

Uji Awal Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Benalu Jati *Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq. Sebagai Kandidat Antikanker Menggunakan Metode BSLT

Eva Johannes^{1*}, Sjafaraenan¹, Wilda Auliah Febriani¹, Mustika Tuwo¹

¹Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Hasanuddin, Makassar 90245, Indonesia

*Email: evajohannes@gmail.com

Abstrak

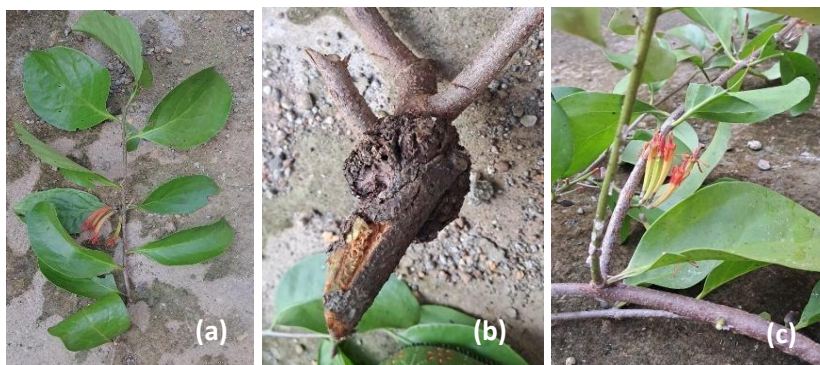
Benalu *Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq. yang tumbuh pada pohon jati dikenal dalam pengobatan tradisional memiliki potensi sebagai antikanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas sitotoksik dari ekstrak etanol daun benalu jati sebagai kandidat antikanker dengan menggunakan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Daun benalu dikeringkan, diekstraksi menggunakan pelarut etanol 96%, dan diuji terhadap larva *Artemia salina* untuk menilai tingkat toksisitas awal. Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak memiliki nilai LC_{50} sebesar XXX $\mu\text{g/mL}$, yang menunjukkan potensi toksik yang signifikan terhadap larva uji. Semakin rendah nilai LC_{50} , semakin tinggi potensi sitotoksik yang dimiliki oleh ekstrak tersebut. Uji BSLT digunakan sebagai pendekatan awal untuk menyaring senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai antikanker sebelum dilakukan pengujian lebih lanjut pada sel kanker manusia. Penelitian ini mendukung pemanfaatan *D. pentandra* sebagai sumber kandidat senyawa alami antikanker dan menjadi dasar untuk studi lanjutan, termasuk isolasi senyawa aktif dan uji *in vitro* terhadap sel kanker spesifik. Hasil ini juga menegaskan pentingnya eksplorasi tumbuhan parasit yang sering diabaikan sebagai sumber daya bioaktif yang potensial.

Kata kunci: Antikanker, BSLT, *Dendrophthoe pentandra*, senyawa bioaktif, sitotoksik

PENDAHULUAN

Benalu *Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq. merupakan salah satu tumbuhan semi-parasit dari famili Loranthaceae yang tersebar luas di daerah tropis, termasuk Indonesia. Tumbuhan ini dikenal mampu melakukan fotosintesis secara mandiri, meskipun memperoleh nutrisi dari pohon inangnya melalui haustorium. Dalam ekosistem tropis, benalu sering dianggap sebagai tumbuhan pengganggu karena kemampuannya menyerap unsur hara dari tanaman inang (Muche *et al.*, 2022). Namun, perspektif ini mulai bergeser seiring meningkatnya bukti ilmiah mengenai kandungan metabolit

sekundernya yang bermanfaat bagi kesehatan manusia. Secara etnofarmakologis, masyarakat Indonesia telah lama memanfaatkan benalu sebagai obat tradisional untuk berbagai penyakit. Kandungan senyawa bioaktif seperti flavonoid, fenol, saponin, tanin, dan alkaloid menjadikan benalu sebagai kandidat potensial dalam pengembangan obat herbal modern (Borkar *et al.*, 2022). Senyawa-senyawa ini diketahui memiliki aktivitas farmakologis yang luas, mulai dari antioksidan hingga antikanker (Wang *et al.*, 2023). Salah satu spesies benalu yang menonjol dalam penelitian fitokimia adalah *D. pentandra* terutama ketika tumbuh pada pohon jati *Tectona grandis* (Awang *et al.*, 2023). Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa benalu yang tumbuh pada jati mengandung total fenolik dan flavonoid tertinggi dibandingkan dengan inang lainnya seperti kopi dan sengon. Hal ini disebabkan oleh komposisi metabolit dan asam amino esensial pada jati yang mampu meningkatkan aktivitas metabolik dan pertumbuhan benalu (Pozdnyakov *et al.*, 2023). Menariknya, interaksi antara benalu dan jati tidak sepenuhnya merugikan pohon inang. Studi oleh Muttaqin Zainal *et al.*, (2021) menunjukkan bahwa pohon jati yang ditemplei benalu memiliki ketahanan lebih tinggi terhadap serangan hama dibandingkan yang tidak. Fenomena ini mengindikasikan adanya simbiosis mutualistik yang dapat menguntungkan kedua belah pihak. Di sisi lain, fakta bahwa benalu mampu menyerap dan mengakumulasi senyawa fenolik dari inangnya memperkuat hipotesis bahwa aktivitas farmakologis benalu berkaitan erat dengan spesies pohon inangnya (Hanousek *et al.*, 2024).



Gambar 1. (a) Daun; (b) Bonggol dan Batang; (c) Bunga.

Dalam konteks pengobatan modern, kanker masih menjadi masalah kesehatan utama secara global. Berdasarkan data WHO (2019), kanker serviks merupakan kanker terbanyak kedua yang menyerang wanita Indonesia. Terapi konvensional seperti kemoterapi dan radioterapi memiliki sejumlah keterbatasan, termasuk resistensi obat dan efek samping sistemik yang berat (Anand *et al.*, 2023). Oleh karena itu, pencarian sumber senyawa antikanker alami yang efektif dan aman menjadi agenda penting dalam riset kesehatan global. Salah satu pendekatan awal dalam menyaring potensi senyawa antikanker dari bahan alam adalah melalui metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) (Aksono *et al.*, 2022). Uji ini digunakan sebagai metode toksisitas awal yang sederhana, murah, dan cukup akurat untuk mendeteksi senyawa-senyawa sitotoksik. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas sitotoksik dari ekstrak etanol daun benalu jati *D. pentandra* sebagai kandidat antikanker menggunakan metode BSLT, sebagai dasar untuk studi lebih lanjut dalam pengembangan obat herbal antikanker berbasis tanaman tropis. Selain menjadi bagian dari pengobatan tradisional, benalu juga mulai menarik perhatian dalam penelitian ilmiah modern, khususnya dalam bidang farmasi dan bioteknologi. Beberapa studi menunjukkan bahwa ekstrak benalu dari berbagai spesies memiliki efek antiproliferasi pada berbagai sel kanker, seperti *Scurrula atropurpurea* pada sel HeLa dan T47D (Awang *et al.*, 2023). Hal ini menunjukkan bahwa senyawa aktif dalam benalu dapat berperan dalam mekanisme apoptosis sel kanker dan penghambatan proliferasi (Majeed *et al.*, 2021). Sejalan dengan itu, penelitian

terhadap benalu *D. pentandra* yang tumbuh pada jati menjadi penting, karena potensi kandungan senyawa bioaktif yang lebih tinggi dibandingkan inang lain. Penelitian ini juga sejalan dengan upaya pencapaian tujuan pembangunan berkelanjutan *Sustainable Development Goals/ SDGs*, khususnya poin ke-3 yaitu kehidupan sehat dan sejahtera, dengan mendorong pengembangan obat berbasis bahan alam yang aman dan terjangkau. Di sisi lain, pemanfaatan benalu sebagai sumber fitofarmaka juga mendukung poin ke-15 *SDGs* mengenai melindungi, memulihkan, dan meningkatkan ekosistem daratan, dengan menjadikan biodiversitas tropis sebagai bagian dari solusi kesehatan berkelanjutan (Mahaveerchand & Abdul Salam, 2024). Dengan demikian, studi ini tidak hanya penting secara ilmiah, tetapi juga memiliki nilai strategis dalam pembangunan kesehatan masyarakat berbasis potensi lokal.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini mencakup timbangan analitik (Ohaus), *rotary evaporator*, gelas erlenmeyer, corong kaca, cawan porselen, batang pengaduk, kertas saring, aluminium foil, tabung konikal (Conical tube, Nunclon), tabung ependorf, rak tabung reaksi, beaker glass (Pyrex), botol vial, kuvet, serta inkubator (Heraeus). Selain itu, digunakan juga *Laminar Air Flow Cabinet* (Gelman Sciences) untuk proses sterilisasi dan dua instrumen analisis utama, yaitu spektrofotometer UV-Vis dan spektrofotometer infra merah (IR) Shimadzu IRTracer-100.

Bahan utama yang digunakan adalah daun benalu jati *Dendrophoe pentandra* (L.) Miq. yang diambil dari pohon inang *Tectona grandis*, serta larva *Artemia salina* Leach yang digunakan sebagai organisme uji dalam metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Pelarut dan reagen yang digunakan antara lain n-heksana, dimetil sulfoksida (DMSO), akuades, akuabides, serta berbagai pereaksi fitokimia seperti pereaksi Mayer, pereaksi Liebermann-Burchard, larutan FeCl_3 5%, pereaksi Wagner, pereaksi Dragendorff, asam sulfat (H_2SO_4) 10% dan pekat, natrium klorida (NaCl) murni. Untuk kebutuhan kromatografi digunakan silika gel G60 (230–400 mesh) dan silika gel G60 PF254 (Merck; nomor katalog 7730, 7733, dan 7734).

Prosedur Penelitian

a. Pengambilan sampel

Sampel benalu *Dendrophoe pentandra* (L.) Miq. berasal dari Bulukumba Sulawesi Selatan diambil sebanyak 100 g. Bagian benalu yang digunakan yaitu daun muda.

b. Preparasi sampel

Sampel daun benalu dibersihkan dengan menggunakan air mengalir. Kemudian dikeringkan dengan menggunakan oven sampai berat awal sebelum dicuci konstan dengan berat setelah dibersihkan. Lalu dijadikan serbuk simplisia.

c. Pembuatan ekstrak n-heksana daun benalu

Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi bertingkat menggunakan pelarut n-heksana. Serbuk daun benalu *Dendrophoe pentandra* (L.) Miq. Sebanyak 100 g dimaserasi dengan pelarut n-heksan selama 2 x 24 jam, kemudian disaring. Residu dimaserasi kembali selama 24 jam dan disaring, lalu filtrat diuapkan menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak n-heksan.

Uji Fitokimia

Senyawa metabolit sekunder dari ekstrak n-heksan benalu jati *Dendrophoe pentandra* (L.) Miq. konsentrasi 100% dikelompokkan menjadi enam kelompok dengan tiga kali pengukuran untuk setiap kelompok.

a. Uji flavonoid

Sampel sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam 2 tabung berbeda. Tabung 1 ditambahkan beberapa tetes $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 1% (hasil uji positif ditandai dengan timbulnya endapan kuning). Tabung 2 ditambahkan 0.5 g serbuk magnesium (Mg) dan ditetesi 3 (HCl) (p) dikocok kuat.

Kemudian dilakukan pengamatan terhadap perubahan warna yang terjadi. Reaksi positif uji flavonoid jika terjadi perubahan warna jingga, merah atau kuning.

b. Uji alkaloid

Sampel sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam 2 tabung berbeda. Tabung 1 ditambahkan 3 tetes reagen Mayer (hasil uji positif ditandai dengan timbulnya endapan berwarna krim kekuningan). Tabung 2 ditambahkan 3 tetes reagen Dragendorff, hasil uji positif ditandai dengan timbulnya endapan berwarna jingga/ merah/ kuning. Jika pada penambahan reagen Dragendorff terbentuk endapan jingga atau kuning merah-kuning hal tersebut menunjukkan adanya senyawa alkaloid.

c. Uji steroid atau triterpenoid

Sampel sebanyak 1 ml ditambahkan 0.5 ml reagen liberman buchard (10 tetes anhidrida asetat dan 3 tetes asam sulfat pekat) dan didiamkan selama 5 menit (hasil uji positif ditandai dengan perubahan warna merah/ ungu untuk triterpenoid dan perubahan warna hijau/ biru untuk steroid).

d. Karakterisasi dengan spektrofotometer FTIR

Sampel ekstrak *Dendrophloe pentandra* yang semula berbentuk pasta kental terlebih dahulu dikeringkan hingga berubah menjadi bentuk serbuk halus. Setelah itu, dilakukan analisis gugus fungsi menggunakan spektrofotometer *Fourier Transform Infrared* (FT-IR). Sebanyak 0.4 g serbuk sampel dicampurkan dengan 10 g kalium bromida (KBr) murni, kemudian digerus secara merata hingga homogen. Campuran tersebut lalu dicetak menjadi pelat tipis transparan menggunakan alat penekan tablet (pellet press). Pelat transparan yang dihasilkan kemudian dimasukkan ke dalam pan sampel pada instrumen FT-IR. Spektrum inframerah diukur dalam rentang bilangan gelombang 400–4,000 cm^{-1} . Hasil analisis ditampilkan dalam bentuk kromatogram berupa spektrum yang menunjukkan hubungan antara bilangan gelombang dengan persen transmitansi. Data spektrum ini kemudian digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi senyawa kimia yang terkandung dalam sampel berdasarkan puncak-puncak serapan yang muncul.

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

Uji toksisitas terhadap ekstrak *Dendrophloe pentandra* dilakukan menggunakan metode BSLT. Sampel ekstrak n-heksan difraksinasi menjadi tiga konsentrasi yaitu 100 $\mu\text{g/mL}$, 10 $\mu\text{g/mL}$, dan 1 $\mu\text{g/mL}$, kemudian masing-masing konsentrasi dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berbeda. Selanjutnya, ke dalam setiap tabung ditambahkan larutan air laut steril yang mengandung 10 larva *Artemia salina*, hingga mencapai volume akhir 5 mL. Tabung-tabung tersebut kemudian diinkubasi selama 24 jam di bawah pencahayaan yang cukup. Setelah periode inkubasi, jumlah larva yang hidup dan mati dihitung dengan bantuan kaca pembesar. Data kematian larva dari setiap konsentrasi digunakan untuk menentukan nilai LC_{50} (*Lethal Concentration 50%*) menggunakan metode Bliss yang dianalisis melalui pendekatan statistik probit. Nilai LC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) yang diperoleh kemudian diklasifikasikan berdasarkan kriteria tingkat toksisitas yang tercantum pada Tabel 1.

Tabel 1. Klasifikasi Nilai Toksisitas LC_{50}

Nilai LC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	Toksisitas
< 20	Sangat Toksik
20 – 100	Toksik
100 – 500	Sedang
500 – 1000	Lemah
> 1000	Tidak Toksik

Pengolahan dan Analisis Data

Data hasil penelitian akan diolah dan disajikan dalam bentuk tabel serta grafik untuk memudahkan interpretasi. Analisis toksisitas dilakukan menggunakan metode statistik probit analysis. Jumlah larva *Artemia salina* yang mati pada masing-masing konsentrasi ekstrak dihitung, kemudian

dikonversikan menjadi persentase kematian menggunakan rumus yang ditunjukkan pada persamaan berikut:

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

Selanjutnya, data persentase kematian diplotkan terhadap logaritma konsentrasi ekstrak untuk membentuk kurva regresi linier. Persamaan regresi yang diperoleh berbentuk $y = ax + b$, di mana a merupakan kemiringan garis (slope) dan b adalah titik potong dengan sumbu y (intercept). Nilai LC_{50} (Lethal Concentration 50%) dihitung berdasarkan titik pada kurva regresi yang menghasilkan persentase kematian sebesar 50%. Dalam hal ini, nilai LC_{50} diperoleh dari substitusi nilai y sebesar 50 ke dalam persamaan regresi, dengan sumbu x mewakili log konsentrasi ekstrak (ppm) dan sumbu y mewakili persentase kematian (inhibisi). Nilai ini digunakan untuk menentukan potensi toksik dan prospek ekstrak sebagai kandidat antikanker.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Daun Benalu Jati

Pada penelitian ini, proses ekstraksi dilakukan terhadap daun benalu jati *Dendrophoe pentandra* (L.) Miq. dengan total hasil ekstrak sebesar 79 g. Sebelum dilakukan proses ekstraksi, daun benalu terlebih dahulu dikeringkan untuk menurunkan kadar air, sehingga meminimalkan degradasi senyawa aktif dan mencegah pertumbuhan mikroorganisme. Menurut Chibuye *et al.*, (2023), proses pengeringan simplisia yang optimal akan meningkatkan kemurnian dan kualitas ekstrak yang diperoleh. Pemilihan n-heksana sebagai pelarut didasarkan pada sifatnya yang volatil, stabil, dan selektif dalam melarutkan senyawa non-polar. Menurut Gil-Martín *et al.*, (2022), pelarut yang baik untuk ekstraksi harus mampu mengekstrak senyawa target secara selektif tanpa melarutkan kontaminan atau senyawa pengganggu lainnya. Tingkat kepolaran pelarut sangat menentukan jenis dan jumlah senyawa bioaktif yang dapat diekstrak, sehingga mempengaruhi efektivitas ekstrak dalam pengujian toksisitas maupun aktivitas farmakologis lainnya.

Uji Fitokimia

Skrining fitokimia terhadap ekstrak n-heksan daun benalu jati *Dendrophoe pentandra* (L.) Miq. merupakan tahap awal yang penting dalam penelitian fitokimia. Tujuan utamanya adalah untuk mengidentifikasi secara kualitatif keberadaan senyawa metabolit sekunder serta mengevaluasi kecocokan jenis pelarut dalam mengekstraksi senyawa-senyawa tersebut (Herawati *et al.*, 2021). Proses skrining dilakukan setelah ekstraksi selesai, untuk mengetahui jenis senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak. Pada penelitian ini, uji fitokimia dilakukan terhadap tiga kelompok senyawa utama, yaitu flavonoid, alkaloid, dan steroid/triterpenoid. Ketiga parameter ini dipilih karena senyawa-senyawa tersebut dikenal memiliki aktivitas biologis yang signifikan, termasuk sebagai antioksidan dan antikanker. Berdasarkan hasil uji fitokimia yang dilakukan terhadap ekstrak n-heksan *Dendrophoe pentandra* (L.) Miq., diperoleh data sebagai berikut:



Gambar 2. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak n-Heksan Daun Benalu jati *Dendrophoe pentandra* (L.) Miq. (a) Flavonoid; (b) Alkaloid; (c) Steroid/ triterpenoid

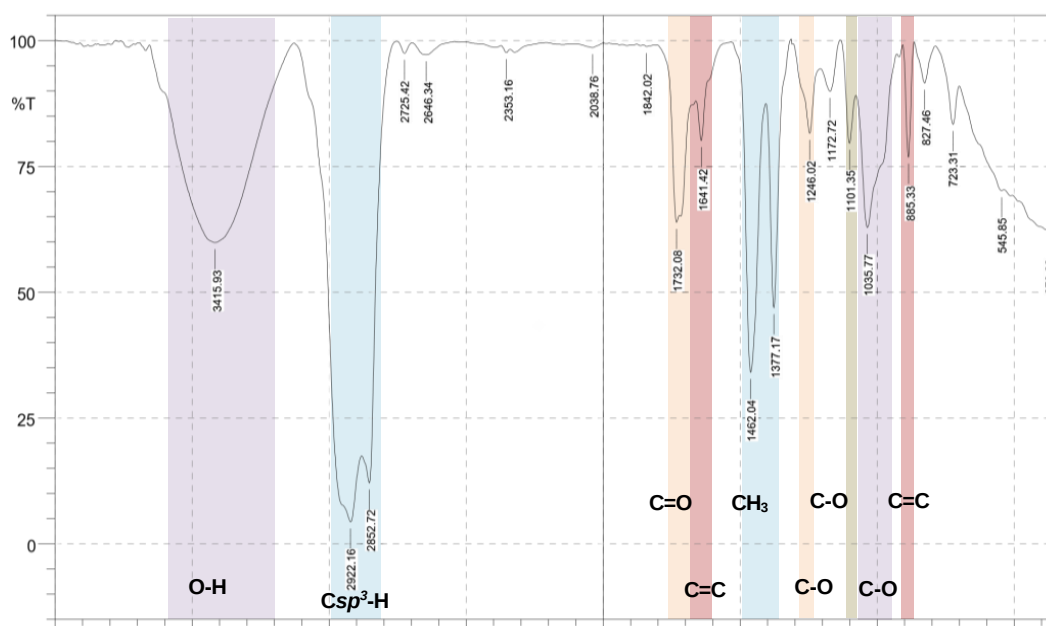
Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak n-heksan daun benalu jati positif mengandung senyawa flavonoid dan alkaloid, namun negatif terhadap senyawa steroid dan triterpenoid. Keberadaan senyawa flavonoid dalam ekstrak ditunjukkan oleh terbentuknya warna kuning saat dilakukan uji Wiltster. Uji ini dilakukan dengan menambahkan magnesium dan asam klorida pekat (HCl) ke dalam sampel. Asam klorida berperan dalam menghidrolisis senyawa flavonoid menjadi bentuk aglikon dengan cara memutus ikatan glikosidik, sementara logam magnesium membantu membentuk kompleks berwarna antara flavonoid dan ion H^+ , menghasilkan warna khas seperti kuning, jingga, atau merah. Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang tersusun atas kerangka flavan dan banyak mengandung gugus hidroksil (-OH), serta diketahui memiliki berbagai aktivitas biologis seperti antioksidan dan antikanker. Pratama, dkk., (2021) melaporkan bahwa fraksi n-heksan daun benalu dari spesies Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang tersusun atas kerangka flavan dan banyak mengandung gugus hidroksil (-OH), serta diketahui memiliki berbagai aktivitas biologis seperti antioksidan dan antikanker. Loranthaceae, termasuk *Scurrula ferruginea*, mengandung flavonoid yang berfungsi sebagai penangkap radikal bebas. Temuan ini konsisten dengan Suhendy, dkk., (2019), yang menyatakan bahwa flavonoid dapat berperan dalam kemoprevensi dan kemoterapi kanker melalui mekanisme penghambatan jalur sinyal protein kinase serta aktivasi apoptosis berbasis fragmentasi DNA akibat stres oksidatif yang diinduksi oleh Reactive Oxygen Species (ROS).

Uji alkaloid menunjukkan hasil positif ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna merah kecoklatan saat ekstrak direaksikan dengan pereaksi Dragendorff. Alkaloid adalah senyawa organik yang bersifat basa dan mengandung atom nitrogen, yang umumnya terdapat dalam bentuk siklik. Dalam reaksi ini, atom nitrogen dari alkaloid berikatan dengan ion kalium dari kalium tetraiodobismutat, membentuk endapan kompleks alkaloid–bismutat. Temuan ini sejalan dengan laporan Tamunu, dkk., (2022), yang menemukan kandungan alkaloid dalam ekstrak daun benalu *Dendrophoe pentandra* (L.) Miq. yang tumbuh pada pohon kersen, walaupun menggunakan pelarut n-heksan. Hal ini dimungkinkan karena kepolaran n-heksan yang masih mampu mengekstrak senyawa alkaloid non-polar tertentu. Uji terhadap senyawa steroid dan triterpenoid menunjukkan hasil negatif. Hal ini ditandai dengan tidak terbentuknya warna merah kecoklatan (untuk steroid) atau ungu kecoklatan (untuk triterpenoid) pada uji Liebermann-Burchard. Reagen Liebermann-Burchard yang terdiri dari campuran asam asetat anhidrat dan H_2SO_4 pekat digunakan untuk mengidentifikasi keberadaan inti sikloalkana pada steroid maupun kerangka karbon C_{30} pada triterpenoid. Ketidakterbentukan warna spesifik pada uji ini menunjukkan tidak terdeteksinya kedua senyawa tersebut dalam ekstrak n-heksan. Perbedaan hasil ini dibandingkan dengan penelitian Alharits *et al.*, (2019) yang menyatakan bahwa daun dan bunga

Dendrophoe pentandra (L.) Miq. mengandung flavonoid, alkaloid, terpenoid, saponin, dan senyawa fenolik, dapat disebabkan oleh perbedaan lokasi tumbuh dan jenis inang tanaman. Faktor lingkungan dan substrat tempat tumbuh tanaman diketahui dapat memengaruhi biosintesis metabolit sekunder. Secara keseluruhan, hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak n-heksan daun benalu jati *Dendrophoe pentandra* (L.) Miq. mengandung dua golongan senyawa aktif utama, yaitu flavonoid dan alkaloid, yang memiliki potensi besar sebagai agen bioaktif, termasuk dalam pengembangan agen antikanker.

Karakterisasi dengan Spektrofotometer FTIR

Tujuan dari karakterisasi senyawa adalah untuk mengidentifikasi jenis-jenis senyawa kimia yang terkandung dalam sampel, khususnya melalui penentuan gugus fungsi yang menyusunnya. Salah satu parameter yang digunakan dalam proses karakterisasi ini adalah spektroskopi Fourier Transform Infrared (FTIR). Menurut Baharuddin *et al.*, (2012), FTIR merupakan instrumen analisis yang penting untuk mengidentifikasi gugus-gugus fungsi dalam suatu senyawa berdasarkan vibrasi spesifik dari ikatan-ikatan kimia yang dimilikinya. Spektrum yang dihasilkan oleh FTIR menggambarkan pola vibrasi molekul, seperti peregangan (stretching) dan pembengkokan (bending), yang terjadi ketika molekul menyerap energi inframerah pada panjang gelombang tertentu. Analisis FTIR pada penelitian ini dilakukan pada rentang gelombang antara 4,500 hingga 500 cm^{-1} , yang mencakup pita-pita serapan khas untuk berbagai gugus fungsi, seperti -OH, -NH, -CH, C=O, C=C, dan lainnya. Dengan demikian, teknik ini dapat digunakan sebagai dasar awal untuk mengidentifikasi struktur kimia dari senyawa dalam sampel.



Gambar 3. Spektrum FTIR Ekstrak n-Heksan.

Spektrum FT-IR dari ekstrak n-heksan daun *Dendrophoe pentandra* (L.) Miq. menunjukkan keberadaan berbagai gugus fungsi yang teridentifikasi melalui pita-pita serapan khas pada bilangan gelombang tertentu. Salah satu ciri utama yang teramati adalah vibrasi ikatan O-H, yang ditunjukkan oleh pita serapan lebar dengan intensitas sedang hingga kuat pada bilangan gelombang 3,415 cm^{-1} . Pita ini mengindikasikan keberadaan gugus hidroksil (OH), yang kemungkinan besar berasal dari senyawa golongan alkohol. Indikasi ini diperkuat dengan munculnya vibrasi ikatan C-O alkohol pada 1,035 cm^{-1} .

Selain itu, spektrum juga memperlihatkan adanya gugus alkana, yang dikenali dari vibrasi ikatan Csp³-H pada bilangan gelombang 2,922 dan 2,852 cm⁻¹, serta pita serapan khas CH₃ yang muncul pada 1,462 dan 1,377 cm⁻¹. Pita-pita ini memiliki bentuk tajam dan intensitas sedang hingga kuat, menunjukkan adanya senyawa jenuh seperti alkana dalam ekstrak. Pita serapan tajam pada bilangan gelombang 1,732 cm⁻¹ menunjukkan adanya vibrasi gugus karbonil (C=O), yang kemungkinan berasal dari senyawa ester. Indikasi ini didukung oleh vibrasi ikatan C-O ester yang muncul pada 1,246 cm⁻¹. Selain itu, gugus olefin atau alkena juga teridentifikasi melalui pita serapan pada 1,641 cm⁻¹ (vibrasi ikatan C=C) dan 885 cm⁻¹ (indikasi trisubstitusi alkena). Pita serapan lain yang muncul pada 1,101 cm⁻¹ mengindikasikan keberadaan ikatan C-O dari gugus eter. Semua bilangan gelombang ini dirangkum dan diinterpretasikan dalam Tabel 4, sebagai pendukung dari Gambar 3.

Secara keseluruhan, hasil FT-IR dari ekstrak n-heksan menunjukkan keberadaan gugus fungsi O-H (alkohol), C-O (alkohol dan ester), C=O (ester), C=C (olefin), C-H (alkana, termasuk CH₃ dan CH₂), dan C-O (eter). Keberadaan gugus-gugus ini konsisten dengan senyawa-senyawa golongan flavonoid dan alkaloid. Adanya gugus ausokrom (seperti -OH, C-N, -NH, dan C-O) serta kromofor (seperti C=O dan C=C) pada spektrum FTIR merupakan indikator keberadaan flavonoid dan alkaloid. Pada ekstrak n-heksan *Dendrophthoe falcata* (L.f) Ettingsh. terdeteksi gugus N-H pada bilangan gelombang 3,550.95 cm⁻¹ sebagai ciri khas alkaloid, serta gugus C=C terkonjugasi, CH₃, CH₂, dan C-N. Dengan demikian, hasil karakterisasi FT-IR ini memperkuat temuan dari uji fitokimia yang menunjukkan bahwa ekstrak n-heksan daun benalu jati *Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq. mengandung senyawa flavonoid dan alkaloid. Kombinasi dari kedua analisis ini memberikan bukti yang konsisten mengenai keberadaan metabolit sekunder bioaktif dalam ekstrak yang diteliti.

Uji Toksisitas dengan Metode BSLT

Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) merupakan uji pendahuluan untuk menilai aktivitas toksik senyawa metabolit sekunder, yang menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach sebagai hewan uji. Uji ini adalah metode sederhana untuk mengukur letalitas, meskipun tidak secara spesifik menguji aktivitas tumor atau kanker. Namun, BSLT merupakan indikator toksisitas yang baik dan telah menunjukkan korelasi yang kuat dengan uji antikanker atau antitumor lainnya. Penggunaan larva *Artemia salina* Leach dalam skrining awal anti-kanker sangat efektif karena prosesnya yang cepat, mudah, dan dapat digunakan sebagai bioassay untuk mendeteksi senyawa toksik dalam ekstrak tumbuhan. Selain itu, larva *Artemia salina* Leach memiliki sensitivitas tinggi terhadap perubahan kondisi lingkungan dan kontaminasi bahan kimia di sekitarnya. Proses penetasan telur larva *Artemia salina* Leach membutuhkan waktu sekitar 24 jam, dengan penggunaan aerator sebagai sumber oksigen dan pencahayaan lampu untuk merangsang proses penetasan. Larva kemudian bergerak menuju ruang terang karena sifat fotoaksis yang dimilikinya (Norhaslinda, dkk., 2023).

Tabel 2. Hasil Pengamatan Kematian Larva *Artemia salina* Leach. Setelah 24 jam Perlakuan

Konsentrasi (ppm)	Jumlah Kematian Larva Tiap Ulangan			Total Kematian Larva	Jumlah Larva Uji Tiap Ulangan	Total Larva Uji/ Konsentrasi	Rerata Persentase Kematian (%)
	U1	U2	U3				
1	1	1	0	2	10	30	7
10	2	2	2	6	10	30	20
100	8	6	6	20	10	30	67

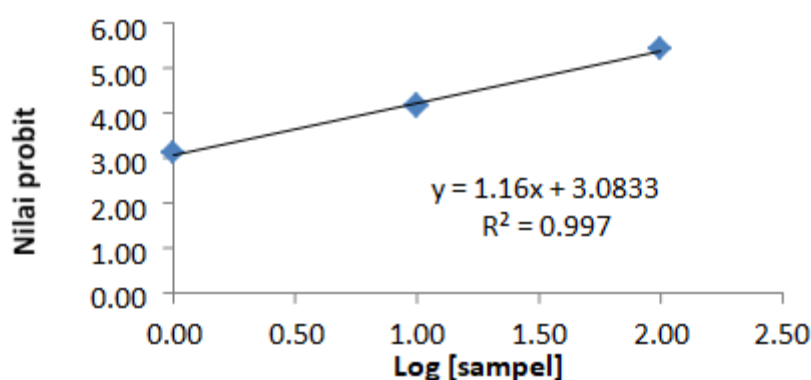
Tabel 2 menunjukkan hasil pengamatan kematian larva *Artemia salina* L. setelah 24 jam perlakuan dengan tiga kali pengulangan pada setiap konsentrasi. Pada konsentrasi 1 ppm, ulangan I dan II masing-masing menunjukkan kematian 1 larva dari 10 larva uji, sementara ulangan III tidak menunjukkan kematian larva. Total kematian pada konsentrasi ini adalah 2 larva, dengan rata-rata persentase kematian sebesar 7%. Pada konsentrasi 10 ppm, ulangan I, II, dan III menunjukkan kematian

masing-masing 2 larva dari 10 larva uji, sehingga total kematian mencapai 6 larva, dengan rata-rata persentase kematian sebesar 20%. Pada konsentrasi 100 ppm, ulangan I menunjukkan kematian 8 larva dari 10 larva uji, sementara ulangan II dan III masing-masing menunjukkan kematian 6 larva. Total kematian pada konsentrasi ini adalah 20 larva, dengan rata-rata persentase kematian sebesar 57%. Hasil pengamatan tersebut menunjukkan bahwa pada konsentrasi 100 ppm, ekstrak n-heksan dapat memberikan efek toksisitas yang signifikan. Pada konsentrasi ini, persentase kematian larva mencapai 67%, yang membuktikan bahwa ekstrak n-Heksan *Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq. memiliki efek toksik yang dapat mematikan lebih dari 50% populasi larva. Pengaruh konsentrasi ekstrak n-heksan terhadap kematian larva *Artemia salina* Leach menunjukkan bahwa persentase kematian terendah terjadi pada konsentrasi 1 µg/mL, sedangkan persentase kematian tertinggi terdapat pada konsentrasi 100 µg/mL. Data ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak n-heksan yang diberikan, semakin besar pula efek toksik yang terjadi pada larva. Hal ini sejalan dengan teori bahwa semakin besar konsentrasi sampel yang diberikan, semakin besar pula efek toksiknya terhadap organisme uji (Ulya *et al.*, 2022).

Tabel 3. Pengaruh Konsentrasi Senyawa Uji Terhadap Kematian Larva *Artemia salina* Leach.

Konsentrasi Senyawa Uji (ppm)	Logaritma Konsentrasi (X)	Persentase Kematian Larva (%)	Nilai Probit (Y)
1	0.00	7	3.12
10	1.00	20	4.17
100	2.00	67	5.44

Nilai LC_{50} dijadikan sebagai tolak ukur dalam menentukan kriteria efek toksik yang diberikan pada hewan uji. Ada berbagai jenis metode yang digunakan untuk menghitung nilai LC_{50} , metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode analisis probit. Metode analisis probit digunakan untuk memodelkan respon biologis terhadap dosisi zat kimia, dan dapat memberikan perkiraan yang akurat tentang nilai LC_{50} berdasarkan distribusi probit dari respon tersebut. Selain itu, data juga diolah menggunakan Microsoft excel dengan grafik linear hubungan antara nilai probit dan log konsentrasi. Grafik tersebut memberikan data persamaan $Y=ax+b$ dengan y sebagai nilai probit dan x sebagai log konsentrasi. Nilai R^2 untuk mengukur sejauh mana suatu variable berkorelasi. Dari tabel 3 dapat ditarik garis lurus persamaan $y=ax+b$ sehingga didapatkan grafik linear seperti di bawah ini :



Gambar 4. Grafik Hubungan Log Konsentrasi dengan Probit Kematian Larva.

Berdasarkan grafik regresi linear di atas, diperoleh persamaan garis lurus $y = ax + b$, dengan nilai $y = 5$, $a = 1.16$, $b = 3.0833$, dan antilog sebesar 1.6523. Dari perhitungan ini, nilai LC_{50} yang diperoleh adalah 44.91 ppm. Menurut Susanty *et al.*, (2023), sebaran toksisitas berdasarkan nilai LC_{50} dapat dikategorikan yaitu < 20 ppm sangat toksik, 20-100 ppm toksik, 100-500 ppm toksisitas sedang,

dan > 1000 ppm tidak toksik. Pengujian terhadap ekstrak n-heksan daun benalu jati *Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq. menunjukkan nilai LC₅₀ sebesar 44.91 ppm, yang mengindikasikan bahwa ekstrak tersebut memiliki aktivitas toksik, sehingga berpotensi sebagai kandidat antikanker. Hasil ini sejalan dengan penelitian Ulya, dkk., (2019) yang menunjukkan bahwa partisi n-heksan terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan nilai LC₅₀ < 1000 µg/mL dikategorikan sebagai toksik. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa partisi n-heksan dari benalu *Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq. pada penelitian ini bersifat toksik dan berpotensi sebagai anti kanker menurut metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Hasil penelitian Maulida, dkk., (2016) menunjukkan bahwa uji toksisitas dengan metode BSLT memiliki nilai toksisitas sebesar 256.455 ppm yang mengindikasikan bahwa pada konsentrasi tersebut, ekstrak n-heksan benalu *Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq. mampu mematikan 50% populasi larva udang.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, diperoleh kesimpulan bahwa hasil uji fitokimia terhadap ekstrak n-heksan daun benalu jati *Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq. menunjukkan adanya kandungan senyawa bioaktif berupa flavonoid dan alkaloid yang diketahui memiliki aktivitas farmakologis penting termasuk sebagai antioksidan dan antikanker. Uji toksisitas menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) menunjukkan ekstrak n-heksan daun benalu jati memiliki aktivitas sitotoksik dengan nilai LC₅₀ sebesar 44.91 ppm. Nilai ini berada dalam kisaran yang tergolong aktif, sehingga ekstrak tersebut berpotensi kuat untuk dikembangkan sebagai kandidat agen antikanker alami.

DAFTAR PUSTAKA

- Aksono, E.B., Latifah, A.C., Suwanti, L.T., Haq, K.U, and Pertiwi, H., 2022. *Clove Flower Extract (Syzygium aromaticum) has Anticancer Potential Effect Analyzed by Molecular Docking and Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*. Vet Med Int. DOI: 10.1155/2022/5113742.
- Alharits, L., Handayani, W., Yasman and Hemelda, N.M., 2019. *Phytochemical Analysis and Antioxidant Activity of Leaves and Flowers Extracts of Mistletoe (Dendrophthoe pentandra (L.) Miq.), Collected from UI Campus, Depok*. In T. Mart, D. Triyono, and I. T. Anggraningrum (Eds.). Proceedings of the 4th International Symposium on Current Progress in Mathematics and Sciences, ISCPMS 2018 Article 020101 (AIP Conference Proceedings; Vol. 2168). American Institute of Physics Inc.. <https://doi.org/10.1063/1.5132528>.
- Anand, U., Dey, A., Chandel, A.K.S., Sanyal, R., Mishra, A., Pandey, D.K., De Falco, V., Upadhyay, A., Kandimalla, R., Chaudhary, A., Dhanjal, J.K., Dewanjee, S., Vallamkondu, J., José, M., and de la Lastra, P., 2023. Cancer Chemotherapy and Beyond: Current Status, Drug Candidates, Associated Risks And Progress In Targeted Therapeutics. Genes & Diseases. 10 (4): 1367-1401. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2022.02.007>.
- Awang, M.A., Nik Mat Daud, N.N.N., Mohd Ismail, N.I., Abdullah, F.I., and Benjamin, M.A.Z., 2023. *A Review of Dendrophthoe pentandra (Mistletoe): Phytomorphology, Extraction Techniques, Phytochemicals, and Biological Activities*. Processes. 11(8): 2348. DOI: <https://doi.org/10.3390/pr11082348>.
- Baharuddin, A. S., Md Yunos, N. S. H., Nik Mahmud, N. A., Zakaria, R., Md Yunos, K. F., 2012. *Effect of High-Pressure Steam Treatment on Enzymatic Saccharification of Oil Palm Empty Fruit Bunches*. BioRes. 7(3): 3525-3538.
- Borkar, P., Yadav, V., Tiwari, R.R., Samarth, R.M., 2022. *A Systematic Review of Potential Candidates Of Herbal Medicine In Treatment Of Chronic Kidney Disease*. Phytomedicine Plus. 2(4): 100361. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phyplu.2022.100361>.

- Chibuye, B., Singh Sen, I., Chimuka, L., Maseka Kenneth, K., 2023. *A Review Of Modern And Conventional Extraction Techniques and Their Applications For Extracting Phytochemicals From Plants*. Scientific African. 19. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2023.e01585>.
- Gil-Martín, E., Forbes-Herandez, T., Romero, A., Cianciosi, D., Giamperi, F., and Battino, M., 2022. *Influence Of The Extraction Method on The Recovery Of Bioactive Phenolic Compounds From Food Industry By-Products*. Food Chemistry. 378. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131918>.
- Hanousek Čiča, K., Stanzer, D., Zorić, Z., Radošević, K., Radeka, S., Lešić, T., Derewiaka, D., and Mrvčić, J., 2024. *Phenolic Compound Characterization and Biological Activities of Mistletoe (Viscum album L.) Ethanol Macerates Used in Herbal Spirit Production*. Beverages. 10(2): 41. DOI: <https://doi.org/10.3390/beverages10020041>.
- Herawati, E., Ramadhan, R., Ariyani, F., Marjenah, Kusuma, I.W., Suwinarti, W., Mardji, D., Amirta, R., and Arung, E.T., 2021. *Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of Wild Mushrooms Growing In Tropical Regions*. Biodiversitas 22: 4716-4721. DOI: <https://doi.org/10.13057/biodiv/d221102>.
- Mahaveerchand, H., and Abdul Salam, A.A. 2024. *Environmental, Industrial, and Health Benefits of Moringa oleifera*. Phytochem Rev. 23: 1497–1556. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11101-024-09927-x>.
- Majeed, M., Hakeem, K.R., and Ul Rehman, R., 2021. *Mistletoe Lectins: From Interconnecting Proteins to Potential Tumour Inhibiting Agents*. Phytomedicine Plus. 1(3). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phyplu.2021.100039>.
- Maulida, R., Kartika, R., dan Simanjuntak, P. 2016. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Kimia dari Ekstrak N-Heksan Batang Benalu Tanaman Jeruk (Dendrophthoe pentandra L. Miq)*. Jurnal kimia Mulawarman. 14(1).
- Muche, M., Muasya, A.M. and Tsegay, B.A., 2022. *Biology and Resource Acquisition of Mistletoes, and The Defense Responses of Host Plants*. Ecol Process. 11(24). DOI: <https://doi.org/10.1186/s13717-021-00355-9>.
- Muttaqin, Z., Sri, W., Wasis, B., Siregar, I., and Corryanti. 2021. *The Pattern of Germination of Teak Mistletoe Seeds In Relation With Parasitism*. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 918. 012034. DOI: <https://doi.org/10.1088/1755-1315/918/1/012034>.
- Norhaslinda, E., Syahri, J., dan Perdana, F., 2023. *Ekstraksi, Fraksinasi, dan Uji Antioksidan Daun Pakis Sawit (Davallia denticulata)*. Jurnal Sains dan Kesehatan. 13(2): 18-27. DOI: <https://doi.org/10.37859/jp.v13i2.4116>.
- Pozdnyakov, D., Adzhiakhmetova, S., Chervonnaya, N., and Oganessian, S., 2023. *Comparative Study of Phenolic Composition and Antioxidant Activity of Semi-Parasite Viscum album L. and Leaves of Plant Hosts Malus domestica Borkh., Pyrus Communis L.*. Chemistry of Plant Raw Material. 287-296. DOI: <https://doi.org/10.14258/jcprm.20230110947>.
- Pratama, A.R., Ariyanto, E., and Mardwita, M., 2021. *Pengaruh Volume Solvent dan Berat Biji Alpukat (Persea Americana Mill) Terhadap Yield dan Karakteristik Hasil Ekstraksi*. Jurnal Teknik Kimia dan Lingkungan. 5(2): 115-127. DOI: <http://dx.doi.org/10.33795/jtkl.v5i2.217>.
- Suhendy, H., Sinta, N.D., dan Ira, R., 2024. *Korelasi Flavonoid Total Dengan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Dan Fraksi Daun Puring Kura (Codiaeum variegatum L.)*. Pharmacoscript. 7: 312-330. DOI: <https://doi.org/10.36423/pharmacoscript.v7i2.1768>.
- Susanty, A., Febrina, M., Putri, D.S., Ikhtiarudin, I., Wahyuni, F.S., and Dachriyanus. 2023. *Cytotoxic Activity of Ethyl Acetate Extract from Voacanga foetida (Bl.) Rolfe Leaves Against T47D Breast Cancer Cells*. Borneo J Pharm. 6(1):8-14. DOI: <https://doi.org/10.33084/bjop.v6i1.3499>.
- Tamunu, M.S., Pareta, D.N., Hariyadi, H., dan Karauwan, F.A., 2022. *Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Benalu Pada Kersen Dendrophthoe pentandra (L.) dengan*

- Metode 2,2- diphenyl -1- Picrylhydrazyl (DPPH)*. Biofarmasetikal Tropis (The Tropical Journal of Biopharmaceutical). 5(1): 79–82. DOI: <https://doi.org/10.55724/jbiofartrop.v5i1.378>.
- Ulya, N.A., Rahayu, H.S.E., and Pribadi, P., 2022. *The Extract of Jeruju Plant for Anti-Inflammatory: A Literature Review Using Nursing Perspective*. J. Holist. Nurs. Sci. 9: 96–100.
- Wang, X., Ma, Y., Xu, Q., Shikov, A.N., Pozharitskaya, O.N., Flisyuk, E.V., Liu, M., Li, H., Vargas-Murga, L., and Duez, P., 2023. *Flavonoids and saponins: What have we got or missed?*. Phytomedicine. 109: 154580. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2022.154580>.
- World Health Organization. Indonesia Source Globocan 2019. Int Agency Res Cancer.