, 2008).

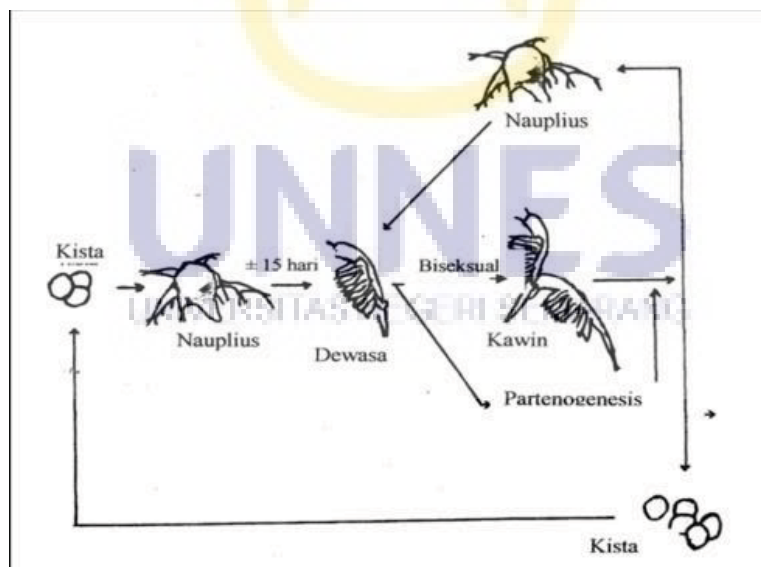
#### c. Cara makan dan makanan

Secara alami *Artemia* hidup dari pakan alami lain berupa detritus bahan organik (sisa bahan alam yang hancur), ganggang renik, ganggang hijau, ganggang biru, diatome, bakteri dan cendawan (ragi laut). *Artemia* hanya dapat menelan makanan kecil-kecil, berukuran 50 mikron kebawah. (Mudjiman, 1995 dalam Fathiyawati, 2008).

#### d. Perkembangbiakan dan cara hidup

Berdasarkan cara perkembangbiakannya *Artemia* digolongkan menjadi dua jenis, yaitu: jenis biseksual dan partenogenetik. Jenis *Artemia* yang dihasilkan dari perkembangbiakan secara biseksual tidak dapat melakukan perkembangbiakan secara partenogenetik, begitu juga sebaliknya. Pada jenis *Artemia* golongan berkembangbiak secara biseksual diawali dengan proses perkawinan antara induk betina dan jantan, sedangkan pada jenis *Artemia* golongan berkembangbiak secara partenogenetik tidak pernah terjadi proses perkawinan.

Kedua cara perkembangbiakan tersebut dapat terjadi secara ovovivipar maupun ovipar. Pada perkawinan secara ovovivipar, organisme baru yang dihasilkan telah berwujud individu yang persis sama dengan induknya. Individu baru ini disebut nauplius dan hidup seperti halnya *Artemia* muda. Sedangkan pada perkawinan secara ovipar hasilnya berupa telur yang bercangkang tebal dan disebut siste. *Artemia* menjadi dewasa setelah umur 14 hari. *Artemia* dewasa ini bisa menghasilkan telur sebanyak 50-300 butir setiap 4-5 hari sekali. Umur maksimal *Artemia* sekitar enam bulan (Djarajah, 1995 dalam Fathiyawati, 2008).



Gambar 2. Siklus hidup *Artemia salina* Leach

Pengujian toksisitas dengan metode *Brine Shrimp lethality Test* menggunakan larva *Artemia salina* Leach sebagai hewan uji. *Artemia salina*

Leach telah digunakan oleh Pusat Kanker Purdue, Universitas Purdue di Lafayette untuk senyawa aktif tanaman secara umum dan tidak spesifik untuk zat anti kanker. Namun demikian hubungan yang signifikan dari sampel yang bersifat toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach ternyata juga mempunyai aktifitas sitotoksik. Berdasarkan hal tersebut maka larva *Artemia salina* Leach dapat digunakan untuk uji toksisitas (Baraja, 2008).

#### 4. Metode *Brine Shrimp lethality Test*

Metode awal yang sering dipakai untuk mengamati toksisitas senyawa dan merupakan metode penapisan untuk aktivitas antikanker senyawa kimia dalam ekstrak tanaman adalah *Brine Shrimp lethality Test*, dengan menggunakan cara Meyer. Metode ini ditujukan terhadap tingkat mortalitas larva *Artemia salina* Leach yang disebabkan oleh ekstrak uji. Hasil yang diperoleh dihitung sebagai nilai LC50 (letal concentration) ekstrak uji, yaitu jumlah dosis atau konsentrasi ekstrak uji yang dapat menyebabkan kematian larva *Artemia salina* Leach sejumlah 50% setelah masa inkubasi 24 jam. (Lisdawati, 2006).

*Brine Shrimp lethality Test* merupakan salah satu metode untuk menguji bahan-bahan yang bersifat toksik dan digunakan sebagai suatu *bioassay* yang pertama untuk penelitian bahan alam. Metode ini menggunakan larva *Artemia salina* Leach sebagai hewan coba. Metode ini merupakan metode yang cukup praktis, cepat, mudah, murah dan akurat (Purwatini, 2002).

Suatu ekstrak dikatakan toksik berdasarkan metode BST jika harga LC50 < 1000 µg/ml. Penelitian Carballo dkk menunjukkan adanya hubungan yang konsisten antara toksisitas dan letalitas *Brine shrimp* pada ekstrak tanaman. Metode BST dapat dipercaya untuk menguji aktivitas farmakologis dari bahan-bahan alami. Apabila suatu ekstrak tanaman bersifat toksik menurut harga LC 50 dengan metode BST, maka tanaman tersebut dapat dikembangkan sebagai obat. Namun, bila tidak bersifat toksik maka tanaman tersebut dapat diteliti kembali untuk mengetahui khasiat lainnya dengan menggunakan hewan coba lain yang lebih besar dari larva *Artemia salina* seperti mencit dan tikus secara *in vivo* (Kinasih, 2013).

*Brine Shrimp Lethality Test* pertama kali diperkenalkan oleh Michael, dkk pada tahun 1956. Metode pengujian ini didasarkan pada bahan senyawa aktif dari tumbuhan yang bersifat toksik dan mampu membunuh larva *A. salina* Leach. *Brine Shrimp Lethality Test* merupakan metode untuk uji toksisitas dengan menggunakan larva *Artemia salina* Leach sebagai hewan coba dan digunakan sebagai suatu *bioassay* yang pertama untuk penelitian bahan alam (Sukandar dalam Vitalia, 2013).

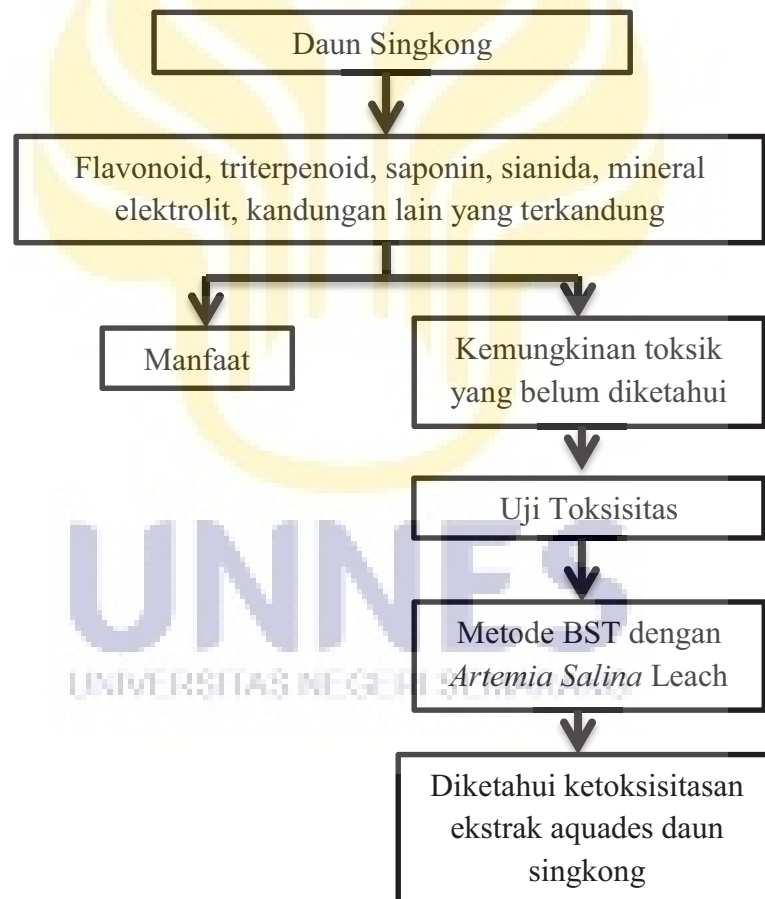
*Brine Shrimp lethality Test* merupakan salah satu metode skrinning bahan yang berpotensi sebagai tanaman berkhasiat. Metode penelitian ini menggunakan larva *Artemia salina* Leach sebagai bioindikator. Larva *Artemia salina* Leach ini merupakan organisme sederhana dari biota laut yang sangat kecil dan mempunyai kepekaan yang cukup tinggi terhadap toksik (Parwati dan Simanjuntak, 1998). Telurnya memiliki daya tahan hidup selama beberapa tahun dalam keadaan kering. Telur udang dalam air laut akan menetas menjadi larva (nauplii) dalam waktu 24 - 28 jam (Pujiati *et al.*, 2002).

Bila bahan yang diuji memberikan efek toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach, maka hal ini merupakan indikasi awal dari efek farmakologi yang terkandung dalam bahan tersebut. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa *A. salina* memiliki korelasi positif terhadap ekstrak yang bersifat bioaktif. Metode ini juga banyak digunakan dalam berbagai analisis biosistem seperti analisis terhadap residu pestisida, mikro toksin, polusi, senyawa turunan morfin, dan karsinogenik dari phorbol ester (Meyer *et al* dalam Suhirman, 2006 ).

Hasil uji toksisitas ini dapat diketahui dari jumlah kematian larva *Artemia salina* Leach karena pengaruh ekstrak atau senyawa bahan alam tumbuhan tertentu dari dosis yang telah ditentukan (Mc. Laughin dan Ferrigni, 1983). Metode ini dilakukan dengan menentukan besarnya LC50 selama 24 jam, dengan menggunakan volume media atau air laut sebanyak 5 ml dengan jumlah cuplikan sekitar 50 mg untuk suatu ekstrak tanaman (Meyer *et al.*, 1982).

## B. Kerangka Berfikir

Penelitian ini didasari pada pemikiran bahwa daun singkong merupakan salah satu tanaman yang dekat dengan masyarakat dan dipercaya dapat dijadikan obat penambah tekanan darah. Daun singkong sendiri memiliki kandungan yang baik untuk dikonsumsi dan kandungan lain yang belum diketahui apakah dia aman untuk dikonsumsi atau tidak. Salah satu cara untuk mengetahui keamanan daun singkong adalah dengan cara uji toksisitas. Uji toksisitas standart yang sering digunakan akan dengan metode *Brine Shrimp lethality Test* dan selanjutnya diketahui nilai LC50 untuk mengetahui tingkat keamanannya.



Gambar 3. Bagan kerangka berfikir tentang penelitian Uji Toksisitas Ekstrak Daun Singkong (*Manihot esculenta* Crantz) terhadap Larva *Artemia salina* Leach dengan Metode *Brine Shrimp lethality Test*

## **BAB V**

### **SIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Simpulan**

Uji toksisitas ekstrak aquades daun singkong ( *Manihot esculenta* Crantz ) pada larva *Artemia salina* Leach dengan Metode *Brine Shrimp lethality Test* memiliki nilai LC50 sebesar 4938,200 µg/ml.

#### **B. Saran**

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, disarankan:

1. Dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai ekstrak daun singkong mengenai kandungan sebelum di ekstraksi dan sebelum di ekstraksi serta terkait kandungan sianida.
2. Dilakukan uji toksisitas terhadap hewan yang lebih besar lagi seperti mencit atau tikus terhadap ekstrak aquades daun singkong.
3. Disarankan untuk memanfaatkan ekstrak daun singkong sebagai obat terutama obat antihipotensi.



## DAFTAR PUSTAKA

- Akinfala EO, Aderibigbe & Matanmi O. 2002. Evaluation of the Nutritive value of whole cassava plant meal as replacement for maize in the starter diets for broiler chickens. *Res. Rural Dev.* 14(6) <http://www.cipav.org.co/lrrd14.6/akin.html>
- Ambara. 2007. *Toksisitas Senyawa Kimia*. [http://id.wordpress.com/ToksisitasSenyawa Kimia Biologi.html](http://id.wordpress.com/ToksisitasSenyawaKimiaBiologi.html) [15 Februari 2017].
- [BPS] Badan Pusat Statistik. 2009. *Statistik Indonesia 2009*. Jakarta: Badan Pusat Statistik.
- Baraja, M. 2008. Uji Toksisitas ekstrak daun *Ficus Elastica* Nois ExBlume terhadap *Artemia salina* Leach dan Profil Kromatografi Lapis Tipis. Penerbit Universitas Muhammadiyah Surakarta: Surakarta.
- Cahyadi Robi, 2009, Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia* L.) terhadap Larva *Artemia salina* Leach dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BST) (Skripsi). Semarang: Universitas Diponegoro. (Cahyadi, 2009).
- CGIAR. 2000. Root and tubers in the global food system. A vision statement to the year 2020.
- Durham, W.F. 1975. Toxicity in N.I. Sax (ed): *Dangerous Properties of Industrial Materials*. Van Nostrand Reinhold Co. New York.
- Elida S& Hamidi W. 2009. Analisis pendapatan agroindustri rengginang singkong di Kabupaten Kampar. Pekanbaru: Fakultas pertanian UIR.
- Elya. Berna, Amin. Juheini & Emiyanah, 2010, Toksisitas Akut Daun *Justicia gendarussa* Burm, *MAKARA, SAINS, VOL. 14, NO. 2, NOVEMBER 2010: 129-134*
- Farmakologi dan Terapi* (edisi 4). (2007). Jakarta: Penerbit Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 824-827.
- Fathiyawati, 2008, Uji Toksisitas Ekstrak Daun *Ficus racemosa* L terhadap *Artemisia salina* Leach dan Profil Kromatografi Lapis Tipis (skripsi), Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.



- Fatimawali, Yudistira. Adithya & Wehantow. Frenly, 2013, Acute Toxicity of Etanol Extract From Mangosteen Pericarp (*Garcinia mangostana* L) Against *Artemia Salina* Leach Larvae Using Brine Shrimp Lethality Test (BST), *PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi – UNSRAT Vol. 2 No. 01 Februari 2013 ISSN 2302 – 2493*.
- Hafzah. MJ, 2003, *Bisnis singkong*, Jakarta: Pustaka Sinar Harapan.
- Hendrawati. Anindita Rosenda Eka, 2009, Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* Linn) terhadap Larva *Artemia Salina* Leach dengan Metode Brine Shrimp lethality Test (BST). Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro
- Ibrahim. Agus. M, Yunianta, Sriheryna. FH, 2015, Pengaruh Suhu dan Lama Waktu Ekstraksi terhadap Sifat Kimia dan Fisik pada Pembuatan Ekstrak Jahe, *Jurnal Pangan dan Agroindustri Vol. 3 No 2 p.530-541, April 2015*
- Kinasih.Ida,Supriyatna. Ateng & Rusputa. RN, 2013, Uji Toksisitas Ekstrak Daun Babadotan (*Ageratum conyzoides* Linn) terhadap Ikan Mas (*Cyprinus capio* Linn) sebagai Organisme Non-target, *Edisi Agustus 2013 Volume VII No. 2 ISSN 1969-8911*
- Lisdawati. Vivi, Wiryowidagdo. Sumali, Broto. SL, Kardono, 2006, Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) dari Berbagai Fraksi Ekstrak Daging Buah dan Kulit Biji Mahkota Dewa, *Buletin Penelitian Kesehatan, Vol. 34, No. 3, 2006:11 - 11*.
- Loomis, T.A. 1978. *Toksikologi Dasar*. Diterjemahkan oleh: Donatus, I.A., Edisi III. IKIP Semarang Press, Semarang.
- Meyer, B.N.N.R. Ferrigni ML 1982. Brine Shrimp, A Convenient General Bioassay or Active Plant Constituent. (Vol.45:31-34) *J of Plant Medical Research*
- Moshi MJ, Innocent E, Magadula JJ, Otieno DF, Weisheit A. 2010. Brine Shrimp Toxicity of Some Plants Used as Traditional Medicines in Kagera Region, North Western Tanzania. *Tanzania Journal of Health Research Volume 12 Number 1, January 2010*
- Nisa VM, Meilawati, Zahara & Astuti, Puji. 2013. Efek Pemberian Ekstrak Daun Singkong (*Manihot esculenta*) Terhadap Proses Penyembuhan Luka Gingiva Tikus. *Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa 2013*.

- Nurdiana, A. R. 2013. Uji Ekstrak Daun Singkong (*Manihot esculenta*) terhadap Jumlah Neutrofil pada Proses Penyembuhan Luka Tikus (*Rattus norvegicus*). Jember.
- Nurdiana. Ratna, Tukiran, 2012, Pemanfaatan Ekstrak Kloroform Kulit Batang Tumbuhan Nyiri Batu (*Xylocarpus moluccensis* Lamk) M. Roem.) (Meliaceae). *UNESA Journal of Chemistry Vol. 1, No. 2, September 2012*
- Nurhayati. Awik PD, Abduigani. Nurlita & Febrianto. Rachmat, 2006, Uji Toksisitas Ekstrak *Eucheuma Alvaresi* terhadap *Artemia Salina* sebagai Studi Pendahuluan Potensi Antikanker, Akta Kimindo Vol. 2 No. 1 Oktober 2006: 41– 46
- Parwati, T. dan P. Simanjuntak, 1998. Daya toksik beberapa tumbuhan obat tradisional Indonesia asal Nusa Tenggara Barat. *Journal Biologi Indonesia*. 11(3) : 118-125.
- Permenkes no 760/Menkes/SK/IX/1992 Tentang Pedoman Fitofarmaka
- Pratiwi Nining, 2008, (Skripsi), Uji Antiuser Perasan Umbi Singkong (*Manihot utilissima* Pohl.) pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar, Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Pujiati, I., S. Ningsih, S. Palupi dan Tri Windono, 2002. Uji toksisitas terhadap larva *Artemia salina* Leach. Dari fraksi n-heksan, khloroform, etil asetat dan air ekstrak etanol rimpang temumangga (*Curcuma mangga* VaL). Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XXI. Universitas Surabaya, Surabaya : 109-115.
- Ratnayake, R., Covell, D., Ransom, T.T., Gustafson, K.R. & Beutler, J.A. (2009) Englerin A, A selective inhibitor of renal cancer cell growth, from *Phyllanthus engleri*. *Organic Letters* 11, 57-60.
- Rita WS, Suirta IW, Sabikin A. Isolasi & Identifikasi Senyawa Yang Berpotensi Sebagai Antitumor Pada Daging Buah Pare (*Momordica charantia* L.). Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran. *Jurnal Kimia* Vol.2. 2008; ISSN 1907-9850.
- Sinaga. Lihardo, Suryanto. Dwi, Lesmana. Indra, 2014, Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis Paniculata*) Dalam Mengendalikan Pertumbuhan Bakteri *Aeromonas hydrophila*, *Edwardsiella tarda* dan Jamur *Saprolegnia* sp. Secara *In Vitro*, Prodi Manajemen Sumberdaya Perairan Fakultas Pertanian Universitas Sumatra Utara, Medan

- Soeksmanto. A, Simanjuntak. Partomuan & Subroto. MA, 2009, Uji Toksisitas Akut Ekstrak Air Tanaman Sarang Semut (*Myrmecodia pendans*) Terhadap Histologi Organ Hati Mencit, *Jurnal Natur Indonesia* 12(2), April 2010: 152-155 ISSN 1410-9379, Keputusan Akreditasi No 65a/DIKTI/Kep./2008
- Srisadono. Arya, 2008, Skinning Awal Ekstrak Etanol Daun Sirih (*Piper batle* Linn) sebagai Antikanker dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BLT) (skripsi), Semarang: Universitas Diponegoro.
- Suhirma. Sintha, Hernani & Syukur, Cheppy. 2006, Uji toksisitas Ekstrak Lempuyang Gajah (*Zingiber zerumbet*) terhadap Larva *Artemia salina* Leach (*Artemia salina* Leach), *Bul. Littro. Vol. XVII No. 1, 2006, 30 – 38.*
- Sukandar, D., Hermanto, S., & Lestari, E. 2007. Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Penerbit UIN Syarif Hidayatullah: Jakarta.
- Sukrasno, K. R., Wirasutisna & Fidrianny, I. 2007. Pengaruh Perebusan terhadap Kandungan Flavonoid dalam Daun Singkong. *Jurnal Obat Bahan Alam* Vol. 6 No. 2. Jakarta.
- Supriningrum, R. Sapri. Pranamala, Vici A. 2016. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Akar KB (*Coptosapelta tomentosa* Valetton ex K. Heyne) dengan Metode *Brine Shrimp lethality Test (BST)*. *JURNAL ILMIAH MANUNTUNG*, 2(2), 161-165, 2016.
- Vitalia Nurhawa Najib, Ahmad. Ahmad & Aktsar R., 2013, Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pletakan (*Ruellia tuberosa* L) dengan Menggunakan Metode Brine Shrimp lethality Test (BSLT), *Jurnal Fitofarmaka Indonesia, Vol. 3 No.1*
- Warditiani, 2011, Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 70 % Daun Singkong (*Manihot utilissima* Pohl) terhadap Kadar Gula Darah Mencit Jantan Galur *Balb/C* yang Diinduksi Aloksan. 1 Jurusan Farmasi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana.