



Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Daun dan Buah Sirsak Kuning (*Annona montana*) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Noveri Rahmawati^{1*}, Dewi Gulya Hari¹, Tri Nova Lovena¹, Nurdina Putri¹, Rahma Dona², Rahma Cintya Faiza², Rahmi Amini¹

¹Farmasi, Universitas Muhammadiyah Riau, Pekanbaru, 28928

²Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau, Pekanbaru, 28928

ABSTRACT

The yellow soursop plant (*Annona montana*) is an Annonaceae family which has been used by the community as traditional medicine properties such as treating diarrhea, vitamin C deficiency and treating boils. This study aims to determine the cytotoxic activity of the larvae of *Artemia Salina* Leach shrimp by using the BSLT method after giving extracts from the leaves and fruit of yellow soursop (*Annona montana*). The results showed that the LC₅₀ value of the *n*-hexane extract of yellow soursop leaves was 45,84 µg/mL, the ethyl acetate extract of yellow soursop leaves was 26,44 µg/mL and the ethanol extract of yellow soursop leaves was 13,99 µg/mL. the *n*-hexane extract of yellow soursop fruit was 31,46 µg/mL, the ethyl acetate extract was 40,45 µg/mL and the ethanol extract of the yellow soursop fruit was 19,84 µg/mL. whereas the mixture of *n*-hexane leaves and yellow soursop fruit was 29,91 µg/mL, the ethyl acetate extract mixture of yellow soursop leaves and fruit was 21,71 µg/mL and the mixture of ethanol extract and yellow soursop fruit was 14,75 µg/mL. From the research results, it can be concluded that the ethanol extract of yellow soursop leaves shows the most active cytotoxic activity with an LC₅₀ value of 13,99 µg/mL.

Keywords: Sirsak kuning fruit (*Annona montana*); BSLT

Article Information

Received: May, 30, 2025

Revised: June, 30, 2025

Available online: June, 30, 2025

Keywords :

Sirsak kuning fruit (*Annona montana*); BSLT

Correspondence E-mail:

noverirahmawati@umri.ac.id



INTRODUCTION

Kanker atau tumor ganas adalah istilah umum pertumbuhan sel yang tidak normal seperti sel tumbuh sangat cepat, tidak terkontrol dan tidak terkendali yang dapat menyusup ke jaringan tubuh normal dan menekannya sehingga mempengaruhi fungsi tubuh (Diananda, 2009). Insiden kanker di Indonesia masih belum diketahui secara pasti karena belum ada registrasi kanker berbasis populasi yang dilaksanakan. Dari data statistik GLOBOCAN, *International Agency for Research on Cancer* (IARC) tahun 2012, terdapat 14.067.894 kasus baru kanker dan sebanyak 8.201.575 kematian akibat kanker di seluruh dunia dan ini menyebabkan penyakit kanker merupakan salah satu penyebab utama kematian di dunia. Kematian akibat kanker setiap tahunnya disebabkan oleh kanker paru, hati, perut, kolorektal, dan kanker payudara.

Upaya pencarian bahan baku obat dari bahan alam sampai saat ini masih terus dilakukan. Beberapa penelitian bioaktivitas bahan alam telah banyak dilaporkan untuk memperoleh data ilmiah tentang penggunaan bahan alam yang selama ini digunakan berdasarkan pengalaman empiris yang diwariskan secara turun temurun. Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat tradisional adalah tanaman sirsak kuning (*Annona montana*.). Tanaman sirsak kuning merupakan tanaman yang sering digunakan oleh masyarakat karena tanamannya yang memiliki banyak manfaat hampir semua bagian dari tanaman ini, dimulai dari daun, biji, akar, buah hingga kulit batangnya yang digunakan sebagai obat-obatan. Berdasarkan beberapa penelitian daun sirsak kuning digunakan sebagai obat untuk mengatasi berbagai penyakit seperti anti kejang, kekurangan vitamin C, radang usus, bisul, ambeien, dan anyang-anyang (Hariana, 2015), antimalaria (Somsak *et al*, 2016), dan antikanker (Chuang *et al*, 2005). Sedangkan buahnya digunakan untuk mengobati kutu, influenza dan insomnia (Colom *et al*, 2008).

Salah satu spesies dari genus *Annona* yang belum banyak diteliti adalah sirsak kuning (*Annona montana*) dengan hasil skrining fitokimia pada daun diperoleh adanya senyawa alkaloid, flavonoid, fenolik dan terpenoid, sedangkan hasil skrining fitokimia pada buah diperoleh adanya senyawa alkaloid,



flavonoid dan fenolik. Kandungan alkaloid dan flavonoid pada tanaman sering dikaitkan dengan aktivitas antikanker. Menurut penelitian yang telah dilakukan pada *Annona montana*, isolasi senyawa dari biji *Annona montana* yang dilakukan oleh Liaw *et al* (2005), didapat senyawa montalicins, monhexocin, murisolin. Senyawa hasil isolasi tersebut menunjukkan aktivitas sitotoksitas terhadap sel hepatoma manusia (Hep, G2) dengan LC50 sebesar

41 µg/mL. Wulandari *et al* (2017), juga telah melakukan uji aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol dari buah *Annona montana*. Hasil tersebut menunjukkan aktivitas antioksidan dengan IC50 sebesar 61 µg/mL. Menurut hasil penelitian Moscoso *et al* (2016), melaporkan efek sitotoksik dan genotoksik ekstrak etil asetat buah sirsak kuning terhadap sel manusia yaitu PC3 (prostate) dengan nilai LC50 sebesar 13,1 µg/mL. Namun sejauh ini belum banyak penelitian yang dilakukan terhadap daun sirsak kuning (*Annona montana*) yang terdapat di Pekanbaru.

Berdasarkan beberapa hasil penelitian genus *Annona* tersebut yang memiliki nilai LC50 yang cukup tinggi dan berpotensi sebagai aktivitas sitotoksik. Senyawa sitotoksik adalah suatu senyawa yang dapat merusak sel normal dan sel kanker, Untuk mengetahui suatu tanaman memiliki potensi sebagai anti tumor dan antikanker, maka perlu dilakukan penelitian awal. Salah satunya melalui uji sitotoksik menggunakan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). BSLT merupakan salah satu metode yang banyak digunakan sebagai skrining awal pencarian senyawa antikanker baru yang berasal dari tanaman. Metode ini merupakan metode sederhana, mudah, murah dan cepat untuk skrining aktivitas ekstrak bahan alam. Metode ini mempunyai korelasi positif dengan pengujian antikanker (Purwanto, 2015).

Berdasarkan uraian diatas, dengan melihat hasil skrining metabolit sekunder yang terdapat pada daun dan buah sirsak kuning (*Annona montana*) maka peneliti tertarik untuk melakukan pengujian aktivitas sitotoksik ekstrak *n*- heksana, etil asetat dan etanol daun dan buah sirsak kuning (*Annona montana*). Penggunaan 3 ekstrak itu untuk membandingkan ekstrak yang memiliki aktivitas sitotoksik yang lebih besar. Penelitian ini menggunakan metoda *Brine shrimp lethality test*



(BSLT) yang merupakan salah satu langkah awal untuk menguji senyawa yang diduga berkhasiat sebagai antikanker, dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach sebagai hewan percobaan.

MATERIAL AND METHODS

Tempat dan waktu penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Laboratorium Farmakologi Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau (STIFAR) dari bulan Desember 2019 sampai bulan Juni 2020.

Alat

Alat yang digunakan berupa seperangkat alat maserasi, alat destilasi (*Clvenger Apparatus*[®]), *rotary evaporator* (Buchi), aluminium foil, vial, tabung reaksi (Pyrex[®]) dan raknya, corong (Pyrex[®]), timbangan analitik (Shimadzu[®]), pipet tetes, gelas ukur (Pyrex[®]), labu ukur (Pyrex[®]), desikator, kapas, beker glass (Pyrex[®]), batang pengaduk, kertas saring, blender (Philips[®]), seperangkat pembiakan telur udang *Artemia salina* Leach (wadah gelap, aerator, lampu 5 watt merah), pipet mikromultichannel (Eppendorf) dan kaca pembesar (Joy-art[®]).

Bahan

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun dan buah tanaman sirsak kuning (*Annona montana*). Pelarut yang digunakan adalah *n*-heksana, etil asetat dan etanol. Bahan yang digunakan berupa aquadest, asam asetat anhidrat, CHCl₃, kloroform amoniak, logam magnesium, larutan FeCl₃, HCl P, H₂SO₄ 2N, norit, pereaksi Mayer, kertas saring, air laut, dimetilsulfoksida (DMSO) 2%, serta larva uji yang digunakan adalah *Artemia salina* Leach.

Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan adalah daun sebanyak 2 kg dan buah sebanyak 4 kg dari tanaman sirsak kuning (*Annona montana*) yang diambil dari Jalan Gading Marpoyan, Kelurahan Maharatu, Kecamatan Marpoyan Damai, Pekanbaru, Riau.



Identifikasi Tanaman

Identifikasi tanaman sirsak kuning (*Annona montana*) dilakukan di Laboratorium Botani Jurusan Biologi FMIPA Universitas Riau, Pekanbaru.

Skrining Fitokimia Daun dan Buah Sirsak Kuning (*Annona montana*)

Daun segar sebanyak ± 2 g dirajang, untuk buah segar dipotong sebanyak ± 2 g dirajang, masing-masing (rajangan daun dan buah) dimasukkan dalam tabung reaksi diekstraksi menggunakan etanol dan dipekatkan, kemudian ditambahkan masing-masing 5 mL air suling dan kloroform lalu dikocok kuat dan dibiarkan beberapa saat sampai terbentuk dua lapisan. Lapisan air digunakan untuk uji senyawa flavonoid, fenolik, dan saponin. Lapisan kloroform digunakan untuk uji senyawa terpenoid, dan steroid.

Uji Flavonoid

Beberapa tetes lapisan air pada plat tetes ditambah 1-2 potongan logam Mg dan beberapa tetes asam klorida pekat. Terjadinya warna jingga, merah muda sampai merah menandakan adanya senyawa flavonoid.

Uji Fenolik

Beberapa tetes lapisan air pada plat tetes ditambah 1-2 tetes larutan besi(III) klorida 1%. Bila terbentuk warna hijau/biru/ungu, menandakan adanya senyawa fenolik.

Uji Saponin

Lapisan air didalam tabung reaksi dikocok. Apabila terbentuk busa yang bertahan selama 5 menit, menandakan adanya saponin.

Uji Terpenoid dan Steroid

Lapisan kloroform disaring melalui pipet yang berisi norit. Hasil saringan dipipet 2-3 tetes masukan dalam 3 lubang plat tetes dan dibiarkan mengering. Setelah kering, pada lubang 1 ditambahkan 2 tetes asam asetat anhidrat, pada lubang 2 ditambahkan 1 tetes asam sulfat pekat serta pada lubang 3 ditambahkan pereaksi Liebermann-Burchard (2 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat). Terbentuknya warna lembayung merah sampai merah menandakan adanya senyawa terpenoid dan warna hijau sampai biru menandakan adanya steroid.



Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi, masing-masing pengerjaan ekstraksinya sebanyak 300 g serbuk kering daun sirsak kuning (*Annona montana*) dan buah sirsak kuning (*Annona montana*) sebanyak 250 g direndam dengan pelarut *n*-heksan dalam wadah gelap sampai terendam sempurna. Setelah sampel simplisia dimaserasi selama 5 hari dengan pelarut *n*-heksan dan terlindung dari cahaya matahari. Ampas dari maserasi *n*-heksan juga dilakukan maserasi dengan menggunakan pelarut etil asetat dan begitupun dengan pelarut etanol dengan prosedur yang sama. Kemudian maserat disaring menggunakan corong dan kapas untuk memisahkan maserat dengan ampas sampel, proses ini dilakukan hingga tiga kali pengulangan, hingga didapatkan filtrat *n*-heksana beserta residu. Begitupun filtrat etil asetat dan filtrat etanol. Filtrat tersebut kemudian dipekatkan menggunakan alat *rotary evaporator* pada suhu 40-50°C hingga didapatkan ekstrak kental *n*-heksan, etil asetat dan etanol.

Skrining Fitokimia Ekstrak

Skrining fitokimia yang dilakukan adalah pengujian secara kualitatif terhadap senyawa kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak *n*-heksana, ekstrak etil asetat, dan ekstrak etanol. Masing-masing ekstrak ditambahkan 5 mL *aquadest* dan 5 mL kloroform lalu dikocok kuat dan dibiarkan beberapa saat sampai terbentuk dua lapisan. Lapisan air digunakan untuk uji senyawa flavonoid, fenolik, dan saponin. Lapisan kloroform digunakan untuk uji senyawa terpenoid dan steroid. Untuk uji alkaloid memiliki prosedur tersendiri. Pengujian flavonoid, fenolik, saponin, terpenoid dan steroid sama pengerjaannya dengan skrining fitokimia pada daun dan buah segar. Pada pengujian alkaloid, ekstrak dilarutkan dengan pelarutnya kemudian ditambahkan 10 mL kloroform dan 10 mL larutan kloroform amoniak 0,05 M, kocok kemudian tambahkan 1 mL asam sulfat 2 N, kocok selama 2 menit, tunggu hingga terbentuk dua lapisan dan terjadi pemisahan. Ambil lapisan asam (atas) dan tambahkan 1-2 tetes pereaksi Mayer jika terbentuk endapan putih dengan pereaksi Mayer menunjukkan hasil positif adanya alkaloid.



Uji Sitotoksik dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) Persiapan Larva *Artemia salina* Leach

Dipersiapkan dahulu wadah untuk penetasan kista udang *Artemia salina* Leach, wadah tersebut memiliki dua sekat, satu sisi wadah bagian terang dan satu sisinya bagian gelap yang ditutup dengan menggunakan aluminium foil atau bahan-bahan yang kedap cahaya. Wadah yang sudah siap, diisi dengan air laut yang sudah disaring kemudian kista udang dimasukkan pada bagian wadah yang ditutup dengan aluminium foil dan diletakkan dibawah pencahayaan lampu, biarkan hingga 48 jam.

Pembuatan Konsentrasi Larutan Induk dan Larutan Uji

Disiapkan vial uji yang telah dikalibrasi sebanyak 5 mL. Pengujian dilakukan dengan konsentrasi 1000, 100, 10 $\mu\text{g/mL}$ (masing-masing dibuat dalam 3 vial). Ekstrak *n*-heksana, etil asetat dan etanol daun dan buah serta campurannya ditimbang masing-masing sebanyak 50 mg, kemudian masing-masing ekstrak dilarutkan dengan 5 mL pelarut yang sesuai, sehingga diperoleh larutan induk 10.000 $\mu\text{g/mL}$. Larutan induk tersebut dipipet sebanyak 0,5 mL dan ditambahkan pelarut hingga 5 mL ke dalam vial yang sebelumnya telah dikalibrasi sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$. Larutan dengan konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$ dipipet sebanyak 0,5 mL ke dalam vial yang berbeda, dimana larutan uji di 3 vial diuapkan dan 1 vial lainnya ditambahkan dengan pelarut yang sesuai hingga 5 mL sehingga diperoleh larutan uji dengan konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$. perlakuan yang sama dilakukan hingga didapatkan larutan uji dengan konsentrasi 10 $\mu\text{g/mL}$.

Uji Sitotoksik terhadap Larva *Artemia salina* Leach

Masing-masing vial uji dibiarkan menguap pelarutnya, larutkan kembali senyawa uji dengan 50 μL DMSO, Larva udang dimasukkan pada masing-masing vial sebanyak 10 ekor untuk tiap-tiap vial uji. Ditambahkan lagi air laut beberapa tetes hingga batas kalibrasi, kematian larva udang diamati setelah 24 jam. Dari data yang dihasilkan dihitung LC_{50} dengan metoda kurva menggunakan tabel probit (Harefa, 1997). Untuk kontrol, 50 μL DMSO dipipet dengan pipet mikro ke dalam



vial yang telah dikalibrasi, tambahkan air laut 2 mL masukkan larva *Artemia salina* Leach 10 ekor. Tambahkan lagi air laut hingga tanda batas kalibrasi, kematian larva diamati setelah 24 jam.

Analisa Data

Untuk melihat pengaruh pemberian ekstrak daun dan buah sirsak kuning (*Annona montana*) terhadap larva *Artemia salina* dilakukan analisis dengan metode kurva. Garis vertikal menyatakan nilai probit dan persentase respon. Garis horizontal menyatakan dosis atau konsentrasi yang digunakan. Plot antara nilai dosis atau konsentrasi terhadap nilai probit akan menghasilkan kurva berupa garis lurus. Dari kurva tersebut dapat diturunkan harga LC_{50} . Perhitungan ini dilakukan dengan membandingkan antara jumlah larva yang mati terhadap jumlah larva keseluruhan sehingga diperoleh persen kematian, kemudian dilihat dalam tabel probit. Dari nilai tersebut akan diketahui nilai probit masukkan dalam persamaan regresi, sehingga diperoleh nilai LC_{50} .

Persen kematian:

$$\frac{\text{Jumlah larva mati}}{\text{Jumlah larva keseluruhan}} \times 100\%$$

Persamaan Regresi :

$$Y = a + bx$$

$$LC_{50} = \text{anti log } X$$

RESULT AND DISCUSSION

Pembuatan ekstrak daun dan buah sirsak kuning ini menggunakan metode ekstraksi cara dingin yaitu maserasi yang mana maserasi adalah ekstraksi dengan merendam simplisia didalam pelarut pada suhu kamar (Hanani, 2015). Pemilihan metode ekstraksi ini karena memiliki beberapa kelebihan seperti pengerjaannya sederhana, prosesnya murah dan mudah dilakukan serta tanpa proses pemanasan sehingga kerusakan atau degradasi metabolit dapat diminimalisasi (Agoes, 2007; Hanani, 2015). Untuk metode maserasi, peneliti menggunakan maserasi



bertingkat. Maserasi bertingkat merupakan proses ekstraksi simplisida menggunakan pelarut berdasarkan tingkat kepolarannya mulai dari non polar hingga polar dengan perendaman, pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruang (Djamal, 2010).

Adapun pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah *n*-heksana, etil asetat dan etanol. Penggunaan pelarut ini bertujuan untuk memisahkan senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya. Sampel dimaserasi selama lima hari sambil sesekali diaduk, kemudian sampel disaring dengan kapas dan kain kasa untuk memisahkan maserat dengan ampas, proses ini dilakukan hingga tiga kali pengulangan untuk masing-masing pelarut, dimulai dari pelarut non polar hingga pelarut polar. Maserat yang telah didapat dari proses maserasi masing-masing pelarut kemudian akan dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50- 60°C sehingga didapatkan ekstrak kental. Pemekatan dilakukan dengan tujuan untuk memisahkan zat terlarut dengan pelarut agar dihasilkan ekstrak kental dengan bantuan vakum yang dapat menurunkan tekanan yang ada pada labu sampel dan menurunkan titik didih sehingga proses penguapan dapat berlangsung lebih cepat (Agoes, 2007; Hanani, 2015).

Pada penelitian ini peneliti menggunakan 3 ekstrak yang berbeda tingkat kepolarannya yaitu ekstrak *n*-heksana, ekstrak etil asetat dan ekstrak etanol. Selanjutnya ekstrak dari daun dan buah sirsak kuning yang diperoleh dilakukan uji sitotoksik dengan menggunakan metode BSLT terhadap larva *Artemia salina* Leach. Metode ini dipilih dikarenakan menurut Carballo *et al.*, (2002) metode BSLT dengan uji sitotoksik lain yang menggunakan kultur sel kanker memiliki kolerasi positif, sehingga metode ini sering dimanfaatkan untuk skrining senyawa antikanker. Selain itu, metode BSLT juga memiliki beberapa keuntungan antara lain lebih cepat, murah, mudah, tidak memerlukan kondisi aseptis dan dapat dipertanggung jawabkan hasilnya (Meyer *et al.*, 1982). Uji ini menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach karena pertumbuhannya dianggap sama dengan pertumbuhan sel pada tubuh manusia. Pada pengujian menggunakan metode *brine shrimp lethality test* (BSLT), hal pertama yang dilakukan adalah dengan mengembangbiakan larva udang dengan cara mentetaskan kista *Artemia salina*



Leach yang membutuhkan waktu menetas ± 48 jam. Kista artemia sudah dapat menetas pada waktu 24 jam namun belum mempunyai saluran pencernaan sehingga ekstrak yang diberikan tidak dapat diabsorpsi dan menimbulkan efek, berbeda dengan larva berumur 48 jam yang sudah memiliki mulut dan saluran pencernaan sehingga ekstrak dapat diabsorpsi dan menimbulkan efek. Dalam pengembangbiakan larva udang digunakan alat berupa kaca persegi panjang yang terdiri dari dua bagian yaitu bagian terang dan bagian gelap. Fungsi dari bagian gelap yaitu sebagai tempat penetasan kista dan bagian terang akan diberikan lampu selama penetasan (digunakan lampu bohlam 5 watt) yang bertujuan untuk mengetahui kista berhasil menetas karena larva cenderung akan bergerak mengikuti cahaya.

Dalam penetasan ini digunakan air laut buatan sebagai media pengembangbiakan, penggunaan air laut buatan ini untuk mengkondisikan bahwa air laut yang digunakan tidak terkontaminasi atau tercemar karena jika menggunakan air laut asli dikhawatirkan terdapat cemaran atau kontaminasi. Air laut buatan dibuat dengan cara melarutkan 30 gram garam khusus ikan (SEN) ke dalam 1L air mineral (Aqua) atau dengan konsentrasi 1,5% (Kurniawan, 2012). Selain itu aerasi harus diberikan terus sampai terjadi penetasan, selain untuk mencukupi kebutuhan akan oksigen, aerasi dapat mencegah terjadinya pengendapan kista-kista di dasar wadah. Pengendapan kista-kista dapat menimbulkan kondisi "anaerob" pada kista-kista tersebut sehingga perkembangan embrio akan terhambat hingga tidak menetas. Kandungan oksigen yang minimal untuk penetasan adalah 3 ppm (Panggabean, 1984).

Uji sitotoksik dengan metode *brine shrimp lethallity test* (BSLT) dilakukan untuk melihat sifat sitotoksik dari ekstrak *n*-heksana, etil asetat dan etanol dari daun dan buah sirsak kuning serta campuran ekstraknya (*Annona montana*) terhadap larva *Artemia salina* dengan 3 konsentrasi yaitu 1000 $\mu\text{g/mL}$, 100 $\mu\text{g/mL}$ dan 10 $\mu\text{g/mL}$ yang dimaksudkan untuk mengetahui tingkat aktifitas masing-masing ekstrak yang akan diamati setelah 24 jam. Sebelum dilakukannya uji, senyawa dilarutkan dengan pelarut yang melarutkannya terlebih dahulu, dalam pengujian ini menggunakan pelarut berdasarkan tingkat kepolarannya yaitu *n*-



heksana, etil asetat dan etanol. Dalam pengujian ini setiap konsentrasi yang telah dibuat harus menguapkan pelarutnya dengan tujuan agar pelarut yang digunakan tidak mengganggu aktifitas senyawa uji. Setelah pelarut menguap masing-masing konsentrasi akan ditambahkan 50 μL DMSO sebagai surfaktan karena ekstrak tidak dapat larut dalam air laut. Surfaktan merupakan senyawa yang memiliki ujung hidrofilik dan hidrofobik sehingga dapat melarutkan ekstrak dengan air laut dengan cara menurunkan tegangan permukaan. Dimetilsulfoksida (DMSO) merupakan cairan tak berwarna yang memiliki rumus $(\text{CH}_3)_2\text{SO}$ merupakan pelarut yang dapat melarutkan senyawa polar maupun non polar, serta sifatnya yang tidak terlalu toksik dan termasuk pelarut universal menjadi alasan dipilihnya DMSO untuk membantu kelarutan senyawa dalam air laut (Fox, 2004), disamping itu juga DMSO merupakan pelarut apotik, yaitu pelarut yang dapat melarutkan senyawa non polar sampai polar. DMSO juga digunakan untuk larutan kontrol, tujuannya adalah untuk menjamin bahwa kematian pada larva *Artemia salina* benar-benar disebabkan oleh pengaruh ekstrak bukan disebabkan oleh pelarut yang digunakan. Hasil yang diperoleh dapat dilihat tidak adanya kematian larva *Artemia salina* dengan ditunjukkan seluruh larva yang hidup didalam larutan kontrol. Setelah penambahan DMSO ditambahkan 2 mL air laut buatan untuk memudahkan dalam pelarutan ekstrak terhadap air laut, selanjutnya ditambahkan 10 ekor larva *Artemia salina* pada masing-masing vial dan dicukupkan hingga batas kalibrasi vial 5 mL. Air laut yang digunakan pada pengujian adalah air laut yang sama dengan air laut saat penetasan, dikhawatirkan apabila menggunakan air laut buatan baru akan mempengaruhi hasil pengujian karena konsentrasi yang tidak sama ataupun ketidakcocokan air laut buatan baru dengan larva *Artemia salina*. Percobaan ini dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali yang dimaksudkan untuk memperjelas akurasi dari data penelitian dengan mencari rata rata dari 3 kali pengulangan, pengamatan dilakukan setelah 24 jam dan dihitung jumlah larva yang mati dari masing masing konsentrasi uji (Tabel 1).



Tabel 1. Hasil Uji Aktivitas Sitotoksik (Nilai LC₅₀) Dari Ekstrak Daun, Ekstrak Buah Serta Campuran Ekstrak Daun Dan Buah

Sampel	Ekstrak n- Heksan (µg/mL)	Ekstrak Etil Asetat (µg/mL)	Ekstrak Etanol (µg/mL)
Ekstrak Daun	45,84	26,44	13,99
Ekstrak Buah	31,46	40,45	19,84
Campuran Ekstrak Daun dan Buah	29,91	21,71	14,75

CONCLUSION

Berdasarkan hasil uji sitotoksik ekstrak daun, buah dan campuran ekstrak daun dan buah sirsak kuning (*Annona montana*) dengan menggunakan BSLT didapatkan bahwa ekstrak etanol mempunyai aktivitas sitotoksik terbaik dengan nilai LC₅₀ 13,99 µg/mL.

REFERENCE

- Agoes, G., 2007. *Teknologi Bahan Alam*. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Carballo, J.L., Inda, Z.L.H, Perez, P, and Gravalos, M.D.G., 2002. A Comparison Between Two Brine Shrimp Assays to Detect In Vitro Cytotoxicity in Marine Natural Products, *BMC Biotechnology* 2 (17) : 1-5.
- Chuang L, C., Rong Chang, F. 2005. Novel Cytotoxic Monotetrahydrofuranic Annonaceous Acetogenins From *Annona montana*. USA. *Boorganic & medicinal chemistry*. 13: 4767-4776.
- Colom, O. A., Barrachina, I., Mingol, I. A., Mas, M. C. G., Sanz, P. M., Neske, A., & Bardon, A. 2008. *Toxic effects of Annonaceous acetogenins on Oncopeltus fasciatus*. *Journal of Pest Science*, 81(2), 85–89.
- Diananda, R. 2009. *Panduan Lengkap Mengenai Kanker*. Yogyakarta. Mirza Media Pustaka. Jakarta.
- Djamal, R. 2010. *Kimia Bahan Alam: Prinsip Prinsip Dasar Isolasi Dan Identifikasi*. Universitas Baiturrahman, Padang.



Hanani, E. 2015. Analisis Fitokimia, Buku Kedokteran EGC. Jakarta.

International Agency for Research on Cancer (IARC) / WHO. (2012).
GLOBOCAN 2012:

Estimated Cancer Incidence, Mortality, and Prevalence World in 2012. Diakses melalui: http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_population.aspx pada tanggal 5 Oktober 2019.

Kurniawan, H. 2012. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Daun Kesum (*Polygonum minus Huds*) Terhadap Larva *Artemia salina* Leach Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Tanjungpura*.

Liaw, C. C., Chang, F. R., Chen, S. L., Wu, C. C., Lee, K. H., and Wu, Y. C. 2005. Novel Citotoxic monotetrahydrofuranic Annonaceus Acetogenins From *Annona montana*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 13. 4767-4776.

Meyer, B., Ferrigni, N., Putnam, J., Jacobsen, L., Nichols, D. & McLaughlin, J. 1982. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Planta Medica*, 45(05): 31–34.

Moscoso, N. B., Juan, C. R. B., María, I. R. O., Karla, O., Glende, G., Edward, A., Ratoviski & Patricia, O. W. 2016. Cytotoxic and Genotoxic Effects of Extracts from *Annona montana* M. Fruit. *Food and Agricultural Immunology*.

Panggabean, M.G.L. 1984. Teknik Penetasan Dan Pemanenan *Artemia salina*. *Oseana*, 19 (2): 57– 65.

Purwanto, N. 2015. Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Biji Salak (*Salacca zalacca* (Gaert Voss) dengan Menggunakan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Skripsi*. Fakultas MIPA Universitas Islam. Bandung.

Somsak, V., Polwiang, N., dan Chachiyo, S. 2016. *In Vivo Anti Malarial Activity of Annona muricata Leaf Extract In Mice Infected With Plasmodium Berghei*. Hindawi Publishing Corporation. London.

Wulandari, s., Fidyasari, A dan Sari, M.I., 2017, Secondary Metabolite and Antioxidant Activity of Soursop (*Annona montana*) Fruit Extract, *International Journal of Technology and Sciences*, 1(2): 10-15