



**UJI TOKSISITAS EKSTRAK DAUN PEPAYA  
TERHADAP LARVA *Artemia salina* Leach.  
DENGAN *BRINE SHRIMP LETHALITY TEST* (BSLT)**

Skripsi  
disusun sebagai salah satu syarat  
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains  
Program Studi Biologi

oleh  
Titi Alfath  
4411413032

**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG  
2018**

## PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi saya yang berjudul “Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pepaya terhadap Larva *Artemia salina* Leach. dengan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)” disusun berdasarkan hasil penelitian saya dengan arahan dosen pembimbing. Sumber informasi atau kutipan yang berasal atau kutip dari karya yang diterbitkan telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan Daftar Pustaka di bagian akhir ini. Skripsi ini belum pernah diajukan untuk memperoleh gelar dalam program sejenis di perguruan tinggi manapun.

Semarang, 27 Februari 2018



Titi Alfath

NIM. 441413032

## PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul

Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pepaya terhadap Larva *Artemia salina* Leach.  
dengan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

disusun oleh

Titi Alfath  
4411413032

telah dipertahankan di hadapan sidang Panitia Ujian Skripsi Fakultas Matematika  
dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang pada tanggal 5 Maret  
2018.

Panitia Ujian

Ketua



Prof. Dr. Zaenuri, S.E., M.Si., Akt.  
NIP. 196412231988031001

Sekretaris

Dra. Endah Perhati, M.Si.  
NIP. 196511161991032001

Ketua Penguji

Dr. Lisdiana, M.Si.  
NIP. 195911191986032001

Anggota Penguji I/  
Pembimbing I

Dr. dr. Nugrahaningsih WH, M.Kes.  
NIP. 196907091998032001

Anggota Penguji II/  
Pembimbing II

Dr. Nur Kusuma Dewi, M.Si.  
NIP. 196004101984032001

## RINGKASAN

**Alfath T. 2018. Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pepaya terhadap Larva *Artemia salina* Leach. dengan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang. Dr. dr. Nugrahaningsih WH, M.Kes. dan Dr. Nur Kusuma Dewi, M.Si.**

Masyarakat dunia semakin banyak yang memilih menggunakan bahan alami untuk mengatasi masalah kesehatan. Penggunaan obat tradisional dinilai aman karena memiliki efek samping relatif kecil jika digunakan secara tepat. Daun pepaya menjadi salah satu tanaman yang dimanfaatkan sebagai obat alami. Daun pepaya dapat digunakan untuk mengobati malaria, penambah nafsu makan, jerawat, menambah air susu, dan untuk mengobati sakit gigi. Namun, penggunaan obat alami sampai saat ini masih banyak yang tidak tepat karena hanya berdasarkan pengalaman empiris dan belum teruji secara ilmiah. Bahan alam yang akan dikembangkan menjadi fitofarmaka atau obat herbal terstandar pada fasilitas kesehatan harus memenuhi persyaratan aman dan adanya standar dosis yang lazim untuk digunakan. Uji awal untuk mendeteksi kemampuan ekstrak daun pepaya sebagai obat harus dilakukan uji keamanan dengan menentukan nilai toksisitas. Tujuan dari penelitian ini adalah menentukan nilai  $LC_{50}$  dari pengujian toksisitas ekstrak daun pepaya terhadap larva *Artemia salina* Leach. dengan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) yang dapat dikembangkan menjadi obat. Metode penelitian terdiri dari ekstraksi sampel daun pepaya dengan pelarut akuades, persiapan larva *A. salina* Leach., pembagian kelompok hewan uji, dan pengujian ekstrak daun pepaya terhadap larva *A. salina* Leach. berumur 48 jam selama 24 jam dengan variasi konsentrasi 0  $\mu\text{g/ml}$ , 1000  $\mu\text{g/ml}$ , 2000  $\mu\text{g/ml}$ , 5000  $\mu\text{g/ml}$ , dan 10000  $\mu\text{g/ml}$ . Nilai  $LC_{50}$  yang diperoleh sebesar 88507,768  $\mu\text{g/ml}$  yang menunjukkan ekstrak daun pepaya berpotensi toksik rendah terhadap larva *A. salina* Leach. dengan BSLT dan perlu dilakukan uji toksisitas ekstrak daun pepaya terhadap hewan tingkat tinggi seperti mamalia (tikus, mencit, dan kelinci) sebagai hewan uji.

**Kata kunci:** *Artemia salina*, BSLT, *Carica papaya*, toksisitas

## **PRAKATA**

Dengan mengucapkan puji syukur kehadirat Allah SWT, yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul “Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pepaya terhadap Larva *Artemia salina* Leach. dengan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)”.

Dalam menyusun skripsi penulis menyadari masih banyak kekurangan mengingat keterbatasan waktu dan pengetahuan penulis. Namun dengan segala upaya, bantuan dan dorongan dari berbagai pihak, penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Dalam kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Rektor Universitas Negeri Semarang yang telah memberikan kesempatan untuk menyelesaikan studi strata 1 Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang.
2. Dekan FMIPA Universitas Negeri Semarang yang telah memberi izin penulis sehingga dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini.
3. Ketua Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang yang telah memberikan kemudahan administrasi dalam menyelesaikan skripsi ini.
4. Dr. dr. Nugrahaningsih WH, M.Kes. sebagai dosen pembimbing pertama dan dosen wali yang telah memberikan pengarahan dan bimbingan selama penyelesaian skripsi ini.
5. Dr. Nur Kusuma Dewi, M.Si. sebagai dosen pembimbing kedua yang telah memberikan bimbingan, motivasi, dan pengetahuan baru kepada penulis.
6. Dr. Lisdiana, M.Si. sebagai dosen penguji yang telah memberikan saran dan masukan yang sangat berguna untuk penyempurnaan skripsi ini.
7. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat.
8. Kartika Widyaningrum, S.Pd. dan Solichin, S.Pd. sebagai teknisi Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang yang telah membantu selama penelitian.

9. Kedua orangtua penulis, Bapak Mujiyono dan Ibu Sarbinah yang penuh kasih sayang, keikhlasan memberikan dorongan, dan motivasi baik material maupun spiritual.
10. Kedua kakak penulis, Siti Alfiah Ratna dan Krisnawati serta keluarga besar atas perhatian, dorongan, semangat, dan doanya yang tiada henti.
11. Teman-teman Jurusan Biologi Angkatan 2013 yang saling memberi motivasi, dukungan, dan kebersamaannya selama ini.
12. Semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih ada beberapa kekurangan. Namun demikian penulis berharap skripsi ini berguna bagi pembaca.

Semarang, 27 Februari 2018

Penulis

# DAFTAR ISI

## Halaman

HALAMAN JUDUL .....	i
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI .....	ii
PENGESAHAN .....	iii
RINGKASAN .....	iv
PRAKATA .....	v
DAFTAR ISI .....	vii
DAFTAR TABEL .....	ix
DAFTAR GAMBAR .....	x
DAFTAR LAMPIRAN .....	xi
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang .....	1
B. Rumusan Masalah .....	4
C. Tujuan Penelitian .....	4
D. Manfaat Penelitian .....	4
E. Penegasan Istilah .....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
A. <i>Carica papaya</i> Linn. ....	6
B. Uji Toksisitas .....	9
C. Larva <i>Artemia salina</i> Leach. ....	11
D. <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT) .....	15
E. Kerangka Berpikir .....	18
BAB III METODE PENELITIAN	
A. Lokasi dan Waktu Penelitian .....	19
B. Populasi dan Sampel .....	19
C. Rancangan Penelitian .....	19
D. Variabel Penelitian .....	19
E. Prosedur Penelitian .....	20
F. Analisis Data .....	23

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Hasil Penelitian .....	24
B. Pembahasan .....	25
BAB V SIMPULAN DAN SARAN	
A. Simpulan .....	31
B. Saran .....	31
DAFTAR PUSTAKA .....	32
LAMPIRAN .....	42



## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Jumlah kematian larva <i>A. salina</i> Leach. akibat pemberian ekstrak daun pepaya dengan BSLT .....	24
2. Nilai LC <sub>50</sub> ekstrak daun pepaya dengan analisis probit <i>SPSS 23</i> .....	25

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Pohon pepaya ( <i>Carica papaya</i> Linn.) .....	7
2. Morfologi daun pepaya ( <i>Carica papaya</i> Linn.) .....	9
3. Larva <i>A. salina</i> Leach. berumur 48 jam setelah penetasan telur .....	13
4. Kerangka berpikir penelitian tentang uji toksisitas ekstrak daun pepaya terhadap larva <i>A. salina</i> Leach. dengan <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> .....	18
5. Alur pelaksanaan penelitian .....	23

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Hasil pengamatan uji toksisitas ekstrak daun pepaya terhadap larva <i>Artemia salina</i> Leach. dengan BSLT .....	42
2. Hasil analisis probit ekstrak daun pepaya .....	43
3. Surat izin penelitian UNNES .....	44
4. SK dosen pembimbing .....	45
5. Dokumentasi penelitian .....	46

# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Masyarakat dunia semakin banyak yang memilih menggunakan bahan alami untuk mengatasi masalah kesehatan. Penggunaan obat tradisional dinilai aman karena memiliki efek samping relatif kecil jika digunakan secara tepat (Katno 2008). Pemanfaatan tumbuhan sebagai bahan obat sudah sejak lama dilakukan oleh masyarakat di Indonesia. Dengan keanekaragaman etnis yang ada, maka pemanfaatan tumbuhan sebagai obat juga semakin beraneka ragam (Zuhud 2009 ).

Bangsa Indonesia sudah lama mengenal tumbuhan obat terutama pada daun pepaya. Menurut Afrianti *et al.* (2014) daun pepaya mengandung berbagai senyawa seperti flavonoid, enzim papain, sakarosa, dekstrosa, levulosa, protein, karbohidrat, kalsium, fosfor, zat besi vitamin A, vitamin B1, vitamin C, air, dan kalori. Ekstrak daun pepaya mengandung unsur  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ , dan  $\text{Li}^+$  yang berpotensi untuk mengobati banyak penyakit (Vyas *et al.* 2014).

Tumbuhan pepaya umumnya merupakan tumbuhan hutan yang sejak zaman nenek moyang telah menjadi tumbuhan pekarangan dan secara turun-temurun digunakan sebagai tumbuhan obat. Daun pepaya dapat dipergunakan untuk mengobati penyakit malaria, penambah nafsu makan, jerawat, menambah air susu, dan untuk mengobati sakit gigi (A'yun & Laily 2015). Owoyele *et al.* (2008) telah melakukan penelitian berdasarkan observasi terhadap komunitas lokal yang menggunakan daun *Carica papaya* sebagai obat untuk peradangan seperti asma, rematik atau arthritis, dan penyembuhan luka.

Penggunaan obat alami sampai saat ini masih banyak yang tidak tepat, sehingga tidak memberikan daya guna yang baik bahkan sering kali menimbulkan efek samping yang tidak dikehendaki (Katno 2008). Beberapa obat tradisional melibatkan penggunaan ekstrak kasar tanaman yang mungkin mengandung keragaman molekul yang luas dan seringkali dengan efek biologi yang tidak pasti (Konan & Bacchi 2007). Penggunaan tumbuhan obat ini

biasanya hanya berdasarkan pengalaman empiris dan belum teruji secara ilmiah (Tampungan *et al.* 2011). Penggunaan tanaman obat sebagai obat alternatif dalam pengobatan oleh masyarakat semakin meningkat, sehingga diperlukan penelitian agar penggunaannya sesuai dengan kaidah pelayanan kesehatan, yaitu secara medis harus dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah tentang khasiat, keamanan, dan standar kualitasnya.

Uji awal untuk mendeteksi kemampuan ekstrak air daun pepaya sebagai obat harus dilakukan uji keamanan dengan menentukan nilai toksisitas. Menurut PerKB POM Nomor 13 Tahun 2014, obat herbal yang akan diuji klinik memerlukan adanya data uji toksisitas dan minimal diperlukan data LD<sub>50</sub>. Lazimnya setiap penelitian bahan alam yang diduga berpotensi sebagai obat maupun secara empiris telah digunakan masyarakat sebagai obat, diawali dengan uji praklinik toksisitas untuk memprediksi tingkat keamanannya, kemudian dilanjutkan dengan uji farmakologi lainnya (Frengki *et al.* 2014). Menurut Meles (2010), uji praklinik dilaksanakan dengan tujuan untuk penelitian suatu bahan yang diduga berkhasiat obat dan atau terhadap bahan obat yang telah lama beredar di masyarakat tetapi belum dibuktikan khasiat dan keamanannya secara ilmiah seperti jamu untuk ditingkatkan statusnya menjadi obat herbal terstandar (OHT) atau obat fitofarmaka.

Taha & Alsayed (2000) menjelaskan banyak metode pengujian yang diaplikasikan dengan menggunakan seluruh hewan, sistem biokimia atau jaringan yang terisolasi, tetapi prosedur ini menggunakan biaya yang mahal dan rumit. Oleh karena itu, pengujian menggunakan udang air asin (*brine shrimp*) adalah prosedur yang lebih mudah untuk skrining toksisitas. Uji toksisitas akut menggunakan *Artemia salina* digunakan dalam penelitian telah terbukti secara efektif untuk menguji senyawa insektisida, sitotoksik, antineoplastik, antimalarial, dan antifidan ekstrak tanaman. Metode ini lebih sederhana, jumlah zat yang sedikit cukup untuk melakukan uji dalam skala mikro. Metode ini juga mudah dikerjakan, murah, cepat, dan cukup akurat (Krishnaraju *et al.* 2005; Muaja *et al.* 2013).

Penelitian Gadir (2012) mengenai penilaian bioaktivitas beberapa tanaman obat dari Sudan berdasarkan informasi etnofarmateknologi menggunakan *A. salina* untuk pengujian toksisitas tanaman tersebut. Pengujian ini dianggap sebagai alat untuk penilaian awal toksisitas dan telah digunakan untuk mendeteksi toksin jamur, toksisitas ekstrak tanaman, logam berat, pestisida, dan uji sitotoksitas bahan yang berhubungan dengan gigi (Gadir 2012; McLaughlin *et al.* 1991; Sam T.W 1993). Skrining dilakukan terhadap senyawa yang berpotensi obat atau toksik pada hewan. Skrining toksikologi sangat penting untuk pengembangan obat baru dan untuk perluasan potensi terapeutik dari molekul yang ada. Pengujian toksisitas secara umum ditujukan untuk mengetahui efek yang tidak dikehendaki oleh suatu obat terutama terhadap kejadian kanker, gangguan jantung, dan iritasi kulit atau mata (Parasuraman 2011).

Penelitian yang telah banyak dilakukan dalam uji toksisitas ekstrak daun pepaya dengan metode BSLT menggunakan pelarut etanol. Sehubungan dengan hal tersebut maka diperlukan penelitian uji toksisitas ekstrak daun pepaya dengan pelarut akuades terhadap larva *A. salina* L. berdasarkan BSLT. Sa'adah & Nurhasnawati (2015) menjelaskan bahwa air merupakan pelarut polar dapat mengekstrak komponen lainnya yang bersifat non polar ataupun semi polar. Air dipertimbangkan sebagai cairan penyari karena murah, mudah diperoleh, stabil, tidak beracun, tidak mudah menguap, dan tidak mudah terbakar.

Bahan alam yang akan dikembangkan menjadi fitofarmaka atau obat herbal terstandar pada fasilitas kesehatan harus memenuhi persyaratan aman dan adanya standar dosis yang lazim untuk digunakan (Wahyono *et al.* 2007). Menyadari akan hal ini maka pada upaya pengembangan obat tradisional (OT) ditempuh berbagai cara dengan pendekatan-pendekatan tertentu sehingga ditemukan bentuk OT yang telah teruji khasiat dan keamanannya, bisa dipertanggungjawabkan secara ilmiah (Katno 2008). Oleh karena itu agar pengobatan secara tradisional dapat dipertanggungjawabkan maka diperlukan penelitian ilmiah seperti penelitian di bidang farmakologi, toksikologi, identifikasi, dan isolasi zat kimia aktif yang terdapat dalam tumbuhan.

Penelitian ini untuk menentukan nilai  $LC_{50}$  dari pengujian toksisitas ekstrak daun pepaya terhadap larva *A. salina* Leach. dengan *Brine Shrimp Lethality Test* yang dapat dikembangkan menjadi obat.

## **B. Rumusan Masalah**

Berapa nilai  $LC_{50}$  dari pengujian toksisitas ekstrak daun pepaya terhadap larva *A. salina* Leach. menggunakan *Brine Shrimp Lethality Test*?

## **C. Tujuan Penelitian**

Menentukan nilai  $LC_{50}$  dari pengujian toksisitas ekstrak daun pepaya terhadap larva *A. salina* Leach. menggunakan *Brine Shrimp Lethality Test*.

## **D. Manfaat Penelitian**

Mengetahui tingkat keamanan penggunaan ekstrak daun pepaya yang diujikan pada larva *A. salina* Leach. menggunakan *Brine Shrimp Lethality Test* melalui nilai  $LC_{50}$ .

## **E. Penegasan Istilah**

### **1. Uji Toksisitas**

Uji toksisitas adalah suatu uji untuk mendeteksi efek toksik suatu zat pada sistem biologi dan untuk memperoleh data dosis yang khas dari sediaan uji. Data yang diperoleh dapat digunakan untuk memberi informasi mengenai derajat bahaya sediaan uji tersebut bila terjadi pemaparan pada manusia, sehingga dapat ditentukan dosis penggunaannya demi keamanan manusia. Penelitian ini mengujikan ekstrak daun pepaya terhadap larva *A. salina* Leach. dengan BSLT yang kemudian ditentukan nilai  $LC_{50}$ .

### **2. *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)**

Salah satu cara yang digunakan untuk mengetahui kemampuan toksik terhadap sel (sitotoksik) dari suatu senyawa yang dihasilkan oleh ekstrak tanaman dengan menggunakan larva *A. salina* Leach. berumur 48 jam setelah penetasan telur sebagai bioindikator.

### 3. Larva *A. salina* Leach.

Larva *A. salina* Leach. yang digunakan dalam penelitian ini adalah larva yang berumur 48 jam (2 hari) setelah penetasan telur *A. salina* Leach. (McLaughlin *et al.* 1991). Telur *A. salina* Leach. diperoleh dari Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara. Penetasan telur *A. salina* Leach. dilakukan di Laboratorium Fisiologi Hewan Universitas Negeri Semarang.

### 4. Ekstrak Daun Pepaya (*C. papaya* Linn.)

Daun pepaya yang digunakan yaitu daun ke 5-7 dari pucuk. Daun diperoleh dari Desa Lerep, Ungaran Barat, Kabupaten Semarang, Jawa Tengah. Daun diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut akuades. Ekstraksi dilakukan di Laboratorium Biokimia Jurusan Biologi UNNES.



## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. *Carica papaya* Linn.**

*Carica papaya* (Caricaceae) diyakini berasal dari Meksiko Selatan dan Kosta Rika kemudian dikembangkan menjadi tanaman perkebunan dimulai dari semua wilayah tropis dan subtropis (Khrisna *et al.* 2008). *C. papaya* Linn. banyak ditanam dan digunakan di berbagai belahan dunia untuk makanan (Karsha & Sultana 2009).

##### **1. Deskripsi**

Tanaman ini dikenal memiliki batang lunak dan biasanya tidak bercabang yang menghasilkan getah berwarna putih. Daunnya lebar dan memiliki tangkai yang panjang, tanaman ini tumbuh secara cepat mencapai 20 m. Tanaman pepaya adalah pohon perdu yang bersifat herbaceous dengan batang berongga, berwarna hijau muda hingga kecoklatan dengan diameter 8 inci (Milind & Gurditta 2011).

Bunga tunggal, bertekuk bintang, di ketiak daun, berkelamin satu atau berumah dua. Bunga jantan terletak pada tandan yang serupa malai, kelopak kecil, kepala sari bertangkai pendek atau duduk, kuning, mahkota bentuk terompet, tepi bertajuk lima, bertabung panjang, putih kekuningan. Bunga betina berdiri sendiri, mahkota lepas, kepala putik lima, duduk, bakal buah beruang satu, dan berwarna putih kekuningan. Biji bulat atau bulat panjang, kecil, bagian luar dibungkus selaput tipis yang berisi cairan, masih muda berwarna putih, dan setelah tua berwarna hitam. Akarnya tunggang, bercabang bulat, dan berwarna putih kekuningan (Depkes RI 2000). Klasifikasi tanaman pepaya dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Class	: Magnoliopsida
Division	: Magnoliophyta
Order	: Brassicales
Family	: Caricaceae
Genus	: <i>Carica</i>
Spesies	: <i>Carica papaya</i> Linn. (Milind & Gurditta 2011)



Gambar 1. Pohon pepaya (*C. papaya* Linn.)

## 2. Kandungan kimia

Tanaman dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional apabila tanaman tersebut mengandung senyawa kimia yang mempunyai aktivitas biologis (zat bioaktif). Senyawa aktif biologis itu merupakan metabolit sekunder yang meliputi alkaloid, flavonoid, flavonoid, terpenoid, tanin, dan saponin (Setyowati *et al.* 2014). Tanaman ini sumber karotenoid, vitamin C, tiamin, ribloflavin, niasin, vitamin B6, dan vitamin K (Bari *et al.* 2006; Adetuyi *et al.* 2008; USDA 2009).

Tanaman *C. papaya* Linn. secara fitokimia mengandung enzim (papain), karotenoid, alkaloid, monoterpenoid, flavonoid, mineral, dan vitamin. Bagian yang dapat dimakan dari buah *C. papaya* (pawpaw) mengandung mineral makro dan mikro seperti Na, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, dan Mn (OECD 2005). Tanaman pepaya juga memproduksi papain dan kimopapain yang ditemukan pada lateks berwarna putih yang terdapat pada buah. Secara umum, buah betina cenderung mengeluarkan lebih banyak papain daripada buah hermaprodit (Madrigal *et al.*

1980). Daun pepaya (*C. papaya* Linn.) mengandung alkaloid karpainin, karpain, pseudokarpain, kolin, dan karposid. Daun pepaya mengandung suatu glukosinolat yang disebut benzil isotiosianat. Daun pepaya juga mengandung mineral seperti kalium, kalsium, magnesium, tembaga, zat besi, zink, dan mangan (Milind & Gurditta 2011).

Daun pepaya (*C. papaya* Linn.) diketahui memiliki zat aktif seperti tanin dan flavonoid. Kandungan zat aktif seperti tanin pada daun pepaya lebih banyak dibandingkan akar dan batang (Bamisaye *et al.* 2013). Ekstrak daun pepaya memiliki senyawa fenolik, seperti asam protokatekuat, asam p-koumaril, dan asam kafeat (Canini *et al.* 2007). Penelitian Adeolu *et al.* (2013) menunjukkan bahwa ekstrak air daun pepaya memiliki kandungan yaitu alkaloid, tanin, glikosida jantung, dan saponin. Faktor-faktor lingkungan seperti iklim, cahaya matahari, suhu udara, lingkungan atmosfer (CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, dan kelembaban), lingkungan perakaran (sifat kimia dan fisika tanah), dan ketersediaan air di dalam tanah memiliki pengaruh terhadap hasil metabolisme sekunder tanaman (Nitisapto *et al.* 2005).

### **3. Manfaat**

Pengobatan cenderung menggunakan bahan baku dari alam atau pengobatan herbal sedang berkembang. Perusahaan farmasi berlomba-lomba mencari bahan baku pengobatan yang berasal dari tumbuhan yang memiliki khasiat untuk pengobatan (Superani *et al.* 2008). Hampir semua bagian tanaman bisa dimanfaatkan oleh manusia untuk bahan makanan atau untuk pengobatan. Pentingnya tanaman obat dan sistem kesehatan tradisional dalam memecahkan masalah dalam perawatan kesehatan semakin mendapat perhatian (Gadir 2012).

*C. papaya* Linn. termasuk famili Caricaceae dan beberapa spesies Caricaceae telah digunakan sebagai obat melawan berbagai penyakit (Mello *et al.* 2008). Buah, daun, dan bunganya bisa dimakan. Daun *C. papaya* Linn. berkhasiat sebagai obat malaria dan menambah nafsu makan, akar dan bijinya berkhasiat sebagai obat cacing (Depkes RI 2000). Selain itu akarnya dapat digunakan sebagai obat untuk masalah kandung kemih dan benihnya memiliki aktivitas antihelmintik. Tanaman *C. papaya* Linn. menghasilkan senyawa alami

pada jaringan kulit kayu dan ranting daun yang memiliki sifat antitumor dan pestisida (Nirosha dan Manganalayaki 2013). Buah mentah pepaya dapat digunakan sebagai obat untuk bisul dan impotensi (Mathur *et al.* 2011). Getah buahnya berkhasiat sebagai obat memperbaiki pencernaan (Depkes RI 2000).

Handayani (2015) menyatakan bagian tumbuhan yang dimanfaatkan dikelompokkan menjadi daun, batang, bunga, akar, umbi, buah, getah, rimpang, dan biji. Namun demikian, tidak sedikit masyarakat yang memanfaatkan seluruh bagian tumbuhan dalam pengobatannya. Penggunaan tumbuhan sebagai obat telah lama kita ketahui, bahkan menurut data WHO pada tahun 1993, 80 % penduduk dunia masih mengandalkan pengobatan tradisonal (Tampungan *et al.* 2011). Konan & Bacchi (2007) menambahkan secara historis, tanaman obat telah menyediakan sumber inspirasi untuk obat terapeutik karena obat-obatan yang berasal dari tanaman telah memberi kontribusi besar pada kesehatan dan kesejahteraan manusia.

Kandungan kimia yang terdapat dalam ekstrak etanol daun pepaya (*C. papaya* Linn.) diduga berperan terhadap aktivitas farmakologi (Mahatriny *et al.* 2014). Sifat obat yang menonjol dari pepaya diantaranya antifertilitas, uterotonik, diuretik, antihipertensif, hipolipidemik, antihelmintik, penyembuhan luka, antijamur, antibakterial, antitumor, dan aktivitas menangkal radikal bebas (Milind & Gurditta 2011).



Gambar 2. Morfologi daun pepaya (*Carica papaya* L.)

## **B. Uji Toksisitas**

Menurut Cahyono (2004), toksisitas adalah kemampuan suatu zat untuk menimbulkan kerusakan pada organisme hidup. Metode skrining toksikologi dan penelitian toksikologi pada zat individu dikembangkan pada pertengahan

1900. Pengujian toksisitas penting dilakukan untuk memperkirakan derajat kerusakan yang diakibatkan suatu senyawa terhadap material biologi maupun nonbiologi (Sasmito *et al.* 2015). Toksisitas zat dapat diamati dengan mempelajari eksposur yang tidak disengaja ke suatu zat, studi *in vitro* menggunakan sel, dan paparan *in vivo* pada hewan percobaan (Parasuraman 2011).

Uji toksisitas terdiri atas dua jenis, yaitu uji toksisitas umum (akut, subkronis, kronis) dan uji toksisitas khusus. Toksisitas akut merupakan efek berbahaya yang timbul setelah pemberian suatu zat atau kombinasi zat dalam dosis tunggal atau berulang selama 24 jam (Priyanto 2009). Menurut PerKB POM No.7 tahun 2014, toksisitas subkronis merupakan suatu pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang muncul setelah pemberian sediaan uji dengan dosis berulang yang diberikan secara oral pada hewan uji selama sebagian umur hewan, tetapi tidak lebih dari 10% seluruh umur hewan. Toksisitas kronis dilakukan minimum pada satu hewan pengerat dan satu spesies non pengerat. Senyawa uji diberikan lebih dari 90 hari dan hewan uji diamati secara berkala. Tujuan dari uji ini untuk menyimpulkan efek jangka panjang dari zat uji pada hewan (Parasuraman 2011).

Uji toksisitas obat dibagi dalam 2 bagian yakni uji toksisitas *in vitro* (suatu uji diluar tubuh hewan coba), sebagai contoh uji dengan BSLT; antiinfeksi; antikanker; antivirus, dan uji toksisitas *in vivo* (di dalam tubuh hewan coba), contohnya antihelminik; uji dengan OECD, dan uji obat-obat untuk terapi penyakit degeneratif (Meles 2010). Toksisitas akut ini diteliti pada hewan percobaan yang menunjukkan evaluasi keamanan dari kandungan kimia untuk penggunaan produk rumah tangga, bahan tambahan makanan, kosmetik, obat-obatan, dan sediaan biologi (Paget 1970). Parameter yang digunakan dalam uji ini adalah efek toksikan (respon) terhadap hewan uji (Soemirat 2005).

Uji toksisitas pada hewan uji dimaksudkan untuk ekstrapolasi hasil terhadap manusia untuk mencari dosis yang aman. Pengujian toksisitas umumnya menggunakan paling tidak 3 dosis (rendah, sedang dan tinggi) serta menggunakan kontrol untuk membandingkan efek dari kelompok perlakuan

(Robinson *et al.* 2009). Uji toksisitas akan dihasilkan data berupa dosis-dosis respon dari sediaan uji. Data yang diperoleh dapat digunakan untuk memberi informasi mengenai derajat bahaya sediaan uji tersebut bila terjadi pemaparan pada manusia. Hasil uji toksisitas tidak dapat digunakan secara mutlak untuk membuktikan keamanan suatu bahan/sediaan pada manusia, namun dapat memberikan petunjuk adanya toksisitas relatif dan membantu identifikasi efek toksik bila terjadi pemaparan pada manusia (PerKBPOM 2014).

Uji sitotoksitas sebuah obat baru dilakukan melalui serangkaian uji farmakologi dan toksikologi baik yang dilakukan pada hewan uji (praktikum) maupun secara klinik. Perkembangan metode *in vitro* sebagai alternatif pengganti pengujian menggunakan hewan uji mempunyai relevansi yang cukup baik yang bertujuan untuk mendeteksi potensi ketoksikan suatu obat pada manusia (Doyle & Griffith 2000). Uji toksisitas menggunakan hewan uji sebagai model berguna untuk melihat adanya reaksi biokimia, fisiologik dan patologik pada manusia terhadap suatu sediaan uji (PerKBPOM 2014).

Keuntungan metode *in vitro* antara lain: hanya dibutuhkan sedikit senyawa uji dalam penelitian, dapat digunakan sebagai tahap atau langkah awal dalam mengembangkan suatu obat untuk berbagai tujuan penggunaan kultur sel primer dari berbagai organ target (ginjal, liver, sistem syaraf, kulit, dan lain sebagainya), dapat memberikan informasi secara langsung tentang potensi efeknya pada sel target manusia, yang secara langsung memberikan hasil yang lebih valid dan dengan metode ini dapat mengurangi jumlah hewan laboratorium secara drastis (Doyle & Griffith 2000). Hasil uji toksisitas dapat digunakan untuk mengetahui tingkat toksisitas suatu senyawa, efek samping yang dapat ditimbulkan oleh suatu senyawa dan batasan maksimum penggunaan suatu senyawa (Hodgson *et al.* 2000).

### **C. Larva *Artemia salina* Leach.**

*Artemia* adalah sejenis udang-udangan primitif. *Artemia* semula diberi nama *Cancer salinus* oleh Linnaeus pada tahun 1778, kemudian pada tahun 1919 diubah menjadi *Artemia salina* Leach. *A. salina* Leach. merupakan salah

satu komponen penyusun ekosistem laut yang keberadaan sangat penting untuk perputaran energi dalam rantai makanan, selain itu *A. salina* Leach. juga dapat digunakan dalam uji laboratorium untuk mendeteksi toksisitas suatu senyawa dari ekstrak tumbuhan (Kanwar 2007).

### 1. Deskripsi

*Artemia salina* Leach. termasuk crustacea yang ukurannya mencapai 1-2 cm. Tubuh terdiri dari tiga segmen: kepala, dada, dan perut. Terdapat perbedaan morfologi antara jantan dan betina, misalnya pada jarak maksimum antara mata majemuk, panjang antena pertama, lebar segmen ketiga perut, diameter mata majemuk dan panjang perut. *Artemia* dewasa memiliki tiga mata dan 11 pasang kaki. Warna tubuh bervariasi tergantung konsentrasi garam pada air laut. Dapat ditemukan pada air yang salinitasnya tinggi, seperti danau asin, air laut, dan tidak dapat hidup di air tawar. *A. salina* Leach. hidup sebagai plankton di perairan dengan kadar garam yang tinggi sekitar 15-300 per mil. Suhu sekitar 25-30°C, lalu kadar oksigen sekitar 3 mg/L dan hidup pada daerah dengan pH 7,3-8,4. Mekanisme pertahanan hidup *A. salina* Leach. mengandalkan lingkungan sekitar, dimana hewan ini dapat hidup pada kondisi air dengan kadar garam yang tinggi sehingga pemangsanya tidak dapat bertahan hidup pada kondisi tersebut. Klasifikasi *Artemia salina* Leach. dalam ilmu sistematika hewan adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Arthropoda
Kelas	: Crustacea
Ordo	: Anostraca
Famili	: Artemilidae
Marga	: Artemia
Spesies	: <i>Artemia salina</i> Leach. (Bougis 1979).

### 2. Siklus hidup

Daur hidup *A. salina* Leach. memerlukan waktu 25 hari. Siklus hidup *A. salina* Leach. memiliki 3 fase yaitu fase telur, larva (nauplii) dan artemia dewasa. Telur atau kista *A. salina* Leach. memiliki bentuk bulat dengan ukuran 0,2-0,3 mm akan menetas menjadi larva (nauplii) (Kristanti *et al.* 2008). Kista sangat tahan terhadap kondisi ekstrim 80°C. Salinitas yang lebih tinggi dari 70

ppt, kista tidak dapat menetas karena gradien osmotik terlalu tinggi. Namun, salinitas kurang dari 5 ppt, kista akan menetas tetapi larva (nauplii) *A. salina* Leach. akan cepat mati.

Larva (nauplii) *A. salina* Leach. memiliki pertumbuhan optimal pada suhu 28°C dan salinitas 35 ppt. Batas suhu mematikan adalah 0°C dan 37-38°C. Larva *A. salina* Leach. hanya memiliki satu mata (fotoreseptor). Kemudian, berkembang dua mata majemuk sehingga terdapat tiga mata. Larva berenang melalui kolom air menggunakan antena. Mandibel digunakan untuk menyaring air dan fitoplankton. Artemia dewasa berenang menggunakan sirip/penyaring makanan. Mata tengah disertai dua mata lateral. Otak sederhana berbentuk cincin di sekitar mulut. Betina memiliki kantong telur di bagian ventral (Dumitrascu 2011).



Gambar 3. Larva *A. salina* Leach. berumur 48 jam setelah penetasan telur.

### 3. Reproduksi

Chumaidi *et al.* (1990) menyatakan bahwa perkembangbiakan artemia ada dua cara, yakni parthenogenesis dan biseksual. Pada artemia yang termasuk jenis parthenogenesis populasinya terdiri dari betina semua yang dapat membentuk telur dan embrio berkembang dari telur yang tidak dibuahi. Sedangkan pada artemia jenis biseksual, populasinya terdiri dari jantan dan betina yang berkembang melalui perkawinan dan embrio berkembang dari telur yang dibuahi. Cara bereproduksi dikendalikan oleh faktor lingkungan: konsentrasi oksigen dalam air dan fluktuasi, jenis makanan, dan salinitas. Ada



korelasi antara kadar salinitas air dan metode reproduksi. Ovoviviparous sampai salinitas kurang dari 150 ppt dan oviparaous pada salinitas antara 150-200 ppt (Dumitrascu 2011).

#### **4. Penetasan telur (kista) *A. salina* Leach.**

Sutaman (1993) mengatakan bahwa penetasan kista artemia dapat dilakukan dengan 2 cara, yaitu penetasan langsung dan penetasan dengan cara dekapsulasi. Proses penetasan secara langsung Chumaidi *et al.* (1990) mengatakan kista setelah dimasukan ke dalam air laut (5-70 ppt) akan mengalami hidrasi berbentuk bulat dan di dalamnya terjadi metabolisme embrio yang aktif, sekitar 24 jam kemudian cangkang kista pecah dan muncul embrio yang masih dibungkus dengan selaput. Cara dekapsulasi dilakukan dengan mengupas bagian luar kista menggunakan larutan hipoklorit tanpa mempengaruhi kelangsungan hidup embrio. Kista *A. salina* Leach. hasil dekapsulasi dapat digunakan (ditetaskan) atau disimpan dalam suhu 0°C – (-4°C) dan digunakan sesuai kebutuhan (Pramudjo & Sofiati 2004).

#### **5. Larva *A. salina* Leach. sebagai hewan uji**

*Brine Shrimp Lethality Test* adalah salah satu cara yang digunakan untuk mengetahui kemampuan toksik terhadap sel (sitotoksik) dari suatu senyawa yang dihasilkan oleh ekstrak tanaman dengan menggunakan larva udang *A. salina* Leach. sebagai bioindikator (Kanwar 2007). Keistimewaan *Artemia* yaitu memiliki toleransi (kemampuan beradaptasi dan mempertahankan diri) pada kisaran kadar garam yang sangat luas. *A. salina* Leach dapat dimanfaatkan sebagai hewan uji dalam penentuan ketoksikan suatu sari atau senyawa yang diwujudkan sebagai racun (Meyer *et al.* 1982).

Alasan utama mengapa krustacea air asin ini digunakan secara luas untuk pengujian toksisitas ekstrak tumbuhan karena ketersediaan telur yang sangat komersial, kemudahan budidaya, dipanen dalam jumlah besar dari danau air asin. Larva *A. salina* Leach. yang ditetaskan dari kista digunakan sebagai pakan ikan (Mayorga *et al.* 2010; Persoone *et al.* 1989).

Keunggulan penggunaan larva *A. salina* Leach. untuk BSLT ialah sifatnya yang peka terhadap bahan uji, waktu siklus hidup yang lebih cepat, mudah

dibiakkan, dan harganya yang murah. Sifat peka *A. salina* Leach. disebabkan oleh keadaan membran kulitnya yang sangat tipis sehingga memungkinkan terjadinya difusi zat dari lingkungan yang mempengaruhi metabolisme dalam tubuhnya. Mekanisme kematian pada larva *A. salina* Leach. disebabkan oleh adanya senyawa metabolit pada ekstrak yang berperan sebagai *stomach poisoning* (racun perut). Hal itu menyebabkan larva mengalami gangguan pada saluran cernanya. Selain itu, senyawa ini juga menghambat reseptor rasa yang berada di permukaan mulut larva *A. salina* Leach. sehingga larva tidak bisa mendeteksi makanan dan akhirnya mati karena kelaparan (Rita *et al.* 2008; Nguyen *et al.* 1999).

#### **D. Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)**

Menurut Marlinda *et al.* (2012) senyawa aktif yang terdapat dalam tumbuhan hampir selalu toksik pada dosis tinggi, oleh karena itu daya bunuh senyawa aktif terhadap organisme hewan dapat digunakan untuk menapis ekstrak tumbuhan yang mempunyai bioaktivitas dan juga memonitor fraksi bioaktif selama fraksinasi dan pemurnian. Uji yang mampu mendeteksi spektrum bioaktivitas yang terdapat di dalam ekstrak kasar tanaman adalah *brine shrimp lethality assay* (Krishnaraju *et al.* 2005).

Metode ini digunakan untuk menemukan beberapa jenis senyawa baru yang memiliki efek farmakologi (Meyer *et al.* 1982). Selanjutnya, pengujian ini dicatat sebagai alat untuk isolasi senyawa bioaktif dari ekstrak tumbuhan. Menurut Arcanjo *et al.* (2012) uji ini menawarkan keuntungan dalam standarisasi dan pengendalian kualitas produk botani. Tes ini berkorelasi dengan aktivitas antitumor (sitotoksitas) dan dapat digunakan untuk memantau aktivitas bioaktif pada produk alami.

Uji toksisitas ini dapat diketahui dari jumlah kematian larva *A. salina* Leach. karena pengaruh ekstrak atau senyawa bahan alam pada konsentrasi yang diberikan (Olowa *et al.* 2013; McLaughlin *et al.* 1998; Silva *et al.* 2007). *Brine Shrimp Lethality Test* dapat menunjukkan sitotoksitas serta aktivitas

farmakologis seperti antimikroba, antioksidan, antitumor, pestisida, dan lain-lain (Anderson *et al.* 1988)

Pengujian toksisitas tersebut menggunakan hewan uji *A. salina* Leach. Gadir (2012) menyatakan bahwa kematian yang signifikan dari larva udang air asin mengindikasikan adanya komponen sitotoksik yang kuat pada suatu tanaman. Nilai  $LC_{50}$  diperoleh dari persentase kematian larva udang akibat ekstrak. Data kematian larva tersebut dianalisis menggunakan probit analisis untuk mengetahui nilai  $LC_{50}$ . Jika nilai  $LC_{50}$  masing-masing ekstrak atau senyawa yang diuji kurang dari 1000  $\mu\text{g/mL}$  maka dianggap menunjukkan adanya aktivitas biologis, sehingga pengujian ini dapat digunakan sebagai skrining awal terhadap senyawa bioaktif (Sunarni *et al.* 2003; Anderson *et al.* 1991; Sukardiman *et al.* 2004).

Menurut Lisdawati *et al.* (2006) beberapa keuntungan menggunakan metode BSLT diantaranya (1) metode yang telah teruji untuk mengamati toksisitas suatu senyawa di dalam ekstrak kasar tumbuhan dengan tingkat kepercayaan 95%, (2) metode penapisan farmakologi awal yang mudah, cepat, dan murah, (3) sering digunakan untuk pencarian senyawa antikanker, (4) digunakan sebagai tahap awal isolasi toksik yang terkandung dalam suatu ekstrak.

Metode ini cukup praktis, murah, sederhana, cepat tapi tidak mengesampingkan kekuatannya untuk skrining awal tanaman berpotensi anti kanker dengan menggunakan hewan uji larva *Artemia salina* Leach. (Meyer *et al.* 1982; Solis *et al.* 1993). Sejak metode dimunculkan, uji letalitas secara *in vitro* ini telah berhasil diterapkan sebagai pelopor *bioassay* yang kemudian didukung dengan metode lain yang lebih spesifik dan lebih canggih setelah senyawa bioaktif diisolasi (Apu *et al.* 2013).

Ogugu *et al.* (2012) telah melakukan penelitian mengenai efek sitotoksik dari ekstrak air dan metanol tanaman *Calliandra portoricensis* menggunakan metode BSLT dengan konsentrasi 1000 ppm, 100 ppm, dan 10 ppm selama 24 jam. Nilai  $LC_{50}$  yang diperoleh sebesar 0,18 % untuk ekstrak air dan 0,88% untuk ekstrak metanol. Hasil tersebut menunjukkan bahwa pada ekstrak air pada

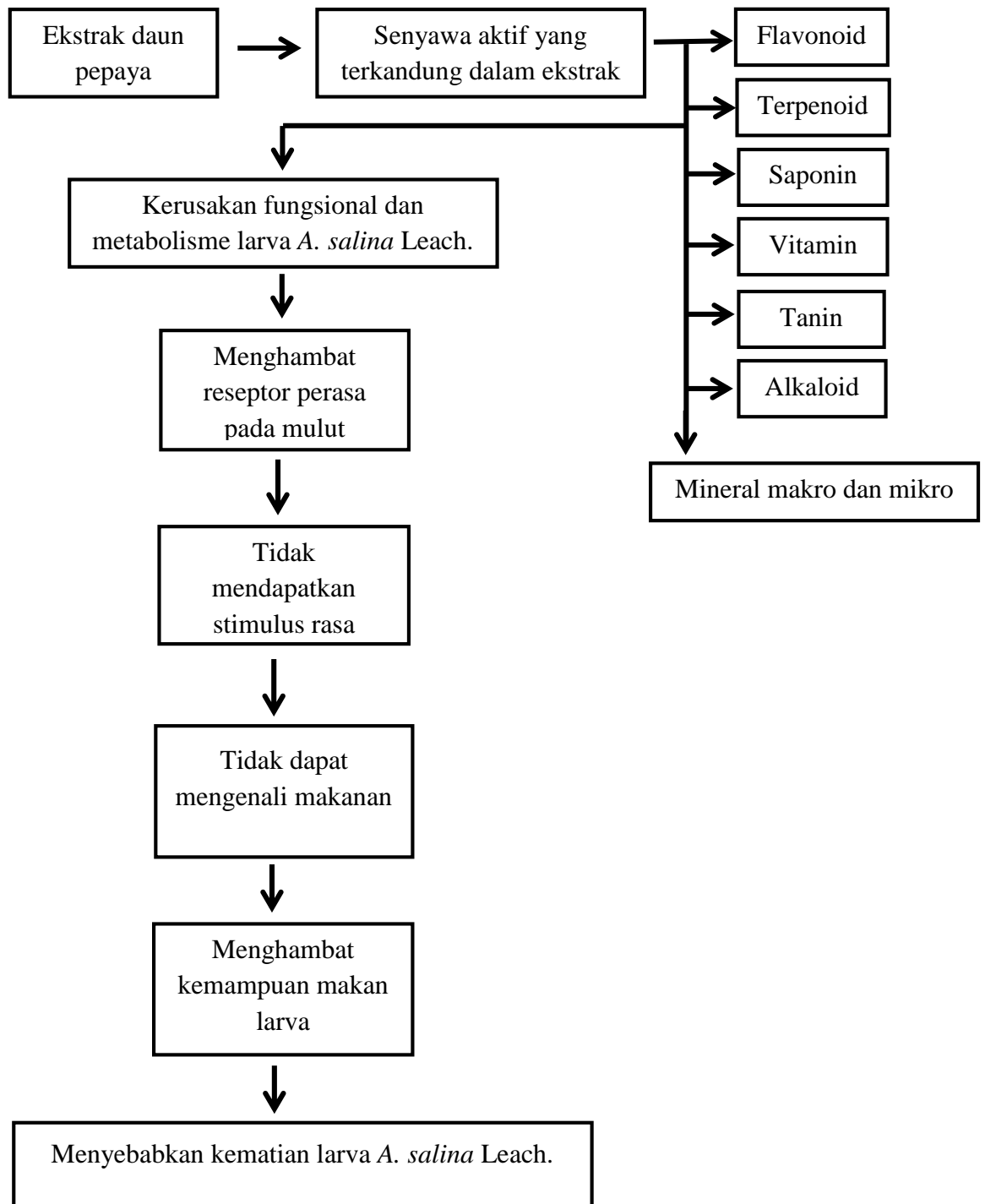
konsentrasi 0,18 % dan ekstrak metanol pada konsentrasi 0,88 % pada rentang 0-100 berpotensi toksik terhadap larva *A. salina* Leach.

Hal ini menunjukkan bahwa metode BSLT dapat diandalkan dan metode ini yang mudah digunakan untuk penilaian bioaktivitas tanaman obat. Selain khasiat, keamanan obat herbal sangat penting karena sedikit yang didokumentasikan tentang banyak tanaman yang ada digunakan dalam pengobatan tradisional. Temuan dari berbagai penelitian telah merekomendasikan pengujian udang air asin sebagai salah satu metode untuk investigasi awal toksisitas. Tes ini juga digunakan dalam penyaringan senyawa bioaktif dari tanaman obat populer digunakan untuk beberapa tujuan dan untuk memantau isolasi senyawa aktif biologis tersebut (Quignard *et al.* 2003; Meyer *et al.* 1982; Neuwinger *et al.* 1996).

Korelasi ini dinilai sangat baik sehingga uji terhadap udang air asin dianjurkan sebagai *pre-screen* efektif terhadap sitotoksitas dan tes antitumor. Baru-baru ini, telah ditunjukkan bahwa ada korelasi yang sangat baik antara konsentrasi mematikan median ( $LC_{50}$ ) ekstrak tanaman ke larva udang air asin dan dosis mematikan median ( $LD_{50}$ ) dari ekstrak yang sama ini, diberikan secara oral pada tikus (Parra *et al.* 2001).

Ekstraksi dilakukan dengan metanol dimaksudkan agar semua senyawa tersari dengan baik, karena metanol merupakan pelarut yang bersifat universal dan dapat mengekstraksi semua senyawa metabolit (Djamil & Anelia 2009). Air dipertimbangkan sebagai cairan penyari karena murah, mudah diperoleh, stabil, tidak beracun, tidak mudah menguap, dan tidak mudah terbakar (Sa'adah & Nurhasnawati 2015).

### E. Kerangka Berpikir



Gambar 4. Kerangka berpikir penelitian tentang uji toksisitas ekstrak daun pepaya terhadap larva *A. salina* Leach. dengan *Brine Shrimp Lethality Test*

## **BAB V**

### **SIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Simpulan**

Berdasarkan penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun pepaya mempunyai nilai  $LC_{50}$  sebesar 88507.768  $\mu\text{g/ml}$ . Ekstrak daun pepaya memiliki potensi toksisitas rendah terhadap *A. salina* Leach. dengan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

#### **B. Saran**

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disarankan perlunya uji toksisitas akut menggunakan ekstrak daun pepaya terhadap hewan tingkat tinggi seperti mamalia (tikus, mencit, dan kelinci) sebagai hewan uji. Pengembangan selanjutnya, ekstrak daun pepaya untuk peningkatan sistem pertahanan tubuh (sistem imun).

## DAFTAR PUSTAKA

- A'yun Q & Laily AN. 2015. Analisis Fitokimia Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) di Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi, Kendalpayak, Malang. *Seminar Nasional Konservasi dan Pemanfaatan Sumber Daya Alam*. Solo: Pendidikan Biologi, Pendidikan Geografi, Pendidikan Sains, PKLH-FKIP UNS.
- Adeniran AA & Sonibare MA. 2017. In Vitro Antioxidant Activity, Brine Shrimp Lethality Assessment of Bioactive Constituents of Three Wild Dioscorea Species. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11(2): 685-695.
- Adeolu A, Adedapo & Orherhe VE. 2013. Antinociceptive and Antiinflammatory Studies of the Aqueous Leaf Extract of *Carica papaya* in Laboratory Animals. *Asian J. Exp. Biol. SCI*, 4(1): 89-96.
- Adetuyi FO, Akinadewo LT, Omosuli SV & Ajala L. 2008. Antinutrient and Antioxidant Quality of Waxed and Unwaxed Pawpaw *Carica papaya* Fruit Stored at Different Temperature. *African Journal of Biotechnology*, 7(16): 2920-2924.
- Afrianti R., Yenti R & Meustika D. 2014. Uji Aktifitas Analgetik Ekstrak Etanol Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) pada Mencit Putih Jantan yang di Induksi Asam Asetat 1%. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 1(1): 54-60.
- Agust K, Supriadin A & Kusmiyati M. 2014. Uji Toksisitas Ekstrak dari Kulit Batang *Aglaiia glabrata* dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Jurnal Istek*, 8(2): 98-107.
- Ahmad N, Fazal H, Ayaz M, Abbasi BH, Mohammad I & Fazal L. 2011. Dengue Fever Treatment with *Carica papaya* Leaves Extracts. *Asian Pacific J Tropical Biomedicine*, 1(4): 330-333.
- Alfarabi M & Fauziayuningtias A. 2017. Analisis Nilai Toksisitas Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya*) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Journal of Science and Technology*, 6(2): 153-158.
- Anderson JE, Chang CJ & McLaughlin JL. 1988. Bioactive Components of *Allamanda schottii*. *Journal of Natural Products*, 51(2): 307-308.
- Anderson JE, Goetz CM, McLaughlin JL & Suffness M. 1991. A Blind Comparison of Simple Bench-top Bioassays and Human Tumour Cell Cytotoxicities as Antitumor Prescreens. *Phytochem Analysis*, (2): 107-111.

- Anibijuwon II & Udeze AO. 2009. Antimicrobial Activity of *Carica papaya* (Pawpaw Leaf) on Some Pathogenic Organisms of Clinical Origin from South-Western Nigeria. *Ethnobotanical Leaflets*, 13: 850-864.
- Aprilia HA, Pringgenies D & Yudiati E. 2012. Uji Toksisitas Ekstrak Kloroform Cangkang dan Duri Landak Laut (*Diadema setosum*) terhadap Mortalitas Nauplius *Artemia* sp. *Journal of Marine Research*, 1(1): 75-83.
- Apu AS, Bhuyan SH, Khatun F, Liza MS, Matin M & Hossain MdF. 2013. Assesment of Cytotoxic Activity of Two Medicinal Plants Using Brine Shrimp (*Artemia salina*) as An Experimental Tool. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 4(3): 1125-1130.
- Arcanjo DDR, Albuquerque ACM, Melo-Neto B, Santana LCLR, Medeiros MGF & Cito AMGL. 2012. Bioactivity Evaluation Against *Artemia salina* Leach. of Medicinal Plants Used in Brazilian Northeastern Folk Medicine. *Braz. J. Biol.*, 72(3): 505-509.
- Bamisaye FA, Anjani EO & Minari JB. 2013. Prospects of Ethnobotanical Uses of Pawpaw (*Carica papaya*). *Journal of Medicinal Plants Studies*, 1(4): 171-177.
- Bari L, Hassan P, Absar N, Haque ME, Khuda MIIE, Pervin MM, Khatun S & Hossain MI. 2006. Nutritional Analysis of Two Local Varieties of Papaya Maturation Stages. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 9(1): 137-140.
- Bougis P. 1979. *Marine Plankton Ecology*. New York: American Elseiver Publishing Company.
- Cahyono AB. 2004. *Keselamatan Kerja Bahan Kimia di Industri*. Yogyakarta: UGM Press.
- Canini A, Daniela A, D'Arcangelo G & Tagliatesta P. 2007. Gas Chromatography-Mass Spectrometry Analysis of Phenolic Compounds from *Carica papaya* L. Leaf. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20(7): 584-590.
- Carballo JL, Hernandez-Inda ZL, Perez P & Garcia-Gravalos MD. 2002. A Comparison Between Two Brine Shrimp Assays to Detect in Vitro Cytotoxicity in Marine Natural Products. *BMC Biotechnology*, 2: 1-5.



- Chumaidi S, Yunus I, Utari MSR, Prijadi A, Imanto P, Hartati, Bastiawan, Jangkaru Z & Arifudin R. 1990. *Petunjuk Teknis Budidaya Pakan Alami Ikan dan Udang*. Jakarta: Departemen Pertanian.
- Cos P, Vlietinck AJ, Berghe DV & Maes L. 2006. Anti-infective Potential of Natural Product: How To Develop a Stronger in Vitro 'proof-of-concept'. *Journal of Ethnopharmacology*, 106: 290-302.
- Cutler SJ & Cutler H. 2000. *Biologically Active Natural Products: Pharmaceuticals*. USA: CRC Press LLC.
- Departemen Kesehatan dan Kesejahteraan Sosial RI. 2000. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (I)*. Jakarta: Depkes RI.
- Djamil R. & Anelia T. 2009. Penapisan Fitokimia, Uji BSLT, dan Uji Antioksidan Ekstrak Metanol beberapa Spesies Papilionaceae. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 7(2): 65-71.
- Doyle A & Griffiths JB. 2000. *Cell and Tissue Culture for Medical Research*. England: John Willey & Sons LTD.
- Dumitrascu M. 2011. *Artemia salina*. *Balmeo-Research Journal*, 2(4): 119-122.
- Elya B, Amin J & Emiyanah. Toksisitas Akut Daun *Justicia gendarussa* Burm. *Makara*, 14(2): 129-134.
- Frengki, Roslizawaty & Pratiwi D. 2014. Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Sarang Semut Lokal Aceh (*Mymercodia* sp.) dengan Metode BSLT terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach. *Jurnal Medika Veterinaria*, 8(1): 60-62.
- Gadir SA. 2012. Assessment of Bioactivity Of Some Sudanese Medicinal Plants Using Brine Shrimp (*Artemia salina*) Lethality Assay. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 4(12): 5145–5148.
- Hamburger M & Hostettmann K. 1991. Bioactivity in Plants: The Link Between Phytochemistry and Medicine. *Phytochemistry*, 30: 3864-3874.
- Handayani A. 2015. Pemanfaatan Tumbuhan Berkhasiat Obat oleh Masyarakat sekitar Cagar Alam Gunung Simpang, Jawa Barat. *Pros. Sem. Nas. Masy. Biodiv. Indon.*, 1(6): 1425-1432.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Edisi ke-2. Bandung: Institut Teknologi Bandung.

- Haryani A, Grandiosa R, Buwono IB & Santika A. 2012. Uji Efektifitas Daun Pepaya (*Carica papaya*) untuk Pengobatan Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Mas Koki (*Carassius auratus*). *Jurnal Perikanan dan Kelautan*, 3(3): 213-220.
- Hodgson E & Levy PE. 2000. *A Textbook of Modern Toxicology, 2nd Ed.* Singapore: McGraw-Hill co.
- Hopkins WG & Hüner NPA. 2004. *Introduction to Plant Physiology Third Edition.* Ontario: John Wiley and Sons Inc.
- Kanwar AS. 2007. Brine Shrimp (*Artemia salina*) -a Marine Animal for Simple and Rapid Biological Assays. *Journal of Chinese Clinical Medicine*, 2(4): 236-240.
- Karsha PV & Sultana N. 2009. Antimicrobial Activity of Leaf Extracts of Guava (*Psidium guajava*) and Papaya (*Carica papaya*). *Journal of Advances in PlantSciences*, 22(2): 429-43.
- Katno. 2008. *Tingkat Manfaat, Keamanan dan Efektifitas Tanaman Obat dan Obat Tradisional.* Karanganyar: Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan RI.
- Konan NA & Bacchi EM. 2007. Antiulcerogenic Effect and Acute Toxicity of A Hydroethanolic Extract from The Cashew (*Anacardium occidentale* L.) Leaves. *Journal of Ethnopharmacology*, 112: 237-242.
- Krishna KL, Paridhavi M & Patel JA. 2008. Review on Nutritional, Medicinal and Pharmacological Properties of Papaya (*Carica papaya* Linn). *Natural Product Radianance*, 7(4): 364-373.
- Krishnaraju AV, Rao TVN, Sundararaju D, Vanisree M, Tsay HS & Subbaraju GV. 2005. Assessment of Bioactivity of Indian Medicinal Plants Using Brine Shrimp (*Artemia salina*) Lethality Assay. *International Journal of Applied Science and Engineering*, 3(2): 125-134.
- Kristanti AN, Aminah NS, Tanjung M & Kurniadi B. 2008. *Buku Ajar Fitokimia.* Surabaya: Airlangga University Press.
- Lisdawati V, Wiryowidagdo S & Kardono LBS. 2006. *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)* dari Berbagai Fraksi Ekstrak Daging Buah dan Kulit Biji Mahkota Dewa (*Phaleri macrocarpa*). *Buletin Penelitian Kesehatan*, 34(3): 111-118.

- Madrigal LS, Ortiz AN, Cooke<sup>a</sup> RD & Fernandez RH. 1980. The Dependence of Crude Papain Yields on Different Collection ('Tapping') Procedures for Papaya Latex. *Journal of The Science of Food and Agriculture*, 31: 279-285.
- Mahatriny NN, Payani NPS, Oka IBM & Astuti KW. 2014. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) yang Diperoleh dari Daerah Ubud, Kabupaten Gianyar, Bali. *Jurnal Farmasi Udayana*, 3(1): 8-13.
- Marlinda M, Sangi MS & Wuntu AD. 2012. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.). *Jurnal Mipa Unsrat*, 1(1): 24-28.
- Mathur A, Verma SK, Singh SK, Prasad GBKS & Dua VK. 2011. Investigation of The Antimicrobial, Antioxidant and Anti-inflammatory Activity of Compound Isolated from *Murraya koenigii*. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, 2(1): 470-477.
- Mayorga P, Perez KR, Cruz SM & Caceres A. 2010. Comparison of Bioassays Using The Anostracan Crustaceans *Artemia salina* and *Thamnocephalus platyurus* for Plant Extract Toxicity Screening. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 20(6): 879-903.
- McLaughlin JL. 1991. Crown Gall Tumours on Potato Disc and Brine Shrimp Lethality: Two Simple Bioassay for Higher Plant Screening and Fractination. *Methods in Plants Biochemistry*, 6(1): 1-30.
- McLaughlin JL, Chang, CJ & Smith DL. 1991. Benchtop, Bioassay for The Discovery of Bioactive Natural Products: An Update. In *Studies in Natural Product Chemistry*. Elsevier, 9: 383-397.
- McLaughlin JL, Rogers LL & Anderson JE. 1998. The Use of Biological Assays to Evaluate Botanicals. *Drug. Information Journal*, 32: 513-524.
- Meles DK. 2010. *Peran Uji Praklinik dalam Bidang Farmakologi*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Mello VJ, Gomes MTR, Lemos FO, Delfino JL, Andrade SP, Lopes MTP & Salas CE. 2008. The Gastric Ulcer Protective and Healing Role of Cysteine Proteinases from *Carica candamarcensis*. *Phytomedicine*, 15(4): 237-244.

- Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE & McLaughlin JL. 1982. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Journal of Medical Plant Research*, 45: 31-34.
- Milind, P & Gurditta. 2011. Basketful Benefits of Papaya. *International Research Journal Pharmacy*, 2(7): 6-12.
- Muaja AD, Koleangan HSJ & Runtuwene M.R.J. 2013. Uji Toksisitas dengan Metode BSLT dan Analisis Kandungan Fitokimia Ekstrak Daun Soyogik (*Saurauia bracteosa* DC) dengan Metode Soxhletasi. *Jurnal Mipa Unsrat Online*, 2(2): 116.
- Neuwinger HD. 1996. *African Ethnobotany: Poison and Drugs: Chemistry, Pharmacology and Toxicology*. Weinheim: Chapman and Hall.
- Nirosha N & Mangalanayaki R 2013. Antibacterial Activity of Leaves and Stem Extract of *Carica papaya* L. *International Journal of Advances in Pharmacy, Biology and Chemistry*, 2(3): 473-476.
- Nitisapto M & Siradz SA. 2005. Evaluasi Kesesuaian Lahan untuk Pengembangan Jahe pada Beberapa Daerah di Jawa Tengah dan Jawa Timur. *Jurnal Ilmu Tanah dan Lingkungan*, 5(2): 15-19.
- Nguyen HH & Widodo S. 1999. *Momordica L In: Medicinal and Poisoning Plant Research of South-East Asia 12*. Netherlands: Pudoc Scientific Publisher.
- Njoku PC & Akumefula MI. 2007. Phytochemical and Nutrient Evaluation of Spondias Mombin Leaves. *Pakistan J Nutrition*, 6 (6): 613-615.
- Nugrahaningsih WH, Lisdiana & Purwantoyo E. 2017. Mineral And Electrolyte Analysis of *Manihot utilissima* and *Carica papaya* Leaves a Prospect of Antihypotension Agent. *Proceedings of Herbal and Traditional Medicine*.
- Organisation for Economic Co-operation and Development. 2005. *Consensus Document on The Biology of Papaya (Carica papaya)*. Paris: Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology.
- Ogugu SE, Kehinde AJ, James BI & Paul DK. 2012. Assesment of Cytotoxic Effects of Methanol Extract of *Calliandra portoricensis* Using Brine Shrimp (*Artemia salina*) Lethality Bioassay. *Global Journal of Bio-Science & Biotechnology*, 1(2): 257-260.

- Olowa LF & Nuneza OM. 2013. Brine Shrimp Lethality Assay of The Ethanolic Extracts of Three Selected Species of Medicinal Plants from Iligan City, Philippines. *International Research Journal of Biological Science*, 2(11): 74-77.
- Owoyele BV, Adebukola OM, Funmilayo AA & Soladoye AO. 2008. Anti-inflammatory Activities of Ethanolic Extract of *Carica papaya* Leaves. *Inflammopharmacology*, 16: 168-173.
- Paget GE. 1970. *Method In Toxicology*. England: Blackwell Scientific Publication Oxford and Edinburgh
- Parasuraman S. 2011. Toxicological Sreening. *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics*, 2(2): 74-79.
- Parra AL, Yhebra RS, Sardinas IG & Buela LI. 2001. Comparative Study of The Assay of *Artemia salina* L. and The Estimate of The Medium Lethal Dose (LD<sub>50</sub> Value) in Mice, to Determine Oral Acute Toxicity of Plant Extracts. *Phytomedicine*, 8(5): 395-400.
- Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 7. 2014. Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik secara *In Vivo*. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 13. 2014. Pedoman Uji Klinik Obat Herbal. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- Persone G, Van de Vel A, Steergem MV & De Nayer B. 1989. Predictive Value for The Laboratory Test with Aquatic Invertebrates Influence of Experimental Condition. *Aquat. Toxicol*, 14: 149-167.
- Prabowo AY, Estiasih T & Purwatiningrum I. 2014. Umbi Gembili (*Dioscorea esculenta* L.) sebagai Bahan Pangan Mengandung Senyawa Bioaktif: Kajian Pustaka. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* 2(3): 129-135.
- Pramudjo & Sofiati. 2004. *Prospek Teknik Produksi Cyste Brine Shrimp (Artemia salina Leach.) di Indonesia*. Manado: Fakultas Perikanan Unsrat.
- Priyanto. 2009. *Toksikologi Mekanisme, Terapi Antidotum, dan Penilaian Resiko*. Jakarta: Lembaga Studi dan Konsultasi Farmakologi Indonesia.

- Quignard EL, Pohlit AM, Nunomura SM, Pinto ACS, Santos EVM, Morais SKR, Alecrim AM, Pedroso ACS, Cyrino BRB, Melo CS, Finney EK, Gomes EO, Souza KS, Oliveira LCP, Don LC, Silva LFR, Queiroz MMA, Henrique MC, Santos M, Pinto PS & Silva SG. 2003. Screening of Plants Found in Amazonas States for Lethality Towards Brine Shrimp. *Acta Amazonica*, 33(1): 93-104.
- Rita WS, Suirta IW & Sabikin A. 2008. Isolasi dan Identifikasi Senyawa yang Berpotensi sebagai Antitumor pada Daging Buah Pare (*Momordica charantia* L.). *Jurnal Kimia*, 2(1): 1-6.
- Robinson S, Chapman K, Hudson S, Sparrow S, Spencer-Briggs D, Danks A, Hill R, Everett D, Mulier B, Old S & Bruce C. 2009. *Guidance on Dose Level Selection for Regulatory General Toxicology Studies for Pharmaceuticals*. National Centre for The Replacement, Refinement and Reduction of Animals in Research.
- 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*, 1(2): 149-153.
- Sadek KM. 2012. Antioxidant and Immunostimulant Effect of *Carica papaya* Linn. Aqueous Extract in Acrylamide Intoxicated Rats. *Acta Inform Med*, 20(3): 180-185.
- Sam TW. 1993. *Toxicity Testing Using The Brine Shrimp: Artemia salina*. In: Colegate SM, Molyneux RJ, editors. *Bioactive Natural Products Detection, Isolation, and Structural Determination*. Boca Raton, FL: CRC Press; pp. 442-56.
- Sasmito WA, Wijayanti AD, Fitriana I & Sari PW. 2015. Pengujian Toksisitas Akut Obat Herbal pada Mencit Berdasarkan *Organization for Economic Co-operation and Development* (OECD). *Jurnal Sain Veteriner*, 33(2): 234-239.
- Setyowati WAE, Ariani SRD, Ahsadi, Mulyani B & Rahmawati C.P. 2014. Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio zibethinus* Murr.) Varietas Petruk. *Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia VI*: 271-279.
- Silva TMS, Nascimento RJB, Batista MB, Agra MF & Camara CA. 2007. Brine Shrimp Bioassay of Some Species of Solanum from Northeastern Brazil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, (17): 35-38.

- Soemirat, J. 2005. *Toksikologi Lingkungan*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Solis PN, Wright CW, Anderson MM, Gupta MP & Philipson JD. 1993. A Microwell Cytotoxicity Assay Using *Artemia salina* (Brine Shrimp). *Planta Medica*, 59: 250-252.
- Sukardiman, Abdul R & Fatma PN. 2004. Uji Praskrining Aktivitas Antikanker Ekstrak Eter dan Ekstrak Metanol *Marchantia planiloba* Steph. dengan Metode Uji Kematian Larva Udang dan Profil Densitometri Ekstrak Aktif. *Majalah Farmasi Airlangga*, 4(3): 97-100.
- Sunarni T, Iskamto B & Suhartinah. 2003. Uji Toksisitas dan Antiinfeksi Ekstrak Etanol Buah *Brucea sumatrana* Roxb. terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach. dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *Biosmart*, 5(1): 65-67.
- Superani R, Hubeis M & Purwanto B. 2008. Prospek Pengembangan Obat Tradisional Perusahaan Farmasi Skala Kecil Menengah (Kasus PT. Molex Ayus Pharmaceutical). *Jurnal MPI*, 3(2): 84-98.
- Sutaman. 1993. *Petunjuk Praktis Pembenihan Udang Windu Skala Rumah Tangga*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Taha A & Alsayed H. 2000. Brine Shrimp Bioassay of Ethanol Extracts of *Sesuvium verrucosum*, *Salsola baryosma* and *Zygophyllum quatarense* Medicinal Plants from Bahrain. *Phytotherapy Research*, 14: 48-50.
- Tampungan WA, Simbala HIE, de Queljoe E & Wullur S. 2011. Uji Toksisitas Ekstrak Batang Pinang Yaki (*Areca vestiaria*) pada *Artemia salina* Leach. *Jurnal Bioslogos*, 1(1): 8-12.
- USDA Agricultural Research Service. 2009. *USDA National Nutrient Database for Standart Reference*. Nutrient Data Laboratory.
- Vikram A, Jayaprakasha GK, Jesudhasan PR, Pillai SD & Patil BS. 2010. Suppression of Bacterial Cell-cell Signalling, Biofilm Formation and Type III Secretion System by Citrus Flavonoids. *J Microbiol.*, 109: 515-27.
- Vyas SJ, Khatri TT, Ram VR, Dave PN & Joshi HS. 2014. Biochemical Constituents in Leaf of *Carica papaya* Ethnomedical Plant of Kachchh Region. *International Letters of Natural Sciences*, 12: 16-20.

- Wahyono, Hakim L, Nurlaila, Sulistio M & Ilyas R. 2007. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanolik Terstandar dari Kulit Akar Senggugu (*Clerodendru serratum* L. Moon). *Majalah Farmasi Indonesia*, 18(1): 1-7.
- Yunita EA, Suprpti NH & Hidayat JW. 2009. Pengaruh Ekstrak Daun Teklan (*Eupatorium riaprium*) terhadap Mortalitas dan Perkembangan Larva *Aedes aegypti*. *BIOMA*, 11(1): 11-17.
- Zuhud EAM. 2009. *Potensi Hutan Tropika Indonesia sebagai Penyangga Bahan Obat Alam untuk Kesehatan Bangsa*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.