

Artikel

Secondary Metabolites and Cytotoxicity of Kitolod Leaf Extract (*Hippobroma longiflora* L.) Against Shrimp Larvae (*Artemia salina* Leach)

Metabolit Sekunder dan Sitotoksitas Ekstrak Daun Kitolod (*Hippobroma longiflora* L.) terhadap Larva Udang (*Artemia salina* Leach)

Arsyik Ibrahim^{1*}, Adisty Sindi Bulan², M. Rahmad Ramadhan³, Mahfuzun Bone¹, Hifdzur Rashif Rija'i¹, Arman Rusman¹, M. Arifuddin¹, Junaidin², Riki¹, Laode Rijai¹

¹ Laboratorium Riset dan Pengembangan Kefarmasian "FARMAKA TROPIS", Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda, Kalimantan Timur, Indonesia.

² Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda, Kalimantan Timur, Indonesia.

³ Program Studi Teknologi Industri Pertanian, Universitas Insan Cita Indonesia, Jakarta Selatan, DKI Jakarta, Indonesia.

* Correspondence: arsyik@farmasi.unmul.ac.id; achie.ibrahim@gmail.com Tel.: (+62)81347912495 (A.I)

Citation: Ibrahim, A.; Bulan, A.S.; Ramadhan, M.R.; Bone, M.; Rashif, F.R.; Rusman, A.; Arifudin, M.; Junaidin; Riki; Rijai, L.; Secondary Metabolite and Cytotoxicity of Kitolod Leaf Extract (*Hippobroma longiflora* L.) G. Don against Shrimp Larvae (*Artemia salina* Leach). J Riset Naturafarm 2025, 2(1), 33–42. <https://doi.org/10.70392/jrn.v2i1.3342>

Academic Editor: Prof. Dr. Abdul Mun'im

Received: 10 February 2025

Revised: 27 February 2025

Accepted: 3 March 2025

Publisher's Note: B-CRETA publisher stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2025 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike (CC-BY-NC-SA) 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>).

ISSN: 3047-5457

Abstract

One of the plants used by the people of East Kalimantan, especially the people of West Kutai, as a medicinal plant is Kitolod (*Hippobroma longiflora* L.). The plant parts used are the leaves and flowers. The secondary metabolites contained in Kitolod leaves are alkaloids, saponins, flavonoids and polyphenols. The aim of this research is to identify secondary metabolite groups and test the cytotoxicity of Kitolod leaf extracts and fractions. Secondary metabolites are identified qualitatively using various chemical reagents and metabolites characterized by the presence or absence of color changes or the presence of sediment or foam. Cytotoxicity testing was carried out using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method. The data research was analyzed using the Reed and Muench method to determine the Lethality Concentration 50% value. The results of research on the metabolite content of ethanol extract, fractions: n-hexane, ethyl acetate and n-butanol contain alkaloid, flavonoids and phenolic/polyphenols compounds. The bioactivity test results for the ethanol extract had an LC₅₀ value of 592.93 ppm, the n-hexane fractions of 582.77 ppm, the ethyl acetate fraction of 531.37 ppm, and the n-butanol fraction of 119.48 ppm. These results indicate that the n-butanol fraction of Kitolod leaves has stronger cytotoxic activity than other extracts.

Keywords: Secondary Metabolites, *Hippobroma longiflora* (L), 50% Lethal Concentration (LC₅₀), Maceration

Abstrak

Salah satu tumbuhan yang digunakan masyarakat Kalimantan Timur khususnya masyarakat Kutai Barat sebagai tumbuhan berkhasiat obat adalah Kitolod (*Hippobroma longiflora* (L.)). Bagian tumbuhan yang digunakan adalah daun. Metabolit sekunder yang terkandung dalam daun Kitolod adalah golongan alkaloid, saponin, flavonoid dan polifenol. Tujuan penelitian ini

adalah mengidentifikasi golongan metabolit sekunder serta menguji sitotoksitas ekstrak dan fraksi daun Kitolod. Metabolit sekunder diidentifikasi secara kualitatif menggunakan berbagai pereaksi kimia dan analisis metabolit ditandai dengan ada tidaknya perubahan warna atau terdapatnya endapan atau buih. Pengujian sitotoksitas dilakukan dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Data penelitian dianalisis dengan metode Reed and Muench untuk menentukan nilai *Lethality Concentration 50%* (LC₅₀). Hasil penelitian kandungan metabolit sekunder ekstrak etanol, fraksi: *n*-heksan, etil asetat dan *n*-butanol mengandung golongan senyawa alkaloid, flavonoid dan fenolik/polifenol. Hasil uji bioaktivitas ekstrak etanol memiliki nilai LC₅₀ sebesar 592,93 ppm, fraksi *n*-heksana 582,77 ppm, fraksi etil asetat 531,37 ppm, dan fraksi *n*-butanol 119,48 ppm. Hasil ini menunjukkan bahwa fraksi *n*-butanol daun kitolod memiliki aktivitas sitotoksik lebih kuat.

Kata Kunci: Metabolit Sekunder, *Hippobroma longiflora* (L), 50% Lethal Concentration (LC₅₀), Maserasi

1. PENDAHULUAN

Kesehatan merupakan salah satu kebutuhan dasar manusia, itulah sebabnya upaya untuk mencapai tingkat kesehatan yang optimal sangat diperlukan. Pada awalnya, penggunaan tanaman sebagai obat didasari oleh pengalaman turun-temurun. Selama ini obat tradisional terutama obat herbal dianggap cukup manjur untuk mengobati berbagai penyakit terutama oleh mereka yang telah membuktikan khasiatnya. Meskipun demikian, rendahnya pengetahuan terhadap kandungan senyawa obat menimbulkan keraguan pada mereka yang belum membuktikannya [1]. Diperkirakan lebih dari 80.000 spesies tanaman telah diidentifikasi dan digunakan sebagai tanaman obat di seluruh dunia [2]. Kekayaan tumbuhan obat negara – negara beriklim tropis sangat beragam, salah satunya negara Indonesia memiliki keanekaragaman hayati flora sebanyak 40.000 jenis. Sekitar 15.000 tumbuhan yang berpotensi berkhasiat obat, namun baru sekitar 7.500 spesies yang digunakan sebagai bahan baku obat. dan sebanyak 283 spesies dimanfaatkan sebagai bahan baku industri obat tradisional [3].

Salah satu tumbuhan yang dapat digunakan untuk pengobatan yang berasal dari alam adalah kitolod (*Hippobroma longiflora* L.) merupakan famili *Campanulaceae*. Tumbuhan ini berasal dari Benua Amerika, bagian tumbuhan kitolod yang sering digunakan adalah daun [4]. Secara tradisional masyarakat Indonesia memanfaatkan tumbuhan kitolod dipercaya mengatasi berbagai penyakit seperti radang tenggorokan, sakit gigi, katarak, mata minus, asma, sifilis, bronkhitis, dan menyembuhkan luka. Tumbuhan ini juga dimanfaatkan oleh penduduk negri China digunakan untuk anastesi lokal, mengobati gigitan ular, dan kanker [5]. Ekstrak kitolod juga bersifat sebagai antidiabetes, antifungi, antibakteri, analgesik, antikanker, antioksidan dan antiinflamasi [6,7,8]. Selain itu daun kitolod digunakan untuk mengobati sakit mata [9]. Metabolit sekunder daun Kitolod mengandung golongan senyawa steroid, alkaloid, polifenol, flavonoid, terpenoid, saponin dan senyawa senyawa aktif asam ftalat sebagai antibakteri [7,10–12]. Kuantitas dan kualitas metabolit sekunder dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor. Kandungan metabolit sekunder yang berbeda dapat berpengaruh terhadap bioaktivitasnya.

Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa kimia yang umumnya mempunyai kemampuan bioaktivitas dan berfungsi sebagai pelindung tubuh tumbuhan tersebut dari gangguan hama penyakit untuk tumbuhan itu sendiri maupun lingkungannya [36]. Beberapa golongan senyawa yang memiliki aktifitas sitotoksik adalah golongan senyawa flavanoid, alkaloid dan fenolik [37]. Prinsip suatu tanaman dapat digunakan sebagai antikanker adalah apabila tanaman tersebut mengandung senyawa sitotoksitas [38]. Senyawa sitotoksik adalah senyawa atau zat yang dapat merusak sel normal dan sel kanker atau dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan sel tumor malignan [39]. Prinsip suatu ekstrak tanaman dapat digunakan sebagai antikanker yaitu bila tanaman tersebut mengandung senyawa sitotoksik.

Uji toksisitas merupakan salah satu pengujian yang dilakukan untuk menilai keamanan suatu senyawa kimia termasuk senyawa yang terdapat dalam bahan pangan dan kosmetik. Menurut Lu. (1995) toksisitas didefinisikan sebagai kajian tentang hakikat dan mekanisme efek toksik berbagai bahan terhadap makhluk hidup dan sistem biologi lainnya [42].

Mekanisme kerja yang mendasari efek toksik biasanya dapat diketahui lewat berbagai perubahan tingkat subseluler. Salah satu metode yang digunakan dalam menentukan efek toksik dari suatu tumbuhan adalah *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Metode ini banyak digunakan sebagai langkah awal pencarian senyawa sitotoksik atau antikanker baru. Hasil uji metode BSLT telah terbukti memiliki kolerasi dengan daya sitotoksik senyawa antikanker [43].

Uji sitotoksik digunakan untuk mengetahui adanya aktivitas antineoplastis. BSLT merupakan salah satu metode untuk skrining terhadap senyawa sitotoksik dengan menggunakan *Artemia salina* Leach. Meyer [13], menjelaskan bahwa senyawa-senyawa yang memiliki efek sitotoksik juga dapat dideteksi dengan metode BSLT. Berdasarkan pendekatan fungsi dari golongan senyawa tersebut diatas maka perlu dilakukan penelitian sitotoksitas daun kitolod terhadap bioindikator *A. salina* dan identifikasi golongan metabolit sekunder yang terdapat pada berbagai ekstrak antara lain: ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, etil asetat dan *n*-butanol yang merupakan penelitian dasar dalam rangka menemukan senyawa berefek sitotoksik secara *in vitro*.

Oleh karena itu, penelitian ini sangat penting dilakukan untuk mengetahui metabolit sekunder dan aktivitas sitotoksik daun kitolod terhadap bioindikator *A. salina* dengan metode BSLT untuk memperoleh data ilmiah yang dapat digunakan untuk menunjang penelitian verifikasi dan pengembangan efek farmakologik yang spesifik.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun Kitolod (*Hippobroma longiflora* L.) yang diperoleh dari daerah Sekolaq Darat, Kutai Barat, Kalimantan Timur, air aquades, aluminium foil, kertas saring, pereaksi Dragendorff ($\text{BiNO}_3 + \text{KI}$), pereaksi Meyer ($\text{HgCl}_2 + \text{KI}$), H_2SO_4 (P), CH_3COOH , CHCl_3 , FeCl_3 , $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, pita-Mg, HCl (P), NaOH, pelarut: etanol 96%, *n*-heksan, etil asetat, dan *n*-butanol, DMSO (*Dimetil Sulfo Oksida*), telur udang *Artemia salina* Leach, ragi, air laut, dan Tween 80.

2.2. Alat

Peralatan yang digunakan yaitu: Macerator, rotary evaporator (Buchi®), tim-bangan analitik (And gf 300®), corong pisah, gelas kimia (Pyrex®), labu takar (Pyrex®), tabung reaksi, penjepit tabung, pipet tetes, Erlenmeyer (Pyrex®), oven (Memmert), water bath (Wisebath®), vortex (Health H-VM-400®), batang pengaduk, botol vial, gelas ukur, pipet volume (Pyrex®), mikropipet (Sacores Swiss®), spatula, aerator dan lampu pijar, vial glass.

2.3. Prosedur

2.3.1. Penyiapan Sampel

1. Pengumpulan Daun *H. longiflora* (L.) G. Don

Daun Kitolod yang dikumpulkan adalah yang segar dan muda berwarna hijau tua yaitu terletak pada daun ke 3 sampai daun ke 5 dari pucuk tanaman, tepi daun bergerigi, lembar daun mendatar dan ujung daun meruncing [29]. Selanjutnya dibersihkan dari kotaran, kemudian di cuci dengan air hingga bersih (sortasi basah), ditimbang dan dilakukan pengeringan dengan cara dikeringkan – anginkan suhu ruang 27°C , proses pengeringan dilanjutkan dengan cara di oven pada suhu 40°C selama 24 jam, hingga diperoleh kadar air pada simplisia tidak lebih dari 10% b/v [30].

2. Pembuatan Ekstrak Etanol Kitolod

Sampel yang telah kering timbang sebanyak 750,0 gram dimasukkan ke dalam wadah macerator, diberikan cairan penyari etanol 96% sebanyak 10,0 L. Sampel direndam selama 3 hari sambil diaduk. Diperoleh maserat, disaring, selanjutnya di uapkan menggunakan evaporator pada suhu 50°C , selanjutnya ekstrak diuapkan di atas *water bath* hingga diperoleh ekstrak kering etanol daun Kitolod. Menurut standar FDA kadar sisa pelarut dalam ekstrak adalah sebesar 1,046 dan menurut Kepmenkes RI sebesar 1% [31]. Ekstrak etanol kering yang diperoleh kemudian ditimbang, disimpan dalam wadah tertutup rapat dan terhindar dari cahaya [14].

3. Fraksinasi Ekstrak Etanol Daun Kitolod

Ekstrak kasar etanol ditimbang 40,0 gram kemudian dimasukkan ke dalam Erlenmeyer, ditambahkan pelarut *n*-heksan sebanyak 250 mL (satu siklus fraksinasi), diaduk menggunakan *magnetic stirrer*, selanjutnya disaring. Proses ini dilakukan berulang proses pemisahan selesai ditandai dengan larutan ekstrak tidak berwarna lagi. Selanjutnya ekstrak tidak larut *n*-heksan (endapan) ditambahkan pelarut etil asetat sebanyak 250 mL kemudian disaring, dilakukan berulang kali hingga pelarut etil asetat jenuh. Ekstrak tidak larut etil asetat, selanjutnya ditambahkan pelarut *n*-butanol sebanyak 250 mL, kemudian disaring dilakukan berulang kali hingga pelarut *n*-butanol jenuh dan tidak berwarna lagi. Semua larutan ekstrak fraksi diuapkan menggunakan evaporator pada suhu 40–50°C. Seluruh ekstrak fraksi yang diperoleh (fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi *n*-butanol) ditimbang dan disimpan dalam wadah tertutup rapat dan terhindar dari cahaya [14].

2.3.2 Identifikasi Metabolit dan Pengujian *Brine Shrimp Lethality Test*

1. Identifikasi metabolit sekunder

Metabolit sekunder golongan senyawa diidentifikasi menggunakan pereaksi kimia spesifik yaitu untuk deteksi golongan senyawa alkaloid menggunakan Dragendorff dan Mayer; golongan steroid dan terpenoid menggunakan Lieberman–Burchard; serbuk Mg dan asam klorida untuk deteksi golongan flavonoid, pereaksi FeCl₃ 2% untuk golongan fenolik/polifenol, dan uji saponin dilakukan dengan pembentukan buih menggunakan aquadest dan HCl. Uji metabolit sekunder dilakukan di laboratorium bahan alam fakultas farmasi Unmul dengan mengacu pada metode uji fitokimia seperti yang dijabarkan oleh Harborne [15].

2. Pengujian *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Metode pengujian BSLT mengacu pada metode uji yang diperluas menurut [16,17]. Telur udang ditetaskan di dalam bejana transparan dan diberi penerangan dan pencahayaan dalam proses penetasan. Bejana penetasan diisi dengan ±100 mg telur udang yang akan ditetaskan, selanjutnya lampu dinyalakan selama 2–3 x 12 jam sampai telur menetas. Selanjutnya larva dipipet sebanyak 10 ekor pada 2500 µL air laut. Ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, etil asetat dan *n*-butanol masing-masing dibuat larutan stok uji dengan konsentrasi 1000 ppm. Selanjutnya dari masing-masing larutan stok uji dibuat pengenceran dengan deret konsentrasi berturut-turut: ekstrak etanol yaitu 400, 500, 600, 700 dan 800 ppm; fraksi *n*-heksana yaitu 200, 400, 600, 800 dan 1000 ppm; fraksi etil asetat yaitu 200, 400, 600 dan 800 ppm; fraksi *n*-butanol yaitu 50, 100, 200 dan 400 ppm. Deret pengenceran ini digunakan untuk pengujian efek sitotoksik ekstrak pada bioindikator larva udang *A. salina* dengan 4–5 replikasi, dan 1 wadah berisi 2 tetes DMSO sebagai kontrol negatif. Jumlah larva udang setiap replikasi berjumlah 10 ekor larva. Tiap-tiap wadah diberi 1 tetes suspensi ragi sebagai sumber nutrisi larva. Pengamatan dan perhitungan aktifitas ekstrak dan fraksi uji dilakukan setelah proses inkubasi pada suhu kamar selama 24 jam. Kemudian dihitung jumlah larva yang mati dan masih hidup dari tiap vial kemudian dihitung dengan analisa probit untuk menentukan efek sitotoksik (LC₅₀) [32,33,34].

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Ekstraksi *Simplisia*

Proses pengeringan *simplisia* ditujukan untuk mengurangi kadar air, kadar air yang disyaratkan adalah kurang dari 1% [31], dengan kadar air yang rendah dapat mencegah terjadinya reaksi enzimatik, dan menjaga penurunan kualitas mutu *simplisia* atau kerusakan selama proses penyimpanan dalam waktu yang lama [35]. Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dengan perendaman tanpa pemanasan untuk menghindari kerusakan komponen senyawa yang labil dan tidak tahan panas menggunakan wadah maserator. Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik kandungan kimia dari *simplisia* dengan menggunakan pelarut organik. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi daun Kitolod adalah menggunakan pelarut polar dan non polar yaitu: etanol, *n*-heksan, etil asetat dan *n*-butanol. Pelarut non polar (*n*-heksan) digunakan dengan tujuan untuk mengekstraksi senyawa yang memiliki kepolaran rendah, dan selanjutnya dipisahkan dengan pelarut dengan kepolaran tinggi secara berturut-turut (etil asetat dan *n*-butanol). Ekstrak kental dapat diperoleh melalui proses penguapan menggunakan *vacuum rotary evaporator*.

3.1. Identifikasi Metabolit Sekunder Daun Kitolod

Tumbuhan umumnya mengandung senyawa aktif dalam bentuk metabolit sekunder, yang merupakan hasil metabolisme dari suatu organisme hidup [18]. Metabolit sekunder merupakan senyawa yang tidak esensial untuk pertumbuhan organisme. Tanaman penghasil senyawa metabolit sekunder sebagian besar dimanfaatkan untuk mempertahankan diri dari gangguan dilingkungan sekitarnya [16]. Metabolit sekunder diperoleh dari hasil identifikasi menggunakan pereaksi spesifik golongan senyawa metabolit tumbuhan. Tahap awal untuk mendeteksi golongan metabolit sekunder dapat dilakukan dengan menggunakan pereaksi kimia spesifik. Metabolit sekunder ekstrak dan fraksi daun kitolod diidentifikasi menggunakan pereaksi kimia semprot spesifik antara lain pereaksi Dragendorff dan Mayer untuk golongan alkaloid, Lieberman Bourchard, vanilin–asam sulfat dan asam fosfat 85% untuk terpenoid–sterol, aluminium (III) klorida dan Sitroborat untuk deteksi flavonoid/karatenoid, besi (III) klorida untuk deteksi polifenol/tannin, dan aquades–HCl untuk deteksi saponin [19].

3.2 Tabel hasil identifikasi golongan metabolit sekunder ekstrak dan fraksi daun Kitolod

Tabel 1. menunjukkan hasil identifikasi golongan metabolit sekunder ekstrak etanol, *n*-heksan, etil asetat dan *n*-butanol daun Kitolod menggunakan berbagai macam pereaksi kimia spesifik.

Tabel 1. Metabolit sekunder ekstrak etanol, *n*-heksan, etil asetat dan *n*-butanol daun Kitolod

Metabolit sekunder	Ekstrak/fraksi			
	Etanol	<i>n</i> -heksan	etil asetat	<i>n</i> -butanol
Alkaloid	+	+	+	–
Steroid/Triterpenoid	–	–	–	–
Flavanoid	+	–	+	–
Fenolik/Polifenol	+	–	–	+
Saponin	+	–	–	+

Keterangan:

(–) : Tidak teridentifikasi metabolit sekunder

(+) : Teridentifikasi metabolit sekunder

Hasil identifikasi metabolit sekunder ekstrak etanol daun kitolod mengandung golongan senyawa alkaloid, flavanoid dan fenolik/polifenol dan Saponin. Fraksi ekstrak *n*-heksan mengandung alkaloid. Fraksi etil asetat mengandung alkaloid, dan flavanoid, dan fraksi *n*-butanol mengandung golongan senyawa fenolik/polifenol dan saponin. Hasil penelitian ini sejalan dengan yang dilaporkan oleh Aprilia Rizki Wulandari *et al.*, [20]. Hasil penelitian Sri Lestari *et al.*, [11] juga melaporkan bahwa bagian daun dan akar Kitolod mengandung flavanoid dengan kadar berbeda, dimana kadar flavanoid bagian daun lebih tinggi dari bagian akar.

Identifikasi metabolit sekunder dalam ekstrak bahan alam dapat dilakukan dengan metode deteksi menggunakan reaksi kimia dengan pereaksi semprot. Menurut Sutrisno [19], golongan alkaloid dinyatakan positif jika diireaksikan dengan Dragendorff akan berwarna jingga, dan coklat untuk Wagner. Pembentukan warna jingga terjadi akibat reaksi pembentukan kompleks antara ion logam bismut (Bi_3^+) berlebih dengan senyawa alkaloid [20]. Pada uji flavanoid reaksi positif ditunjukkan dengan perubahan larutan ekstrak menjadi merah setelah penambahan serbuk magnesium (metode Wilstater), proses ini disebabkan adanya respon kompleks Mg^{2+} dengan orto–dihidroksi dan hidroksi keton pada cincin senyawa flavonoid, menyebabkan terjadi pergeseran panjang gelombang batokromik merah [21,22].

Reaksi positif uji metabolit golongan senyawa fenolik menggunakan pereaksi diagnostik FeCl_3 , reaksi akhir ditujukan dengan larutan berwarna hitam [21,22]. Senyawa golongan fenolik akan membentuk kompleks berwarna hitam dengan penambahan FeCl_3 , dengan mekanisme ion FeCl_3 bereaksi dengan gugus –OH aromatis [22,23]. Kompleks berwarna yang terbentuk diduga sebagai besi (III) heksafenolat yang mengalami pergeseran batokromik ke arah panjang gelombang yang

lebih besar [22,24]. Senyawa saponin merupakan surfaktan karena mempunyai gugus hidrofilik dan hidrofobik sehingga dapat menurunkan tegangan permukaan [25]. Apabila dikocok, senyawa yang mempunyai sifat aktif permukaan (surfaktan) akan membentuk misel [26].

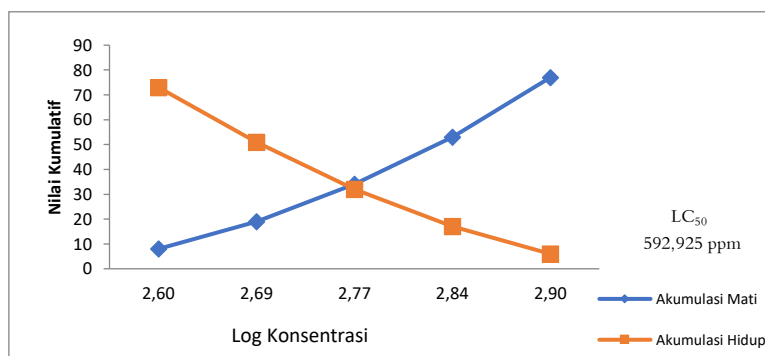
3.3. Sitotoksitas Ekstrak Etanol dan fraksi *n*-Heksan, Etil asetat dan *n*-Butanol Daun Kitolod

Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa kimia yang umumnya mempunyai kemampuan bioaktivitas dan berfungsi sebagai pelindung tubuh tumbuhan tersebut dari gangguan hama penyakit untuk tumbuhan itu sendiri maupun lingkungannya [36]. Metabolit sekunder daun Kitolod mengandung golongan senyawa steroid, alkaloid, polifenol, flavonoid, terpenoid, saponin dan senyawa senyawa aktif asam ftalat sebagai antibakteri [7,10–12]. Beberapa golongan senyawa yang memiliki aktifitas sitotoksik adalah golongan senyawa flavanoid, alkaloid dan fenolik [37]. Prinsip suatu tanaman dapat digunakan sebagai antikanker adalah apabila tanaman tersebut mengandung senyawa sitotoksitas [38]. Senyawa sitotoksik adalah senyawa atau zat yang dapat merusak sel normal dan sel kanker atau dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan sel tumor malignan [39]. Pada penelitian yang dilakukan oleh Aprilyanie *et al.*, (2023) menyebutkan bahwa Pengujian toksisitas dapat dilakukan secara *in vitro* maupun *in vivo* [40]. Salah satu pengujian secara invitro adalah uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) yaitu metode yang digunakan untuk mengetahui kemampuan toksik terhadap sel (sitotoksik) dari suatu senyawa yang dihasilkan oleh ekstrak tanaman dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach [41].

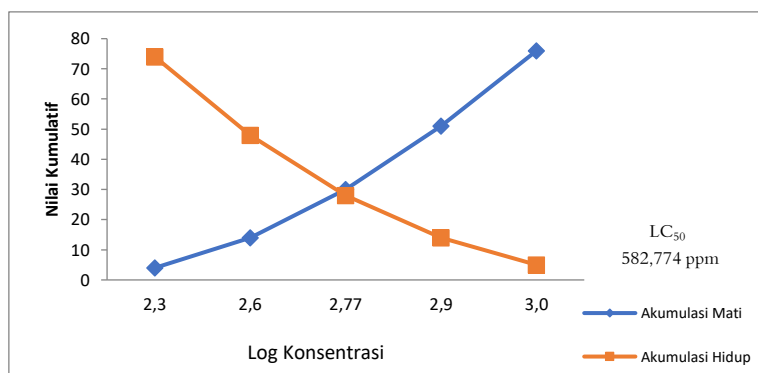
Hasil penelitian bioaktivitas sitotoksik ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, etil setat dan *n*-butanol daun Kitolod diperoleh setelah 24 jam melalui proses inkubasi bioindikator uji. Data kematian jumlah larva udang yang mati untuk masing-masing ekstrak dan fraksi uji, serta nilai LC_{50} aktifitas masing-masing ekstrak dan fraksi terhadap kematian bioindikator larva udang *A. salina* dapat dilihat pada Tabel 2, dan Gambar 1 di bawah ini.

3.2.1. Gambar dan Tabel Hasil Penelitian

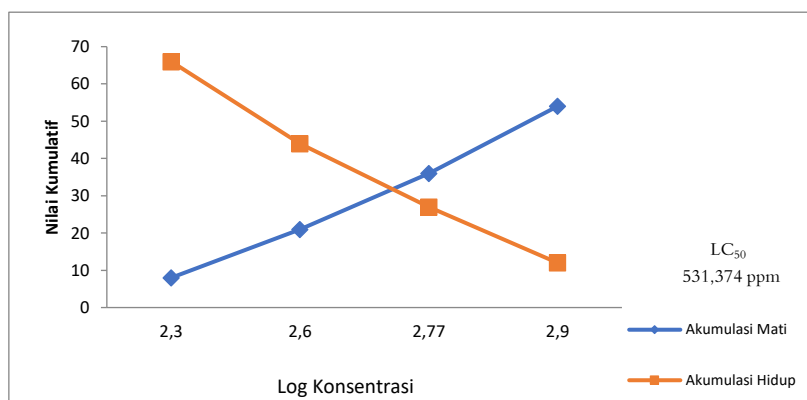
3.2.1.1 Gambar Grafik nilai LC_{50} ekstrak dan fraksi daun kitolod



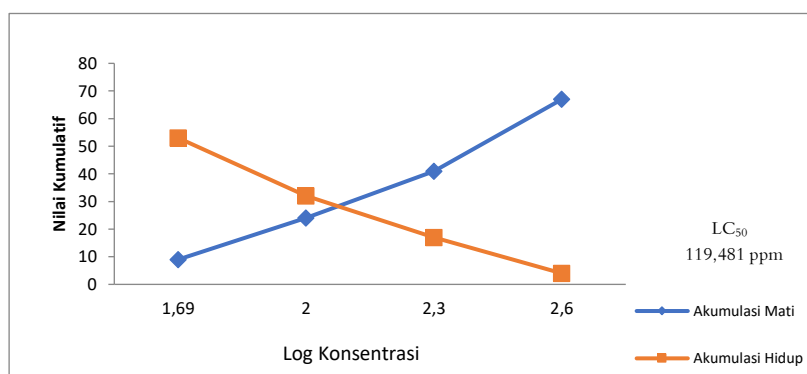
Gambar 1. Grafik nilai LC_{50} kematian larva udang *A. salina* ekstrak etanol daun kitolod



Gambar 2. Grafik nilai LC_{50} kematian larva udang *A. salina* fraksi *n*-heksan daun kitolod



Gambar 3. Grafik nilai LC_{50} kematian larva udang *A. salina* fraksi etil asetat daun kitolod



Gambar 4. Grafik nilai LC_{50} kematian larva udang *A. salina* fraksi *n*-butanol daun kitolod

3.2.1.2 Tabel Jumlah Kematian Larva Udang *A. salina* Ekstrak dan Fraksi daun kitolod

Tabel. 2 Data jumlah kematian larva udang *A. salina* dari masing-masing ekstrak dan fraksi uji daun Kitolod

Konsentrasi (ppm)	Log Konsentrasi	Ekstrak/Fraksi			
		etanol	<i>n</i> -heksan	etil asetat	<i>n</i> -butanol
		mati	mati	mati	mati
50	1,69	–	–	–	9
100	2,00	–	–	–	15
200	2,30	–	4	8	17
400	2,60	8	10	13	26
500	2,69	11	–	–	–
600	2,77	15	16	15	–
700	2,84	19	–	–	–
800	2,90	24	21	18	–
1000	3,00	–	25	–	–

Tabel dan Gambar grafik nilai LC_{50} **Gambar 1, 2, 3** dan **4**, menunjukkan bahwa paparan ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan dan fraksi etil asetat larva uji memberikan kematian 50% larva berada pada konsentrasi antara 500 ppm (logC 2,69) – 600 ppm (logC 2,77). Hasil uji ini membuktikan bahwa ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan dan fraksi etil asetat daun kitolod dapat membunuh 50% hewan uji larva udang *A. salina* Dari grafik **Gambar 1, 2, 3** dan **4**, memberikan gambaran bahwa dengan peningkatan konsentrasi ekstrak uji kemampuan daya bunuh ekstrak dan fraksi terhadap larva udang *A. salina* semakin meningkat, hal ini ditunjukkan dengan jumlah larva udang yang mati semakin meningkat. Berdasarkan hasil analisis perhitungan dengan metode Reed and Muench diperoleh nilai LC_{50} ekstrak etanol sebesar 592,925 ppm, LC_{50} untuk fraksi *n*-heksan diperoleh nilai 582,774 ppm, dan LC_{50} fraksi etil asetat sebesar 531,374. Nilai-nilai LC_{50} ini menunjukkan ketiga ekstrak tersebut aktifitas sitotoksik lemah dengan nilai LC_{50} 500–600 ppm, sedangkan untuk nilai LC_{50} fraksi *n*-butanol

diperoleh nilai sebesar 119,48, nilai ini menunjukkan bahwa fraksi *n*-butanol berefek sitotoksik dengan nilai LC_{50} 200–100 ppm. Selain itu hasil pengujian fraksi *n*-butanol diperoleh nilai LC_{50} sebesar 119,481, nilai ini menunjukkan bahwa aktifitas fraksi *n*-butanol berefek sitotoksik terhadap larva *A. salina* [27].

Hasil perhitungan nilai LC_{50} masing – masing ekstrak dan fraksi daun Kitolod dapat dilihat pada Tabel 3 di bawah ini:

Tabel 3. Nilai LC_{50} Ekstrak Buah Sumpit

No.	Sampel	LC_{50} (ppm)
1.	Ekstrak etanol	592,925
2.	Fraksi <i>n</i> -heksana	582,774
3.	Fraksi etil asetat	531,374
4.	Fraksi <i>n</i> -butanol	119,481

Berdasarkan data Tabel 3, nilai sitotoksitas (LC_{50}) masing– masing ekstrak dan fraksi uji dapat diketahui bahwa fraksi yang menunjukkan aktivitas yang paling kuat membunuh bioindikator uji larva udang *A. salina*. Menurut Meyer dkk. (1982), yang menyatakan bahwa jika hasil uji suatu ekstrak dengan metode BSLT dapat menyebabkan kematian 50% larva udang *A. salina* pada konsentrasi $LC_{50} < 1000$ ppm dalam waktu 48 jam menandakan bahwa sampel memiliki potensi sebagai antikanker, antibakteri, antijamur dan sebagainya [13]. Nilai sitotoksitas (LC_{50}) masing–masing ekstrak dan fraksi berturut–turut adalah fraksi *n*-butanol dengan nilai LC_{50} 119,481 ppm, kemudian fraksi etil asetat dengan LC_{50} 531,374 ppm, fraksi *n*-heksan dengan LC_{50} 582,774 ppm, dan ekstrak etanol dengan nilai LC_{50} 592,925 ppm. Ekstrak kasar etanol, fraksi *n*-heksan dan etilasetat dengan nilai LC_{50} berada pada rentang 500–600 ppm menunjukkan aktivitas sitotoksik lemah, sedangkan aktivitas sitotoksik fraksi *n*-butanol LC_{50} 119,481 ppm. Menurut Rajabi, S. *at al.*, 2015, bahwa konsentrasi letal 50% (LC_{50}) kurang dari 200 ppm menunjukkan aktivitas sitotoksik sedang [28].

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa, golongan metabolit sekunder yang terkandung dalam buah sumpit adalah alkaloid, flavonoid, dan polifenol. Sedangkan untuk aktivitas sitotoksik ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan dan etil asetat dengan nilai LC_{50} 500–600 ppm menunjukkan bahwa aktifitas sitotoksik lemah, sedangkan untuk fraksi *n*-butanol berefek sitotoksik dengan nilai LC_{50} 100–500 ppm.

KONTRIBUSI PENULIS: **Konsep**– Laode Rijai, Adisty Sindi Bulan dan Arsyik Ibrahim; **Metodologi**– Arsyik Ibrahim dan Arman Rusman; **Sumber**– Adisty Sindi Bulan, M. Arifuddin; **Bahan**– M. Rahmad Ramadhan dan Riki; **Pengawasan**– Laode Rijai; **Menulis—Meninjau**– Arsyik Ibrahim, Adisty Sindi Bulan, dan M. Arifuddin; **Telaah Kritis**– Laode Rijai, Hifdzur Rashif Rija'i, dan Arsyik Ibrahim; **Editor**– Arsyik Ibrahim dan M. Rahmad Ramadhan; **Koleksi Data**– Adisty Sindi Bulan, Junaidin, dan Riki; **Pencarian Literatur**– Arman Rusman, M. Arifuddin, dan Mahfuzun Bone; **Publikasi**– Arsyik Ibrahim dan M. Arifuddin.

PENDANAAN: (–)

UCAPAN TERIMA KASIH: Penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada Dekan Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman, Kepala Laboratorium Farmasi Dasar, dosen pengarah, dosen pembahas, tim peneliti, seluruh tenaga laboran, yang telah mendukung dan memberikan saran, sehingga dapat menyelesaikan artikel ilmiah ini.

KONFLIK KEPENTINGAN: Para penulis menyatakan bahwa tidak ada konflik kepentingan dalam artikel ini

REFERENSI

1. Manjang, Y. Penelitian Kimia Bahan Alam untuk Pelestarian dan Pengembangan Tumbuhan Melalui Tanaman Agrowisata, Dirjen Dikti Depdiknas, Padang, 2006.

2. Joy, P.P., Thomas, J., Mathew, S., Skaria, B.P. *Medicinal Plants*, Edisi: Aromatic and Medicinal Plants Research Station. Kerala Agricultural University, Kerala, India, **2019**, 1–210.
3. Anonim. Indonesia Miliki 7.500 Tanaman Obat Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. **2025** Tersedia online: URL <http://lipi.go.id/berita/single/Indonesia-Miliki-7500Tanaman-Obat/11540> (diakses tanggal 19 Februari 2025).
4. Ali, I., *Khasiat dan Manfaat Kitolod*. PT. Agro Media Pustaka, Jakarta, **2003**.
5. Arsyad, H.M., Komariah, C., Hasan, M. Efek Ekstrak Daun Kitolod (*Isotoma longiflora*) terhadap Neovaskularisasi Kornea Tikus Wistar Model Trauma Kimia. *Journal of Agromedicine and Medical Sciences*, **2020**, 6(2): 92–97.
6. Fazil, M., Suci, R.N., Allifiah, F., Alam, D.N., Angelia, G., Situmeang, B. Analisis Senyawa Alkaloid dan Flavonoid dari Ekstrak Kitolod (*Isotoma longiflora*) dan Uji Aktivitasnya terhadap Bakteri Penyebab Karies Gigi. *Jurnal ITEKIMIA* **2017**, 2(1), 73–83.
7. Sari Hidayati, S., Lumbessy, S.Y., Azhar, F. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kitolod (*Isotoma Longiflora* L.) terhadap Bakteri *Vibrio Sp.* Penyebab Vibriosis pada Udang Vaname (*Litopenaeus Vannamei*). *J. Ilmiah Biologi*, **2021**, 9(1), 86–95.
8. Ardiansyah, A.K., Ramayani, S.L. Uji Aktivitas Tabir Surya Ekstrak dan Fraksi Daun Kitolod (*Isotoma Longiflora* L.). *Cendekia Journal of Pharmacy*, **2022**, 6 (2), 301–306.
9. Ghofroh, A.A. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol 70% Daun Kitolod (*Isotoma longiflora* L.) terhadap Percepatan Penyembuhan Luka Bakar (*Combustio*) Derajat II A pada Mencit (*Mus musculus*). Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang, **2017**.
10. Lallo, S., Lewerissa, A.C., Rafi'i, A., Usmar, U., Ismail, I., Tayeb, R. Pengaruh Ketinggian Tempat Tumbuh terhadap Aktivitas Antioksidan dan Sitotoksik Ekstrak Rimpang Lengkuas (*Alpinia galanga* L.). *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, **2019**, 23(3), 118–123.
11. Lestari, S., Septiyani, B.N., Proklamasiningsih, E., Hernayanti. Flavonoid Content and Antioxidant Activity of Kitolod (*Hippobroma longiflora* L.) at Different Altitude. *J. Lentera Bio*, **2024**, 13(2), 212–218.
12. Simanjuntak, H.A. Antibacterial Activity of Ethanolic Extract of Kitolod (*Hippobroma longiflora* L.) Leaf against *Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhi*. *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development*, **2020**, 8(1), 52–54.
13. Meyer, L., Ferrigni. Brine Shrimp Coveniens General Bioassay for Active Constituents. *Planta Medica*, **1982**, 4, 31–34
14. Nur, T., Rusman, A., Hikmawan, B.D., Almaida, M., Herman, H., Ibrahim, A. Metabolit Sekunder dan Uji Bioaktivitas Sitotoksik Ekstrak Buah Sumpit (*Brucea javanica* (L.) Merr) terhadap *Artemia salina* Leach. *J Riset Naturafarm*, **2024**, 1(1), 22–30. DOI: <https://doi.org/10.70392/368zcy93>.
15. Harborne, A.J. *Phytochemical methods*; A guide to modern techniques of plant analysis. 2nd ed., Chapman and Hall Ltd, London Great, Britain, **1998**.
16. Ahmad, I., Ibrahim, A. Bioactivity Methanol Extract And N-Hexane Fraction of Sungkai Leaf (*Peronema canescens* Jack) Against Shrimp Larvae *Artemia salina* Leach. *Jurnal Sains dan Kesehatan*, **2015**, 1(3):114–9. DOI: <https://doi.org/10.25026/jsk.v1i3.27>.
17. Colegate, S. M., Molyneux, Russel. J. Bioactive Natural Products. CRC Press, United States Of America, **1993**.
18. Lenny, S. *Uji Bioaktifitas Kandungan Kimia Utama Puding Merah dengan Metode Brine Shrimp*, Penerbit: Universitas Sumatera Utara, Medan, Indonesia. **2006**.
19. Sutrisno, R.B. *Thin Layer Chromatography Reagents*, Edisi 1, Cetakan 1, Universitas Pancasila, Jakarta, Indonesia, **1993**.
20. Wulandari1, A.R., Sunnah, I., Dianingati, R.S. Optimasi Pelarut Terhadap Parameter Spesifik Ekstrak Kitolod (*Isotoma longiflora* L.). *Journal of Research in Pharmacy*, **2021**, 1(1), 10–15.
21. Wardana, A.P. Elucidation of Isolated Compound Structures from Gowok (*Shzygius Polycephalum*) Chloroform Tract Skin Extracts and Antioxidant Activity Test. *Department of Chemistry FMIPA*, Surabaya University, Surabaya, **2016**.
22. Suhendi, A., Sjahid, R., Hanwar, D. Isolation and Identification of Flavonoids from Dewandaru (*Eugenia uniflora* L.) Leaf. *J.Pharmacon*. **2011**, 12(2), 73–81.
23. Ibrahim,A., Siswandono, S., Prajogo, B.E.W. Anticancer Activity of Peronema canescens Jack Leaves Extracts Against Human Cells: HT-29 and Hela In Vitro. *Research J. Pharm. and Tech*. **2022**, 15(10), 4739 – 4745.
24. Haryati, N.A.; Erwin, C.S. Toxicity Test and Antibacterial Activity of Red Leaf Extract (*Syzygium mytifolium* Walp) against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* Bacteria. *J. Chemistry Mulawarman*, **2015**, 13(1), 35–39.
25. Marliana, S.D., Saleh, C. Phytochemical Test and Antibacterial Activity of Ethanol Rough Extract, n-Hexane, Ethyl acetate, and Methanol Fraction from Water Pumpkin Fruit (*Lagenari Siceraria* (Morliana). *J. Mulawarman Chemistry*, **2011**, 8(2), 39–63.
26. Robinson, T. High Plant Organic Content. ITB Bandung, Bandung, Indonesia, **1995**, 71–285
27. Juniarti, N.N.D., Asri, R.M. Skrining Potensi Probiotik dan Sitotoksik Bakteri *Weisella Confusa* Isolat Dangke Sapi. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, **2019**, 23(2), 58–60.

28. Rajabi, S., Ramazani, A., Hamidi, M., Naji, T. *Artemia salina* as a Model Organism in Toxicity Assessment of *Nanoparticles*. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, **2015**, 23(20), 1–6.
29. Sulaiman, A. Y., Astuti, P., Dewi, A., Shita, P., Yusuf, A. Uji Antibakteri Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) terhadap Koloni *Streptococcus viridians*. *Indonesian Journal for Health Sciences*, **2017**, 1(2) 1–7.
30. Kumalasari, M. L. F., & Andiarna, F. Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.). *Indonesian Journal For Health Sciences*, **2020**, 4(1), 39–44.
31. Saifudin, A. *Standarisasi Bahan Obat Alam*. Yogyakarta: Graha Ilmu. **2011**.
32. Mayer, B.N., Ferrigni, N.R., Putnam, J.E., Jacobsen, L.B., Nichols, D.E., McLaughlin J.L. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica*, **1982**, 45, 31–34.
33. Juniarti, Osmeli, D., Yuhernita. Kandungan Senyawa Kimia, Uji Toksisitas (*Brine Shrimp Lethality Test*) dan Antioksidan (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) dari Ekstrak Daun Saga (*Abrus precatorius* L.). *Journal Makara Sains*, **2009**, 13(1), 50–54.
34. McLaughlin, J.L., Roggers, L.L. The Use Of Biological Assays to Evaluate Botanicals. *Drug Information Journal*, **1998**, 32, 513 – 524.
35. Ariani, N., Musiam, S., Niah, R., Febrianti, D.R. Pengaruh Metode Pengeringan terhadap Kadar Flavonoid Ekstrak Etanolik Kulit Buah Alpukat (*Persea americana* Mill) dengan Spektrofotometri. *Jurnal Pharmascience*, **2022**, 9(1), 40–7.
36. Utami, N.F., Nurdyanthy, S.M., Sutanto, U.S. Pengaruh berbagai Metode Ekstraksi pada Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Iler (*Plectranthus Scutellarioides*). *Fitofarmaka: J. Ilmiah Farmasi*, **2020**, 10(1), 76–83.
37. Payung, R., Gunawan, E., Pratiwi, R.D. Uji Aktivitas Sitotoksik Fraksi Daun Matoa (*Pometia pinnata*) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *J Biol Papua*, **2021**, 13, 83–91.
38. Parlin, D.A., Nasution, M.P., Nasution, H.M., Daulay, A.S. Skrining Fitokimia dan Uji Sitotoksitas Ekstrak Etanol Daun Matoa (*Pometia pinnata*) dengan Metode BSLT. *Jurnal Farmasi, Sains dan Kesehatan*, **2022**, 2(1), 38–48.
39. Marliza, H., Oktaviani, D. Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol Daun Kemuning (*Colacasia gigantea* Hook.f) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Bencoolen J Pharm*, **2021**, 1, 38–45.
40. Aprilyanie, I., Handayani, V., Syarif, R.A. Uji Toksisitas Ekstrak Kulit Buah Tanaman Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC) dengan menggunakan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Makassar Natural Product Journal*, **2023**, 1(1), 1–9.
41. Nastiti, M., Erwin, E., Kusuma, I.W. Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas pada Daun Terap (*Artocarpus elasticus*) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Pros Semin Nas Kim*, **2017**, 60, 69–73.
42. Lu, F.C. Toksikologi Dasar, Asas, Organ Sasaran, dan Penilaian Resiko. Edisi ke-2. Terjemahan Koensoenmardiyah, IKIP Semarang Press, Semarang. **1995**, 265–287
43. Nurhayati, A.W.K., Abdulgani, N., Febrianto, R. Uji Toksisitas Ekstrak *Euclidean alvarezii* terhadap *Artemia salina* sebagai Uji Pendahuluan Potensi Antikanker. *J. Akta Kimindo*, **2009**, 2(1), 113–117.