

Toksisitas Akut Tiga Jenis Bunga Suku Apocynaceae Menggunakan Embrio Ikan Zebra (*Danio Rerio*)

*Acute Toxicity of Three Flower Species from the Apocynaceae Family Using Zebrafish (*Danio rerio*) Embryos*

Nita Yulianti^{1*}

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Jenderal Achmad Yani

*email korespondensi: nita.yulianti@lecture.unjani.ac.id

Info Artikel

Diterima:
23 Juli 2026
Direvisi:
5 Oktober 2026
Disetujui:
5 Oktober 2026
Dipublikasikan:
25 Oktober 2026

Kata kunci:

Apocynaceae, bunga,
embrio ikan zebra,
toksisitas akut

Keywords:

Acute toxicity,
Apocynaceae, Flower,
zebrafish embryo

Hak Cipta: © 2026

Nita Yulianti.



This is an open access article under the [CC BY-NC 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) license.

ABSTRAK

Latar belakang: Suku apocynaceae merupakan suku tumbuhan yang mempunyai banyak manfaat dalam mengobati penyakit, suku tumbuhan ini telah digunakan sebagai sumber pengobatan secara tradisional maupun modern. Beberapa genus dari suku apocynaceae menghasilkan tanaman beracun, spesies dari genus tersebut diantaranya bintaro (*Cerbera odolam*), kamboja merah (*Plumeria rubra*) dan ginje (*Thevetia peruviana*). Spesies *Cerbera odolam*, *Plumeria rubra* dan *Thevetia peruviana* telah dilaporkan mengandung senyawa toksik yang berbahaya pada bagian-bagian tanamannya

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui toksisitas akut tiga jenis bunga tanaman suku apocynaceae spesies *Cerbera odolam*, *Plumeria rubra* dan *Thevetia peruviana* menggunakan embrio ikan zebra (*Danio rerio*).

Metode: Metode penelitian mengacu pada pedoman OECD No. 236 tentang pengujian toksisitas akut menggunakan embrio ikan (*Fish Embryo Acute Toxicity Test*). *Fish Embryo Acute Toxicity Test* merupakan metode alternatif yang telah diakui secara internasional karena kepraktisannya, sensitivitas tinggi, serta kemiripan genetik ikan zebra dengan manusia sebesar 60 - 70%.

Hasil: Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol bunga bintaro relatif tidak berbahaya, bunga kamboja merah sedikit toksik dan bunga ginje praktis tidak toksik dengan nilai LC_{50} berturut-turut 1.202,26 $\mu\text{g/mL}$; 89,13 $\mu\text{g/mL}$ dan 407,38 $\mu\text{g/mL}$

Simpulan: Meskipun kategori toksisitas relatif rendah pemanfaatan bunga spesies suku apocynaceae sebagai sumber pengobatan tradisional tetap harus diperhatikan dosis yang ketat untuk menjamin keamanannya.

ABSTRACT

Background: The Apocynaceae family is a family of plants that have many benefits in treating diseases. Several genera of the Apocynaceae family produce poisonous plants, species of the genus include Bintaro (*Cerbera odolam*), red Frangipani (*Plumeria rubra*) and Ginje (*Thevetia peruviana*). The species *Cerbera odolam*, *Plumeria rubra* and *Thevetia peruviana* have been reported to contain toxic compounds

Objective: This study aims to determine the acute toxicity of three types of flowers of the Apocynaceae family, namely *Cerbera odolam*, *Plumeria rubra* and *Thevetia peruviana*, using zebrafish embryos (*Danio rerio*).

Methods: The methodology followed OECD Guideline No. 236 for the Fish Embryo Acute Toxicity (FET) test. The FET test is an internationally recognized alternative method valued for its practicality and high sensitivity, as well as the 60–70% genetic similarity between zebrafish and humans.

Results: The research results indicate that the methanol extract of bintaro flowers is relatively non-toxic, red frangipani flowers are slightly toxic, and ginje flowers are practically non-toxic, with LC_{50} values of 1,202.26 $\mu\text{g/mL}$, 89.13 $\mu\text{g/mL}$, and 407.38 $\mu\text{g/mL}$, respectively.

Conclusion: Despite the relatively low toxicity categories, the use of flowers from apocynaceae species for traditional medicine requires strict dosage control to ensure safety.

PENDAHULUAN

Suku apocynaceae merupakan suku tumbuhan yang mempunyai banyak manfaat dalam mengobati penyakit, suku tumbuhan ini telah digunakan sebagai sumber pengobatan secara tradisional maupun modern. Tumbuhan suku apocynaceae dapat berbentuk pohon, semak atau tanaman yang merambat. Suku apocynaceae mempunyai 4600 spesies dari 415 genera yang telah dikumpulkan dan diidentifikasi [1]. Beberapa genus dari suku apocynaceae menghasilkan tanaman beracun, spesies dari genus tersebut diantaranya *Cerbera odollam*, *Plumeria rubra* dan *Thevetia peruviana*

Bintaro (*Cerbera odollam*) berasal dari India dan Asia Tenggara, tanaman ini mempunyai nama lokal pong-pong dan dikenal sebagai pohon bunuh diri karena bijinya sering digunakan untuk percobaan bunuh diri, biji tanaman ini mengandung senyawa toksik yang berefek pada organ jantung [2]. Dari semua bagian tanaman, biji buah bintaro merupakan bagian yang paling beracun, biji buahnya mengandung senyawa glikosida jantung seperti cerberin, cerberosida, dan neriifolin. Senyawa glikosida jantung dapat menghambat pertukaran ion natrium dan kalium pada sel miokardium jantung. Selain itu, senyawa tanhinin dan peruvoside juga berperan dalam toksisitas dari biji buah ini. Gejala keracunan biji buah *Cerbera odollam* berupa muntah, peningkatan bradikardi, aliran darah jantung terhambat dan hiperkalemia (Wermuth et al., 2018). Berbeda dengan bijinya, bunga bintaro mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* [4].

Kamboja merah (*Plumeria rubra*) yang dikenal dengan kamboja merah dikenal di berbagai negara yang beriklim tropis dan subtropis. Kamboja merah masuk dalam genus *Plumeria*, genus *Plumeria* mempunyai delapan spesies yang telah dimanfaatkan sebagai obat. Bunga kamboja dilaporkan memiliki aktivifitas antioksidan dan hipolipidemik (Sirisha, 2018). Kamboja merah mengandung senyawa golongan flavonoid dan polifenol yang tersebar di kulit batang, batang, daun, akar dan getah. [6], sementara pada bunganya mengandung senyawa alkaloid, flavanoid, glikosida, saponin, fenolik, steroid, kuinon, terpenoid, tanin, protein, asam amino dan karbohidrat.

Ginje (*Thevetia peruviana*) merupakan salah satu spesies suku apocynaceae yang digunakan sebagai tanaman hias karena bunganya yang indah, semua bagian tanaman telah digunakan dalam pengobatan diantaranya akar, daun, biji dan bunga. Bunga *Thevetia peruviana* mengandung senyawa kuersetin, kaempferol kuersetin-7-o-galaktosida [7]. Semua bagian tanaman ini beracun, seperti daun, buah, biji, akar termasuk bunga.

Spesies *Cerbera odollam*, *Plumeria rubra* dan *Thevetia peruviana* telah dilaporkan mengandung senyawa toksik yang berbahaya pada bagian-bagian tanamannya namun belum ada penelitian mengenai efek toksik pada bagian bunga spesies *Cerbera odollam*, *Plumeria rubra* dan *Thevetia peruviana*. Maka dari itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui toksisitas akut tiga jenis bunga tanaman suku apocynaceae spesies *Cerbera odollam*, *Plumeria rubra* dan *Thevetia peruviana* menggunakan embrio ikan zebra (*Danio rerio*).

METODE

Alat dan Bahan

Inkubator, Mikroskop binokular stereo (ZEISS), mikropipet, set aquarium, mesin penggiling simplisia, well-plate 24, cawan petri, bunga bintaro (*Cerbera odollam*), bunga kamboja merah (*Plumeria rubra* L.), bunga Ginje (*Thevetia peruviana*), metanol, etanol 95%, amil alkohol, amonia, kloroform, asam sulfat pekat, anhidrida asetat, asam klorida, 3,4-dikloroanilin, dimetilsulfoksida, merkuri(II) klorida, kalium iodida, bismuth subnitrat, natrium hidroksida, gelatin, magnesium, besi(III) klorida, natrium klorida, kalium klorida, kalsium klorida, magnesium klorida.

Pengumpulan Bahan

Bahan uji yang digunakan diperoleh dari 2 (dua) tempat yaitu kelurahan lebak siliwangi, kecamatan coblong dan kelurahan Pasteur, kecamatan sukajadi, kota Bandung. Hewan uji ikan zebra jantan dan betina berumur 3-4 bulan berasal dari 3 tempat yaitu petani ikan yang beralamat di desa Baranangsiang kota Bogor, Toko ikan peliharaan (Laksana Aquarium) Bandung dan Laboratorium Terarium SITH Institut Teknologi Bandung.

Uji Organoleptik

Pengujian organoleptik sampel tanaman meliputi pengamatan bentuk, warna, aroma dari sampel segar menggunakan panca indera.

Pengolahan Sampel

Bahan yang diperoleh disortasi basah, dicuci bersih dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran, dirajang dan dikeringkan menggunakan oven suhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$, setelah kering disortasi kering kemudian dibubukkan dengan mesin penggiling simplisia sampai menjadi serbuk halus.

Pembuatan Ekstrak

Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi. Serbuk simplisia masing-masing bunga sebanyak 100 gram dimaserasi dengan pelarut metanol (rasio 1:10 w/v) selama 3 x 24 jam dengan sesekali pengocokan. Maserat dipisahkan menggunakan kertas saring, dan filtrat yang diperoleh dipekatkan menggunakan rotary evaporator pada suhu $40\text{--}50^{\circ}\text{C}$ hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental kemudian dikeringkan dengan alat *freeze dry* sampai didapatkan ekstrak kering. Rendemen ekstrak dihitung berdasarkan persentase bobot ekstrak kental terhadap bobot simplisia awal.

Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia dilakukan terhadap simplisia untuk mengetahui keberadaan golongan metabolit sekunder dalam sampel yang meliputi golongan alkaloid, flavonoid, tanin, fenol, kuinon, saponin, monoterpenoid-seskuiterpenoid dan steroid/triterpenoid.

Pemeliharaan dan Pemijahan Ikan Zebra (*Danio rerio*)

Indukan ikan zebra jantan dan betina dipelihara dalam akuarium bersirkulasi dengan suhu air dijaga pada $28 \pm 1^{\circ}\text{C}$, pH 7,0–7,5, dan fotoperiode 14 jam terang : 10 jam gelap. Indukan diberi pakan *Artemia salina* dua kali sehari. Pemijahan dilakukan dengan mencampurkan indukan jantan dan betina (rasio 2:1) dalam wadah pemijahan pada malam hari. Telur hasil pemijahan dipanen pada pagi hari setelah periode terang dimulai. Telur fertil yang sehat pada tahap pembelahan (2–4 hpf) dipilih di bawah mikroskop stereo untuk digunakan dalam uji toksisitas.

Uji Penentuan Rentang Konsentrasi

Uji penentuan rentang konsentrasi (*finding-range*) menggunakan 3 konsentrasi yaitu 10 $\mu\text{g/mL}$, 100 $\mu\text{g/mL}$, 1000 $\mu\text{g/mL}$ pada masing-masing sampel ekstrak. Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui persentase malformasi dan menentukan rentang konsentrasi yang akan digunakan untuk pengujian toksisitas.

Uji Toksisitas Akut Embrio Ikan Zebra

Uji toksisitas akut embrio ikan zebra mengacu pada protokol standar OECD 236. Konsentrasi uji didapatkan dari uji penentuan rentang dosis, 5 (lima) konsentrasi uji dipilih dan diujikan kepada telur ikan. Pengamatan embrio dilakukan pada jam ke 24, 48, 72 dan 96, hasil pengamatan dilihat dari sekurang-kurangnya 4 parameter malformasi yaitu koagulasi embrio, kekurangan pembentukan somit, lepasnya unit ekor dan kekurangan detak jantung. Embrio yang telah diaklimatisasi selama 2 jam di dalam inkubator dan berumur maksimal 8 jam setelah fertilisasi dimasukkan kedalam *24-well plate* (1 embrio setiap lubang) menggunakan mikropipet atau pipet yang telah dimodifikasi. *Well plate* yang berisi embrio dan variasi konsentrasi ekstrak uji dimasukkan ke dalam inkubator dengan suhu $25\text{--}29^{\circ}\text{C}$ selama 96 jam dan diamati setiap 24 jam. Selain kelima konsentrasi uji digunakan pula kontrol normal medium E3 dan kontrol positif 3,4 dikloroanilin 4 ppm [9]

Analisis Data

Hasil pengamatan telur ikan dianalisis menggunakan analisis probit, analisis probit dilakukan terhadap data persen kematian embrio. Nilai probit dari persen kematian diplotkan sebagai sumbu y dan log konsentrasi sebagai sumbu x. Dari data ini didapatkan plot garis dengan persamaan $y = ax + b$ dan linearitas (R^2). Nilai LC_{50} dihitung dengan menggunakan rumus : $LC_{50} = \text{antilog } (5-b)/a$.

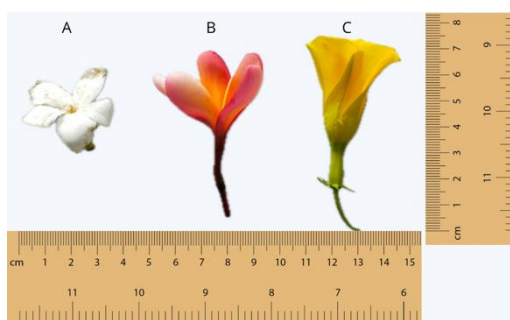
HASIL

Pemeriksaan Organoleptik

Uji Organoleptik melibatkan penilaian sensoris atau penggunaan manusia untuk mengukur karakteristik yang dapat dideteksi melalui panca indera, pengujian ini membantu dalam mengevaluasi kualitatif sampel bunga segar meliputi bentuk, warna dan aroma. Hasil dari pengamatan organoleptik sampel segar bunga bintaro, bunga kamboja dan ginje mempunyai bentuk, warna dan aroma yang khas pada masing-masing sampel. Hasil pemeriksaan organoleptik bunga bintaro, bunga kamboja merah dan bunga ginje dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Organoleptik Sampel Segar

Sampel	Bentuk	Warna	Aroma
Bunga Bintaro (<i>Cerbera odollam</i>)	Bintang	Putih	Wangi khas
Bunga Kamboja Merah (<i>Plumeria rubra</i>)	Corong hingga piringan	Merah-pink dan kuning pada bagian tengah	Wangi khas
Bunga Ginje (<i>Thevetia peruviana</i>)	Terompet	Kuning	Wangi khas



Gambar 1. Pemeriksaan Organoleptik

Keterangan : A. Bunga Bintaro B. Bunga Kamboja Merah C. Bunga Ginje

Pengolahan sampel

Sampel dilakukan perajangan untuk memperkecil ukuran partikel dan mempercepat pengeringan, sampel dikeringkan menggunakan oven suhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$, tujuan pengeringan sampel adalah untuk mengurangi kadar air, kelebihan air dalam bahan sampel tumbuhan akan mendorong pertumbuhan mikroba, jamur atau serangga yang dapat memicu kerusakan bahan. Pengeringan bahan dapat memperpanjang masa simpan sehingga mutu simplisia tetap terjaga. Hasil pengeringan sampel berupa simplisia. Hasil rendemen simplisia terhadap berat sampel segar dapat dilihat pada table 2.

Tabel 2. Rendemen Simplisia

Sampel	Rendemen Simplisia
Bunga Bintaro (<i>Cerbera odollam</i>)	13,7 %
Bunga Kamboja Merah (<i>Plumeria rubra</i>)	7,6%
Bunga Ginje (<i>Thevetia peruviana</i>)	16,8 %

Pembuatan Ekstrak

Ekstraksi dilakukan terhadap simplisia dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol. Pelarut metanol digunakan karena merupakan pelarut universal sehingga dapat menarik senyawa yang bersifat polar, semipolar, dan nonpolar. Hasil ekstraksi dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Rendemen Ekstrak

Ekstrak kering	Rendemen Ekstrak
Bunga Bintaro (<i>Cerbera odollam</i>)	13,99%
Bunga Kamboja Merah (<i>Plumeria rubra</i>)	17,25%
Bunga Ginje (<i>Thevetia peruviana</i>)	17,09%

Rendemen ekstrak menunjukkan jumlah senyawa yang tertarik oleh pelarut metanol. Dari jumlah (persentase) rendemen ekstrak yang diperoleh, senyawa cukup baik tertarik dalam pelarut metanol.

Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia dilakukan terhadap simplisia untuk mengetahui keberadaan golongan metabolit sekunder dalam sampel yang meliputi golongan alkaloid, flavonoid, tanin, fenol, kuinon, saponin, monoterpenoid-seskuiterpenoid dan steroid/triterpenoid. Hasil penapisan fitokimia terhadap simplisia dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil Penapisan Fitokimia

Golongan Senyawa	Bunga Bintaro (<i>Cerbera odollam</i>)	Bunga Kamboja Merah (<i>Plumeria rubra</i>)	Bunga Ginje (<i>Thevetia peruviana</i>)
Alkaloid	+	+	+
Flavonoid	+	+	+
Tanin	+	+	+
Fenol	+	+	+
Kuinon	+	+	+
Saponin	-	-	-
Monoterpenoid-seskuiterpenoid	+	+	+
Steroid/triterpenoid	+	+	+

Keterangan : (+) hasil positif ; (-) hasil negatif.

Dari hasil penapisan fitokimia simplisia dan ekstrak terlihat bahwa setiap simplisia dan ekstrak mempunyai kandungan senyawa yang sama. Kandungan senyawa dalam simplisia dan ekstrak berperan dalam memberikan aktivitas biologis makhluk hidup [10]. Berdasarkan skrining fitokimia yang telah dilakukan simplisia bunga bintaro, bunga kamboja dan bunga ginje mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, fenol, kuinon, monoterpenoid-seskuiterpenoid dan steroid-triterpenoid.

Uji Penentuan Rentang Konsentrasi

Uji penentuan rentang konsentrasi (*finding-range*) bertujuan untuk mengetahui persentase malformasi dan menentukan rentang konsentrasi yang akan digunakan untuk pengujian toksisitas akut. Uji penentuan rentang konsentrasi menggunakan 3 konsentrasi yaitu 10 µg/mL, 100 µg/mL, 1000 µg/mL. Hasil penentuan rentang konsentrasi dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Persentase malformasi pada uji penentuan rentang konsentrasi

Ekstrak Metanol	Mortalitas Pada 96 Hpf (%)		
	10 µg/mL	100 µg/mL	1000 µg/mL
Bunga Bintaro (<i>Cerbera odollam</i>)	0	0	100
Bunga Kamboja Merah (<i>Plumeria rubra</i>)	0	5	100
Bunga Ginje (<i>Thevetia peruviana</i>)	5	30	100

Dari hasil uji penentuan rentang konsentrasi didapatkan 6 (enam) konsentrasi uji ekstrak methanol kering bunga bintaro, bunga kamboja merah dan bunga ginje. Rentang konsentrasi dapat dilihat pada table 6.

Tabel 6. Konsentrasi Uji

Ekstrak Metanol	Konsentrasi (µg/mL)
Bunga Bintaro (<i>Cerbera odollam</i>)	400 ; 300 ; 200 ; 100 ; 50 ; 25
Bunga Kamboja Merah (<i>Plumeria rubra</i>)	400 ; 200 ; 100 ; 50 ; 25 ; 10
Bunga Ginje (<i>Thevetia peruviana</i>)	750 ; 625 ; 500 ; 375 ; 250 ; 125

Pengujian Toksisitas Akut Terhadap Embrio Ikan Zebra (*Danio rerio*)

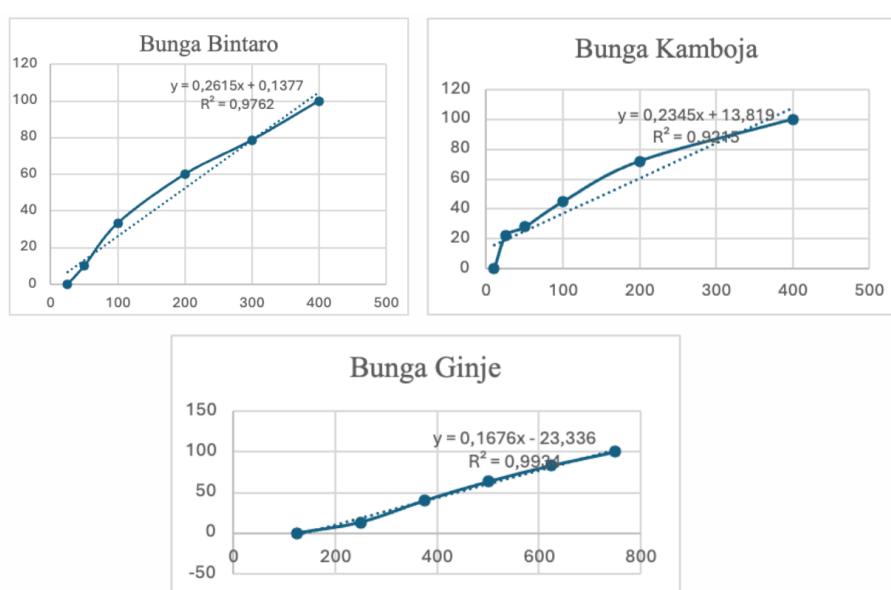
Data hasil pengujian dihitung jumlah malformasi pada masing-masing konsentrasi kemudian dihitung persentase kematian. Hasil persentase kematian yang diperoleh kemudian analisis menggunakan analisis probit. Nilai probit dari persen kematian diplotkan sebagai sumbu y dan log

konsentrasi sebagai sumbu x. Dari data ini didapatkan plot garis dengan persamaan $y = ax + b$ dan linearitas (R^2). Nilai LC_{50} dihitung dengan menggunakan rumus : $LC_{50} = \text{antilog } (5-b)/a$. Nilai probit (*Lethal Concentration 50*) dapat dilihat dari table 7.

Table 7. Nilai LC_{50}

Ekstrak Kering	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Kategori
Bunga Bintaro (<i>Cerbera odollam</i>)	1.202,26	Relatif tidak berbahaya
Bunga Kamboja Merah (<i>Plumeria rubra</i>)	89,13	Sedikit Toksik
Bunga Ginje (<i>Thevetia peruviana</i>)	407,38	Praktis tidak toksik

Konsentrasi pengujian berhubungan dengan persentase kematian, semakin tinggi konsentrasi uji maka semakin tinggi % kematian. Kurva hubungan konsentrasi terhadap persentase kematian dapat dilihat dalam bentuk kurva hubungan konsentrasi dengan persentase kematian pada gambar 2.



Gambar 2. Kurva hubungan konsentrasi ekstrak bunga bintaro, kamboja, dan ginje terhadap mortalitas embrio ikan zebra pada 96 hpf.

Dari kurva hubungan konsentrasi dengan persentase kematian dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi semakin tinggi persentase kematiannya.

PEMBAHASAN

Ikan Zebra telah banyak digunakan dalam penelitian untuk penilaian toksisitas akuatik. Metode penelitian mengacu pada pedoman OECD No. 236 tentang pengujian toksisitas akut menggunakan embrio ikan (*Fish Embryo Acute Toxicity Test*). *Fish Embryo Acute Toxicity Test* merupakan metode alternatif yang telah diakui secara internasional karena kepraktisannya, sensitivitas tinggi, serta kemiripan genetik ikan zebra dengan manusia sebesar 60–70% (Azzahra et al., 2025). Berdasarkan pedoman OECD No. 236, pengujian ini terdiri dari kelompok kontrol negatif, kelompok uji, dan kelompok kontrol positif (3,4 dikloroanilin). Kelompok kontrol negatif merupakan kelompok yang tidak dipaparkan zat uji, pada kelompok ini embrio ikan zebra diberi larutan medium E3, medium E3 merupakan larutan fisiologis untuk media pertumbuhan embrio ikan zebra, medium E3 terdiri dari komponen mineral seperti natrium, kalsium, magnesium dan zink. Medium E3 dapat memberikan nutrisi yang dibutuhkan selama perkembangan embrio ikan zebra [12]. Pada kelompok uji, sampel ekstrak dilarutkan dalam medium E3 dengan berbagai konsentrasi yang telah ditentukan dari uji penentuan rentang konsentrasi. Penggunaan DCA (3,4 *dichloroaniline*) sebagai kontrol positif digunakan untuk memberikan efek toksik pada perkembangan embrio. Hasil pengujian toksisitas akut embrio ikan zebra menunjukkan bahwa kontrol DCA (3,4 *dichloroaniline*) menunjukkan kematian

100% embrio mengalami koagulasi dan abnormalitas akibat penggunaannya, sedangkan kontrol *medium E3* menunjukkan tingkat penetasan 100% dan tidak ada kelainan perkembangan selama 96 jam pengamatan sehingga hasil kontrol positif dan kontrol negatif memenuhi persyaratan sesuai panduan OECD No. 236. Persentase kematian pada kelompok uji ekstrak metanol bunga bintang 400 µg/mL, ekstrak metanol bunga kamboja 400 µg/mL dan ekstrak metanol bunga ginje 750 µg/mL menunjukkan persentase kematian 100%, semakin kecil konsentrasi ekstrak maka semakin kecil persentase kematiannya sampai pada persentase kematian 0%.

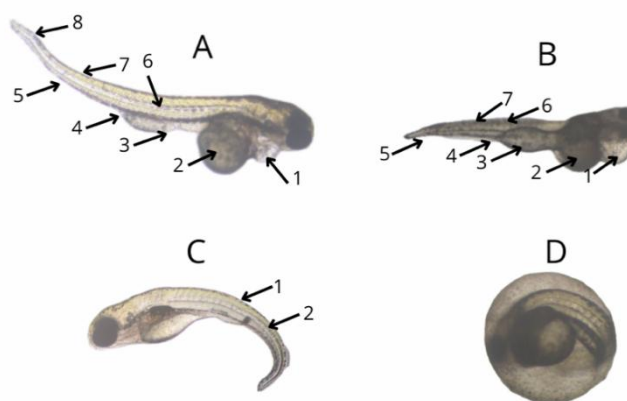
Pengamatan abnormalitas embrio ikan zebra berdasarkan panduan OECD No. 236 dilakukan pada sekurang-kurangnya 4 (empat) parameter yaitu koagulasi embrio, kurangnya pembentukan somit, tidak adanya unit ekor, kurangnya detak jantung. Hasil pengamatan embrio pada jam 96 hpf pada kelompok uji dan kelompok kontrol positif ada banyak gangguan secara terutama gangguan morfologi selama perkembangan embrio, gangguan tersebut menunjukkan malformasi yang beragam diantaranya *udema yolk sac*, *udema perikardial*, malformasi ekor, malformasi mulut, skoliosis, lordosis, kifosis, koagulasi embrio, fraktur pada notokorda, deformasi pada jaringan otot, tidak ada pembukaan organ genital, berkurangnya pembentukan somit, telur tidak menetas dan berkurangnya detak jantung. Embrio yang mengalami koagulasi berwarna putih susu dan terlihat gelap di mikroskop, berkurangnya pembentukan somit kemungkinan disebabkan karena perlambatan pertumbuhan secara umum, kifosis berawal dari kerusakan notokord yang berlangsung secara terus-menerus [13] Embrio yang tidak berkembang terjadi karena kematian sel yang disebabkan karena disfungsi mitokondria, mitokondria berfungsi untuk mengubah nutrisi menjadi energi, setiap kerusakan mitokondria menyebabkan peningkatan kerusakan oksidatif. Kerusakan mitokondria ini dapat disebabkan oleh usia, polutan, atau zat pada lingkungan tempat tumbuh embrio yang menyebabkan peningkatan angka kematian atau keterlambatan perkembangan pada tahap awal ikan zebra (Ramos et al., 2025). Telur yang tidak menetas disebabkan oleh kondisi lingkungan yang tidak mendukung akibat paparan zat atau kontaminasi selain zat nutrisi. Kelainan bentuk atau edema menunjukkan terdapat masalah pada peredaran darah, edema perikardial dan *yolk sac* adalah tanda-tanda ketidakseimbangan fisiologis. Kelainan *yolk sac* ini menyebabkan penyerapan nutrisi untuk pertumbuhan embrio tertunda. Kelainan tulang belakang dan kelengkungan tubuh menandakan adanya masalah struktural atau neuromuskular [14]

Perkembangan embrio ikan pada kontrol negatif yang berada dalam lingkungan medium E3 mengalami perkembangan yang baik. Terjadi pembentukan somit pada 48 jam, pembentukan somit terjadi karena pergerakan embrio secara spontan yang dimulai sekitar jam ke-17 setelah pembuahan. Embrio yang bagus dihasilkan dari induk yang mendapatkan nutrisi yang cukup sebelum pemijahan, pemberian nutrisi pada induk sangat penting dalam menentukan kualitas oosit dan embriogenesis. Ikan zebra betina yang diberi makan dengan makanan berkualitas tinggi dan seimbang menghasilkan telur dengan integritas struktural yang lebih baik, volume kuning telur yang lebih tinggi, dan kemampuan sperma yang lebih banyak. Hal ini akan menentukan keberhasilan pembuahan. Jika makanannya tidak seimbang, seperti ikan betina yang diberi makan berlebihan, akan mengalami perkembangan ovarium lebih awal, tetapi kualitas telur lebih rendah. Ketersediaan mikronutrien seperti vitamin E, selenium dan asam lemak esensial sangat penting, jika ketersediaannya berkurang pada induk ikan akan menyebabkan keterlambatan perkembangan dan tingginya kematian embrio [14]

Konsentrasi pengujian berhubungan dengan persentase kematian, semakin tinggi konsentrasi uji maka semakin tinggi % kematian. Abnormalitas dan kematian embrio disebabkan pemaparan zat ekstrak bunga dari spesies suku *apocynaceae*. Gambar 3 memperlihatkan embrio pada kelompok kontrol yang berkembang normal pada usia 72 hpf dengan struktur tubuh transparan, tulang belakang lurus, dan kantung kuning telur yang terserap sempurna. Sebaliknya, Gambar 4 menampilkan variasi malformasi yang diamati pada embrio yang terpapar ekstrak bunga.



Gambar 3. Fenotipe embrio ikan zebra normal pada usia 72 hpf (kontrol positif) menunjukkan organ jantung, tulang belakang, dan kantung kuning telur yang berkembang sempurna.



Gambar 4. Abnormalitas pertumbuhan embrio ikan zebra pada 96 jam setelah pembuahan. Keterangan : A. Larva Abnormal (1. Udema Perikardial 2. Udema Yolk Sac 3. Udema Yolk Sac Extension 4. Tidak Adanya Cloaca 5. Tidak Adanya Sirip Ekor 6. Berkurangnya Pembentukan Notokorda 7. Lordosis 8. Ekor Abnormal B. (1. Udema Perikardial 2. Udema Yolk Sac 3. Udema Yolk Sac Extension 4. Tidak Adanya Cloaca 5. Lekukan Pada Ekor 6. Berkurangnya Pembentukan Notokorda 7. Berkurangnya Pembentukan Somit C. (1. Berkurangnya Pembentukan Somit 2. Kifosis) D. Tidak Menetas

Abnormalitas yang terjadi pada embrio ikan zebra pada konsentrasi uji tertinggi ditimbulkan oleh paparan ketiga ekstrak uji. Konsentrasi uji tertinggi pada ekstrak metanol bunga bintaro, bunga kamboja merah dan bunga ginje berturut-turut sebesar 400 ppm, 400 ppm dan 750 ppm. Metabolit sekunder yang terkandung dalam ketiga ekstrak berpengaruh terhadap abnormalitas tersebut. Berdasarkan penapisan fitokimia, ekstrak metanol bunga bintaro, bunga kamboja merah dan bunga ginje mengandung golongan senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, fenol, monoterpen-seskuiterpen dan steroid-triterpenoid. Konsentrasi yang menyebabkan abnormalitas perkembangan embrio ikan zebra pada setiap ekstrak berbeda satu dengan yang lainnya, ekstrak dengan konsentrasi tertinggi pada setiap ekstrak menyebabkan kematian/abnormalitas 100%, hasil ini sesuai dengan persyaratan guideline pengujian OECD No. 236 [9], sedangkan pada beberapa konsentrasi ekstrak menyebabkan malformasi dengan tingkat persentasi yang beragam sesuai dengan gambar 2. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh [15] menyatakan bahwa golongan senyawa alkaloid, flavonoid, fenol dan terpenoid dapat menyebabkan abnormalitas perkembangan pada embrio ikan zebra. Alkaloid mempunyai potensi sitotoksik dengan mengganggu dinamika mikrotubulus, interkalasi DNA, menghambat topoisomerase sehingga menghambat penghentian siklus sel dan terjadi apoptosis [16]. Senyawa alkaloid juga dapat menyebabkan edema jantung, perubahan sirkulasi darah dan denyut jantung, kelainan pertumbuhan embrio berupa kelengkungan tubuh dan tulang belakang (skoliosis dan lordosis) yang mengindikasikan adanya gangguan neuromuskular [17]. Golongan senyawa flavonoid dapat menyebabkan kelainan bentuk kepala, ekor dan tulang belakang sementara turunannya seperti kuersetin dan hesperidine dapat menyebabkan stress oksidatif dan apoptosis sel. Senyawa tanin dapat menginduksi stres oksidatif dan apoptosis pada tahap awal perkembangan embrio. Senyawa fenolik dapat menghambat sinyal yang diperlukan untuk perkembangan kepala. Senyawa golongan kuinon seperti antrakuinon serta senyawa golongan terpenoid seperti

monoterpenoid-seskuiterpenoid dan steroid-triterpenoid dapat mempengaruhi perubahan pigmentasi akibat gangguan melanogenesis, aktivitas tirosinase, atau diferensiasi sel pigmen [16].

Turunan golongan senyawa steroid seperti senyawa nerifoliin dapat menyebabkan kelainan jantung. Nerifoliin merupakan senyawa steroid yang berikatan dengan gula sehingga disebut glikosida, glikosida ini dapat mempengaruhi kerja jantung sehingga disebut glikosida jantung. Glikosida jantung ini dapat menghambat pertukaran ion natrium dan kalium pada sel miokardium jantung. Glikosida jantung bekerja secara spesifik dengan mengikat dan menghambat subunit alfa dari enzim Na^+/K^+ -ATPase pada membrane sel korteks dan sel miokardium embrio. Penghambatan enzim ini mengganggu regulasi ionik seluler, memicu penumpukan ion Na^+ intraseluler yang kemudian menghambat penukar $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$. Akibatnya, timbul kelebihan ion kalsium (Ca^{2+} overload) di dalam sel jantung embrio yang memicu aritmia, gangguan fungsi pompa jantung, dan akhirnya memicu gagal jantung akut yang ditandai dengan munculnya perikardial edema [18]. Pembentukan edema ini disebabkan oleh rusaknya osmoregulasi seluler serta gangguan integritas pembuluh darah (endotel) selama pembentukan organ kardiovaskular. Pembengkakan kantung kuning telur mengganggu distribusi nutrisi alami embrio, sehingga pertumbuhan embrio terhambat dan menyebabkan keterlambatan atau hambatan penetasan korion (hatching inhibition) pada 48 - 72 hpf [19].

Abnormalitas yang ditimbulkan oleh berbagai senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam berbagai ekstrak tergantung dari konsentrasi senyawa yang terkandung dalam masing-masing ekstrak. Paparan senyawa yang terkandung dalam masing-masing ekstrak memberikan persentase kematian/abnormalitas yang berbeda pada setiap ekstrak. Ekstrak metanol bunga bintaro dan kamboja merah memberikan abnormalitas/kematian 100% pada konsentrasi 400 ppm dan bunga ginje pada konsentrasi 750 ppm. Paparan ekstrak metanol bunga bintaro pada konsentrasi uji 400, 300, 200, 100, dan 50 $\mu\text{g/mL}$ memberikan nilai LC_{50} sebesar 1.202,26 $\mu\text{g/mL}$; paparan ekstrak metanol bunga kamboja merah pada konsentrasi uji 400, 200, 100, 50, 25, dan 10 $\mu\text{g/mL}$ memberikan nilai LC_{50} sebesar 89,13 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan paparan ekstrak metanol bunga ginje pada konsentrasi uji 750 ; 625 ; 500 ; 375 ; 250 ; 125 $\mu\text{g/mL}$ memberikan nilai LC_{50} sebesar 407,38 $\mu\text{g/mL}$. Berdasarkan *Acute Toxicity Rating Scale by Fish and Wildlife Service* (FWS), tingkat toksisitas suatu zat dikategorikan sebagai berikut : konsentrasi 0,01 – 0,1 $\mu\text{g/mL}$ (super toksik), konsentrasi 0,1 – 1 $\mu\text{g/mL}$ (sangat toksik), konsentrasi 1–10 $\mu\text{g/mL}$ (toksik sedang), 10–100 $\mu\text{g/mL}$ (sedikit toksik), konsentrasi 100–1000 $\mu\text{g/mL}$ (praktis tidak toksik), dan konsentrasi >1000 $\mu\text{g/mL}$ (relatif tidak berbahaya). Sehingga berdasarkan nilai kategori toksisitas tersebut ekstrak metanol bunga bintaro mempunyai kategori relatif tidak berbahaya, ekstrak metanol bunga kamboja merah mempunyai kategori sedikit toksik dan ekstrak metanol bunga ginje mempunyai kategori praktis tidak toksik.

Penelitian ini memberikan informasi yang penting bagi keamanan pengobatan herbal dan etnopharmakologi. Pemanfaatan bunga suku Apocynaceae sebagai bahan baku obat tradisional harus dilakukan dengan kewaspadaan yang ketat. Batas keamanan konsentrasi efektif harus dihitung secara cermat mengingat rentang antara dosis terapeutik dan dosis toksik yang sangat sempit. Oleh karena itu, uji toksisitas subkronis dan isolasi senyawa murni menjadi langkah penting sebelum dilanjutkan ke tahap pengembangan produk farmasi menggunakan spesies dari suku apocynaceae.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak bunga spesies suku apocynaceae memiliki nilai toksik yang berbeda. Ekstrak metanol bunga bintaro relatif tidak toksik, bunga kamboja sedikit toksik dan bunga ginje praktis tidak toksik dengan nilai LC_{50} berturut-turut 1.202,26 $\mu\text{g/mL}$; 89,13 $\mu\text{g/mL}$ dan 407,38 $\mu\text{g/mL}$. Meskipun kategori toksisitas relatif rendah pemanfaatan bunga spesies suku apocynaceae sebagai sumber pengobatan tradisional tetap harus diperhatikan dosis yang ketat untuk menjamin keamanannya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Jenderal Achmad Yani atas fasilitas dan dukungan sarana prasarana yang diberikan selama pelaksanaan penelitian ini.

PENGUNAAN KECERDASAN ARTIFISIAL

Selama penyusunan karya ini, penulis menggunakan Gemini AI untuk membantu meningkatkan keterbacaan, memperbaiki tata bahasa, dan menyempurnakan struktur kalimat berbahasa Inggris. Setelah menggunakan alat ini, penulis meninjau, mengoreksi, dan menyunting ulang seluruh isi teks secara menyeluruh, serta bertanggung jawab penuh atas keakuratan dan isi dari artikel yang diterbitkan ini.

KONTRIBUSI PENULIS

Konseptualisasi: Nita Yulianti

Kurasi data: Nita Yulianti

Analisis formal: Nita Yulianti

Perolehan pendanaan: -

Investigasi: Nita Yulianti

Metodologi: Nita Yulianti

Administrasi proyek: Nita Yulianti

Sumber daya: Nita Yulianti

Perangkat lunak: -

Supervisi: Nita Yulianti

Validasi: Nita Yulianti

Visualisasi: Nita Yulianti

Penulisan—draf awal: Nita Yulianti

Penulisan—tinjauan & penyuntingan: Nita Yulianti

PENDANAAN

-

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak adanya konflik kepentingan

DAFTAR PUSTAKA

1. Islam MdS, Lucky RA. A Study On Different Plants Of Apocynaceae Family And Their Medicinal Uses. *Universal Journal of Pharmaceutical Research*. 2019 Mar 7. doi:10.22270/ujpr.v4i1.235
2. Bernshteyn M, Adams SH, Gada K. A Case of Attempted Suicide by *Cerbera odollam* Seed Ingestion. *Case Rep Crit Care*. 2020;2020. doi:10.1155/2020/7367191
3. Wermuth ME, Vohra R, Bowman N, Furbee RB, Rusyniak DE. Cardiac Toxicity from Intentional Ingestion of Pong-Pong Seeds (*Cerbera Odollam*). *Journal of Emergency Medicine*. 2018 Oct 1;55(4):507–11. doi:10.1016/j.jemermed.2018.05.021 PubMed PMID: 29941374.
4. Saxena M, Jadhav EB, Sankhla MS, Singhal M, Parihar K, Awasthi KK, Awasthi G. Bintaro (*Cerbera odollam* and *Cerbera manghas*): an overview of its eco-friendly use, pharmacology, and toxicology. *Environmental Science and Pollution Research*. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH; 2023. p. 71970–83. doi:10.1007/s11356-022-22585-w PubMed PMID: 36044149.
5. Sirisha K. BRITISH BIOMEDICAL BULLETIN Original Comparative Phytochemical and Pharmacological Evaluation of flowers of *Plumeria rubra* L. f. *rubra* and *Plumeria rubra* f. *lutea* [Internet]. 2018. Available from: <https://www.researchgate.net/publication/329962106>
6. Imran I, Nohong N, Arifin ZS, Qaemudin R, Nurwahidah AT. A Phytochemical and Antioxidant Activity of Extracts Red Cambodia Sap (*Plumeria Rubra* L.). *Engineering and Technology Journal*. 2024 Jul 25;09(07). doi:10.47191/etj/v9i07.14
7. Kishan S, Krishn Kumar A, Vimlesh M, Mubeen US, Alok S. A REVIEW ON: THE *VEITIA PERUVIANA*. *IRJP* [Internet]. Available from: www.irjponline.com

8. AlMuhaidib HR, Alabdulwahab N, Al-Otaibi S, Aldakheel R, Alfaraj D. Asymptomatic Presentation of Yellow Oleander Poisoning in a 57-Year-Old Saudi Woman: A Case Report. *Cureus*. 2023 Dec 11. doi:10.7759/cureus.50317
9. OECD O/. Section 2 Effects on Biotic Systems [Internet]. 2025. Available from: <http://www.oecd.org/termsandconditions/>
10. Yoga Pratama V, Dwi Rahayu P, Putri S, Long Y, Ayu Mentari I. Karakterisasi simplisia dan identifikasi senyawa fitokimia ekstrak pakis sayur (*Diplazium escelentum* Swartz). *JOURNAL OF PHARMACEUTICAL ISSN* [Internet]. 2024. Available from: <http://journal.unjaya.ac.id/index.php/jop>
11. Azzahra FA, Hazar S, Laksono BT. Bandung Conference Series: Pharmacy Studi Toksisitas Tanaman Menggunakan Zebrafish Embryo Acute Toxicity Test (Zfet) [Internet]. doi:10.29313/bcss.v5i2.21183
12. Lestari KS, Istiqomah AN, Susilawati E, Khasanah N. Nidaul Khasanah Nama Penulis Pertama, Penulis Kedua. Dst Kurniasih Jurnal Farmagazine. 2024;XI(1). doi:10.47653/farm.v1i1.736
13. von Hellfeld R, Brotzmann K, Baumann L, Strecker R, Braunbeck T. Adverse effects in the fish embryo acute toxicity (FET) test: a catalogue of unspecific morphological changes versus more specific effects in zebrafish (*Danio rerio*) embryos. *Environ Sci Eur*. 2020 Dec 1;32(1). doi:10.1186/s12302-020-00398-3
14. Ramos J, Reza Khansari A, Tort L. Health and Welfare in Early Stages of Zebrafish: Factors and Indicators. In: *Zebrafish Model in Medical Research* [Working Title]. IntechOpen; 2025. doi:10.5772/intechopen.1012469
15. Yan W, Zhang T, Li S, Wang Y, Zhu L, Cao Y, Lai X, Huang H. Oxidative Stress and Endoplasmic Reticulum Stress Contributes to Arecoline and Its Secondary Metabolites-Induced Dyskinesia in Zebrafish Embryos. *Int J Mol Sci*. 2023 Mar 28;24(7):6327. doi:10.3390/ijms24076327
16. Yan W, Zhang T, Li S, Wang Y, Zhu L, Cao Y, Lai X, Huang H. Oxidative Stress and Endoplasmic Reticulum Stress Contributes to Arecoline and Its Secondary Metabolites-Induced Dyskinesia in Zebrafish Embryos. *Int J Mol Sci*. 2023 Apr 1;24(7). doi:10.3390/ijms24076327 PubMed PMID: 37047326.
17. Jayasinghe CD, Jayawardena UA. Toxicity Assessment of Herbal Medicine Using Zebrafish Embryos: A Systematic Review. 2019.
18. Saxena M, Jadhav EB, Sankhla MS, Singhal M, Parihar K, Awasthi KK, Awasthi G. Bintaro (*Cerbera odollam* and *Cerbera manghas*): an overview of its eco-friendly use, pharmacology, and toxicology. *Environmental Science and Pollution Research*. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH; 2023. p. 71970–83. doi:10.1007/s11356-022-22585-w PubMed PMID: 36044149.
19. Wahyuni WT, Saharah M, Arif Z, Rafi M. Thin Layer Chromatographic Fingerprint and Chemometrics Analysis for Identification of *Phyllanthus niruri* from its Related Species. *Journal of the Indonesian Chemical Society*. 2020 Apr 25;3(1):47. doi:10.34311/jics.2020.03.1.47