

SKRINING ANTIKANKER EKSTRAK BUAH MERAH (*Pandanus conoideus* L.) DENGAN VARIASI CAIRAN PENYARI MENGGUNAKAN METODE BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)

Dewi Purwaningsih¹, Muh. Azwar AR², dan Marwati²

¹ Bagian Farmakologi dan Farmasi Klinik, Pogram Studi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar, Makassar

² Bagian Biologi Farmasi, Pogram Studi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar, Makassar

ABSTRAK

Buah merah (*Pandanus conoideus* L.), buah langka asli provinsi Papua (Indonesia), diketahui memiliki kandungan antioksidan yang tinggi diantaranya merupakan senyawa pigmen karotenoid, tokoferol, fenolik, flavonoid dan lainnya yang diduga dapat menghambat proses karsinogenesis pada kanker. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan skrining antikanker ekstrak buah merah sebagai obat alternatif untuk kemopreventif alami dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). Buah merah diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan berbagai pelarut (aseton, kloroform, dan n-heksana) dengan pengaduk magnet. Skrining fitokimia dengan metode KLT menggunakan fase diam lempeng silika GF254 dan campuran heksan: aseton (8:2) sebagai fase geraknya yang diamati pada lampu UV 254 dan 366nm serta penyemprotan reagen untuk identifikasi golongan metabolit sekunder. Metode BSLT dilakukan untuk pengujian sitotoksik menggunakan larva *Artemia salina* Leach. Yang dilanjutkan dengan analisis probit untuk mengetahui nilai LC₅₀. Hasil penelitian menunjukkan bahwa % rendemen ekstrak tertinggi yaitu 18,14% (kloroform) kemudian ekstrak n-heksana 18,09% dan 14,6% (aseton). Skrining fitokimia menunjukkan bahwa semua ekstrak mengandung alkaloid (Rf=0,67), flavonoid (Rf=0,55) dan fenolik (Rf=0,3) dan beta karoten (menggunakan senyawa murni sebagai pembanding) namun senyawa metabolit golongan steroid hanya terdeteksi pada ekstrak n-heksan dan kloroform dengan nilai Rf=0,67. Nilai LC₅₀ dari pengujian aktivitas sitotoksik dari ketiga jenis ekstrak berada dalam rentang < 30 ppm dengan kategori sangat toksik.

Kata Kunci :

Buah Merah, BSLT, Sitotoksik, LC₅₀

PENDAHULUAN

Hingga saat ini kanker masih menjadi penyebab kematian utama baik di Indonesia maupun di dunia. Beberapa penelitian terkait perkembangan kanker menyebutkan bahwa gaya hidup dan makanan yang dikonsumsi menjadi faktor pemicunya. Berdasarkan National Cancer Institute, kanker didefinisikan sebagai suatu penyakit yang ditandai dengan pertumbuhan sel-sel abnormal dan tak terkendali yang kemudian dapat menyerang bagian tubuh yang berdekatan dan menyebar ke organ lain (metastasis) (1).

Saat ini pengobatan utama untuk kanker masih berupa pembedahan, kemoterapi, terapi radiasi dan imunoterapi. Namun, efek samping berbahaya terkait obat dan radiasi sering terjadi, dan tidak semua kanker dapat disembuhkan dengan pembedahan. Pendekatan yang dikembangkan saat ini yaitu menggunakan senyawa alami ataupun sintesis untuk mencegah inisiasi, promosi, menghambat atau membalikkan tumorigenesis atau menekan perkembangan kanker secara invasif yang disebut dengan kemoprevensi kanker (2). Penggunaan senyawa alami untuk kemoprevensi sangat menarik karena keamanannya sehingga dapat dikonsumsi sebagai suplemen makanan (3).

Studi eksperimen dan epidemiologis menunjukkan bahwa senyawa fitokimia yang berasal dari buah-buahan, sayuran dan biji-bijian seperti polifenol dan karotenoid yang dikonsumsi dapat menurunkan insidensi kanker. Pada penelitian terdahulu menunjukkan bahwa individu yang memiliki kadar serum karoten yang tinggi (mengkonsumsi lebih banyak buah dan sayuran

yang tinggi karotenoid) menunjukkan risiko lebih rendah terkena kanker. Selain itu, studi epidemiologi telah menunjukkan bahwa asupan makanan mengandung α -karoten secara signifikan berkorelasi dengan penurunan risiko kanker daripada asupan fitokimia serupa lainnya (4). Oleh karena itu, berbagai senyawa tumbuhan seperti golongan karotenoid dan vitamin E banyak diteliti dan kemungkinan mempunyai aktivitas antikanker.

Salah satu tumbuhan endemik Papua yang eksklusif hanya tumbuh di Indonesia dan banyak diteliti tentang aktivitasnya sebagai agen kemopreventif adalah *Pandanus conoideus* Lam. atau buah merah (5). Buah merah diketahui mengandung senyawa karotenoid dalam kadar tinggi seperti α -karoten, β -karoten, β -cryptoxanthin (6). Selain itu mengandung pula α -tokoferol, asam oleat, asam linoleat, dekanolat, protein, kalsium, vitamin, energi, lemak, dan serat (7).

Adanya potensi tanaman ini sebagai agen kemopreventif diduga karena tingginya kandungan senyawa pigmen alami yaitu β -karoten. Senyawa β -karoten merupakan senyawa pigmen karotenoid dari kelompok terpenoid yang bersifat nonpolar maka perlu dilakukan proses ekstraksi yang tepat untuk mendapatkan ekstrak yang paling baik kandungan β -karotennya. Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas sitotoksik ekstrak buah merah (*Pandanus conoideus* L.) dengan berbagai jenis pelarut ekstraksi, menggunakan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) (8). BSLT merupakan salah satu metode yang banyak digunakan untuk skrining senyawa antikanker baru yang berasal

Masuk 14-12-2022

Revisi 13-08-2023

Diterima 24-08-2023

DOI: 10.20956/mff.v27i2.24537

Korespondensi

Dewi Purwaningsih

dewipurwaningsihkafi@yahoo.com

Copyright

© 2023 Majalah Farmasi

Farmakologi Fakultas Farmasi

Makassar

Diterbitkan tanggal

31 Agustus 2023

Dapat Diakses Daring Pada:

<http://journal.unhas.ac.id/index.php/mff>



dari tanaman. Metode BSLT telah terbukti memiliki korelasi dengan aktivitas antikanker. Metode ini mudah dikerjakan, murah, cepat, dan cukup akurat. Pengamatan dilakukan terhadap tingkat mortalitas larva udang *Artemia salina* Leach, yang disebabkan oleh ekstrak uji. Hasil yang diperoleh dihitung sebagai nilai LC₅₀ (Letal Concentration) ekstrak uji (9).

METODE PENELITIAN

Alat

Timbangan analitik (Mettler Toledo), rotary evaporator (BUCHI R -14,), hot plate magnetic stirer (Thermo), lampu UV 254 dan 366 nm (intralab), vorteks (Thermo scientific), sentrifus (LAB1St), spektrofotometri UV VIS (Hitachi), pipa kapiler (Micro Haematocrit capillary), Chamber KLT (Machery Nagel), aquarium aerator (Leecom).

Bahan

Buah merah (*Pandanus conoideus* L.) dari daerah Manokwari, kuersetin (Merck), beta karoten (Merck), n-heksan (Merck), aseton, kloroform (Merck), air suling (Onemed), DMSO, pereaksi dragendorf, AlCl₃, FeCl₃, H₂SO₄ pekat, Na₂SO₄, larva *Artemia salina*, etanol pro analisis (Merck), garam laut non iodium.

Prosedur Kerja

Preparasi sampel

Buah merah (*Pandanus conoideus* L.) merupakan buah merah yang diperoleh dari daerah Manokwari, Papua Barat, Indonesia. Buah merah dibelah dan dipisahkan dari bagian empulur kemudian dikeringkan di dalam oven simplisia dengan suhu sekitar 40-50°C selama 3 hari.

Ekstraksi

Buah merah yang telah kering dimaserasi dengan 3 jenis pelarut yaitu aseton, kloroform dan heksan dilakukan dengan bantuan pengadukan. Perbandingan sampel dengan pelarut 1:10 (b/v), maserasi dilakukan selama 1 jam dan diaduk dengan pengaduk magnet 300 rpm (10). Hasil maserasi kemudian disaring menggunakan kertas saring dengan bantuan pompa vakum dan diuapkan menggunakan rotary evaporator.

Skринing Fitokimia

Untuk mengidentifikasi kandungan fitokimia, semua ekstrak ditotolkan pada lempeng KLT GF 254 nm dan dielusi menggunakan campuran n-heksana dan aseton sebagai fase gerak dengan perbandingan 8:2 (11).

Identifikasi Alkaloid

Skринing kandungan alkaloid dilakukan dengan menyemprotkan reagen Dragendorf pada noda di lempeng KLT. Lempeng diamati lebih lanjut di bawah UV 365 nm, dan senyawa alkaloid yang muncul sebagai warna orange terang diklasifikasikan sebagai hasil positif (12) dan diamati pada UV 254 nm, visible, dan UV 365 nm sebelum penyemprotan reagen.

Identifikasi Flavonoid

Lempeng KLT hasil elusi, disemprot dengan 5-10 ml reagen aluminium klorida, kemudian dipanaskan selama 3-5 menit pada suhu 110°C. Warna kuning, hijau, atau jingga yang muncul pada UV 365 nm ditentukan sebagai hasil positif senyawa flavonoid (13) diamati pada UV 254 nm (sinar tampak) dan UV 365 nm seperti sebelum penyemprotan reagen.

Identifikasi Fenolik

Dideteksi dengan menyemprot lempeng KLT dengan larutan pereaksi besi III klorida (FeCl₃) 5-10 ml, didiamkan selama 3-5 menit, dan dipanaskan pada suhu 110°C. Hasil positif adalah warna biru kehitaman di bawah cahaya tampak (14) pengamatan noda dilihat pada UV 254 nm, dan UV 365 nm sebelum penyemprotan reagen.

Identifikasi Terpenoid/Steroid

Lempeng KLT yang telah dielusi disemprot dengan asam asetat sekitar 5-10 ml kemudian dipanaskan (110°C) selama 3-5 menit. dan diamati pada UV 254 nm (cahaya tampak) dan UV 365 nm sebelum penyemprotan reagen. Hasil positif ditunjukkan dengan terjadinya warna biru-keunguan atau merah-keunguan, atau coklat-oranye atau biru-oranye di bawah cahaya tampak (15).

Uji sitotoksik BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)

Penyiapan air laut buatan

Penyiapan air laut sebagai media penetasan dilakukan dengan melarutkan 30 g garam laut dalam 1 L (3%) air suling. Setiap partikel padat dihilangkan, melalui penyaringan menggunakan filtrasi vakum. Suspensi ragi dibuat dengan menimbang sekitar 30 mg bubuk ragi kering yang disuspensikan dalam 10 ml air laut buatan sebagai pakan stok untuk larva udang.

Persiapan larva udang *Artemia Salina* Leach.

Sebanyak 500 mg telur *A. salina* disuspensikan dalam 500 ml air laut dalam wadah dengan aerator yang mengalirkan udara di dalam akuarium. Diberikan lampu kuning 10 watt untuk penerangan dan pemanasan ringan di atas akuarium. Setelah 24 jam, telur akan menetas dan siap digunakan untuk uji sitotoksitas dari prosedur modifikasi metode tersebut (16).

Uji Sitotoksik

Dibuat larutan uji dengan konsentrasi 1000 ppm, ekstrak dilarutkan dengan dimetilsulfoksida (DMSO) 10% kemudian ditambahkan dengan air laut sesuai volume yang telah dihitung, lalu dibuat serangkaian konsentrasi 20, 40, 60, 80 dan 100 ppm (17) disiapkan dalam vial yang dikalibrasi selanjutnya ditambahkan dengan 10 ekor larva udang kemudian ditambahkan air laut buatan hingga 10 ml ke dalam vial tersebut (18). Dibuat perlakuan berulang sebanyak 3 kali untuk tiap seri konsentrasi. Semua vial pengujian kemudian disimpan di bawah lampu kuning. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam, LC₅₀ kemudian dihitung, dan persentase kematian diperoleh dengan menggunakan persamaan berikut (19).

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

HASIL DAN PEMBAHASAN

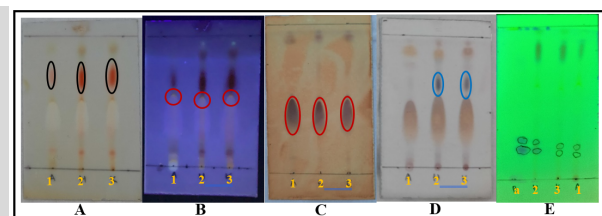
Proses ekstraksi yang dilakukan menggunakan 3 jenis pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda. Persentase rendemen terbesar terdapat pada ekstrak kloroform dan n-heksan dapat dilihat pada tabel 1, dimana buah merah memiliki kandungan utama berupa senyawa beta karoten. Kesesuaian pelarut dengan senyawa kandungan yang akan diekstraksi akan menghasilkan rendemen yang tinggi, dimana komponen polar akan larut dalam pelarut polar, begitu pula dengan komponen nonpolar yang akan dalam pelarut

nonpolar (20). Senyawa karotenoid ini merupakan salah satu pigmen alami utama pada buah merah yang berwarna merah-jingga yang termasuk dalam kelompok terpenoid dan bersifat non polar (karotenoid pada buah merah yaitu α -karoten, β -karoten β -cryptoxanthin) yang memiliki aktivitas antioksidan serta kemampuan sebagai agen kemopreventif pada kanker (21,22).

Tabel 1. Data Organoleptik dan Rendemen Ekstrak

Pelarut	Simplisia kering (g)	Ekstrak kental (g)	% Rendemen	Warna ekstrak
Aseton	100	14,6	14,6 %	Merah-jingga
Kloroform	100	18,14	18,14 %	Merah-jingga
n-Heksan	100	18,09	18,09 %	Merah-jingga

Skrining fitokimia dilakukan lempeng KLT GF254 sebagai fase diam(statis) dengan menggunakan eluen berupa campuran Heksan:Aseton (8:2) untuk fase geraknya. Adanya kandungan alkaloid pada seluruh jenis ekstrak dapat dilihat pada hasil elusi menggunakan metode KLT pada gambar 1.A menunjukkan terbentuknya warna merah setelah penyempotan menggunakan reagen dragendorf dengan nilai Rf rata-rata yaitu 0,67.



Gambar 1. Skrining fitokimia, (A) Dragendorf, visual; (B) AlCl₃, UV 366 nm; (C) FeCl₃, visual; (D) H₂SO₄, visual; (E) Senyawa perbandingan & Ekstrak, UV 254; (1) Ekstrak Aseton; (2) Ekstrak Heksan; (3) Ekstrak Kloroform; (a) Senyawa murni beta karoten

Hasil kromatogram yang terlihat pada gambar 1.B. setelah penyempotan AlCl₃ yang menunjukkan adanya 2 spot noda kuning yang nampak pada pencahayaan lampu UV 366nm pada tiap ekstrak dengan nilai Rf yang sama yaitu 0,55 yang menunjukkan adanya kandungan flavonoid yang sama pada ketiga jenis ekstrak. Terbentuknya spot noda berwarna hitam (Rf = 0,45) setelah penyempotan reagen FeCl₃ merupakan hasil positif dari adanya kandungan senyawa fenolik sedangkan untuk skrining senyawa steroid dapat dilihat pada gambar 1.D. dimana ekstrak heksan dan kloroform memberikan hasil positif setelah penyempotan dengan H₂SO₄ yaitu adanya perubahan warna pada noda menjadi biru kehijauan (Rf = 0,67) sedangkan pada ekstrak aseton tidak nampak. Selain itu, dilakukan pula penapisan dengan perbandingan senyawa murni beta karoten dimana hasil kromatogram menunjukkan adanya noda yang sama di ketiga ekstrak yang menunjukkan adanya kandungan beta karoten pada ketiga jenis ekstrak buah merah. Nilai Rf untuk keseluruhan dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Nilai Retention factor (Rf) dari Hasil KLT Skrining Fitokimia

Senyawa Metabolit Sekunder	Nilai Rf		
	Ekstrak Aseton	Ekstrak Heksan	Ekstrak Kloroform
Alkaloid	0,67	0,67	0,67
Flavonoid	0,55	0,55	0,55
Fenolik	0,3	0,3	0,3
Terpenoid	-	0,67	0,67
Beta karoten	0,15	0,18	0,16
	0,2	0,23	0,2

Berdasarkan gambar 1. Dan tabel 2, dapat terlihat profil kromatogram antara ketiga ekstrak memiliki jumlah spot

noda dan nilai Rf yang relatif sama. Ekstrak dari 3 jenis cairan penyari dengan tingkat kepolaran berbeda dapat menarik senyawa metabolit sekunder yang dimiliki oleh buah merah, namun hasil ekstraksi pelarut aseton tidak memiliki kandungan steroid seperti yang terdapat pada kedua jenis ekstrak lainnya.

Uji aktivitas sitotoksik metode Brine Shrimp Lethality Test dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach. bertujuan untuk melihat daya toksisitas dari ekstrak buah merah, metode ini dapat digunakan sebagai pengujian pendahuluan dalam penapisan senyawa antikanker dari bahan alam yang ditentukan dengan nilai LC₅₀. Nilai LC₅₀ dihitung berdasarkan persentase kematian larva yang dikonversikan dengan nilai probit dimana semakin tinggi tingkat toksisitas metabolit sekunder tanaman tersebut maka nilai LC₅₀ juga semakin kecil. Pengujian sitotoksik dilakukan dengan metode BSLT dengan rangkaian konsentrasi tertentu dimana pada awalnya seri konsentrasi dibuat sama untuk seluruh jenis ekstrak, akan tetapi pada pengujian ekstrak kloroform semua larva mati saat pengamatan 1x24 jam sehingga konsentrasi diturunkan.

Berdasarkan hasil analisis diperoleh nilai LC₅₀ dari ketiga ekstrak berada dalam level < 30ppm dengan kategori sangat toksik (23) dimana ekstrak kloroform memiliki nilai LC₅₀ paling rendah (tabel 3). Toksisitas suatu tanaman menunjukkan kemampuan tanaman tersebut untuk mempertahankan diri dari predator seperti serangga, mikroorganisme, hewan dll. Aktivitas sitotoksik buah merah diduga karena potensi golongan senyawa yang terkandung di dalam ekstrak buah merah, salah satunya yaitu flavonoid yang dapat menghambat daya makan larva (antifeedant) dengan bertindak sebagai stomach poisoning atau racun perut. Oleh karena itu, bila senyawa-senyawa ini masuk ke dalam tubuh larva udang, alat pencernaannya akan terganggu (24). Selain itu, senyawa ini menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva. Hal ini mengakibatkan larva gagal mendapatkan stimulus rasa sehingga tidak mampu mengenali makanannya sehingga larva mati kelaparan.

Tabel 3. Data LC₅₀ Uji Sitotoksik Metode BSLT

Kelompok Uji	Konsentrasi (ppm)	Log Konsentrasi	% Mati	Probit	LC ₅₀ (ppm)
Ekstrak Aseton	20	0,3	50	5,00	25,76
	40	0,6	56,66	5,18	
	60	0,78	60	5,25	
	80	0,9	86,66	6,13	
	100	1	90	6,28	
Ekstrak Heksan	20	0,3	53,33	5,08	19,95
	40	0,6	86,66	6,13	
	60	0,78	96,66	6,75	
	80	0,9	96,66	6,75	
	100	1	100	8,09	
Ekstrak Kloroform	2	0,3	70	5,52	1,28
	4	0,6	96,67	6,75	
	6	0,78	96,67	6,75	
	8	0,9	96,67	6,75	
	10	1	100	8,09	

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas sitotoksik dengan metode BSLT untuk ekstrak aseton, kloroform dan heksan buah merah memiliki LC₅₀ < 30 ppm sehingga termasuk dalam kategori sangat toksik dimana ekstrak kloroform memiliki LC₅₀ paling rendah yaitu 1,28 ppm.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada seluruh pihak yang membantu dalam penelitian ini, terkhusus untuk Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset dan Teknologi yang telah mendanai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- National Cancer Institute (NIH). What is Cancer? [internet]. USA: U.S. Department of Health and Human Services; 2021. Available from: <https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer>
- G. MS, Swetha M, Keerthana CK, Rayginia TP, Anto RJ. Cancer Chemoprevention: A Strategic Approach Using Phytochemicals. *Front Pharmacol.* 2022; 13(12): 1–25. DOI: 10.3389/fphar.2021.809308.
- Crooker K, Aliani R, Ananth M, Arnold L, Anant S, Thomas SM. A Review Of Promising Natural Chemopreventive Agents For Head and Neck Cancer. *Cancer Prev Res.* 2018;11(8): 441–450. DOI: 10.1158/1940-6207.CAPR-17-0419
- G. Zaini R, Brandt K, R. Clench M, L. Le Maitre C. Effects of Bioactive Compounds from Carrots (*Daucus carota* L.), Polyacetylenes, Beta-Carotene and Lutein on Human Lymphoid Leukaemia Cells. *Anticancer Agents Med Chem.* 2012;12(6): 640–652. DOI: 10.2174/187152012800617704
- Renyaaan AWA, Suprayitno E, Aulani'am, Hariati AM. Nutrient content and endemic red fruit oil (*Pandanus austrosinensis*) fatty acid profile in Papua Indonesia. *J Phys Conf Ser.* 2020;1665(1): 1-9. DOI:10.1088/1742-6596/1665/1/012019
- Purnomo TAB, Kurniawan YS, Kesuma RF, Yuliati DL. Selection of Maceration Solvent for Natural Pigment Extraction from Red Fruit (*Pandanus conoideus* Lam). *Indones J Nat Pigment.* 2020; 2(1): 8-12.
- Sirait MS, Warsiki E, Setyaningsih D. Potential of red fruit oil (*Pandanus conoideus* Lam.) as an antioxidant active packaging: A review. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci.* 2021; 749(1):1-11. DOI:10.1088/1755-1315/749/1/012008
- Dhanti KR. Skrining Antikanker Menggunakan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) Pada Ekstrak Metanol Daun Saga (*Abrus precatorius* L.) dengan Partisi Etanol. *Ris Inf Kesehat.* 2018; 7(1): 61. DOI: <https://doi.org/10.30644/rik.v7i1.129>
- Ningdyah AW, Alimuddin AH, Jayuska A. Uji Toksisitas Dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) Terhadap Hasil Fraksinasi Ekstrak Kulit Buah Tampoi (*Baccaurea macrocarpa*). 2015; 4(1): 75–83. ISSN 2303-1077
- Sarungallo ZL. Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Mutu Kimia Dan Komposisi Asam Lemak Minyak Buah Merah (*Pandanus conoideus*). *J Teknol Ind Pertan.* 2014; 24(3):209-217.
- Sangkoyo SPB, Heryanto R, Wijaya H. Ekstraksi Karotenoid dari Minyak Buah Merah (*Pandanus conoideus*) dengan Metode Kromatografi Kolom Kilas. *Repository IPB.* 2019.
- Shami AMM. Isolation and Identification of Alkaloids extracted from Local Plants in Malaysia. *Ann. Chromatogr. Sep. Tech.* 2016; 2(1): 1016. ISSN: 2473-0696
- Mondal S, Rahaman ST. Flavonoids: A vital resource in healthcare and medicine. *Pharm. Pharmacol. Int. J.* 2020; 8:91–104. DOI: 10.15406/ppij.2020.08.00285
- Elgailani IEH, Ishak CY. Methods for Extraction and Characterization of Tannins from Some Acacia Species of Sudan. *Pak. J. Anal. Environ. Chem.* 2016; 17(1):43-49. DOI: 10.21743/pjaec/2016.06.007
- Tugizimana F, Steenkamp PA, Piater LA, Dubery IA. Ergosterol-Induced Sesquiterpenoid Synthesis in Tobacco Cells. *Mol.* 2012; 17(2): 1698-1715. DOI: [org/10.3390/molecules17021698](https://doi.org/10.3390/molecules17021698)
- Omeke JN, Anaga AO, Okoye JA. Brine shrimp lethality and acute toxicity tests of different hydro-methanol extracts of *Anacardium occidentale* using in vitro and In vivo models: A preliminary study. *Comp. Clin. Path.* 2018; 27: 1717-1721. DOI: [org/10.1007/s00580-018-2798-y](https://doi.org/10.1007/s00580-018-2798-y)
- Parra LA, Yhebra SR, Sardinas GI, Buela IL. Comparative study of the assay of *Artemia salina* L. and the estimate of the medium lethal dose (LD50 value) in mice, to determine oral acute toxicity of plant extracts. *J Phytomed.* 2001; 8: 395-400, DOI: [org/10.1078/0944-7113-00044](https://doi.org/10.1078/0944-7113-00044).
- Ajibola OO, Lihan S, Hussaini A, Saat R, Ahmed IA, Abideen, W, Sinang FM, Sing NN, Adeyinka GC. Toxicity Assessment of *Lactococcus lactis* IO-1 Used Coconut Beverages against *Artemia salina* using Brine Shrimp Lethality Tes. *Appl. Food Biotechnol.* 2020; 7(3): 127-134. DOI: [org/10.22037/afb.v7i3.29346](https://doi.org/10.22037/afb.v7i3.29346).
- Hamidi MR, Jovanova B, Panovska TK. Toxicological evaluation of the plant products using Brine Shrimp (*Artemia salina* L.) model, Maced pharm. Bull. 2014; 60(1): 9-18. DOI: 10.33320/maced.pharm.bull.2014.60.01.002.
- Yulianti B. Multi-level extraction of β -carotene from Carrots with Hexane and Petroleum Ether Solvents. 2014 (Gorontalo: Gorontalo University)
- Wulansari D, Wawo AH, Agusta A. Carotenoid content of five accessions red fruit (*Pandanus conoideus* Lam.) oil. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci.* 2020; 591(1):
- Tanaka T, Shnimizu M, Moriwak H. Cancer Chemoprevention by Carotenoids. *Molecules.* 2012; 17: 3202-3242. DOI:10.3390/molecules17033202
- Prasetyaningrum PW, Bahtiar A, Hayun. Synthesis and Cytotoxicity Evaluation of Novel Asymmetrical Mono-Carbonyl Analogs of Curcumin (AMACs) against Vero, HeLa, and MCF7 Cell Lines. *Sci. Pharm.* 2018; 86(25). DOI:10.3390/scipharm86020025
- Kurniawan H, Ropiqa M. Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Ekor Kucing (*Acalypha hispida* Burm.f.) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Journal Syifa Sciences and Clinical Research.* 2021; 3(2):52-62. E-ISSN: 2656-9612

Sitasi artikel ini: Purwaningsih D, Azwar ARM, Marwati. Skrining Antikanker Ekstrak Buah Merah (*Pandanus conoideus* L.) dengan Variasi Cairan Penyari menggunakan Metode BSLT (*Brine Shrimp Letality Test*) MFF 2023;27(2):39-42