

Uji Toksisitas Ekstrak Etanol 96% Daun Gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lam.) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

Lusi Indriani^{1*}, Nurbaiti¹, Ayu Rahmawati¹, Anjela Lisfrania¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Riau

ABSTRACT

Agarwood leaves (*Aquilaria malaccensis* Lam.) are medicinal plants that potentially contain bioactive compounds. This study aimed to determine the secondary metabolite content and toxicity potential of the 96% ethanolic extract of agarwood leaves using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method. The study was conducted experimentally through plant identification, simplicia preparation, extraction by maceration using 96% ethanol, characterization of simplicia and extract, phytochemical screening, and toxicity testing on *Artemia salina* Leach larvae. Toxicity testing was carried out at concentrations of 10, 20, 50, 100, and 1000 ppm with three replications. The results showed that the extract contained flavonoids, alkaloids, saponins, steroids, and tannins. The characterization results showed total ash content of 7% in simplicia and 2.5% in extract, while drying shrinkage was 1% in simplicia and 28% in extract. Larva mortality increased with increasing extract concentration, namely 23.3%, 40.0%, 56.6%, 83.3%, and 96.6%. Probit analysis produced an LC₅₀ value of 31.925 µg/mL, indicating that the 96% ethanolic extract of agarwood leaves categorized as extremely high toxicity in the BSLT assay.

Article Information

Received: June, 1, 2026

Revised: June, 30, 2026

Available online: June, 30, 2026

Keywords :

agarwood leaves; *Aquilaria malaccensis*; phytochemical screening; toxicity; BSLT

Correspondence E-mail:

lusi.apoteker@gmail.com



INTRODUCTION

Daun gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lam.) dikenal sebagai salah satu tanaman yang dimanfaatkan masyarakat sebagai bahan pengobatan tradisional, termasuk untuk pencegahan atau penanganan penyakit tertentu (Setyaningrum & Saparinto, 2014). Tanaman ini dilaporkan memiliki kandungan metabolit sekunder fenol, steroid dan flavonoid yang berpotensi memberikan aktivitas biologis, sehingga menarik untuk diteliti lebih lanjut sebagai sumber senyawa alami (Septiani et al., 2018).

Salah satu tahap awal dalam penapisan senyawa bioaktif adalah pengujian toksisitas awal menggunakan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Metode ini menggunakan larva *Artemia salina* Leach sebagai bioindikator dan umum dipakai karena sederhana, cepat, dan relatif murah untuk skrining awal toksisitas ekstrak bahan alam (Meyer et al., 1982). Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan metabolit sekunder ekstrak etanol 96% daun gaharu dan menentukan nilai LC50 terhadap larva *A. salina* Leach.

MATERIAL AND METHODS

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada Maret sampai Agustus 2023 di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Kimia Farmasi Fakultas MIPA dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Riau. Sampel daun gaharu diperoleh dari Desa Mayang Pongkai, Kecamatan Kampar Kiri Tengah, Kabupaten Kampar, Provinsi Riau, dan identifikasi tumbuhan dilakukan di Herbarium Universitas Andalas.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan untuk penelitian ini adalah neraca analitik (Sonic®), saringan, vial, tabung reaksi (Iwaki®), spatula, blender (Philips®), Hotplate (B-One®), Rotary Evaporator (B-One®), rak tabung reaksi, cawan penguap (Iwaki®), Beaker glass (Pyrex®), gelas ukur 100 ml (Iwaki®), kaca arloji, batang pengaduk, pipet tetes, pipet ukur, Erlenmeyer 300 ml (Pyrex®), corong kaca, bejana untuk penetasan larva udang, labu ukur (Iwaki®), penjepit, pipet mikro, botol gelap, kertas saring, aluminium foil (Klinpak®), oven (Kirin®), Furnace (B-one®), dan lampu.

Bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah ekstrak etanol daun gaharu (*Aquilaria Malaccensis* Lam), etanol 96%, aquadest, NaCl 10%, pereaksi Mayer, Dragendorf, Bouchardat, Natrium Hidroksida 2N, serbuk magnesium, HCl, FeCl₃, kloroform, etil asetat, asam asetat anhidrat, H₂SO₄ pekat, NaCl, larva udang (*Artemia Salina leach*), ragi roti.

Pembuatan Simplisia dan Ekstrak

Daun gaharu segar dicuci, dirajang, dikeringkan, kemudian dihaluskan menjadi simplisia. Sebanyak 200 g simplisia dimaserasi menggunakan etanol 96% selama 3x24 jam dengan pengulangan tiga kali, kemudian filtrat diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental dan dihitung rendemennya (Miftahurrahmah et al., 2021).

Pemeriksaan Karakteristik Simplisia dan Ekstrak

Pemeriksaan karakteristik meliputi pengamatan organoleptik, skrining fitokimia, pemeriksaan kadar abu total dan susut pengeringan pada simplisia dan ekstrak. Skrining fitokimia dilakukan untuk mendeteksi flavonoid, alkaloid, saponin, steroid/terpenoid, dan tanin menggunakan pereaksi yang sesuai (Depkes, 2000).



Uji Toksisitas BSLT

Uji toksisitas BSLT dilakukan menggunakan larva *A. salina* Leach umur 48 jam pada konsentrasi 10, 20, 50, 100, dan 1000 ppm, masing-masing dengan 10 larva per vial dan tiga kali pengulangan. Mortalitas diamati setelah 24 jam, kemudian dihitung jumlah larva yang mati dari tiap vial. Data dianalisis dengan metode probit menggunakan Microsoft Excel untuk memperoleh nilai LC50 (Frengki et al., 2014).

RESULT AND DISCUSSION

Hasil Pembuatan Simplisia dan Ekstrak

Berdasarkan hasil identifikasi, sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun gaharu *Aquilaria malaccensis* Lam. dari suku Thymelaeaceae. Proses ekstraksi 200 g simplisia dengan etanol 96% menghasilkan ekstrak kental sebanyak 45,07 g dengan rendemen sebesar 22,53%. Hasil ini lebih tinggi dibanding penelitian Indriani et al (2024) dengan rendemen ekstrak 18,49%. Secara organoleptik simplisia yang diperoleh berwarna hijau, berbau khas, bertekstur halus, dan memiliki rasa pahit.

Hasil Pemeriksaan Karakteristik Simplisia dan Ekstrak

Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa simplisia dan ekstrak etanol 96% daun gaharu positif mengandung flavonoid, alkaloid, saponin, steroid, dan tannin (Tabel 1). Hal ini sejalan dengan penelitian lain bahwa ekstrak etanol 96% daun gaharu positif mengandung senyawa flavonoid, saponin, tanin, dan glikosida (Fitriani et al., 2019). Temuan ini mendukung dugaan bahwa daun gaharu memiliki komponen bioaktif yang berpotensi memberikan aktivitas farmakologis, termasuk aktivitas toksik awal pada pengujian BSLT. Senyawa seperti flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid berpotensi berkontribusi terhadap aktivitas biologis dan sitotoksik.

Tabel 1. Hasil Skrinning Fitokimia Daun Gaharu

No	Kandungan	Pereaksi	Hasil reaksi	Daun Gaharu	
				Simplisia	Ekstrak
1.	Flavonoid	NaOH	Larutan Berwarna yang signifikan	+	+
2.	Alkaloid	Bouchardat	Endapan coklat	-	-
		Mayer	Endapan putih	+	+
		Dragendrof	Endapan merah, larutan coklat	+	+
3.	Saponin	Aquadest	Berbusa	+	+
4.	Terpenoid/ Steroid	Asam asetat anhidrat dan H ₂ SO ₄	Larutan merah dan hijau gelap	+	+
5.	Tanin	FeCl ₃ 10%	Larutan hijau kebiruan	+	+

Karakterisasi simplisia dan ekstrak menunjukkan bahwa kadar abu total simplisia adalah 7% dan kadar abu total ekstrak adalah 2,5%, sedangkan susut pengeringan simplisia



adalah 1% dan susut pengeringan ekstrak adalah 28%. Nilai-nilai tersebut dinyatakan masih memenuhi persyaratan mutu untuk simplisia dan ekstrak (Kemenkes, 2022). Data ini penting karena memberikan gambaran mutu awal bahan dan ekstrak sebelum dilakukan pengujian aktivitas. Tabel 2 menunjukkan hasil karakteristik simplisia dan ekstrak daun gaharu.

Tabel 2. Hasil Penetapan Karakteristik Simplisia dan Ekstrak

No	Karakteristik Simplisia	Sampel	Hasil (%)	Persyaratan (%)
1.	Kadar abu total	Simplisia	7 %	≤10%
		Ekstrak	2,5%	≤15%
2.	Kadar susut pengeringan	Simplisia	1 %	≤10%
		Ekstrak	28 %	≤30%

Hasil Uji Toksisitas BSLT

Pada uji toksisitas BSLT, persentase kematian larva meningkat seiring peningkatan konsentrasi ekstrak, yaitu 23,3% pada 10 ppm, 40,0% pada 20 ppm, 56,6% pada 50 ppm, 83,3% pada 100 ppm, dan 96,6% pada 1000 ppm. Pola ini menunjukkan adanya hubungan dosis-respons yang jelas antara peningkatan konsentrasi ekstrak dan mortalitas larva *A. salina* Leach. Hasil Analisa probit yang diperoleh memperlihatkan hubungan linear yang kuat, dengan intersep 1,2574, slope 3,1087, dan koefisien korelasi 0,9631. Tabel 3 menunjukkan data mortalitas larva pada berbagai konsentrasi ekstrak.

Tabel 3. Data Mortalitas Larva pada Berbagai Konsentrasi Ekstrak

No	Konsentrasi (ppm)	Jumlah Larva	Mortalitas larva			Mortalitas (%)
			P1	P2	P3	
1.	10	10	2	3	2	23,3
2.	20	10	4	4	4	40,0
3.	50	10	5	6	6	56,6
4.	100	10	8	8	9	83,3
5.	1000	10	9	10	10	96,6

Berdasarkan analisis probit, nilai LC₅₀ ekstrak etanol 96% daun gaharu adalah 31,925 µg/mL. Dalam klasifikasi toksisitas, nilai LC₅₀ pada rentang 30-100 µg/mL termasuk kategori toksisitas sangat kuat (Meyer et al., 1982), sehingga ekstrak ini dapat dinyatakan toksik terhadap larva *A. salina* Leach. Hasil ini berbeda dengan nilai yang didapatkan pada sampel daging buah gaharu, dimana daging buah gaharu lebih toksik yaitu LC₅₀ 11,282 µg/ml (Imran et al., 2021).

Dengan nilai LC₅₀ sebesar 31,925 µg/ml menunjukan bahwa ekstrak daun gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lam) bersifat toksik terhadap larva *Artemia Salina* Leach. Senyawa bahwa fenolik, flavonoid dan tanin pada kadar tertentu memiliki potensi toksisitas dan dapat menyebabkan kematian larva. Mekanisme kematian larva berhubungan dengan fungsi senyawa fenolik, flavonoid dan tanin yang dapat menghambat daya makan larva (Muaja et al., 2013). Secara ilmiah, aktivitas toksik awal ini dapat dikaitkan dengan kandungan metabolit sekunder yang terdeteksi pada ekstrak daun yaitu flavonoid, tanin, saponin dan alkaloid. Senyawa flavonoid yang telah berhasil diisolasi dari berbagai tumbuhan diketahui mempunyai aktivitas biologi seperti bersifat



toksik terhadap sel kanker (Hidayah et al., 2023). Tanin merupakan senyawa polifenol yang bekerja sebagai antioksidan kuat, dan dapat melindungi sel tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas, membantu mencegah pembentukan tumor, dan merangsang sel kanker untuk mati secara alami melalui proses apoptosis (Amin & Assafa, 2025). Alkaloid memiliki potensi antikanker karena senyawa alkaloid ini mampu menghambat sintesis protein dalam ribosom dan mitokondria pada beberapa kultur sel kanker. Sejumlah besar terpenoid menunjukkan sitotoksitas terhadap berbagai sel tumor dan pencegahan kanker serta memiliki kemanjuran sebagai antikanker pada model hewan praklinis (Amin et al., 2025).

CONCLUSION

Ekstrak etanol 96% daun gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lam.) mengandung flavonoid, alkaloid, saponin, steroid, dan tanin, serta menunjukkan aktivitas toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan nilai LC50 sebesar 31,925 ug/mL (kategori toksisitas sangat kuat).

ORCID

Penulis yang memiliki ORCID ID

LUSI INDRIANI: <https://orcid.org/0000-0001-8473-7998>

REFERENCES

- Amin, S., & Assafa, Z. (2025). Peran Senyawa Polifenol dalam Mekanisme Antioksidan : Tinjauan dari Aspek Kimia Medisinal. *Jurnal Ilmiah Ilmu Kesehatan*, 3(2), 822–832.
- Amin, S., Supriatna, G. T., Ardian, M. I., & Iqmal, M. (2025). *Potensi Senyawa Turunan Terpenoid sebagai Agen Anti- Kanker (The Potential of Terpenoid Derivatives as Anti-Cancer Agents)*. 5(1), 1–9.
- Depkes, R. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tanaman Obat*. . Departemen Kesehatan RI.
- Fitriani, N., Erlyn, P., Farmakologi, D., Kedokteran, F., & Muhammadiyah, U. (2019). *Aktivitas Antidiabetik Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Ciplukan (Physalis angulata) dan Daun Gaharu (Aquilaria malaccensis) pada Tikus Diabetes Pendahuluan Diabetes melitus merupakan penyakit*. 9(2).
- Frengki, Roslizawati, & Pertiwi, D. (2014). Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Sarang Semut Lokal Aceh (*Myrmecodia* sp.) dengan Metode BSLT Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach. *Medika Veterinaria*, 8(1), 60–62.
- Hidayah, H., Widyaningsih, A., Pangestu, A. D., & Ratna, S. (2023). Literatur Review: Flavonoid Activity as An Anti-cancer Compound. *MAHESA: Malahayati Health Student Journal*, 3(5), 1255–1263.
- Imran, Nurlian, Kadir, L. A., Agus, L., & Ruslan. (2021). Penyarian Konstituen Organik Daging Buah Gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk.) dengan Metode Maserasi Berbantu Microwave dan Uji Aktivitas Sebagai Antioksidan. *Kovalen: Jurnal Riset Kimia*, 7(1), 42–50.



- Indriani, L., Hari, D. G., Natasya, A., & Putri, N. (2024). Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 96 % Daun Gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lam) dengan Spektrofotometer UV-Vis. *Journal of Pharmacy UMRI*, 2(1), 26–35.
- Kemenkes. (2022). *FARMAKOPE HERBAL INDONESIA* (2nd ed.). Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. E., & McLaughlin, J. L. (1982). Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica*, 45(5), 31–34. <https://doi.org/10.1055/s-2007-971236>
- Miftahurrahmah, Ulia, H., & H, H. N. (2021). Pengaruh Ukuran Partikel, Perbandingan Jumlah Pelarut dan Waktu Maserasi terhadap Perolehan Rendemen *Aquilaria Malaccensis* Lam. *REACTOR Journal of Research On Chemistry And Engineering*, 2(2), 54.
- Muaja, A. D., Koleangan, H. S. J., & 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 Universitas Sam Ratulangi*, 2(2), 115.
- Septiani, N. K. A., Parwata, I. M. O. A., & Putra, A. A. B. (2018). Penentuan Kadar Total Fenol, Kadar Total Flavonoid dan Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*). *Wahana Matematika Dan Sains: Jurnal Matematika, Sains, Dan Pembelajarannya*, 12(1), 78–89.
- Setyaningrum, H. D., & Saparinto, C. (2014). *Panduan Lengkap GAHARU* (B. Prasetya W. & T. Kamal (eds.)). Jakarta: Penebar Swadaya.