



UJI TOKSISITAS DAN AKTIVITAS ANTIKANKER TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA MCF-7 DARI FRAKSI KAYU KUNING (*Arcangelisia flava* (L) Merr).

Nanda^{1*}, Yanda Rahmasari¹, Miming Andika¹, Nola Rahmadasmi¹, Oryza Sativa Fitriani¹,

¹Program Studi S1 Farmasi, Universitas Fort de Kock, Bukittinggi

*Alamat Korespondensi: nanda@fdk.ac.id

Abstract: *Arcangelisia flava* (L.) Merr. or kayu kuning is a medicinal plant that has long been used traditionally in Southeast Asia, it is reported to have potential anticancer activity. This study aims to assess the toxicity, profile and cytotoxic activity of the ethanol extract and its fractions. Toxicity was evaluated using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT), and cytotoxic activity against MCF-7 breast cancer cells was assessed with the WST-8 assay. Phytochemical screening results showed the presence of alkaloids, flavonoids, tannins, and steroids in the ethanol extract and the fractions obtained. The LC_{50} values of the ethanol extract, ethanol fraction, ethyl acetate fraction, and n-hexane fraction were 624.43 ppm, 552.96 ppm, 950.86 ppm, and 1095.62 ppm, respectively. Based on toxicity criteria ($LC_{50} < 1000$ ppm), the ethanol extract, ethanol fraction, and ethyl acetate fraction were classified as having moderate toxicity. The ethanol fraction showed the lowest LC_{50} value and was therefore selected for further testing on MCF-7 cells. Cytotoxicity testing showed that the ethanol fraction had an IC_{50} value of 189.86 ppm, indicating moderate cytotoxic activity. These findings indicate that the ethanol fraction of *A. flava* has the potential to be a source of candidate anticancer compounds and warrants further research through the isolation and characterization of its active compounds.

Kata kunci: kayu kuning, anti-cancer, BSLT, MCF-7

Abstrak: *Arcangelisia flava* (L.) Merr. atau kayu kuning adalah tanaman obat yang telah lama digunakan secara tradisional di Asia Tenggara, dan dilaporkan memiliki potensi aktivitas antikanker. Penelitian ini bertujuan untuk menilai toksisitas, profil, dan aktivitas sitotoksik ekstrak etanol dan fraksinya. Toksisitas dievaluasi menggunakan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), dan aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara MCF-7 dinilai dengan uji WST-8. Hasil skrining fitokimia menunjukkan adanya alkaloid, flavonoid, tanin, dan steroid dalam ekstrak etanol dan fraksi yang diperoleh. Nilai LC_{50} ekstrak etanol, fraksi etanol, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksana masing-masing adalah 624,43 ppm, 552,96 ppm, 950,86 ppm, dan 1095,62 ppm. Berdasarkan kriteria toksisitas ($LC_{50} < 1000$ ppm), ekstrak etanol, fraksi etanol, dan fraksi etil asetat diklasifikasikan memiliki toksisitas sedang. Fraksi etanol menunjukkan nilai LC_{50} terendah dan oleh karena itu dipilih untuk pengujian lebih lanjut pada sel MCF-7. Pengujian sitotoksitas menunjukkan bahwa fraksi etanol memiliki nilai IC_{50} sebesar 189,86 ppm, yang menunjukkan aktivitas sitotoksik sedang. Temuan ini menunjukkan bahwa fraksi etanol dari *A. flava* berpotensi menjadi sumber senyawa antikanker potensial dan perlu diteliti lebih lanjut melalui isolasi dan karakterisasi senyawa aktifnya.

Keywords: kayu kuning, antikanker, BSLT, MCF-7

PENDAHULUAN

Senyawa bioaktif yang terkandung dalam tumbuhan pada dasarnya memiliki potensi efek toksik apabila diberikan dalam konsentrasi tinggi. Oleh sebab itu, pengujian toksisitas menjadi tahap penting untuk mengevaluasi keamanan penggunaan suatu bahan alam serta menentukan batas dosis yang masih dapat ditoleransi sebagai agen terapeutik. Uji toksisitas dilakukan untuk menilai respons biologis terhadap suatu senyawa dalam periode waktu tertentu setelah

pemberian dosis spesifik. Secara konseptual, suatu senyawa dapat bersifat toksik maupun terapeutik bergantung pada besarnya dosis yang diberikan, sehingga penentuan rentang keamanan menjadi aspek krusial dalam pengembangan obat berbasis bahan alam (Makiyah & Sumirat, 2017).

Pengujian toksisitas juga berperan sebagai tahap pra-skrining dalam identifikasi senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai antikanker. Evaluasi ini umumnya dilakukan melalui pemberian dosis tunggal suatu campuran senyawa kepada organisme uji untuk mengamati efek letal yang ditimbulkan. Salah satu metode skrining awal yang banyak digunakan adalah Brine Shrimp Lethality Test (BSLT), yaitu pengujian toksisitas akut menggunakan larva *Artemia salina* Leach sebagai organisme model. Parameter utama dalam metode ini adalah nilai LC_{50} yang ditentukan setelah periode pajanan selama 24 jam, yang mencerminkan konsentrasi senyawa yang mampu menyebabkan kematian 50% populasi larva uji (Fatimah *et al.*, 2022).

Secara global, kanker masih menjadi salah satu penyebab utama kematian dan berkontribusi besar terhadap penurunan angka harapan hidup (Sung *et al.*, 2021). Di antara berbagai jenis kanker, kanker payudara menempati posisi yang signifikan sebagai masalah kesehatan pada perempuan, dengan angka kejadian dan mortalitas yang relatif tinggi dibandingkan jenis kanker lainnya (Kashyap *et al.*, 2021).

Meningkatnya jumlah penderita kanker di seluruh dunia menunjukkan perlunya perhatian komprehensif terhadap penyakit ini. Pengobatan kanker payudara memerlukan pengobatan berupa kemoterapi, radioterapi, atau kemoradioterapi (Yunitasari *et al.*, 2017). Pengobatan kanker yang tersedia saat ini masih memiliki berbagai kekurangan, yaitu harga yang mahal, efek samping yang kuat, efektivitas rendah, dan belum selektif terhadap sel kanker. Oleh karena itu, pengobatan kanker payudara yang efektif dengan khasiat terapeutik yang maksimal dan efek samping yang minimal diperlukan untuk menjamin kualitas hidup pasien yang baik (Fisusi & Akala, 2019).

Salah satu tanaman yang secara luas dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional adalah kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr.). Tanaman ini termasuk kelompok bajakah, yang terdiri atas beberapa varietas seperti bajakah tampala, longkur, kaki lima, dan kalalawit (Alivianti *et al.*, 2021). Secara etnofarmakologis, kayu kuning telah lama digunakan oleh masyarakat Dayak di Kalimantan sebagai ramuan herbal untuk berbagai keluhan kesehatan. Sejumlah penelitian melaporkan bahwa tanaman ini memiliki potensi farmakologis, termasuk aktivitas antiproliferatif terhadap sel kanker (Wahyuni & Marpaung, 2020). Studi sebelumnya menunjukkan bahwa *Arcangelisia flava* memiliki berbagai aktivitas biologis, termasuk potensi antikanker (Pratama, 2016). Namun demikian, sebagian besar penelitian

yang tersedia masih berfokus pada ekstrak kasar atau pendekatan *in silico*, sehingga informasi mengenai kontribusi masing-masing fraksi berdasarkan perbedaan polaritas pelarut masih terbatas. Selain itu, data komparatif terkait hubungan antara profil toksisitas setiap fraksi dan aktivitas sitotoksiknya terhadap sel kanker payudara MCF-7 belum banyak dilaporkan. Oleh karena itu, diperlukan penelitian yang mengkaji fraksinasi secara terarah untuk memperoleh data empiris yang lebih komprehensif.

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi toksisitas fraksi kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr.) menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) terhadap larva *Artemia salina* Leach, serta menilai potensi aktivitas antikanker terhadap sel MCF-7 melalui metode WST-8.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah rotary evaporator (*IKA RV8*), Timbangan analitik (*O AUS CP214*), Tabung reaksi (*Iwaki*), Corong pisah (*Iwaki*), Hot plate (*Iwaki*), Pipet Volume (*Iwaki*), Pipet tetes (*Iwaki*), Gelas beaker (*Pyrex*), Gelas ukur (*Iwaki*), Batang pengaduk (*Iwaki*), Erlenmeyer (*Iwaki*), Furnace (*SH-FU-14MG*), Desikator (*Duran*), Mikropipet (*Drawell*), Oven (*Memmert oven drying*), Freeze dryer (*askot*), Cawan penguap (*Iwaki*), Krus Porselen (*Iwaki*), Corong Pisah (*Iwaki*) Spektrofotometer ELISA *microplate reader* (*BIO RAD*). Vortex, Microplate 96 sumuran, Kertas saring, Lampu, Botol Vial.

Bahan

Bahan yang digunakan adalah kayu kuning (*Arcangelisia flava* L merr), etanol, n-heksan (Bratachem), etil asetat (Bratachem), larva udang (*Artemia Salina Leach*) (SUPREME PLUS), dimetilsulfoksida (DMSO), air laut, HCl, serbuk magnesium, Dragendorff, Meyer, Wagner, H₂SO₄, FeCl₃, Lieberman-Buchard, WST-8, sel kanker payudara (MCF-7).

Pengambilan Sampel

Dilakukan pengumpulan sampel kayu kuning dari hutan di Kabupaten Lima Puluh Kota.

Pembuatan Simplisia

Sampel kayu kuning terlebih dahulu dibersihkan dengan mencucinya menggunakan air mengalir, kemudian dikeringkan pada suhu ruang. Setelah proses pengeringan awal, bahan dipotong menjadi ukuran yang lebih kecil dan kembali dikeringkan di dalam ruangan untuk menghindari paparan sinar matahari langsung. Simplisia yang telah kering selanjutnya dihaluskan menggunakan mesin penggiling hingga diperoleh serbuk simplisia.

Pembuatan Ekstrak

Serbuk kayu kuning ditimbang 250 gram kemudian masing-masing dibagi 50 gram. Sebanyak 50 gram serbuk kayu kuning dimasukkan ke dalam vial, ditambah pelarut pada vial yaitu etanol sebanyak 500 mL. pelarut yang digunakan yaitu 2500 ml dengan perbandingan 1:10 (b/v) yaitu bahan : pelarut. Selanjutnya di diamkan 24 jam sambil sesekali diaduk. Kemudian hasil ekstraksi disaring dengan kertas saring dan dilakukan remaserasi kembali 3 kali 24 jam. Filtrat diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental. Kemudian ekstrak dikeringkan menggunakan *freeze dryer* (Purwaningsih, indah, *et al.*, 2024).

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak yang diperoleh (g)}}{\text{Bobot simplisia awal yang ditimbang (g)}} \times 100\%$$

Uji Kadar Air

Kadar air ditentukan menggunakan analisis termogravimetri. Sebanyak 1 gram ekstrak kayu kuning ditimbang kemudian masukkan kedalam cawan krus yang telah diketahui beratnya. Selanjutnya cawan krus dioven selama 5 jam dengan suhu 105°C, sebelum ditimbang dinginkan krus didalam desikator (Futwembun Alowisya *et al.*, 2019) Selanjutnya dihitung kadar air sampel. Tes diulang dua kali. Uji kadar air dilakukan menggunakan metode gravimetri (thermogravimetric method), yaitu dengan mengeringkan sampel pada suhu 105°C hingga bobot konstan. Prinsip metode ini adalah mengukur selisih berat sebelum dan sesudah pemanasan yang diasumsikan sebagai kandungan air dalam sampel (DepKes, 2017). Metode ini umum digunakan dalam standarisasi ekstrak herbal untuk menjamin stabilitas dan mencegah pertumbuhan mikroba.

$$\% \text{ kadar air} = \frac{A-B}{A} \times 100\%$$

Keterangan :

A : Berat sampel sebelum pengeringan

B: Berat sampel setelah pengeringan

Uji Kadar Abu

Sebanyak 1 gram ekstrak dimasukan kedalam krus yang telah diketahui beratnya. Lalu cawan krus difurnace pada suhu $\pm 600^\circ\text{C}$ selama 3 jam, kemudian didinginkan dan ditimbang (Nuraida *et al.*, 2024). Penentuan kadar abu menggunakan metode pengabuan kering (dry ashing method). Kadar abu ditentukan menggunakan persamaan berikut (DepKes, 2017).

$$\% \text{ Kadar abu} = \frac{A_1 - A_0}{A} \times 100\%$$

Keterangan :

A : Berat sampel awal

B: Berat sampel setelah pemijaran

Fraksinasi

Ekstrak kental terlebih dahulu dilarutkan dalam etanol, kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah. Selanjutnya ditambahkan n-heksana sebanyak 100 mL, corong ditutup dan campuran dikocok perlahan selama ± 5 menit sambil sesekali membuka katup untuk melepaskan tekanan gas yang terbentuk. Setelah didiamkan hingga terbentuk dua lapisan yang terpisah sempurna, masing-masing lapisan dipisahkan ke dalam wadah berbeda. Lapisan etanol selanjutnya dilakukan partisi ulang dengan penambahan n-heksana dalam volume yang sama, dan prosedur tersebut diulang sebanyak dua kali. Residu yang tidak larut dalam n-heksana kemudian dipartisi menggunakan etil asetat sebanyak 100 mL dengan prosedur serupa. Proses partisi diulangi menggunakan volume pelarut yang sama hingga diperoleh fraksi etil asetat yang optimal. Fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan residu dikumpulkan dalam wadah terpisah, kemudian seluruh fraksi diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh fraksi kental (Suqya & Nurhasanah, 2022). Fraksi kental kayu kuning kemudian dikeringkan dengan *freeze dryer*.

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot fraksi}}{\text{Bobot ekstrak}} \times 100\%$$

Uji Fitokimia

1. Uji alkaloid

Sebanyak ± 2 mg ekstrak atau fraksi dilarutkan dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan masing-masing 1 mL pereaksi Mayer, Wagner, dan Dragendorff. Terbentuknya endapan putih atau kuning pucat (*Mayer*), cokelat hingga merah bata (*Wagner*), serta kuning sampai jingga (*Dragendorff*) menunjukkan hasil positif adanya senyawa alkaloid (Istiqomah *et.al.*, 2021).

2. Uji flavonoid

Sebanyak ± 2 mg sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan dua tetes larutan NaOH 10%. Munculnya warna kuning yang memudar setelah penambahan dua tetes HCl 2 N mengindikasikan keberadaan senyawa flavonoid (Sutomo *et al.*, 2016)

3. Uji Saponin

Sebanyak ± 2 mg sampel ditambahkan 10 mL air panas, didinginkan, kemudian dikocok kuat selama ± 10 detik. Pembentukan buih stabil setinggi 1–10 cm yang bertahan minimal 10 menit serta tidak hilang setelah penambahan satu tetes HCl 2 N menunjukkan hasil positif saponin (Nuraida *et al.*, 2024)

4. Uji tanin

Sebanyak ± 2 mg sampel direaksikan dengan 1 mL larutan FeCl_3 3%.

Terbentuknya warna hijau kehitaman menandakan adanya senyawa tanin (Nuraida *et al.*, 2024)

5. Uji terpenoid-steroid

Sebanyak ± 2 mg sampel ditambahkan 5 mL kloroform, kemudian direaksikan dengan dua tetes asam asetat anhidrat dan satu tetes asam sulfat pekat (uji *Liebermann–Burchard*). Perubahan warna menjadi merah atau cokelat menunjukkan adanya terpenoid (triterpenoid), sedangkan warna biru, ungu, atau hijau mengindikasikan keberadaan steroid (Nuraida *et al.*, 2024).

Persiapan Larva Artemia

Penetasan larva *Artemia salina* Leach dilakukan selama 48 jam sebelum digunakan dalam pengujian. Telur *Artemia salina* ditimbang sebanyak 1 g, kemudian dimasukkan ke dalam 500 mL air laut dalam wadah penetasan. Wadah yang digunakan dibagi menjadi dua kompartemen, yaitu bagian gelap dan bagian terang. Kompartemen gelap ditutup menggunakan aluminium foil dan digunakan sebagai tempat inkubasi telur, sedangkan kompartemen terang diberi pencahayaan menggunakan lampu untuk menarik larva yang telah menetas. Setelah proses inkubasi selama 48 jam, larva yang aktif dan bergerak menuju area terang dikumpulkan dan siap digunakan untuk uji toksisitas. (Reymon *et al.*, 2021).

Persiapan Larutan Uji

Setelah proses penetasan selesai, dilakukan pembuatan larutan induk ekstrak etanol dan fraksi kayu kuning. Sebanyak 0,2 g sampel ditimbang dan dilarutkan dalam 2–3 tetes dimetil sulfoksida (DMSO) untuk membantu proses pelarutan, kemudian volumenya ditambahkan dengan air laut hingga mencapai 100 mL sehingga diperoleh larutan stok dengan konsentrasi 2000 ppm. Larutan stok selanjutnya diencerkan untuk memperoleh variasi konsentrasi 50, 100, 200, 400, 600, 800, dan 1000 ppm menggunakan air laut sebagai pelarut. Setiap larutan uji disiapkan dengan melarutkan sampel menggunakan 2–3 tetes DMSO, kemudian ditambahkan air laut hingga mencapai volume yang ditentukan. Pengujian toksisitas menggunakan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) dilakukan dalam vial berukuran 10 mL dengan tiga (3) kali pengulangan untuk setiap konsentrasi perlakuan. (Fadli *et al.*, 2019)

Uji Toksisitas BSLT

Larutan uji pada masing-masing konsentrasi dipipet dari larutan stok yang telah disiapkan, kemudian dimasukkan ke dalam vial uji. Selanjutnya ditambahkan air laut yang mengandung 30 ekor larva *Artemia salina* ke dalam setiap vial hingga mencapai volume yang ditentukan. Setiap konsentrasi ekstrak dan fraksi diuji dengan lima kali pengulangan. Seluruh

vial diinkubasi pada suhu ruang di bawah pencahayaan lampu TL 14 watt selama 24 jam. Setelah periode inkubasi, jumlah larva yang mati pada masing-masing konsentrasi dihitung dan dicatat. Kelompok kontrol disiapkan menggunakan air laut tanpa penambahan sampel uji (Supriningrum et al., 2016).

Nilai toksisitas ditentukan berdasarkan persentase mortalitas larva *Artemia salina* pada setiap konsentrasi setelah 24 jam pemaparan. Persentase kematian (% Kematian) dihitung menggunakan rumus sebagai berikut::

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

Nilai LC₅₀ ditentukan menggunakan analisis probit, yaitu metode statistik untuk mengkonversi persentase mortalitas menjadi nilai probit dan diplot terhadap log konsentrasi. Persamaan regresi linear digunakan untuk menentukan konsentrasi yang menyebabkan kematian 50% larva. Dalam uji BSLT, sampel dengan nilai LC₅₀ < 1000 ppm dikategorikan toksik dan berpotensi memiliki aktivitas sitotoksik (Meyer *et al.*, 1982).

Uji Aktivitas Antikanker

Larutan stok fraksi etanol disiapkan dengan menimbang 2 mg sampel, kemudian dilarutkan dalam 2 mL dimetil sulfoksida (DMSO). Campuran tersebut dihomogenkan menggunakan vortex hingga larut sempurna sebelum digunakan pada tahap pengujian..

Uji sitotoksitas dilakukan menggunakan metode WST-8 terhadap sel kanker yang telah ditanam pada well plate dengan kepadatan 5×10^3 sel per sumur dan diinkubasi dalam inkubator CO₂. Setelah mencapai kondisi yang sesuai, well plate dikeluarkan dari inkubator dan ditambahkan 50 µL sampel pada masing-masing sumur dengan tujuh variasi konsentrasi, yaitu 1000, 500, 250, 125, 62,5, 31,25, dan 15,625 ppm. Selanjutnya, sel diinkubasi kembali selama 24 jam pada suhu 37°C dalam inkubator CO₂. Setelah masa inkubasi, sebanyak 50 µL reagen CCK-8 ditambahkan ke setiap sumur, kemudian diinkubasi kembali selama 2 jam pada kondisi yang sama. Absorbansi diukur menggunakan *microplate reader (ELISA reader)* pada panjang gelombang 450 nm (Dona, R., *et al.*, 2019)

Nilai absorbansi yang diperoleh digunakan untuk menghitung persentase viabilitas sel pada masing-masing konsentrasi perlakuan. Data kemudian dianalisis menggunakan perangkat lunak Microsoft Excel untuk menentukan nilai IC₅₀ melalui analisis regresi linear antara konsentrasi sampel dan persentase sel hidup. Nilai IC₅₀ ditentukan sebagai konsentrasi yang mampu menghambat viabilitas sel sebesar 50%..

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini menggunakan sampel kayu kuning yang diambil dari Kabupaten Lima Puluh Kota, Sumatera Barat. Determinasi tanaman ini dilakukan di Universitas Andalas Padang, Departemen Biologi, Fakultas MIPA dengan nomor surat 484/K-ID/ANDA/VII/2024 dengan hasil herbarium menunjukkan bahwa kayu kuning yang digunakan memiliki nama latin (*Arcangelisia flava* (L) Merr).

Ekstraksi kayu kuning yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 2500 ml dari 250 gram sampel dengan perendaman selama 3 hari, dan pengentalan ekstrak selama 10 jam serta pengeringan ekstrak dengan *freezdry* selama 12 jam menghasilkan ekstrak serbuk sebanyak 7,831 gram didapatkan rendemen ekstrak sebesar 3,1324%. Rendemen dihitung untuk menggambarkan rasio antara jumlah ekstrak yang diperoleh terhadap berat bahan awal yang digunakan dalam proses ekstraksi. Nilai rendemen mencerminkan seberapa banyak senyawa bioaktif yang berhasil diekstraksi dari bahan tanaman.

Hasil uji kadar air ekstrak etanol kayu kuning menunjukkan bahwa ekstrak sudah memenuhi syarat parameter standar mutu ekstrak, di mana kadar airnya kurang dari 10% (DepKes, 2017) yaitu 6,7%. Hasil Uji kadar abu ekstrak etanol kayu kuning sebesar 9,9%, hasil ini menunjukkan jumlah mineral yang terkandung didalam ekstrak sekitar 9,9%.

Fraksinasi kayu kuning yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan 3 gram ekstrak kayu kuning dengan 3 pelarut n-heksan, etil asetat dan etanol yang didestilasi masing-masing 100 ml dengan 3 kali pengulangan, pengentalan ekstrak dilakukan selama 3 jam untuk mendapatkan fraksi kental kemudian fraksi dikeringkan dengan *freezdry* selama 12 jam. Setelah fraksinasi diperoleh bobot fraksi yang berbeda. Bobot fraksi n-heksan kayu kuning yaitu 0,200 gram dengan rendemen sebesar 6,6%, bobot fraksi etil asetat kayu kuning yaitu 0,779 gram dengan nilai rendemen sebesar 25,96%, dan bobot fraksi etanol kayu kuning yaitu 1,723 gram dengan nilai rendemen 57,43%. Pemilihan pelarut dalam proses fraksinasi didasarkan pada perbedaan tingkat polaritasnya. n-Heksana digunakan untuk menarik senyawa yang bersifat nonpolar, etil asetat untuk mengisolasi senyawa dengan polaritas menengah (semipolar), sedangkan etanol berperan dalam melarutkan senyawa yang bersifat lebih polar. Perhitungan rendemen dilakukan untuk mengevaluasi efisiensi proses ekstraksi dan distribusi senyawa berdasarkan polaritas pelarut. Nilai rendemen yang tinggi menunjukkan dominasi senyawa terlarut dalam pelarut tertentu dan dapat menjadi indikator awal dalam seleksi fraksi bioaktif (Harborne, 1998). Fraksi etanol menunjukkan rendemen tertinggi, yang mengindikasikan dominasi senyawa polar seperti alkaloid dan flavonoid yang diketahui berperan dalam aktivitas sitotoksik.

Uji senyawa metabolit sekunder terhadap ekstrak etanol dan fraksi etanol kayu kuning merupakan tahap awal untuk mengetahui adanya senyawa-senyawa yang terdapat di dalam kayu kuning. Skrining fitokimia terhadap ekstrak etanol dan fraksi etanol kayu kuning dilakukan untuk mengidentifikasi keberadaan golongan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid, dan terpenoid. Berdasarkan hasil pengujian kualitatif, ekstrak maupun fraksi etanol menunjukkan adanya kandungan alkaloid, flavonoid, tanin, dan steroid, sebagaimana disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Uji Fitokimia Ekstrak dan Fraksi Etanol kayu kuning (Arcangelisia flava (L).Merr)

Bagian	Uji Komponen					
	Alkaloid	Flavonoid	Saponin	Tanin	Steroid	Terpenoid
Ekstrak Etanol	+	+	-	+	+	-
Fraksi Etanol	+	+	-	+	+	-

(+) terdeteksi, (-) tidak terdeteksi

Hasil pengujian toksisitas pada ekstrak etanol, fraksi etanol, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan kayu kuning diperoleh hasil seperti Tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji BSLT ekstrak etanol, fraksi etanol, etil asetat dan n-heksan

Bagian	Persamaan regresi	Nilai R ²	LC ₅₀	Kategori
Ekstrak Etanol	$y = 1,549x + 0,6698$	0,9777	624,43 ppm	Toksik sedang
Fraksi Etanol	$y = 2,2184x - 1,0844$	0,9131	552,96 ppm	Toksik sedang
Fraksi Etil Asetat	$y = 1,7229x - 0,131$	0,9080	950,86 ppm	Toksik sedang
Fraksi n-Heksana	$y = 1,4271x + 0,6621$	0,9708	1095,62 ppm	Tidak toksik

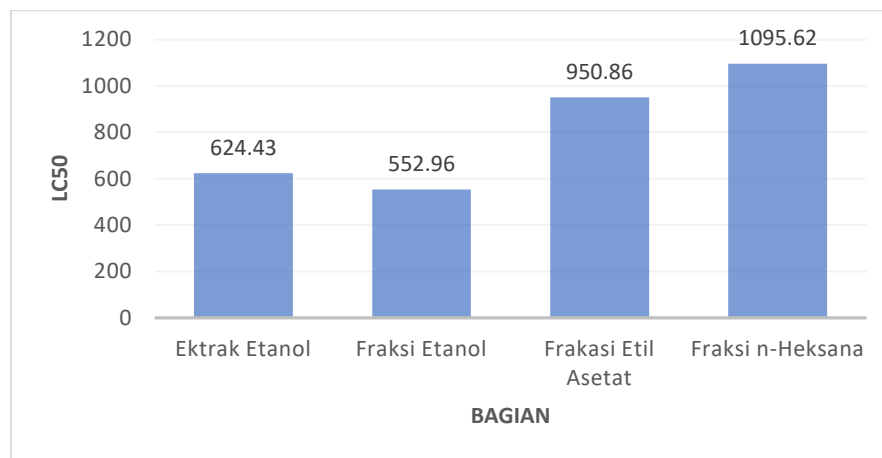
Berdasarkan Tabel 2 ekstrak etanol dari kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr) diperoleh nilai LC₅₀ sebesar 624,43 ppm dengan kategori toksik sedang. Berdasarkan kriteria Meyer *et al.* (1982), sampel dengan LC₅₀ < 100 ppm dikategorikan sangat toksik, 100–500 ppm toksik kuat, 500–1000 ppm toksik sedang, dan >1000 ppm tidak toksik. Pada penelitian Adriana (2023) diketahui bahwa ekstrak etanol kayu kuning memiliki toksisitas dengan nilai LC₅₀ sebesar 144,5772 ppm dengan kategori toksik. Hasil yang berbeda ini kemungkinan disebabkan perbedaan tempat tumbuh dan pengambilan sampel. Kemudian fraksi etanol diperoleh nilai LC₅₀ sebesar 552,96 ppm dengan kategori toksik sedang. Pada Tabel 2 juga diketahui fraksi etil asetat kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr) memiliki nilai LC₅₀ sebesar 950,86 ppm dengan kategori toksik dan fraksi n-heksana diperoleh LC₅₀ sebesar 1095,65 ppm dengan kategori tidak toksik.

Berdasarkan nilai LC₅₀ yang diperoleh, diketahui bahwa fraksi etanol memiliki nilai LC₅₀ yang paling rendah dibanding ekstrak atau fraksi yang lain, maka dari itu fraksi etanol

dilanjutkan pengujian terhadap sel MCF-7 untuk mengetahui aktivitas sitotoksitasnya. Hasil pengujian sitotoksitas pada fraksi etanol kayu kuning dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil uji sitotoksitas fraksi etanol kayu kuning

konsentrasi (ppm)	% Viabilitas			Mean	IC ₅₀
250	41,30	36,52	39,38	39,06744	
125	66,06	60,40	58,25	61,56822	
62,5	75,20	80,64	67,02	74,28513	189,86
31,25	78,08	72,69	82,42	77,72939	
15,625	95,11	85,10	79,57	86,59521	



Gambar 1. Diagram batang nilai LC₅₀ hasil uji BSLT ekstrak etanol, fraksi etanol, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksana kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr.)

Berdasarkan Gambar 1, terlihat perbedaan nilai LC₅₀ antara ekstrak dan fraksi kayu kuning. Fraksi etanol menunjukkan nilai LC₅₀ paling rendah (552,96 ppm), yang mengindikasikan tingkat toksisitas paling tinggi dibandingkan ekstrak etanol, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksana. Semakin kecil nilai LC₅₀, maka semakin tinggi potensi toksisitas suatu sampel. Sebaliknya, fraksi n-heksana memiliki nilai LC₅₀ tertinggi (1095,62 ppm), sehingga dikategorikan tidak toksik. Visualisasi ini memperjelas bahwa fraksi etanol merupakan fraksi paling aktif dan layak dilanjutkan ke tahap uji sitotoksik terhadap sel MCF-7.

Hasil uji sitotoksitas yang dilakukan dengan metode WST-8 dari fraksi etanol kayu kuning (tabel 2) diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 189,86 ppm dengan persamaan regresi linear ($y = -0,192x + 86,453$; $R^2 = 0,9864$). Menurut National Cancer Institute senyawa dikatakan memiliki aktivitas sitotoksik kuat jika IC₅₀ < 20 ppm, aktivitas sedang jika IC₅₀ antara 21-200 ppm, aktivitas lemah jika IC₅₀ 201-500 ppm, dan kategori tidak aktif ketika nilai IC₅₀ > 500 ppm (Sajjadi *et al.*, 2015). Dengan demikian fraksi etanol termasuk dalam kategori

sitotoksik sedang. Oleh karena itu, fraksi etanol kayu kuning berpotensi sebagai antikanker pada sel MCF-7.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pengujian menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), ekstrak etanol, fraksi etanol, dan fraksi etil asetat menunjukkan aktivitas toksik sedang dengan nilai LC_{50} masing-masing sebesar 624,43 ppm, 552,96 ppm, dan 950,86 ppm. Sementara itu, fraksi n-heksana dikategorikan tidak toksik karena memiliki nilai LC_{50} sebesar 1095,62 ppm. Sedangkan uji aktivitas antikanker dengan metoda WST8 terhadap sel MCF-7 fraksi etanol kayu kuning bersifat sitotoksik sedang dengan IC_{50} sebesar 189,86 ppm dimana memiliki potensi sebagai antikanker.

DAFTAR PUSTAKA

- Adriana, A. N. I. (2023). Uji LC_{50} Ekstrak Batang Akar Kuning (*Arcangelisia flava* Merr) Terhadap Larva Udang (*Artemia salina* Leach) Dengan Metode Bslt (*Brine Shrimp Lethality Test*). *Pharmacology And Pharmacy Scientific Journals*, 2(1), 9–16
- Aliviyanti, Y., Sudibyoy, R. S., and Murwanti, R. 2021. Efek sitotoksik beberapa akar bajakah Kalimantan terhadap sel kanker payudara T47D. *Jurnal Penelitian Saintek*. 26(2): 131–140.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2017. Farmakope Hebal Indonesia Edisi II. In Farmakope Herbal Indonesia
- Dona, R., Frimayanti, N., Ikhtiarudin, I., Iskandar, B., Maulana, F., & Silalahi, N. T. (2019). Studi in silico, sintesis, dan uji sitotoksik senyawa p-metoksi kalkon terhadap sel kanker payudara MCF-7. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 6(3), 243-249.
- Fadli, F., Suhaimi, S., & Idris, M. (2019). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) Dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test). *Medical Sains: Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 4(1), 35–42.
- Fatimah, F., Martha, R. D., & Danar, D. (2022). Analisis toksisitas dan potensi antikanker ekstrak metanol daun Majapahit (*Crescentia cujete*) dengan metode Brine Shrimp Lethality Test. *SAINTEK*, 27(1), 24–30.
- Fisusi, F. A., & Akala, E. O. (2019). Drug Combinations in Breast Cancer Therapy. *Pharmaceutical Nanotechnology*, 7(1), 3–23.
- Futwembun, A., Yabansabra, Y. R., Nurhairi, N., & Sitokdana, D. O. (2019). Uji Kelayakan Teh Herbal Kulit Batang Tali Kuning (*Arcangelsia flava* (L.)Merr).

- Harborne, J. B. (1998). *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis* (3rd ed.). Chapman & Hall.
- Istiqomah, I., Yahdi, Y., & Dewi, Y. K. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Kulit Batang Kesambi (*Schleichera oleosa* (Lour) Oken) Menggunakan Metode Ekstraksi Bertingkat, *Spin Jurnal kimia & Pendidikan Kimia*, 3 (1), 22-31
- Kashyap, D. et al. (2022) “Global Increase in Breast Cancer Incidence: Risk Factors and Preventive Measures,” *BioMed Research International*
- Makiyah, A., dan Sumirat T. 2017. Uji Toksisitas Akut yang Diukur dengan Penentuan LD50 Ekstrak Etanol Umbi Iles-iles (*Amorphophallus variabilis* Bl.) pada Tikus Putih Strain Wistar. *MKB*, Volume 49 No. 3, hlm.145- 155.
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. E., & McLaughlin, J. L. (1982). Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica*, 45(5), 31–34.
- Nuraida, N., Ridwanto, R., Daulay, A. S., & Nasution, H. M. (2024). Penentuan kadar flavonoid total ekstrak etanol kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr.) dan uji antibakteri *Staphylococcus aureus*. *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, 411-421
- Pratama, M. R. F. (2016). Akar kuning (*Arcangelisia flava*) sebagai inhibitor EGFR: Kajian in silico. *Jurnal Farmagazine*, 3(1), 7.
- Purwaningsih, I., Kuswiyanto, K., Amaliyah, N., & Fathiah, F. (2024). Penentuan Kadar Antosianin Batang Akar Kuning (*Arcangelisia flava* Merr) dan pemanfaatannya sebagai indikator alami titrasi asam-basa. *Jurnal Vokasi Kesehatan*, 10(2), 136-144.
- Reymon, R., Sofyan, S., Yodha, A. W. M., & Musdalipah, M. (2021). The toxicity of *Meistera chinensis* rhizome fraction by shrimp larvae with the BSLT method. *Natural Science: Journal of Science and Technology*, 10(02), 53-58.
- Sajjadi S.E., Ghanadian M., Haghighi M. and Mouhebat L., 2015, Cytotoxic effect of *Cousinia verbascifolia* Bunge against OVCAR-3 and HT-29 cancer cells, *Journal of HerbMed Pharmacology*, 4 (1), 15–19.
- Sung, H. et al. (2021) ‘Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries’, *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(3), pp. 209–249.
- Supriningrum, R., Sapri, S., & Pranamala, V. A. (2016). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Akar KB (*Coptosapelta tomentosa* Valetton ex K. Heyne) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 2(2), 161–165.

- Suqya, P. B., & Nurkhasanah, 2022, Penelusuran Fraksi Ekstrak Kayu Akar (*Arcangelisia flava* L.) Sebagai Antioksidan Beserta Penetapan kadar Fenolik Dan Flavonoid Total. *Journal of Pharmaceutical Science*, 19(1): 3-4
- Sutomo, S., Arnida, A., Rizki, M. I., Triyasmono, L., Nugroho, A., Mintowati, E., & Salamiah, S. (2016). Skrining fitokimia dan uji kualitatif aktivitas antioksidan tumbuhan asal Daerah Rantau Kabupaten Tapin Kalimantan Selatan. *Jurnal Pharmascience*, 3(1), 66-74.
- Wahyuni, S., & Marpaung, M. P. (2020). Penentuan Kadar Alkaloid Total Ekstrak Akar Kuning (*Fibraurea chloroleuca* Miers) Berdasarkan Perbedaan Konsentrasi Etanol dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Pendidikan Kimia Dan Ilmu Kimia*, 3(2), 52–61
- Yunitasari, E. et al. (2017) 'Analysis of Factors Related to Visual Inspection with Acetic Acid Examination on Child Bearing Women', *Health Notions*, 1(2), pp. 61–66