

Toksitas Daun Mint (*Mentha arvensis*) Terhadap Larva Udang (*Artemia salina Leach*)

Arien Puspa Retno¹, Surahmaida^{2*}

^{1,2*}Program Studi Farmasi, Akademi Farmasi Surabaya, Surabaya, Indonesia

Email: ¹arien123retno@gmail.com, ²fahida1619@gmail.com

Abstract

Medicinal plant are part of the flora that grows and is widespread in Indonesia, one of which is mint (*Mentha arvensis*). Mint plant is an aromatic herbaceous plant that is widely used for air freshener, as a food garnish, and medicine. However, few studies have tested the toxicity of mint leaves. To achieve safe treatment, many studies have been carried out in pharmacological and toxicity testing of medicinal plants. The toxicity test of these medicinal plants uses the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method after 24 hours of exposure to the sample being tested. This study aimed to determine the toxicity of mint leaves (*Mentha arvensis*) to shrimp larvae (*Artemia salina Leach*). Mint leaf extract was obtained from a 24-hour maceration extraction process using 96% ethanol as a solvent. Toxicity test were carried out using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method with a concentration of 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm ad 5 ppm. The percentage of deaths of shrimp larvae was calculated and calculation of LC₅₀ value using Probit analysis. The LC₅₀ value was obtained 3,5223 ppm and its categorized as very toxic to shrimp larvae because LC₅₀ < 30 ppm. It can be concluded that mint leaves (*Mentha arvensis*) can be used as a candidate to be developed as an anti-cancer drug.

Keywords: Mint Leaf, Toxicity, Shrimp Larvae

Abstrak

Tanaman obat merupakan bagian dari flora yang tumbuh dan tersebar luas di Indonesia, salah satunya tanaman mint (*Mentha arvensis*). Tanaman mint merupakan tanaman herba aromatik yang banyak digunakan untuk pengharum ruangan, sebagai penghias makanan, dan pengobatan. Namun, masih sedikit penelitian yang menguji toksitas daun mint. Untuk mencapai pengobatan yang aman, maka banyak penelitian yang dilakukan dalam pengujian farmakologis dan toksitas dari tanaman obat. Pengujian toksitas tanaman obat ini menggunakan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) setelah 24 jam paparan sampel yang diuji. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui toksitas daun mint (*Mentha arvensis*) terhadap larva udang (*Artemia salina Leach*). Ekstrak daun mint diperoleh dari proses ekstraksi maserasi 24 jam menggunakan pelarut etanol 96%. Uji toksitas dilakukan menggunakan metode dengan konsentrasi 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm dan 5 ppm. Dilakukan perhitungan persentase kematian larva udang dan perhitungan nilai LC₅₀ menggunakan analisa Probit. Didapatkan nilai LC₅₀ sebesar 3,5223 ppm dan dikategorikan sangat toksik terhadap larva udang karena LC₅₀ < 30 ppm. Dapat disimpulkan bahwa daun mint (*Mentha arvensis*) dapat dijadikan sebagai kandidat untuk dikembangkan sebagai obat anti kanker.

Kata Kunci: Daun Mint, Toksisitas, Larva Udang

1. PENDAHULUAN

Penggunaan tanaman sebagai obat merupakan metode tertua dan teraman untuk menyembuhkan berbagai penyakit. Salah satunya adalah tanaman mint anggota dari suku Lamiaceae. Tanaman Mint (*Mentha arvensis*) merupakan tanaman aromatik dan kaya akan kandungan minyak atsiri. Bagian yang umum digunakan adalah bagian

daunnya. Daun mint banyak digunakan untuk mengobati penyakit hati dan limpa, asma dan penyakit kuning (Akram et al., 2011), dan sebagai bahan baku dalam industri farmasi, kosmetik dan penyedap rasa. *Mentha arvensis* biasanya dikenal sebagai *Pudina*, *menthol mint*, atau *corn mint* (Saleem & Idris, 2016).

Pencarian obat baru yang berasal dari tumbuhan telah mendapat perhatian baru di kalangan peneliti di seluruh dunia. Tumbuhan dijadikan sebagai obat tradisional karena kaya akan kandungan metabolit sekunder yang terbukti memiliki aktivitas biologis dan farmakologis yang menarik dan menjadi titik awal dalam pengembangan obat-obatan modern. Saat ini, banyak dilakukan penelitian yang berfokus pada pengujian farmakologis dan toksitas tanaman obat yang digunakan oleh manusia dengan tujuan untuk mendapatkan pengobatan yang aman dengan produk tanaman (Hamidi et al., 2014).

Berdasarkan penelusuran literatur, masih belum banyak penelitian terhadap daun mint (*Mentha arvensis*) tentang pengujian toksitasnya terhadap larva udang. Hasil penelitian (Naidu et al., 2014), menunjukkan ekstrak metanol 80% daun mint (*Mentha spicata*) menghasilkan nilai LC₅₀ sebesar 1701 ppm dan dikategorikan tidak toksik terhadap larva udang. Selain itu, minyak atsiri *Mentha arvensis* menghasilkan nilai LC₅₀ 139,73 ppm (toksik) (Yousuf et al., 2021).

Oleh sebab itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui toksitas daun mint (*Mentha arvensis*) yang diekstrak dengan pelarut etanol 96% menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Diharapkan dari hasil penelitian ini dapat dijadikan acuan untuk penelitian bioaktivitas selanjutnya.

2. METODOLOGI PENELITIAN

2.1 Tahapan Penelitian

2.1 Baham

Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian adalah serbuk halus daun mint (*Mentha arvensis*) yang diperoleh di UPT Laboratorium Materia Medika Batu Malang, Jawa Timur. Untuk larva udang (*Artemia salina* Leach) diperoleh di daerah Lamongan Jawa Timur.

2.2 Metode Penelitian

Prosedur penelitian ini dilakukan sesuai dengan metode penelitian (Yousuf et al., 2021; Granatum et al., 2018) dengan beberapa modifikasi.

1. Proses Ekstraksi

Sebanyak 100 gram serbuk halus daun mint (*Mentha arvensis*) dimasukkan ke dalam toples kaca, lalu ditambahkan 800 ml pelarut etanol 96%. Proses perendaman (maserasi) dilakukan selama 24 jam. Setelah 24 jam, disaring dan diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C hingga didapatkan ekstrak kental.

2. Perhitungan Rendemen Ekstrak Daun Mint

Setelah di-*evaporator*, ekstrak kental yang diperoleh ditimbang beratnya untuk mengetahui nilai rendemen ekstrak daun mint tersebut. Perhitungan nilai rendemen ekstrak etanol 96% daun mint (*Mentha arvensis*) menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak kental (gram)}}{\text{berat sampel (gram)}} \times 100\%$$

3. Proses Penetasan Larva Udang

Sebanyak 0,25 gram telur larva udang (*Artemia salina*) ditetaskan ke dalam wadah plastic transparan yang berisi 500 ml air laut. Wadah tersebut disimpan di tempat dengan pencahayaan cukup selama 48 jam. Larva udang siap digunakan untuk uji BSLT pada umur 48 jam, karena pada umur ini anggota tubuh larva sudah lengkap.

4. Pembuatan Konsentrasi

Sebelum pembuatan konsentrasi, terlebih dahulu dibuat larutan induk 100 ppm dengan cara melarutkan 10 mg ekstrak etanol 96% daun mint ke dalam air laut *ad* 100 ml dalam labu ukur. Diaduk rata dan *di-vortex* hingga homogen. Kemudian dari larutan induk 100 ppm tersebut, dibuat konsentrasi sebesar 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, dan 5 ppm.

Adapun contoh pembuatan konsentrasi 1 ppm diperoleh dari 0,1 ml larutan induk ditambahkan 9,9 ml air laut ke dalam tabung reaksi, dan seterusnya. Sedangkan untuk kontrol, hanya dengan menambahkan 10 ml air laut tanpa penambahan larutan uji.

5. Uji Toksisitas

Uji toksisitas dilakukan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Sebanyak 18 tabung reaksi disiapkan, dimana pada 15 tabung reaksi masing-masing diisi air laut + larutan uji sesuai konsentrasi yang digunakan (1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, dan 5 ppm) + 10 ekor larva udang *Artemia salina* yang berumur 48 jam.

Untuk kontrol (0 ppm), tabung reaksi uji hanya berisi air laut dan larva udang tanpa penambahan larutan uji (larutan ekstrak). Tujuan dari penggunaan air laut sebagai untuk mengetahui respon kematian larva udang benar-benar berasal dari ekstrak daun mint (*Mentha arvensis*) atau menghilangkan pengaruh lain di luar ekstrak uji yang dapat menyebabkan kematian larva udang.

Masing-masing perlakuan dilakukan 3 replikasi agar data yang didapatkan lebih akurat. Total larva udang yang digunakan pada penelitian ini adalah 30 ekor untuk 1 kelompok dengan 3 kali pengulangan, sehingga total larva udang yang digunakan untuk 5 kelompok uji + 1 kelompok kontrol sebanyak 180 ekor. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam dan dihitung jumlah larva udang yang mati pada tiap konsentrasi.

2.3 Analisis Data

Setelah didapatkan jumlah larva udang yang mati, di rata-rata dan dilakukan perhitungan persentase kematian (mortalitas) larva udang menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ kematian} = \frac{\text{jumlah larva mati}}{\text{jumlah larva uji}} \times 100\%$$

Namun, apabila ada larva udang yang mati pada kontrol, maka rumus perhitungan persentase kematian ditentukan dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ kematian} = \frac{\text{jumlah larva uji yang mati} - \text{jumlah larva mati pada kontrol}}{\text{jumlah larva uji}} \times 100\%$$

Selanjutnya dihitung nilai log konsentrasi terhadap nilai Probit. Setelah itu, ditentukan persamaan regresi linier yaitu hubungan antara nilai Probit dengan log konsentrasi

($Y=ax+b$) dengan memasukkan nilai 5 (probit dari 50% kematian larva udang) pada persamaan garis linier, pada nilai Y. Kemudian nilai X di-antilog sehingga didapatkan nilai LC₅₀.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari proses ekstraksi maserasi 24 jam dan dilakukan penyaringan, didapatkan filtrat sebesar 480 ml. Filtrat (hasil maserasi) tersebut kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental sebesar 3,37 gram. Dari hasil perhitungan, didapatkan rendemen ekstrak daun mint (*Mentha arvensis*) sebesar 3,37%. Hasil rendemen dalam penelitian ini diperlukan untuk mengetahui banyaknya ekstrak daun mint yang diperoleh selama proses ekstraksi maserasi. Nilai rendemen juga berkaitan dengan banyaknya kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam ekstrak tanaman tersebut.

Nilai rendemen ekstrak daun mint sebesar 3,37% ini dikategorikan masih sedikit, karena kurang dari 10%. Rendemen dikatakan baik apabila nilai rendemennya lebih dari 10%. Faktor yang mempengaruhi rendemen yang diperoleh sedikit kemungkinan disebabkan dari lama waktu proses ekstraksi maserasi yang pada penelitian ini hanya selama 24 jam. Menurut Mardina et al., (2011), semakin lama waktu ekstraksi yang digunakan maka rendemen yang diperoleh juga akan semakin tinggi. Hal ini dikarenakan adanya reaksi antara sampel tanaman dengan pelarut, sehingga semakin lama waktu ekstraksi menyebabkan proses penetrasi pelarut ke dalam sampel menjadi semakin baik karena senyawa metabolit sekunder yang berdifusi ke luar sel juga akan semakin banyak. Selain itu, metode ekstraksi yang digunakan juga berpengaruh terhadap hasil rendemen yang diperoleh.

Setelah diperoleh ekstrak etanol 96% daun mint (*Mentha arvensis*), selanjutnya dilakukan pembuatan larutan induk dengan konsentrasi 100 ppm sebanyak 100 ml dan dibuat pengenceran untuk pembuatan konsentrasi 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm dan 5 ppm. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui toksisitas tanaman obat daun mint (*Mentha arvensis*) terhadap larva udang (*Artemia salina* Leach) menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dengan konsentrasi yang bervariasi. Menurut Gadir, (2012), BSLT merupakan bioassay yang cepat, murah dan sederhana untuk menguji toksisitas ekstrak tanaman menggunakan larva udang dan hasilnya berkorelasi dengan sifat sitotoksik dan anti-tumor.

Penggunaan larva udang (*Artemia salina* Leach) sebagai hewan uji karena memiliki sensitivitas yang tinggi terhadap berbagai senyawa kimia. Larva udang memiliki membran kulit yang tipis, sehingga kematian suatu larva akibat efek toksik dari senyawa bioaktif dapat dianalogikan dengan kematian sebuah sel dalam organisme. Selain itu, perumbuhan larva udang sangat cepat sehingga menyerupai laju pertumbuhan sel kanker (Ntungwe et al., 2020; Kumala & Sapitri, 2011).

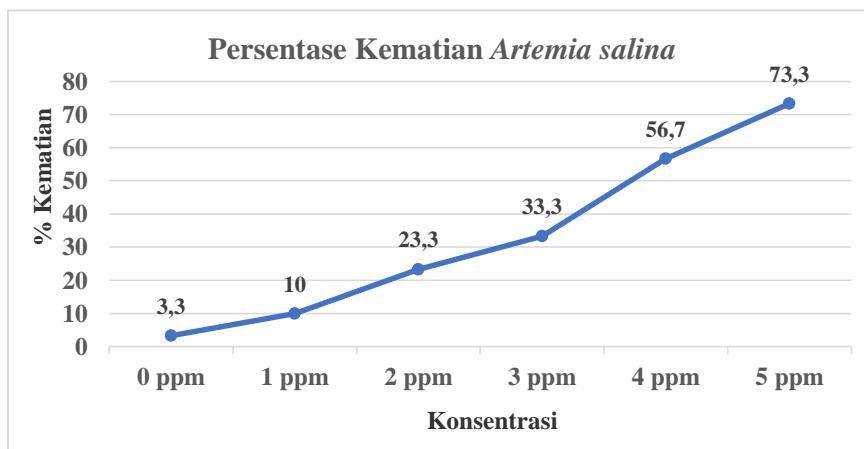
Parameter adanya toksisitas suatu ekstrak terhadap larva udang dilihat dari jumlah larva udang yang mati setelah dilakukan pempararan selama 24 jam. Dari Tabel 1 menunjukkan bahwa kematian larva udang terendah pada konsentrasi 1 ppm yaitu 10% dan kematian tertinggi terletak pada 5 ppm yaitu 73,3%. Pada kontrol, terdapat kematian larva udang. Hal ini kemungkinan disebabkan kondisi fisiologis larva udang saat dipindahkan dari tempat pemijahan ke tempat uji.

Dari hasil pengujian (Tabel 1), didapatkan hasil kematian larva udang pada tiap konsentrasi sebagai berikut:

Tabel 1. Jumlah larva udang yang mati pada tiap konsentrasi

Replikasi	Konsentrasi					
	0 ppm (kontrol)	1 ppm	2 ppm	3 ppm	4 ppm	5 ppm
	mati	mati	mati	mati	Mati	Mati
1	1	1	2	4	6	8
2	0	3	3	3	6	7
3	0	0	3	4	6	8
Total	1	4	8	11	18	23
Rata-rata	0,33	1,33	2,67	3,67	6	7,67
% Kematian	3,3%	10%	23,3%	33,3%	56,7%	73,3%

Adapun persentase kematian larva udang *Artemia salina* disajikan pada Grafik 1 dibawah ini.



Grafik 1. Persentase Kematian Larva Udang (*Artemia salina* Leach)

Berdasarkan Grafik 1, menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka kematian larva udang semakin tinggi. Pada kontrol (0 ppm) terdapat kematian larva sebesar 3,3%, dan terjadi peningkatan persentase kematian larva udang seiring meningkatnya konsentrasi. Tingkat persentase kematian larva udang yang tertinggi terjadi pada konsentrasi 5 ppm (73,3%). Semakin tinggi konsentrasi ekstrak, maka semakin banyak kandungan senyawa kimia didalamnya, sehingga memberikan pengaruh toksik terhadap larva udang. Pada kontrol (0 ppm) terdapat larva udang yang mati. Hal ini kemungkinan disebabkan kondisi fisiologis larva udang saat dipindahkan dari tempat pemijahan ke tempat uji.

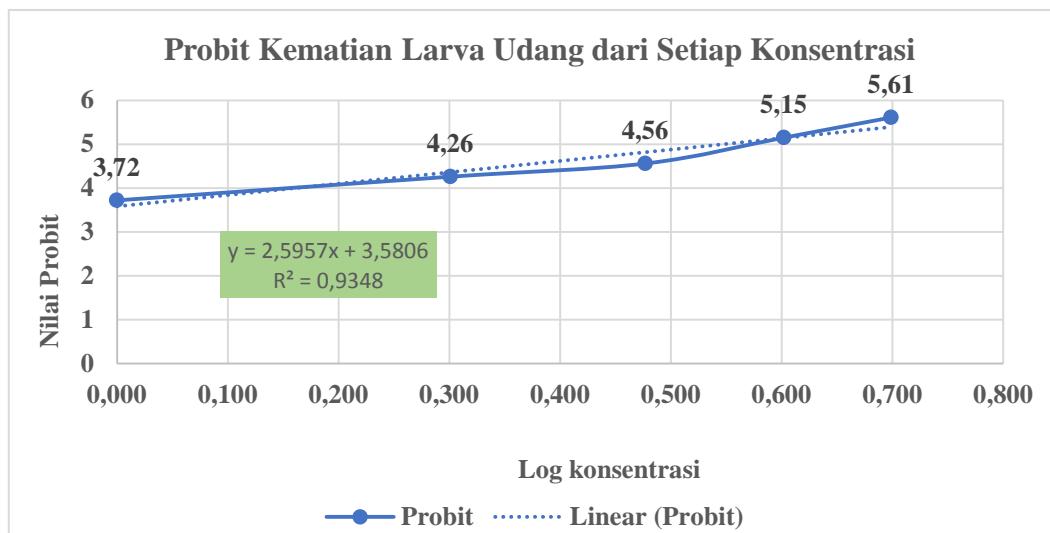
Dari data persentase kematian larva udang, kemudian ditentukan nilai probit (Y) dengan mencocokkan pada Tabel *Transformation of percentages to probits* (Tabel Transformasi persentase ke nilai probit). Hasil perhitungannya ditunjukkan pada Tabel 2 di bawah ini:

Tabel 2. Penentuan Nilai X (Log Konsentrasi) dan Nilai Probit (Y)

Konsentrasi (ppm)	Log konsentrasi (X)	Probit (Y)	% Kematian	X ²	Y ²	XY
1 ppm	0.000	3.72	10%	0	13.84	0
2 ppm	0.301	4.26	23.3%	0.09	18.15	1.28

3 ppm	0.477	4.56	33.3%	0.23	20.79	2.17
4 ppm	0.602	5.15	56.7%	0.36	26.52	3.1
5 ppm	0.699	5.61	73.3%	0.49	31.47	3.92

Dari Tabel 2 tersebut, dapat ditarik garis lurus persamaan $Y = ax+b$ sehingga didapatkan persamaan regresi linier yang dapat dilihat dibawah ini (Grafik 2) :



Grafik 2. Kematian Larva Udang dari setiap konsentrasi

Hasil dari pengujian toksisitas dinyatakan dalam bentuk LC₅₀ (Lethal Concentration-50), dimana nilai LC₅₀ merupakan konsentrasi yang dapat membunuh 50% hewan uji dari semua populasi hewan uji setelah waktu pemaparan 24 jam. Apabila nilai LC₅₀ yang diperoleh kecil, maka ekstrak tanaman tersebut memiliki aktivitas biologis untuk dikembangkan sebagai bahan baku anti kanker (Joshi & Karna, 2013).

Dari Grafik 2, terdapat hubungan antara log konsentrasi (X) dan nilai probit (Y) pada persamaan regresi $Y = bX + a$ dimana $Y = 5$ yaitu nilai probit dari LC₅₀, maka nilai $a = 3,5806$, $b = 2,5957$, $r = 0,9348$ sehingga diperoleh hasil $X = 0,5468$ maka nilai LC₅₀ adalah Antilog 0,5468 sebesar 3,5223 ppm. Hasil tersebut menunjukkan daun mint (*Mentha arvensis*) yang diekstrak dengan pelarut etanol 96% bersifat sangat toksik terhadap larva udang (*Artemia salina* Leach), karena memiliki nilai LC₅₀ < 30 ppm.

Hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian sebelumnya, dimana ekstrak metanol 80% daun mint (*Mentha spicata*) pada konsentrasi 100-0,07 µg/ml menghasilkan nilai LC₅₀ sebesar 1701 ppm dan dikategorikan tidak toksik terhadap larva udang (Naidu et al., 2014), minyak atsiri *Mentha arvensis* menghasilkan nilai LC₅₀ 139,73 ppm (toksik) (Yousuf et al., 2021) dan pada ekstrak etanol 95% daun mint (*Mentha arvensis*) dengan konsentrasi 75 µg/ml, 100 µg/ml, 125 µg/ml, 250 µg/ml, 250 µg/ml dan 1000 µg/ml didapatkan nilai LC₅₀ sebesar 100 µg/ml (100 ppm) (da Costa et al., 2009). Sedangkan pada penelitian ini yaitu ekstrak etanol 96% daun mint (*Mentha arvensis*) pada konsentrasi 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm dan 5 ppm didapatkan nilai LC₅₀ sebesar 3,5223 ppm dan dikategorikan sangat toksik.

Hasil toksisitas daun mint yang berbeda tersebut kemungkinan disebabkan lokasi tanaman yang diperoleh berbeda, jenis pelarut yang berbeda, konsentrasi berbeda,

metode ekstraksi dan lama waktu ekstraksi yang juga berbeda. Lokasi tempat tumbuhnya sampel yang digunakan kemungkinan juga mempengaruhi kandungan senyawa metabolit sekunder di dalam tanaman tersebut, sehingga toksisitas yang dihasilkan juga berbeda.

Hasil toksisitas daun mint yang sangat toksik ini dapat dijadikan sebagai acuan awal untuk pengujian toksisitas selanjutnya untuk dikembangkan sebagai kandidat obat anti kanker. Tentunya dalam pengembangan obat anti kanker, perlu pengujian yang berkelanjutan.

4. KESIMPULAN

Dari hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa nilai rendemen dari daun mint (*Mentha arvensis*) yang diekstrak dengan pelarut etanol 96% menggunakan maserasi 24 jam diperoleh 3,37%. Hasil pengujian toksisitas daun mint terhadap larva udang (*Artemia salina* Leach) dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) menunjukkan sifat yang sangat toksik terhadap larva udang karena diperoleh nilai LC₅₀ sebesar 3,5223 ppm.

REFERENCES

- Akram, M., Uzair, M., Malik, N. S., Mahmood, A., Sarwer, N., Madni, A., & Asif, H. M. (2011). *Mentha arvensis* linn.: A review article. *Journal of Medicinal Plant Research*, 5(18), 4499–4503.
- da Costa, J. G., Nascimento, E. M. do, Rodrigues, F. F., & Campos, A. (2009). Phytochemical prospection, toxicity and antimicrobial activity of *Mentha arvensis* (labiateae) from Northeast of Brazil. *Journal of Young Pharmacists*, 1(3), 210. <https://doi.org/10.4103/0975-1483.57066>
- Gadir, S. A. (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.
- Granatum, X., Selatan, S., Banyuasin, P., & Prosedur, S. S. (2018). *A. marina* , *R. mucronata* , *S. alba*. 18(1), 91–103.
- Joshi, S., & Karna, A. K. (2013). Analysis of Phytoconstituents and Cytotoxic Activities of Different Parts of *Ocimum sanctum*. *International Journal of Applied Sciences and Biotechnology*, 1(3), 137–144. <https://doi.org/10.3126/ijasbt.v1i3.8609>
- Kumala, S., & Sapitri, D. W. (2011). Phytochemical Screening and Toxicological Evaluation Using Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) of Some Fractions of Prasman Leaves (*Eupatorium triplinerve* V) Extract. *Indonesian Journal of Cancer Chemoprevention*, 2(1), 193. <https://doi.org/10.14499/indonesianjcanchemoprev2iss1pp193-197>
- Mardina, P., Astarina, E., & Aquarista, S. (2011). Pengaruh Kecepatan Putar Pengaduk Dan Waktu Operasi Pada Ekstraksi Tannin Dari Mahkota Dewa. *Jurnal Kimia*, 5(2), 125–132.
- Naidu, J. R., Ismail, R., & Sasidharan, S. (2014). Acute oral toxicity and brine shrimp lethality of methanol extract of *Mentha spicata* L (Lamiaceae). *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 13(1), 101–107. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v13i1.15>
- Ntungwe N, E., Domínguez-Martín, E. M., Roberto, A., Tavares, J., Isca, V. M. S., Pereira, P., Cebola, M.-J., & Rijo, P. (2020). Artemia species: An Important Tool to Screen General Toxicity Samples. *Current Pharmaceutical Design*, 26(24), 2892–2908. <https://doi.org/10.2174/138161282666200406083035>
- R. Hamidi, M., Jovanova, B., & Kadifkova Panovska, T. (2014). Toxicological evaluation of the plant products using Brine Shrimp (*Artemia salina* L.) model. *Macedonian Pharmaceutical Bulletin*, 60(01), 9–18. <https://doi.org/10.33320/maced.pharm.bull.2014.60.01.002>
- Saleem, M. N., & Idris, M. (2016). Podina (*Mentha arvensis*): Transformation from Food Additive to Multifunctional Medicine. *ARC Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2(2), 6–15.

<https://doi.org/10.20431/2455-1538.0202002>

- Yousuf, T., Akter, R., Ahmed, J., Mazumdar, S., Talukder, D., Nandi, N. C., & Nurulamin, M. (2021). Evaluation of acute oral toxicity, cytotoxicity, antidepressant and antioxidant activities of Japanese mint (*Mentha arvensis* L.) oil. *Phytomedicine Plus*, 1(4), 100140. <https://doi.org/10.1016/j.phyplu.2021.100140>