

Antioxidant activity and toxicity test of yellow wood extract (*Arcangelisia flava* (L. Merr))

Uji aktivitas antioksidan dan toksisitas dari ekstrak kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L.Merr))

Fatin Shilvia ^a, Anny Sartika Daulay ^{a*}, Ridwanto ^a, Yayuk Putri Rahayu ^a

^a Program studi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah, Kota Medan, Sumatera Utara, Indonesia.

*Corresponding Authors : annysartika@umnaw.ac.id

Abstract

Currently, people are beginning to shift towards traditional medicine using natural ingredients. One of the medicinal plants is Yellow Wood (*Arcangelisia flava* (L.) Merr). Yellow wood has been proven to have antioxidant, antimalarial, antidepressant, antidiabetic, and anticancer activities. This study aims to determine the antioxidant activity of yellow wood by analyzing its IC₅₀ value and to evaluate the toxicity of yellow wood extract by determining its LC₅₀ value. In this study, the antioxidant activity of the extract was tested using the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) method. In contrast, the toxicity of the yellow wood extract was assessed using the brine shrimp lethality test (BSLT) method with several concentration variants. The analysis of antioxidant activity in yellow wood using the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl method resulted in an IC₅₀ value of 9.65 µg/ml, while vitamin C had an IC₅₀ value of 3.96 µg/ml. Based on these results, yellowwood and vitamin C fall into the category of extreme antioxidant activity. The probit analysis of the toxicity test of yellow wood extract using the brine shrimp lethality test method showed an LC₅₀ value of 287.872 µg/ml, which is categorized as toxic.

Keywords: Yellow Wood, Antioxidant, DPPH, Toxicity, Brine Shrimp Lethality Test.

Abstrak

Saat ini masyarakat mulai beralih pada pengobatan tradisional dengan bahan-bahan alami. Salah satu tumbuhan yang berkhasiat obat adalah Kayu Kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr). Kayu kuning telah terbukti mempunyai aktivitas sebagai antioksidan, antimalaria, antidepresan, antidiabetes, dan juga antikanker. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antioksidan pada kayu kuning dengan melihat nilai IC₅₀ dan untuk mengetahui daya toksisitas ekstrak kayu kuning dengan melihat nilai LC₅₀. Pada penelitian ini dilakukan pengujian aktivitas antioksidan ekstrak dengan menggunakan metode 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) dan pengujian toksisitas ekstrak kayu kuning dengan menggunakan metode *brine shrimp lethality test* (BSLT) dengan beberapa varian konsentrasi. Hasil analisis aktivitas antioksidan pada kayu kuning dengan menggunakan metode 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl memiliki nilai IC₅₀ 9,65 µg/ml dan nilai IC₅₀ vitamin C sebesar 3,96 µg/ml. Dimana dari hasil tersebut kayu kuning memiliki aktivitas antioksidan dan vitamin C dengan kategori sangat kuat. Hasil analisa probit pengujian toksisitas ekstrak kayu kuning dengan menggunakan metode *brine shrimp lethality test* memiliki nilai LC₅₀ 287,872 µg/ml dengan kategori toksik.

Kata Kunci: Kayu Kuning, Antioksidan, DPPH, Toksisitas, Brine Shrimp Lethality Test.



Copyright © 2020 The author(s). You are free to : **Share** (copy and redistribute the material in any medium or format) and **Adapt** (remix, transform, and build upon the material) under the following terms: **Attribution** – You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; **NonCommercial** – You may not use the material for commercial purposes; **ShareAlike** – If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original. Content from this work may be used under the terms of the [Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International \(CC BY-NC-SA 4.0\) License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Article History:

Received: 02/12/2024,
Revised: 15/03/2025
Accepted: 15/03/2025
Available Online: 15/03/2025

QR access this Article



<https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v8i1.776>

Pendahuluan

Saat ini masyarakat mulai beralih pada pengobatan tradisional dengan bahan-bahan alami. Penggunaan obat tradisional atau lebih dikenal dengan istilah obat herbal pada akhir-akhir ini terus meningkat. Hal ini didukung dengan adanya isu *back to nature* dalam memanfaatkan bahan-bahan alami sebagai obat. Indonesia termasuk negara tropis yang kaya akan keragaman floranya dan menempati peringkat ketiga setelah negara Brazil. Berbagai tanaman telah dimanfaatkan secara turun-temurun untuk mengobati berbagai penyakit [1].

Salah satu tumbuhan yang berkhasiat obat dan belum banyak diteliti adalah Kayu Kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr). Batang kayu kuning telah terbukti mempunyai aktivitas sebagai antioksidan, antimalaria, antidepresan, antidiabetes, dan juga antikanker. Selain itu di dalam batang kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr) juga diketahui mengandung senyawa kimia antara lain saponin, flavonoid dan tanin, di samping itu batangnya juga mengandung glikosida dan alkaloid. Salah satu kesamaan ciri dari beberapa metabolit tersebut adalah hampir semuanya berpotensi untuk digunakan sebagai senyawa antioksidan. Saat ini pemanfaatan kayu kuning di masyarakat baru sebatas penggunaan air rebusan untuk diminum [2,3].

Antioksidan merupakan molekul yang dapat mencegah atau memperlambat sel mengalami kerusakan akibat radikal bebas dengan cara melengkapi kekurangan elektron dari radikal bebas. Antioksidan alami dapat ditemukan pada tanaman yang memiliki senyawa polifenol yang tinggi [4]. Antioksidan berperan penting bagi kesehatan dikarenakan senyawa antioksidan dapat menghambat terjadinya reaksi oksidasi yang diakibatkan oleh senyawa radikal bebas [5].

Radikal bebas merupakan suatu atom atau molekul bersifat tidak stabil dan sangat reaktif yang memiliki electron yang tidak berpengangan pada orbital luarnya. Radikal bebas terbentuk dalam tubuh secara terus menerus, baik melalui proses metabolisme sel normal, peradangan, kekurangan gizi, serta akibat respons terhadap pengaruh dari luar tubuh, seperti sinar ultraviolet (UV), polusi lingkungan dan asap rokok. Kadar radikal bebas yang tinggi dalam tubuh dapat memicu munculnya berbagai penyakit degeneratif [6,7].

Mengingat potensi yang dimiliki kayu kuning untuk pengobatan maka perlu dilakukan uji toksisitas, untuk mengetahui tingkat keamanan dari ekstrak kayu kuning sebagai obat herbal. Pengujian ini bertujuan mengetahui dosis yang tidak menimbulkan efek toksik dari penggunaan kayu kuning setelah pemberian secara berulang [8].

Berdasarkan uraian diatas, maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian lebih lanjut mengenai kayu kuning sebagai bahan alam yang potensial dengan menguji aktivitas antioksidan dan toksisitas batang kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr) dengan menggunakan metode *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH) dan *brine shrimp lethality test* (BSLT) untuk melengkapi informasi penelitian tentang kayu kuning tersebut.

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan pada kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr) serta menentukan daya toksisitas ekstrak batang kayu kuning dengan mengukur nilai LC50 menggunakan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) terhadap *Arthemisa salina*.

Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimental. Sampel yang digunakan adalah batang kayu kuning. Rancangan penelitian ini meliputi pengumpulan dan pengolahan bahan, identifikasi tumbuhan, pemeriksaan karakteristik simplisia, pembuatan ekstrak batang kayu kuning, skrining fitokimia, dan pengujian aktivitas antioksidan dan toksisitas dengan menggunakan metode 1,1- *diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH).

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Terpadu Farmasi Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah Medan (UMNAW) dan Universitas Sumatera Utara (USU) selama periode Februari 2023 hingga Mei 2023.

Bahan dan peralatan penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian adalah batang kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr), 1,1-*diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH), etanol 70%, aquadest, pereaksi bouchardat, dragendrof, kloroform, toluene, pereaksi besi (III) klorida 1%, pereaksi natrium hidroksida 2N, asam klorida pekat, benzene, garam laut dan telur *Arthemisia salina*. Sedangkan alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik, blander, oven, tabung reaksi, Spektrofotometer UV-Vis, Rotary evaporator, alat-alat gelas (gelas ukur, erlenmeyer, pipet ukur, batang pengaduk), *water bath*, cawan penguap, vial, oven, bejana penetasan telur *Arthemisia salina*, dan peralatan lainnya.

Pengambilan Sampel Tumbuhan

Pengambilan sampel dilakukan secara *purposive* tanpa membandingkan dengan tumbuhan yang sama di daerah lain. Sampel batang kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr) yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh di Desa Samar Kilang, Kecamatan Bukit, Kabupaten Bener Meriah, Provinsi Aceh.

Determinasi Sampel Tumbuhan

Determinan tumbuhan dilakukan di Herbarium Medanese (MEDA) Departemen Biologi FMIPA Universitas Sumatera Utara. Jalan Bioteknologi No.1 Kampus USU, Medan.

Pembuatan Simplisia

Sampel batang kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr) yang masih segar dikumpulkan disortasi basah untuk memisahkan cemar (kotoran dan bahan asing lain) dilakukan sortasi kering yaitu membuang benda-benda asing yang tertinggal pada simplisia. Selanjutnya sampel dikeringkan dalam lemari pengering, kemudian simplisia yang diperoleh dihaluskan dengan blender dan disimpan di dalam wadah yang tertutup rapat.

Karakteristik Simplisia

Pemeriksaan dilakukan meliputi pemeriksaan penetapan kadar air, penetapan kadar sari larut dalam air, penetapan kadar sari larut dalam etanol, penetapan kadar abu total, serta penetapan kadar abu tidak larut asam [9].

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr), meliputi pemeriksaan senyawa alkaloida, flavonoida, tanin, saponin, steroida/triterpenoid dan glikosida. Skrining fitokimia dilakukan terhadap simplisia dan ekstrak etanol batang kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr).

Uji Aktivitas Antioksidan dan Uji Toksisitas

Pengujian Kemampuan Antioksidan dengan Spektrofotometri Visible

Kemampuan sampel uji dalam meredam proses oksidasi 1,1-*diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH) sebagai radikal bebas dalam larutan etanol dan methanol (sehingga terjadi peredaman warna ungu DPPH) dengan

nilai IC_{50} (sebagai konsentrasi sampel uji yang mampu menurunkan radikal bebas sebesar 50%) digunakan sebagai parameter untuk menentukan aktivitas antioksidan sampel uji tersebut [10].

Pembuatan Larutan Induk Baku DPPH

Ditimbang 10 mg DPPH dimasukkan ke dalam labu tentukur 50 ml kemudian dilarutkan dengan metanol dan dicukupkan sampai garis tanda, hingga diperoleh larutan DPPH dengan konsentrasi 200 $\mu\text{g/ml}$ [10].

Pembuatan Blanko

Larutan baku DPPH konsentrasi 200 $\mu\text{g/ml}$ dipipet sebanyak 1 ml, kemudian dimasukkan kedalam labu tentukur 5 ml, dicukupkan dengan metanol sampai garis tanda, sehingga didapat (konsentrasi 40 $\mu\text{g/ml}$). Larutan disimpan ditempat yang terlindung dari cahaya [10].

Penentuan Panjang gelombang serapan maksimum DPPH

Larutan DPPH konsentrasi 200 $\mu\text{g/ml}$ dipipet sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam labu tentukur 5 ml dilarutkan dengan metanol dan dicukupkan sampai tanda batas (Konsentrasi 40 $\mu\text{g/ml}$), lalu dimasukkan kedalam kuvet dan diukur serapannya pada panjang gelombang 400-800 nm menggunakan spektrofotometer UV-Visibel sehingga diperoleh panjang gelombang maksimum DPPH [10].

Penentuan *operating time*

Larutan DPPH konsentrasi 200 $\mu\text{g/ml}$ dipipet sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam labu tentukur 5 ml dilarutkan dengan metanol dan dicukupkan sampai tanda batas (Konsentrasi $\mu\text{g/ml}$). Kemudian larutan diukur absorbansinya tiap menit pada panjang gelombang maksimum selama 60 menit hingga memperoleh absorbansi yang stabil [10].

Pembuatan Larutan Sampel Ekstrak Batang Kayu Kuning (*Arcangelisia flava*)

Sebanyak 0.025 g sampel uji ditimbang masing-masing, kemudian dimasukkan ke dalam labu tentukur 25 ml dilarutkan dengan metanol sampai garis tanda (konsentrasi 1000 $\mu\text{g/ml}$).

Pengukuran Absorbansi DPPH Setelah Penambahan Ekstrak Batang Kayu Kuning (*Arcangelisia flava*)

Dipipet larutan ekstrak kayu kuning (konsentrasi 200 $\mu\text{g/ml}$) masing-masing sebanyak 0,1 ml; 0,2 ml; 0,3 ml; 0,4 ml dan 0,5 ml, dimasukkan ke dalam labu tentukur 5 ml. Kedalam masing masing labu tentukur ditambahkan 1 ml larutan DPPH konsentrasi 200 ppm lalu volumenya dicukupkan dengan metanol sampai garis tanda (diperoleh konsentrasi larutan uji 20, 40, 60, 80, dan 100 $\mu\text{g/ml}$), kemudian didiamkan di tempat gelap selama 26-32 menit. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 518 nm. Dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan.

Pengukuran Absorbansi DPPH Setelah Penambahan Vitamin C

Ditimbang sebanyak 50 mg vitamin C Kristal kemudian dilarutkan dengan metanol dalam labu tentukur 50 ml. volumenya dicukupkan dengan metanol sampai garis tanda (konsentrasi 1000 $\mu\text{g/ml}$). Kemudian dipipet larutan 0,005 ml; 0,01 ml; 0,015 ml, 0,02 dan 0,025 ml, dimasukkan kedalam labu tentukur 5 ml lalu ditambahkan 1 ml larutan DPPH (konsentrasi 200 $\mu\text{g/ml}$) konsentrasi Vitamin C 1; 2; 3, 4 dan 5 $\mu\text{g/ml}$. Kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 518 nm dan pengukuran dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan setelah didiamkan sesuai dengan *operating time* yang didapatkan.

Penentuan proses peredaman

Kemampuan aktivitas antioksidan diukur sebagai penurunan serapan larutan DPPH (peredaman warna ungu DPPH) akibat adanya penambahan larutan sampel. Nilai serapan (absorbansi) hasil pengukuran larutan DPPH sebelum dan sesudah penambahan larutan sampel dibagi serapan pengukuran larutan DPPH sebelum penambahan sampel dihitung sebagai (% peredaman) dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Peredaman} = \frac{A_{\text{kontrol(DPPH)}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{kontrol(DPPH)}}} \times 100 \%$$

Keterangan :

A_{kontrol} : absorbansi tidak mengandung sampel

A_{sampel} : absorbansi mengandung sampel

Selanjutnya hasil perhitungan persen peredaman yang diperoleh dilakukan perhitungan persamaan garis linier dan konsentrasi sampel (ppm) sebagai absis (sumbu X) dan nilai peredaman sebagai koordinatnya (sumbu Y).

Maka diperoleh persamaan garis regresi yang selanjutnya dapat dihitung kemampuan bahan uji sebagai antioksidan dengan menghitung inhibitor concentration 50 % (IC_{50}) menggunakan rumus sebagai berikut :

$$IC_{50} = ax + b$$

Keterangan:

50 : kemampuan antioksidan menghambat 50% aktivitas radikal bebas

a : Slope

b : Intercept

x : Konsentrasi [10].

Penentuan Nilai IC_{50}

Nilai IC_{50} merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi sampel uji ($\mu\text{g/ml}$) yang memberikan peredaman DPPH sebesar 50% mampu menghambat/meredam proses oksidasi sebesar 50 %. Nilai aktivitas antioksidan 0% berarti tidak mempunyai aktivitas antioksidan, sedangkan nilai 100% berarti peredaman total dan pengujian perlu dilanjutkan dengan pengenceran larutan uji untuk melihat batas konsentrasi aktivitasnya. Hasil perhitungan dimasukkan kedalam persamaan regresi dengan konsentrasi seduhan ($\mu\text{g/ml}$) sebagai absis (sumbu X) dan nilai % peredaman (antioksidan) sebagai koordinatnya (sumbu Y). Untuk kategori kekuatan aktivitas antioksidan dapat dilihat pada table 1 [11–13].

Table 1 Kategori Kekuatan Aktivitas Antioksidan [11–13]

No.	Kategori	Konsentrasi mg/ml
1.	Sangat kuat	< 50
2.	Kuat	50-100
3.	Sedang	101-105
4.	Lemah	151-200

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

Pembuatan Air Laut Buatan

Air laut buatan dibuat dengan cara melarutkan 38 gram garam tanpa iodium dalam 1 liter air, lalu diaduk sampai homogen. Kemudian disaring dengan kertas *Whatman* [14,15].

Penetasan telur *Artemia Salina* Leach

Penetasan telur dilakukan dalam dengan cara menyiapkan wadah untuk menetas telur udang. Adapun wadah yang digunakan dibagi menjadi dua bagian, yaitu bagian gelap dan bagian terang dengan menyekatnya dan diberi lubang pada sekatan. Kemudian ditambahkan dengan air laut buatan sebanyak 500 ml. satu ruang dalam wadah tersebut diberi penerangan dengan cahaya lampu 40-60 watt agar suhu penetasan tetap terjaga 25-31°C . Sedangkan .diruang sebelahnya diberi air laut buatan tanpa penerangan ditutup dengan aluminium foil atau lakban hitam. Kemudian pada bagian gelap dimasukkan satu sendok teh telur, dibiarkan 2x24 jam sampai telur menetas menjadi larva yang aktif bergerak kemudian siap digunakan sebagai hewan uji [14,16].

Uji Toksisitas Ekstrak Batang Kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr)

Pada pembuatan larutan induk ekstrak kayu kuning pada konsentrasi 2000 $\mu\text{g/ml}$ dengan menimbang 0,2 g ekstrak lalu dilarutkan dengan 100 ml air laut di labu tentukur 100 ml. dari larutan induk ini diencerkan menjadi 10 konsentrasi untuk terlebih dahulu digunakan sebagai orientasi, yaitu konsentrasi 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000 $\mu\text{g/ml}$, dan 1 tabung digunakan untuk blanko, masing-masing dengan tiga kali pengulangan.

Disiapkan vial untuk pengujian, untuk masing-masing konsentrasi larutan uji membutuhkan 3 vial dan replikasi sebanyak 3 kali. Dalam 11 kelompok masing-masing vial terdiri dari 10 ekor larva udang yang

telah diisi dengan sampel yang telah dilarutkan dengan air laut buatan 10 ml. kelompok dua diberi larutan uji ekstrak kayu kuning dengan konsentrasi 100 µg/ml. kelompok 3 dengan konsentrasi 200 µg/ml. kelompok 4 dengan konsentrasi 300 µg/ml. kelompok 5 dengan konsentrasi 400 µg/ml. kelompok 6 dengan konsentrasi 500 µg/ml. kelompok 7 dengan konsentrasi 600 µg/ml. kelompok 8 dengan konsentrasi 700 µg/ml. kelompok 9 dengan konsentrasi 800 µg/ml. kelompok 10 dengan konsentrasi 900 µg/ml. kelompok 11 dengan konsentrasi 1000 µg/ml. masing-masing vial diletakkan dibawah penerangan lampu 40-60 watt. Pengamatan dilakukan 24 jam terhadap kematian larva udang kemudian dibandingkan dengan control. Tingkat toksisitas ditentukan dengan menghitung jumlah larva yang mati. Kriteria standart untuk menilai kematian larva udang adalah bila larva udang tidak menunjukkan pergerakan selama beberapa detik [14,16].

Analisis Data

Untuk mengetahui pengaruh ekstrak kayu kuning (*Arthemisa salina*) terhadap larva *Arthemisa salina* dilakukan perhitungan statistic dengan analisis probit. Perhitungan dilakukan dengan membandingkan antara larva mati terhadap jumlah keseluruhan, sehingga diperoleh persen kematian dilihat dalam nilai tabel probit. Dari data tersebut akan diketahui nilai probit dimasukkan kedalam persamaan regresi, sehingga dapat nilai LC₅₀.

Persamaan Regresi :

$$Y = a + bx$$

$$LC_{50} = \text{arc log } x$$

Keterangan ;

x : log konsentrasi

a : intercept

b : slope

y : nilai probit (Puspita, 2018).

Data hasil penelitian uji toksisitas diolah dan disajikan dalam bentuk tabel dan kurva. Data dari uji toksisitas tersebut akan dianalisis dengan analisis probit, nilai LC₅₀ dapat dihitung dengan memasukkan nilai 5 (probit 50% kematian hewan uji) sebagai y sehingga dihasilkan x sebagai nilai log konsentrasi. Antilog nilai x tersebut merupakan nilai LC₅₀ [17].

Hasil Dan Pembahasan

Hasil Identifikasi Tumbuhan

Hasil identifikasi tumbuhan yang dilakukan di *Herbarium Medanese* (MEDA) Universitas Sumatera Utara menyatakan bahwa tanaman yang digunakan pada penelitian ini yaitu tumbuhan Kayu Kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr) dari family *Menispermaceae*. Identifikasi ini bertujuan untuk memastikan kebenaran tumbuhan yang digunakan sebagai bahan uji.

Hasil Pengumpulan Sampel Tumbuhan

Kayu Kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr) diperoleh dari takengon, Aceh Tengah. Pengumpulan sampel kayu kauning dilakukan secara *purposive sampling*, yaitu tanpa membandingkan dengan tumbuhan yang sama dari daerah lain.

Hasil Pengolahan Kayu Kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr)

Sampel kayu kuning segar yang telah dikumpulkan didapatkan bobotnya sebanyak 9200 gram (9,2 kg), setelah dilakukan pengeringan dengan suhu 40°C maka diperoleh bobot simplisia sebanyak 932 gram untuk hasil % susut pengeringan (*loss on dring*) didapatkan sebesar 89,86 %.

Hasil Karakterisasi Simplisia Kayu Kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr)

Pemeriksaan karakterisasi suatu simplisia dilakukan dengan tujuan untuk menjamin mutu dari suatu simplisia tersebut. Hasil pemeriksaan kadar air, kadar sari larut dalam air, kadar sari larut dalam etanol, kadar abu total, dan kadar abu yang tidak larut asam dapat dilihat pada table 2. Hasil karakterisasi simplisia diperoleh bahwa kadar air 6 %, kadar sari yang larut air 6,5%, kadar sari yang larut dalam etanol 3,36%, kadar abu total 0,83%, kadar abu tidak larut asam 0,23%.

Tabel 2. Hasil karakterisasi simplisia kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr)

No.	Uraian	Hasil	Persyaratan MMI
1	Kadar air	6%	>10%
2	Kadar sari larut dalam air	6,5%	< 2%
3	Kadar sari larut dalam etanol	3,36%	< 2%
4	Kadar abu total	0,83%	> 1,5%
5	Kadar abu yang tidak larut dalam asam	0,23%	> 0,5%

Penetapan kadar air dilakukan untuk memberikan Batasan maksimal atau minimum besarnya kandungan air. Pengaturan kadar air sesuai dengan standar, bertujuan untuk menghindari pertumbuhan jamur yang cepat pada simplisia. Dengan demikian, penghilangan kadar air hingga jumlah tertentu berguna untuk memperpanjang daya tahan simplisia selama penyimpanan. Kadar sari larut dalam air dan etanol merupakan pengujian untuk penetapa jumlah kandungan senyawa yang dapat terlarut dalam air (kadar sari larut air) dan kandungan senyawa yang terlarut dalam etanol (kadar sari larut etanol).

Metode penentuan kadar sari digunakan untuk menentukan jumlah senyawa aktif yang terekstraksi dalam pelarut dari sejumlah simplisia. Prinsip dari ekstraksi didasarkan pada distribusi zat terlarut dengan perbandingan tertentu antara dua pelarut yang tidak saling bercampur [18].

Penetapan kadar abu total bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal dari proses awal hingga terbentuknya ekstrak, sedangkan penetapan kadar abu tidak larut asam bertujuan untuk mengetahui besarnya tingkat pengotor yang tercampur pada serbuk saat preparasi simplisia. Proses pengabuan simplisia dengan menggunakan tanur yang memijarkan sampel pada suhu 600°C dapat menyebabkan hilangnya kandungan alkali dan karbon dioksida pada senyawa karbonat. Prinsip kerja penetapan kadar abu yaitu bahan dipanaskan pada temperatur hingga senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap hingga tersisa unsur mineral dan anorganik saja [19].

Hasil Skrinning Fitokimia Kayu Kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr)

Skrinning fitokimia dilakukan untuk menguji ada tidaknya senyawa metabolit sekunder diantaranya seperti alkaloid, flavonoid, glikosida, saponin, tannin dan steroid/triterpenoid. Hasil skrinning fitokimia ekstrak dan simplisia kayu kuning dapat dilihat pada table 3 berikut ini.

Tabel 3. Hasil skrinning fitokimia kayu kuning

No.	Pemeriksaan	Simplisia kayu kuning	Ekstrak kayu kuning
1	Alkaloid	+	+
2	Flavonoid	+	+
3	Glikosida	+	+
4	Saponin	+	+
5	Tanin	+	+
6	Steroid/triterpenoid	+	+

Keterangan : (+) : mengandung golongan senyawa

(-) : tidak mengandung golongan senyawa

Pada table diatas menunjukkan positif beberapa beberapa golongan senyawa kimia metabolit sekunder dari hasil skrinning fitokimia kayu kuning yaitu, golongan alkaloid, flavonoid, glikosida, saponin, tannin dan steroid/triterpenoid. Aktivitas senyawa kanker pada ekstrak kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr) salah satunya dipengaruhi oleh senyawa flavonoid. Flavonoid dapat menangkal radikal bebas untuk menghambat kerusakan sel. Kandungan flavonoid yang tinggi dapat berkontribusi pada efek antioksidan, peningkatan imun dan sifat antikanker [20,21].

Flavonoid telah dilaporkan berperan dalam inisiasi, promosi dan perkembangan kanker dengan memodulasi berbagai enzim dan reseptor di sinyal transduksi jalur yang berhubungan dengan proliferasi sel, diferensiasi, apoptosis, peradangan, angiogenesis, metastasis dan pembalikan resistensi banyak obat [22–24].

Pada pemeriksaan alkaloid terdapat 3 pengujian yaitu pengujian dengan pereaksi mayer, dragendorf dan bouchardat. Pada pengujian pertama dengan pereaksi mayer menunjukkan hasil yang positif karena

terbentuk endapan menggumpal berwarna putih atau kuning. Kemudian pengujian kedua dengan preaksi dragendorff menunjukkan hasil yang positif ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna coklat. Pada pengujian ketiga dengan pereaksi bouchardat juga menunjukkan hasil yang positif karena membentuk endapan jingga. Dari hasil yang di dapatkan di atas dapat disimpulkan bahwa sampel positif mengandung alkaloid.

Hal ini sesuai dengan persyaratan, bahwasanya alkaloid dianggap positif jika terjadi endapan atau kekeruhan sedikitnya 2 reaksi dari 3 percobaan. Prinsip pengujian alkaloid pada dasarnya adalah pengendapan alkaloid dengan logam-logam berat. Endapan yang terbentuk karena adanya kompleks antara ion logam dari reagen dengan senyawa alkaloid. Penambahan HCl 2N di maksudkan untuk menarik senyawa alkaloid dalam sampel karena alkaloid bersifat basa maka dengan penambahan asam seperti HCl akan terbentuk garam, sehingga alkaloid akan terpisah komponen-komponen lain dari sel tumbuhan yang ikut terekstrak dengan mendistribusikannya ke fase asam [25–27].

Pada pemeriksaan tanin menunjukkan hasil yang positif terhadap simplisia dan ekstrak kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr). Hal ini dikarenakan terjadinya perubahan warna menjadi hijau kehitaman dengan penambahan $FeCl_3$ disebabkan adanya gugus hidroksil yang ada pada senyawa tanin didalam simplisia kayu kuning sehingga terjadi reaksi dengan $FeCl_3$ dan membentuk senyawa kompleks [28].

Pada pemeriksaan senyawa golongan saponin kayu kuning, terbentuk adanya busa yang stabil setelah pemberian asam klorida, yang tidak hilang kurang dari 10 menit, dan setinggi 1-10 cm. Hal ini menunjukkan bahwa pada simplisia dan ekstrak kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr) terdapat saponin. Timbulnya busa menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya. Hasil uji yang diperoleh menunjukkan terbentuknya busa setelah perlakuan, dan setelah diberikan 1 tetes HCl 2 N busa tidak hilang. Indikator terbentuknya busa tersebut menunjukkan adanya kandungan senyawa saponin [29].

Pengujian steroid dan triterpenoid di dasarkan pada kemampuan senyawa steroid dan triterpenoid dalam membentuk warna biru atau hijau untuk steroid dan merah atau ungu untuk triterpenoid. Steroid dan triterpenoid merupakan senyawa yang dapat terekstraksi dengan pelarut non polar atau semi polar. Hasil pemeriksaan didapatkan simplisia dan ekstrak kayu kuning positif mengandung steroid karena terbentuk warna hijau.

Pada pemeriksaan glikosida menunjukkan hasil yang positif, karena terbentuknya cincin berwarna ungu pada batas cairan larutan sisa setelah penambahan pereaksi molisch dan asam sulfat pekat. Mekanisme terbentuknya cincin ungu berasal dari karbohidrat yang terhidrolisis oleh asam sulfat menjadi monosakarida kemudian keduanya terkondensasi membentuk furfural yang bereaksi sehingga membentuk cincin ungu [30].

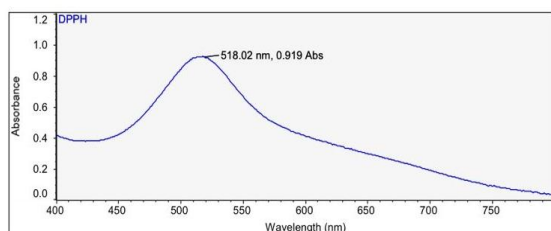
Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan

Hasil penentuan panjang gelombang maksimum DPPH

Radikal bebas DPPH memiliki warna komplementer ungu dan memberikan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 515 – 520 nm (Abdulkadir, 2021). Pada gambar 4.1 dapat dilihat pengukuran panjang gelombang maksimum larutan DPPH konsentrasi 40 $\mu\text{g/ml}$ dengan pelarut metanol menghasilkan serapan maksimum (0,919) pada panjang gelombang 518 nm. Pengukuran sampel harus dilakukan pada panjang gelombang maksimum agar kepekaannya lebih maksimal dan meminimalkan kesalahan karena pada panjang gelombang tersebut perubahan absorbansi untuk setiap satuan konsentrasi adalah yang paling besar.

Penentuan Operating Time

Penentuan *operating time* dilakukan untuk mengetahui waktu pengukuran paling stabil saat sampel bereaksi sempurna dengan DPPH [31,32]. *Operating time* dilakukan dengan mengukur antara waktu pengukuran dengan absorbansi larutan. Penetapan *operating time* perlu dilakukan untuk meminimalkan terjadinya kesalahan pengukuran. *Operating time* ditunjukkan dengan nilai absorbansi DPPH yang relatif konstan [32,33].



Gambar 1 Kurva serapan maksimum larutan 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl (DPPH)

Hasil pengukuran antioksidan kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr)

Hasil dari pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan pada masing-masing konsentrasi yaitu 20, 40, 60, 80 dan 100 $\mu\text{g/ml}$, kemudian ditambahkan larutan DPPH (200 $\mu\text{g/ml}$) dan diinkubasi selama 26-32 menit. Kemudian diukur serapannya pada Panjang gelombang maksimum 518 nm. Diperolehlah absorbansi dari masing-masing konsentrasi yaitu 0,762, 0,670, 0,595, 0,443 dan 0,364.

Tujuan diinkubasi karena reaksi berjalan lambat sehingga sampel membutuhkan waktu untuk dapat bereaksi dengan radikal bebas DPPH. Proses berjalannya reaksi tersebut ditandai dengan perubahan warna sampel kayu kuning yang awalnya ungu menjadi warna kuning. Perubahan warna tersebut menandakan pada masing-masing konsentrasi memiliki kemampuan sebagai antioksidan. Radikal bebas DPPH yang memiliki elektron tidak berpasangan akan memberikan warna ungu. Pada saat elektronnya berpasangan warna larutan akan berubah menjadi kuning. Perubahan intensitas warna ungu menjadi kuning karena adanya peredaman radikal bebas yang dihasilkan oleh bereaksinya molekul DPPH dengan atom hydrogen yang dilepas oleh molekul senyawa sampel sehingga terbentuk senyawa *diphenyl picrylhydrazil*. Reaksi ini menyebabkan terjadinya peluruhan warna dari ungu menjadi kuning. Perubahan warna tersebut menyebabkan penurunan nilai absorbansi pada setiap peningkatan konsentrasi [34–36].

Hasil Analisis Peredaman Radikal Bebas DPPH

Kemampuan aktivitas antioksidan kayu kuning diukur pada menit ke 26-32 sebagai penurunan serapan larutan radikal bebas DPPH (peredaman radikal bebas) akibat adanya penambahan larutan sampel, nilai serapan larutan radikal bebas DPPH sebelum dan sesudah penambahan larutan sampel dihitung sebagai persen peredaman. Hasil analisis yang telah dilakukan, diperoleh nilai persen peredaman pada masing-masing konsentrasi.

Tabel 4. Hasil analisis peredaman radikal bebas kayu kuning dan larutan vitamin c

Larutan Uji	Konsentrasi Larutan uji (ppm)	% Peredaman
Kayu Kuning	0 (Blanko)	-
	20	9,71%
	40	20,61%
	60	29,50%
	80	47,51%
	100	56,87%
Larutan Vitamin C	0 (Blanko)	-
	1	14,92%
	2	28,08%
	3	38,86%
	4	51,77%
	5	60,18%

Berdasarkan Tabel 4 diatas dapat disimpulkan bahwa semakin kecil konsentrasi larutan uji maka semakin kecil persen peredaman DPPH. Tinggi rendahnya aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh berbagai faktor diantaranya adalah sifatnya yang mudah rusak bila terpapar oksigen, cahaya, suhu tinggi, dan pengeringan.

Hasil analisis nilai IC₅₀

Aktivitas antioksidan pada metode DPPH dinyatakan dengan IC₅₀ (Inhibitory Concentration) dimana IC₅₀ merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi sampel (ppm) yang mampu meredam radikal bebas sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC₅₀ menunjukkan semakin tinggi aktivitas peredaman radikal bebasnya. Sebaliknya, jika nilai IC₅₀ semakin besar maka semakin rendah pula aktivitas peredaman radikal bebasnya. Aktivitas antioksidan dapat dibagi menjadi kategori sangat kuat, kuat, sedang, lemah, dan sangat lemah. Antioksidan dikatakan sangat kuat apabila memiliki nilai IC₅₀ kurang dari 50 µg/ml, antioksidan dikategorikan kuat jika memiliki nilai IC₅₀ 50-100 µg/ml, antioksidan dikategorikan sedang jika memiliki nilai IC₅₀ 100-150 µg/ml, antioksidan dikategorikan lemah jika memiliki nilai IC₅₀ 151-200 dan nilai IC₅₀ lebih dari 200 µg/ml merupakan antioksidan berkategori sangat lemah.

Nilai IC₅₀ diperoleh persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi sampel uji dengan persen peredaman DPPH sebagai parameter aktivitas antioksidan, dimana konsentrasi larutan uji (ppm) sebagai absis (sumbu x) dan nilai % peredaman sebagai ordinat (sumbu y). Hasil analisis nilai IC₅₀ uji aktivitas antioksidan ekstrak kayu kuning dan vitamin C dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil persamaan regresi linier, nilai IC₅₀ ekstrak kayu kuning dan larutan Vitamin C

No.	Larutan Uji	Persamaan regresi	IC ₅₀	Kategori
1	Ekstrak kayu kuning	$Y=0,6522x + 5,248$	9,65	Sangat kuat
2	Vitamin C	$Y= 12,0649x+2,1439$	3,96	Sangat kuat

Berdasarkan Tabel 5 menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak kayu kuning memiliki sangat kuat dengan nilai IC₅₀ yang diperoleh sebesar (9,65 µg/ml) dan pada pengukuran vitamin C (3,96 µg/ml) sebagai pembanding memiliki aktivitas antioksidan kategori sangat kuat [14,37,38].

Salah satu senyawa metabolit sekunder yang dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan yaitu flavonoid. Flavonoid merupakan antioksidan eksogen yang mengandung gugus fenolik dan telah dibuktikan bermanfaat dalam mencegah kerusakan sel akibat stress oksidatif. Senyawa flavonoid tersebut bertindak sebagai penangkap radikal bebas karena gugus hidroksil yang dikandungnya mendonorkan hydrogen kepada radikal bebas. Senyawa tersebut mampu menetralkan radikal bebas dengan memberikan elektron kepada radikal bebas sehingga atom dengan elektron yang tidak berpasangan mendapat pasangan elektron dan tidak lagi menjadi radikal [39,40].

Hasil Uji Toksisitas Kayu Kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr)

Senyawa toksisitas merupakan senyawa yang bersifat toksik untuk menghambat pertumbuhan sel kanker. Uji toksisitas terhadap larva udang (*Artemia salina* L) dengan menggunakan metode *brine shrimp Lethality Test* (BSLT) merupakan uji pendahuluan dalam upaya menentukan senyawa anti kanker dengan penentuan LC₅₀ setelah pemaparan larutan ekstrak selama 24 jam [19]. Penentuan LC₅₀ merupakan kadar suatu zat yang dapat menyebabkan 50% kematian pada hewan uji dari suatu kelompok spesies setelah hewan uji terpapar dalam waktu tertentu [41–43].

Langkah awal sebelum melakukan pengujian pada ekstrak kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr) mengembangbiakkan larva udang dengan cara menetas kista *Artemia salina* yang dilakukan kurang lebih selama 48 jam. Berdasarkan morfologinya, larva *Artemia salina* yang berumur 48 jam sudah mulai mempunyai mulut dan saluran pencernaan serta cadangan makanannya sudah mulai habis sehingga larva mulai mencari makan. *Artemia salina* yang berumur 48 jam sensitive terhadap suatu zat yang dimasukkan, berbeda dengan larva berumur 24 jam yang belum mempunyai saluran pencernaan sehingga zat yang akan dimasukkan tidak dapat diabsorpsi oleh larva [19]. Sehingga pada saat pemberian ekstrak kayu kuning larva akan memakan larutan ekstrak tersebut yang akan berdampak terhadap hidup larva. Setelah 24 jam pengaruh pemberian ekstrak akan terlihat dari kematian larva.

Saat mengembangbiakkan *Artemia salina*, alat yang digunakan dibuat dalam bentuk wadah persegi yang terdiri dari dua bagian, yaitu bagian gelap dan bagian terang. Fungsi bagian gelap adalah penetasan kista dan bagian terang adalah untuk memberikan sinar selama proses penetasan. Tujuan pemberian sinar yaitu agar selama proses penetasan larva, kista yang sudah menetas dan menjadi larva akan mendekati kesumber cahaya yang berasal dari lampu. Selain itu alat penetasan kista *Artemia salina* harus dilengkapi dengan aerator yang harus dihidupkan terus sampai terjadi penetasan, fungsi lain dari aerator adalah untuk

mencegah pengendapan kista didasar tangka. Pengendapan kista ini dapat mengakibatkan kondisi anaerob pada kista-kista sehingga perkembangan embrio akan terhambat [19].

Kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr) yang sudah melalui proses ekstraksi dengan pelarut etanol 70% siap digunakan untuk pengujian BSLT. Larutan induk dari ekstrak kayu kuning dibuat 2000 µg/ml yaitu dengan menimbang 0,2 g ekstrak kayu kuning dengan 100 ml air laut buatan. Kemudian larutan induk yang telah dibuat diencerkan menjadi beberapa konsentrasi, yaitu 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, dan 1000 µg/ml, yang akan digunakan untuk uji orientasi konsentrasi terlebih dahulu. Selain itu dibuat juga kontrol negatif berupa air laut buatan. Hal ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh air laut maupun faktor lain terhadap kematian larva. Sehingga dapat dipastikan bahwa kematian larva hanyalah akibat dari penambahan ekstrak yang dilakukan. Uji dilakukan dengan 3 kali replikasi/pengulangan (*triplo*) dengan tujuan agar mendapat data yang lebih baik dan lebih akurat [44,45].

Kemudian masing-masing konsentrasi tersebut diujikan kedalam vial yang telah dikalibrasi selanjutnya dimasukkan larva udang yang telah ditetaskan sebelumnya sebanyak 10 ekor larva udang pada masing-masing vial dan ditambahkan air laut hingga batas kalibrasi. Setelah 24 jam, maka hitung berapa banyak larva udang yang mati, hitung % kematian dan nilai LC₅₀ (*Lethal Cocentration* 50). LC₅₀ adalah besarnya konsentrasi sampel yang dapat menyebabkan kematian hewan uji sebanyak 50% dan untuk melihat efek toksik dari sampel uji setelah 24 jam terhadap larva *Artemia salina* [46].

Tabel 6. Hasil uji pendahuluan toksisitas ekstrak kayu kuning

Konsentrasi ekstrak (µg/ml)	Jumlah larva udang tiap vial uji	Jumlah larva yang mati			Total larva yang mati	Rata-rata kematian larva	% Mortalitas
		P ₁	P ₂	P ₃			
0	10	0	0	0	0	0	0
100	10	3	2	3	8	2,66	26,6
200	10	4	3	4	11	3,66	36,6
300	10	5	4	4	13	4,33	43,3
400	10	5	6	6	17	5,66	56,6
500	10	6	7	6	19	6,33	63,3
600	10	8	7	7	22	7,33	73,3
700	10	8	8	8	24	8	80
800	10	9	9	10	28	9,33	93,3
900	10	10	9	10	29	9,66	96,6
1000	10	10	10	10	30	10	100

Kematian larva *Artemia salina* pada setiap konsentrasi diamati secara visual. Kriteria kematian larva *Artemia salina* ditentukan berdasarkan ketiadaan pergerakan sama sekali selama pengamatan. Setelah 24 jam, persentase kematian larva *Artemia salina* pada ekstrak kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr.) menunjukkan variasi pada setiap konsentrasi yang diuji. Standar kriteria kematian larva udang adalah jika larva tidak menunjukkan pergerakan selama 10 detik pengamatan. Setelah 24 jam, jumlah larva yang mati dicatat, dan persentase kematian dihitung untuk setiap konsentrasi berdasarkan ketiadaan pergerakan selama pengamatan [17,47].

Berdasarkan hasil pengujian toksisitas ekstrak kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr.) terhadap larva *Artemia salina*, terlihat bahwa persentase kematian larva meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak. Hal ini menunjukkan adanya hubungan yang positif antara konsentrasi ekstrak dan efek toksiknya. Konsentrasi yang digunakan dalam pengujian ini berkisar antara 100 hingga 700 µg/ml, dipilih karena menghasilkan persentase kematian larva antara 30-80%. Rentang ini dianggap optimal karena mampu memberikan kurva linier yang baik, sehingga memudahkan dalam penentuan nilai LC₅₀ (*Lethal Concentration* 50) dengan akurasi yang lebih tinggi [47,48].

Data Tabel 7, dapat diamati bahwa pada konsentrasi 100 µg/ml, persentase kematian larva adalah 26,6%, yang kemudian meningkat secara bertahap hingga mencapai 80% pada konsentrasi 700 µg/ml. Peningkatan ini menunjukkan bahwa ekstrak kayu kuning memiliki aktivitas toksik yang signifikan terhadap larva *Artemia salina*. Nilai probit yang diperoleh dari analisis data juga menunjukkan tren yang konsisten, di

mana semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin tinggi pula nilai probitnya. Misalnya, pada konsentrasi 100 µg/ml, nilai probit adalah 4,3750, sedangkan pada konsentrasi 700 µg/ml, nilai probit meningkat menjadi 5,8416.

Nilai LC₅₀ diperoleh dari grafik analisis probit yang menggambarkan hubungan antara log konsentrasi dan nilai probit. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak kayu kuning memiliki potensi toksik yang cukup tinggi, dengan nilai LC₅₀ yang dapat diestimasi secara akurat dalam rentang konsentrasi 100-700 µg/ml. Temuan ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa ekstrak kayu kuning mengandung senyawa bioaktif seperti alkaloid dan flavonoid, yang diketahui memiliki aktivitas toksik terhadap organisme uji [47,48]. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa ekstrak kayu kuning memiliki potensi sebagai agen toksik yang efektif, yang dapat dikembangkan lebih lanjut untuk aplikasi dalam bidang pengendalian hayati atau sebagai bahan baku obat tradisional. Namun, penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengidentifikasi senyawa aktif yang bertanggung jawab terhadap aktivitas toksik ini serta menguji efeknya pada organisme non-target untuk memastikan keamanan penggunaannya.

Tabel 7. Hasil pengujian toksisitas ekstrak kayu kuning

Konsentrasi (µg/ml)	% Mortalitas	Log Konsentrasi	Nilai probit
100	26,6	2,0000	4,3750
200	36,6	2,3010	4,6575
300	43,3	2,4771	4,8313
400	56,6	2,6020	5,1662
500	63,3	2,6989	5,3398
600	73,3	2,7781	5,6219
700	80	2,8450	5,8416

Setelah mengetahui persen kematian, kemudia dilihat dalam tabel probit pada lampiran. Analisis probit dilakukan untuk mengetahui tingkat konsentrasi bahan yaitu ekstrak kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr) terhadap respon sampel (persentase kematian sel) [14,49]. Setelah dilakukan analisis probit dapat diketahui grafik persamaan garis lurus $y = 0,7905x + 1,7117$. Dengan memasukkan nilai y yaitu nilai probit 50% hewan uji dan didapatkan nilai $x = 2,4592$ adalah 287, 872 µg/ml. parameter yang ditunjukkan untuk mengetahui adanya aktivitas biologi pada senyawa terhadap hewan uji ialah dengan menghitung jumlah larva yang mati karena pengaruh pemberian senyawa dengan konsentrasi yang telah ditentukan [14,50].

Tabel 8. Hasil persamaan regresi linier, nilai LC₅₀ ekstrak kayu kuning

No.	Larutan Uji	Persamaan regresi	IC ₅₀	Kategori
1	Ekstrak kayu kuning	$Y = 0,7905x + 1,7117$	287,872	Toksik

Menurut Meyer *et al* (1982) mengatakan bahwa pada metode BSLT suatu ekstrak dikatakan aktif bila dapat menyebabkan kematian 50% hewan uji pada konsentrasi kurang dari 1000 µg/ml [19], sedangkan menurut Anderson *et al* (1991) menyatakan bahwa suatu senyawa memiliki nilai LC₅₀ 250-500 µg/ml [46]. Maka senyawa tersebut dikatakan toksik, oleh karena itu dapat disimpulkan bahwa ekstrak kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr) mempunyai potensi toksisitas. Penunjukkan efek toksisitas yang dihasilkan memberikan indikasi terganggunya proses pembentukan sel, dalam hal ini diasumsikan sebagai sel kanker [46].

Mekanisme kematian larva *Artemia salina* yang berkaitan dengan senyawa alkaloid dan flavonoid berfungsi sebagai penghenti nafsu makan. Ketika senyawa ini diintroduksi ke dalam tubuh larva, mereka bertindak sebagai racun perut, menyebabkan gangguan dalam sistem pencernaan. Hal ini dapat terjadi melalui penghambatan reseptor rasa di mulut larva, yang mengakibatkan kegagalan larva dalam mendeteksi makanan, sehingga berisiko mati akibat kelaparan [14,51]. Senyawa alkaloid dan flavonoid terkenal memiliki efek toksik yang cukup kuat. Penelitian menunjukkan bahwa alkaloid dan flavonoid yang diisolasi dari tanaman seperti *Acalypha hispida* dapat meningkatkan pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS) yang menyebabkan stres oksidatif, yang selanjutnya merusak DNA, protein, dan lipid dalam sel [52].

Pengaruh toksik dari senyawa tersebut juga dipicu oleh stres oksidatif yang dihasilkan dari akumulasi ROS. Stres oksidatif adalah hasil dari ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas dan kemampuan tubuh untuk menetralkannya [53]. Beberapa studi telah mengindikasikan bahwa senyawa flavonoid tidak hanya terlibat dalam proses penghambatan mikroba, tetapi juga dalam modulas respons saraf dan peradangan, berkontribusi pada efek toksik lebih lanjut pada larva *Artemia salina* [54]. Senyawa-senyawa bioaktif dari ekstrak tanaman sering kali berfungsi dalam merusak aktivitas pencernaan, menyebabkan gangguan pada metabolisme dan akumulasi lipid yang berdampak pada kerusakan sel. Efek racun perut ini bersifat multifaset, yang mencakup penghalangan saluran pencernaan dan penghambatan respons sensorik, yang vital bagi proses pengecap dan tidak dapat diabaikan dalam hal peningkatan kematian larva [55].

Lebih jauh, senyawa alkaloid dan flavonoid juga mempengaruhi sistem enzim antioksidan larva. Meningkatnya stres oksidatif dapat mengganggu keseimbangan antara oksidasi dan antioksidasi dalam sel, sehingga mempercepat kerusakan sel dan kematian larva [56]. Penelitian yang dilakukan oleh Vitorino et al. menggarisbawahi sifat pro-oksidan dari berbagai senyawa, menunjukkan bahwa paparan terhadap senyawa ini dapat menyebabkan kematian sel akibat kerusakan membran dan struktur dalam sel [55]. Oleh karena itu, senyawa alkaloid dan flavonoid tidak hanya berperan sebagai antifeedant yang mengurangi minat makan, tetapi juga sebagai mediator yang memperburuk kondisi fisiologis larva *Artemia salina*, mempercepat kematian sel dan larva akibat stres oksidatif dan disfungsi pencernaan [57].

Senyawa golongan flavonoid dapat menginduksi fragmentasi DNA yang mengakibatkan DNA menjadi rusak, kerusakan DNA mengakibatkan munculnya peningkatan protein proapoptosis sehingga terjadi proses apoptosis sel yang mengakibatkan kematian sel, dan proses pertumbuhan sel dapat terhalang dan mengakibatkan kematian sel [58].

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr) menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 9,65 µg/ml. Selain itu, hasil uji toksisitas menggunakan metode Brine Shrimp Lethality Test menunjukkan bahwa ekstrak kayu kuning memiliki daya toksisitas dengan nilai LC₅₀ sebesar 287,872 µg/ml, yang dikategorikan sebagai toksik.

Conflict of Interest

Para penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian ini. Seluruh proses penelitian dan penulisan dilakukan secara mandiri, tanpa intervensi eksternal, serta bebas dari kepentingan pribadi, finansial, atau profesional yang dapat memengaruhi objektivitas dan integritas hasil.

Acknowledgment

Penulis menyampaikan rasa terima kasih yang mendalam kepada semua pihak yang telah mendukung pelaksanaan penelitian ini, khususnya kepada Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah Medan atas penyediaan fasilitas yang memungkinkan terlaksananya penelitian ini.

Supplementary Materials

Referensi

- [1] Sari P, Sugita P, Santoso A. Aktivitas antioksidan, antibakteri, dan toksisitas ekstrak kulit batang pohon kesambi (*Schleichera oleosa* (Lour) Oken). *J Jamu Indones* 2019;4:112–8.
- [2] Suratno S, Rizki MI, Pratama MRF. In-vitro study of antioxidant activities from ethanol extracts of Akar Kuning (*Arcangelisia flava*). *J Surya Med* 2019;4.
- [3] Tariza AF. Uji Efek Inhibisi Ekstrak Etanol Daun Kayu Kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr.) Terhadap

Enzim Xantin Oksidase Secara In Vitro 2021.

- [4] Sawiji RT, La EOJ. Formulasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Sediaan Body Butter Ekstrak Etanol Umbi Bit (*Beta vulgaris L.*) Dengan Metode DPPH. *J Ilm Manuntung Sains Farm Dan Kesehat* 2022;8:173–80.
- [5] Yunita E, Sari DRAP. Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Fraksi Etil Asetat dan Fraksi N-Heksan Daun Pegagan (*Centella Asiatica L.*). *J Mandala Pharmacon Indones* 2022;8:58–66.
- [6] Shinditya. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit kentang (*Solanum tuberosum L.*) dengan metode DPPH menggunakan Spektrofotometri Visible. universitas muslim nusantara al-washliyah Medan, 2021.
- [7] Ilmiah M, Anggarani MA, Mahfudhah DN. Literature Review of Antioxidant Activity of Several Types of Onions and Its Potential as Health Supplements. *Indones J Chem Sci* 2023;12:103–11.
- [8] Rachmawati E, Ulfa EU. Uji toksisitas subkronik ekstrak kayu kuning (*Arcangelisia flava Merr*) terhadap hepar dan ginjal. *Glob Med Heal Commun* 2018;6:1–6.
- [9] Indonesia DKR, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Departemen Kesehatan, Anonim. *Materia Medika Indonesia Jilid VI*. Jakarta Dep Kesehat Republik Indones 1978.
- [10] Molyneux P. The stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) is used to estimate antioxidant activity. *Songklanakar J Sci Technol* 2004;26:211–9.
- [11] ASRA R, Azni NR, Rusdi R, Nessa N. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Fraksi Heksan, Fraksi Etil Asetat dan Fraksi Air Daun Kapulaga (*Elettaria cardamomum (L.) Maton*). *J Pharm Sci* 2019;2:30–7. <https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v2i1.17>.
- [12] Maulydya CE, Yuniarti R, Dalimunthe GI, Nasution HM. Analisis Aktivitas Antioksidan Teh Daun Jamblang (*Syzygium Cumini (L.) Skeels*) Dengan Metode DPPH (1, 1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl). *Farmasainkes J Farm Sains, Dan Kesehat* 2023;2:189–200.
- [13] Febriani Y, Axyvia Q, Salman S. Formulasi Dan Uji Antioksidan Sediaan Face Mist Dari Ekstrak Etanol Buah Malaka (*Phyllanthus emblica L.*) Sebagai Pelembab Wajah. *Forte J* 2024;4:114–21.
- [14] Afwa N. Fermentasi Seduhan Kopi Arabika Dengan Bakteri *Lactoacillus Casei* Dan Ragi *Saccharomyces Cerevisiae* Dan Uji Toksisitas. *J Indah Sains Dan Klin* 2021;2. <https://doi.org/10.52622/jisk.v2i3.41>.
- [15] Safriani L, Nasution MP, Nasution HM, Rahayu YP. Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Efek Sitotoksitas Daun Jamblang (*Syzygium cumini L.*) pada Larva Udang *Artemia salina* Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test. *FARMASAINKES J Farm SAINS, Dan Kesehat* 2023;3:87–101.
- [16] Widyasari R, Yuspitasari D, Wildaniah W, Wahida RC. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Kulit Buah Jeruk Sambal (*Citrus microcarpa Bunge*) Terhadap Larva *Artemia salina L.* Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Med Sains J Ilm Kefarmasian* 2018;3:51–8.
- [17] Fadli F, Suhaimi S, Idris M. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum (Wight) Walp.*) Dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test). *Med Sains J Ilm Kefarmasian* 2019;4:35–42.
- [18] Handayani S, Wirasutisna KR, Insanu M. Penapisan fitokimia dan karakterisasi simplisia daun jambu mawar (*syzygium jambos alston*). *J Farm UIN Alauddin Makassar* 2017;5:174–83.
- [19] Meyer BN, Ferrigno NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DEJ, McLaughlin JL. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Med* 1982;45:31–4.
- [20] Widiarsiani IAP, Udayani NNW, Triansyah GAP, Dewi NPEMK, Wulandari NLWE, Prabandari AASS. Artikel Review: Peran Antioksidan Flavonoid dalam Menghambat Radikal Bebas. *J Syifa Sci Clin Res* 2024;6.
- [21] Dewi SR, Argo BD, Ulya N. Kandungan flavonoid dan aktivitas antioksidan ekstrak *Pleurotus ostreatus*. *Rona Tek Pertan* 2018;11:1–10.
- [22] Ravishankar D, Rajora AK, Greco F, Osborn HMI. Flavonoids as prospective compounds for anti-cancer therapy. *Int J Biochem Cell Biol* 2013;45:2821–31.
- [23] Khan AU, Dagur HS, Khan M, Malik N, Alam M, Mushtaque MD. Therapeutic role of flavonoids and flavones in cancer prevention: Current trends and future perspectives. *Eur J Med Chem Reports* 2021;3:100010.
- [24] Karak P. Biological activities of flavonoids: an overview. *Int J Pharm Sci Res* 2019;10:1567–74.
- [25] Wullur AC, Schaduw J, Wardhani ANK. Identifikasi alkaloid pada daun sirsak (*Annona muricata L.*). *J Ilm Farm* 2012;3:54–6.

- [26] Oktapiya TR, Pratama NP. Analisis fitokimia dan kromatografi lapis tipis ekstrak etanol daun rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Sasambo J Pharm* 2022;3:105–10.
- [27] Putri AP, Nasution MP. Skrining Fitokimia Dan Uji Sitotoksisitas Ekstrak Etanol Daun Tapak Dara (*Catharanthus Roseus* L.) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (Bslt). *J Heal Med Sci* 2022:203–19.
- [28] Putra GMD, Satriawati DA, Astuti NKW, Yadnya-Putra A. Standarisasi dan skrining fitokimia ekstrak etanol 70% daun jeruk limau (*Citrus amblycarpa* (Hassk.) Osche). *J Kim* 2018;12:187–94.
- [29] Leonardy C, Nurmainah, Hafrizal R. Karakterisasi dan Skrining Fitokimia Infusa Kulit Buah Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) pada Variasi Usia Kematangan Buah. *J Farm Sains Dan Prakt* 2015;1:1–15.
- [30] Rubianti I, Azmin N, Nasir M. Analisis Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Golka (*Ageratum conyzoides*) Sebagai Tumbuhan Obat Tradisional Masyarakat Bima. *JUSTER J Sains Dan Terap* 2022;1:7–12.
- [31] Rachmani EPN, Pramono S, Nugroho AE. Aktivitas antioksidan fraksi flavonoid bebas andrografolid dari herba sambiloto (*andropholis paniculata*). *J Farm Medica/Pharmacy Med J* 2018;1.
- [32] Rahmah R, Rahayu YP, Ridwanto R, Daulay AS. Skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan metode DPPH. *J Pharm Sci* 2023:9–25. <https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v6i5-si.369>.
- [33] Suharyanto S, Prima DAN. Penetapan kadar flavonoid total pada juice daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* L.) yang berpotensi sebagai hepatoprotektor dengan metode spektrofotometri uv-vis. *Cendekia J Pharm* 2020;4:110–9.
- [34] Yanti R, Nasution MA, Ridwanto R, Nasution HM. Skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun kedondong (*Spondias dulcis* Soland. ex Forst. fil) dengan metode DPPH. *J Pharm Sci* 2023:177–88. <https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v6i5-si.377>.
- [35] Nazirah N, Nasution MA, Ridwanto R, Nasution HM. Skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.) dari Gampong Bunot, Pidie Jaya dengan metode DPPH. *J Pharm Sci* 2023:104–16. <https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v6i5-si.376>.
- [36] Mulyani F, Rahayu YP, Daulay AS, Nasution HM. Phytochemical screening and antioxidant activity test of ethanol extract of Kasturi mango leaves (*Mangifera Kasturi* Koesterm.) from Darien Bungong village, Pidie Jaya, using the DPPH method. *J Pharm Sci* 2023:49–63. <https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v6i5-si.374>.
- [37] Meisa D. Potensi Antioksidan Kombinasi Ekstrak Daun Cocor Bebek (*Kalanchoe pinnata* L.) Dan Ekstrak Daun Kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.) Dengan Metode DPPH 2024.
- [38] Salman S, Indriana M. Activity Ethanol Extract Of Mangga (*Curcuma mangga* Val.) Feet Udem Rat White. *J Pharm Sci* 2019;2:41–6. <https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v2i2.83>.
- [39] Asih DJ, Warditiani NK, Wiarsana IGS. Review artikel: Aktivitas antioksidan ekstrak Amla (*Phyllanthus emblica/Emblica officinalis*). *Humantech J Ilm Multidisiplin Indones* 2022;1:674–87.
- [40] Septiani R, Marianne M, Nainggolan M. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol fraksi N-Heksan serta fraksi etil asetat daun jamblang (*Syzygium cumini* L. Skeels) dengan metode DPPH. *Talent. Conf. Ser. Trop. Med.*, vol. 1, 2018, p. 361–6.
- [41] Wahyuni S, Marpaung MP. Penentuan kadar alkaloid total ekstrak akar kuning (*Fibraurea chloroleuca* Miers) berdasarkan perbedaan konsentrasi etanol dengan metode spektrofotometri uv-vis. *Dalt J Pendidik Kim Dan Ilmu Kim* 2020;3.
- [42] Temarwut FF, Saharuddin M, Ishak P, Rusnah R. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Air Buah Pare (*Momordica Charantia* L.) Terhadap Larva Udang (*Artemia Salina* Leach) Dengan Metode Brine Shrimp Lethally Test (Bslt). *Fito Med J Pharm Sci* 2022;13:77–83.
- [43] Masriyono M, Radityaningrum AD. Uji Toksisitas LC50 Air Limbah Restoran Cepat Saji Terhadap Biota Uji Ikan Nila Melalui Analisa Probabilitas Menggunakan Software Minitab. *Pros. Semin. Teknol. Perencanaan, Perancangan, Lingkungan. dan Infrastruktur*, vol. 1, 2019, p. 459–64.
- [44] Reskianingsih A. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Buah *Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl Terhadap Larva *Artemia salina* Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) 2014.
- [45] Zulfiah Z, Megawati M, Herman H, Lau SHA, Hasyim MF, Murniati M, et al. uji Toksisitas Ekstrak Rimpang Temu Hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb.) Terhadap Larva Udang (*Artemia salina* Leach)

- Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). J Farm Sandi Karsa 2020;6:44–9.
- [46] McLaughlin JL, Rogers LL, Anderson JE. The use of biological assays to evaluate botanicals. Drug Inf J 1998;32:513–24.
- [47] Adriana ANI. Uji Lc50 Ekstrak Batang Akar Kuning (*Arcangelisia Flava* Merr) Terhadap Larva Udang (*Artemia Salina* Leach) Dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test). Pharmacol Pharm Sci Journals 2023;2:9–16. <https://doi.org/10.51577/papsjournals.v2i1.416>.
- [48] Naher S, Aziz MA, Akter MI, Rahman SMM, Sajon SR, Mazumder K. Anti-Diarrheal Activity and Brine Shrimp Lethality Bioassay of Methanolic Extract of *Cordyline fruticosa* (L.) A. Chev. Leaves. Clin Phytoscience 2019;5. <https://doi.org/10.1186/s40816-019-0109-z>.
- [49] Naritasari F, Susanto H, Supriatno S. The Effect Of Pineapple Stem Ethanol Extract Of (*Ananas comosus* (L.) To Apoptosis Of Oral Tongue Squamous Cell Carcinoma Cell Line. Maj Obat Tradis n.d.;15:16–25.
- [50] Subekti NK. Uji toksisitas akut ekstrak metanol daun laban abang (*aglaia elliptica blume*) terhadap larva udang (*artemia salina leach*) dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) 2014.
- [51] Sari MP, Nugroho LH, Sukarno S. Effectiveness of N-Hexane and Ethanol Extract of Papaya (*Carica Papaya* L.) Leaves as Shallot Pest (*Spodoptera Exigua* Hübner) Natural Insecticide. J Biol Udayana 2022;26:216. <https://doi.org/10.24843/jbiounud.2022.v26.i02.p07>.
- [52] Kumar D, Roy R, Parashar A, Raichur AM, Chandrasekaran N, Mukherjee A, et al. Toxicity Assessment of Zero Valent Iron Nanoparticles on *Artemia Salina*. Environ Toxicol 2017;32:1617–27. <https://doi.org/10.1002/tox.22389>.
- [53] Giacco F, Brownlee M. Oxidative Stress and Diabetic Complications. Circ Res 2010;107:1058–70. <https://doi.org/10.1161/circresaha.110.223545>.
- [54] James RJ, Halim H, Nasir MMA, Amiruddin FH, Hazalin NAMN. Protective Effect of *Carica Papaya* Leaves Against Oxidative Stress in Brine Shrimps. Int J Public Heal Sci 2023;12:1070. <https://doi.org/10.11591/ijphs.v12i3.22494>.
- [55] Keller AA, Garner KL, Miller RJ, Lenihan HS. Toxicity of Nano-Zero Valent Iron to Freshwater and Marine Organisms. PLoS One 2012;7:e43983. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0043983>.
- [56] Zhu S, Xue M, Luo F, Chen W, Zhu B, Wang G. Developmental Toxicity of Fe₃O₄ Nanoparticles on Cysts and Three Larval Stages of *Artemia Salina*. Environ Pollut 2017;230:683–91. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.06.065>.
- [57] Tridiptasari A, Leksono AS, Siswanto D. Antifeedant Effect of *Moringa Oleifera* (L.) Leaf and Seed Extract on Growth and Feeding Activity of *Spodoptera Litura* (Fab.) (Lepidoptera: Noctuidae). J Exp Life Sci 2019;9:25–31. <https://doi.org/10.21776/ub.jels.2019.009.01.05>.
- [58] BSLT LT. Penapisan Fitokimia dan Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Beberapa Tanaman Obat Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach n.d.