

UJI TOKSISITAS EKSTRAK ETIL ASETAT BIJI KEBIUL (*Caesalpinia bonduc* L. Roxb) PADA EKSTRAKSI MASERASI

Septi Wulandari¹, Fauziah Noprime Okta², Selfira Putri Utami³, Shintia
Diva Cornelia Giovani⁴

^{1,2,3,4} S1 Farmasi Universitas Bengkulu

¹septiwulandari@unib.ac.id, ²fnokta@unib.ac.id,

³selfiraputri63@gmail.com, ⁴shintiadcg@gmail.com

ABSTRAK

Toksisitas mengacu pada kemampuan zat atau bahan kimia dalam menyebabkan kerusakan atau dampak negatif pada fungsi sistem biologis. Uji toksisitas digunakan untuk mengetahui efek racun dengan mengumpulkan data respons dosis dari bahan yang diuji. Zat kimia atau senyawa metabolit, seperti agen kemopreventif, dapat menjadi sumber toksisitas. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi toksisitas melalui uji letalitas udang air asin (BSLT) dan ekstrak etil asetat dari biji Kebiul (*Caesalpinia bonduc* L. Roxb), serta menentukan nilai LC50 ekstrak etil asetat dari tanaman Kebiul menggunakan variabel dan waktu ekstraksi yang berbeda. Sampel dalam penelitian ini diekstraksi dengan metode maserasi. Pengujian toksisitas dilakukan menggunakan metode *brine shrimp lethality test* (BSLT) dengan memanfaatkan sepuluh ekor *Artemia salina* Leach sebagai hewan percobaan. Larutan yang digunakan memiliki konsentrasi 25 ppm, 100 ppm, 250 ppm, 500 ppm, dan 1000 ppm, serta terdapat satu kelompok kontrol. Proses maserasi menunjukkan nilai toksisitas tertinggi yaitu 681 ppm. Kesimpulan dari penelitian ini adalah bahwa ekstrak etil asetat dari tanaman Kebiul (*Caesalpinia bonduc* L. Roxb) yang diuji dengan metode letalitas udang air asin dan maserasi digolongkan sebagai toksik.

Kata Kunci : Toksisitas, Kemopreventif, Kebiul, BSLT, maserasi.

PENDAHULUAN

Toksisitas mengacu pada kemampuan zat atau bahan kimia dalam menyebabkan kerusakan atau dampak negatif pada fungsi sistem biologis. Uji toksisitas digunakan untuk mengetahui efek racun dengan

mengumpulkan data respons dosis dari bahan yang diuji (BPOM, 2022). Zat kimia atau senyawa metabolit, seperti agen kemopreventif, dapat menyebabkan toksisitas. Bahan kimia yang berbahaya bisa berasal dari penggunaan berbagai bahan kimia

dengan mengakibatkan efek samping seperti gangguan fisik, penyakit, pendarahan, kelelahan, dan lain-lain (Hendrawati *et al.*, 2019). Sebagai hasilnya, konsep pengobatan alternatif pun berkembang yang diharapkan memberikan efek samping lebih minimal bagi pasien. Perawatan ini bisa dilakukan dengan obat kemopreventif, yaitu senyawa yang dirancang untuk mencegah dan mengendalikan pertumbuhan sel kanker. Ketika memilih senyawa antikanker, penting untuk mempertimbangkan beberapa kriteria, termasuk potensi toksisitasnya (Rollando, 2017). Penambahan uji toksisitas dalam penelitian ini sangat penting untuk memastikan bahwa penggunaan biji kebiul sebagai agen anti-kanker tidak menimbulkan efek samping yang berbahaya bagi tubuh. Toksisitas yang tidak terdeteksi dapat mengakibatkan dampak negatif yang serius bagi kesehatan pasien, termasuk kerusakan organ, gangguan fungsi sistem tubuh, atau bahkan kematian. Dengan melakukan uji toksisitas, dapat mengevaluasi sejauh mana senyawa aktif dalam biji kebiul aman untuk digunakan dan menentukan

dosis yang tepat untuk menghindari efek merugikan.

Eksplorasi lebih lanjut terhadap obat kemopreventif diperlukan. Nilai LC50 (*Lethal Concentration 50%*) merupakan batas yang digunakan dalam pengujian toksisitas. Nilai LC50 akan menunjukkan nilai konsentrasi dimana 50% sel kanker terbunuh (Maritha dan Handoko, 2021). Pada penelitian ini akan dilakukan *bioassay* atau penelitian pertama untuk mengetahui konsentrasi atau kekuatan suatu zat berdasarkan pengaruhnya terhadap sel atau jaringan hidup dengan mencari zat aktif darinya dan melakukan ekstraksi dengan pelarut yang sesuai dengan polaritas keluaran metabolit sekundernya. Saat ini, banyak senyawa aktif yang diperoleh dari tanaman obat diperkirakan memiliki potensi toksik, sedangkan tanaman tersebut sudah banyak tersedia di masyarakat umum. Senyawa-senyawa ini mencakup flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin, yang berperan sebagai antioksidan dalam mengatasi radikal bebas. Di Bengkulu, terdapat tanaman kebiul (*Caesalpinia bonduca* L. Roxb) yang termasuk dalam famili *Caesalpiniaceae*, dan bijinya

mengandung senyawa-senyawa seperti flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin (Sopianti, 2017). Metabolit sekunder ini dapat diekstraksi dengan pelarut etil asetat, yang memiliki sifat semi-polar dan dapat melarutkan senyawa baik yang polar maupun non-polar (Rudiana *et al.*, 2018).

Penerapan Uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dilakukan sebagai langkah awal dalam pencarian senyawa bioaktif untuk menilai tingkat ketoksikan campuran atau zat tunggal pada larva *Artemia salina* (Ulfa, 2017). Uji toksisitas terhadap nauplius *Artemia salina* menunjukkan adanya keterkaitan dengan penghambatan sel tumor manusia dalam pengujian *in vitro*, menurut *National Cancer Institute* (NCI) Amerika Serikat. Uji BSLT melibatkan penilaian toksisitas akut dalam waktu 24 jam setelah administrasi zat. Zat dikategorikan sebagai toksik dan memiliki korelasi positif dengan aktivitas antitumor apabila nilai LC50 berada di bawah 1.000 µg/mL (Meyer *et al.*, 1982). Maserasi adalah metode ekstraksi yang melibatkan merendam bahan dalam pelarut yang sesuai untuk mengambil senyawa aktif, umumnya

dilakukan tanpa atau dengan pemanasan minimal (Suharto *et al.*, 2016).

Berdasarkan informasi yang ada, penelitian tambahan perlu dilakukan untuk menilai toksisitas dengan menerapkan teknik perendaman atau ekstraksi guna memperoleh ekstrak etil asetat dari biji Kebiul. Penelitian ini diharapkan dapat menilai seberapa efektif metode ekstraksi ini dan mengungkap lebih banyak manfaat dari tanaman (*Caesalpinia bonduc* L. Roxb).

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dijadwalkan akan dilakukan pada Januari 2024 di Laboratorium Ilmu Dasar, Fakultas Matematika dan Sains, Universitas Bengkulu.

Alat dan Bahan

Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah timbangan analitik (Kova[®]), rotary evaporator (Heidolph[®]), blender (Tuummy[®]), alat-alat gelas (Pyrex[®]), kertas saring, alumunium foil (Klinpak[®]), spidol (Snowman[®]), tissue (Nice[®]), pipet tetes (OneMed[®]), pipet ukur (OneMed[®]), botol vial, hot plate, gunting (Gunindo[®]), aquarium, mikro

pipet (MicrolitRBO®), dan kaca pembesar.

Bahan

Material yang dipakai dalam penelitian ini meliputi ekstrak biji Kebiul, pelarut etil asetat (Emsure®), aquadest (Waterone®), air laut, larva udang (*Artemia salina* Leach), ragi (Fermipan®), dan Dimetil Sulfoksida (Emsure®).

Pembuatan Simplisia

Sampel yang digunakan adalah buah kebiul. Buah kebiul dicuci untuk menghilangkan tanah dan kotoran lain yang menempel. Dicuci dengan air bersih sesingkat mungkin agar tidak merusak nutrisi pada buah. Kemudian buah kebiul dijemur langsung ke sinar matahari dengan dialasi kain hitam pada permukaannya. Selanjutnya, buah dipecahkan untuk diambil bagian bijinya. Pemecahan dilakukan dengan menggunakan palu. Buah kebiul yang telah dipecahkan dipisahkan menjadi biji, kulit buah, dan kotoran lainnya, lalu dibiarkan kering secara alami dalam bentuk simplisia yang diproses secara manual.

Ekstraksi

Ekstraksi biji kebiul dengan metode maserasi

Biji Kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L) Roxb.) yang telah diperoleh dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran, lalu dikeringkan di bawah sinar matahari. Setelah proses pengeringan, biji tersebut dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk halus. Sebanyak 100 gram serbuk biji diekstraksi dengan 1 liter etil asetat selama 3 hari berturut-turut pada suhu kamar, dan filtrat yang dihasilkan kemudian dihilangkan pelarutnya dengan menggunakan *rotary evaporator* pada temperatur 50°C (Hernanda *et al.*, 2021).

Uji Fitokimia

Uji Alkaloid

Sebanyak 1 gram dari setiap ekstrak etanol, ekstrak etil asetat, dan ekstrak n-heksana dicampurkan dengan 0,5 ml HCl 2% ke dalam tabung reaksi. Setelah itu, berikan 3 tetes dari setiap reagen Dragendorff, Wagner, dan Mayer. Jika terdapat alkaloid akan ditandai dengan munculnya warna coklat (pereaksi Wagner), warna coklat kemerahan (pereaksi Dragendorff), dan warna putih ungu (pereaksi Mayer) sebagai indikator positif.

Uji Flavonoid

Masukkan 1 gram dari masing-masing ekstrak etanol, ekstrak etil asetat, dan ekstrak n-heksana ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya, masukkan serbuk Mg dan 10 tetes larutan HCl yang sangat pekat, 7 tetes amil alkohol, serta 5 tetes etanol, lalu campuran tersebut diaduk. Kehadiran senyawa flavonoid akan terlihat dari perubahan warna larutan menjadi oranye kekuningan atau jingga.

Uji Fenolik

Sebanyak 1 gram dari setiap jenis ekstrak, yaitu etanol, etil asetat, dan n-heksan, dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian, ditambahkan beberapa tetes NaCl 10% dan 3 tetes gelatin 1%. Uji dianggap positif jika terjadi pembentukan endapan putih. Sebagai alternatif, tambahkan 3 tetes FeCl_3 ; jika muncul warna biru, biru-hitam, hijau, atau hijau-hitam bersama endapan, maka hasilnya positif untuk tanin.

Uji Saponin

Masukkan 1 gram ekstrak etanol, ekstrak etil asetat, dan ekstrak n-heksan ke dalam tabung reaksi masing-masing. Kemudian, tambahkan beberapa tetes NaCl 10% dan 3 tetes gelatin 1%. Uji dianggap positif jika terbentuk cairan berwarna

putih. Sebagai alternatif, tambahkan 3 tetes FeCl_3 ; apabila endapan menunjukkan warna biru, biru kehitaman, hijau, atau hijau kehitaman, hasilnya dianggap positif untuk keberadaan tanin.

Uji Toksisitas

Uji toksisitas dilakukan dengan menerapkan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*).

Penetasan larva *Artemia salina* Leach

Ambil 300 mg larva dari Kota Situbondo, Jawa Timur. Pisahkan akuarium menjadi dua area: satu area ditutup dengan aluminium foil, sementara area lainnya dibiarkan terbuka dan diberi pencahayaan dengan lampu 40-60 watt. Telur larva ditempatkan dalam wadah yang diletakkan di area akuarium yang terbuka dan tidak tertutup foil, setelah dua hari telur akan menetas menjadi larva yang siap digunakan.

Pembuatan larutan uji

Sebelum menentukan konsentrasi optimal untuk mengeliminasi *Artemia salina* Leach, langkah awal dilakukan percobaan pendahuluan. Uji awal ini bertujuan untuk mengetahui persentase kematian hewan uji dalam

rentang 10 hingga 90%, menggunakan konsentrasi 1000 ppm, 500 ppm, 100 ppm, serta kelompok kontrol. Kemudian sesuaikan larutan stok menjadi 1000 ppm, ambil 100 mg ekstrak, tambahkan 1-3 tetes DMSO 1%, larutkan dalam 100 ml air (stok I). Kemudian, dilakukan pengenceran untuk membuat larutan uji dengan konsentrasi 1000 ppm, 500 ppm, 100 ppm, 25 ppm, dan kontrol 0 ppm menggunakan ekstrak etil asetat dan n-heksana.

- Konsentrasi 1000 ppm, dilakukan dengan mencampurkan 100 mg ekstrak dengan 100 ml air laut yang diambil dari pantai Kota Bengkulu sebagai larutan dasar.
- Konsentrasi 500 ppm, diambil 5 ml dari larutan induk dan tambahkan air laut dari pantai Kota Bengkulu hingga volumenya mencapai 10 ml.
- Konsentrasi 100 ppm, pipet 10 ml dari larutan induk dan tambahkan air laut dari pantai Kota Bengkulu hingga volumenya mencapai 100 ml.
- Konsentrasi 100 ppm, diambil 10 ml dari larutan stok II dengan pipet.
- Agar mencapai konsentrasi 25 ppm, pipet 0,25 ml dari larutan stok I kemudian tambahkan air laut yang

diambil dari pantai Kota Bengkulu hingga volume total mencapai 10 ml.

- Kontrol ragi, pipet 10 ml air laut yang diambil dari pantai kota Bengkulu dan tambahkan 1 tetes ragi.

Uji Toksisitas Sampel Dengan Metode Bslt

Pengujian dilakukan dengan memasukkan setiap larutan ke dalam vial. Kemudian, ambil secara acak 10 larva yang sehat dan aktif, berumur 48 jam, lalu masukkan ke dalam vial menggunakan pipet tetes. Tambahkan 1 tetes larutan ragi untuk memberikan makanan bagi larva. Setelah itu, tempatkan vial di ruangan yang terang selama 24 jam. Setelah waktu tersebut berlalu, hitung jumlah larva yang mati dengan menggunakan kaca pembesar.

Analisis Data

Penilaian dampak ekstrak etil biji Kebiul (*Caesalpinia bonduc* L. Roxb.) terhadap tingkat kematian larva *Artemia salina* Leach, analisis dilakukan dengan mengukur persentase kematian larva pada setiap konsentrasi setelah 1 hari. Persentase kematian akan dihitung untuk setiap konsentrasi yang diuji menggunakan rumus berikut:

$$\% \text{ mortalitas} = \frac{\text{jumlah larva mati}}{\text{jumlah larva awal}} \times 100\%$$

Jika kematian larva pada kontrol berkisar antara 5-20%, maka persentase mortalitas dihitung menggunakan rumus Abbott:

$$\% \text{ mortalitas} = \frac{(\text{larva mati pada uji} - \text{larva mati pada kontrol})}{\text{jumlah larva awal}} \times 100\%$$

Data tentang persentase kematian larva yang diperoleh akan dianalisis menggunakan metode analisis probit, dengan perhitungan dilakukan melalui perangkat lunak Excel.

Hasil dan Pembahasan

Penelitian ini menggunakan tanaman kebiul (*Caesalpinia bonduc* L. Roxb.) sebagai sampel yang diperoleh dari desa Bungin Tambun, Padang Guci Hulu, Kaur. Tanaman tersebut dicuci dengan air untuk menghapus kotoran yang bisa mengganggu proses ekstraksi. Setelah pencucian, kebiul dikeringkan untuk mengurangi kadar air, mencegah pertumbuhan mikroba, dan dilapisi dengan kain hitam untuk mempercepat pengeringan. Kain hitam menyerap panas dengan lebih efektif, yang mempercepat proses pengeringan, mengurangi oksidasi, dan menurunkan

risiko kontaminasi (Sartini *et al.*, 2017).

Biji kebiul yang dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk halus dengan ukuran kecil. Partikel yang lebih kecil akan memperluas area permukaan, yang meningkatkan interaksi dengan pelarut selama ekstraksi dan mempercepat prosesnya (Hidayah *et al.*, 2019). Proses ekstraksi yang diterapkan adalah metode maserasi. Selama perendaman dalam proses ini, perbedaan tekanan antara bagian dalam dan luar sel tanaman akan menyebabkan dinding dan membran sel pecah, memungkinkan metabolit sekunder di dalam sitoplasma larut ke dalam pelarut organik (Badaring, *et al.*, 2020). Selama proses maserasi, pelarut etil asetat digunakan dengan rasio 1:10 terhadap simplisia. Setelah itu, remaserasi dilakukan dengan menggunakan Pelarut yang serupa, namun dengan volume yang hanya separuh dari volume pelarut yang digunakan pada tahap perendaman awal (Depkes, 2017). Diperoleh rendemen sebesar 9,12%, hal ini juga yang dapat menjadi faktor berkurangnya rendemen pada metode maserasi karena jumlah pelarut yang

dignakan saat remaserasi hanya setengah dari pelarut awal. Penentuan nilai rendemen bertujuan untuk mengetahui jumlah kuantitas ekstrak senyawa dari bahan alam. Nilai rendemen menggambarkan jumlah zat metabolit sekunder yang ada dalam sampel. Rendemen yang lebih tinggi menandakan bahwa lebih banyak zat berhasil diekstraksi dari tanaman. Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dapat mempengaruhi tingkat toksisitas suatu senyawa. (Hernanda *et al.*, 2021).

Uji Fitokimia

Dalam penelitian ini, uji fitokimia melibatkan lima indikator, yakni alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan steroid. Hasil uji fitokimia biji kebiul (*Caesalpinia bonduc* L. Roxb.) dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Uji Fitokimia

Uji Fitokimia	Hasil	Keterangan
Flavonoid	Perubahan warna dari kuning kehijauan menjadi kuning	+
	Wagner :	
Alkaloid	Perubahan warna kuning kehijauan menjadi	+
		+

Saponin	kabut coklat Kuning kehijauan mejadi kuning kehijauan dengan terdapat busa	+
	Fenolik	
	Perubahan warna dari kuning kehijauan menjadi Hitam kehijauan	+
Keterangan (+) : Positif mengandung metabolit sekunder		

Tabel tersebut memperlihatkan bahwa biji kebiul mengandung senyawa metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Hasil ini sejalan dengan studi sebelumnya yang juga mencatat adanya flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin dalam biji kebiul (Hernanda *et al.*, 2021). Hasil uji fitokimia untuk setiap pelarut dan metode cenderung berbeda karena kandungan metabolit dalam proses ekstraksi tanaman sangat dipengaruhi oleh metode dan jenis kepolaran pelarut yang digunakan. Perbedaan dalam kepolaran pelarut dapat mempengaruhi

volume ekstrak yang dihasilkan, komposisi fitokimia, dan hasil dari uji aktivitas (Buhian *et al.*, 2016 ; Yulianti *et al.*, 2020).

Nilai LC₅₀

Total kematian dihitung dengan menghitung total larva yang mati pada setiap konsentrasi. Persentase kematian larva untuk setiap konsentrasi dihitung dengan membagi jumlah larva yang mati pada konsentrasi tersebut dengan jumlah larva awal pada konsentrasi yang sama, lalu mengalikannya dengan 100%. Setelah dihitung persentase mortalitas setiap konsentrasi uji, maka didapatkan persamaan regresi linear dari setiap metode ekstraksi. Diperoleh persamaan garis lurus yang menggambarkan hubungan antara Y (nilai probit dari persentase kematian) dan X (log konsentrasi) yaitu $Y = ax + b$. Perhitungan dianalisis dengan menggunakan persamaan regresi linear, dengan melakukan transformasi data konsentrasi ke dalam bentuk logaritma dan mengubah nilai persen kematian larva menjadi satuan probit. Setelah didapatkan nilai x, maka dilakukan perhitungan LC₅₀ menggunakan excel dengan cara memasukkan nilai x pada

Sampel Uji	Replikasi	Jumlah larva udang yang mati tiap Konsentrasi ppm (10 ekor)				
		25	100	250	500	1000
Ekstrak	1	1	1	2	4	7
Etil Asetat (Maserasi)	2	1	2	2	4	7
	3	1	1	2	5	7

rumus antilog^x . Nilai LC₅₀ dapat diperhatikan pada Tabel II di bawah.

Tabel II. Uji BSLT

Sampel Uji	Nilai LC ₅₀	Keterangan (Meyer, 1982)
Ekstrak	681	Toksik
Etil Asetat		

Hasil uji ini menunjukkan bahwa berbagai konsentrasi ekstrak menghasilkan persentase kematian larva yang bervariasi. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin besar tingkat kematian larva yang terjadi. Penelitian ini konsisten dengan hasil studi Ningsih *et al.*, (2023) dan Muaja (2013), yang menemukan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak juga meningkatkan persentase kematian larva udang. Sampel dikategorikan sebagai sangat toksik jika nilai LC₅₀ di bawah 30 ppm, toksik jika LC₅₀ kurang dari 1000 ppm, dan tidak toksik jika LC₅₀ melebihi 1000 ppm. Kategori toksik menunjukkan adanya aktivitas biologis, sehingga uji ini bisa digunakan sebagai langkah awal untuk

menyaring senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai agen antikanker (Meyer *et al.*, 1982). Meskipun semua ekstrak menunjukkan potensi toksik, ekstrak etil UAE selama 90 menit memiliki nilai LC50 tertinggi. Hal ini terkait dengan senyawa-senyawa dalam biji kebiul, seperti flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, dan steroid, yang pada konsentrasi tertentu dapat menyebabkan toksisitas dan kematian larva. Temuan ini konsisten dengan studi yang dilakukan oleh Sundaryono *et al.*, (2021), yang menunjukkan bahwa biji kebiul mengandung berbagai metabolit sekunder, termasuk flavonoid, saponin, tannin, alkaloid, dan steroid yang dapat berfungsi baik secara individu maupun sinergis. Dalam penelitian ini, larva udang *Artemia salina* Leach dipilih karena spesies ini memiliki struktur DNA dan RNA yang serupa dengan mamalia, khususnya dalam hal kemiripan dengan DNA-dependent RNA polymerase (Hasanah dan Yulianti, 2018). Larva yang dipilih berusia 2 hari karena pada usia ini, saluran pencernaannya sudah cukup berkembang sehingga larva menjadi lebih responsif terhadap zat yang diuji. Penelitian sebelumnya menunjukkan

bahwa kematian larva kemungkinan disebabkan oleh penghambatan nafsu makan (*antifeedant*), yang berkaitan dengan metabolit sekunder dalam biji kebiul. Larva ini juga mirip dengan sel kanker yang mengalami mitosis (Wulandari, 2014). Senyawa-senyawa kimia ini dapat berfungsi sebagai racun gastrointestinal atau perut. Oleh karena itu, saat senyawa-senyawa ini memasuki tubuh larva, mereka akan mengganggu sistem pencernaannya.

Selain itu, senyawa ini dapat menghalangi reseptor rasa di mulut larva, sehingga larva mati kelaparan akibat ketidakmampuan untuk merasakan dan mengenali makanan (Hernanda *et al.*, 2021). Metabolit sekunder dalam biji kebiul memiliki beberapa mekanisme toksisitas. Flavonoid, misalnya, dapat menghambat proliferasi sel dengan menargetkan jalur pensinyalan apoptosis, yang merangsang kematian sel (Marwati *et al.*, 2020). Flavonoid juga bertindak sebagai antioksidan karena gugus hidroksil dalam strukturnya berfungsi sebagai pengkhelat logam (Romadanu *et al.*, 2014). Alkaloid bekerja dengan menghambat pembelahan sel dan mengaktifkan jalur apoptosis sel

kanker (Gusungi et al., 2020). Selain itu, saponin, terpenoid, steroid, dan tannin juga berperan dalam pengaktifan jalur apoptosis (Marwati et al., 2020).

Flavonoid, alkaloid, dan steroid dapat mengacaukan fungsi sistem pencernaan serangga dan juga memiliki karakteristik toksik (Mukti, 2012). Saponin mampu mengurangi efektivitas enzim pencernaan dan proses penyerapan makanan pada serangga, sementara tanin dapat mengganggu proses pencernaan makanan dan mempengaruhi reseptor rasa di mulut larva (Fadli, 2019). Berdasarkan data yang tersedia, ekstrak etil asetat dari biji kebiul menunjukkan efek toksik dengan nilai LC50 kurang dari 1000 ppm. Senyawa yang memiliki sifat toksik seperti alkaloid, steroid, flavonoid, saponin, dan tanin mempengaruhi proses pencernaan larva dengan menghambat aktivitas enzim protease, lipase, amilase, dan invertase yang berperan dalam pencernaan dan penyerapan makanan.

KESIMPULAN

Ekstrak etil asetat dari biji tanaman kebiul (*Caesalpinia bonduc* L. Roxb) menunjukkan aktivitas

toksitas dengan nilai 681 ppm pada uji *brine shrimp lethality test*, yang dipengaruhi oleh variasi waktu ekstraksi maserasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan puji dan syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas berkat dan rahmat-Nya yang telah memungkinkan kami menyelesaikan artikel ilmiah ini. Kami menyadari bahwa tanpa dukungan dan bimbingan dari berbagai pihak, penyelesaian karya ini akan sangat sulit. Dengan demikian, kami ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada dosen pembimbing dan pihak Universitas Bengkulu atas dukungan dan bimbingan yang telah diberikan, baik dalam hal materi maupun arahan.

DAFTAR PUSTAKA

- Adisukresno, S. 1983. Mengenal Artemia. *Buletin Warta Mina*, 2(4), 11-16.
- Amarulloh, W. K., dan Lukmayani, Y. 2021. Aktivitas Sitotoksik Tajuk Gandasoli Hutan (*Hedychium roxburghii* Blume). *Jurnal Riset Farmasi*, 1(2), 133-140
- Anwar, L. O., Sari, S. F., Elo, A. A., Rosmawati, R., Nurdin, I. N., dan Said, A. 2021. Uji Toksisitas Ekstrak Cacing Tambelo (*Bactronophorus thoracites*) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test*. *Jurnal*

- Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 24(2), 243-248.
- Arifin, H., Anggraini, N., Handayani, D., dan Rasyid, R. 2006. Standarisasi Ekstrak etanol daun *Eugenia cumini* Merr. *Jurnal Sains Teknologi Farmasi*, 11(2), 88-93.
- Artini, P. E. U. D., Astuti, K. W., dan Warditiani, N. K. 2013. Uji Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.). *Jurnal Farmasi Udayana*, 2(4), 1-7.
- Asir, P. J., Hemmalakshmi, S., Priyanga, S., dan Devaki, K. 2014. In Vitro Free Radical Scavenging Activity and Secondary Metabolites in *passiflora foetida* L. *Word Journal of Pharmaceutical Research*, 6(2), 3-11.
- Baihaqi, B., Budiastra, I. W., Yasni, S., dan Darmawati, E. 2018. Peningkatan Efektivitas Ekstraksi Oleoresin Pala Menggunakan Metode Ultrasonik. *Jurnal Keteknik Pertanian*, 6(3), 249-254.
- Baihaqi, B., Nuraida, N., Fridayati, D., dan Al Adam, K. 2023. Ekstraksi Oleoresin Pala Menggunakan Metode UAE (Ultrasound Assisted Extraction). *Jurnal Sains Pertanian*, 7(2), 42-45.
- Badaring, D. R., Sari, S. P. M., Nurhabiba, S., Wulan, W., dan Lembang, S. A. R. 2020. Uji Ekstrak Daun Maja (*Aegle marmelos* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Indonesian Journal of Fundamental Sciences*, 6(1), 1-16.
- BPOM. 2022. Pedoman Uji Toksisitas Praklinik Secara *In Vivo*. Jakarta : Badan Pengawasan Obat dan Makanan.
- Budiastra, I. W., Widodo, S., dan Sari, A. Y. 2021. Studi Model Kinetika Ekstraksi Berbantu Ultrasonik pada Lada (*Piper nigrum* L.). *Jurnal Keteknik Pertanian*, 9(3), 127-134.
- Budhy, T. I. 2019. *Mengapa Terjadi Kanker*. Surabaya: Pusat Penerbitan dan Percetakan UNAIR.
- Chotimah, B. K. 2014. *Bimbingan Keagamaan Islami dalam Mengatasi Distres Spiritual Pasien Kanker di RSUD & Holistik Sejahtera Bhakti Salatiga* (Doctoral dissertation, UIN Walisongo).
- Ergina, Nuryanti, S., dan Pursitasari, I. D. 2014. Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) yang Diekstraksi dengan Pelarut Air dan Etanol. *Jurnal Akademik Kimia*, 3(3), 165-172.
- Fadli. 2019. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). *Jurnal Medical Sains*, 4(1), 35-42.

- Fatimah, R., dan Santoso, B. S. 2020. Toksisitas Akut Dekok Daun Kersen (*Muntingia calabura*) Menggunakan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). *Farmasi Medica/Pharmacy Medical Journal (PMJ)*, 3(2), 47-52.
- Gautret, P., Lagier, J. C., Parola, P., Hoang, V. T., Meddeb, L., Mailhe, M., Doudier, B., Courjon, J., Giordanengo, V., Vieira, V. E., Tissot Dupont, H., Honoré, S., Colson, P., Chabrière, E., La Scola, B., Rolain, J. M., Brouqui, P., dan Raoult, D. 2020. Hydroxychloroquine and Azithromycin As A Treatment of COVID-19: Results of An Open-Label Non-Randomized Clinical Trial. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 56(1), 1-6.
- Gusungi, D. E., Maarisit, W., Hariyadi, H., dan Potalangi, N. O. 2020. Studi Aktivitas Antioksidan dan Antikanker Payudara (MCF-7) Ekstrak Etanol Daun Benalu Langsung *Dendrophthoe pentandra*. *Biofarmasetikal Tropis (The Tropical Journal of Biopharmaceutical)*, 3(1), 166-174.
- Hafsah, L. 2022. Gambaran Tingkat Kecemasan pada Pasien Kanker yang Menjalani Kemoterapi di Rsud Dr. M. Yunus Bengkulu. *Jurnal Vokasi Keperawatan (JVK)*, 5(1), 21-28.
- Handaratri, A., dan Yuniati, Y. 2019. Kajian Ekstraksi Antosianin dari Buah Murbei dengan Metode Sonikasi dan Microwave. *Jurnal Ilmiah Teknik Sipil dan Teknik Kimia*, 4(1), 63-67.
- Hasanah, N., dan Yulianti, I. 2018. Uji Toksisitas Ekstrak Kulit Jeruk Lemon (*Citrus limon L. osbeck*) terhadap Larva Udang (*Artemia salina* Leach). *Edu Masda Journal*, 2(2), 73-86
- Hasnaeni, Wisdawati, dan Usman, S. 2019. Pengaruh Metode Ekstraksi terhadap Rendemen dan Kadar Fenolik Ekstrak Tanaman Kayu Beta-beta (*Lunasia amara* Blanco). *Jurnal Farmasi Galenika*, 5(2), 175-182
- Hendrawati, S., Nurhidayah, I., dan Mardiyah, A. 2019. Self-Efficacy Parents in Undergoing Child Cancer Treatment at the Rumah Kanker Anak Cinta Bandung. *NurseLine Journal*, 4(1), 37-45.
- Hernanda, M., Yani, D. F., dan Wijayanti, F. 2021. Uji Toksisitas Ekstrak dan Fraksi Kulit Biji Kebiul (*Caesalpinia Bonduc* L.) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test. *Al Ulum Sains dan Teknologi Journal*, 7(1), 52-57.
- Heryanto, V., Harini, R., Podesta, F., Fitriani, D., dan Usman, U. 2023. The Effect of ZPT Types and Concentration on The Growth of Kebiul Plant Cuttings (*Caesalpinia bonduc* L.). *Journal Nabatia*, 11(1), 37-57.

- Hidayah, N., Alimuddin, H. A., dan Harlia. 2019. Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Fitokimia dari Ekstrak Kulit Buah Pinang Sirih Muda dan Tua (*Areca catechu* L). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 8(2), 52-60.
- Ibrahim, A. M., Yunita, dan Sriherfyna, F. H. 2015. Pengaruh Suhu dan Lama Waktu Ekstraksi terhadap Sifat Kimia dan Fisik pada Pembuatan Minuman Sari Jahe Merah dengan Kombinasi Penambahan Madu Sebagai Pemanis. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 3(2), 530-541.
- Jubaidah, S., Siswanto, E., dan Supomo. 2021. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Pidada Merah (*Sonneratia caseolaris* L.) Pada Mencit Putih (*Mus musculus* L.). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 7(2), 254-260
- Kanani, N. Rochmat, A., Pahlevi, R., dan Rohani, F. Y. 2017. Pengaruh Temperatur terhadap Nilai Sun Protecting Factor (SPF) pada Ekstrak Kunyit Putih Sebagai Bahan Pembuat Tabir Surya Menggunakan Pelarut Etil Asetat dan Metanol. *Jurnal Integrasi Proses*, 6(3), 143-147.
- Kanifah, U. M., Lutfi., dan Susilo, B. 2015. Karakterisasi Ekstrak Daun Siri Merah (*Piper crocatum*) dengan Metode Ekstraksi Non-Thermal Berbatukan Ultrasonik (Kajian Perbandingan Jenis Pelarut dan Lama Ekstraksi). *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis*, 3(1), 73-79
- Kementrian Kesehatan RI. 2015. Situasi Penyakit Kanker Indonesia. *Pusat Data dan Informasi Kemenkes RI*, (2), 31-33.
- Kementrian Kesehatan RI. 2017. *Farmakope Herbal Indonesia Jilid II*. Jakarta : Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kurniawan, H., dan Ropiqa, M. 2021. Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Ekor Kucing (*Acalypha Hispida* Burm F.) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, 3(2), 52-62.
- Mailani, D.P., dan Pratiwi, N. 2021. Pra Rancangan Pabrik Etil Asetat Dari Asam Asetat dan Etanol dengan Proses Esterifikasi Menggunakan Katalis Amberlyst-15 Kapasitas 57.000 Ton/Tahun. *Jurnal Tugas Akhir Teknik Kimia*, 4(2), 73-77.
- Mandasari, N., Hazar, S., dan Sadiyah, E. R. 2016. Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Metanol Daun Srigading (*Nyctanthes arbor-tristis* L.). *Prosiding Farmasi*, 717-722.
- Maresa, A., Riski, M., dan Ismed, S. 2023. Hubungan Sikap dan Keterpaparan Informasi dengan Pengetahuan Remaja Putri Tentang Kanker Payudara. *Jurnal Aisyiyah Medika*, 8(1). 233-243.
- Margareta, C., Sundaryono, A., dan Nurhamidah, N. 2021. Sintesis dan Karakterisasi Nanopartikel

- Kebiul (*Caesalpinia bonduc* L) Tersulut Lipid Padat Trimiristin. *Journal Alotrop*, 5(2), 159-167.
- Maritha, V., dan Handoko, D. E. 2021. Aktifitas Sitotoksik Ekstrak Buah Jeruk Pamelon terhadap Sel Kanker Serviks. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 10(2), 107-112.
- Marwati, Salampe, M., Burhan, A., Megawati, Khairuddin, Naneng, A. A. A. M., dan Oktaviani, N. 2020. Skrining Antioksidan dan Antikanker Ekstrak Etanol Daun Karamunting Sebagai Obat Alternatif. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 6(2), 240-245.
- Meyer, B. N., Ferigni, N. A., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nicholsand, D. E., and McLaughl, J. L. 1982. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Journal of Medica Plant Research*, 45, 31-34.
- Muaja, dan Arter, D. 2013. Uji Toksisitas dengan Metode BSLT dan Analisis Kandungan Fitokimia Ekstrak Daun Soyogik (*Saurauibracteosa* DC.) dengan Metode Soxhletasi. *Jurnal Mipa Unsrat Online*, 2(2), 115-118.
- Mukti, K. 2012. Uji Fitokimia dan Toksisitas Ekstrak Kasar Gastropoda (*Telescopium telescopium*) terhadap Larva *Artemia salina*. *Journal of Marine Research*, 1(2), 58-66.
- Mustapa, M. A., Abdulkadir, W., dan Halid, I. F. 2020. Standarisasi Parameter Spesifik Ekstrak Metanol Biji Kebiul (*Caesalpinia Bonduc* L.) Sebagai Bahan Baku Obat Herbal Terstandar. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, 2(1), 49-58.
- Ningsih, I. S., Chatri, M., Advinda, L., dan Violita. 2023. Flavonoid Active Compounds Found In Plants Senyawa Aktif Flavonoid yang terdapat pada Tumbuhan. *Serambi Biologi*, 8(2), 126-132.
- Ningsih, N. N. S., Tutik, dan Amalia, P. 2023. Uji Toksisitas Ekstrak Etanol dan Etil Asetat Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.) dengan Metode BSLT