



Jurnal Pharmacia Mandala Waluya Vol.5 No.3

ISSN : 2829-6850

<https://jurnal-pharmaconmw.com/jpmw/index.php/jpmw>

DOI : <https://doi.org/10.54883/jpmw.v5i3.709>



Perbandingan Uji Toksisitas Ekstrak Daun Tapak Dara (*Catharanthus roseus* L.) Sebelum dan Sesudah Proses *Bleaching*

Dzilla Himmatun Nisa, Akhmad Al – Bari, Ria Indah Kusuma Pitaloka

Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Nahdlatul Ulama Sunan Giri Bojonegoro, Indonesia

ABSTRAK

Penelitian ini dilatarbelakangi oleh pentingnya mengetahui adanya pengaruh pada proses *bleaching* terhadap kandungan senyawa aktif dan tingkat toksisitas ekstrak tanaman obat. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis perbandingan tingkat toksisitas ekstrak etanol daun tapak dara (*Catharanthus roseus* L.) sebelum dan sesudah perlakuan *bleaching* serta mengkaji pengaruh variasi lama waktu *bleaching* terhadap nilai LC_{50} menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%, kemudian dilanjutkan dengan proses *bleaching* menggunakan arang aktif teraktivasi dengan variasi waktu 30 menit, 1 jam, dan 2 jam. Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak sebelum *bleaching* mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin, sedangkan setelah *bleaching* terjadi penurunan kandungan senyawa, terutama flavonoid yang tidak lagi terdeteksi. Hasil uji toksisitas menunjukkan bahwa nilai LC_{50} ekstrak tanpa perlakuan *bleaching* sebesar 387,154 ppm. Pada perlakuan *bleaching* selama 30 menit, nilai LC_{50} meningkat menjadi 428,421 ppm, sedangkan pada *bleaching* selama 1 jam dan 2 jam masing-masing sebesar 508,580 ppm dan 581,779 ppm. Peningkatan nilai LC_{50} menunjukkan adanya penurunan toksisitas seiring dengan bertambahnya lama waktu *bleaching*. Hal tersebut mengindikasikan bahwa lama proses *bleaching* dapat berpengaruh terhadap kandungan senyawa aktif serta menurunkan toksisitas pada ekstrak daun tapak dara. Dari hasil yang didapatkan nilai LC_{50} sebelum maupun sesudah *bleaching* berada di bawah 1000 ppm, sehingga ekstrak tersebut masih tergolong dalam kategori toksik berdasarkan metode BSLT.

Kata kunci: Tapak dara; *Bleaching*; BSLT; LC_{50} ; Toksisitas

Comparison of Toxicity Test of Extracts of Madagascar Periwinkle (*Catharanthus roseus* L.) Leaves Before and After the *Bleaching* Process

ABSTRACT

This study was motivated by the importance of understanding the effects of the bleaching process on the content of active compounds and the toxicity levels of medicinal plant extracts. This study aims to analyze a comparison of the toxicity levels of ethanol extracts of Madagascar periwinkle (*Catharanthus roseus* L.) leaves before and after bleaching treatment and to examine the effect of varying bleaching durations on the LC_{50} value using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method. Extraction was performed using the maceration method with 96% ethanol as the solvent, followed by a bleaching process using activated charcoal with varying durations of 30 minutes, 1 hour, and 2 hours. Phytochemical screening results indicated that the extract before bleaching contained alkaloids, flavonoids, saponins, and tannins, whereas after bleaching, there was a decrease in compound content, particularly flavonoids, which were no longer detected. Toxicity test results showed that the LC_{50} value of the untreated extract was 387.154 ppm. For the 30-minute bleaching treatment, the LC_{50} value increased to 428.421 ppm, while for bleaching durations of 1 hour and 2 hours, the values were 508.580 ppm and 581.779 ppm, respectively. The increase in LC_{50} values indicates a decrease in toxicity as the bleaching duration increases. This indicates that the duration of the bleaching process can affect the content of active compounds and reduce the toxicity of the tapak dara leaf extract. Based on the results obtained, the LC_{50} values both before and after bleaching were below 1000 ppm, so the extract is still classified as toxic according to the BSLT method.

Keywords: *Catharanthus roseus*; Bleaching; BSLT; LC_{50} ; Toxicity

Penulis Korespondensi :

Dzilla Himmatun Nisa

Universitas Nahdlatul Ulama Sunan Giri Bojonegoro

E-mail : dzillahmmtn08@gmail.com

No. Hp : 085895899481

Info Artikel :

Submitted : 10 Mei 2026

Revised : 16 Mei 2026

Accepted : 28 Juni 2026

Published : 29 Juni 2026

PENDAHULUAN

Indonesia, termasuk bagian Negara yang terdapat pada kawasan beriklim tropis dengan berbagai kekayaan ragam hayati. Di Indonesia memiliki 30.000 spesies tanaman dan 1.845 spesies sudah teridentifikasi sebagai tanaman obat. Tanaman obat ini memiliki kandungan yang dapat ditemukan pada bagian tertentu maupun seluruh bagian tanaman, sehingga dapat digunakan dalam pengobatan berbagai penyakit. Bagian tumbuhan seperti akar, biji, daun, rimpang, buah, batang, kulit kayu dan bunga dapat digunakan sebagai obat (Maturahmah *et al.*, 2023). Berdasarkan data tahun 2002 dari *World Health Organization* (WHO) menyatakan sejumlah 80% masyarakat di dunia tetap menggunakan obat yang berasal dari tanaman sebagai pengobatan tradisional (Novariska, 2024).

Salah satu tanaman yang banyak dibudidayakan dan dipakai sebagai obat herbal oleh masyarakat umum yaitu tapak dara. Tumbuhan ini banyak dimanfaatkan untuk tumbuhan hias, namun ada beberapa orang memanfaatkan tanaman ini sebagai obat tradisional (Hardiana *et al.*, 2024). Berdasarkan hasil analisis kandungan fitokimia dalam berbagai penelitian, ekstrak etanol daun tapak dara mengandung berbagai jenis metabolit sekunder, seperti alkaloid, tanin, terpenoid, fenol, sterol, saponin, dan kuinin. Di antara kandungan yang dimiliki, golongan alkaloid seperti *vincristine* dan *vinblastine* merupakan senyawa utama yang memiliki aktivitas sitotoksik dan berpotensi sebagai anti kanker (Al-Bari *et al.*, 2025).

Penelitian awal pada suatu tanaman dengan tujuan mengetahui kandungan senyawa antikanker dapat menggunakan uji BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). Metode tersebut menggunakan larva *Artemia salina* Leach sebagai organisme uji untuk menilai

tingkat sitotoksitas suatu tanaman. Dalam metode BSLT, tingkat toksisitas ini dapat ditentukan dari kematian larva *Artemia salina* Leach yang disebabkan dari ekstrak atau senyawa pada tanaman (Cahya *et al.*, 2022). Nilai LC_{50} yang diperoleh dari hasil uji dapat digunakan sebagai indikator awal dalam skrining aktivitas sitotoksik maupun potensi senyawa sebagai antikanker. Ekstrak dikategorikan toksik apabila nilai $LC_{50} \leq 1000$ $\mu\text{g/ml}$, sedangkan pada senyawa murni, toksisitas ditunjukkan jika nilai $LC_{50} \leq 30$ $\mu\text{g/ml}$ (Jelita *et al.*, 2021).

Pada penelitian sebelumnya, ekstrak daun tapak dara yang di uji menggunakan metode BSLT dengan menggunakan larva *Artemia salina* Leach menunjukkan bahwa nilai LC_{50} ekstrak etanol sebesar 154,886 ppm dan pada ekstrak n-heksan sebesar 66,949 ppm. Pada penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekstrak daun tapak dara dengan pelarut n-heksan lebih toksik daripada ekstrak yang menggunakan pelarut etanol (Dewi *et al.*, 2023). Hingga saat ini belum ditemukan penelitian mengenai pengaruh proses *bleaching* terhadap tingkat toksisitas ekstrak etanol daun tapak dara menggunakan metode BSLT. Keterbaruan dari penelitian ini terletak pada perbandingan tingkat toksisitas ekstrak etanol daun tapak dara sebelum dan sesudah proses *bleaching* dengan variasi lama waktu. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai pengaruh proses *bleaching* terhadap tingkat toksisitas dan keamanan pada ekstrak tapak dara.

Berdasarkan uraian tersebut, belum diketahui secara jelas mengenai pengaruh proses *bleaching* terhadap tingkat toksisitas ekstrak daun tapak dara dan variasi lama waktu *bleaching* terhadap nilai LC_{50} pada metode BSLT. Tujuan dari adanya penelitian ini yaitu untuk membandingkan tingkat toksisitas

pada ekstrak etanol daun tapak dara sebelum dan sesudah proses *bleaching* dengan metode BSLT terhadap larva *Artemia salina* Leach, serta mengetahui pengaruh lama waktu perendaman *bleaching* terhadap nilai LC₅₀. Dengan demikian diharapkan penelitian ini bisa memberikan informasi mengenai tingkat toksisitas dan keamanan ekstrak etanol daun tapak dara setelah proses *bleaching*.

METODE

Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan yaitu pendekatan kuantitatif dengan model rancangan ekperimental laboratorium. Model rancangan ekperimental ini merupakan metode yang digunakan untuk mengidentifikasi pengaruh sesuatu yang diberi perlakuan dengan kondisi terkendali (Agustianti *et al.*, 2024). Pada penelitian ini dilakukan untuk membuktikan perbandingan uji toksisitas ekstrak etanol daun tapak dara sebelum dan sesudah proses *bleaching* menggunakan uji BSLT terhadap larva *Artemia salina* Leach.

Desain yang diterapkan pada penelitian ini yaitu rancangan acak lengkap (RAL), yang merupakan salah satu metode dalam desain eksperimen untuk mengatur perlakuan pada sebuah penelitian. Keunggulan dari metode rancangan acak lengkap (RAL) yaitu penerapan pada penelitian serta analisis data yang lebih mudah untuk dilakukan. Penggunaan metode ini pada penelitian diharapkan mampu menghasilkan data yang signifikan (Rahmawati & Erina, 2020).

Pada rancangan acak lengkap (RAL), setiap perlakuan dilakukan dengan minimal dua kali pengulangan (Hasdar *et al.*, 2021). Data penelitian diperoleh dari persentase kematian larva *Artemia salina* Leach setelah pemberian ekstrak daun tapak dara sebelum dan sesudah proses *bleaching* dengan variasi

waktu perlakuan. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui perbedaan tingkat toksisitas ekstrak dan mengkaji pengaruh lama waktu *bleaching* terhadap perubahan nilai LC₅₀ yang dihasilkan. Seluruh perlakuan dilakukan secara triplo atau tiga kali pengulangan untuk meningkatkan keakuratan dan keandalan data penelitian.

Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi penelitian ini yaitu seluruh daun tapak dara tumbuh di Desa Nguruan, Kecamatan Soko, Kabupaten Tuban. Sampel yang digunakan yaitu sebagian daun tapak dara diambil dari Desa Nguruan, Kecamatan Soko, Kabupaten Tuban yang memiliki kriteria daun tapak dara yang tua maupun muda berwarna hijau yang masih segar.

Variabel Penelitian

- Variabel bebas: Ekstrak etanol daun tapak dara sebelum dan sesudah proses *bleaching*
- Variabel terikat: Tingkat toksisitas ekstrak daun tapak dara terhadap larva *Artemia salina* Leach
- Variabel kontrol: Faktor yang dijaga agar tidak mempengaruhi hasil toksisitas pada ekstrak daun tapak dara, seperti jumlah larva *Artemia salina* Leach, volume media uji, lama waktu pengujian, suhu, media, pH air laut buatan dan jenis pelarut

Definisi Operasional Variabel

Definisi operasional dalam penelitian ini meliputi :

- Ekstrak daun tapak dara yang di ekstraksi dengan pelarut etanol sebelum dan sesudah proses *bleaching*
- Perbandingan lama proses *bleaching* pada ekstrak daun tapak dara dengan perbedaan waktu
- Konsentrasi ekstrak daun tapak dara sebelum dan sesudah proses *bleaching*

yang menyebabkan kematian larva *Artemia salina* Leach

Alat dan Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi daun tapak dara, etanol 96%, telur larva *Artemia salina* Leach, air suling, NaCl, serbuk magnesium (Mg), alkohol, aluminium foil, asam sulfat pekat, aquadest, asam klorida pekat, asam klorida 2N, pH universal, kertas saring, pereaksi mayer, bouchardat, gradendorf, asam asetat anhidrat, besi (III) klorida, etil asetat, dan KOH. Sedangkan alat yang digunakan yaitu toples maserasi, botol vial, cawan porselin, kaca arloji, pipet tetes, cawan petri, kaca pembesar, glender, penangas air, ayakan mesh 60, gelas beaker, oven, dan rotary evaporator.

Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica, Kota Batu, Jawa Timur, yang digunakan untuk mengidentifikasi, mengklasifikasikan, dan memastikan bahwa tanaman dalam penelitian merupakan tanaman tapak dara. Proses ini dilakukan melalui analisis morfologi dan karakteristik khas tanaman untuk memastikan keakuratan spesies serta mendukung validitas penelitian yang berkaitan dengan manfaatnya.

Pembuatan Simplisia Daun Tapak Dara

Sebanyak 2 kg daun tapak dara dicuci dengan air hingga bersih dan ditiriskan. Kemudian dikeringkan di tempat yang terhindar dari sinar matahari hingga layu atau sudah tidak ada air pada daun. Setelah itu daun dikeringkan dibawah terik sinar matahari sampai daun kering. Kemudian daun yang sudah kering dihaluskan dengan alat glender lalu di ayak menggunakan ayakan 60 mesh.

Pembuatan Ekstrak Daun Tapak Dara

Metode yang digunakan pada proses pembuatan ekstrak daun tapak dara ini dengan metode maserasi. Metode ini dilakukan

selama 3 hari. Serbuk simplisia yang sudah halus dimasukkan ke dalam wadah maserasi dan ditambahkan dengan pelarut etanol 96% hingga tenggelam. Kemudian toples ditutup dan permukaan wadah dilapisi aluminium foil selama tiga hari, pada setiap 24 jam pelarut diganti lalu dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring agar diperoleh filtrat dan residu. Selanjutnya filtrat yang sudah didapatkan kemudian dipekatkan dengan rotary evaporator untuk memperoleh ekstrak kental. Untuk mengetahui rendemen hasil ekstraksi dengan metode maserasi digunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Bobot Ekstrak}}{\text{Bobot Simplisia}} \times 100 \%$$

Proses Bleaching dengan Arang Aktif

Proses metode *bleaching* arang aktif dilakukan dengan cara pengadukkan pada magnetic stirrer menggunakan kecepatan 200 rpm. Ekstrak dibagi menjadi tiga bagian untuk dilakukan perbandingan lama proses *bleaching* pada masing masing ekstrak. Lama waktu yang digunakan pada proses *bleaching* yaitu 30 menit, 1 jam dan 2 jam. Pada proses *bleaching* ekstrak daun tapak dara yang digunakan sebanyak 0,2 gram dilarutkan dengan 20 ml etanol dan ditambahkan arang yang sudah di aktifkan sebanyak 2 gram.

Uji Skrining Fitokimia

Tahapan awal yang digunakan untuk mengetahui adanya kandungan senyawa dalam suatu ekstrak tanaman yaitu dengan melakukan uji skrining fitokimia. Uji skrining fitokimia pada ekstrak etanol daun tapak dara ini dilakukan untuk mengetahui senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan triterpenoid / steroid. Pengujian ini memaparkan indikasi awal adanya kandungan aktif pada ekstrak yang diduga memiliki aktivitas biologis, sehingga dapat menjadi dasar untuk penelitian lanjutan terkait uji

farmakologi maupun analisis senyawa secara lebih spesifik.

Uji Toksisitas dengan BSLT

Pembuatan Air Laut Buatan

Pada proses pembuatan air laut buatan menggunakan NaCl sebanyak 30 gram yang dilarutkan kedalam 1 liter air. pH air di pastikan sesuai dengan pH air laut yaitu berkisar 6 – 8. Sebelum digunakan air laut buatan disaring terlebih dahulu dengan kertas saring.

Penetasan Larva *Artemia salina* Leach

Penetasan larva *Artemia salina* Leach dikerjakan dengan menyiapkan tempat yang dibutuhkan, kemudian membagi menjadi 2 sekat, sehingga kotak mempunyai 2 lubang. Kemudian masukkan air laut sebanyak 500 ml. Salah satu sisi wadah ditutup menggunakan alumunium foil, selanjutnya wadah diletakkan di bawah sinar lampu UV dalam waktu 48 jam. Setelah larva *Artemia salina* Leach berumur 48 jam dan sudah menembus daerah terang maka larva *Artemia salina* Leach siap digunakan dalam proses pengujian.

Penyiapan Larutan Kontrol dan Larutan Uji

Larutan kontrol yaitu larutan yang digunakan untuk uji tanpa ditambahkan dengan ekstrak. Air laut buatan 10 ml dimasukkan kedalam botol vial dan ditambahkan 10 ekor larva udang *Artemia salina* Leach. Sedangkan, larutan induk yang digunakan yaitu dengan melarutkan ekstrak sebanyak 20 mg kedalam 100 ml aquadest. Kadar yang digunakan pada larutan uji yaitu dengan konsentrasi 2000 ppm. Sampel uji disiapkan dengan konsentrasi 2000, 1000, 500, 100, dan 50 ppm. Blanko dibuat dengan mencampur 9 ml air laut dan 10 ekor larva *Artemia salina* Leach tanpa larutan uji.

Uji Toksisitas pada Ekstrak Sebelum dan Sesudah Proses *Bleaching*

Tabung vial 10 ml disiapkan, masing masing dari larutan uji diambil dari larutan

induk sesuai konsentrasi yang dibutuhkan. Selanjutnya air laut buatan dimasukkan dalam botol vial dengan 10 ekor larva *Artemia salina* Leach yang sudah ditetaskan dan berumur 48 jam / 2 hari sampai volume pada botol vial menjadi 5 ml. Pada uji ini konsentrasi yang digunakan yaitu 2000, 1000, 500, 100, dan 50 ppm. Pada setiap variasi konsentrasi di uji sebanyak 3 kali ulangan serta dibandingkan dengan larutan kontrol. Setelah 24 jam pengujian, dapat dilakukan pengamatan banyaknya larva *Artemia salina* Leach yang mati. Proses tersebut juga sama dilakukan pada ekstrak yang sudah di beri perlakuan *bleaching*.

ANALISIS DATA

Analisis data pada penelitian ini dilakukan berdasarkan hasil eksperimen laboratorium. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif komparatif menggunakan software SPSS 27.0 untuk menghitung rata-rata persentase kematian larva *Artemia salina* Leach serta menentukan nilai LC₅₀ ekstrak etanol daun tapak dara sebelum dan sesudah perlakuan *bleaching* dengan variasi waktu tertentu. Setiap perlakuan dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan (triplo) guna meningkatkan validitas dan reliabilitas hasil penelitian.

Penentuan tingkat toksisitas ekstrak dilakukan melalui analisis probit dengan melihat hubungan antara konsentrasi ekstrak dan persentase kematian larva. Nilai LC₅₀ yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk mengevaluasi tingkat toksisitas ekstrak etanol daun tapak dara dan mengetahui pengaruh lama waktu *bleaching* terhadap perubahan toksisitas ekstrak.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Pembuatan Simplisia Daun Tapak Dara

Daun tapak dara yang digunakan diperoleh dari wilayah Nguruan, Kecamatan

Soko, Kabupaten Tuban. Daun tapak dara dipilih dengan kriteria daun hijau segar yang layak untuk digunakan pada penelitian. Daun yang digunakan sebanyak 2 kg sesuai dengan ketentuan. Daun yang didapatkan di bersihkan menggunakan air mengalir sampai bersih. Setelah bersih daun dirajang agar pengeringan merata. Daun yang sudah dirajang dijemur dibawah sinar matahari hingga kering. Kemudian simplisia di haluskan dengan blender dan di ayak dengan ayakan mesh 60.

Hasil Ekstraksi Daun Tapak Dara

Pada proses ekstraksi dilakukan dengan merendam 100 gram ekstrak kedalam pelarut dengan perbandingan 1:4 yang direndam selama 3 hari menggunakan metode maserasi. Metode ini dipilih karena memiliki kelebihan dalam mengekstraksi senyawa yang tidak stabil terhadap panas. Pelarut yang

digunakan pada proses maserasi yaitu etanol 96%. Etanol bersifat semipolar, sehingga mampu melarutkan senyawa dengan berbagai tingkat polaritas, baik senyawa polar maupun senyawa nonpolar (Septiany *et al.*, 2022).

Setelah mendapatkan ekstrak cair etanol, etanol diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* hingga mendapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental yang dihasilkan dari daun tapak dara tersebut sebesar 19,9043 gram dengan rendemen sebesar 19,9%. Hasil tersebut lebih tinggi dibandingkan penelitian Tristinurmiatiningsih *et al.*, (2023) yang memperoleh rendemen sebesar 11,78%, serta telah memenuhi standar Badan Pengawas Obat dan Makanan (2017), yaitu rendemen ekstrak daun tapak dara tidak kurang dari 11,2%.

Tabel 1. Persen Rendemen Daun Tapak Dara

Sampel	Bobot Simplisia (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (%)	Warna ekstrak
Daun tapak dara	100	19,9043	19,9%	Coklat kehitaman

Proses *Bleaching* Daun Tapak Dara

Sebelum digunakan dalam proses *bleaching*, arang diaktifkan dengan menggunakan KOH. Larutan dibuat dengan dua konsentrasi, yaitu KOH 11,22 gr yang dilarutkan dalam 100 ml aquadest dan 5,61 gr KOH dilarutkan dalam 50 ml aquadest. Masing – masing larutan di pindah pada labu ukur lalu di tambahkan aquades sampai tanda batas, kemudian larutan di gojok dan didiamkan hingga jernih.

Arang aktif di timbang sebanyak 37,5 gr dicampurkan dengan larutan KOH didiamkan selama 24 jam dan ditutup rapat. Setelah 24 jam arang yang sudah direndam disaring menggunakan kertas saring. Selanjutnya arang di cuci dengan aquadest hingga pH mencapai 9 -10. Proses pencucian bertujuan untuk menghilangkan sisa KOH pada arang. Setelah

pH mencapai kisaran 9 larutan dinetralkan dengan menambahkan HCl hingga mencapai pH netral. HCl ini digunakan untuk menurunkan pH pada kondisi basa, hal ini bertujuan untuk menstabilkan pengaruh sisa basa yang dapat mengganggu karakteristik kimia. Tahap selanjutnya larutan yang sudah mencapai pH netral disaring dengan kertas saring. Arang yang sudah terpisah dengan larutan kemudian di oven selama 2 jam.

Setelah proses aktivasi selesai arang bisa digunakan untuk proses *bleaching*. Pada penelitian ini proses *bleaching* dilakukan dengan perbedaan lama waktu yaitu 30 menit, 1 jam, dan 2 jam. Sebanyak 0,2 gram ekstrak kental ditimbang dan dilarutkan dalam 20 ml etanol kemudian di aduk dengan menggunakan magnetic stirer dengan kecepatan 200 ppm. Kemudian ditambahkan

arang aktif sebanyak 2 gram dan diaduk selama 30 menit, 1 jam dan 2 jam. Perbandingan 0,2 gram ekstrak terhadap 2 gram arang aktif ditetapkan untuk meningkatkan efektivitas proses *bleaching* melalui mekanisme adsorpsi.

Penggunaan arang aktif dalam jumlah lebih tinggi dimaksudkan agar luas permukaan kontak adsorben semakin besar, sehingga penyerapan senyawa berpigmen dan komponen pengotor pada ekstrak dapat berlangsung secara lebih optimal. Penentuan rasio tersebut didasarkan pada pertimbangan untuk memperoleh hasil *bleaching* yang maksimal selama proses penelitian. Setelah proses *bleaching* selesai larutan disaring dengan kertas saring yang kemudian di uapkan hingga menjadi ekstrak pekat.

Hasil proses *bleaching* menunjukkan pada lama waktu 30 menit ekstrak masih berwarna hijau pekat. Hasil pada waktu 1 jam menunjukkan warna ekstrak agak pudar menjadi hijau muda dan pada lama waktu 2 jam ekstrak sudah berubah menjadi warna hijau muda agak kuning. Perubahan warna pada ekstrak setelah *bleaching* menunjukkan adanya pengurangan pigmen yang terdapat pada ekstrak. Sebelum proses *bleaching* ekstrak berwarna hijau pekat yang berasal dari kandungan klorofil dan senyawa fenolik tertentu, namun setelah *bleaching* ekstrak berubah menjadi lebih pucat seiring dengan lama waktu *bleaching* kemungkinan hal ini disebabkan oleh absorpsi senyawa berwarna oleh karbon aktif selama perlakuan. Semakin lama waktu *bleaching*, maka semakin banyak pigmen yang teradsorpsi sehingga warna ekstrak tampak menjadi jernih.

Uji Skrining Fitokimia

Uji skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa yang terdapat dalam ekstrak daun tapak dara.

Pengujian ini dilakukan terhadap ekstrak sebelum dan sesudah proses *bleaching*, dengan tujuan untuk mengidentifikasi perubahan atau keberadaan senyawa kimia dalam ekstrak setelah diberikan perlakuan *bleaching*.

Ekstrak etanol daun tapak dara mengindikasikan hasil positif pada beberapa komponen senyawa seperti alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Hal ini dapat dilihat dengan adanya endapan pada uji alkaloid yang dilakukan menggunakan pereaksi Mayer, Dragendorff, dan Bouchardat, adanya perubahan warna pada uji flavonoid, munculnya gelembung pada uji saponin, serta berubahnya warna menjadi hijau kehitaman pada uji tanin. Hasil tersebut membuktikan bahwa ekstrak daun tapak dara memiliki komponen metabolit sekunder yang berpotensi memberikan aktivitas biologis, termasuk sebagai agen toksik atau antikanker.

Berdasarkan data hasil skrining fitokimia ekstrak etanol daun tapak dara, terlihat adanya perubahan komponen senyawa metabolit sekunder sebelum dan sesudah proses *bleaching*. Sebelum proses *bleaching*, ekstrak menunjukkan hasil positif terhadap hampir seluruh golongan senyawa yang diuji, yaitu alkaloid dengan 3 pereaksi yaitu Mayer, Bouchardat, dan Dragendorff, flavonoid, saponin, dan tanin, sedangkan triterpenoid / steroid menunjukkan hasil negatif. Hasil tersebut membuktikan bahwa ekstrak masih mengandung zat aktif yang lengkap dan belum mengalami degradasi.

Uji skrining fitokimia pada perlakuan *bleaching* dilakukan terhadap ekstrak yang diberi perlakuan *bleaching* selama 2 jam, karena secara umum proses *bleaching* dilakukan dalam rentang waktu 2–3 jam. Setelah proses *bleaching*, terjadi penurunan intensitas bahkan hilangnya beberapa

senyawa fitokimia pada ekstrak. Pada golongan alkaloid, uji Mayer menunjukkan hasil negatif, sementara uji Bouchardat dan Dragendorff masih positif, yang mengindikasikan bahwa sebagian alkaloid mengalami degradasi.

Flavonoid berubah menjadi negatif, menunjukkan bahwa senyawa ini sangat rentan terhadap proses oksidasi selama *bleaching*. Saponin juga tercatat tidak stabil (ditandai perubahan hasil), sedangkan tanin masih menunjukkan hasil positif meskipun kemungkinan mengalami penurunan kadar. Sementara itu, triterpenoid/steroid tetap negatif baik sebelum maupun sesudah *bleaching*. Secara keseluruhan, proses *bleaching* menyebabkan degradasi senyawa metabolit sekunder, terutama senyawa yang bersifat fenolik seperti flavonoid, akibat reaksi oksidasi. Hal ini menunjukkan bahwa proses

bleaching menggunakan arang aktif dapat mempengaruhi keberadaan beberapa senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak. terutama senyawa yang bersifat fenolik seperti flavonoid yang lebih rentan terhadap adsorpsi maupun degradasi oksidatif. Namun, tidak semua senyawa mengalami penurunan secara signifikan, karena beberapa senyawa seperti tanin dan saponin masih terdeteksi setelah perlakuan.

Dengan demikian, hasil uji skrining fitokimia menunjukkan bahwa proses *bleaching* berpengaruh terhadap kandungan metabolit sekunder dalam ekstrak daun tapak dara. Penurunan atau hilangnya beberapa senyawa setelah *bleaching* menunjukkan bahwa perlakuan ini dapat mempengaruhi aktivitas biologis ekstrak, termasuk aktivitas sitotoksik yang di uji menggunakan metode BSLT.

Tabel 2. Hasil Uji Skrining Fitokimia Sebelum Proses *Bleaching*

Senyawa aktif	Hasil	Keterangan
Alkaloid		
Mayer	Adanya endapan putih	+
Bouchardat	Adanya endapan coklat	+
Dragendorf	Adanya endapan jingga	+
Flavonoid	Warna kuning	+
Saponin	Terdapat buih	+
Tanin	Warna hijau kehitaman	+
Triterpenoid atau Steroid	Warna tidak berubah	-

Tabel 3. Hasil Uji Skrining Fitokimia Sesudah Proses *Bleaching*

Senyawa aktif	Hasil	Keterangan
Alkaloid		
Mayer	Tidak adanya endapan	-
Bouchardat	Adanya endapan coklat	+
Dragendorf	Adanya endapan jingga	+
Flavonoid	Warna tidak berubah	-
Saponin	Adanya buih	+
Tanin	Warna hijau kehitaman	+
Triterpenoid atau Steroid	Tidak terjadi perubahan warna	-

Keterangan:

(+) Positif : Mengandung golongan senyawa

(-) Negatif : Tidak mengandung golongan senyawa

Uji Toksisitas dengan Metode BSLT

Uji toksisitas pada ekstrak etanol daun tapak dara dilakukan menggunakan metode BSLT dengan larva *Artemia salina* Leach sebagai hewan uji. Pengujian ini digunakan sebagai tahap awal dalam proses skrining senyawa yang memiliki potensi sebagai agen antikanker. Uji tersebut dilakukan untuk menetapkan nilai LC_{50} pada larutan ekstrak yaitu konsentrasi yang dapat menyebabkan kematian 50 % pada organisme uji dalam waktu 24 jam.

Sebelum melakukan uji toksisitas, terlebih dahulu yang dilakukan yaitu penetasan kista *Artemia salina* Leach selama 48 jam. Sebanyak 0,5 gram telur larva *Artemia salina* Leach di tetaskan pada 1 liter air laut buatan hingga diperoleh larva yang berumur 48 jam dan siap untuk digunakan dalam

pengujian. Pada uji toksisitas larutan induk dibuat dengan konsentrasi 2000 ppm yaitu sebanyak 0,2 gram ekstrak daun tapak dara yang dilarutkan pada 100 ml air laut buatan. Setelah itu, larutan induk dibagi menjadi beberapa konsentrasi yaitu 2000, 1000, 500, 100 dan 50 ppm.

Selain konsentrasi tersebut juga dilakukan uji pada larutan kontrol negatif yang terdiri dari air laut buatan dan larva *Artemia salina* Leach tanpa ditambahkan dengan ekstrak. Hal ini dilakukan agar melihat adanya pengaruh media serta faktor lain yang dapat menyebabkan kematian pada hewan uji. Pada setiap perlakuan dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan (triplo) agar memperoleh data yang akurat dan menghindari kesalahan pada penelitian. Data yang disajikan merupakan rata – rata yang diperoleh dari tiga pengulangan.



Gambar 1. Uji Toksisitas metode BSLT

Dari proses uji toksisitas yang dilakukan, larva yang mati dapat terlihat berada pada bagian bawah vial dan sudah tidak bergerak lagi. Sedangkan, larva yang masih hidup dapat terlihat pada bagian tengah vial dan masih bergerak. Jumlah larva yang mati pada masing – masing konsentrasi dihitung dan dicatat untuk menentukan nilai LC_{50} pada ekstrak daun tapak dara tersebut. Untuk menghitung nilai LC_{50} yaitu menggunakan metode analisis probit pada software SPSS 27.0. Apabila terdapat kematian pada kelompok kontrol, maka ditentukan koreksi mortalitas dengan menggunakan

rumus Abbott. Namun, pada penelitian ini tidak ditemukan kematian pada larutan kontrol sehingga koreksi mortalitas tidak diperlukan. Hasil uji menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun tapak dara tanpa perlakuan *bleaching* memiliki nilai LC_{50} sebesar 387,154 ppm.

Tujuan dari adanya uji toksisitas ini yaitu untuk mengetahui tingkat toksisitas pada ekstrak etanol daun tapak dara berdasarkan nilai LC_{50} dengan konsentrasi yang mampu menyebabkan 50 % kematian hewan uji. Semakin tinggi tingkat toksisitas ekstrak maka semakin kecil nilai LC_{50} . Berdasarkan hasil

penelitian pada ekstrak etanol daun tapak dara dengan perlakuan *bleaching*, diperoleh nilai LC_{50} sebesar 428,421 ppm pada *bleaching* 30 menit, 508,580 ppm pada *bleaching* 1 jam, dan 581,779 ppm pada *bleaching* 2 jam. Hasil ini menunjukkan adanya peningkatan nilai LC_{50} seiring bertambahnya waktu *bleaching*, yang berarti terjadi penurunan tingkat toksisitas ekstrak.

Secara teori, proses *bleaching* menggunakan arang aktif dapat menyebabkan penurunan kandungan senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak melalui mekanisme adsorpsi dan oksidasi. Pada perlakuan *bleaching* selama 30 menit, senyawa aktif seperti alkaloid, flavonoid, dan tanin masih relatif banyak terkandung dalam ekstrak, sehingga efek toksiknya terhadap larva masih cukup tinggi yang ditunjukkan dengan nilai LC_{50} yang lebih rendah. Namun, ketika waktu *bleaching* diperpanjang menjadi 1 jam dan 2 jam, terjadi penurunan toksisitas yang ditandai dengan meningkatnya nilai LC_{50} . Hal ini disebabkan oleh semakin lamanya kontak antara ekstrak dengan arang aktif yang memungkinkan lebih banyak senyawa bioaktif terserap atau terdegradasi.

Selain itu, senyawa fenolik seperti flavonoid dan tanin diketahui lebih rentan terhadap proses oksidasi, sehingga lebih mudah mengalami kerusakan selama *bleaching*. Penurunan atau hilangnya senyawa-senyawa tersebut akan berpengaruh langsung terhadap aktivitas biologis ekstrak, termasuk aktivitas toksiknya. Sementara itu, senyawa alkaloid cenderung lebih stabil, namun tetap dapat mengalami penurunan kadar seiring bertambahnya waktu *bleaching*. Oleh karena itu, semakin lama proses *bleaching* berlangsung, semakin banyak senyawa aktif yang berkurang sehingga kemampuan ekstrak dalam menyebabkan

kematian larva juga menurun. Dengan demikian, hasil penelitian ini sejalan dengan teori yang menyatakan bahwa proses *bleaching* dapat menurunkan kandungan senyawa aktif dalam ekstrak dan berdampak pada penurunan toksisitas (Yusuf et al., 2017). Hal ini menunjukkan bahwa lama waktu *bleaching* merupakan faktor penting yang mempengaruhi kualitas dan aktivitas biologis ekstrak daun tapak dara.

Pada perlakuan *bleaching*, terjadi perbedaan nilai LC_{50} yang dipengaruhi oleh lama waktu *bleaching*. *Bleaching* selama 30 menit menghasilkan LC_{50} sebesar 428,421 ppm, yang lebih tinggi dibandingkan tanpa perlakuan *bleaching*, sehingga menunjukkan penurunan toksisitas. Namun, pada *bleaching* dengan lama waktu 1 jam dan 2 jam, nilai LC_{50} meningkat menjadi 508,580 ppm dan 581,779 ppm, yang menandakan penurunan toksisitas seiring bertambahnya waktu *bleaching*. Hal ini karena proses *bleaching* dapat merusak atau mengurangi kandungan senyawa aktif seperti alkaloid, flavonoid, dan terpenoid yang memiliki peran dalam aktivitas toksik. Semakin lama proses *bleaching*, semakin banyak senyawa bioaktif yang terdegradasi, sehingga kemampuan ekstrak dalam menyebabkan kematian larva menjadi menurun.

Sebelum *bleaching*, nilai LC_{50} ekstrak adalah 387,154 ppm, yang menunjukkan tingkat toksisitas yang relatif tinggi. Setelah *bleaching* selama 2 jam, nilai LC_{50} meningkat menjadi 581,779 ppm, yang berarti toksisitasnya menurun secara signifikan. Perubahan ini menunjukkan bahwa proses *bleaching* selama 2 jam berhasil mengurangi kandungan senyawa aktif dalam ekstrak. Proses *bleaching* selama 2 jam pada ekstrak daun tapak dara menyebabkan penurunan kandungan senyawa aktif akibat adsorpsi oleh arang aktif dan degradasi oksidatif. Hal ini

ditunjukkan dengan meningkatnya nilai LC_{50} yang menandakan penurunan toksisitas. Uji BSLT pada penelitian ini digunakan sebagai metode skrining awal untuk melihat potensi sitotoksik ekstrak. Oleh karena itu, penurunan aktivitas toksisitas berdasarkan hasil BSLT belum dapat secara langsung disimpulkan sebagai penurunan aktivitas antikanker ekstrak daun tapak dara. Hasil penelitian ini lebih menunjukkan bahwa potensi sitotoksik awal ekstrak mengalami penurunan setelah proses bleaching. Untuk memastikan pengaruhnya terhadap aktivitas antikanker, diperlukan pengujian lanjutan yang lebih spesifik menggunakan kultur sel kanker atau metode uji sitotoksik lainnya. Seluruh sampel pada penelitian ini masih memiliki nilai LC_{50} di

bawah 1000 ppm. Berdasarkan kriteria toksisitas yang digunakan pada metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT), nilai tersebut menunjukkan bahwa seluruh ekstrak masih tergolong toksik. Hasil ini menegaskan bahwa proses bleaching dapat menurunkan tingkat toksisitas ekstrak, namun belum mampu menghilangkan sifat toksik ekstrak secara sepenuhnya. Penurunan toksisitas yang terjadi diduga berkaitan dengan berkurangnya kandungan senyawa aktif tertentu akibat proses adsorpsi oleh arang aktif selama bleaching. Meskipun demikian, masih adanya sifat toksik pada seluruh sampel menunjukkan bahwa ekstrak daun *Catharanthus roseus* masih mengandung senyawa bioaktif yang berpotensi memberikan aktivitas sitotoksik.

Tabel 4. Hasil rata - rata Uji Toksisitas pada Ekstrak Non *Bleaching*

Konsentrasi (Ppm)	Mortalitas	Total Larva	LC_{50}
2000	10	10	387,154 ppm
1000	8,6	10	
500	6	10	
100	3,3	10	
50	1,6	10	
0	0	10	

Tabel 5. Hasil rata - rata Uji Toksisitas pada Ekstrak dengan Perlakuan *Bleaching*

Konsentrasi (ppm)	<i>Bleaching</i> 30 menit		<i>Bleaching</i> 1 jam		<i>Bleaching</i> 2 jam	
	Mortalitas	LC_{50}	Mortalitas	LC_{50}	Mortalitas	LC_{50}
2000	10	428,421	9,6	508,580	9,3	581,779
1000	8,7		8,7		8,3	
500	6,3		6,3		6	
100	3,3		3		3	
50	2,3		1,7		1,7	
0	0		0		0	

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, penelitian ini membuktikan bahwa ekstrak daun tapak dara memiliki sifat toksik dengan nilai LC₅₀ sebesar 387,154 ppm, dan perlakuan *bleaching* selama 30 menit, 1 jam, serta 2 jam menyebabkan peningkatan nilai LC₅₀ yang menandakan penurunan toksisitas. Setelah perlakuan *bleaching*, semakin banyak senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, dan tanin yang teradsorpsi dan terdegradasi, sehingga potensi sitotoksik awal ekstrak mengalami penurunan dan masih memerlukan pengujian lanjutan terhadap sel kanker. Selain itu, hasil skrining fitokimia menunjukkan adanya penurunan bahkan hilangnya beberapa senyawa aktif setelah proses *bleaching*, terutama flavonoid. Hal ini menunjukkan bahwa proses *bleaching* dapat mengurangi kandungan senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan banyak terima kasih kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan serta dukungan dalam penelitian ini. Khususnya kepada dosen pembimbing yang memberikan bimbingan, arahan serta masukan selama proses penelitian ini. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada pihak laboratorium yang telah menyediakan fasilitas dan sarana pendukung, serta kepada seluruh pihak yang sudah memberikan dukungan, baik secara langsung maupun tidak langsung, sehingga penelitian ini dapat selesai dengan baik dan tepat waktu.

DAFTAR PUSTAKA

Agustianti, R., Pandriadi, Nussifera, L., Wahyudi, Angelianawati, L., Meliana, I., Sidik, E. A., Nurlaila, Q., Simarmata, N., Himawan, I. S., Pawan, E., Ikham, F.,

Andriani, A. D., Ratnadewi, & Hardika, I. R. (2024). *Metode Penelitian Kuantitatif dan Kualitatif* (Vol. 2).

Al-Bari, A., Qoriati, Y., & Februyani, N. (2025). Pendampingan Pemanfaatan Daun Tapak Dara (*Catharanthus roseus* L.) Sebagai Face Mist Tabir Surya di Pondok Pesantren Adnan Al-Charish. *Jurnal Abdi Insani*, 12(6), 2605–2618.

Cahya, N. R., Abdulkadir, W. S., & Hasan, H. (2022). Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Kulit Terong Ungu (*Solanum melongena* L.) Menggunakan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Journal Syifa Sciences and Clinical Research (JSSCR)*, 4, 202–210.

Dewi, V., Al-Bari, A., & Hutahaen, T. A. (2023). Uji Toksisitas Ekstrak Daun Tapak Dara (*Catharantus roseus* L.) Menggunakan Metode BSLT Dengan Variasi Perbedaan Pelarut Ekstraksi. *Jurnal Farmasi, Kesehatan Dan Sains (FASKES)*, 1(1), 25–31.

Hardiana, H., Safrida, Y. D., Adriani, A., & Azkia, H. (2024). Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Tapak Dara (*Catharanthus roseus*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Sains Dan Kesehatan Darussalam*, 4(2), 99–106. <https://doi.org/10.56690/jskd.v4i2.152>

Hasdar, M., Wadli, & Meilani, D. (2021). *Rancangan Acak Lengkap Dan Rancangan Acak Kelompok Pada pH Gelatin Kulit Domba Dengan Pretreatment Larutan NaOH*. 1(01), 17–23.

Jelita, S. F., Setyowati, G. W., Ferdiand, M., Zuhrotun, A., & Megantara, S. (2021). Uji Toksisitas Infusa *Acalypha siamensis* dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Farmaka*, 18(1), 14–22.

Maturahmah, E., Prafiadi, S., & Endriyani, I. Z.

- (2023). Pemanfaatan Tanaman Obat Herbal di Kampung Petrus Kafiari, Kabupaten Manokwari, Papua Barat. *ADVANCES in Social Humanities Research*, 1(3), 136–147.
- Novariska, S. (2024). *Gambaran Skrining Fitokimia Ekstrak Kulit Buah Nanas Madu Hasil Ekstraksi Maserasi dengan Pelarut Berbeda Polaritas*.
- Rahmawati, A. S., & Erina, R. (2020). Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan Uji Anova Dua Jalur. *Jurnal Pendidikan Fisika*, 4(1), 54–62.
- Septiany, R. D., Kusnadi, & Febriyanti, R. (2022). Analisis Fitokimia dan Profil Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dengan Berbagai Metode Pengeringan Simplisia. *Jurnal Penelitian*, 1(2), 6.
- Tristinurmiatiningsih, Komala, O., & Salsabila, N. M. (2023). *Uji Aktivitas Etanol Daun Tapak Dara (Chataranthus roseus L.) Sebagai Antibakteri Streptococcus mutans*. 23.
- Yusuf, B., Dian, F., & Rahmadi, A. (2017). *Uji Toksisitas Vitamata Prototipe II Metode Brine Shrimp Lethality Test Menggunakan Artemia salina Leach*. 158–165.

Jurnal Pharmacia Mandala Waluya (JPMW) is Licensed a Creative Commons Attribution 4.0 International Licence

