

UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL DAUN KRATOM (*Mitragyna speciosa* Korth.) DENGAN METODE MASERASI DAN REFLUKS TERHADAP LARVA *Artemia salina* Leach

Sri Winda Maulia¹, Siti Jubaidah¹, Eka Siswanto S¹

¹Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Samarinda
Email : sriwindamauliah@gmail.com

ABSTRACT

Kratom (Mitragyna speciosa Korth.) is believed to have medicinal properties. Kratom plants contain alkaloid chemical compounds, flavonoids, tannins, saponins, triterpenoids and several other chemical contents including Mitraginin which is suspected to have toxic effects. The purpose of this study was to find out the toxic properties of kratom leaf ethanol extract against the larvae of Artemia salina Leach. Know the value of Lethal Concentration 50 (LC50) ethanol extract kratom leaves. Find out what compounds are contained in the ethanol extract of kratom leaves by the method of maceration and reflux. The research conducted is experimental research with research stages namely plant determination, sampling, simplisia manufacturing, extract making of maceration and reflux methods, yield calculation, water content, phytochemical screening of kratom leaf ethanol extract, acute toxicity test with Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method, using Artemia salina Leach larvae aged 36-48. BSLT testing to determine LC50 values with concentrations of 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 400 ppm and negative control. The data analysis used is the probit analysis method. The results showed that ethanol extract of kratom leaves positive method of maceration and reflux contains chemical compounds alkaloids, flavonoids, tannins, saponins, steroids / triterpenoids. The yield of the maceration method extract is 34.49% and the reflux method is 32.1%. The water content of the maceration method extract is 6.5% and the water content of the reflux method is 8%. The LC50 value obtained from the maceration method is 143.50 ppm and the reflux method is 71.08 ppm. Ethanol extract of kratom leaves reflux maceration method indicates a toxic category against the larvae of Artemia salina Leach.

Keywords: Acute toxicity, *Mitragyna speciosa* Korth, *Artemia salina* Leach, Brine Shrimp Lethality Test, Lethal Concentration 50 (LC50).

PENDAHULUAN

Kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.) merupakan tanaman tropis dari famili *Rubiaceae* yang berasal dari Asia Tenggara (Muang Thai, Indonesia, Malaysia, Myanmar, Filipina) dan Papua Nugini. Di Indonesia tanaman ini banyak tumbuh di Kalimantan⁽¹⁰⁾. Tumbuhan kratom mengandung senyawa kimia alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, fenol dan triterpenoid⁽¹⁶⁾. Secara empiris daun kratom memiliki beberapa khasiat sebagai obat herbal, diantaranya sebagai

tapal pada luka, obat demam, meringankan nyeri otot, mengurangi nafsu makan, dan mengobati diare⁽⁸⁾. Namun selain memiliki khasiat untuk pengobatan kratom juga diduga memiliki efek toksik yang disebabkan oleh senyawa alkaloid⁽¹⁰⁾.

Uji toksisitas akut akan memberikan informasi awal tentang sifat beracun dari bahan-bahan yang digunakan dalam obat tradisional yang sebelumnya tidak ada informasinya.

Informasi toksisitas akut digunakan dalam penentuan dosis penelitian, dosis terapi, serta secara akurat akan menjelaskan toksisitas tanaman obat. Toksisitas akut dilakukan untuk menentukan nilai toksisitas akut *Lethal Concentration*50 (LC_{50}) yang akan memberikan gambaran besarnya daya racun suatu ramuan. Makin kecil nilai LC_{50} suatu zat, makin besar daya racun zat tersebut⁽²⁰⁾. Pengujian toksisitas akut daun kratom menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) merupakan metode penelusuran senyawa bioaktif yang bersifat toksik dari bahan alam. *Artemia salina* Leach sebagai organisme uji memiliki kepekaan cukup tinggi terhadap zat yang bersifat toksik⁽⁷⁾.

Berdasarkan latar belakang di atas, sebelum dilakukan uji toksisitas akut terlebih dahulu dilakukan proses ekstraksi dengan cara mengekstraksi serbuk simplisia daun kratom dengan menggunakan metode ekstraksi yang berbeda. Metode maserasi merupakan metode ekstraksi cara dingin yang dilakukan dengan merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari dengan beberapa kali pengadukan dan metode refluks merupakan suatu metode ekstraksi cara panas dengan adanya bantuan pendingin balik. Kedua metode ini merupakan ekstraksi zat aktif yang sering digunakan dalam pembuatan ekstrak.

Perbedaan metode ekstraksi bertujuan untuk mengetahui pengaruh metode ekstraksi terhadap rendemen ekstrak yang diperoleh dan metode yang efektif untuk mengekstraksi senyawa atau komponen kimia yang terkandung dalam sampel⁽³⁾. Ekstrak dari metode maserasi dan refluks dilakukan uji

skrining fitokimia dengan tujuan untuk mengidentifikasi senyawa yang terkandung pada hasil ekstraksi tersebut.

Data penelitian tentang uji toksisitas akut terhadap larva *Artemia salina* Leach belum pernah dilaporkan sehingga perlu dilakukan penelitian tentang Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.) Dengan Metode Maserasi dan Refluks Terhadap larva *Artemia salina* Leach.

METODE PENELITIAN

Penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimen. Tahap penelitian ini dimulai dengan pengumpulan sampel, determinasi tumbuhan, pembuatan simplisia, ekstraksi metode maserasi dan refluks, penetapan rendemen, penetapan susut pengeringan, skrining fitokimia, penyiapan air laut, penetasan telur *Artemia salina* Leach, penyiapan kontrol negatif, konsentrasi dosis, analisis toksisitas.

PROSEDUR PENELITIAN

Pembuatan Simplisia

Sampel yaitu daun kratom yang diperoleh dari Desa Kota Bangun Seberang, Kecamatan Kota Bangun, Kabupaten Kutai Kartanegara. Determinasi tumbuhan dilakukan di Laboratorium Fisiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Mulawarman Samarinda. Daun kratom yang telah dikumpulkan disortasi basah, dicuci dengan air mengalir, ditiriskan, dilakukan pengeringan. Simplisia utuh dihaluskan dengan blender dan diayak menggunakan mesh 60 sehingga diperoleh serbuk simplisia.

Pembuatan Ekstrak

Ekstraksi Dengan Metode Maserasi

Diambil serbuk simplisia daun kratom ditimbang 100 gram, kemudian dimaserasi dalam wadah kaca dengan pelarut etanol 70% sebanyak 1 L dan dilakukan pengadukan selama 3 jam pertama menggunakan pengaduk kinetik, kemudian dидiamkan kurang lebih 18 jam. Selanjutnya, dilakukan penyaringan dan ampas di remaserasi kembali dengan pelarut etanol 70% sebanyak 1 L, diaduk kembali selama 3 jam pertama menggunakan pengaduk kinetik, dидiamkan selama 18 jam. Hasil remaserasi disaring sehingga didapat maserat, lalu cairan diuapkan di atas penangas air sampai diperoleh ekstrak kental⁽⁵⁾.

Ekstraksi Dengan Metode Refluks

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode refluks. Diambil serbuk daun kratom ditimbang sebanyak 100 gram, lalu dimasukkan ke dalam labu alas bulat dan ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 1 L dan dipanaskan pada suhu 60°C selama 3 jam, dilakukan penyaringan dan ampas di refluks kembali dengan pelarut etanol 70% sebanyak 1 L, dipanaskan pada suhu 60°C selama 3 jam. Hasil yang didapat disaring, lalu cairan diuapkan di atas penangas air sampai diperoleh ekstrak kental⁽³⁾.

Penetapan Rendemen

Rumus perhitungan rendemen :

% Rendemen

$$= \frac{b - (c - a)}{b} \times 100\%^{(4)}$$

Penetapan Kadar Air Ekstrak

Penentuan kadar air dilakukan dengan menimbang ekstrak sebanyak 2 gram, dimasukkan ke dalam cawan poselin yang telah ditimbang. Ekstrak dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C selama 30 menit dan dikeringkan pada suhu penetapan sampai diperoleh bobot tetap. Didinginkan ekstrak dalam desikator kemudian dicatat bobot tetap yang diperoleh. Penetapan kadar air menggunakan rumus :

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{b - (c - a)}{b} \times 100\%$$

Keterangan:

a = Berat cawan kering.

b = Berat sampel awal.

c = Berat cawan + sampel⁽²⁾.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dalam penelitian ini meliputi uji alkaloid, fenolik, saponin, tannin, terpenoid, steroid dan flavonoid.

Air Laut

Air laut diperoleh dari Pantai Pemedas Samboja di jalan Balikpapan-Handil II, Kecamatan Samboja, Kabupaten Kutai Kartanegara, Kalimantan Timur. Air laut yang akan digunakan terlebih dahulu diperiksa pH airnya, apabila pH < 7, maka air laut ditambahkan natrium bikarbonat sampai mencapai pH > 7.

Penetasan Telur *Artemia salina* Leach

Penetasan dilakukan dengan cara merendam telur *Artemia salina* Leach sebanyak 50 mg pada wadah yang berisi air laut sebanyak 250 mL. dengan diberi penerangan cahaya lampu pijar 40 watt

agar suhu penetasan 25–30°C. Telur larva tersebut dibiarkan selama 24 jam sampai menetas menjadi *nauplii* yang matang dan siap digunakan untuk percobaan⁽⁷⁾.

Penyiapan Kontrol Negatif

Kontrol negatif dibuat dengan tanpa menambahkan ekstrak, kemudian ditambahkan 10 mL air laut dan 10 ekor larva udang *Aretmia salina* Leach ke dalam vial⁽⁸⁾.

Konsentrasi Dosis

Ekstrak daun kratom yang akan diuji dibuat dalam konsentrasi 50, 100, 200 dan 400 ppm.

Prosedur Uji Toksisitas Akut Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

Disiapkan vial untuk masing-masing konsentrasi, disediakan 15 vial dan dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Vial diisi dengan sampel dan ditambahkan air laut sebanyak 10 mL. Sepuluh ekor larva *Aretmia salina* Leach dipindahkan ke dalam masing-masing vial yang telah berisi senyawa uji. Kontrol negatif diberi perlakuan yang sama seperti larutan uji tetapi tidak ditambahkan dengan ekstrak. Vial-vial tersebut diletakkan di bawah penerangan. Jumlah larva udang yang mati dalam tiap vial dihitung selama 24 jam dengan cara manual. Tingkat toksisitas ditentukan dengan menghitung jumlah larva yang mati. Kriteria standar untuk menilai kematian larva udang adalah bila larva udang tidak menunjukkan pergerakan selama beberapa detik observasi⁽⁷⁾.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil determinasi tumbuhan kratom memiliki klasifikasi spesies *Mitragyna speciosa* Korth. Dengan nama

indonesia yaitu kratom, puri. Daun kratom yang telah dikumpulkan disortasi basah untuk memisahkan kotoran dan benda asing yang menempel pada sampel, kemudian dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan sisa kotoran yang masih menempel pada daun kratom. Daun yang telah dicuci selanjutnya ditiriskan terlebih dahulu kemudian dilakukan pengeringan⁽¹⁾. Daun dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Simplisia yang sudah kering dihaluskan dan diayak menggunakan ayakan mesh 60 untuk memperoleh serbuk yang lebih halus.

Ekstraksi Tumbuhan Kratom

Proses ekstraksi daun kratom dilakukan dengan menggunakan dua metode ekstraksi yang berbeda yaitu cara dingin dengan metode maserasi dan cara panas dengan metode refluks. Perbedaan metode ekstraksi bertujuan untuk mengetahui pengaruh metode ekstraksi terhadap rendemen ekstrak yang dihasilkan dan metode yang efektif menarik senyawa atau komponen kimia yang terdapat dalam sampel⁽³⁾.

Hasil dari kedua metode ekstraksi yang dilakukan yaitu metode maserasi dan metode refluks didapatkan rendemen metode maserasi yaitu 34,49% dan rendemen metode refluks yaitu 32,1%.

Penetapan Kadar Air

Penetapan kadar air merupakan parameter yang digunakan untuk menentukan residu air yang terdapat dalam bahan setelah proses pengeringan.

Tabel 1. Hasil Penetapan Kadar Air Metode Maserasi dan Refluks.

Uraian	Hasil	
	Maserasi	Refluks

Kadar Air	6,5 %	8 %
-----------	-------	-----

Hasil penetapan kadar air ekstrak daun kratom yang diperoleh pada metode maserasi yaitu 6,5% dan pada metode refluks yaitu 8%. Menurut Voight (1994), parameter ekstrak yaitu untuk ekstrak cair lebih dari 30%, ekstrak kental 5-30% dan untuk ekstrak kering kurang dari 5%. Kadar air ekstrak etanol daun kratom metode maserasi dan refluks yang diperoleh memenuhi persyaratan dari parameter ekstrak kental yaitu 5-

30%. Kadar air yang besar dapat menyebabkan pertumbuhan mikroba karena air merupakan media pertumbuhan mikroorganisme dan juga sebagai media terjadinya reaksi enzimatik yang dapat menguraikan senyawa aktifnya⁽¹⁴⁾.

Skrining Fitokimia

Uji skrining fitokimia dilakukan terhadap ekstrak etanol daun kratom metode maserasi dan refluks.

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Kratom Metode Maserasi dan Refluks.

No	Golongan Metabolit Sekunder	Hasil		Ket.
		Maserasi	Refluks	
1.	Alkaloid			
	a. Mayer	Endapan putih kekuningan	Endapan putih kekuningan	+
	b. Bouchardat	Endapan coklat kehitaman	Endapan coklat kehitaman	+
	c. Dragendorf	Endapan merah bata	Endapan merah bata	+
2.	Flavonoid	Terbentuk warna kuning pada lapisan amil alkohol	Terbentuk warna kuning pada lapisan amil alkohol	+
3.	Tanin	Larutan hijau kehitaman	Larutan hijau kehitaman	+
4.	Saponin	Terbentuk busa 1 cm, penambahan HCl 2N tidak hilang	Terbentuk busa 1 cm, penambahan HCl 2N tidak hilang	+
5.	Triterpenoid/Steroid	Terbentuk warna biru kehijauan	Terbentuk warna biru kehijauan	+

Keterangan :

+ : mengandung senyawa kimia.

Hasil skrining fitokimia dari ekstrak etanol daun kratom pada tabel diatas positif mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan triterpenoid/steroid.

Pada uji alkaloid ekstrak etanol daun kratom metode maserasi dan refluks dengan pereaksi mayer, bouchardat, dan

dragendorf menunjukkan hasil positif pada ke 3 uji yang dilakukan. Pada uji flavonoid ekstrak etanol daun kratom metode maserasi dan refluks menunjukkan hasil positif mengandung flavonoid karena pada lapisan amil alkohol berwarna kuning. Uji tanin ekstrak etanol daun kratom metode maserasi dan refluks pada penambahan 1 tetes FeCl₃ 1% menghasilkan larutan berwarna hijau kehitaman, menunjukkan

positif mengandung senyawa tanin. Uji senyawa saponin dilakukan pada ekstrak etanol daun kratom metode maserasi dan refluks menghasilkan busa yang stabil dan tidak hilang dengan penambahan HCl 2N. Uji senyawa Triterpenoid/steroid dilakukan pada ekstrak etanol daun kratom metode maserasi dan refluks membentuk warna hijau kebiruan pada saat penambahan asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat, menunjukkan bahwa ekstrak daun kratom mengandung senyawa triterpenoid.

Uji Toksisitas Akut Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Telur udang *Artemia salina* Leach yang akan digunakan sebagai hewan uji dibiakkan menggunakan air laut selama 18-36 jam. Hal penting yang harus diperhatikan yaitu pH pada air laut yang digunakan. Hal ini berguna pada proses pecahnya lapisan tipis dipengaruhi oleh enzim penetas, dimana enzim ini pada pH >7 mempunyai aktivitas yang optimum⁽⁹⁾. Penetasan telur larva *Artemia salina* Leach dilengkapi dengan aerator untuk menjaga kadar oksigennya dan diberi penerangan menggunakan lampu 40 watt dengan suhu 25-30°C⁽⁶⁾. Penyinaran cahaya lampu 40 watt berfungsi untuk menghangatkan suhu dalam wadah penetasan dan merangsang pengaktifan dari perkembangan embrio dalam kista. *Artemia salina* Leach bersifat fototoksik yang berarti menyukai cahaya. Larva *Artemia salina* Leach siap dijadikan hewan uji setelah 36-48 jam.

Larva *Artemia salina* Leach yang digunakan pada percobaan yaitu larva yang berusia 36-48 jam. Hal ini disebabkan karena setelah berumur 24 jam larva akan memasuki fase instar II dimana sudah memiliki mulut dan sistem

pencernaannya telah sempurna, sehingga ekstrak yang ada di lingkungan larva masuk ke dalam tubuh larva dan menyebabkan kematian larva. Oleh karena itu, pada penelitian ini digunakan larva yang berumur 36-48 jam⁽¹²⁾.

Ekstrak etanol daun kratom metode maserasi dan refluks dibuat larutan stok sebesar 1000 ppm dengan cara melarutkan 0,1 gram ekstrak dilarutkan dengan air laut, apabila ekstrak tidak larut maka ditambahkan pelarut *dimethyl sulfoxide* (DMSO). Penambahan DMSO bertujuan untuk menambah kelarutan ekstrak dan tidak bersifat toksik⁽²¹⁾. Hasil dari orientasi dosis didapatkan variasi konsentrasi uji yaitu 50, 100, 200, dan 400 ppm, dengan ditambahkan 0 ppm sebagai kontrol negatif. Kontrol negatif berupa air laut dan larva udang tanpa penambahan ekstrak. Hal ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh air laut maupun faktor lain terhadap kematian larva. Sehingga dapat dipastikan bahwa kematian larva akibat dari penambahan ekstrak yang dilakukan⁽¹²⁾.

Larutan stok ekstrak etanol daun kratom metode maserasi dan refluks dilakukan uji toksisitas. Larutan seri yang telah dibuat kemudian diuji dengan memasukkan 10 ekor larva ke dalam masing-masing vial ditambahkan air laut sebanyak 10 ml. Setiap konsentrasi dilakukan replikasi sebanyak 3 kali dengan tujuan agar mendapat data yang lebih baik dan lebih akurat. Pembuatan kontrol negatif menggunakan air laut yang berisi 10 ekor larva *Artemia salina* Leach dengan perlakuan yang sama. Diamati dan dihitung jumlah larva *Artemia salina* Leach yang mati dalam tiap vial selama 24 jam⁽⁶⁾. Toksisitas ditentukan dengan melihat harga LC₅₀

yang dihitung berdasarkan analisis probit. LC₅₀ dihitung dengan memasukkan log konsentrasi dengan nilai probit

menggunakan regresi linier sederhana pada program *Microsoft Excel* sehingga diperoleh kurva grafik⁽⁷⁾.

Tabel 3. Hasil Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.) Dengan Metode Maserasi

Konsentrasi (ppm)	Perlakuan			Jumlah Kematian	Jumlah Rata-rata Kematian	Persentase Rata-rata Kematian (%)	Log Konsentrasi (X)	Probit (Y)	LC ₅₀ (ppm)
	I	II	III						
0 ppm	0	0	0	0	0	2,5	0	3,03	
50 ppm	3	3	2	8	2,6	26	1,699	4,36	
100 ppm	4	3	4	11	3,6	36	2,000	4,64	143,50
200 ppm	6	6	5	17	5,6	56	2,301	5,15	
400 ppm	8	7	8	23	7,6	76	2,602	5,71	

Tabel 4. Hasil Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.) Dengan Metode Refluks.

Konsentrasi (ppm)	Perlakuan			Jumlah Kematian	Jumlah Rata-rata Kematian	Persentase Rata-rata Kematian (%)	Log Konsentrasi (X)	Probit (Y)	LC ₅₀ (ppm)
	I	II	III						
0 ppm	0	0	0	0	0	2,5	0	3,03	
50 ppm	5	4	4	13	4,3	43	1,699	4,82	
100 ppm	5	6	5	16	5,3	53	2,000	5,08	71,08
200 ppm	6	7	7	20	6,6	66	2,301	5,41	
400 ppm	8	9	8	25	8,3	83	2,602	5,95	

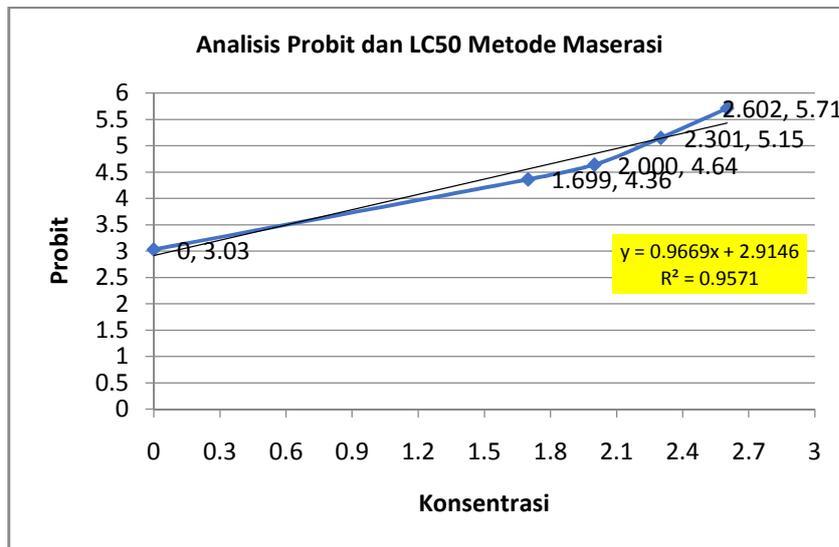
Berdasarkan hasil dari uji toksisitas akut ekstrak etanol daun kratom dengan metode maserasi dan refluks diperoleh hasil bahwa kontrol negatif konsentrasi 0 ppm tanpa penambahan ekstrak pada kedua percobaan tidak ditemukan adanya kematian pada larva *Artemia salina* Leach. Peningkatan konsentrasi yang bervariasi pada setiap vial uji yang dilakukan dengan penambahan ekstrak dari metode maserasi dan refluks konsentrasi 0, 50, 100, 200, dan 400 ppm memiliki pengaruh yang berbeda pada kematian larva *Artemia salina* Leach. Hal

ini menunjukkan bahwa ekstrak daun kratom memberikan efek toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach dan dapat menjadi indikasi awal dari efek farmakologi yang terkandung dalam ekstrak daun kratom. Kematian pada larva *Artemia salina* Leach disebabkan karena perubahan gradien konsentrasi yang drastis antara di luar dan di dalam sel sehingga menyebabkan senyawa toksik mampu menyebar dengan baik ke tubuh larva *Artemia salina* Leach. Efek kerusakan metabolisme yang ditimbulkan terjadi secara cepat dapat dideteksi dalam

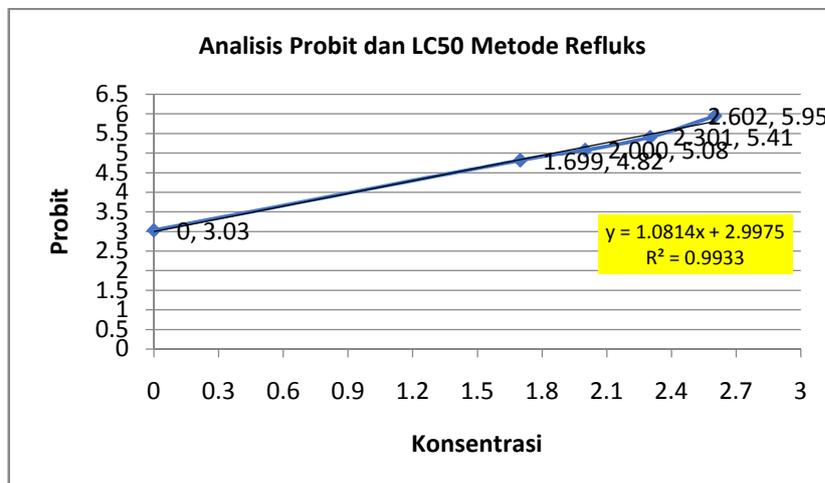
waktu 24 jam, hingga menyebabkan 50% kematian larva *Artemia salina* Leach ⁽¹¹⁾.

Hasil dari persentase kematian larva yang didapatkan diolah menggunakan program *Microsoft Excel*, dilakukan analisis nilai probit dengan menggunakan tabel probit, kemudian dicari *log* dari konsentrasi ppm hasil yang didapat dari *log* konsentrasi (x) dihubungkan dengan nilai probit (y), kemudian dilakukan analisis data dengan rumus $y = a + bx$, nilai $y = 5$ (nilai 5 didapat dari tabel probit yang mewakili 50% kematian hewan uji), a merupakan

hasil dari *intercept* dan b merupakan hasil dari *log* konsentrasi. Hasil dari $y = a + bx$ merupakan nilai dari x, untuk mendapatkan nilai LC_{50} maka nilai x sama dengan antilog (x). Dibuat kurva persamaan garis lurus dari *log* konsentrasi (x) dengan nilai probit (y) untuk memperoleh persamaan regresi linear. Hasil dari analisis data regresi dan persamaan regresi linear akan didapatkan nilai koefisien korelasi (r), koefisien korelasi merupakan ukuran yang dipakai untuk mengetahui derajat hubungan antara dua variabel X dan Y⁽²²⁾.



Gambar 1. Grafik Regresi Linier Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Kratom Metode Maserasi.



Gambar 2. Grafik Regresi Linier Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Kratom Metode Refluks.

Nilai koefisien korelasi yang didapat dari metode maserasi yaitu $r = 0,9783$ dan metode refluks yaitu $r = 0,9966$ menggambarkan bahwa antara variabel konsentrasi (X) dan probit (Y) mempunyai hubungan positif, karena kedua metode maserasi dan refluks mempunyai nilai koefisien korelasi mendekati 1 yang artinya korelasi positif sempurna. Koefisien korelasi berkaitan dengan persamaan regresi karena persamaan regresi mewakili persamaan hubungan antara dua atau lebih variabel, jika hubungan dua variabel linier sempurna maka sebaran data tersebut akan membentuk garis lurus⁽¹⁹⁾.

Hasil dari analisis data kedua metode ekstraksi maserasi dan refluks didapatkan nilai LC_{50} metode maserasi yaitu 143,50 ppm lebih besar dibandingkan dengan nilai LC_{50} metode refluks yaitu 71,08 ppm. Menurut Wagner(1993) suatu senyawa dikatakan bersifat sangat toksik jika nilai $LC_{50} < 30$ ppm, toksik jika nilai LC_{50} 30-1000 ppm dan tidak toksik jika nilai $LC_{50} > 1000$ ppm. Hasil nilai LC_{50} yang diperoleh dari metode maserasi dan refluks berada pada tingkat nilai toksisitas < 1000 ppm, hasil ini termasuk dalam kategori bersifat toksik terhadap *Artemia salina* Leach. Suatu ekstrak termasuk dalam kategori toksik dan memiliki potensi sebagai antikanker jika mempunyai nilai LC_{50} masuk dalam rentang 30-1000 ppm⁽¹⁷⁾.

Keberadaan senyawa metabolit sekunder dalam tanaman dapat dimanfaatkan sebagai agen biolarvasida dan antikanker. Hal tersebut berkaitan dengan senyawa yang terdapat dalam

ekstrak etanol daun kratom yaitu alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan terpenoid/steroid, dimana pada kadar tertentu memiliki potensi toksisitas serta dapat menyebabkan kematian larva *Artemia salina* Leach. Cara kerja senyawa-senyawa tersebut adalah dapat bertindak sebagai racun perut (*stomach poisoning*) yang mengganggu alat pencernaan larva dan menghambat reseptor perasa pada mulut larva. Akibatnya larva gagal mendapatkan stimulus rasa sehingga tidak mampu mengenali makanannya yang kemudian menyebabkan kematian larva *Artemia salina* Leach⁽¹³⁾.

KESIMPULAN

1. Nilai LC_{50} ekstrak etanol daun kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.) metode refluks sebesar 71,08 ppm lebih tinggi dibandingkan dengan metode maserasi sebesar 143,50 ppm.
2. Ekstrak etanol daun kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.) metode maserasi dan refluks bersifat toksik terhadap larva *Artemia Salina* Leach.

DAFTAR PUSTAKA

1. Agoes G., 2007, *Teknologi Bahan Alam*, Penerbit Institut Teknologi Bandung Press, Bandung.
2. Andarwulan, Nu., Kusnandar, F., dan Herawati, D., 2011, *Analisa Pangan*, PT. Dian Rakyat, Jakarta.
3. Apriliana, A., Handayani, F., dan Ariyanti, L., 2019, Perbandingan Metode Maserasi dan Refluks

- Terhadap Rendemen Ekstrak Daun Selutui Puka (*Tabernaemontana macrocarpa* Jack), *Jurnal Farmasi Galenika*, 6(1), 33-42.
4. Departemen Kesehatan RI., 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Departemen Kesehatan RI, Jakarta.
 5. Departemen Kesehatan RI., 2008, *Farmakope Herbal Indonesia*, Direktorat Jendral POM DepKes RI, Jakarta.
 6. Handayani, F., Sentat, T., dan Rahim, A. 2019, Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Selutui Puka (*Tabernaemontana macrocarpa* Jack) Pada Larva *Artemia salina* Leach, *Jurnal Dunia Farmasi*, 4(1), 1-7.
 7. Harmita dan Radji M., 2008, *Analisis Hayati*, Edisi III, Buku Kedokteran, Jakarta.
 8. Luliana, S., Robiyanto., dan Islamy, M.R., 2018, Aktivitas Antinosisseptis Fraksi Diklorometana Daun Kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.) Rute Oral Pada Mencit Jantan Swiss, *Pharmaceutical Sciences and Research (PSR)*. 5(2), 58 – 64.
 9. Panggabean, M. G. L., 1984, Teknik Penetasan dan Pemanenan *Artemia salina*, *Jurnal Oseana*, 11(2), 57 – 65.
 10. Raini M., 2017, Kratom (*Mitragyna speciosa* Korth): Manfaat, Efek Samping dan Legalitas, *Media Litbangkes*, 27(3), 175–184.
 11. Rahimah, S., BA Maryam, F., dan Limbong, B.A., 2019, Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Menggunakan Metode *Brine Shrimp Lethality Test*, *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*, 4(1), 10-14.
 12. Reskianingsih, A., 2014, Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Buah *Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl Terhadap Larva *Artemia salina* Leach Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), *Laporan Penelitian*, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.
 13. Sartinah, A., Yamin., Nurhasanah., Arbal, M., Akib N.I., dan Adjeng, A.N.T., 2020, Uji Toksisitas Akut Ekstrak dan Fraksi Kulit Batang Ketapang Laut (*Terminalia Catappa* L.) menggunakan Metode BSLT, *Jurnal Farmasi, Sains, dan Kesehatan*, 6(1), 42-47.
 14. Supomo., Supriningrum, R., dan Risaldi, J., 2016, Karakterisasi dan Skrining Fitokimia Daun Kerahau (*Calicarpa longifolia* Lamk), *Jurnal Kimia Mulawarman*, 15(02), 92.
 15. Wagner, J.G. 1993. *Pharmacokinetics for the pharmaceutical scientist*, Technomic Pub., Lancaster-Basel.
 16. Suryandari, P., 2018, Senyawa Sitotoksik dari Fraksi Diklorometana Daun Kratom (*Mitragyna speciosa*) Terhadap Sel Kanker Payudara T47D, *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 7(2), 1-7.
 17. Syahdana, N. L., Taufiqurrahman I., dan Wydiamala e., 2017, Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Binjai (*Mangifera caesia*) Terhadap Mortalitas Larva *Artemia salina* Leach, *Dentino Jurnal Kedokteran Gigi*, 1(1), 39 – 44.
 18. Voight., 1994, *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*, Diterjemahkan

- oleh S. Noerono, Yogyakarta, p. 577.
19. Wibowo, R. A., dan Kurniawan, A. A., 2020, Analisis Korelasi Dalam Penentuan Arah Antar Faktor Pada Pelayanan Angkutan Umum Di Kota Magelang, *Journal of Electrical Engineering, Computer and Information Technology*, 1(2), 2745-6412.
 20. Winarno M. Wien., Widowati L., dan Sundari D., 2015, Studi Keamanan Ramuan Jamu untuk Hiperurisemia dan Hipertensi, *Buletin Penelitian Kesehatan*, 43(3), 137-146.
 21. Yulia, M., Anggraini, R., dan Farizal., 2020, Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Metanol Buah Ketumbar (*Coriandrum sativum* Linn) Terhadap *Artemia Salina* Leach Dengan Uji BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*), *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 2(3), 137-146.
 22. Zuhri., 2020, Analisis Regresi Linier dan Korelasi menggunakan Pemrograman Visual Basic, *Jurnal Ilman: Jurnal Ilmu Manajemen*, 8(2), 42-50.