

UJI SITOTOKSIK EKSTRAK DAUN GANITRI (*Elaeocarpus Ganitrus Roxb.*) TERHADAP LARVA *Artemia salina Leach*

CYTOTOXIC TEST OF GANITRI LEAF (*Elaeocarpus Ganitrus Roxb.*) EXTRACT AGAINST *Artemia salina Leach* LARVAE

Eka Rezki Tri Nafarina¹, Chondrosuro Miyarso^{1*}, Naelaz Zukhruf Wakhidatul Kiromah¹

ARTICLE INFO

Submitted: 09-09-2023

Revised: 30-10-2023

Accepted: 30-11-2023

¹Program Studi Farmasi Program Sarjana (Universitas Muhammadiyah Gombong, Kebumen)

*Corresponding author (Chondrosuro Miyarso)

Email:

Chondrosuromiyarso@unimugo.ac.id

ABSTRAK

Kanker merupakan salah satu penyebab utama kematian di dunia yang belum ditemukan obatnya hingga sekarang. Ganitri (*Elaeocarpus ganitrus Roxb.*) merupakan salah satu tanaman yang berpotensi sebagai senyawa sitotoksik karena mengandung flavonoid dan tannin di bagian daun. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek sitotoksik dari ekstrak etanol dan akuades daun ganitri (*Elaeocarpus ganitrus Roxb.*) dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* dan Nilai LC_{50} . Penelitian ini menggunakan 10 Larva *Artemia salina Leach* pada konsentrasi 500, 250, 125, 50, 25, dan 12,5 ppm serta kontrol negatif. Larva yang mati pada masing-masing konsentrasi kemudian dihitung nilai LC_{50} . Hasil menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun ganitri (*Elaeocarpus ganitrus Roxb.*) didapatkan nilai LC_{50} sebesar 186,2173 $\mu\text{g/ml}$ sedangkan ekstrak akuades didapatkan dengan nilai LC_{50} sebesar 195,053 $\mu\text{g/ml}$. Hasil kedua ekstrak daun ganitri termasuk kategori moderat. Ekstrak etanol dan akuades daun ganitri (*Elaeocarpus ganitrus Roxb.*) memiliki potensi antikanker dengan kategori moderat.

Kata Kunci : *Elaeocarpus ganitrus Roxb* *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*, *Artemia salina Leach*, LC_{50}

ABSTRACT

Cancer remains a leading cause of death worldwide, with no definitive cure discovered to date. Ganitri (*Elaeocarpus ganitrus Roxb.*) is a plant with potential cytotoxic properties due to its flavonoid and tannin content in the leaves. This study aimed to investigate the cytotoxic effects of ethanol and aqueous extracts from ganitri leaves using the *Brine Shrimp Lethality Test* and determining the LC_{50} values. Ten *Artemia salina Leach* larvae were exposed to concentrations of 500, 250, 125, 50, 25, and 12.5 ppm, along with a negative control. The mortality of larvae at each concentration was recorded, and LC_{50} values were calculated. The results revealed that the ethanol extract of ganitri leaves had an LC_{50} value of 186.2173 $\mu\text{g/ml}$, while the aqueous extract exhibited an LC_{50} value of 195.053 $\mu\text{g/ml}$. Both extracts were categorized as moderately cytotoxic. The findings suggest that ethanol and aqueous extracts from ganitri leaves have moderate anticancer potential.

Key words: *Elaeocarpus ganitrus Roxb* *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*, *Artemia salina Leach*, LC_{50}

1. PENDAHULUAN

Kanker merupakan salah satu penyakit tidak menular yang membebani sistem kesehatan di seluruh dunia. *Global Burden of Cancer* dari Organisasi Kesehatan Dunia, menyebutkan ada 1,1 juta kasus baru kanker dan 9,6 juta kematian terkait penyakit tersebut hingga tahun 2018. Pada tahun 2030, diperkirakan akan ada 13,1 juta kematian akibat kanker (Kemenkes RI, 2019). *America Cancer Society* menyebut bahwa sekitar 1,9 juta kasus kanker baru diperkirakan didiagnosis pada tahun 2021 (Siegel, et al 2021). Proses awal terjadinya kanker ditandai dengan adanya pertumbuhan sel yang tidak normal dan dapat berkembang tidak terkendali serta dapat menyebar antar sel dan jaringan tubuh

(Pangribo, 2019). Pengobatan yang tepat diperlukan untuk mengatasi keganasan penyakit kanker. Perkembangan obat-obatan untuk melawan sel kanker telah banyak dilakukan oleh para peneliti. Namun, sebagian besar obat antikanker memiliki efek samping yang berbahaya bagi tubuh (Pratama et al, 2018).

Pengobatan kanker menyebabkan berbagai efek samping yang berbeda dan tidak menyenangkan. Dampak pengobatan secara medis kanker telah mendorong adanya banyak penelitian yang dilakukan untuk mencari alternatif pengobatan baru pada pengobatan kanker. Alternatif baru ini bisa berupa tanaman yang ada disekitar lingkungan kita yang tanpa disadari memiliki potensi sebagai tanaman berkhasiat obat yang diperlukan penelitian lebih lanjutan (Sudrajat, 2020).

Berdasarkan penelitian Kumar et al. (2014), bahwa ekstrak daun ganitri menunjukkan adanya beberapa aktivitas antara lain antidiabetik, antihipertensi, antioksidan, antibakteri. Selain itu, adanya aktivitas sitotoksik pada penelitian Hardainiyan et al, (2015) merujuk dari penelitian sebelumnya dari Biswas et al., (2012) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun *Elaeocarpus Serratus* memiliki aktivitas sitotoksik terhadap larva udang menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* dengan nilai LC_{50} sebesar 141,25 $\mu\text{g/ml}$. Daun ganitri memiliki senyawa bioaktif alkaloid, glikosida, tanin, saponin, flavonoid dan karbohidrat. Berdasarkan Penelitian Joshi et al (2020) menunjukkan fraksi metanol ekstrak metanol daun *Elaeocarpus sphaericus* memiliki aktivitas sitotoksik yang baik terhadap larva udang menggunakan metode BSLT dengan nilai LC_{50} sebesar 61, 05 $\mu\text{g/ml}$.

Senyawa sitotoksik merupakan suatu senyawa yang bisa merusak pertumbuhan sel tidak normal dan berpotensi sebagai obat antikanker (Purwanto, 2015). Berdasarkan penelitian Kiromah et al (2020) menyebutkan hasil skrining fitokimia daun ganitri mengandung senyawa flavonoid, terpenoid, saponin dan tanin. Flavonoid dan tanin berperan sebagai antikanker (Mardany, 2016).

Golongan senyawa flavonoid merupakan salah satu senyawa yang terdapat di alam dan telah banyak diteliti aktivitasnya sebagai antikanker (Putri et al, 2019). Flavonoid adalah senyawa di dalam tumbuhan yang terbukti mempunyai kemampuan menghambat beberapa sel kanker yang memiliki toksisitas rendah atau bahkan tidak toksik untuk sel normal (Mardiyansih et al, 2014). Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang memiliki aktivitas antikanker (Sirait et al, 2019) Berdasarkan penelitian Dubey et al., (2018) kandungan flavonoid pada ekstrak etanol daun ganitri termasuk jenis kuersetin. Kuersetin merupakan senyawa yang dapat dijadikan sebagai bahan yang berpotensi sebagai obat kanker (Khoirunnisa et al, 2019).

Golongan senyawa tanin merupakan senyawa polifenol di dalam tumbuhan yang memiliki potensi sebagai antikanker. Senyawa tanin dalam tumbuhan berfungsi melindungi tumbuhan dari UV yang menyebabkan kerusakan dan mencegah radikal berbahaya yang merusak struktur sel (Martha et al, 2020). Pada penelitian Booth et al., (2013) diketahui bahwa tanin menginduksi terjadinya apoptosis pada kanker payudara dengan cara mengaktifasi *caspase 3/7* dan *caspase 9*.

Aktivitas sitotoksik pada tanaman yang dapat digunakan sebagai antikanker dapat diuji dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test*. Uji sitotoksik dengan metode BSLT memiliki spektrum aktivitas yang luas, tidak membutuhkan biaya yang besar, cepat dan dapat dipercaya. Metode BSLT dikaitkan pada metode penapisan senyawa antikanker. Maka metode ini sangat tepat digunakan sebagai langkah awal dalam penelitian bahan alam (Frengki et al, 2014).

Berdasarkan uraian pada latar belakang di atas, peneliti akan menguji ekstrak etanol dan akuades daun ganitri (*Elaeocarpus ganitrus Roxb.*) untuk dilakukan uji sitotoksik dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* terhadap larva udang *Artemia salina Leach*.

2. METODE

Alat dan Bahan

Alat- alat yang digunakan sendok pengaduk kayu, wadah maserasi, cawan petri, *rotary evaporator* (Biobase), corong kaca, pH meter, termometer, *beaker glass* (Iwaki pyrex), lup, pipet tetes, sendok tanduk, penjepit tabung, tabung reaksi (Iwaki pyrex), rak tabung, timbangan analitik (Biobase), aluminium foil, cawan porselen, pipa kapiler (Camag), cawan petri, kaca arloji, oven (Biobase), blender (Philips), kompor listrik (Maspion), *erlemeyer* (Pyrex), vial, microplate, gelas ukur (Pyrex), spatula, waterbath (Biobase), lampu pijar, aerator (Amara), Lampu Ultraviolet 254 nm dan 366 nm (Biobase), seperangkat wadah penetasan larva, laptop dan kamera dokumentasi.

Bahan yang digunakan ekstrak daun ganitri (*Elaeocarpus Ganitrus Roxb.*), etanol 70 %, akuades, telur udang *Artemia salina leach*, garam ikan, serbuk magnesium, asam klorida pekat, HCl, FeCl₃, reagen wagner, reagen meyer, asam asetat, n-butanol, kuersetin, plat silika gel GF₂₅₄, HCl, dimetilsulfoksida 2 % (DMSO 2 %).

Prosedur Penelitian

Pembuatan Ekstrak

Simplisia daun ganitri (*Elaeocarpus ganitrus Roxb.*) dilakukan maserasi menggunakan pelarut etanol 70 % dan akuades. Proses perendaman dengan masing-masing pelarut dilakukan selama 72 jam dengan dilakukan pengadukan selama 30 menit. Selanjutnya setelah 3 hari dilakukan remaserasi. Maserat disaring kemudian diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* untuk memperoleh ekstrak kental.

Standarisasi Ekstrak

1. Organoleptik

Pemeriksaan organoleptik meliputi bentuk, bau, warna dan rasa (Depkes RI, 2000)

2. Kadar Air

Sebanyak 1 gr ekstrak daun ganitri ditimbang dalam wadah yang telah ditara. Keringkan dalam oven pada temperatur 105⁰ C selama 5 jam setelah itu timbang kembali. Langkah tersebut diulangi pada selang waktu 1 jam sampai mendapatkan perbedaan antara 2 kali penimbangan berturut-turut < 0,25 % (Depkes RI, 2000).

Skrining Fitokimia

1. Uji Tabung

Uji tabung yang dilakukan meliputi uji alkaloid, uji flavonoid, uji tannin, dan uji saponin (Marliza et al, 2021).

2. Identifikasi senyawa menggunakan Kromatografi Lapis Tipis

Pengujian KLT dilakukan untuk mengetahui adanya senyawa flavonoid dan tanin dalam ekstrak. Pemeriksaan ini menggunakan fase diam menggunakan plat silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak yang digunakan untuk identifikasi senyawa flavonoid yaitu campuran n-heksan : etil asetat dengan perbandingan 3 : 7 (Bahrisy et al., 2021). Perbandingan yang digunakan yaitu Kuersetin (flavonoid) dan asam tanat (tanin). Hasil kromatogram diidentifikasi menggunakan penampak bercak ammonia dan FeCl₃. Kemudian kromatogram diamati dibawah sinar tampak, sinar UV 254 nm warna gelap dan pada sinar UV 366 nm untuk melihat fluoresensi bercak dan dihitung nilai R_f.

Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Daun Ganitri (*Elaeocarpus Ganitrus Roxb.*)

1. Pembuatan konsentrasi larutan uji

Pembuatan konsentrasi larutan uji diawali dengan proses pembuatan larutan induk. Larutan induk dibuat dengan memasukkan 2000 mg ekstrak kental ke dalam labu ukur kemudian dilarutkan dengan DMSO 2 ml. Selanjutnya ditambahkan aquades hingga mencapai volume 100 ml, sehingga diperoleh konsentrasi larutan induk 20.000 ppm. Kemudian dibuat larutan uji dengan konsentrasi 1000 ppm, 500 ppm, 250 ppm, 50 ppm, dan 25 ppm dengan menggunakan rumus pengenceran. Dipipet sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam masing-masing tabung uji yang telah berisi 10 ekor dalam larutan uji 1 ml. Konsentrasi akan berubah menjadi setengah konsentrasi awal, karena dalam setiap terdapat 2 ml larutan yaitu 1 ml air laut dan 1 ml larutan uji konsentrasi awal. Sehingga diperoleh larutan uji konsentrasi akhir masing-masing sebesar 500 ppm, 250 ppm, 125 ppm, 50 ppm, 25 ppm dan 12,5 ppm (Subekti, 2014).

2. Prosedur uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Uji *Brine Shrimp Lethality Test* merupakan salah satu metode untuk menentukan uji aktivitas sitotoksik. Uji BSLT ini menggunakan ekstrak etanol dan akuades daun ganitri (*Elaeocarpus Ganitrus Roxb.*) dibuat pengenceran larutan uji konsentrasi awal 1000 ppm, 500 ppm, 250 ppm, 125 ppm, 50 ppm, 25 ppm dan kontrol 0 ppm dari larutan induk 20.000 ppm. Ekstrak dari masing-masing pelarut dibuat 6 konsentrasi berbeda, yaitu 500 ppm, 250 ppm, 125 ppm, 50 ppm, 25 ppm, dan 12,5 ppm. Pada uji BSLT menggunakan vial yang untuk setiap ekstrak. Langkah awal membagi 6 kelompok vial untuk masing-masing konsentrasi ekstrak dan kelompok untuk kontrol negatif berupa air laut. Setiap perlakuan dilakukan pengulangan 5 kali sehingga masing-masing perlakuan mendapatkan 5 sumur. Pada masing-masing sumur, dimasukkan 10 larva udang dan dicampur 1 ml air laut yang telah diukur pHnya. Setiap sumur ditetaskan sebanyak 1 ml masing-masing konsentrasi kecuali pada kontrol negatif yang dimasukkan 1 ml air laut. Sehingga dalam 1 sumur terdiri dari 1 ml ekstrak dan 1 ml air laut. Vial dibiarkan selama 24 jam di udara terbuka. Selanjutnya setelah 24 jam larva yang masih hidup dihitung jumlahnya pada masing-masing tabung reaksi. Apabila larva tidak menunjukkan pergerakan beberapa detik selama pengamatan. Hal ini menjadi kriteria standar dalam

mengukur kematian larva. Kemudian dilakukan perhitungan manual dengan bantuan lup, selanjutnya diamati pada kaca arloji dengan bantuan cahaya (Subekti, 2014).

Analisa Data

Data yang diperoleh dilakukan analisis dengan menggunakan persamaan regresi linier antara log konsentrasi dengan nilai probit untuk menentukan LC₅₀.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Standarisasi Ekstrak Daun ganitri (*Elaeocarpus ganitrus Roxb.*)

Sitotoksik merupakan senyawa yang memiliki kemampuan sebagai zat antikanker dan dapat menghambat pertumbuhan sel kanker (Febriyani, 2020). Kanker merupakan penyakit yang ditandai dengan adanya pertumbuhan sel yang tidak normal dan dapat berkembang tidak terkendali serta dapat menyebar antar sel dan jaringan tubuh (Pangribo, 2019). Pengobatan kanker menyebabkan efek samping yang tidak menyenangkan. Hal ini mendorong adanya alternatif pengobatan baru berupa tanaman yang berpotensi berkhasiat obat yang diperlukan penelitian lanjutan (Sudrajat, 2020).

Pada penelitian ini menggunakan daun ganitri (*Elaeocarpus ganitrus Roxb.*) dan dilakukan maserasi dengan etanol 70 % dan akuades. Pemilihan etanol 70 % karena bersifat inert dan kelarutan relatif tinggi (Susanti et al, 2012). Akuades dipilih sebagai salah satu pelarut karena bersifat polar, tidak beracun, tidak mudah menguap, stabil dan tidak mudah terbakar. Pelarut etanol 70 % dan akuades dipilih sebagai pelarut karena bersifat polar dan dapat menarik senyawa aktif yang bersifat polar juga yaitu flavonoid dan tanin (Suhendra et al, 2019). Berdasarkan penelitian (Julianti, 2019) penggunaan pelarut etanol 70 % memiliki aktivitas sitotoksik dengan nilai LC₅₀ 886,11 µg/ml. Sedangkan pemilihan pelarut akuades memiliki aktivitas sitotoksik dengan nilai LC₅₀ 163,979 µg/ml (Anwar, 2014).

Tabel 1. Standarisasi Ekstrak

Pengamatan	Hasil	
	EEDG	EADG
Organoleptik	Warna hijau pekat, bau khas, rasa khas dan bentuk kental	Warna hijau kecoklatan, bau khas, rasa khas dan bentuk kental
Kadar Air	0.22	0,07

Pada proses maserasi harus terhindar dari sinar cahaya untuk mencegah terjadinya reaksi katalisis cahaya (perubahan warna). Maserasi dengan pelarut etanol dilakukan selama 3x24 jam agar senyawa yang terkandung dalam sampel mengalami penarikan lebih maksimal (Indarto et al, 2019). Sedangkan maserasi dengan pelarut akuades dilakukan 1x24 jam karena salah satu kekurangan penggunaan pelarut akuades yaitu sari yang didapat ditumbuhi ditumbuhi kapang (Sa'adah & Nurhasnawati, 2015) dan untuk menghindari terjadinya pencemaran oleh mikroorganisme (Damarini, 2011). Hasil maserasi dipekatkan untuk memperoleh ekstrak kental dan untuk memisahkan pelarut dengan ekstrak cair sehingga berpengaruh pada efektivitasnya (Fadli, et al, 2019).

Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Daun Ganitri (*Eleocarpus ganitrus Roxb.*)

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui senyawa yang terkandung di dalam ekstrak secara kualitatif (Fadli et al, 2019). Identifikasi yang dilakukan berupa uji tabung dan KLT. Uji tabung bertujuan mengetahui kandungan senyawa kimia dalam ekstrak dengan menggunakan reagen. Pada **Tabel 2** hasil uji tabung pada sampel EEDG dan EADG (*Elaeocarpus ganitrus Roxb.*) mengandung senyawa alkaloid, tanin, flavonoid dan saponin (Rashmi, 2014). Hal tersebut sesuai dengan penelitian Kiromah et al, (2020) bahwa EADG mengandung senyawa fenol, flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid, glikosida. Berdasarkan penelitian Rahmatulloh, (2020) EEDG mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin, glikosida dan triterpenoid.

Tabel 2. Uji Tabung

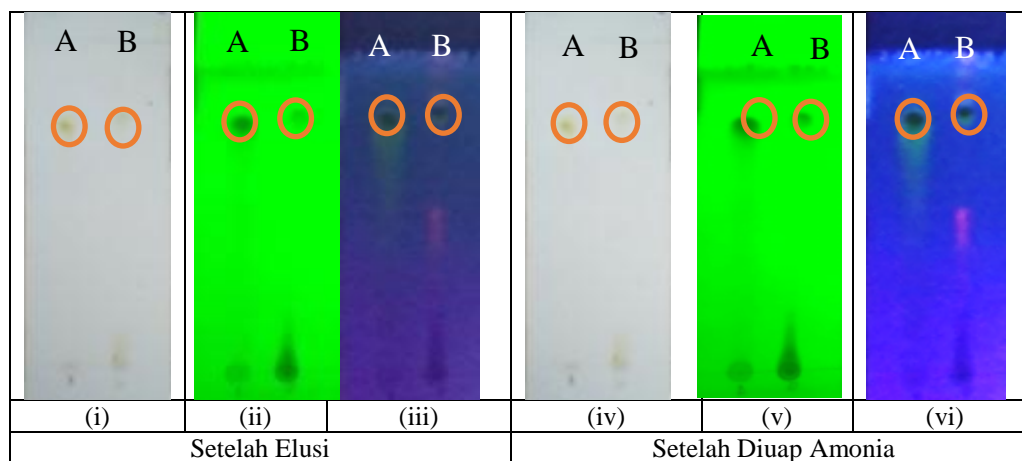
Golongan Senyawa	Reagen	Hasil Skrining Fitokimia		Keterangan
		EADG	EEDG	
Alkaloid :				

- Uji Mayer	Reagen mayer	+	+	Kuning Keruh
- Uji Wagner	Reagen wagner	+	+	Coklat Kemerahan
Tanin	FeCl ₃	+	+	Hijau Kehitaman
Flavonoid	Asam Klorida Pekat	+	+	Merah Kecoklatan
Saponin	Akuades	+	+	Timbul buih

Kromatografi Lapis Tipis

Tabel 3. Hasil nilai Rf Flavonoid Akuades Daun Ganitri

Sampel	Rf	Setelah Elusi			Setelah Diuap Amonia		
		Sinar Tampak	UV 254 nm	UV 366 nm	Sinar Tampak	UV 254 nm	UV 366 nm
Kuersetin (A)	0,76	Kuning	Hitam	Kuning	Kuning	Hitam	Kuning
Ekstrak (B)	0,76	Kuning	Hitam	Biru Keunguan	Kuning	Hitam	Biru Keunguan



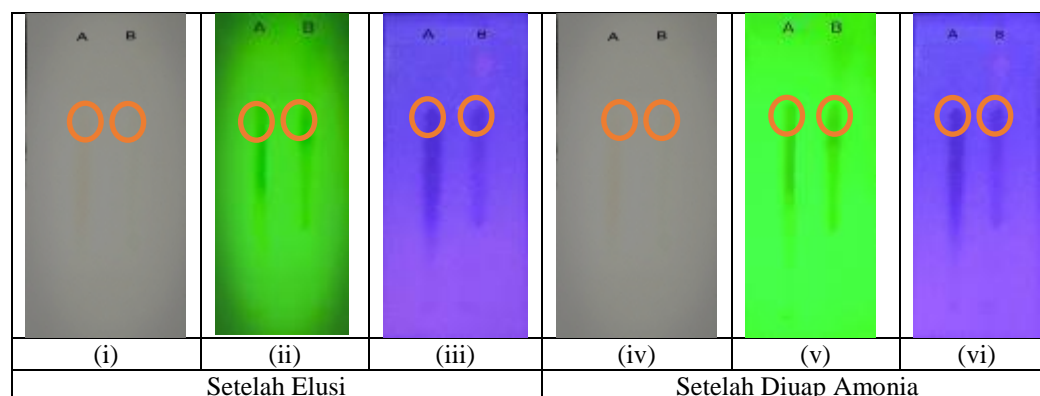
Gambar 1. Uji KLT Flavonoid Ekstrak Akuades Daun Ganitri (*Elaeocarpus ganitrus* Roxb.)

Keterangan: (i) Pengamatan pada sinar tampak; (ii) Pengamatan pada sinar UV 254 nm; (iii) Pengamatan pada 366 nm; (iv) Pengamatan pada sinar tampak setelah diuapi amonia; (v) Pengamatan pada sinar UV 254 nm setelah diuapi amonia; (vi) Pengamatan pada 366 nm setelah diuapi amonia.

Identifikasi senyawa dengan KLT bertujuan untuk memastikan kandungan zat aktif flavonoid dan tanin pada sampel ekstrak. Fase diam berupa plat silika GF₂₅₄ diaktifkan dengan pemanasan dalam oven pada suhu 100⁰C selama 10 menit untuk menghilangkan air yang terdapat pada permukaan plat silika (Secoadi, 2012). Pada senyawa flavonoid menggunakan fase gerak n-heksan : etil asetat (3:1) dengan pembanding quersetin (Bahrisy et al., 2021). Hasil KLT pada Tabel 3 dan Gambar 1 menunjukkan bahwa ekstrak akuades daun ganitri positif flavonoid dengan ditandai bercak antara kuning hingga jingga begitu juga dengan ekstrak etanol daun ganitri pada Tabel 4 dan Gambar 2. Setiap campuran fase gerak yang berbeda dimasukkan bejana kemudian tutup dan lakukan penjuanan untuk menyamakan tekanan uap pada bejana selama 30 menit (Sholikhah, 2016). Elusi dihentikan saat gerakan eluen mencapai garis batas lalu dilakukan pemeriksaan noda yang terbentuk pada lampu UV 254 nm dan 366 nm (Zirconia et al, 2015).

Tabel 4. Hasil nilai Rf Flavonoid Etanol Daun Ganitri

Sampel	Rf	Setelah Elusi			Setelah Diuap Amonia		
		Sinar Tampak	UV 254 nm	UV 366 nm	Sinar Tampak	UV 254 nm	UV 366 nm
Kuersetin (A)	0,75	Kuning	Hitam	Kuning	Kuning	Hitam	Kuning
Ekstrak (B)	0,75	Kuning	Hitam	Biru Keunguan	Kuning	Hitam	Biru Keunguan



Gambar 2. Uji KLT Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Ganitri (*Elaeocarpus ganitrus* Roxb.)

Keterangan : (i) Pengamatan pada sinar tampak; (ii) Pengamatan pada sinar UV 254 nm; (iii) Pengamatan pada 366 nm; (iv) Pengamatan pada sinar tampak setelah diuapi amonia; (v) Pengamatan pada sinar UV 254 nm setelah diuapi amonia; (vi) Pengamatan pada 366 nm setelah diuapi amonia.

Uji Sitotoksik Metode Brine Shrimp Lethality Test

1. Ekstrak Etanol

Tabel 5. Persentase kematian larva *Artemia salina* Leach pada larutan uji

Replikasi	Kontrol negatif	Jumlah Larva Mati						Jumlah Larva Awal
		12,5 ppm	25 ppm	50 ppm	125 ppm	250 ppm	500 ppm	
1	0	4	4	5	6	7	8	10
2	0	4	4	5	5	6	8	10
3	0	3	3	4	5	6	6	10
4	0	2	2	2	4	4	5	10
5	0	1	2	2	3	3	4	10
Total								
Kematian	0	16	18	25	27	30	32	
Rata-rata	0	2,8	3	3,6	4,6	5,2	6,2	
% kematian		28	30	36	46	52	62	

Keuntungan dari penggunaan metode BSLT yaitu bioaktivitas yang perlakuannya cepat, akurat dan murah (Dahlan, 2018). Tahapan penetasan dimulai dengan memasukan telur *Artemia salina* Leach ke dalam bagian gelap dari wadah penetasan. Selama proses penetasan, larva akan bergerak pindah ke bagian yang terang melalui sekat berlubang. Pada bagian terang diberi penerangan menggunakan cahaya lampu sebesar 40 watt. Hal ini dilakukan untuk menyerupai lingkungan hidup dari larva. Temperature optimal pertumbuhan yaitu Suhu 25-30°C (Subekti, 2014).

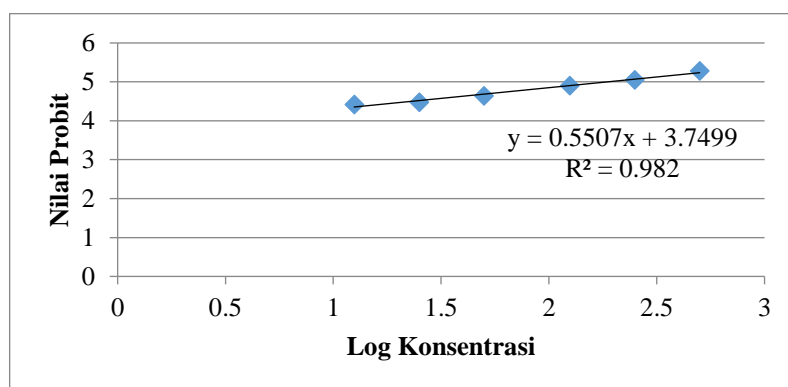
Pengujian atau replikasi dilakukan sebanyak 5 kali untuk mendapatkan keakuratan data dan memperoleh data yang baik. Pada perlakuan uji sitotoksik dibuat konsentrasi berbeda antara lain 500 ppm, 250 ppm, 125 ppm, 50 ppm, 25 ppm, dan 12,5 ppm serta 0 ppm sebagai kontrol negatif berupa air laut buatan tanpa penambahan ekstrak. Pembuatan seri konsentrasi ekstrak mengacu pada penelitian Subekti, (2014) dengan nilai LC₅₀ yaitu 68,87 ppm

dengan kategori toksik. Pada penelitian ini tidak menggunakan kontrol positif karena membutuhkan perlakuan khusus dengan alat yang memadai seperti penggunaan LAF khusus antikanker dan biaya yang tinggi (Sudrajat, 2020).

Tabel 6. Hasil perhitungan LC₅₀ dari ekstrak etanol daun ganitri

Konsentrasi (ppm)	Log Konsentrasi	% Kematian	Nilai Probit	LC ₅₀ (ppm)
12,5	1,096910013	28	4,42	186,2173 (Moderat)
25	1,397940009	30	4,48	
50	1,698970004	36	4,64	
125	2,096910013	46	4,9	
250	2,397940009	52	5,05	
500	2,698970004	62	5,28	

Pada Tabel 6 hasil uji sitotoksik menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun ganitri (*Elaeocarpus ganitrus Roxb.*) didapatkan persamaan regresi linier pada Gambar 3 yaitu $y = 0,5507 + 3,7499$ dengan nilai LC₅₀ sebesar 186,2173 µg/ml menunjukkan kategori moderat. Hal ini menunjukkan hasil yang selaras dengan hasil penelitian sebelumnya yang menggunakan daun jenis *Elaeocarpus serratus* sebesar 141,25 µg/ml menunjukkan kategori moderat (Biswas et al., 2012).



Gambar 3. Kurva kematian larva *Artemia salina* Leach

2. Ekstrak Akuades

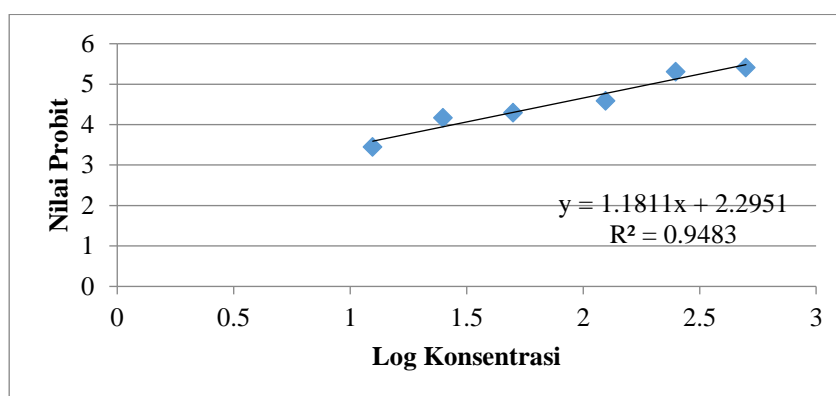
Tabel 7. Persentase kematian larva *Artemia salina* Leach pada larutan uji

Replikasi	Kontrol negatif	Jumlah Larva Mati						Jumlah Awal Larva
		12,5 ppm	25 ppm	50 ppm	125 ppm	250 ppm	500 ppm	
1	0	0	3	4	5	7	8	10
2	0	1	3	4	4	7	8	10
3	0	1	2	2	3	6	7	10
4	0	1	1	1	3	6	5	10
5	0	0	1	1	2	5	5	10
Total								
Kematian	0	3	10	12	17	31	33	
Rata-rata	0	0,6	2	2,4	3,4	6,2	6,6	
% Kematian		6	20	24	34	62	66	

Pada Tabel 8 hasil Uji sitotoksik ekstrak akuades ganitri didapatkan persamaan regresi linier pada Gambar 4 $y = 1,1811 + 2.2951$ dengan nilai LC₅₀ sebesar 195,0533 µg/ml menunjukkan kategori moderat berdasarkan. Pada penelitian Anwar (2014) bahwa ekstrak dengan pelarut akuades menunjukkan nilai LC₅₀ yaitu 265,977 ppm. Hal ini berkaitan dengan kedua senyawa yang telah berhasil diidentifikasi dengan uji fitokimia yang terdapat dalam ekstrak daun ganitri (*Elaeocarpus ganitrus Roxb.*).

Tabel 8. Hasil perhitungan LC₅₀ dari akuades daun ganitri

Konsentrasi (ppm)	Log konsentrasi	% Kematian	Nilai probit	LC ₅₀ (ppm)
12,5	1,096910013	6	3,45	
25	1,397940009	20	4,17	
50	1,698970004	24	4,29	195,0533
125	2,096910013	34	4,59	moderat
250	2,397940009	62	5,31	
500	2,698970004	66	5,41	

**Gambar 4. Kurva kematian larva *Artemia salina* Leach**

Aktivitas sitotoksik ekstrak etanol dan akuades daun ganitri berperan penting sebagai agen antikanker. Flavonoid dan tanin merupakan zat yang memiliki peran penting karena memiliki sifat antioksidan. Flavonoid memiliki mekanisme antikanker yang melibatkan pemicu jalur apoptosis sel kanker. Fragmentasi DNA merupakan dasar kematian sel yang disebabkan oleh pelepasan rantai DNA proksimal oleh zat oksigen reaktif seperti radikal hidroksil. Pencegahan aktivitas protein kinase dan mencegah transduksi sinyal dari membran ke inti sel. Reseptor tirosin kinase, yang dapat mendorong proliferasi sel kanker, dihambat oleh flavonoid. Karena adanya gugus OH- yang terikat pada protein integral membran sel, flavonoid memiliki fungsi dalam kematian sel (Nuraini et al, 2015). Ekstrak etanol dan akuades daun ganitri (*Elaeocarpus ganitrus Roxb.*) berpotensi sitotoksik karena sampel dinyatakan aktif dan dapat membunuh 50% hewan uji dengan konsentrasi < 1000 µg/mL (Fadli et al, 2019).

4. KESIMPULAN

Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun ganitri dan ekstrak akuades daun ganitri (*Elaeocarpus ganitrus Roxb.*) mempunyai potensi sitotoksik dengan nilai LC₅₀ masing-masing yaitu 186,2173 µg/ml dan 195,053 µg/ml menunjukkan kategori moderat terhadap larva udang *Artemia salina* Leach.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih untuk Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat (LPPM) Universitas Muhammadiyah Gombong yang telah memfasilitasi penelitian ini.

6. DAFTAR PUSTAKA

- Anwar, et al. (2014). Uji Toksisitas Ekstrak Akuades (Suhu Kamar) dan Akuades Panas Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach. *ALCHEMY*, 3(1), 82–94.
- Aqiila, Gusti Rifda. Taufiqurrahman, Irham. Wydiamaka, E. (2017). Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Daun *Ramania* (*Bouea macrophylla* Griffith) Terhadap Mortalitas Larva *Artemia salina* Leach. *Banjarmasin : Fakultas Kesehatan Gigi Universitas Lambung Mangkurat . Dentino (Jurnal Kedokteran)*, II, 170–176.
- Arwan, B. (2017). Uji Toksisitas Fraksi Ekstrak Etanol 70 % Akar Parang Romang (*Boehmeria virgata* (Forst) Guill.) Terhadap Larva Udang (*Artemia salina* Leach) Dengan Menggunakan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *SKRIPSI. Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar*.

- Bahrissy, A. H. K., Fitriyati, L., & Wakhidatul, N. Z. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Sabun Cair Ekstrak Metanol Daun Mangga Arum Manis (*Mangifera indica* L. var. *arum manis*) Terhadap *Staphylococcus epidermidis*. *Prosiding The 14th University Research Colloquium*. <http://repository.urecol.org/index.php/proceeding/issue/view/35>
- Biswas, S. K., Chowdhury, A., Das, J., Chowdhury, A., Raihan, S. Z., & Muhit, M. A. (2012). Phytochemical investigation with assessment of cytotoxicity and antibacterial activities of the ethanol extract of *elaecarpus serratus*. *American Journal of Plant Physiology*, 7(1), 47–52.
- BPOM. (2012). *Pedoman Teknologi Formulasi Sediaan Berbasis Ekstrak*. Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- Budhy, T. I. (2019). *Mengapa terjadi Kanker* (Pusat Penerbitan dan Percetakan UNAIR (ed.); II). Airlangga University Press.
- Depkes RI. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat* (Departemen Kesehatan RI (ed.)). Direktorat Jendral Pengawasan Obat Makanan dan Obat Tradisional.
- Dubey, G. A. (2018). Effect Of Extract Of Rudraksha (*Elaecarpus ganitrus*) on Parkinson's Disease and Depression. *World Journal Of Pharmaceutical Research*, 7(12), 937–947. <https://doi.org/10.20959/wjpr201812-12697>
- Eva, S. (2020). Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) Terhadap Larva Udang (*Artemia salina* Leach) Dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test). *SKRIPSI. PRODI FARMASI. Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Gombang*.
- Fadli, Haiyul ; Hasanah, S. U. (2019). Uji Sitotoksik Ekstrak Kulit Batang Tumbuhan Kangkang Katup (*Bauhinia semibifida* Roxb) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *SCIENTIA Jurnal Farmasi Kesehatan*, 9(2), 141–145.
- Febriyani, D. P. (2020). Efektifitas Infusa Dan Ekstrak Metanol Biji Mahoni (*Swietenia macrophylla* King) Terhadap Sitotoksitas Larva Udang *Artemia salina* Dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test). *SKRIPSI. Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Sunan Ampel Surabaya*.
- Hidjrawan. (2018). Identifikasi Senyawa Tanin Pada Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *Jurnal Optimalisasi*, 4,78-82
- Joshi, S ; Amatya, S ; Pandey, R. D ; Khadka, P. ; & Bhattarai, J. (2020). Antimicrobial, Antioxidant, Antidiabetic, Cytotoxic Activities and GC-MS Analysis of Methanolic Extract of *Elaecarpus sphaericus* Leaves from Nepal. *Internasional Journal of Advanced Research in Chemical Science*, 8(1), 11–23. <https://doi.org/https://doi.org/10.20431/2349-0403.0801002>
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2019). Beban Kanker Di Indonesia. In *Kementerian Kesehatan Republik Indonesia*.
- Kemit, Nico ; Widarta, W. ; N. ; komang ayu. (2016). Pengaruh Jenis Pelarut dan Waktu Maserasi Terhadap Kandungan Senyawa Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Alpukat (*Persea Americana* Mill). *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan*, 5(2), 130–141.
- Khoirunnisa, Izzatul ; Sumiwi, S. A. (2019). Review Artikel : Peran Flavonoid Pada Berbagai Aktivitas Farmakologi. *Farmaka*, 17(2), 131–142.
- Kiromah, et al. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol dan Akuades Daun Ganitri (*Elaecarpus ganitrus* Roxb.) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. *Acta Pharm Indo*, 8(2), 89–100.
- Kiromah, et al. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Ganitri (*Elaecarpus Ganitrus* Roxb.) dengan Metode DPPH (2,2 Difenil-1-Pikrilhidazil). *Pharmakon: Jurnal Farmasi Indonesia*, 18(1), 60–67.
- Kumar, G., Karthik, L., & Bhaskara Rao, K. V. (2014). A review on medicinal properties of *elaecarpus ganitrus* Roxb.ex G. Don. (*Elaeocarpaceae*). *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 7(10), 1184–1186.
- Marliza, Hesti ; Oktaviani, D. (2021). Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol Daun Kemumu (*Colacasia gigantea* Hook.f) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Bencoolen Journal Of Pharmacy*, 1(1), 38–45.
- Pangribowo, S. (2019). Beban Kanker di Indonesia. *Pusat Data Dan Informasi Kementerian Kesehatan RI*, 1–16.
- Rachman, E. (2012). Kajian Potensi dan Pemanfaatan Jenis Ganitri (*Elaecarpus* spp.). *Mitra Hutan Tanaman*, 7(2), 77–82.
- Rahmatulloh, W. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol, Metanol dan Akuades Daun Ganitri (*Elaecarpus ganitrus* Roxb.) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. *SKRIPSI. Program Studi Farmasi Program Sarjana. Stikes Muhammadiyah Gombang*.
- Rashmi, P. ; A. K. (2014). Mythological and Spiritual Review on *Elaecarpus Ganitrus* and Assessment of Scientific Facts for its Medicinal Uses. *International Journal of Research India*, 1(5), 334–353.
- Reskianingsih, A. (2014). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Buah *Phaleria macrocarpa* (Schreff) Boerl Terhadap Larva *Artemia salina* Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *SKRIPSI. Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta*, 1–45.
- Rohandi, A. ; G. (2014). Sebaran Populasi dan Potensi Tanaman Ganitri (*Elaecarpus Ganitrus* Roxb) di Jawa Tengah. *Jurnal Ilmu Kehutanan*, 8(1), 25–33. <https://doi.org/https://doi.org/10.22146/jik.8550>
- Rohmah, J. ; et al. (2019). Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Selada Merah (*Lactuca sativa* var, *Crispa*) Pada Berbagai Pelarut Ekstraksi Dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test). *Jurnal Kimia Riset*, 4(1), 18–32. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.20473/jkr.v4i1.13066>
- Sa'adah, H., Nurhasnawati, H., & Permatasari, V. (2017). Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine plmifolia* (L.)Meer) Dengan Metode Spektrofotometri. *Jurnal Borneo Journal of*

Pharmascientech, 1(1), 1–9.

- Siegel, Rebecca ; Miller, Kimberly ; Fusch, Hannah ; jemal, A. (2021). Cancer Statistics, 2021. *Surveillance and Health Services Research, American Cancer Society, Atlanta, Georgia*, 71. <https://doi.org/10.3322/caac.21654>
- Subekti, N. K. (2014). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Daun Laban Abang (*Aglaia elliptica* BLUME) Terhadap Larva Udang (*Artemia salina* Leach) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). In *SKRIPSI. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Tripathi, Y. (2015). Phytochemical Evaluation And Antihyperglycemic Effect of *Elaeocarpus ganitrus* Roxb (Rudhaksha) In Streptozotocin Induced Diabetes. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 7(1), 1–4.
- Yanty et al (2019). Fraksinasi dan Skrining Fraksi Biji Kebul (*Caesalpinia bonduc* (L) Roxb. dengan Metode KLT. *Borneo Journal of Pharmascientech*, 3(1), 56-66.
- Zirconia, et al. (2015). Identifikasi Senyawa Flavonoid Dari Daun Kembang Bulan (*Tithonia Diversifolia*) Dengan Metode Pereaksi Geser. *Al Kimiya*, 2(1), 9–17.