

Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Ethanol Buah Berenuk (*Crescentia cujete* L.) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) pada Larva Udang *Artemia salina* Leach

Dona Suzana^{1*}, Isnani Handayanti¹

Artikel Penelitian

Abstract: Cancer is one of the leading causes of human death in the world. One of the therapies given to cancer patients is chemotherapy, which has cytotoxic effects. One of the plants that has the same effect is berenuk or calabash (*Crescentia cujete* L.) plant, from the family of Bignoniaceae. This plant contains naphthoquinone as one of its cytotoxic chemical compounds and other secondary metabolites such as alkaloids, flavonoids, saponins, tannins, terpenoids, and anthraquinones. The objective of this study is to determine the cytotoxic activity of an ethanolic extract of the fruit of berenuk on *Artemia salina* Leach larvae. The BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) method was used for this study. The powder of berenuk fruit flesh was extracted using ethanol. The obtained solvent was evaporated using a rotary evaporator to obtain a thick extract. The extract was tested on *A. salina* larvae that had been prepared and the value of mortality was observed. The result of a cytotoxic activity test of an ethanolic extract of berenuk fruit on *A. salina* larvae had the LC_{50} value of 529.386 ppm, which is categorized as toxic.

Keywords: *Crescentia cujete* L., BSLT, *Artemia salina* Leach larvae, cytotoxic test

Abstrak: Kanker adalah satu dari sekian banyak penyakit di dunia yang menjadi penyebab utama kematian. Salah satu pengobatan yang dapat diberikan pada penderita kanker yaitu kemoterapi yang memiliki sifat sitotoksik. Tanaman yang memiliki efek sitotoksi ini adalah tanaman *Crescentia cujete* L., Famili *bignoniaceae* yang tumbuh liar dan sering disebut sebagai tanaman beracun. Tanaman ini memiliki kandungan kimia yang bersifat sitotoksik yaitu senyawa naphthoquinon dan senyawa metabolit sekunder lainnya seperti flavonoid, saponin, alkaloid, tanin, terpenoid dan antrakuinon. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui aktivitas sitotoksik ekstrak ethanol daging buah berenuk terhadap Larva *Artemia salina* Leach. Pada penelitian ini metode yang digunakan yaitu metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). Serbuk simplisia daging buah berenuk diekstraksi dengan menggunakan ethanol, kemudian ekstrak kental akan diperoleh dengan cara penguapan pada pelarut menggunakan *rotary evaporator*. Lalu ekstrak kental yang didapat dilakukan pengujian pada Larva *Artemia* yang telah disiapkan kemudian dilihat jumlah kematiannya. Hasil pengujian aktivitas sitotoksik dari ekstrak ethanol daging buah berenuk terhadap larva mendapatkan nilai LC_{50} sebesar 529,386 ppm yang termasuk kedalam kategori beracun.

Kata kunci: *Crescentia cujete* L., BSLT, larva *Artemia salina* Leach, uji sitotoksik

¹ Universitas Gunadarma,
Depok, Indonesia

Korespondensi:

Dona Suzana
dona.suzana12@gmail.com



Creative Commons Attribution-NonCommercial-
Share Alike 4.0 International License

Pendahuluan

Satu dari sekian banyak penyakit di dunia yang menjadi penyebab utama kematian adalah penyakit kanker. Kanker terjadi akibat pertumbuhan dari sel yang tidak normal yang dapat merusak jaringan tubuh. Lebih dari 40% dari kematian akibat dari penyakit kanker disebabkan oleh faktor risiko kanker yang seharusnya bisa dicegah (1). Data GLOBOCAN (*Global Burden of Cancer*) menyebutkan bahwa angka kematian yang terjadi diseluruh dunia sebesar 10 juta kematian dengan jumlah kasus 19,3 juta kasus pada tahun 2020, sementara di Indonesia pada tahun yang sama berjumlah 234.511 kematian (2). Pengobatan tersebut sangat mahal dan biasanya selalu menimbulkan efek samping bagi pasien. Adanya perbedaan dari obat yang digunakan, agen tertentu, respon individu, dosis, lamanya pengobatan dan status kesehatan pasien ini mempengaruhi nilai keparahan dari efek samping obat tersebut. Karena agen kemoterapi ini masih memiliki keterbatasan seperti adanya peristiwa resistensi ataupun efek samping, sehingga perlu dikembangkan lagi agar ditemukan agen kemoterapi yang efektif dan efisien.

Saat ini, pengembangan tanaman sebagai obat sudah banyak dilakukan oleh para peneliti. Salah satu tanaman yang berkhasiat obat adalah berenuk (*Crescentia cujete* L.). Berenuk yang dikenal juga dengan sebutan Mojo pahit dan bagian tanamannya yaitu daging buah, akar, daun, maupun kulit batangnya sudah cukup lama digunakan sebagai pengobatan tradisional (3). Buah berenuk berwarna hijau dengan bentuk bulat-bundar dengan diameter mencapai 25 cm, daging buah berenuk mengandung bulir warna putih, bentuk biji yang kecil dan pipih berwarna putih (4). Daging buah berenuk biasanya digunakan secara tradisional oleh masyarakat untuk antelmintik (5), antijamur (6), analgesik (7), uretritis (8). Buah berenuk juga mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, fenol, terpen (9), naptokuinon (10), saponin, flavonoid, tanin (6), antrakuinon dan cardenolid (11). Kandungan nutrisi yang terdapat dalam buah berenuk yaitu karbohidrat dan gula sederhana seperti sukrosa, fruktosa dan galaktosa (12), protein, serat, vitamin A,B,C,E (13), kandungan mineral seperti kalsium,

magnesium, zinc, potasium, sodium (11). Dengan adanya senyawa kimia berupa metabolit sekunder dan nutrisi tersebut membuat buah berenuk dapat digunakan sebagai pengobatan.

Adanya aktivitas sitotoksik yang terdapat pada berenuk ini disebabkan oleh adanya kandungan suatu senyawa kimia yang terkandung didalamnya (14). Sitotoksik adalah kemampuan dari suatu senyawa yang potensial yang dapat menginduksi kematian sel (14). Uji sitotoksik merupakan metode terstandarisasi yang digunakan untuk menentukan apakah suatu senyawa mengandung zat yang beracun (toksik) dan juga untuk melihat potensi dari suatu senyawa yang digunakan sebagai antikanker (14). Metode yang akan digunakan untuk pengujian sitotoksik dalam penelitian ini yaitu metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Metode BSLT ini adalah salah satu metode yang menggunakan hewan laut yaitu larva udang *Artemia salina* untuk melakukan skrining toksisitas dari suatu ekstrak tanaman. Dalam uji ini dapat menggambarkan tingkat ketoksikan suatu ekstrak terhadap Larva *Artemia salina* Leach dengan melihat jumlah kematian larva yang disebabkan oleh senyawa uji (15). Berdasarkan uraian diatas maka pada penelitian ini akan dilakukan uji aktivitas sitotoksik pada ekstrak ethanol daging buah berenuk dengan metode BSLT. Harapan dari penelitian ini yaitu dapat diperoleh data hasil uji fitokimia dan data nilai LC_{50} (*Lethal Concentration*) yang paling potensial dari aktivitas sitotoksik yang diuji.

Bahan dan Metode

Alat

Alat-alat yang digunakan yaitu rotary evaporator, desikator, vial yang telah dikalibrasi, tabung reaksi, baker glass, erlenmeyer, media pembiakan *Artemia salina* Leach, lampu penerang, kertas saring, penangas air, penjepit tabung, rak tabung reaksi, corong pisah, wadah penetasan larva

Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah bagian daging buah dari tanaman berenuk (*Crescentia cujete* L.) berupa buah muda yang masih berwarna hijau yang diperoleh dari perkebunan masyarakat di wilayah

Parungpanjang, Kabupaten Bogor, Jawa Barat. Hewan uji yang digunakan yaitu Larva Udang *Artemia salina* Leach. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah ethanol 70% dan 96%, aquades, DMSO (dimetil sulfoksida), kloroform, asam sulfat, pereaksi meyer, asam asetat anhidrat, asam sulfat pekat, pereaksi dragendorf, serbuk logam Mg, HCl(p), FeCl₃, benzen, NaOH.

Metode

Pembuatan Ekstrak

Siapkan alat dan bahan yang diperlukan dalam pengujian. Bersihkan daging buah berenuk dari zat pengotor kemudian lakukan perajangan. Setelah itu keringkan daging buah berenuk dengan menggunakan oven selama 48 jam pada suhu 70°C. Setelah kering, haluskan simplisia daging buah sampai diperoleh simplisia yang halus. Simplisia daging buah berenuk yang sudah kering dibuat menjadi ekstrak dengan metode ekstraksi maserasi menggunakan pelarut ethanol 70% selama 3 hari sambil sesekali dilakukan pengadukan. Setelah itu, lakukan penyaringan dan ampasnya direndam lagi dengan ethanol 96% selama 3 hari. Maserasi ketiga juga dilakukan perendaman selama 3 hari menggunakan pelarut yang sama. Semua filtrat dicampur dan diaduk merata, setelah itu diuapkan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental.

Pengujian Sitotoksisitas Ekstrak Ethanol Daging Buah Berenuk (*Crescentia cujete L.*) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test

Pada pengujian sitotoksik dilakukan penetasan larva *artemia* terlebih dahulu agar diperoleh larva udang yang siap digunakan untuk pengujian. Untuk pengujiannya sendiri terdiri dari enam kelompok perlakuan, yaitu kelompok 1 sebagai kontrol negatif yang tidak diberi perlakuan dan kelompok 2,3,4,5,6 sebagai kontrol positif yang diberi perlakuan. Siapkan vial, lakukan kalibrasi dan beri label pada vial untuk larutan uji dengan masing-masing konsentrasi 10 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml, 500 µg/ml, 1000 µg/ml dan satu vial untuk kontrol. Larutan induk untuk pengujian dibuat dengan cara melarutkan 80 mg ekstrak dalam 8 ml ethanol 96%, lalu kocok sampai larut. Ambil masing-masing sebanyak 5 µl, 25 µl, 50 µl, 250 µl, 500 µl dari larutan induk yang telah dibuat dengan menggunakan mikropipet

dan masukan ke dalam vial. Vial yang berisi larutan uji tersebut kemudian diuapkan didalam desikator sampai pelarutnya menguap. Tambahkan 50 µl DMSO kedalam vial termasuk ke vial kontrol untuk melarutkan kembali sampel. Setelah itu tambahkan 3,5 ml air laut ke dalam semua vial pengujian. Masukkan Larva *Artemia salina* Leach yang sudah dilakukan penetasan sebanyak 10 ekor kedalam masing-masing vial termasuk vial kontrol lalu cukupkan volumenya sampai batas kalibrasi dengan air laut, lalu letakan dibawah sinar lampu selama 24 jam. Setelah 24 jam, kemudian lakukan pengamatan dan dihitung jumlah larva yang mati akibat dari perlakuan yang telah diberikan. Lakukan 3 kali pengulangan pada masing-masing pengujian. Jumlah kematian larva yang ada dihitung dengan metode analisis data yaitu dengan melakukan perhitungan statistika menggunakan Analisis Regresi Probit. Metode ini dilakukan dengan menghitung mortalitas larva sehingga dapat menghasilkan persentase kematian yang kemudian dapat dilihat dalam tabel probit. Dari data tersebut dapat dilakukan penentuan nilai LC₅₀ dengan cara memasukan kedalam persamaan regresi. Persentase mortalitas larva dengan analisis probit dapat diperoleh menggunakan rumus :

$$\text{Mortalitas} = \frac{\text{Jumlah Larva yang Mati}}{\text{Jumlah Larva Uji}} \times 100\%$$

Keterangan : M = persentase (%) kematian hewan uji.

Hasil dan Diskusi

Hasil Uji Fitokimia Buah Berenuk (*Crescentia Cujete L.*)

Hasil uji pemeriksaan kandungan kimia menunjukkan bahwa daging buah berenuk (*Crescentia cujete L.*) mengandung senyawa kimia yaitu berupa senyawa fenol, saponin, alkaloid, flavonoid, tanin, antrakuinon. Hasil tersebut menunjukkan bahwa daging buah berenuk berpotensi memiliki aktivitas sitotoksik. Dilihat dari beberapa penelitian uji fitokimia daging buah berenuk yang sudah dilakukan sebelumnya dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan pada hasil uji fitokimia tersebut. Terdapat beberapa faktor

yang dapat mempengaruhi terjadinya hal tersebut, salah satunya adalah faktor lingkungan. Adanya perbedaan dari kondisi lingkungan tempat suatu tanaman tumbuh menyebabkan adanya perbedaan jumlah dan jenis metabolit sekunder yang terkandung dalam tumbuhan dari suatu daerah dengan daerah lainnya. Karena adanya perbedaan kondisi lingkungan seperti

suhu dan intensitas cahaya berpengaruh terhadap hasil senyawa metabolit tumbuhan, karena proses metabolisme suatu tumbuhan akan menyesuaikan kondisi tempat tumbuhan tersebut hidup yang dimana hasil metabolisme tumbuhan ini digunakan sebagai perlindungan oleh tumbuhan itu sendiri (16).

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Buah Berenuk (*Crescentia cujete* L.)

Jenis Uji	Pereaksi	Keterangan	Hasil Uji
Fenol	Ekstrak + Aquades panas + FeCl ₃ 1%	Warna hijau tua, pekat	(+) Positif
Saponin	Ekstrak + Aquades panas	Berbusa	(+) Positif
Flavonoid	Ekstrak + Serbuk Mg + HCl pekat	Warna merah	(+) Positif
Alkaloid	Ekstrak + HCl 2N + Dragendorff	Terdapat endapan coklat	(+) Positif
Tanin	Eksttrak + FeCl ₃ 1%	Warna hijau kehitaman	(+) Positif
Antrakuinon	Ekstrak + FeCl ₃ 1% + HCl + Benzen + NaOH	Warna merah	(+) Positif

Hasil Uji Sitotoksik Buah Berenuk (Crescentia cujete L.)

Pengujian yang dilakukan untuk mengetahui aktivitas sitotoksik ini menggunakan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) yang merupakan uji pendahuluan untuk melihat toksisitas sampel dan menggunakan larva *Artemia salina* sebagai hewan uji (17). Terdapat hubungan yang signifikan antara sampel yang bersifat toksik terhadap larva *artemia* sehingga hewan uji larva *artemia* ini bisa digunakan untuk pengujian toksisitas (18), hubungan antara sampel yang memiliki sifat toksik ini memiliki peran yang bermakna atau berarti terhadap kematian larva karena adanya sifat toksik tersebut. Jumlah larva yang telah mati kemudian masing-masing dihitung dan dilihat nilai LC₅₀. Nilai ini merupakan nilai yang menunjukkan konsentrasi senyawa toksik yang dapat menyebabkan kematian hingga 50% dan berfokus pada total kematian hewan yang diuji (19).

Pengujian aktivitas sitotoksik daging buah berenuk ini menggunakan lima konsentrasi yaitu 10 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml, 500 µg/ml, dan

1000 µg/ml yang kemudian dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali (triplo) agar hasil yang didapat tidak bias. Lalu jumlah hewan uji yang digunakan sebanyak 10 ekor per pengujian untuk mempermudah proses perhitungan larva sehingga hasil yang didapatkan perhitungannya tepat (9). Hasil jumlah kematian Larva *Artemia salina* Leach yang diberi perlakuan ekstrak daging buah berenuk yang dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali (triplo) dapat dilihat pada **Tabel 2**.

Dari hasil yang didapat tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi nilai persen kematian larva disebabkan oleh jumlah konsentrasi ekstrak yang digunakanpun semakin tinggi. Pada perhitungan %Mortalitas konsentrasi 10 µg/ml dan 50 µg/ml mendapatkan hasil yang sama yaitu sebesar 6,66% dengan jumlah kematian yang sama juga yaitu sebanyak 2 ekor, hal tersebut dapat terjadi karena beberapa faktor salah satunya yaitu pada proses pengujian saat pengambilan ekstrak ethanol konsentrasi 50 µg/ml menggunakan mikropipet larutan ekstrak tersebut tidak semuanya masuk kedalam vial sehingga jumlah konsentrasinya berkurang.

Tabel 2. Hasil Perhitungan Persentase Mortalitas Larva Udang *Artemia salina* Leach Setelah Pemberian Ekstrak Daging Buah Berenuk

Konsentrasi (µg/ml)	Pengulangan	Total Hewan	Jumlah Hewan Yang Mati (Ekor)	%Mortalitas
10	1	10	0	6,66%
	2	10	1	
	3	10	1	
50	1	10	1	6,66%
	2	10	1	
	3	10	0	
100	1	10	2	13,33%
	2	10	1	
	3	10	1	
500	1	10	4	43,33%
	2	10	3	
	3	10	6	
1000	1	10	10	100%
	2	10	10	
	3	10	10	

Kemudian dilakukan perhitungan nilai LC_{50} dengan menggunakan metode analisis regresi probit dan dapat dilihat hubungan antara besar konsentrasi dengan nilai probit kematian larva (19). Analisis probit ini berupa hubungan nilai logaritma konsentrasi senyawa toksik yang di uji yaitu ekstrak buah berenuk dan nilai probit dari presentase mortalitas hewan uji yaitu larva (20). Hasil perhitungan nilai LC_{50} yang telah dilakukan didapatkan nilai sebesar 529,386 ppm. Tingkat toksisitas suatu ekstrak dikategorikan jika nilai $LC_{50} \leq 30$ ppm = Sangat beracun, jika nilai $LC_{50} \leq 1.000$ ppm = Beracun, dan jika nilai $LC_{50} \geq 1.000$ ppm = Tidak beracun (21). Nilai LC_{50} pada penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak tersebut menunjukkan kematian larva hingga 50% karena nilai yang dihasilkan lebih rendah dari 1.000 ppm dan dikategorikan memiliki sifat beracun. Adanya sifat beracun inilah yang menyebabkan kematian pada hewan uji larva.

Penelitian lain yang telah dilakukan di Filipina oleh Billacura, dkk (2017) pada ekstrak buah berenuk yang menggunakan beberapa pelarut yaitu ethanol 95%, aquades, etil asetat dan heksan yang diujikan pada larva udang dengan konsentrasi 10, 100 dan 1000 ppm menunjukkan hasil bahwa nilai LC_{50} yang dihasilkan dengan pelarut ethanol yaitu 0,529 ppm dan pelarut aquades menghasilkan nilai 4,64 ppm nilai

tersebut kurang dari 30 ppm yang berarti hasil tersebut memiliki sifat sangat beracun (5). Kemudian Sagrin, dkk (2019) di Malaysia juga melakukan penelitian mengenai uji sitotoksik terhadap buah berenuk menggunakan metode BSLT yang menggunakan dua jenis pelarut yaitu aquades dan ethanol dengan konsentrasi 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.25, 15.625, 7.813, 3.907, dan 1.953 µg/mL yang mendapatkan hasil nilai LC_{50} dengan pelarut aquades sebesar 38.74 ppm, pelarut ethanol 50% 133,15 ppm dan pelarut ethanol 100% nilainya 292,17 ppm. Hasil yang didapat nilainya kurang dari 1000 ppm sehingga dapat dikatakan memiliki sifat beracun (22). Pengujian lain juga dilakukan oleh Pastor PJB dan Almadin FJF (2017) di Filipina yang melakukan uji untuk melihat toksisitas menggunakan metode CAM Assay dengan hasil yang didapat dalam penelitian tersebut yaitu tidak ada perkembangan pada embrio bebek dengan konsentrasi 0,35 g/mL dan 0,47 g/mL yang berarti memiliki aktivitas antiangiogenik serta sifat sangat toksik pada konsentrasi yang tinggi (23).

Penggunaan pelarut yang digunakan dalam mengekstrak simplisia dapat berbeda-beda. Salah satunya dalam penelitian yang telah dilakukan oleh Sagrin, dkk (2019) ekstrak yang menggunakan pelarut aquades mendapatkan nilai LC_{50} lebih kecil daripada yang menggunakan

pelarut ethanol (24). Kemudian penelitian yang dilakukan oleh Billacura, dkk (2017) yang menggunakan pelarut ethanol mendapatkan nilai LC_{50} lebih kecil daripada menggunakan pelarut aquades (5). Maka dari itu, penggunaan pelarut yang digunakan dalam ekstrak akan berpengaruh terhadap nilai LC_{50} yang dihasilkan. Selain bagian buahnya, bagian lain dari buah berenuk yaitu daun (25), biji (9), kulit batang dan kulit akar (26) juga memiliki sifat toksik. Didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Billacura dan Pangcoga (2017) menguji aktivitas sitotoksik pada daun berenuk menggunakan metode BSLT dengan pelarut aquades dan ethanol mendapatkan hasil nilai LC_{50} nya sebesar 0.184 ppm pada pelarut aquades serta 6.74 ppm pada pelarut ethanol yang berarti keduanya bersifat sangat toksik (25). Pengujian aktivitas sitotoksik juga dilakukan pada bagian biji buah berenuk yang diuji oleh Arel (2018) dengan menggunakan metode BSLT yang mendapatkan nilai LC_{50} sebesar 82,30 ppm sehingga hasil tersebut dikatakan toksik karena nilainya kurang dari 1000 ppm (9). Kemudian penelitian lain dilakukan oleh Aboaba dan Fasimoye (2018) yang menguji sifat sitotoksik dari kulit batang dan kulit akar berenuk menggunakan metode BSLT mendapatkan nilai LC_{50} pada bagian kulit batang sebesar 10.85 ppm dan bagian kulit akar sebesar 16.54 ppm, hal tersebut berarti kedua bagian tersebut memiliki sifat sangat toksik (26). Didukung oleh hasil penelitian tersebut, maka bagian dari tanaman berenuk yang memiliki sifat paling toksik yaitu terdapat pada bagian buah berenuk dengan nilai LC_{50} 0.529 ppm dari penelitian Billacura, dkk (2017) di Filipina (5).

Dalam penelitian ini hasil yang diperoleh yaitu kematian yang paling banyak terjadi pada larva yang diberi ekstrak dengan konsentrasi paling tinggi yaitu 1000 $\mu\text{g/ml}$ sedangkan jumlah kematian larva yang paling sedikit terdapat pada pengujian yang diberi ekstrak dengan konsentrasi paling rendah yaitu 10 $\mu\text{g/ml}$. Dan didukung oleh hasil penelitian lain maka dapat disimpulkan bahwa tingkat konsentrasi yang diberikan berpengaruh terhadap jumlah kematian larva, yang berarti jika konsentrasinya semakin tinggi maka jumlah kematian larva akibat pemberian ekstrak juga semakin. Hal tersebut juga berhubungan dengan adanya jumlah dosis

dimana semakin tinggi dosis suatu zat maka semakin tinggi toksisitasnya.

Selain itu, adanya kandungan kimia yang terdapat dalam ekstrak juga berpengaruh pada jumlah kematian larva. Kandungan kimia yang terdapat dalam daging buah berenuk kemungkinan bersifat toksik yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, naphtoquinon dan antrakuinon (9). Senyawa kimia yang terkandung tersebut berinteraksi secara sinergis sehingga menyebabkan kematian pada larva (19). Senyawa saponin yang terkandung dalam daging buah berenuk dapat bekerja membunuh larva dengan cara menurunkan aktivitas dari enzim pencernaan sehingga akan mempengaruhi proses penyerapan makanan. Saponin ini mempunyai rasa yang pahit dan tajam serta mengandung glikosida tanaman yang dapat larut dalam air dan sifatnya yang menyerupai sabun. Selain itu dengan adanya senyawa alkaloid dan flavonoid pada daging buah berenuk ini bekerja sebagai racun perut sehingga alat pencernaan larva akan terganggu jika zat tersebut masuk kedalamnya (18). Dengan adanya senyawa fenol pada buah berenuk dapat bertindak sebagai toksin bagi plasma pada konsentrasi tinggi dengan merusak sistem dinding sel sehingga dapat menyebabkan kematian pada larva (19).

Kemudian daging buah berenuk memiliki kandungan senyawa turunan naphtoquinon yaitu 2-(1-Hydroxyethyl)naphtho[2,3- β]furan-4,9-dione dan 5-Hydroxy-2-(1-hydroxyethyl)naphtho[2,3- β]furan-4,9-dione (10). Kandungan senyawa ini memiliki aktivitas sebagai antitumor yang bekerja dengan cara menghambat pertumbuhan sel yang dapat berupa apoptosis, stres oksidatif, penghambatan topoisomerase II- α , dan lain sebagainya (27).

Selain memiliki aktivitas sitotoksik, buah berenuk juga memiliki aktivitas antioksidan (24). Adanya antioksidan ini dapat melindungi sel dari oksigen reaktif (5) serta dapat merusak DNA dan menghambat mutagenesis (28). Dengan adanya sifat beracun atau toksik tersebut maka buah berenuk (*Crescentia cujete* L.) menjadi salah satu tumbuhan yang dapat dikembangkan dan berpotensi sebagai kemoterapi pada kanker. Sifat toksik yang ada disebabkan oleh adanya kandungan senyawa kimia pada daging buah yang telah terbukti dan dapat bekerja pada kanker dengan cara penghambatan pertumbuhan sel

kanker, induksi apoptosis (29). Pada saat ini banyak dicari agen antikanker yang memiliki sifat sitotoksik yang hanya bekerja pada sel kanker dan sifat non toksiknya pada sel normal karena banyak obat antikanker yang telah ada dengan sifat sitotoksiknya tidak hanya merusak sel kanker namun merusak sel yang normal juga (29). Penelitian dan pengembangan agen antikanker dari tanaman sampai saat ini masih dilakukan untuk kemajuan serta perbaikan dari efek samping yang ada pada agen antikanker (30). Maka dari itu dengan dilakukannya penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat untuk pengembangan obat agen antikanker baru.

Kesimpulan

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pada hasil perhitungan nilai LC_{50} dari ekstrak ethanol daging buah berenuk mempunyai nilai sebesar 529,386 ppm dan masuk kedalam kategori beracun sehingga menunjukkan bahwa ekstrak ethanol daging buah berenuk ini memiliki aktivitas sitotoksik terhadap Larva *Artemia salina* Leach yang berpotensi sebagai obat agen antikanker.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Dr. dr. Dona Suzana atas bimbingannya dalam melakukan penelitian ini serta tim laboratorium yang telah mensupport kegiatan penelitian.

Referensi

1. Kementrian kesehatan Republik Indonesia. Situasi penyakit kanker. Pusdatin. kemkes.go.id. 2015. p. 1–44.
2. Globocan Cancaer Observatory. Cancer Today. gco.iarc.fr. 2020. p. 1.
3. Hasanah U, Rosdiana D. Antibacterial Activity of Ethanol Extract from Stem Bark and Leaves of Berenuk (*Crescentia cujete* L.). *Curr Biochem.* 2017;4(1):1–14.
4. Atmodjo K. Keragaman dan Pemanfaatan Tumbuhan Berenuk (*Crescentia cujete* L) di Daerah Istimewa Yogyakarta. *Biota J Ilm Ilmu-Hayati.* 2019;4(3):116–23.
5. Billacura MP, Laciapag GCR. Phytochemical Screening , Cytotoxicity , Antioxidant , And Anthelmintic Property Of The Various Extracts From *Crescentia Cujete* Phytochemical Screening , Cytotoxicity , Antioxidant , And Anthelmintic Property Of The Various Extracts From *Crescentia cujete*. *Sci Int.* 2017;29(2):31–5.
6. Sulistyawati D, Wiryosoendjojo K, Puspawati N. Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Etanolik Daun dan Daging Buah Berenuk (*Crescentia cujete* , *Linn* .) terhadap *Candida albicans* ATCC 1023. *J Biomedika.* 2019;12(2):2302–1306.
7. Teodhora, Kusuma IM, Evelyn R, Sholikha M. Potensi Terapi Analgesik Buah *Crescentia Cujete* L . Melalui Penurunan Refleks Geliat Musculus. *J Endur Kaji Ilm Probl Kesehat.* 2020;5(2):242–50.
8. Theis M, Richárd M, Bell K, Degolier T. *Crescentia cujete* (calabash tree) seed extract and fruit pulp juice contract isolated uterine smooth muscle tissues from *Mus musculus*. *J Med Plants Stud.* 2017;5(5):10–5.
9. Arel A. Uji Sitotoksik Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test Dan Profil Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Biji Buah Berenuk (*Crescentia cujete* *Linn*). *J Ilmu Farm dan Farm Klin.* 2018;15(2):8–12.
10. Balogun FO, Sabiu S. A Review of the Phytochemistry, Ethnobotany, Toxicology, and Pharmacological Potentials of *Crescentia cujete* L . (*Bignoniaceae*). *Hindawi Evidence-Based Complement Altern Med.* 2021;2021:15.
11. Ejelonu BC, Lasisi AA, Olaremu AG, Ejelonu OC. The chemical constituents of calabash (*Crescentia cujete*). *African J Biotechnol.* 2011;10(84):19631–6.
12. Nurkholis, Afifah NR, Nealma S. Sintesis Bioetanol Dari Buah Berenuk (*Crescentia Cujete* L .) Dengan Metode Hidrolisis Asam dan Fermentasi Alkoholik. *J Teknol.* 2019;6(2):99–106.
13. Nwosu MO. The nutritive and anti-nutritive compositions of calabash (*Crescentia cujete*) fruit pulp. *J Anim Vet Adv.* 2008;7(9):1069–72.
14. Arel A, Wardi ES, Oktaviani Y. Profil Metabolit Sekunder Ekstrak Daun Berenuk (*Crescentia Cujete* L.) Dan Uji Sitotoksik Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test Afdhil. *J Katalisator.* 2018;3(2):82–8.

15. Mardany MP, Chrystomo LY, Karim AK. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Sitotoksik dari Tumbuhan Sarang Semut (*Myrmecodia beccarii* Hook. f.) Asal Kabupaten Merauke. *J Biol Papua*. 2016;8(1):13–22.
16. Ncube B, Finnie JF, Van Staden J. Quality from the field: The impact of environmental factors as quality determinants in medicinal plants. *South African J Bot* [Internet]. 2012;82:11–20. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.sajb.2012.05.009>
17. Andini A, Nidianti E, Prayekti E. Cytotoxicity Assay of Chitosan-Collagen Wound Dressing using Brine Shrimp Lethality Test Methods. *Biomedika*. 2020;13(1):9–14.
18. Sari M, Apriandi A, Suhandana M, Studi P, Hasil T, Ilmu F, et al. Uji Toksisitas Ekstrak Daun Beruwas Laut (*Scaevola Taccada*) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Marinade*. 2020;3(April):37–46.
19. Rasyid MI, Yuliani H, Angraeni L. Toxicity Test LC50 of Pineung Nyen Teusalee Seeds (*Areca catechu*) Extract by Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) Methode. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci*. 2020;515(1).
20. Widiastusi IM, Hertika AMS, Musa M, Arfiati D. Acute toxicity test and LC 50 value of mercury on tubifex tubifex. *Int Semin Sci Technol*. 2019;
21. Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE, McLaughlin JL. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Med*. 1982;45(1):31–4.
22. Sagrin MS, Lasano NF, Shukri R, Ramli NS. Antioxidant properties and toxicity assessment of the *Crescentia cujete* extracts in Brine Shrimp (*Artemia salina*). *Sains Malaysiana*. 2019;48(4):831–40.
23. Pastor PJB, Almadin FJF. A Pilot Investigation on the Potential Bioactivity of Calabash (*Crescentia Cujete*) Fruit Extract in the Angiogenesis and Morphometry of Duck (*Anas Platyrhynchos*) Embryo. *9th Int Conf Chem Agric Biol Environ Sci*. 2017;17–8.
24. Sagrin MS, Lasano NF, Shukri R, Ramli NS. Antioxidant Properties And Toxicity Assessment Of The *Crescentia Cujete* Extracts In Brine Shrimp (*Artemia salina*). *Sains Malaysiana*. 2019;48(4):831–40.
25. Billacura MP, Pangoga KJ. Phytochemical screening, cytotoxicity, mutagenicity, antimutagenicity, and protective potentials of the different solvent extracts from the air-dried leaves of *Crescentia cujete* Linn. *Int J Adv Appl Sci*. 2017;4(4):118–26.
26. Aboaba S, Fasimoye G. Volatile Constituents and Toxicity Profile of the Leaves, Stem Bark and Root Bark Essential Oils of *Holarrhena Floribunda* and *Crescentia cujete*. *Int J Sci*. 2018;4(2):31–5.
27. De Moraes TAP, Filha MJS, Camara CA, Silva TMS, Soares BM, Bomfim IS, et al. Synthesis and cytotoxic evaluation of a series of 2-aminonaphthoquinones against human cancer cells. *Molecules*. 2014;19(9):13188–99.
28. Cockfield JA, Schafer ZT. Antioxidant defenses: A context-specific vulnerability of cancer cells. *Cancers (Basel)*. 2019;11(8):1–16.
29. Greenwell M, Rahman PKSM. Medicinal Plants: Their Use in Anticancer Treatment. *Int J Pharm Sci Res*. 2015;6(10):4103–12.
30. Prakash O, Kumar A, Kumar P, Ajeet A. Anticancer Potential of Plants and Natural Products: A Review. *Am J Pharmacol Sci*. 2013;1(6):104–15.