

Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol Kulit Batang Awar-awar dengan Metode BSLT

Alya Hermawanfutri, Siti Hazar*

Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, Indonesia

ARTICLE INFO

Article history :

Received : 11/11/2023

Revised : 14/12/2023

Published : 23/12/2023



Creative Commons Attribution-
NonCommercial-ShareAlike 4.0
International License.

Volume : 3

No. : 2

Halaman : 81-88

Terbitan : **Desember 2023**

ABSTRAK

Kanker merupakan salah satu penyakit yang menjadi masalah kesehatan utama di dunia. Daun pulai (*Alstonia scholaris* (L.) R. Br.) merupakan bagian tanaman yang diduga memiliki potensi sebagai antikanker karena mengandung golongan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid. Golongan senyawa alkaloid diketahui memiliki aktivitas yang dapat menghambat pertumbuhan dan membunuh sel kanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas sitotoksik dan nilai LC50 dari ekstrak etanol, fraksi air, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksan daun pulai. Uji sitotoksik dilakukan dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) terhadap larva udang *Artemia franciscana* Kellogg dan analisis probit untuk mengetahui nilai LC50. Konsentrasi uji yang digunakan adalah 10 ppm, 100 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm, dan 1000 ppm. Pengujian aktivitas sitotoksik ekstrak etanol, fraksi air, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksan daun pulai menghasilkan nilai LC50 berturut-turut sebesar 207,2526 ppm, 282,1630 ppm, 187,5858 ppm, dan 484,2839 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol, fraksi air, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksan daun pulai memiliki efek sitotoksik dan berpotensi sebagai antikanker yang ditandai dengan nilai LC50 kurang dari 1000 ppm.

Kata Kunci: Daun pulai; uji sitotoksik, Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

ABSTRACT

Cancer is a disease that is a major health problem in the world. Pulai leaves (*Alstonia scholaris* (L.) R. Br.) are part of a plant that is thought to have anticancer potential because it's contain secondary metabolites such as alkaloid. Alkaloid compounds are known to have activity that can inhibit growth and kill cancer cells. This study aims to determine the cytotoxic activity and LC50 value of the ethanol extract, water fraction, ethyl acetate fraction, and n-hexane fraction of pulai leaves. The cytotoxic test was carried out using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method on *Artemia franciscana* Kellogg shrimp larvae and probit analysis to determine the LC50 value. The test concentrations used were 10 ppm, 100 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm, and 1000 ppm. Testing the cytotoxic activity of the ethanol extract, water fraction, ethyl acetate fraction, and n-hexane fraction of pulai leaves produced LC50 values of 207,2526 ppm, 282,1630 ppm, 187,5858 ppm, and 484,2839 ppm, respectively. This implied that the ethanol extract, water fraction, ethyl acetate fraction, and n-hexane fraction of pulai leaves have a cytotoxic effect and have anticancer potential as indicated by an LC50 value of less than 1000 ppm.

Keywords: Pulai leaves; cytotoxic test; *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

A. Pendahuluan

Kanker merupakan salah satu penyakit yang menjadi masalah kesehatan utama di dunia dan penyebab kematian terbesar kedua setelah penyakit kardiovaskular. Kanker disebabkan oleh pertumbuhan dan perkembangan sel abnormal yang dapat menyerang jaringan sekitar dan menyebar ke organ tubuh lainnya. Selain itu, kanker dapat disebabkan oleh faktor endogen seperti genetik dan hormon, serta faktor eksogen yang dapat berasal dari logam karsinogen, makanan, radiasi ultraviolet, rokok, senyawa karsinogenik, dan virus (16). Berdasarkan data *Global Burden of Cancer* (Globocan) tahun 2020, terdapat 19.292.789 kasus kanker di dunia dengan jumlah kematian sebanyak 9.958.133 kasus.

Pengobatan kanker dapat dilakukan dengan pembedahan, radioterapi, dan kemoterapi. Akan tetapi, pengobatan dengan pembedahan tidak dapat dilakukan pada sel kanker yang telah menyebar, sementara pengobatan dengan radioterapi dan kemoterapi dapat memberikan hasil yang baik tetapi menimbulkan efek samping dan toksisitas besar karena sel normal ikut mati sehingga pertumbuhannya terganggu (3). Kemoterapi dilakukan dengan cara memberikan obat yang dapat merusak sel kanker (sitostatik) menggunakan dosis tinggi. Obat sitostatik ini bekerja secara tidak selektif, karena selain bersifat toksik terhadap sel kanker obat ini juga dapat menyerang banyak sel normal hingga menyebabkan kematian sel sehingga sel kanker menjadi resisten terhadap obat. Oleh karena itu, beberapa penelitian mulai ditujukan pada pengujian potensi bahan alam dengan pemanfaatan tanaman obat sebagai agen kemopreventif yang berpotensi menjadi agen pendamping kemoterapi untuk meningkatkan sensitifitas sel kanker dan mengurangi efek samping kemoterapi (15).

Tanaman yang termasuk ke dalam suku *Apocynaceae* diketahui memiliki aktivitas antikanker, salah satunya adalah tanaman tapak dara (*Catharanthus roseus* (L.)). Tanaman tapak dara diketahui mengandung senyawa alkaloid yang memiliki aktivitas antikanker seperti katarantin dan vinkristin. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Putri *et al.* (10), hasil uji sitotoksik dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun tapak dara memiliki efek sitotoksik dengan nilai $LC_{50} = 305,1406 \mu\text{g/mL}$.

Tanaman pulai (*Alstonia scholaris* (L.) R. Br.) merupakan salah satu tanaman yang termasuk ke dalam suku *Apocynaceae* yang memiliki aktivitas kemopreventif, induksi apoptosis, antioksidan, dan imunomodulator (2). Pemanfaatan tanaman pulai berhubungan dengan kandungan golongan senyawa metabolit sekundernya, terutama senyawa alkaloid yang memiliki aktivitas apoptosis dan bersifat immunomodulatori (7). Golongan senyawa alkaloid memiliki efek farmakologi seperti antikanker, antioksidan, antiinflamasi, dan antimikroba (14). Pada bagian bunga, buah, daun, kulit batang, dan akar tanaman pulai mengandung senyawa alkaloid yang sebagian besar terkandung pada bagian daun (4).

Melihat adanya potensi senyawa antikanker pada tanaman suku *Apocynaceae*, maka pada penelitian ini akan dilakukan uji sitotoksik ekstrak etanol dan fraksi daun pulai terhadap larva udang *Artemia franciscana* Kellogg dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) yang merupakan uji pendahuluan untuk mengetahui dan menentukan efek sitotoksik dari suatu senyawa yang terkandung dalam tanaman. Metode BSLT telah terbukti memiliki korelasi positif dengan aktivitas antikanker, sehingga sering digunakan untuk skrining awal senyawa antikanker. Suatu senyawa dikatakan memiliki efek sitotoksik apabila nilai LC_{50} kurang dari 1000 $\mu\text{g/mL}$ (1; 10).

B. Metode Penelitian

Pada penelitian ini dilakukan uji sitotoksik ekstrak etanol dan fraksi daun pulai (*Alstonia scholaris* (L.) R. Br.) terhadap larva udang *Artemia franciscana* Kellogg yang dilakukan di laboratorium riset Program Studi Farmasi Universitas Islam Bandung. Penelitian ini dilakukan melalui beberapa tahap yaitu pengumpulan bahan, determinasi, pembuatan simplisia, ekstraksi, penetapan parameter standar terhadap simplisia dan ekstrak, penapisan fitokimia terhadap simplisia dan ekstrak, fraksinasi, penapisan fitokimia, dan pengujian sitotoksik.

Pembuatan simplisia dilakukan melalui beberapa tahap yaitu sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, pembuatan serbuk, dan sortasi kering. Ekstraksi simplisia dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Penetapan parameter standar dilakukan menggunakan dua parameter, yaitu parameter spesifik dan parameter nonspesifik. Parameter spesifik meliputi penetapan kadar sari larut air dan penetapan kadar sari larut etanol terhadap simplisia. Sedangkan parameter nonspesifik meliputi penetapan susut pengeringan, penetapan kadar air, penetapan kadar abu total, penetapan kadar abu tidak larut asam terhadap simplisia dan penetapan bobot jenis terhadap ekstrak. Fraksinasi dilakukan dengan metode ekstraksi

cair-cair menggunakan pelarut yang memiliki kepolaran yang berbeda yaitu pelarut air, pelarut etil asetat, dan pelarut n-heksan. Penapisan fitokimia dilakukan pada simplisia, ekstrak etanol, dan fraksi daun pulai meliputi pengujian senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, polifenol, tanin, antrakuinon, triterpenoid atau steroid, dan monoterpenoid atau seskuiterpenoid. Pengujian aktivitas sitotoksik ekstrak etanol dan fraksi daun pulai dilakukan dengan metode BSLT terhadap larva udang *Artemia franciscana* Kellogg dengan dua perlakuan, yaitu kelompok kontrol negatif dan kelompok uji. Pada kelompok uji digunakan beberapa seri konsentrasi yaitu 10 ppm, 100 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm, dan 1000 ppm. Parameter yang digunakan adalah jumlah kematian larva udang serta nilai LC_{50} dengan metode analisis probit dan persamaan regresi.

C. Hasil dan Pembahasan

Penyiapan Bahan Uji

Bahan tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah daun pulai (*Alstonia scholaris* (L.) R. Br.) yang diperoleh dari kebun percobaan Manoko, Desa Cikahuripan, Kecamatan Lembang, Kabupaten Bandung Barat, Provinsi Jawa Barat dan hewan uji yang digunakan adalah larva udang *Artemia franciscana* Kellogg yang diperoleh dari toko Adraquatic Bandung. Berdasarkan hasil determinasi yang telah dilakukan, menyatakan bahwa bahan tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah daun pulai dengan nama latin (*Alstonia scholaris* (L.) R. Br.) dan hewan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah *Artemia franciscana* Kellogg.

Daun pulai segar sebanyak 9 kg disortasi basah, kemudian dicuci dengan air bersih lalu dirajang kecil-kecil dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan di udara terbuka yang terlindung dari sinar matahari. Daun pulai yang telah kering kemudian dihaluskan menggunakan blender, sehingga diperoleh serbuk simplisia sebanyak 1,41 kg. Serbuk simplisia daun pulai sebanyak 1 kg diekstraksi menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 10 liter dengan metode maserasi. Hasil ekstraksi diperoleh ekstrak kental daun pulai sebanyak 132,75 gram dengan rendemen yang dihasilkan sebesar 13,27%. Maserasi merupakan metode sederhana dalam ekstraksi yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dengan pelarut yang sesuai dengan beberapa kali pengadukan dalam wadah tertutup rapat pada suhu kamar dan terhindar dari cahaya agar mencegah terjadinya reaksi yang dikatalisis oleh cahaya. Selain pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana, pemilihan metode maserasi ini berdasarkan dari keuntungannya, di mana dalam proses ekstraksi tidak memerlukan panas sehingga dapat mencegah terjadinya kerusakan senyawa-senyawa yang bersifat termolabil.

Masing-masing ekstrak kental daun pulai sebanyak 10 gram difraksinasi dengan metode ekstraksi cair-cair menggunakan tiga pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda dan tidak saling bercampur, yaitu n-heksan, etil asetat, dan air. Penggunaan metode ekstraksi cair-cair bertujuan untuk memaksimalkan proses ekstraksi sehingga senyawa yang diinginkan dapat terpisah. Senyawa-senyawa yang bersifat nonpolar akan tertarik oleh pelarut nonpolar dan senyawa-senyawa yang bersifat polar akan tertarik oleh pelarut polar (5). Pada penelitian ini diperoleh hasil fraksi air sebanyak 19,91 gram dengan rendemen sebesar 39,83%, fraksi etil asetat sebanyak 17,87 gram dengan rendemen sebesar 35,75%, dan fraksi n-heksan sebanyak 3,36 gram dengan rendemen sebesar 6,72%.

Penetapan Parameter Standar Bahan Uji

Penetapan parameter standar bahan uji adalah proses yang dilakukan untuk memastikan simplisia daun pulai telah memenuhi persyaratan berdasarkan parameter yang telah ditentukan. Penetapan ini menggunakan dua parameter, yaitu parameter spesifik dan parameter nonspesifik (9). Hasil penetapan parameter spesifik dan nonspesifik adalah sebagai berikut:

Tabel 1. Hasil Penetapan Parameter Spesifik dan Nonspesifik Bahan Uji

Parameter standar	Hasil
Kadar sari larut air	21,42%
Kadar sari larut etanol	14,82%
Susut pengeringan	8,24%
Kadar air	9,25%
Kadar abu total	9,84%
Kadar abu tidak larut asam	0,92%
Bobot jenis ekstrak	1,01

Penapisan Fitokimia Simplisia, Ekstrak Etanol, dan Fraksi Daun Pulai (*Alstonia scholaris* (L.) R. Br.)

Penapisan fitokimia merupakan metode yang sederhana, selektif, dan cepat untuk mengidentifikasi golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam simplisia, ekstrak etanol, dan fraksi daun pulai (11).

Tabel 2. Hasil Penapisan Fitokimia Simplisia, Ekstrak Etanol, dan Fraksi Daun Pulai (*Alstonia scholaris* (L.) R. Br.)

Golongan senyawa	Hasil				
	Simplisia	Ekstrak	Fraksi n-heksan	Fraksi etil asetat	Fraksi air
Alkaloid	+	+	+	+	+
Flavonoid	+	+	+	+	+
Saponin	-	-	-	-	-
Polifenolat	+	+	-	+	+
Tanin	+	+	-	+	+
Antrakuinon	+	+	+	-	+
Triterpenoid	+	+	-	-	+
Steroid	-	-	+	+	-
Monoterpenoid	+	+	+	+	+
Seskuiterpenoid	+	+	+	+	+

Keterangan:

(+) = Terdeteksi

(-) = Tidak terdeteksi

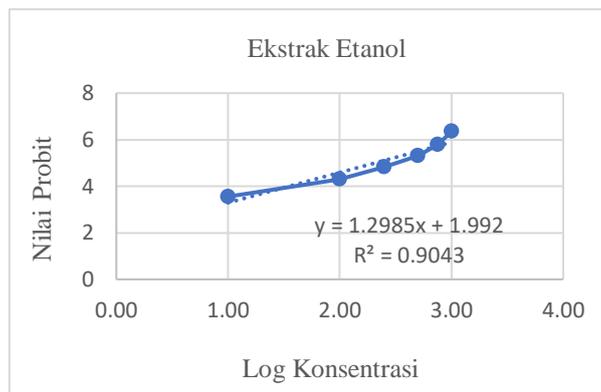
Uji Sitotoksik Ekstrak dan Fraksi Daun Pulai (*Alstonia scholaris* (L.) R. Br.)

Uji sitotoksik dilakukan terhadap ekstrak etanol, fraksi air, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksan daun pulai secara *in vitro* dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) menggunakan larva udang *Artemia franciscana* Kellogg sebagai hewan uji. Konsentrasi yang digunakan adalah 10 ppm, 100 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm, dan 1000 ppm. Pengujian dilakukan selama 24 jam terhadap larva udang yang telah berumur 48 jam. Pengamatan dilakukan terhadap jumlah kematian larva udang.

Tabel 3. Data Kelompok Uji, Konsentrasi Uji, % Mortalitas, dan LC₅₀ Pada Larva Udang *Artemia Franciscana* Kellogg

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Log Konsentrasi	Akumulasi Mati	% Mortalitas	Nilai Probit	Nilai LC ₅₀ (ppm)
Ekstrak Etanol	0	0	0	0,00	0,0	207,2526
	10	1,00	7	7,45	3,5534	
	100	2,00	20	23,81	4,2872	
	250	2,40	35	42,68	4,8134	
	500	2,70	53	62,35	5,3134	
	750	2,88	72	78,26	5,7796	
	1000	3,00	93	91,18	6,3469	
Fraksi Air	0	0	0	0,00	0,0	282,1630
	10	1,00	4	4,12	3,2608	
	100	2,00	17	20,24	4,1035	
	250	2,40	33	39,76	4,7389	
	500	2,70	50	58,14	5,2045	
	750	2,88	68	74,73	5,6651	
	1000	3,00	87	88,78	6,2107	
Fraksi Etil Asetat	0	0	0	0,00	0,0	187,5858
	10	1,00	7	7,61	3,5675	
	100	2,00	21	25,30	4,3349	
	250	2,40	37	44,58	4,8617	
	500	2,70	55	63,22	5,3372	
	750	2,88	75	78,95	6,8030	
	1000	3,00	95	90,48	6,3047	
Fraksi N-Heksan	0	0	0	0,00	0,0	484,2839
	10	1,00	3	2,50	3,0400	
	100	2,00	7	7,22	3,5380	
	250	2,40	17	20,99	4,1901	
	500	2,70	32	42,11	4,8007	
	750	2,88	47	61,84	5,3002	
	1000	3,00	63	81,82	5,9078	

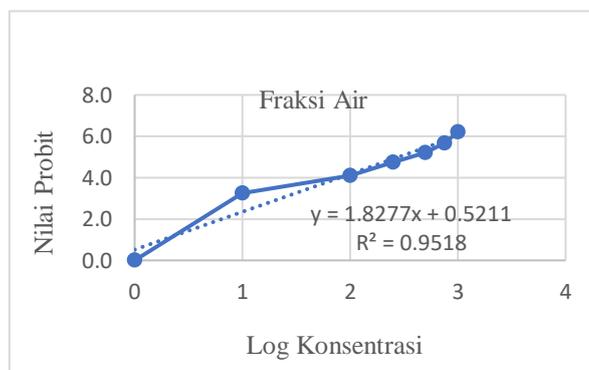
Berdasarkan Tabel 3, menunjukkan bahwa larva udang mulai mengalami kematian pada sampel ekstrak etanol, fraksi air, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksan dari konsentrasi 10 ppm sampai 1000 ppm, sedangkan pada konsentrasi 0 ppm larva udang tidak mengalami kematian. Hal ini dapat disebabkan oleh golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam sampel ekstrak etanol daun pulai. Berdasarkan Tabel 3 dapat diketahui bahwa banyaknya jumlah kematian larva udang seiring dengan meningkatnya konsentrasi sampel uji. Hasil angka kematian larva udang kemudian dihitung persen mortalitasnya untuk mengetahui angka kematian dalam persentase. Persen mortalitas paling tinggi yaitu pada konsentrasi 1000 ppm dari masing-masing sampel ekstrak etanol, fraksi air, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksan. Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa persen mortalitas sebanding dengan jumlah konsentrasi, semakin tinggi konsentrasi sampel maka persen mortalitas pun akan semakin tinggi. Setelah diperoleh persen mortalitas dari ekstrak etanol yaitu 91,18%, kemudian dilakukan perhitungan nilai LC_{50} berdasarkan persamaan regresi linier yang dihasilkan dari grafik antara log konsentrasi ekstrak etanol dan nilai probit. Grafik tersebut dapat dilihat pada Grafik 1.



Grafik 1. Grafik Antara Log Konsentrasi Dan Nilai Probit Ekstrak Etanol

Dari Grafik 1, diperoleh persamaan regresi $y = 1,2985x + 1,992$ dengan nilai koefisien korelasi sebesar 0,9043 yang dihasilkan dari regresi linier antara log konsentrasi dan nilai probit. Dari persamaan regresi tersebut dapat dilakukan perhitungan nilai LC_{50} dengan cara memasukkan nilai probit dari 50% mortalitas sebagai y sehingga dapat diperoleh nilai log konsentrasi sebagai x, kemudian log konsentrasi diubah menjadi antilog x untuk memperoleh nilai LC_{50} . Nilai LC_{50} yang diperoleh dari sampel ekstrak etanol pada penelitian ini adalah sebesar 207,2526 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa sampel ekstrak etanol memiliki efek toksik terhadap larva udang, karena nilai LC_{50} yang diperoleh kurang dari 1000 ppm.

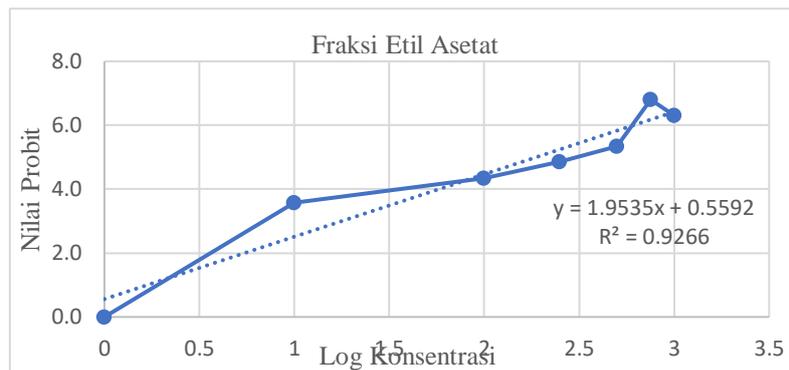
Selanjutnya dilakukan pengamatan terhadap fraksi air, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksan. Hal ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan efek toksik antara hasil ekstrak etanol dan hasil fraksi daun pulai. Setelah diperoleh persen mortalitas dari fraksi air yaitu 88,78%, kemudian dilakukan perhitungan nilai LC_{50} berdasarkan persamaan regresi linier yang dihasilkan dari grafik antara log konsentrasi ekstrak etanol dan nilai probit. Grafik tersebut dapat dilihat pada Grafik 2.



Grafik 2. Grafik Antara Log Konsentrasi Dan Nilai Probit Fraksi Air

Dari Grafik 2, diperoleh persamaan regresi $y = 1,8277x + 0,5211$ dengan nilai koefisien korelasi sebesar 0,9518 yang dihasilkan dari regresi linier antara log konsentrasi dan mortalitas probit. Dari persamaan regresi tersebut dapat dilakukan perhitungan nilai LC_{50} dengan cara memasukkan nilai probit dari 50% mortalitas sebagai y sehingga dapat diperoleh nilai log konsentrasi sebagai x , kemudian log konsentrasi diubah menjadi antilog x untuk memperoleh nilai LC_{50} . Nilai LC_{50} yang diperoleh dari sampel fraksi air pada penelitian ini adalah sebesar 282,163 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa sampel fraksi air memiliki efek toksik terhadap larva udang.

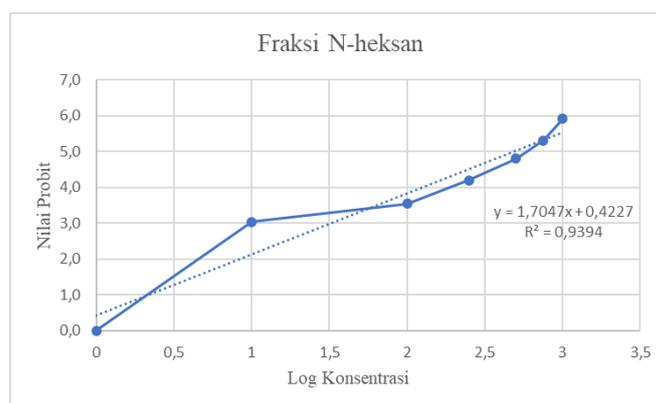
Pada sampel fraksi etil asetat, setelah diperoleh persen mortalitas yaitu 90,48%, kemudian dilakukan perhitungan nilai LC_{50} berdasarkan persamaan regresi linier yang dihasilkan dari grafik antara log konsentrasi fraksi etil asetat dan nilai probit. Grafik tersebut dapat dilihat pada Grafik 3.



Grafik 3. Grafik Antara Log Konsentrasi Dan Nilai Probit Fraksi Etil Asetat

Dari Grafik 3, diperoleh persamaan regresi $y = 1,9535x + 0,5592$ dengan nilai koefisien korelasi sebesar 0,9266 yang dihasilkan dari regresi linier antara log konsentrasi dan mortalitas probit. Dari persamaan regresi tersebut dapat dilakukan perhitungan nilai LC_{50} dengan cara memasukkan nilai probit dari 50% mortalitas sebagai y sehingga dapat diperoleh nilai log konsentrasi sebagai x , kemudian log konsentrasi diubah menjadi antilog x untuk memperoleh nilai LC_{50} . Nilai LC_{50} yang diperoleh dari sampel fraksi etil asetat pada penelitian ini adalah sebesar 187,5858 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa sampel fraksi etil asetat memiliki efek toksik terhadap larva udang.

Pada sampel fraksi n-heksan, setelah diperoleh persen mortalitas yaitu 81,82%, kemudian dilakukan perhitungan nilai LC_{50} berdasarkan persamaan regresi linier yang dihasilkan dari grafik antara log konsentrasi fraksi n-heksan dan nilai probit. Grafik tersebut dapat dilihat pada Grafik 4.



Grafik 4. Grafik Antara Log Konsentrasi Dan Nilai Probit Fraksi N-heksan

Dari Grafik 4, diperoleh persamaan regresi $y = 1,7047x + 0,4227$ dengan nilai koefisien korelasi sebesar 0,9394 yang dihasilkan dari regresi linier antara log konsentrasi dan mortalitas probit. Dari persamaan regresi tersebut dapat dilakukan perhitungan nilai LC_{50} dengan cara memasukkan nilai probit dari 50% mortalitas sebagai y sehingga dapat diperoleh nilai log konsentrasi sebagai x , kemudian log konsentrasi diubah menjadi antilog x untuk memperoleh nilai

LC₅₀. Nilai LC₅₀ yang diperoleh dari sampel n-heksan pada penelitian ini adalah sebesar 484,2839 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa sampel fraksi n-heksan memiliki efek toksik terhadap larva udang.

Suatu sampel dapat dikatakan memiliki efek sitotoksik apabila dapat menyebabkan kematian 50% hewan uji pada konsentrasi kurang dari 1000 ppm, oleh karena itu ekstrak etanol, fraksi air, fraksi, etil asetat, dan fraksi n-heksan daun pulai (*Alstonia scholaris* (L.) R. Br.) diketahui memiliki efek sitotoksik, hal ini berdasarkan dari nilai LC₅₀ yang diperoleh dari hasil pengujian. Semakin kecil nilai LC₅₀, maka sampel tersebut semakin toksik terhadap larva udang *Artemia franciscana* Kellogg. Suatu sampel dianggap sangat toksik apabila memiliki nilai LC₅₀ kurang dari 30 ppm, toksik apabila memiliki nilai LC₅₀ kurang dari 1000 ppm, dan tidak toksik apabila memiliki nilai LC₅₀ lebih dari 1000 ppm. Berdasarkan nilai LC₅₀ yang telah diperoleh dari hasil pengujian, fraksi etil asetat memiliki nilai LC₅₀ yang lebih rendah, hal ini menunjukkan bahwa fraksi etil asetat efek sitotoksik yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak etanol, fraksi air, dan fraksi n-heksan. Hal ini dapat disebabkan oleh sifat kepolaran dari fraksi etil asetat yang mampu menarik golongan senyawa polar maupun nonpolar. Golongan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, tanin, dan terpenoid yang terkandung pada ekstrak etanol, fraksi air, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksan dapat bertindak sebagai *stomach poisoning* atau racun perut, sehingga apabila senyawa-senyawa tersebut masuk ke dalam tubuh larva udang maka alat pencernaannya akan terganggu, dapat menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva udang, dan tidak bisa mendapatkan stimulus rasa sehingga tidak mampu mengenali makanannya. Hal ini menyebabkan larva udang mengalami kematian (Rahmi et al., 2022).

Selain itu, golongan senyawa alkaloid memiliki aktivitas sitotoksik karena berperan sebagai *tubulin inhibitor*. Pada saat proses siklus sel, alkaloid akan berikatan dengan tubulin yaitu suatu protein penyusun mikrotubulus, sehingga proses polimerisasi protein menjadi mikrotubulus dan pembentukan *spindle* mitotik akan terhambat. Hal ini mengakibatkan terjadinya proses apoptosis dikarenakan sel berhenti pada metafase dan tidak dapat melakukan pembelahan sel (Nuraini et al., 2015). Golongan senyawa flavonoid dapat menginduksi fragmentasi DNA, sehingga DNA menjadi rusak dan terjadi proses apoptosis yang mengakibatkan pertumbuhan sel menjadi terhambat. Selain itu flavonoid dapat mempercepat proses apoptosis sel sehingga menyebabkan terjadinya kematian sel. Adanya gugus OH⁻ pada flavonoid yang berikatan dengan protein integral membran sel menyebabkan transport aktif Na⁺ berhenti, sehingga pemasukan ion Na⁺ tidak terkendali ke dalam sel. Hal ini mengakibatkan sel menjadi pecah dan terjadi kematian sel (10). Golongan senyawa tanin dapat menghambat siklus sel kanker dengan menginhibisi aktivitas protein kinase sehingga jalur transduksi sinyal dari membran ke inti sel menjadi terhambat (6). Golongan senyawa terpenoid memiliki aktivitas antikanker dengan menghambat metastasis dan invasi sel kanker, menginduksi apoptosis, menghambat proliferasi sel kanker, dan memodulasi sistem kekebalan tubuh (13).

D. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, diketahui bahwa ekstrak etanol, fraksi air, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksan daun pulai (*Alstonia scholaris* (L.) R. Br.) memiliki efek sitotoksik dengan nilai LC₅₀ yang diperoleh dari masing-masing ekstrak etanol, fraksi air, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksana adalah sebesar 207,2526 ppm, 282,1630 ppm, 187,5858 ppm, dan 484,2839 ppm. Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa fraksi etil asetat menghasilkan nilai LC₅₀ yang lebih rendah yaitu 187,5858 ppm, sehingga fraksi etil asetat memiliki efek sitotoksik yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak etanol, fraksi air, dan fraksi n-heksana.

Daftar Pustaka

- Nuraini, Ilyas, A., & Iin, N. (2015). Identifikasi dan karakterisasi senyawa bioaktif antikanker dari ekstrak etanol kulit batang kayu bitti (*Vitex cofassus*). *Al Kimia*, 15–27.
- Rahmi, A., Afriani, T., & Aini, A. (2022). Cytotoxic test of extract and fractions from *Blumea balsamifera* leaves using Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 18(1), 26–33. <https://doi.org/10.20885/jif.vol18.iss1.art3>
- Baud, G. S., Sangi, M. S., & Koleangan, H. S. J. (2014). Analisis Senyawa Metabolit Sekunder Dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Batang Tanaman Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* L.) Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Jurnal Ilmiah Sains*, 14 (2), 106.
- Feng, L., Chen, Y., Yuan, L., Liu, X., Gu, J., Tiengkok, P., & Jiangsu, P. (2013). Kombinasi Alkaloid dan Triterpen dari Sarjana *Alstonia* (Linn.) R.Br. Daun Meningkatkan Aktivitas Imunomodulator pada Mencit C57BL/6 dan Menginduksi Apoptosis pada Garis Sel A549. 13920-13939.

- Iriyanti, & Hastuti. (2016). *Arthemisa salina* Leach *Hibiscus tiliaceus* Metode Brine Shrimp Lethality Test (BST) (*Hibiscus tiliaceus* Brine Shrimp Lethality Test (BS)). 3 (1), 15-21
- Khyade, M. S., Kasote, D. M., & Vaikos, N. P. (2014). Jurnal Etnofarmakologi *Alstonia* (L.) R. Br. dan *Alstonia Macrophylla* Dinding. ex G. Don: Dan Farmakologi. *Etnofarmakologi*, 153.
- Kusumawati, R. M., & Listiana. (2022). Jurnal Ilmiah Kesehatan 2022 Jurnal Ilmiah Kesehatan 2022. *Jurnal Ilmiah Kesehatan*, 21 (1), 14-19.
- Marwati, Salampe, M., Burhan, A., Megawati, Khairuddin, Naneng, A., & Oktaviani, N. (2020). Skrining Antioksidan dan Antikanker Ekstrak Etanol Daun Karamunting (*Rhonomyrtus Tomentosa* L.) Sebagai Obat Alternatif. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 6 (2), 242-244.
- Mayor, J., & Wattimena, L. (2022). Pemanfaatan Pohon Pulai (*Alstonia Scholaris*) Oleh Masyarakat Kampung Puper Distrik Waigeo Timur Kabupaten Raja Ampat. *J-MACE Jurnal Penelitian*, 2 (1), 680-81.
- Nuraini, Ilyas, A., & Iin, N. (2015). Identifikasi dan karakterisasi senyawa bioaktif antikanker dari ekstrak etanol kulit batang kayu bitti (*Vitex cofassus*). *Al Kimia*, 15-27.
- Purwoko, M. L. Y., Syamsudin, & Simanjutak, P. (2020). Standardisasi Parameter Spesifik dan Nonspesifik Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Asal Kabupaten Blora. *Sainstech Farma Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 13 (2), 1-15.
- Putri, A. P., Nasution, M. P., Muslim, U., & Al, N. (2022). 1,2 1,2. 1 (April), 203-219.
- Puspitasari, L., Swastini, D. a., & Arisanti, C. I. (2013). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 95% Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Garuda Portal*, 961, 5.