

ORIGINAL ARTICLE

UJI SITOTOKSIK EKSTRAK DAUN WALANG (*Etlingera walang* (Blume) R.M.Sm) DENGAN METODE *BRINE SHRIMP LETHALITY TEST* (BSLT)

Cory Novi^{*1}, Riska Lestari², Ranny Puspitasari³

¹(Program Studi Kimia, Fakultas Sains, Farmasi dan Kesehatan, Universitas Mathla'ul Anwar)

^{2,3}(Program Studi Farmasi, Fakultas Sains, Farmasi dan Kesehatan, Universitas Mathla'ul Anwar)

*Corresponding author: 73cory.nv@gmail.com

Diterima: 03-02-2024 | Direvisi: 03-04-2024 | Disetujui: 16-04-2024 | Dipublikasi: 27-05-2024

Pubsains 2024

Abstrak. *Etlingera* merupakan salah satu genus tumbuhan yang dipercayai memiliki senyawa sitotoksik terhadap sel kanker. Daun walang (*Etlingera walang* (Blume) R.M.Sm) merupakan tumbuhan yang termasuk dalam genus *etlingera*, namun belum ada laporan penelitian tentang aktivitas sitotoksitasnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh toksisitas ekstrak dan nilai efektifitas toksik ekstrak daun walang terhadap larva udang *Artemia Salina* Leach dengan menggunakan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Konsentrasi ekstrak etanol yang digunakan, yaitu 1000 ppm, 500 ppm, 100 ppm, 10 ppm dan 0 ppm (kontrol), kemudian diamati selama 24 jam. Hasil penelitian aktivitas sitotoksitas dari ekstrak etanol daun walang terhadap *Artemia Salina* Leach dengan nilai LC_{50} sebesar 158,49 ppm. Hal ini menunjukkan ekstrak etanol daun walang bersifat sitotoksik dan berpotensi sebagai antikanker.

Kata kunci: Daun walang (*Etlingera walang* Blume), Larva *Artemia salina*, Sitotoksik, BSLT

Abstract. *Etlingera* is a genus of plants that is believed to contain compounds that are cytotoxic against cancer cells. One of the plants in this genus is Walang (*Etlingera walang* (Blume) R.M.Sm). However, no research has been conducted to determine its cytotoxicity activity. This study aimed to determine the toxicity of the extract of Walang leaves and its effectiveness against *Artemia Salina* Leach shrimp larvae, using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method. The ethanol extract was used in concentrations of 1000 ppm, 500 ppm, 100 ppm, 10 ppm, and 0 ppm (control), and was observed for 24 hours. The study results showed that the ethanol extract of Walang leaves had a cytotoxicity activity against *Artemia Salina* Leach, with an LC_{50} value of 158.49 ppm. This indicates that the ethanol extract of Walang leaves is cytotoxic and can be used as an anticancer agent.

Keywords: Walang leaves (*Etlingera walang* Blume), *Artemia salina* Shrimp, Cytotoxic, BSLT

PENDAHULUAN

Etlingera adalah genus tumbuhan dari keluarga *Zingiberaceae*, yang memberikan banyak aktivitas farmakologis, salah satunya adalah sebagai antikanker. Banyak studi melaporkan aktivitas tersebut, termasuk ekstrak etil asetat dari rimpang *E. elatior* memiliki efek sitotoksik yang kuat terhadap sel CEM-SS dan MCF-7 (Chan, et al., 2011). Ekstrak etanol dari bunga *E. elatior* menunjukkan aktivitas antikanker terhadap sel MDA-MB-231, sel MCF-7, dan sel HeLa (Zan, et al., 2011). Ekstrak etil asetat dari biji *E. elatior* memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel leukemia P-388 dengan IC_{50} sebesar 19,21 mg/mL (Rusanti, et al., 2017). Efikasi ekstrak batang *E. elatior* terhadap persentase mortalitas larva *Spodoptera litura* yaitu F1(2%)=4,44%; F2 (4%)=4,76%;

F3(6%)=6,98%; dan F4 (8%)=10,16%, dari data tersebut yang memberikan efikasi tertinggi terhadap mortalitas *Spodoptera litura* yaitu pada F4 dengan nilai LC_{50} =5,05% (Yallac, Novi, & Abdilah, et al., 2023).

Ekstrak etanol dari rimpang *E. paviensa* memiliki aktivitas antiproliferatif terhadap sel MCF-7 (Tachai & Nuntawong, 2019) dan memiliki aktivitas terhadap sel MDA-MB-231, HeLa, HepG2, dan C33A (Lawsipo, et al., 2018). Ekstrak *E. punicea* memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel MCF-7 dengan metode uji MTT untuk melihat IC_{50} (Nagappan & Leong, 2019). Tumbuhan dari genus *Etlingera* memiliki banyak kandungan kimia, termasuk senyawa fenolik, diarylheptanoid, flavonoid, steroid, terpenoid, dan alkaloid (Wahyuni et al., 2021).

Tumbuhan walang (*Etilingera walang*) adalah tumbuhan dalam keluarga Zingiberaceae yang tumbuh secara liar di sekitar kabupaten Lebak, Pandeglang dan kota Serang Provinsi Banten. Tumbuhan ini dikenal sebagai rempah masakan oleh masyarakat Banten dan memiliki ciri-ciri mirip dengan lengkuas batang semu (Banki, et al., 2021).

Ekstrak dari genus *Etilingera* mengandung senyawa-senyawa aktif yang memiliki potensi farmakologi, seperti antioksidan, antiinflamasi, dan antikanker (Yallac, Novi, & Abdilah, 2023). Namun, belum banyak penelitian untuk menguji potensi toksisitasnya khususnya dari daun walang yang termasuk pada genus *Etilingera*. Uji toksisitas adalah metode untuk mendeteksi tingkat keberacunan suatu zat atau bahan yang akan digunakan sebagai obat. Hasil dari uji toksisitas memberikan informasi tentang tingkat keamanan suatu zat atau bahan sebelum digunakan. Oleh karena itu, penelitian lebih lanjut perlu dilakukan untuk mengevaluasi potensi toksisitas ekstrak sebelum digunakan secara (Walean, et al., 2021).

Uji toksisitas digunakan sebagai langkah awal untuk memeriksa aktivitas farmakologis dan memberikan informasi tentang keamanan suatu obat atau bahan obat, salah satu uji toksisitas awal yang dapat dilakukan adalah uji toksisitas akut, di mana perlakuan sediaan atau zat kimia diberikan dalam dosis tunggal atau dosis berulang dalam waktu 24 jam. Metode yang dapat digunakan dalam uji toksisitas akut adalah *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) menggunakan larva *A. salina* Leach (To'bungan, Jati, & Zahida, 2021).

Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) menggunakan larva udang *Artemia Salina* Leach adalah salah satu metode yang digunakan dalam penelitian ini. Metode ini dipilih karena sederhana, cepat, murah, mudah dilakukan, dapat dipercaya, dan memberikan hasil yang representatif (Purwaningsih & Kuswiyanto, 2019). Uji toksisitas akut menggunakan larva udang *A. Salina* telah terbukti berkorelasi dengan aktivitas antikanker dan memiliki tingkat kepercayaan 95% (Muaja, Koleangan, & Runtuwene, 2013).

Uji BSLT bertujuan untuk menentukan apakah suatu ekstrak memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan sel dan layak untuk dilanjutkan dalam penemuan obat antikanker. Dalam uji ini, tingkat kematian larva udang *A. Salina* setelah diinkubasi selama 24 jam diamati setelah pemberian ekstrak.

Hasilnya dihitung sebagai nilai LC_{50} (*Lethal Concentration*), yaitu konsentrasi ekstrak yang dapat menyebabkan kematian 50% larva udang *A. Salina* (Handayani, 2019).

METODE

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorium. Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu rotary evaporator, corong, ayakan mesh 60, kain hitam, bejana maserasi, blender, hand refraktrometer, mikropipet 1 mL, neraca analitik, pipet tetes, tabung reaksi, seperangkat alat penetasan telur (wadah plastik dan sterofoam), erlenmeyer 250 mL, erlenmeyer 100 ml, lup, kaca arloji, cawan penguap, spatula dan *well plate*. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun walang yang diambil di daerah Desa Mekarsari Pandeglang, udang *A.salina*, air laut buatan, akuades, DMSO, asam klorida pekat, pereaksi mayer, pereaksi wagner, serbuk magnesium, $FeCl_3$ 1%, kloroform, asam asetat anhidrat, asam sulfat pekat dan etanol 96%, tween 80, ammonia, amil alkohol.

1. Pembuatan Serbuk Simplisia

Daun walang disortasi basah dan dicuci sampai bersih dengan air mengalir, ditiriskan dan dirajang. Kemudian dikeringkan dengan ditutup kain hitam dibawah sinar matahari untuk menghilangkan kadar air dalam daun walang hingga didapat berat konstan. Selanjutnya daun walang yang sudah kering dihaluskan dengan menggunakan blender, kemudian diayak dengan mesh 60. Hasil ayakan serbuk kering ditimbang dan disimpan dalam wadah kedap udara.

2. Ekstraksi Sampel dengan Metode Maserasi

Simplisia daun walang sebanyak 1.000 g dimasukkan dalam bejana kaca, kemudian ditambah etanol 96% dan diaduk lalu ditutup dan dibiarkan selama 1 x 24 jam terlindung dari cahaya, sambil sesekali diaduk. Kemudian disaring dan ampas diperas sehingga didapatkan filtrat pertama. Sisa ampas kemudian ditambah etanol 96%. Selanjutnya, dilakukan remaserasi 3X24 jam. Maserat yang diperoleh dimurnikan menggunakan rotary evaporator dengan suhu $50^{\circ}C$ sehingga diperoleh ekstrak kental etanol daun walang.

3. Identifikasi Metabolit Sekunder

a. Alkaloid

Sampel sebanyak 0,5 g ditambahkan 5 mL air panas dan disaring, filtrat yang diperoleh dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 2 mL kloroform dan 2 mL ammonia, dikocok lalu ditambahkan HCl 2N. Endapan putih menggunakan pereaksi mayer menunjukkan positif alkaloid, sedangkan endapan coklat menunjukkan positif alkaloid pada pereaksi wagner (Kursia, et al., 2016).

b. Terpenoid dan Steroid

Sampel sebanyak 0,5 g ditambahkan 5 mL air panas dan disaring kemudian ditambahkan 3 tetes pereaksi Lieberman-Burchard (Asetat anhidrat + H₂SO₄ Pekat). Jika menunjukkan warna merah atau violet maka positif terpenoid dan jika warna hijau atau biru maka positif steroid (Nuralifah, Fery, & Nyoman, 2019).

c. Flavonoid

Sampel sebanyak 0,5 g ditambahkan 5 mL air panas dan disaring, filtrat yang diperoleh ditambahkan 0,1 g serbuk Mg dan 1 mL amil alkohol, dibiarkan memisah dan diperhatikan warna yang terbentuk pada lapisan amil alkohol, jika mengalami perubahan warna menjadi jingga/kuning, merah/ungu artinya positif mengandung flavonoid (Sulistyarini, Diah, & Tony, 2020).

d. Saponin

Sampel sebanyak 0,5 g ditambahkan 5 mL air panas, disaring. Filtrat yang diperoleh direaksikan sampai terbentuk busa, yaitu dengan melarutkan ekstrak pekat dalam akuades panas setelah diaduk lalu ditambahkan HCl 2N. Jika positif mengandung saponin maka timbul busa yang stabil (Sugiarti & Jihan, 2021).

e. Tanin

Sampel 0,5 g ditambahkan 5 mL air panas dan disaring, dimasukkan kedalam tabung reaksi, setelah itu tambah beberapa tetes FeCl₃ 1%. Jika menandakan adanya senyawa tanin maka terbentuk hijau kehitaman (Nuralifah, Fery, & Nyoman, 2019).

4. Uji Toksisitas dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

a. Pembuatan Air Laut Buatan dan Larutan Uji

Sebanyak 15 g NaCl dalam 1000 mL air suling, kemudian ditambahkan NaHCO₃ sambil diukur pH

air mencapai pH 8 dan diukur salinitas (diatas 33 %) (Supriningrum & Pranamala, 2016). Larutan induk dari 100 mg ekstrak kental ditambahkan tween 80 dan dimasukkan air laut buatan sampai batas garis gelas ukur 100 mL hingga konsentrasi 1.000 ppm. Selanjutnya dibuat seri konsentrasi uji dengan pengenceran 10 ppm, 100 ppm, dan 500 ppm.

b. Penetasan Larva Udang

Penetasan larva *A. salina* dilakukan dengan cara merendam 10 mg telur udang ke dalam 250 mL air laut buatan dengan diberi penerangan cahaya lampu 40 watt agar suhu penetasan tetap terjaga 25°C dan aerator. Telur larva dibiarkan selama 48 jam sampai menetas (Supriningrum & Pranamala, 2016).

c. Uji Toksisitas Akut dengan Metode BSLT

Larutan uji dengan konsentrasi 10 ppm, 100 ppm, 500 ppm, dan 1000 ppm sebanyak 100 mL (triplo) dimasukkan ke dalam vial dan ditambahkan larva *A. Salina* yang berumur 48 jam sebanyak 10 ekor. Selanjutnya vial dibiarkan di tempat terbuka selama 24 jam, setelah itu dihitung jumlah larva yang mati. Kriteria standar untuk menilai kematian larva *A. Salina* adalah bila larva *A. Salina* tidak menunjukkan pergerakan selama beberapa detik observasi (Supriningrum & Pranamala, 2016)..

Persen kematian larva dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\%Kematian = \frac{\sum Larva\ uji\ yang\ mati - \sum Larva\ kontrol\ yang\ mati}{Jumlah\ larva\ uji} \times 100\%$$

Analisis Data

Data hasil penelitian disajikan dalam bentuk tabel, grafik dan penentuan LC₅₀ menggunakan tabel probit.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Pembuatan Serbuk Simplisia

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun walang yang merupakan tanaman khas Banten. Pengambilan sampel daun walang dilakukan pada pagi hari dengan memilih daun yang hijau dan tidak rusak atau berlubang, pada pagi hari, tumbuhan sedang melakukan proses fotosintesis yang berlangsung maksimal. Hal ini membuat kandungan zat aktif dalam daun lebih tinggi dibandingkan dengan saat tumbuhan tidak melakukan fotosintesis.

Selain itu, pengambilan daun yang hijau dan tidak rusak atau berlubang juga dapat memastikan kualitas dan kandungan zat aktif dalam simplisia yang dihasilkan. Proses pengeringan simplisia dilakukan dengan cara dijemur di bawah sinar matahari dan ditutup dengan kain hitam agar sampel tidak terkena sinar matahari secara langsung sehingga kandungan aktif tidak rusak. Penyebab kerusakan senyawa metabolit sekunder yaitu disebabkan oleh radiasi sinar gamma, sinar UV-B dan sinar UV-C, sehingga proses pengeringan merupakan tahap penting dalam pembuatan simplisia, karena dapat mempengaruhi kualitas dan kandungan zat aktif dalam simplisia (Nuralifah, et al., 2018). Simplisia kering dihaluskan dan diayak dengan ayakan mesh 60 sesuai dengan Farmakope Indonesia.

2. Ekstraksi Sampel

Metode ekstraksi dalam penelitian ini menggunakan metode ekstraksi maserasi. Metode ini dipilih karena tidak menggunakan pemanasan sehingga senyawa kimia yang bersifat termolabil yang akan diambil tidak terurai atau rusak (Chusniasih & Tutik, 2020), selain itu peralatannya relatif mudah didapatkan. Sampel diekstraksi menggunakan pelarut etanol 96% selama 4x24 jam. Sampel yang diperoleh berwarna hijau pekat. Hasil pembuatan ekstrak ditunjukkan pada tabel 1. Pelarut etanol merupakan pelarut yang baik karena dapat mengekstrak senyawa yang polar dan senyawa yang non-polar. Pelarut etanol relatif kurang toksik dibandingkan metanol, murah, mudah didapat dan ekstrak yang diperoleh tidak mudah ditumbuhi jamur dan bakteri serta umum digunakan dalam pembuatan ekstrak. Selain itu, etanol merupakan pelarut yang tidak karsinogen, dan mudah menguap dengan titik didih 78°C sehingga tidak meninggalkan residu yang tinggi (Wendersteyt, Defny, & Surya, 2021). Pelarut etanol juga merupakan pelarut dengan daya ekstraktif terbesar untuk semua bahan alam berbobot molekul rendah seperti alkaloid, saponin dan flavonoid (Nuralifah, et al., 2018).

Tabel 1. Ekstraksi Daun Walang

Sampel	Jumlah
Simplisia daun walang	1.000 g
Pelarut etanol	8.000 mL
Maserat	5.000 mL
Ekstrak Kental	22,7 g

3. Identifikasi Metabolit Sekunder Ekstrak Daun Walang

Berdasarkan hasil identifikasi metabolit sekunder pada ekstrak daun walang diperoleh ekstrak daun walang positif mengandung flavonoid, alkaloid, steroid, tanin dan saponin dan diperoleh hasil negatif triterpenoid (tabel 2). Identifikasi golongan flavonoid dilakukan dengan penambahan logam Mg dan HCl pekat untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat dalam struktur flavonoid sehingga terjadi perubahan warna menjadi jingga atau merah (Novi, et al., 2023). Identifikasi golongan alkaloid, pereaksi meyer mengandung merkuri klorida dan kalium iodide. Prinsip dari reaksi pengendapan yang terjadi karena adanya peran atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas pada alkaloid dapat mengganti ion iodo dalam pereaksi-pereaksi tersebut sehingga membentuk ikatan kovalen koordinasi dengan ion logam. Identifikasi terpenoid/streiod dalam ekstrak diuji dengan menggunakan metode Liebermann-Buchard yang nantinya akan memberikan warna merah jingga atau ungu untuk terpenoid dan hijau atau biru untuk steroid (Marliza & Dita, 2021). Identifikasi tanin menghasilkan warna hijau kehitaman, hal ini terjadi karena terbentuknya senyawa kompleks antara logam Fe dan tanin. Senyawa kompleks terbentuk karena adanya ikatan kovalen koordinasi antara ion atau atom logam dengan atom (Novi, et al., 2023). Identifikasi golongan saponin diperoleh bahwa ekstrak daun walang menghasilkan busa yang stabil. Busa yang dihasilkan biasanya disebabkan karena adanya glikosida yang dapat membentuk busa dalam air dan terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Novi, et al., 2023).

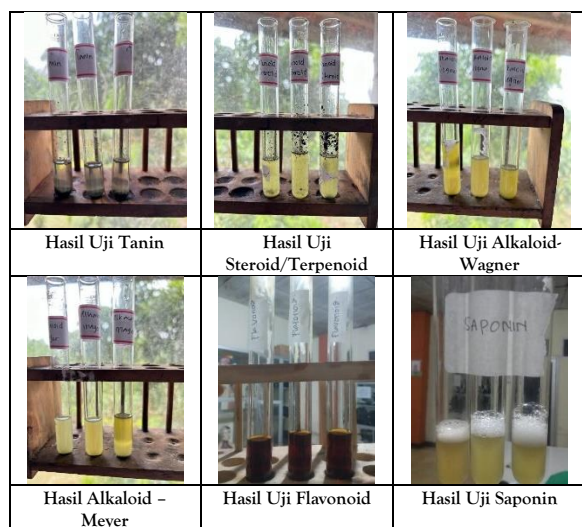
4. Uji Sitotoksik dengan Metode BSLT

Hasil uji menunjukkan konsentrasi ekstrak 10 ppm, 100 ppm, 500 ppm dan 1000 ppm dapat membunuh larva *A.Salina*. Jumlah kematian larva *A.Salina* ditunjukkan pada tabel 3. Dari tabel tersebut dapat diketahui bahwa variasi konsentrasi ekstrak daun walang memperlihatkan pengaruh berbeda terhadap kematian *A.Salina*. Larva *A.Salina* sebagai hewan coba karena memiliki sensitifitas yang tinggi terhadap kondisi lingkungan dan kontaminasi bahan kimia yang ada dilingkungan sehingga dapat digunakan sebagai parameter awal suatu perubahan kondisi lingkungan. Larva yang digunakan berumur 48 jam, karena pada umur tersebut *A.Salina* mengalami pertumbuhan yang sangat cepat sehingga

diasumsikan sebagai pertumbuhan sel yang abnormal seperti sel kanker (Marliza, & Dita, 2023).

Tabel 2. Hasil Identifikasi Metabolit Sekunder Ekstrak Etanol Daun Walang

Golongan	Metode Pengujian	Hasil Penelitian
Flavonoid	Serbuk pita Mg dan HCl	Warna jingga +
Alkaloid	Pereaksi Mayer	Terdapat endapan putih +
Steroid	Uji Liebermann-Burchard	Warna Hijau +
Terpenoid	Uji Liebermann-Burchard	Tidak menunjukkan warna merah atau violet -
Tanin	Besi (III) Klorida	Warna Hijau Kehitaman +
Saponin	Pengocokan dan HCl	Busa yang stabil +



Gambar 1. Dokumentasi Hasil Identifikasi Metabolit Sekunder Ekstrak Etanol Daun Walang

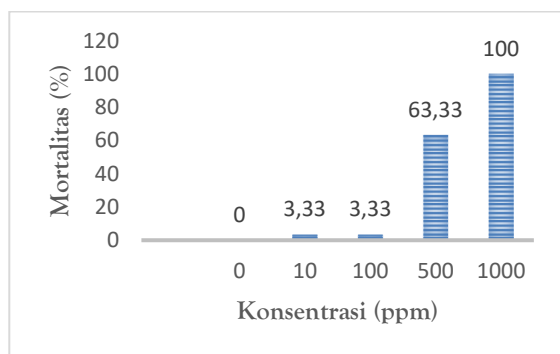
Tabel 3. Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Daun Walang terhadap Larva *A.Salina*

Konsentrasi (ppm)	Log Konsentrasi	Jumlah Larva Hidup	Replikasi		
			1	2	3
0	0	10	0	0	0
10	1	10	0	0	1
100	2	10	0	1	0
500	2.70	10	7	7	5
1000	3	10	10	10	10

Mekanisme kematian larva *A.Salina* berhubungan dengan fungsi senyawa flavonoid dan alkaloid yang menghambat daya makan larva. Cara kerja senyawa-senyawa tersebut adalah dengan bertindak sebagai stomach poisoning atau racun perut. Oleh karena itu, bila senyawa-senyawa ini masuk ke dalam tubuh larva alat pencernaannya akan terganggu. Senyawa ini akan menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva. Hal ini mengakibatkan larva gagal mendapatkan stimulus rasa sehingga tidak mampu mengenali makanannya dan akibatnya larva mati kelaparan (Khasanah, Karyadi, & Sundaryono, 2020). Flavonoid merupakan senyawa pertahanan tumbuhan yang dapat bersifat menghambat makan serangga dan juga bersifat toksik (Yallac, Novi, & Abdilah, 2023). Cara kerja senyawa golongan saponin dapat mengikat oksigen yang terdapat didalam air sehingga kadar oksigen didalam air menurun dan larva *A. salina* Leach dapat mengalami kematian karena kekurangan oksigen (To'bungan, Jati, & Zahida, 2021). Senyawa alkaloid dapat menyerang sel-sel neurosekresi otak bersifat racun pada saraf), menghambat pembentukan pupa dan hormon pertumbuhan sehingga memutus atau menghentikan siklus larva (Yallac, Novi, & Abdilah, 2023). Senyawa flavonoid memiliki efek sebagai inhibitor pernafasan atau racun pernafasan dan memiliki cara kerja dengan masuk ke dalam tubuh melalui sistem pernafasan yang kemudian akan menimbulkan kelayuan pada syaraf serta kerusakan pada system pernafasan yang mengakibatkan serangga tidak bisa bernafas dan akhirnya mati (Chusniasih & Tutik, 2020). Senyawa tanin bersifat toksik dan mengganggu proses penyerapan protein yang dibutuhkan untuk pertumbuhan dengan mengikat protein dalam sistem pencernaan. Mekanisme dari tanin berhubungan dengan kemampuannya untuk menginaktifkan adenosine, enzim dan protein sel. Selain itu tanin juga mampu merusak membran sel sehingga

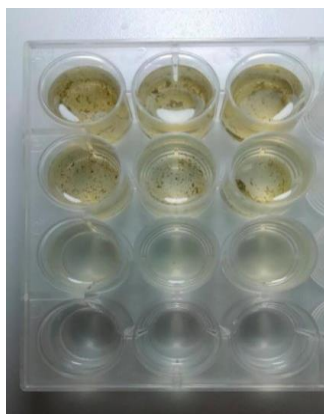
mengakibatkan kematian. Beberapa tanin memiliki aktivitas penghambat enzim Reverse Transkriptase dan DNA Topoisomerase (Yallac, Novi, & Abdilah, 2023).

Persentase kematian semakin meningkat dengan peningkatan konsentrasi larutan uji, untuk kelompok kontrol tidak terdapat larva *A.Salina* yang mati sehingga dapat disimpulkan bahwa kematian pada larva *A.Salina* disebabkan oleh ekstrak etanol daun walang. Persentasi kematian larva *A.Salina* ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Persentase Kematian Larva *A. salina* Pada Tiap Konsentrasi Ekstrak Daun Walang

Daya toksisitas suatu senyawa dapat diketahui dengan menghitung jumlah kematian larva udang dengan parameter *Lethal Concentration 50* (LC_{50}). Kontrol negatif dilakukan untuk melihat apakah respon kematian hewan uji benar-benar berasal dari sampel dan bukan disebabkan oleh pelarut yang digunakan. Metode BSLT dilakukan untuk mendeteksi keberadaan senyawa toksik yang dipakai untuk memonitor dalam isolasi senyawa dari tumbuhan yang berefek toksik dengan menentukan LC_{50} dari senyawa aktif (Marliza & Dita, 2021).



Gambar 3. Pengamatan Mortalitas Larva *A.Salina*

Tabel 4. Perhitungan nilai LC_{50} dengan metode Probit.

Konse ntrasi (ppm)	Log Konse ntrasi (X)	% Kem atian	Prob it (Y)	X ²	Y ²	XY
0	0	0	0	0	0	0
10	1	3,33	3,16	1	9,98	3,16
100	2	3,33	3,16	4	9,98	3,16
500	2,69	63,33	5,33	7,24	52,42	14,34
1000	3	100	8,1	9	65,61	24,3

Dari tabel 4 diperoleh data untuk perhitungan persamaan regresi linier hubungan antara Y (nilai probit dari persentase kematian) dan X (log konsentrasi), diperoleh nilai $y=2,2107x + 0,1347$ sehingga diperoleh nilai LC_{50} yaitu 158,49 ppm. Nilai LC_{50} yang diperoleh dari ekstrak etanol daun walang menunjukkan potensi sebagai antikanker dimana $LC_{50}>1000$ ppm. Ekstrak etanol daun walang berpotensi sebagai antikanker berkaitan dengan metabolit sekunder yang telah diidentifikasi dan positif yaitu golongan flavonoid, alkaloid, saponin dan tanin. Ke empat golongan metabolit tersebut yang berperan dalam kematian larva *A.salina*.

SIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan ekstrak etanol daun walang berpotensi toksik terhadap larva udang *A.Salina*. Nilai LC_{50} ekstrak daun walang adalah 158,49 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

Bánki, Y. Roskov, M. Döring, G. Ower, L.Vandepitte, D. Hobern, D. Remsen, P. Schalk, R. E. DeWalt, M. Keping, J. Miller, T. Orrell, R. Aalbu, R. Adlard, E. M. Adriaenssens, C. Aedo, E. Aesch, N. Akkari & S. Alexander. 2021. *Etilingera walang* (Blume) R.M.Sm. in *The Royal Botanic Gardens, Kew*.
<https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:942397-1>

Chan, E. W. C., Lim, Y. Y., & Wong, S. K. 2011. *Phytochemistry and Pharmacological Properties of*

- Etlingera elatior*: A Review. PHCOG J, 3(22): 6-10.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0975357511800325>
- Khasanah, Bhakti Karyadi & Agus Sundaryono. 2020. Uji Fitokimia dan Toksisitas Ekstrak Umbi *Hydnophytum sp* Terhadap *Artemia salina* Leach. PENDIPA Journal of Science Education. 4(1), 47-53.
<https://ejournal.unib.ac.id/pendipa/article/view/9176/pdf>
- Zan, C. H., Rahmat, A., Akim, A. M., Alitheen, N. B. M., Othman, F., & Lian, G.E.C. 2011. Antiproliferative effects of pandan leaves (*Pandanus amaryllifolius*), kantan flower (*Etlingera elatior*) and turmeric leaves (*Curcuma longa*). Nutr Food Sci, 41(4), 238-241.
<https://www.emerald.com/insight/content/doi/10.1108/0034665111151366/full/html>
- Rusanti, A., Sukandar, D., Rudiana, T., & Adawiah, A. 2017. Profil Fraksi Sitotoksik terhadap Sel Murine Leukemia P-388 dari Ekstrak Biji Honje (*Etlingera elatior*). J Kim Val, 3(1), 79-8.
<https://journal.uinjkt.ac.id/index.php/valensi/article/view/3640>
- Yallac, F.I. Novi, C & Abdilah, N.A. 2023. Efikasi Biopeptisida Ekstrak *Etlingera Elatior* (Jack) R.M.SM. Terhadap Mortalitas Larva *Spodoptera litura*. J-MedSains, 2022, 2(2): 103-112.
<https://jurnal.unmabanten.ac.id/index.php/medsains/article/view/341>
- Tachai, S., & Nuntawong, N. 2016. Uncommon secondary metabolites from *Etlingera pavieana* rhizomes. Natural Product Research, 30(19), 2215-2219.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26901239/>
- Lawsipo, P., Srisook, E., Ponglikitmongkol, M., Somwang, T., & Singaed, O. 2018. Cytotoxic effects of *Etlingera pavieana* rhizome on various cancer cells and identification of a potential anti-tumor component. J Food Biochem, e12540.
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jfbc.12540>
- Nagappan, T., S. Y. T., & J.-Leong. 2019. Investigation on Bioactive Potential of Selected Wild Ginger, Genus *Etlingera* from Tasik Kenyir, Terengganu. Gt Kenyir Landscapes Soc Dev Environ Sustain from Ridge to Reef, 75-82.
<https://ouci.dntb.gov.ua/en/works/9QNVvjA7/>
- Wahyuni, A. Diantini, M. Ghozal & Sahidin. 2021. *Etlingera* Genus: Phytochemical Screening And Anticancer Activity. Jurnal Farmasi Sains dan Praktis. 7(3): 343-355.
<https://journal.unimma.ac.id/index.php/pharmacy/article/view/6120/3070>
- Walean, R. Melpin, M. Rondonuwu & K. F. Pinontoan. 2021. Uji Toksisitas In Vitro Metode Bslt Dan Toksisitas Akut Oral Ekstrak Etanol Kulit Batang Pakoba (*Syzygium luzonense* (Merr.) Merr.). BIO-EDU: Jurnal Pendidikan Biologi. 6 (3): 244-250.
<https://jurnal.unimor.ac.id/index.php/JBE/article/view/1249/826>
- To'bungan, W.N. Jati & F.Zahida. 2021. Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Batang Rumput Knop (*Hyptis capitata* Jacq.) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Biota: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati. 6 (1): 52-57.
<https://ojs.uajy.ac.id/index.php/biota/article/view/3577/2136>
- Putra, Indah Purwaningsih & Kuswiyanto. 2019. Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Mentimun (*Cucumis sativus* L.) Terhadap Larva *Artemia salina* Leach Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Jurnal Laboratorium Khatulistiwa. 2(2): 67-71.
<https://ejournal.poltekkes-pontianak.ac.id/index.php/JLK/article/view/334/pdf>
- Muaja AD, Koleangan H.S.J & Runtuwene M.R.J. 2013. Uji Toksisita dengan Metode BSLT dan Analisis Kandungan Fitokimia Ekstrak Daun Soyogik (*Saurauia bracteosa* DC) dengan Metode Soxhletasi. Jurnal Mipa Unsrat Online, 2(2): 116.
<https://ejournal.unsrat.ac.id/v3/index.php/jmuo/article/view/3000/2543>
- Nuralifah., Fery I. A., Nyoman F.A. 2019. Uji Aktivitas Antibaktri Ekstrak Etanol Daun Kacapiring (*Gardenia Jasminoides* Ellis) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acnes*. Medula. Vol. 6. 617-626.
<https://ojs.uho.ac.id/index.php/medula/article/download/9652/6839>
- Sulistyarini, I., Diah A. S. & Tony A. W. 2020. Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Batang Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*). Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta. 56-62.
<https://publikasiilmiah.unwahas.ac.id/index.php/CE/article/view/3322/3104>

- Sugiarti, L., & Jihaan M. S. 2021. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acnes*. *Cendekia Journal of Pharmacy STIKES Cendekia Utama Kudus*. Vol.5. No. 2. 185-195. <https://cjp.jurnal.stikescendekiauramakudus.ac.id/index.php/cjp/article/view/159/92>
- Nuralifah., Fery I. A., Nyoman F.A. 2019. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun *Kacaping* (*Gardenia Jasminoides* Ellis) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acnes*. *Medula*. Vol. 6. 617-626. <https://ojs.uho.ac.id/index.php/medula/article/download/9652/6839>
- Supriningrum, S. & V. A. Pranamala. 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. <https://www.jurnal.stiksam.ac.id/index.php/jim/article/view/61/59>
- Nuralifah, Asriullah Jabbar, Parawansah & Ria Agus Iko. 2018. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun *Notika* (*Archboldiodendron caloserium* (Kobuski)) Terhadap Larva *Artemia salina* Leach dengan Menggunakan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Pharmauho* 4(1): 1-5. <https://ojs.uho.ac.id/index.php/pharmauho/article/view/4618>
- Chusniasih, D & Tutik. 2020. Uji Toksisitas dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dan Identifikasi Komponen Fitokimia Ekstrak Aseton Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.). *Analytical and Environmental Chemistry*. 2(2): 192-203. <https://jurnal.fmipa.unila.ac.id/analit/article/view/2688/1872>
- Novi,C. Dendi. Sumarlin. Sri.S. 2023. Pengaruh Teh Daun *Blumea balsamifera* (L.) DC. Terhadap Aktivitas Hipoglikemik Diabetes Melitus. *Jurnal IJMA* Volume 3 Number 1 : 60-67. <https://journal.halalunmabanten.id/index.php/ijma/article/view/75>
- Marliza, H. Dita O. 2021. Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol Daun Kemumu (*Colacasia gigantea* Hook.f) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Bencoolen Journal of Pharmacy*. 1 (1), 38-45. <https://ejournal.unib.ac.id/bjp/article/view/15593/7589>
- Wendersteyt N V, Defny S W, Surya S A. 2021. *Antimicrobial Activity Test of Extract and Fractions of Ascidian Herdmania momus From Bangka Island Waters Likupang Against The Growth of Staphylococcus aureus, Salmonella typhimurium, And Candida albicans*. Vol 10 No 1. 706-712. <https://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/pharmacology/article/download/32758/30951>