**PENGARUH METODE EKSTRAKSI TERHADAP EFEK SITOTOKSISITAS DAUN JAMBLANG (*Syzygium cumini* L.) pada LARVA UDANG *Artemia salina* Leach DENGAN METODE *BRINE* *SHRIMP LETHALITY TEST***

**SKRIPSI**

**OLEH:**

**LENI SAFRIANI**

**NPM. 212114160**

****

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI**

**FAKULTAS FARMASI**

**UNIVERSITAS MUSLIM NUSANTARA AL-WASHLIYAH**

**MEDAN**

**2023**

**PENGARUH METODE EKSTRAKSI TERHADAP EFEK SITOTOKSISITAS DAUN JAMBLANG (*Syzygium cumini* L.) pada LARVA UDANG *Artemia salina* Leach DENGAN METODE *BRINE* *SHRIMP LETHALITY TEST***

**SKRIPSI**

**Diajukan Untuk Melengkapi dan Memenuhi Syarat-Syarat Untuk Memperoleh Gelar**

**Sarjana Farmasi Pada Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Farmasi**

**Univeristas Muslim Nusantara Al-Washliyah**

**OLEH:**

**LENI SAFRIANI**

**NPM. 212114160**

****

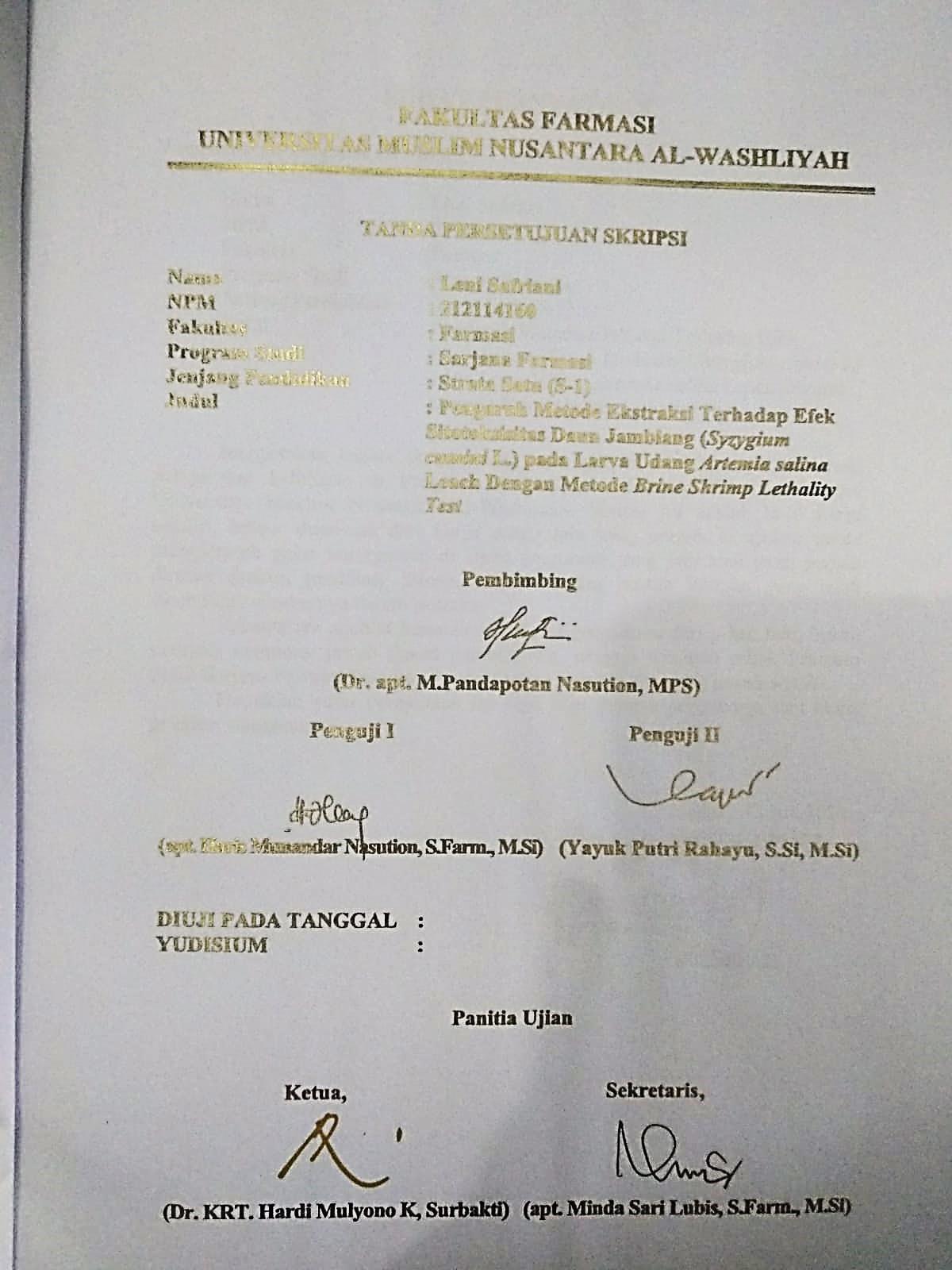
**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI**

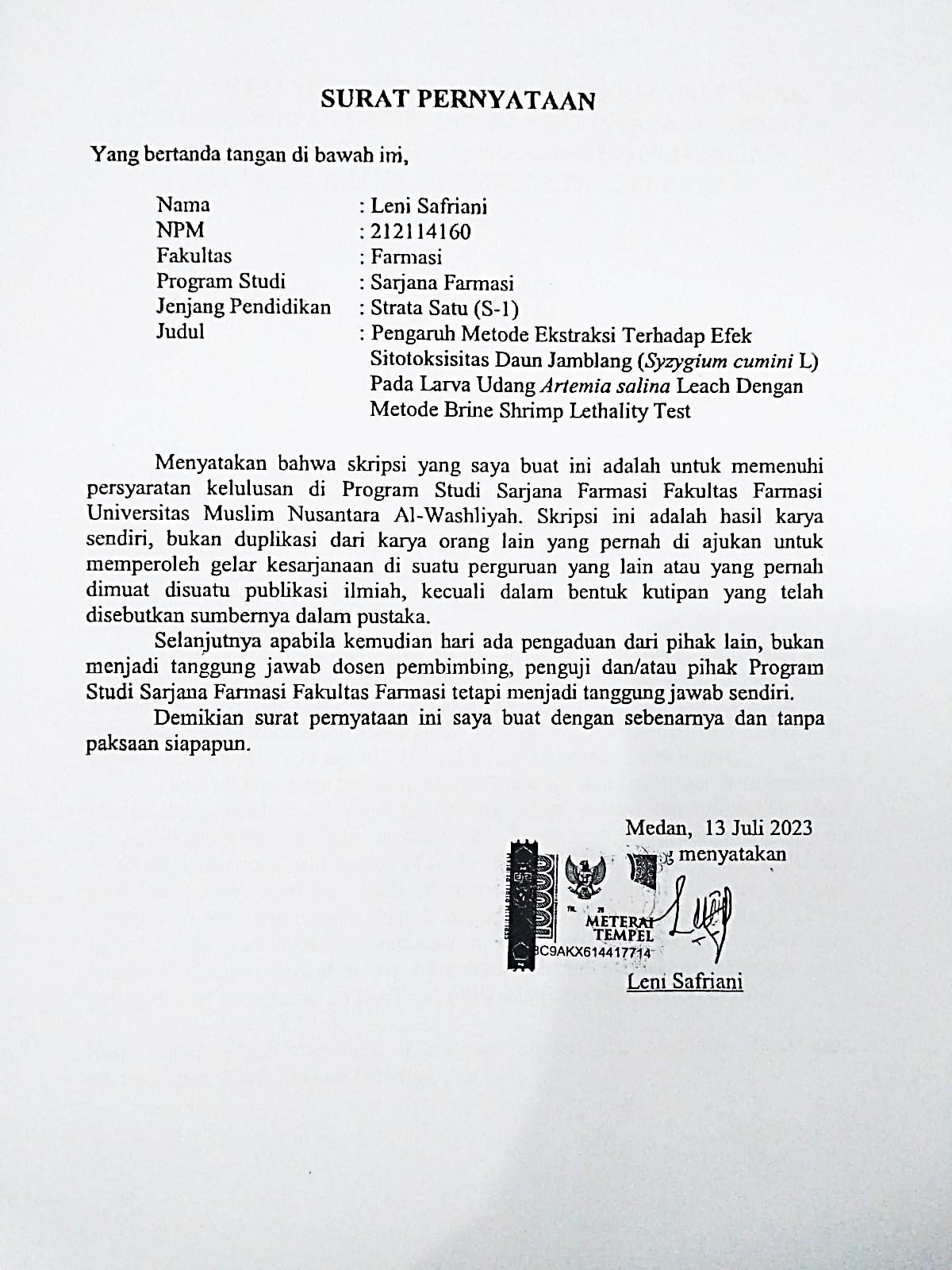
**FAKULTAS FARMASI**

**UNIVERSITAS MUSLIM NUSANTARA AL-WASHLIYAH**

**MEDAN**

**2023**

****

****

**PENGARUH METODE EKSTRAKSI TERHADAP EFEK SITOTOKSISITAS DAUN JAMBLANG (*Syzygium cumini* L.) pada LARVA UDANG *Artemia salina* Leach DENGAN METODE *BRINE* *SHRIMP LETHALITY TEST***

**LENI SAFRIANI**

**NPM. 212114160**

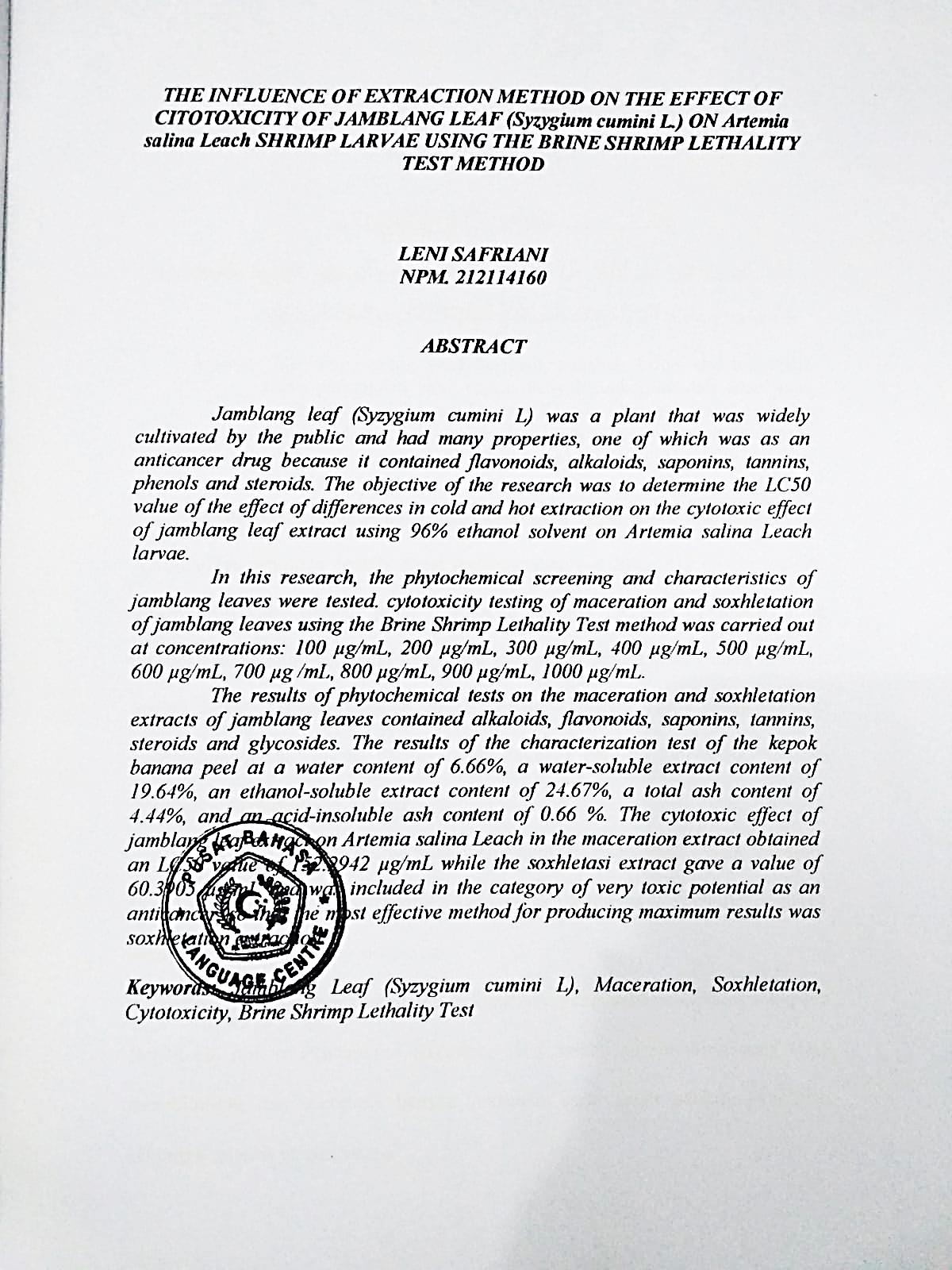
**ABSTRAK**

Daun Jamblang (*Syzygium cumini* L) adalah tumbuhan yang banyak di budidayakan oleh masyarakat dan mempunyai banyak khasiat salah satunya sebagai obat antikanker karena mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, fenol, dan steroid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui nilai LC50 dari pengaruh perbedaan ekstraksi secara dingin dan panas terhadap efek sitotoksisitas ekstrak daun jamblang menggunakan pelarut etanol 96% pada larva *Artemia salina* Leach.

Pada penelitian ini dilakukan pengujian skrining fitokimia dan karakteristik daun jamblang. Pengujian sitotoksisitas ekstrak maserasi dan soxhletasi daun jamblang menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality* *Test* dilakukan pada konsentrasi: 100 µg/mL, 200 µg/mL, 300 µg/mL, 400 µg/mL, 500 µg/mL, 600 µg/mL, 700 µg/mL, 800 µg/mL, 900 µg/mL, 1000 µg/mL

Hasil uji fitokimia terhadap ekstrak maserasi dan soxhletasi daun jamblang mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid dan glikosida. Hasil pengujian karakterisasi daun jamblang pada kadar air 6,66 %, kadar sari larut air 19,64 %, kadar sari larut etanol 24,67 %, kadar abu total 4,44 %, dan kadar abu tidak larut asam 0,66 %. Efek sitotoksisitas ekstrak daun jamblang terhadap *Artemia salina* Leach pada ekstrak maserasi memperoleh nilai LC50 152,2942 µg/mL sedangkan ekstrak soxhletasi memberikan nilai 60,3905 µg/mL dan termasuk kategori sangat toksik berpotensi sebagai antikanker, sehingga yang paling efektif menghasilkan hasil maksimal ialah cara ekstraksi soxhletasi.

Kata kunci: Daun Jamblang (*Syzygium cumini* L), Maserasi, Soxhletasi, sitotoksisitas, *Brine Shrimp Lethality Test*

******

# KATA PENGANTAR



Artinya: “Hai orang-orang yang beriman, sukakah kamu aku tunjukkan suatu perniagaan yang dapat menyelamatkanmu dari azab yang pedih (10) (yaitu) kamu beriman kepada Allah dan Rasul-Nya dan berjihad di jalan Allah dengan harta dan jiwamu.Itulah yang lebih baik bagimu, jika kamu mengetahui (11)”. (QS. As-Shaf :10-11).

Segala puji syukur penulis ucapkan kepada Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan penulisan skripsi dengan judul “Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Efek Sitotoksisitas Daun Jamblang (*Syzygium cumini* L.) pada Larva Udang *Artemia salina* Leach Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test*” sebagai syarat memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Fakultas Farmasi Universitas Muslim Nusantara Al Washliyah Medan.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar- besarnya kepada mama, abang dan kakak sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini.

Penulis juga menyampaikan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada Bapak Dr. apt. M.Pandapotan Nasution, MPS selaku pembimbing yang telah membimbing dan memberi banyak masukan serta saran selama penelitian sehingga selesainya skripsi ini.

Pada kesempatan ini penulis juga mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Bapak Dr. KRT. Hardi Mulyono K. Surbakti selaku Rektor Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah Medan.

2. Ibu apt. Minda Sari Lubis, S.Farm., M.Si. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah Medan.

3. Ibu apt. Rafita Yuniarti, S.Si., M.Kes. sebagai Wakil Dekan Fakultas Farmasi Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah Medan.

4. Bapak apt. Muhammad Amin Nasution, S.Farm., M.Farm selaku ketua program studi Sarjana Farmasi Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah Medan.

5. Ibu Anny Sartika Daulay,S.Si., M.Si. sebagai Kepala Laboratorium Farmasi Terpadu Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah Medan beserta laboran yang telah memberikan izin kepada penulis untuk menggunakan fasilitas laboratorium.

6. Bapak/Ibu staf pengajar Fakultas Farmasi Program Studi Farmasi Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah Medan yang telah mendidik dan membina penulis hingga dapat menyelesaikan pendidikan.

Penulis menyadari bahwa proposal ini masih banyak kekurangan, oleh karena itu dengan segala kerendahan hati, penulis menerima kritik dan saran yang bersifat membangun demi kesempurnaan skripsi ini.

Akhirnya penulis ucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu yang tidak disebutkan satu persatu dalam penulisan skripsi ini. Semoga skripsi ini bermanfaat bagi ilmu pengetahuan pada umumnya dan bidang Farmasi.

Medan, 13 Juli 2023

Penulis

**Leni Safriani**

# DAFTAR ISI

Halaman

**HALAMAN SAMPUL i**

**HALAMAN PERSYARATAN SKRIPSI ii**

**HALAMAN TANDA PERSETUJUAN SKRIPSI iii**

**SURAT PERNYATAAN iv**

[**ABSTRAK v**](#_Toc139839986)

[**ABSTRACT** Error! Bookmark not defined.](#_Toc139839987)

[**KATA PENGANTAR vii**](#_Toc139839988)

[**DAFTAR ISI x**](#_Toc139839989)

[**DAFTAR TABEL xiii**](#_Toc139839990)

[**DAFTAR GAMBAR xiv**](#_Toc139839991)

[**DAFTAR LAMPIRAN xv**](#_Toc139839992)

[**BAB 1**](#_Toc139839993)[**PENDAHULUAN 1**](#_Toc139839994)

[1.1 Latar Belakang 1](#_Toc139839995)

[1.2 Rumusan Masalah Penelitian 5](#_Toc139839996)

[1.3 Hipotesis Penelitian 5](#_Toc139839997)

[1.4 Tujuan Penelitian 5](#_Toc139839998)

[1.5 Manfaat Penelitian 6](#_Toc139839999)

[1.6 Kerangka Penelitian 7](#_Toc139840000)

[**BAB II**](#_Toc139840001)[**TINJAUAN PUSTAKA 8**](#_Toc139840002)

[2.1 Tanaman Jamblang 8](#_Toc139840003)

[2.1.1. Deskripsi Tanaman Jamblang (*Syzygium cumini* L) 8](#_Toc139840004)

[2.1.2. Taksonomi Tanaman Jamblang 9](#_Toc139840005)

[2.1.3. Kandungan Kimia Daun Jamblang 9](#_Toc139840006)

[2.1.4. Khasiat Daun Jamblang 9](#_Toc139840007)

[2.2 Simplisia 10](#_Toc139840008)

[2.2.1 Tahapan Pembuatan Simplisia 11](#_Toc139840009)

[2.2.2 Karakteristik Simplisia 13](#_Toc139840010)

[2.3 Ekstraksi 15](#_Toc139840011)

[2.3.1. Pengertian Ekstraksi 15](#_Toc139840012)

[2.3.2 Metode Estraksi 15](#_Toc139840013)

[2.4 Skrining fitokimia 19](#_Toc139840014)

[2.5 Metabolit Sekunder 20](#_Toc139840015)

[2.5.1 Alkaloid 20](#_Toc139840016)

[2.5.2 Flavonoid 20](#_Toc139840018)

[2.5.3 Triterpenoid 21](#_Toc139840019)

[2.5.4 Steroid 21](#_Toc139840020)

[2.5.5 Saponin 21](#_Toc139840021)

[2.5.6 Tanin 22](#_Toc139840022)

[2.5.7 Glikosida 22](#_Toc139840023)

[2.6 Kanker 22](#_Toc139840024)

[2.6.1 Definisi Kanker 22](#_Toc139840025)

[2.6.2 Faktor Terjadinya Kanker 22](#_Toc139840026)

[2.6.3 Tahap Terjadinya Kanker 23](#_Toc139840027)

[2.6.4 Penanganan Kanker 24](#_Toc139840028)

[2.7 Sitotoksisitas 25](#_Toc139840029)

[2.7.1 Definisi Sitotoksisitas 25](#_Toc139840030)

[2.7.2 Metode uji sitotosisitas 26](#_Toc139840031)

[2.8 Konsentrasi Letal 28](#_Toc139840032)

[2.9 *Artemia salina* Leach 29](#_Toc139840033)

[2.9.1 Morfologi *Artemia salina* Leach 29](#_Toc139840034)

[2.9.2 Taksonomi *Artemia salina* Leach 30](#_Toc139840035)

[2.9.3 Siklus Hidup *Artemia salina* Leach 31](#_Toc139840036)

[2.9.4 Penggunaan *Artemia* Sebagai Hewan Uji Sitotoksisitas 34](#_Toc139840037)

[**BAB III**](#_Toc139840038)[**METODOLOGI PENELITIAN 35**](#_Toc139840039)

[3.1 Rancangan Penelitian 35](#_Toc139840040)

[3.1.1 Variabel Penelitian 35](#_Toc139840041)

[3.1.2 Parameter Penelitian 35](#_Toc139840042)

[3.2 Jadwal dan Lokasi Penelitian 36](#_Toc139840043)

[3.2.1 Jadwal Penelitian 36](#_Toc139840044)

[3.2.2 Lokasi Penelitian 36](#_Toc139840045)

[3.3 Bahan 36](#_Toc139840046)

[3.4 Peralatan 36](#_Toc139840047)

[3.5 Prosedur Penelitian dan Pengumpulan Data 36](#_Toc139840048)

[3.5.1 Pengumpulan Sampel 36](#_Toc139840049)

[3.5.2 Determinasi Tumbuhan 37](#_Toc139840050)

[3.5.3 Pembuatan Simplisia 37](#_Toc139840051)

[3.6 Pembuatan Larutan Pereaksi 38](#_Toc139840052)

[3.6.1 Larutan Pereaksi Bouchardat 38](#_Toc139840053)

[3.6.2 Larutan Pereaksi Mayer 38](#_Toc139840054)

[3.6.3 Larutan Pereaksi Dragendorff 38](#_Toc139840055)

[3.6.4 Larutan Pereaksi Molish 38](#_Toc139840056)

[3.6.5 Larutan Pereaksi Asam Klorida 2 N 38](#_Toc139840057)

[3.6.6 Larutan Pereaksi Liebermann-Burchard 38](#_Toc139840058)

[3.6.7 Larutan Pereaksi Timbal (II) Asetat 0,4 M 39](#_Toc139840059)

[3.6.8 Larutan Peraksi Besi (III) Klorida 1% 39](#_Toc139840060)

[3.6.9 Larutan Pereaksi Asam Nitrat 0,5 N 39](#_Toc139840061)

[3.6.10 Larutan Pereaksi Kloral Hidrat 39](#_Toc139840062)

[3.6.11 Larutan Pereaksi Natrium Hidroksida 2 N 39](#_Toc139840063)

[3.6.12 Larutan Pereaksi Asam Sulfat 2 N 39](#_Toc139840064)

[3.7 Karakteristik Simplisia 40](#_Toc139840065)

[3.7.1 Pemeriksaan Makroskopik 40](#_Toc139840066)

[3.7.2 Pemeriksaan Mikroskopik 40](#_Toc139840067)

[3.7.3 Penetapan Kadar Air 40](#_Toc139840068)

[3.7.4 Penetapan Kadar Abu Total 41](#_Toc139840069)

[3.7.5 Penetapan Kadar Abu Tidak Larut Asam 41](#_Toc139840070)

[3.7.6 Penetapan Kadar Sari Larut Air 42](#_Toc139840071)

[3.7.7 Penetapan Kadar Sari Larut Etanol 42](#_Toc139840072)

[3.8 Pembuatan Ekstrak 42](#_Toc139840073)

[3.8.1 Pembuatan Ekstrak daun jamblang dengan cara Maserasi 42](#_Toc139840074)

[3.8.2 Pembuatan Ekstrak daun jamblang dengan cara Soxhletasi 43](#_Toc139840075)

[3.9 Skrining Fitokimia 43](#_Toc139840076)

[3.9.1 Pemeriksaan Alkaloid 43](#_Toc139840077)

[3.9.2 Pemeriksaan Flavonoid 44](#_Toc139840078)

[3.9.3 Pemeriksaan Tanin 44](#_Toc139840079)

[3.9.4 Pemeriksaan Saponin 44](#_Toc139840080)

[3.9.5 Pemeriksaan Steroid/Triterpenoid 45](#_Toc139840081)

[3.9.6 Pemeriksaan Glikosida 45](#_Toc139840082)

[3.10 Uji Sitotoksisitas Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) 46](#_Toc139840083)

[3.10.1 Pembuatan Air Laut Buatan 46](#_Toc139840084)

[3.10.2 Penetasan Larva *Artemia salina* Leach 46](#_Toc139840085)

[3.10.3 Uji Sitotoksisitas Ekstrak Etanol Daun Jamblang 46](#_Toc139840086)

[3.11 Analisis Data 47](#_Toc139840087)

[**BAB IV**](#_Toc139840088)[**HASIL DAN PEMBAHASAN 49**](#_Toc139840089)

[4.1. Hasil Identifikasi Tumbuhan Daun Jamblang (*Syzygium cumini* L.) 49](#_Toc139840090)

[4.2. Hasil Pengelolahan Daun Jamblang (*Syzygium cumini* L.) 49](#_Toc139840091)

[4.3. Hasil Pemeriksaan Karakterisasi Simplisia 49](#_Toc139840092)

[4.4. Hasil Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Jamblang (*Sysygium cumini* L.) Dengan Cara Maserasi 52](#_Toc139840093)

[4.5. Hasil Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Jamblang (*Sysygium cumini* L.) Dengan Cara Soxhletasi 52](#_Toc139840094)

[4.6. Hasil Skrining Fitokimia 53](#_Toc139840095)

[4.7. Hasil Uji Sitotoksisitas Ekstrak Etanol Daun Jamblang (*Syzygium cumini* L.) Dengan Metode BSLT 55](#_Toc139840096)

[**BAB V**](#_Toc139840097)[**KESIMPULAN DAN SARAN 68**](#_Toc139840098)

[5.1 KESIMPULAN 68](#_Toc139840099)

[5.2 SARAN 68](#_Toc139840100)

# DAFTAR TABEL

Halaman

**Tabel 2 1.** Kategori Toksisitas LC50 27

**Tabel 2 2.** Kategori Sitotoksisitas Berdasarkan Nilai LC50 28

[**Tabel 4 1.** Hasil Karakterisasi Daun Jamblang (*Syzygium cumini* L.) 50](#_Toc140416787)

[**Tabel 4 2.** Hasil Skrining Fitokimia Serbuk dan Ekstrak Daun Jamblang (*Syzygium cumini* L) 53](#_Toc140416788)

[**Tabel 4 3.** Uji Pendahuluan Sitotoksisitas Ekstrak Maserasi Daun Jamblang (*Syzygium cumini* L.) 59](#_Toc140416789)

[**Tabel 4 4.** Uji Pendahuluan Sitotoksisitas Ekstrak Soxhletasi Daun Jamblang (*Syzygium cumini* L.) 60](#_Toc140416790)

[**Tabel 4 5.** Hasil Pengujian Sitotoksisitas Ekstrak Maserasi Daun Jamblang (*Syzygium cumini* L.) 62](#_Toc140416791)

[**Tabel 4 6.** Hasil Pengujian Sitotoksisitas Ekstrak Soxhletasi Daun Jamblang (*Syzygium cumini* L.) 63](#_Toc140416792)

[**Tabel 4 7.** Hasil Nilai LC50 67](#_Toc140416793)

# DAFTAR GAMBAR

Halaman

[**Gambar 2 1.** Tanaman Jamblang (*Syzygium cumini* L.) 8](#_Toc135238824)

[**Gambar 2 2.** *Artemia salina* Leach 30](#_Toc135238825)

[**Gambar 2 3.** Siklus hidup *Artemia salina* Leach 33](#_Toc135238826)

[**Gambar 4 1.** Kurva Regresi Linier Antara Log Hubungan Konsentrasi Ekstrak Maserasi Daun Jamblang dengan Nilai Probit 65](#_Toc135239114)

[**Gambar 4 2.** Kurva Regresi Linier Antara Log Hubungan Konsentrasi Ekstrak Soxhletasi Daun Jamblang dengan Nilai Probit 66](#_Toc135239115)

**DAFTAR LAMPIRAN**

Halaman

[**Lampiran 1.** Surat Telah Melaksanakam Penelitian di Laboratorium Farmasi Terpadu 74](#_Toc135355679)

[**Lampiran 2.** Surat Permohonan Determinasi 75](#_Toc135355680)

[**Lampiran 3.** Hasil Identifikasi Tumbuhan 76](#_Toc135355681)

[**Lampiran 4.** Bagan Alir Pembuatan Simplisia Daun Jamblang (*Syzygium cumini* L.) 77](#_Toc135355682)

[**Lampiran 5.** Bagan Karakterisasi Simplisia Daun Jamblang (*Syzygium cumini* L.) 78](#_Toc135355683)

[**Lampiran 6.** Bagan Pembuatan Ekstrak Maserasi Daun Jamblang (*Syzygium cumini* L.) 79](#_Toc135355684)

[**Lampiran 7.** Bagan Pembuatan Ekstrak Soxhletasi Daun Jamblang (*Syzygium cumini* L.) 80](#_Toc135355685)

[**Lampiran 8.** Bagan Alir Skrining Fitokimia Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Jamblang (*Syzygium cumini* L.) 81](#_Toc135355686)

[**Lampiran 9.** Bagan Alir Uji Aktivitas Sitotoksisitas dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Tes*t (BSLT) 82](#_Toc135355687)

[**Lampiran 10.** Tumbuhan Daun Jamblang (*Syzygium cumini* L) 83](#_Toc135355688)

[**Lampiran 11.** Pengolahan Sampel Daun Jamblang (*Syzygium cumini* L.) 84](#_Toc135355689)

[**Lampiran 12.** Dokumentasi Alur Ekstrak Maserasi Sampel Daun Jamblang (*Syzygium cumini* L.) 85](#_Toc135355690)

[**Lampiran 13.** Dokumentasi Alur Ekstrak Soxhletasi Sampel Daun Jamblang (*Syzygium cumini* L.) 86](#_Toc135355691)

[**Lampiran 14.** Mikroskopis Daun Jamblang (Syzygium cumini L.) 87](#_Toc135355692)

[**Lampiran 15.** Perhitungan Susut Pengeringan Daun Jamblang (*Syzygium cumini* L.) 89](#_Toc135355693)

[**Lampiran 16.** Perhitungan Rendemen Ekstrak Maserasi Daun Jamblang (*Syzygium cumini* L.) 90](#_Toc135355694)

[**Lampiran 17.** Perhitungan Rendemen Ekstrak Maserasi Daun Jamblang (*Syzygium cumini* L.) 90](#_Toc135355695)

[**Lampiran 18.** Perhitungan Hasil Karakterisasi Daun Jamblang (*Syzygium cumini* L.) 91](#_Toc135355696)

[**Lampiran 19.** Dokumentasi Skrining Fitokimia Ekstrak Dan Simplisia Daun Jamblang (*Syzygium cumini* L.) 97](#_Toc135355697)

[**Lampiran 20.** Uji Sitotoksisitas Ekstrak Daun Jamblang (*Syzygium cumini* L.) 100](#_Toc135355698)

[**Lampiran 21.** Perhitungan Pembuatan Variasi Pengenceran Ekstrak Daun Jamblang (*Syzygium cumini* L.) 103](#_Toc135355699)

[**Lampiran 22.** Perhitungan LC50 Ekstrak Maserasi Daun Jamblang (*Syzygium cumini* L.) 105](#_Toc135355700)

[**Lampiran 23.** Perhitungan LC50 Ekstrak Soxhletasi Daun Jamblang (*Syzygium cumini* L.) 109](#_Toc135355701)

[**Lampiran 24.** Nilai Probit Sesuai dengan Besarnya Presentase Kematian 113](#_Toc135355702)

# BAB 1

# PENDAHULUAN

* 1. **Latar Belakang**

Kanker merupakan suatu penyakit yang disebabkan oleh pertumbuhan sel-sel jaringan tubuh yang tidak normal dan tidak terkendali. Sel kanker bersifat ganas, tumbuh cepat, dan dapat menyebar melalui pembuluh darah dan pembuluh getah bening sehingga dapat tumbuh dan menyebar di tempat lain (Departemen kesehatan RI, 2017). Berdasarkan (Globocan) pada tahun 2020 mencatat, total kasus kanker di Dunia mencapai 396.914 kasus dengan angka kematian sebesar 234.511 kasus. Kanker payudara memiliki jumlah kasus baru tertinggi di Indonesia sebesar 65.858 kasus atau 16,6% dari total 396.914 kasus, kanker serviks (leher rahim) menempati urutan kedua dengan jumlah 36.633 kasus atau 9,2% dari total kasus kanker, kanker paru-paru menyusul di urutan ketiga dengan jumlah 34.783 kasus (8,8% dari total kasus), lalu kanker hati sejumlah 21.392 kasus (5,4% dari total kasus), dan kanker nasofaring (area di sebelah atas bagian belakang tenggorokan) sejumlah 19.943 kasus (5% dari total kasus). (International Agency for Research on Cancer (IARC), 2020)

Perkembangan dalam bidang kesehatan penanganan kanker dapat dilakukan dengan berbagai cara yaitu radioterapi, kemoterapi dan pembedahan merupakan pengobatan yang paling efektif untuk kanker, tetapi tidak efisien ketika kanker telah menyebar ke seluruh tubuh. Penggunaan obat kanker (hormon, kemoterapi, vaksin, dan terapi biologis) merupakan pilihan saat ini untuk mengobati kanker. Pengobatan kanker dengan kemoterapi masih memiliki kelemahan yaitu selain membunuh sel kanker kemoterapi juga mempengaruhi sel-sel normal. Selain memiliki efek samping tentunya juga memerlukan biaya yang sangat tinggi, hal ini mendorong masyarakat untuk melakukan pengobatan menggunakan bahan alam atau obat tradisional. Maka perlu usaha pencarian pengobatan baru dari bahan alam yang mudah didapatkan dan murah serta dengan selektif membunuh sel kanker tanpa mempengaruhi sel normal (Aprillianie w, Muchtandi, 2017).

Terdapat banyak bahan alam yang dapat direkomendasikan untuk pengobatan, salah satu nya Tanaman Jamblang (*Syzygium cumini* L) dari famili Myrtaceae merupakan salah satu tanaman berbuah lokal indonesia yang terus di budidayakan oleh masyarakat . Daun jamblang memiliki banyak kandungan kimia yang fungsinya dapat mengobati suatu penyakit. Pada penelitian sebelumnya mengatakan daun jamblang mengandung golongan senyawa alkaloid, fenol, saponin, tanin, steroid, glikosida dan flavonoid yang kaya akan antioksidan sehingga memiliki banyak khasiat salah satunya dapat berpotensi sebagai antikaker (Silalahi, 2018).

Penelitian yang telah dilakukan (Lia *et al*., 2014) terhadap aktivitas antioksidan daun dan buah jamblang menunjukkan bahwa ekstrak daun jamblang memiliki antioksidan lebih kuat dibandingkan buah jamblang. Ekstrak etanol 96% daun jamblang dikatakan memiliki aktivitas antioksidan sangat tinggi dengan intensitas potensi sebagai antioksidan (IC50) sebesar 52,43 µg/mL (Septiani, 2018). Aktivitas antioksidan dan toksisitas dari ekstrak etanol 70% daun jamblang dengan ekstraksi secara maserasi menunjukan hasil antioksidan yang tinggi yaitu 46,73 bpj dan dari hasil toksisitas yaitu dapat berpotensi salah satunya sebagai antikanker (Aulena *et al*., 2020).

Peranan antioksidan sangat penting dalam meredam efek radikal bebas yang berkaitan erat dengan terjadinya penyakit degeneratif yang didasari oleh proses biokimia dalam tubuh yang dapat menimbulkan penyakit kanker. Antioksidan dapat menghambat reaksi oksidasi dengan cara menangkal radikal bebas, radikal bebas merupakan penyebab terjadinya penyakit kanker. Antioksidan dapat menstabilkan dengan melengkapi kekurangan elektron dari radikal bebas sehingga sel-sel terlindungi dari senyawa reaktif tersebut dan mencegah sistem biologi tubuh dari efek yang merugikan yang timbul dari proses reaksi oksidasi yang berlebihan.

Penelitian ini dilakukan sebagai uji awal dalam pengujian sitotoksik*. Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) merupakan salah satu metode awal yang banyak digunakan untuk uji sitotoksisitas / skrining senyawa antikanker baru yang berasal dari tanaman menggunakan larva *Artemia salina* Leach. Metode BSLT telah terbukti memiliki korelasi baik dengan aktivitas antikanker. Metode ini mudah dikerjakan, murah, cepat dan cukup akurat. Uji BSLT dilakukan dengan mengamati tingkat kematian yang ditimbulkan setelah diberi ekstrak terhadap larva udang jenis *Artemia salina* Leach, Hasil yang diperoleh kemudian dihitung sebagai nilai LC50 (*Lethal Concentration*) ekstrak, dimana konsentrasi ekstrak yang dapat menyebabkan kematian *Artemia salina* leach sebanyak 50% (Chusniasih & Tutik, 2019).

Berdasarkan dari penjelasan di atas di sini mendorong penulis untuk melakukan penelitian lebih lanjut dengan menguji perbandingan metode ekstraksi yaitu cara dingin maserasi dan cara panas soxhletasi daun jamblang menggunakan pelarut etanol 96% dilakukan dengan konsentrasi: 100 µg/mL, 200 µg/mL, 300 µg/mL, 400 µg/mL, 500 µg/mL, 600 µg/mL, 700 µg/mL, 800 µg/mL, 900 µg/mL, 1000 µg/mL menggunakan metode BSLT. Peneliti menganggap mungkin dengan cara panas efektivitas ekstrak daun jamblang terhadap *Artemia salina* Leach menggunakan metode BSLT memberikan hasil yang berbeda, dalam hal ini lebih baik lagi hasilnya dan juga dapat memberikan informasi kepada masyarakat bagaimana cara pengolahan ekstrak daun jamblang agar efektifitasnya lebih optimal.

* 1. **Rumusan Masalah Penelitian**

1. Golongan senyawa metabolit sekunder apa saja yang terkandung di dalam serbuk simplisia ekstrak etanol daun jamblang *(Syzygium cumini* L*)*?
2. Apakah perbedaan metode ekstraksi mempengaruhi efek sitotoksisitas ekstrak etanol 96% daun jamblang terhadap larva *Artemia salina* Leach?
   1. **Hipotesis Penelitian**
3. Serbuk simplisia dan ekstrak etanol daun jamblang *(Syzygium cumini* L*)* mengandung beberapa golongan senyawa metabolit sekunder
4. Pengaruh metode ekstraksi maserasi dan soxhletasi dari ekstrak etanol 96% daun jamblang *(Syzygium cumini* L*)* mempengaruhi efek sitotoksisitas terhadap larva *Artemia salina* Leach menggunakan metode *Brine Shirmp Lethality Test*
   1. **Tujuan Penelitian**

Berdasarkan hipotesis penelitian diatas, maka tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder apa saja yang terkandung di dalam serbuk simplisia ekstrak etanol daun jamblang (*Syzygium cumini* L)?
2. Untuk mengetahui pengaruh perbedaan ekstraksi terhadap efek sitotoksisitas ekstrak daun jamblang pada larva *Artemia Salina* Leach?
   1. **Manfaat Penelitian**

Berdasarkan tujuan penelitian diatas, maka manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Diharapkan dapat menambah pengetahuan, wawasan, informasi ilmiah bagi peneliti dan masyarakat luas tentang manfaat tanaman obat serta mengenai penemuan senyawa obat yang terdapat di alam.
2. Diharapkan dapat menambah pengetahuan, wawasan, informasi ilmiah bagi perkembangan ilmu pengetahuan terhadap tanaman obat yang ternyata mamiliki khasiat yang besar untuk kesehatan tubuh manusia sehingga dapat mendorong para peneliti untuk dapat dikembangkan sebagai obat antikanker.
   1. **Kerangka Penelitian**

**Variabel Bebas Variabel Terikat Parameter**

1. Makroskopik simplisia
2. Mikroskopik serbuk
3. Kadar air
4. Kadar sari larut air
5. Kadar sari larut etanol
6. Kadar abu total
7. Kadar abu tidak larut asam

Karakteristik simplisia

Serbuk simplisia daun Jamblang

Daun Jamblang

- Ekstrak Maserasi Daun jamblang

- Ekstrak Soxhletasi Daun jamblang

Metabolit sekunder

1. Alkaloid
2. Flavonoid
3. Triterpenoid atau Steroid
4. Tanin
5. Saponin
6. Glikosida

Variasi konsentrasi ekstrak etanol sebagai orientasi : 100 µg/mL, 200 µg/mL, 300 µg/mL, 400 µg/mL, 500 µg/mL, 600 µg/mL, 700 µg/mL, 800 µg/mL, 900 µg/mL, 1000 µg/mL

Nilai LC50

Sitotoksisitas

ekstrak etanol Daun Jamblang

# BAB II

# TINJAUAN PUSTAKA

* 1. **Tanaman Jamblang**
     1. **Deskripsi Tanaman Jamblang (*Syzygium cumini* L)**

Tanaman ini memiliki nama daerah seperti berikut, Jamble kleng (Aceh), Jamble kling (Gayo), Jambu kalang (Minangkabau), Jambelang (Melayu), Jamblang (Sunda), Duwet (Jawa), Juwet (Jakarta), Jambulang (Ternate), dan Jambura (Gorontalo). (Deden Mudiana, 2007)

*Syzygium cumini* L termasuk ke dalam famili Myrtaceae (Jambu-jambuan). *Syzygium cumini* L tumbuh hingga tingginya 15-30 cm, batang kokoh (40-100 cm). Pada mahkota tidak teratur/ bulat dengan cabang, kulit 1,0 - 2,5 cm, warna coklat atau abu-abu gelap, cukup halus, rasa pahit. Daun yang sempit, transparan, dengan panjang 5-15 cm, 2 - 8 cm, luas berseberangan, tebal, gundul, permukaan atas hijau tua, permukaan bawah kekuningan. Bentuk daun luas bulat telur, berbentuk bulat panjang atau berbentuk bulat panjang lonjong, pangkal membundar, puncak pendek, bulat atau tumpul, tepi tidak bergigi, pada tangkai ramping dan bewarna kuning nyala, panjang 1,52 cm, pelepah terkemuka, warna kuning nyala (Ramya Subramanian & Jayakumararaj, 2016). Penjelasan diatas dapat dilihat pada gambar 1 berikut.

Gambar 2 1. Tanaman Jamblang (*Syzygium cumini* L.) (Dokumen Pribadi, 2023)

* + 1. **Taksonomi Tanaman Jamblang**

Klasifikasi dari tanaman Jamblang *Syzygium cumini* L Skeel adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Kelas : Dicotyledoneae

Ordo : Myrtales

Famili : Myrtaceae

Genus : *Syzygium*

Spesies : *Syzygium cumini* (L) Skeels (Medanense, 2022)

* + 1. **Kandungan Kimia Daun Jamblang**

Daun jamblang ( *Syzygium cumini* L ) mengandung senyawa kimia antara lain yaitu senyawa alkaloid, glikosida, saponin, tanin, steroid dan kandungan polifenol seperti flavonoid, glikosida, kuersetin, kaempferol, myrisetin 3-O-4 asetil-L- rhamnopyranoside, triterpenoid, senyawa fenolik berupa asam ferulat dan katekin. Salah satu cara kerja dari senyawa yang terkandung dalam daun jamblang yaitu flavonoid sebagai racun pencernaan. Kuersetin yaitu molekul flavanol yang memiliki aktivitas antioksidan yang sangat reaktif, myrisetin merupakan senyawa antikanker dan antioksidan yang dapat mengurangi risiko penyakit kronis, terutama kanker, kaempferol dapat menghambat pertumbuhan sel kanker, angiogenesis dan menginduksi apoptosis sel kanker tetapi dapat juga menjaga kelangsungan hidup sel normal (Edwinanto et al., 2018).

* + 1. **Khasiat Daun Jamblang**

Tanaman ini memiliki banyak khasiat tidak lain karena memiliki kandungan kimia yang fungsinya dapat mengobati suatu penyakit. Salah satunya adalah senyawa flavonoid. Flavonoid merupakan salah satu metabolit sekunder yang terdapat pada tumbuhan. Senyawa ini dapat digunakan sebagai anti mikroba, obat infeksi pada luka, anti jamur, anti virus, anti kanker, anti tumor. Selain itu flavonoid juga dapat digunakan sebagai anti bakteri, anti alergi, sitotoksik, anti hipertensi, dan antioksidan. Secara umum genus *Syzygium* mengandung metabolit sekunder berupa flavonoid, alkaloid, tanin, terpenoid, yang digunakan di dalam dunia pengobatan antara lain untuk anti radang, penahan rasa sakit dan anti jamur (Departemen Kesehatan RI, 2017).

## **Simplisia**

Simplisia merupakan bahan alamiah yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain simplisia merupakan bahan yang dikeringkan. Simplisia dapat berupa simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan atau mineral. Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Eksudat tanaman ialah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau yang dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya, atau zat-zat nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya (Depkes RI, 1985).

Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia pelikan atau mineral ialah simplisia yang berupa bahan pelican atau mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni (Depkes RI, 1985).

### **Tahapan Pembuatan Simplisia**

1. **Pengumpulan Bahan Tumbuhan**

Simplisia memiliki kadar senyawa aktif yang berbeda-beda antara lain tergantung pada: bagian tanaman yang di gunakan, umur tanaman atau bagian tanaman pada saat panen, waktu panen, dan lingkungan tempat tumbuh. Waktu panen sangat erat hubungannya dengan pembentukkan senyawa aktif di dalam bagian tanaman yang akan dipanen. Waktu panen yang tepat pada saat bagian tanaman tersebut mengandung senyawa aktif dalam jumlah terbesar. Senyawa aktif terbentuk secara maksimal di dalam bagian tanaman atau pada saat umur tertentu (Depkes RI, 1985).

1. **Sortasi Basah**

Sortasi basah dilakukan terhadap bahan segar bertujuan untuk menghilangkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya dari bahan simplisia. Misalnya pada simplisia yang dibuat dari akar suatu tanaman obat, bahan-bahan asing seperti tanah, kerikil, rumput, batang, daun, akar yang telah rusak, serta pengotor lainnya harus dibuang. Tanah mengandung bermacam – macam mikroba dalam jumlah yang tinggi, oleh karena itu pembersihan simplisia dari tanah yang terikut dapat mengurangi jumlah mikroba awal (Depkes RI, 1985).

1. **Pencucian**

Pencucian dilakukan untuk menghilangkan tanah dan pengotoran lainnya yang melekat pada bahan simplisia. Pencucian dilakukan dengan air bersih, misalnya air dari mata air, air sumur atau air PAM. Bahan simplisia yang mengandung zat yang mudah larut dalam air yang mengalir, pencucian agar dilakukan dalam waktu yang sesingkat mungkin. Pencucian tidak dapat membersihkan simplisia dari semua mikroba karena air pencucian yang digunakan biasanya mengandung juga sejumlah mikroba. Cara sortasi dan pencucian sangat mempengaruhi jenis dan jumblah mikroba awal simplisia (Depkes RI, 1985).

1. **Perajangan**

Beberapa jenis bahan simplisa perlu mengalami proses perajangan, proses ini dilakukan untuk mempermudah proses pengeringan, pengepakan dan penggilingan. Perajangan dapat dilakukan dengan pisau, dengan alat mesin perajang khusus sehingga diperoleh irisan tipis atau potongan dengan ukuran yang dikehendaki. Sebagai contoh suatu alat yang disebut RASINGKO (perajang singkong) yang dapat digunakan untuk merajang singkong atau bahan lainnya sampai ketebalan 3 mm atau lebih. Alat ini juga dapat digunakan untuk merajang bahan simplisia yang berasal dari akar, umbi, rimpang dan lain-lain.

1. **Pengeringan**

Tujuan pengeringan adalah untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik akan mencegah penurunan mutu atau perusakan simplisia. Air yang masih tersisa dalam simplisia pada kadar tertentu dapat merupakan media pertumbuhan kapang dan jasad renik lainnya. Enzim tertentu dalam sel, masih dapat bekerja, mengurangi senyawa aktif sesaat setelah sel mati dan selama bahan simplisia tersebut masih mengandung kadar air tertentu (Depkes RI, 1985).

Pengeringan simplisia dilakukan dengan menggunakan sinar matahari atau mengunakan suatu alat pengering. Hal-hal yang perlu diperhatikan selama proses pengeringan adalah suhu pengeringan, kelembaban udara, aliran udara, waktu pengeringan dan luas pengeringan bahan. Pada pengeringan bahan simplisia tidak dianjurkan menggunakan alat dari bahan plastik. Suhu pengeringan tergantung pada bahan simplisia dan cara pengeringannya. Bahan simplisia dapat dikeringkan pada suhu 30oC - 90oC (suhu terbaik tidak melebihi 60oC). Bahan simplisia yang mengandung bahan aktif tidak tahan panas atau mudah menguap, pengeringan dilakukan pada suhu serendah mungkin, misalnya 30oC-45oC atau dengan cara pengeringan vakum (Depkes RI, 1985).

1. **Sortasi Kering**

Tahap akhir dari pembuatan simplisia yaitu sortasi setelah pengeringan Tujuan sortasi untuk memisahkan benda-benda asing seperti bagian-bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotoran-pengotoran lain yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering. Proses ini dilakukan sebelum simplisia dibungkus untuk kemudian disimpan (Depkes RI, 1985).

### **Karakteristik Simplisia**

Standarisasi simplisia merupakan salah satu tahapan penting dalam pengembangan obat bahan alam yang berasal dari tanaman. Untuk menjamin keseragaman mutu dari bahan alam yang berasal dari tanaman. Untuk menjamin keseragaman mutu dari bahan alam yang diformulasikan dalam suatu sediaan farmasi maka diperlukan suatu proses standarisasi untuk menjamin keseragaman mutu produk (Depkes RI, 2000)

Pemeriksaan karakterisasi simplisia meliputi pemeriksaan makroskopik, mikroskopik, penetapan kadar air, penetapan kadar sari larut air, penetapan kadar sari larut etanol, penetapan kadar abu total dan penetapan kadar abu tidak larut asam.

1. Makroskopik

Uji makroskopik bertujuan untuk menentukan ciri khas simplisia dengan pengamatan secara langsung organoleptis simplisia yaitu bentuk, ukuran, warna, rasa dan bau.

1. Mikroskopik

Pengujian mikroskopik mencakup pengamatan terhadap bagian simplisia dan fragmen dalam bentuk sel, isi sel atau jaringan tanaman serbuk simplisia yang dilakukan pengamatan di bawah mikroskop.

1. Kadar Air

Parameter kadar air adalah pengukuran kandungan air yang berada dalam bahan, yang bertujuan untuk memberikan batasan minimal atau rentang besarnya kandungan air dalam bahan (Depkes RI, 2000)

1. Kadar Sari

Penetapan kadar sari larut air dan etanol dilakukan untuk memberikan gambaran kadar persentase senyawa yang dapat tersari dengan menggunakan pelarut etanol dan air suatu simplisia (Depkes RI, 2000).

1. Kadar Abu

Penentuan kadar abu ditentukan dengan cara pemanasan pada temperatur tertentu sehingga senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap, dengan begitu hanya ada unsur mineral saja dan unsur anorganik yang tertinggal. Parameter kadar abu berkaitan dengan kontaminasi dan kemurnian dari suatu ekstrak (Depkes RI, 2000).

## **Ekstraksi**

### **Pengertian Ekstraksi**

Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair dibuat dengan penyari simplisia menurut cara yang cocok, di luar pengaruh cahaya matahari langsung. Ekstrak kering harus mudah digerus menjadi serbuk. Ekstrak diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang terisi diperlakukan sehingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Ditjen POM, 2009). Ekstrak ada tiga macam yaitu ekstrak kering (siccum), kental (spissum), dan cair (liquidum), yang dibuat dengan menyari simplisia menurut cara yang sesuai diluar pengaruh cahaya matahari langsung.(Syamsuni H. A., 2006)

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan zat yang diinginkan dari bahan obat dengan menggunakan pelarut yang dipilih sesuai dengan zat yang akan dilarutkan. Proses ekstraksi adalah proses mengumpulkan zat aktif dari bahan mentah obat, dan mengeluarkannya dari bahan-bahan sampingan yang tidak perlu untuk digunakan. Ekstraksi bertujuan untuk mendapatkan atau memisahkan sebanyak mungkin zat-zat yang memiliki khasiat pengobatan (Endarini, 2016).

## **Metode Estraksi**

Metode ekstraksi dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu cara dingin dan cara panas :

1. Cara Dingin
   1. Maserasi

Maserasi merupakan cara sederhana yang dapat dilakukan dengan merendam serbuk simplisia dalam pelarut. Maserasi adalah proses pengekstrakkan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperature ruangan (kamar). Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut karena adanya perbedaan konsenterasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan di luar sel, maka larutan yang terletak di dalam akan terdesak keluar, peristiwa tersebut terulang terus hingga menjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di dalam sel dan di luar sel. Simplisia yang akan diekstraksi diserbukkan dengan derajat tertentu lalu dimasukkan ke dalam bejana maserasi. Simplisia tersebut direndam dengan cairan penyari, setelah itu dalam waktu tertentu sesekali diaduk. Perlakuan tersebut dilakukan selama 5 hari. Adapun keuntungan dari penyarian cara maserasi: cara pengerjaan dan peralatan sederhana dan mudah diusahakan, sedangkan kerugiannya: cara maserasi ini pengerjaannya yang lama dan penyariannya pun kurang sempurna (Edwinanto et al., 2018).

* 1. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru dan sempurna yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan . Prinsip perkolasi adalah dengan menempatkan serbuk simplisia pada suatu bejana silinder yang bagian bawahnya diberi sekat berpori. Proses terdiri dari tahap pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan ekstrak), terus- menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan. Keuntungan: tidak terjadi kejenuhan dan pengaliran menungkatkan difusi. Kerugian: cairan penyari lebih banyak dan resiko cemaran mikroba (Depkes RI, 2000).

1. Cara Panas
   1. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperature titik didihnya, pada metode ini sampel dimasukkan bersama pelarut ke dalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut dipanaskan hingga mencapai titik didih. Uap terkondensasi dan kembali ke dalam labu. Keuntungan: digunakan untuk mengekstraksi sampel yang memiliki tekstur kasar, kerugian: membutuhkan volume total pelarut yang besar dan sejumlah manipulasi operator (Nugroho, 2017).

* 1. Soxhletasi

Soxhletasi adalah proses untuk menghasilkan ekstrak cair yang dilanjutkan dengan proses penguapan. Pada cara ini pelarut dan simplisia ditempatkan secara terpisah dengan menempatkan serbuk sampel dalam sarung selulosa (dapat digunakan kertas saring) dalam klonsong yang ditempatkan diatas labu dan dibawah kondensor. Pelarut yang sesuai dimasukkan ke dalam labu dan suhu penangas diatur dibawah suhu reflux yaitu 70oC. Ekstraksi dengan cara ini pada dasarnya adalah penyarian berkesinambungan secara dingin, alat soxhletasi dibuat dari bahan gelas yang terbagi atas 3 bagian yaitu : bagian tengan untuk menampung serbuk simplisia yang akan diekstraksi dilengkapi dengan pipa pada bagian kiri dan kanan, satu untuk jalannya larutan berkondensasi uap menjadi cairan penyari yang dipakai tidak terlalu banyak, sedangan bagian bawah terdapat labu alas bulat yang berisi cairan penyari dan ekstrak. Keuntungan penyarian dengan cara soxhletasi: Cairan penyari yang digunakan lebih sedikit dan secara langsung diperoleh hasil yang pekat, Serbuk simplisia disari oleh cairan penyari yang murni, sehingga dapat menyari zat aktif lebih banyak, Penyarian dapat diteruskan sesuai dengan keperluan tanpa menambah volume cairan penyari. Kerugian penyarian soxhletasi: Membutuhkan waktu lama sehingga kebutuhan energinya tinggi, tidak bias dengan penyari air (harus solvent organik) (Nurhasnawati *et al*, 2017).

* 1. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontiniu) menggunakan pemanasan rendah dan lebih tinggi dari suhu kamar, yaitu secara umum dilakukan pada suhu 40- 50ºC. keuntungan: peralatan sederhana, kekentalan pelarut berkurang sehingga mengakibatkan berkurangnya lapisan batas. kerugian: hanya untuk simplisia yang tersari baik pada suhu biasa (Nugroho, 2017).

* 1. Infundasi

Infundasi adalah proses penyarian yang umumnya digunakan untuk menyari zat aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati pada suhu 90ºC selama 15 menit. Simplisia yang telah dihaluskan sesuai dengan derajat kehalusan yang telah ditetapkan dicampur dengan air secukupnya dalam sebuah panci. Kemudian dipanaskan suhu 90ºC 15 menit, sambil sekali-sekali diaduk. Infundasi diserkai sewaktu masih panas melalui kain flanel. Infundasi simplisia yang mengandung minyak atsiri harus diserkai setelah dingin. Keuntungan: peralatan sederhana, dapat menyari simplisia dengan pelarut air. Kerugian: sari dihasilkan tidak stabil,mudah tercemar bakteri dan kapang (Nugroho, 2017).

* 1. Dekoktasi

Dekoktasi adalah modifikasi dari infundasi yaitu sediaan cair yang dilakukan untuk menyari simplisia nabati dengan pelarut air memperpanjang waktu ekstraksi yaitu pada suhu 900C selama 30 menit (Nugroho, 2017).

## **Skrining fitokimia**

Skrining fitokimia merupakan tahap pendahuluan dalam suatu penelitian yang bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung di dalam suatu tanaman yang di gunakan sebagai sampel dengan cara memisahkan antara bahan alam yang mengandung senyawa di ketahui terkandung di dalam sampel dengan sengawa bahan alam yang tidak terkandung di dalam sampel. Metode skrining fitokimia di lakukan dengan melihat reaksi warna yang di hasilkan dengan penambahan pereaksi tertentu (Kristanti et al., 2008)

Metode yang di gunakan pada skrining fitokimia seharusnya memenuhi beberapa kriteria berikut, antara lain adalah sederhana, cepat, hanya membutuhkan peralatan yang sederhana, khas untuk satu golongan senyawa, memiliki batas limit deteksi yang cukup lebar (dapat mendeteksi keberadaan senyawa meski dalam konsentrasi yang cukup kecil). Salah satu hal penting yang berperan dalam prosedur skrining fitokimia adalah pelarut yang di gunakan untuk ekstraksi. Skrining fitokimia dari simplisia antara lain untuk menguji senyawa Flavonoid, Terpenoid/Triterpenoid, Alkaloid, Streroid, Saponin, Tanin, glikosida (Gultom & S, 2019)

## **Metabolit Sekunder**

Metabolit sekunder adalah senyawa metabolit yang tidak esensial bagi pertumbuhan organisme atau tidak memiliki peran penting dalam proses metabolisme utama (primer) dan ditemukan dalam bentuk spesifik atau berbeda antar spesies. Senyawa ini sebagian besar diproduksi hanya dalam jumlah sedikit atau terus menerus, tapi beberapa spesies berlangsung selama hidupnya. Fungsi dari metabolit sekunder sendiri adalah untuk berinteraksi dengan lingkungannya serta mempertahankan diri dari kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan, misalnya untuk melindungi diri dari hama dan penyakit (Kristanti *et al*., 2008).

### **Alkaloid**

### Secara umum alkaloid adalah senyawa metabolit sekunder yang mengandung atom nitrogen dalam struktur kimianya. Alkaloid pada umumnya memberikan rasa pahit pada suatu bahan alam. Alkaloid dikenal sebagai senyawa fitokimia yang memiliki aktivitas anti-malaria, alkaloid dikenal sebagai senyawa fitokimia yang memiliki beragam efek farmakologis, seperti anti bakteri, anti kanker, anti hiperglisemik, anti asma dan lainnya (Nugroho, 2017).

### **Flavonoid**

Flavonoid umumnya terdapat dalam tumbuhan terikat pada gula sebagai glikosida. Flavonoid merupakan polifenol yang terdiri dari 15 atom karbon, dengan dua cincin aromatik (cincin A dan cincin B) yang terhubung melalui sebuah jembatan dengan tiga atom karbon (cincin C). Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenolik yang paling beragam dan dapat ditemukan di hampir seluruh tumbuhan, yang pada umumnya terdapat pada jaringan epidermis pada daun dan kulit buah. Sebagai polifenol, banyak studi telah membuktikan manfaat dari flavonoid untuk kesehatan manusia, antara lain sebagai anti kanker, antiinflamatori, antioksidan, antialergi, antiviral, anti melanogenesis dan lainnya (Nugroho, 2017).

* + 1. **Triterpenoid**

Terpenoid merupakan kelas metabolit sekunder dengan ciri pada umumnya tidak larut air. Senyawa-senyawa terpenoid memiliki sifat antimikroba, antijamur, antivirus, antiparasit, antihiperglikemik, antialergenik, antiradang, antispasmodik, imunomodulator, dan kemoterapetik, bermacam-macam tergantung pada jenisnya. Steroid merupakan komponen organik yang terdiri dari empat cincin yang tersusun dengan konfigurasi yang unik. Contoh steroid adalah kolesterol (Nugroho, 2017).

### **Steroid**

Steroid terdiri atas beberapa kelompok senyawa yang pengelompokannya didasarkan pada efek fisiologis yang dapat ditimbulkan. Steroid memiliki kerangka dasarnya berupa cincin siklopentana perhidrofenantren. Uji yang digunakan adalah reaksi Lieberman-Burchard yang dengan kebanyakan steroid memberikan warna hijau biru (Nugroho, 2017).

### **Saponin**

Saponin merupakan senyawa metabolit sekunder tanaman yang terdiri dari komponen gula yang berikatan dengan komponen nongula atau aglikon yang bersifat hidrofobik. Aglikon ini sering juga dikenal dengan istilah sapogenin. Saponin juga memiliki karakteristik dapat membentuk bus ajika dikocok dengan air. Meskipun secara umum komponen saponin terbagi menjadi dua yakni glikon dan aglikon, struktur kimia saponin sangat bervariasi antar tanaman. Variasi struktur ini yang menyebabkan bervariasinya pula efek biologis antar sumber saponin (Nugroho, 2017).

### **Tanin**

Tanin adalah senyawa polifenol yang memiliki jumlah gugus hidroksil yang melimpah atau gugus lainnya seperti karboksil untuk dapat membentuk ikatan kompleks yang kuat dengan beberapa molekul makro seperti protein, pati, selulosa, dan juga mineral (Nugroho, 2017).

### **Glikosida**

Glikosida adalah suatu senyawa metabolit sekunder yang berikatan dengan senyawa gula melalui ikatan glikosida. Beberapa tumbuhan mnyimpan senyawa-senyawa kimia dalam bentuk glikosida yang tidak aktif. Senyawa-senyawa kimia ini akan dapat kembali aktif dengan bantuan enzim hydrolase yang menyebabkan bagian gula putus, menghasilkan senyawa kimia yang siap untuk digunakan. Beberapa glikosida dalam tumbuhan digunakan dalam pengobatan (Supriningrum dkk, 2016).

## **Kanker**

* + 1. **Definisi Kanker**

Kanker adalah suatu penyakit yang disebabkan oleh pertumbuhan sel-sel jaringan tubuh yang tidak normal dan tidak terkendali. Sel-sel kanker akan berkembang dengan cepat, tidak terkendali, dan akan terus membelah diri. Sel kanker bersifat ganas, tumbuh cepat, dan dapat menyebar melalui pembuluh darah dan pembuluh getah bening, sehingga dapat tumbuh dan menyebar di tempat lain (Tzenios N, 2023)

* + 1. **Faktor Terjadinya Kanker**

Penyebab kanker belum diketahui secara pasti. Namun, ada beberapa faktor resiko pemicu pada beberapa jenis kanker seperti faktor genetis (keturunan) dan faktor lingkungan. Sebagian besar pemicu kanker pada manusia merupakan hasil dari interaksi antara faktor lingkungan hidup dan lingkungan kerja (*occupational*) yang disebut dengan zat karsinogenik. Faktor lingkungan yang merupakan resiko pemicu kanker antara lain: karsinogen kimia, seperti nikotin dan tar dari rokok, zat aditif (pengawet, pewarna) makanan, nitrosamin, asbes, arsen, batu bara, merkuri, dan alkohol. Kasinogen fisika, seperti sinar X, sianar ultraviolet, dan radiasi dari bom atom. Karsinogen biologi, seperti infeksi virus dan jamur (Wijayakusuma H, 2004).

Perbedaan utama sel kanker dan sel normal adalah sel kanker tidak mematuhi batas pertumbuhan sel yang biasa, sel kanker mungkin tidak membutuhkan semua faktor pertumbuhan yang sama seperti faktor yang dibutuhkan untuk pertumbuhan sel normal. Sel kanker sering kali jauh kurang melekat satu sama lain dibandingkan sel normal. Oleh karena itu, sel kanker memiliki kecendrungan dapat menyebar ke seluruh jaringan, memasuki aliran darah, dan terbawa ke seluruh tubuh. Beberapa kanker juga menghasilkan faktor angiogenik yang menyebakan banyak pembuluh darah baru tumbuh ke dalam jaringan kanker, sehingga menyuplai nutrisi yang diperlukan untuk pertumbuhan sel kanker (Guyton dan Hall, 2006).

* + 1. **Tahap Terjadinya Kanker**

Proses timbulnya kanker terjadi melalui tiga tahap yaitu tahap inisiasi, promosi, dan progresi. Adapun tahapan tersebut adalah (Tjay dan Kirana, 2015; Rasjidi, 2010):

1. Inisiasi

Tahapan inisiasi terjadi dimana DNA dirusak akibat radiasi atau zat karsinogen (radikal bebas). Zat-zat inisiator ini mengganggu proses reparasi normal, sehingga terjadi mutasi DNA dengan kelainan pada kromosomnya. Kerusakan DNA diturunkan kepada anak-anak sel dan seterusnya.

1. Promosi

Tahapan prmosi yaitu zat karsinogen tambahan diperlukan sebagai prormotor untuk mencetuskan proliferasi sel sehingga sel-sel rusak menjadi ganas. Sifat-sifat promotor ialah: mengikuti kerja inisiator, perlu paparan berkali-berkali, reversible, dan dapat mengubah ekpresi gen.

1. Progresi

Tahapan progresi terjadi dimana gen-gen pertumbuhan yang diaktivasi oleh kerusakan DNA mengakibatkan mitosis yang dipercepat dan pertumbuhan liar dari sel-sel ganas. Pada fase ini, terjadi invasi tumor ke jaringan lokal dan pengembangan ke arah metastasis.

* + 1. **Penanganan Kanker**

1. Kemoterapi

[Kemoterapi](https://www.alodokter.com/cari-rumah-sakit/onkologi/kemoterapi) dilakukan dengan memberikan obat-obatan untuk merusak sel kanker.

1. Operasi

Prosedur ini dilakukan dengan memotong dan mengangkat jaringan kanker.

1. Radioterapi

[Radioterapi](https://www.alodokter.com/cari-rumah-sakit/onkologi/radioterapi) dilakukan dengan menggunakan paparan radiasi untuk membunuh sel-sel kanker. Radioterapi terdiri dua jenis, yaitu radiasi dari mesin yang berada di luar tubuh (radioterapi eksternal) atau radiasi dari alat implan yang dipasang di dalam tubuh ([brakiterapi](https://www.alodokter.com/cari-rumah-sakit/onkologi/brachytherapy)).

1. Transplantasi sumsum tulang

Prosedur ini, sumsum tulang penderita akan diganti dengan sumsum tulang baru dari donor, agar dapat menghasilkan sel baru yang normal dan bebas kanker.

1. Imunoterapi

Imunoterapi atau terapi biologis bertujuan untuk mengaktifkan system imun penderita untuk melawan kanker.

1. Terapi hormone

Beberapa jenis kanker, seperti kanker payudara dan [kanker prostat,](https://www.alodokter.com/kanker-prostat) dipicu oleh hormon. Oleh karena itu, dengan menghambat hormon tersebut, pertumbuhan sel kanker dapat dihentikan.

1. Targeted drug therapy

Terapi ini dilakukan dengan memberikan obat-obatan yang mampu menghambat mutasi genetik pada sel (Tjin Willy, n.d, 2019).

## **Sitotoksisitas**

### **Definisi Sitotoksisitas**

Sitotoksisitas adalah suatu uji pendahuluan untuk mengetahui kemampuan suatu senyawa mempengaruhi sel sedangkan senyawa sitotoksik merupakan senyawa yang dapat digunakan sebagai zat antikanker dan memiliki kemampuan untuk menghambat dan menghentikan pertumbuhan sel kanker (Zuhud, 2011).

Telah banyak pengujian tentang toksisitas yang dikembangkan untuk pencarian produk alam yang potensial sebagai bahan anti kanker. Menurut (Fanani, 2017). Metode pengujian tersebut antara lain *Simple Brench-Top Bioassay* (terdiri dari *Brine Shrimp lethality Test*, *Lemna Minor Bioassay* dan *Crown-Gall Potato Bioassay*).

* + 1. **Metode uji sitotosisitas**

1. Metode MTT Assay

Uji MTT assay merupakan salah satu metode yang digunakan dalam uji sitotoksik. Metode ini merupakan metode kolorimetrik, dimana pereaksi MTT ini merupakan garam tetrazolium yang dapat dipecah menjadi kristal formazan oleh sistem suksinat tetrazolium reduktase yang terdapat dalam jalur respirasi sel pada mitokondria yang aktif pada sel yang masih hidup. Kristal formazan ini memberi warna ungu yang dapat dibaca absorbansinya dengan menggunakan ELISA reader (Fanani, 2017).

1. Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

*Brine Shimp Lethality Test* (BSLT) merupakan salah satu metode untuk menguji bahan-bahan yang bersifat sitotoksik. Metode ini menggunakan larva *Artemia salina* Leach sebagai hewan coba. Uji toksisitas dengan metode BSLT ini merupakan uji toksisitas akut dimana efek toksik dari suatu senyawa ditentukan dalam waktu singkat setelah pemberian dosis uji. Prosedurnya dengan menentukan nilai LC50 dari aktivitas komponen aktif tanaman terhadap larva Artemia salina Leach. Suatu ekstrak dikatakan aktif sebagai anti kanker berdasarkan metode BLST jika harga LC < 1000 μg/ ml. Penelitian menunjukkan adanya hubungan konsisten antara sitotoksisitas dan letalitas *Brine shrimp* pada ekstrak tanaman. Metode BSLT dipercaya untuk menguji aktivitas toksikologi dari bahan alami (Fanani, 2017).

Tabel 2 1. Kategori Toksisitas LC50

|  |  |
| --- | --- |
| **Nilai LC50 (µg/ml)** | **Tingkat toksisitas** |
| 0-250 | Sangat toksik |
| 250-500 | Toksik |
| 500-1000 | Sedang |
| >1000 | Tidak toksik |

1. Metode Lemna Minor Bioassay

Lemna Minor Bioassay digunakan sebagai uji pendahuluan terdapat bahan yang dapat menghambat dan meningkatkan pertumbuhan tanaman. Dengan pengujian ini dapat diamati bahwa senyawa anti kanker alami juga dapat menghambat pertumbuhan Lemna, walaupun korelasinya dengan pengujian anti kanker lainnya kurang baik. Oleh karena itu pengujian ini lebih diarahkan untuk mencari herbisida dan stimulant pertumbuhan tanaman baru (Fanani, 2017).

1. Metode Crown-Gall Potato Bioassay

Crown-Gall Potato Bioassay merupakan metode pengujian toksisitas yang relatif cepat pengerjaannya, tidak mahal, tidak memerlukan hewan percobaan serta menunjukkan korelasi yang sangat baik dengan uji anti kanker lainnya. Crown-Gall merupakan suatu penyakit neoplastik pada tumbuhan yang disebabkan bakteri gram negatif *Agrobacterium tumefaciens* yang selanjutnya menyebabkan pertumbuhan jaringan tumor secara otonom dan tidak dipengaruhi oleh mekanisme kontrol normal tumbuhan. Pengujian dilakukan dengan mengukur kemampuan suatu senyawa menghambat pertumbuhan tumor Crown-Gall pada umbi kentang yang diinfeksikan dengan bakteri *Agrobacterium tumefaciens* (Fanani, 2017).

## **Konsentrasi Letal**

*Letal Consentration* (LC50) adalah jumlah kadar yang menyebabkan kematian dari 50% hewan uji dalam selang waktu tertentu. LC50 tidak berfokus pada kerusakan organ tertentu dan spesifik namun pada total kematian hewan uji itu sendiri sehingga nilai LC50 digunakan pada uji jangka pendek. LC50 digunakan untuk menghitung tingkat kematian-kematian artemia mengingat susunan pencernaannya yang tidak rumit serta sensitifitas yang cukup tinggi (Wahyu Ningdyah et al., 2015).

Tabel 2 2. **Kategori Sitotoksisitas Berdasarkan Nilai LC50 (Meyer et al, 1982)**

|  |  |
| --- | --- |
| **Kategori** | **LC50** |
| Toksik | < 1000 µg/ml |
| Tidak toksik | > 1000 µg/ml |

Untuk pengolahan data hasil pengujian toksisitas, atau untuk menentukan nilai LC50 digunakan metode analisis probit. Analisis probit merupakan suatu metode yang telah digunakan secara luas untuk menghitung toksisitas dengan cara membandingkan setiap konsentrasi ataupun dosis. Menurut (Nurhayati et al., 2006) efek toksisitas dianalisis dari pengamatan dengan persen kematian.

% Mortalitas = x 100%

Dengan mengetahui kematian larva *Artemia salina*, kemudian dicari angka probit melalui tabel dan dibuat persamaan garis :

Y = ax + b

Keterangan :

Y = nilai probit/ variabel terikat

a = slope/koefisien kemiringan (pengaruh positif/negatif)

b = intersep/titik potong dengan sumbu Y

X= logaritma konsentrasi uji/variabel bebas (Sepvina dkk, 2022).

Dari persamaan tersebut kemudian dihitungLC50 dengan memasukkan nilai probit (50% kematian). Apabila pada kontrol terdapat larva yang mati, maka % kematian ditentukan dengan rumus Abbot (Meyer dkk, 1982).

% Mortalitas =

Keterangan :

T = Jumlah larva uji yang mati

K = Jumlah larva kontrol yag mati

10 = Jumlah larva uji (Nurhayati dkk, 2006).

## ***Artemia salina* Leach**

* + 1. **Morfologi *Artemia salina* Leach**

Tubuh *Artemia salina* dibagi menjadi 3 segmen : Kepala, Torax, dan abdomen. Hewan jantan dewasa mempunya 3 mata dan 11 pasang kaki. Dalam kondisi alami, pangan *Artemia salina* berupa algae, Protozoa, dan detritus. *Artemia salina* jantan memiliki 2 organ reproduksi. Uterus dari *Artemia salina* betina berisi hingga 200 telur. Mereka memproduksi telur, yang mengapung dalam air dan dapat berkembang menjadi nauplia (larva) atau kista jika lingkungan tidak menguntungkan. Kista adalah bentuk dorman dari hewan ini, yang akan bertahan lama dalam keadaan kering. Kista akan menetas menjadi nauplia jika kondisi lingkungan memungkinkan (Dumitrascu miora, 2011).

*Artemia* merupakan salah satu jenis pakan alami yang hidup di laut. Telur artemia yang baru menetas merupakan jenis pakan awal bagi larva patin (sampai umur 7 hari) yang kandungan proteinnya cukup tinggi yaitau sekitar 55%. Artemia merupakan golongan zooplankton yang hidup sebagai planktonik yaitu melayang dalam air. Artemia termasuk jenis udang-udangan yang mempunyai ukuran relatif kecil dengan sistem osmoregulasi yang efisien sehingga mampu beradaptasi pada kisaran salinitas yang luas (Kholish M, 2017).Kandungan kimia yang terdapat dalam tubuh *Artemia salina* adalah protein dan asam lemak yang tinggi. Nilai nutrisi Artemia dewasa mempunyai keunggulan yaitu kandungan proteinnya meningkat dari rata-rata 47% pada nauplius menjadi 60% pada Artemia dewasa yang telah dikeringkan (Dumitrascu miora, 2011).

Gambar 2 2. *Artemia salina* Leach (Dumitrascu miora, 2011)

* + 1. **Taksonomi *Artemia salina* Leach**

Artemia adalah jenis crustacean tingkat rendah dari phylum Arthropoda yang banyak mengandung nutrisi terutama protein dan asam-asam amino. Dalam dunia hewan *Artemia* atau *Brine shrimp* merupakan makrozooplankton yang di klasifikasikan dalam(Dumitrascu miora, 2011) :

Klasifikasi :

Kingdom : Animalia

Filum : Arthopoda

subphylum : Crustaceae

Class : Branchiopoda

Bangsa : Anostraca

Famili : Artemiidae

Suku : *Artemia*

Jenis : *Artemia salina* Leach

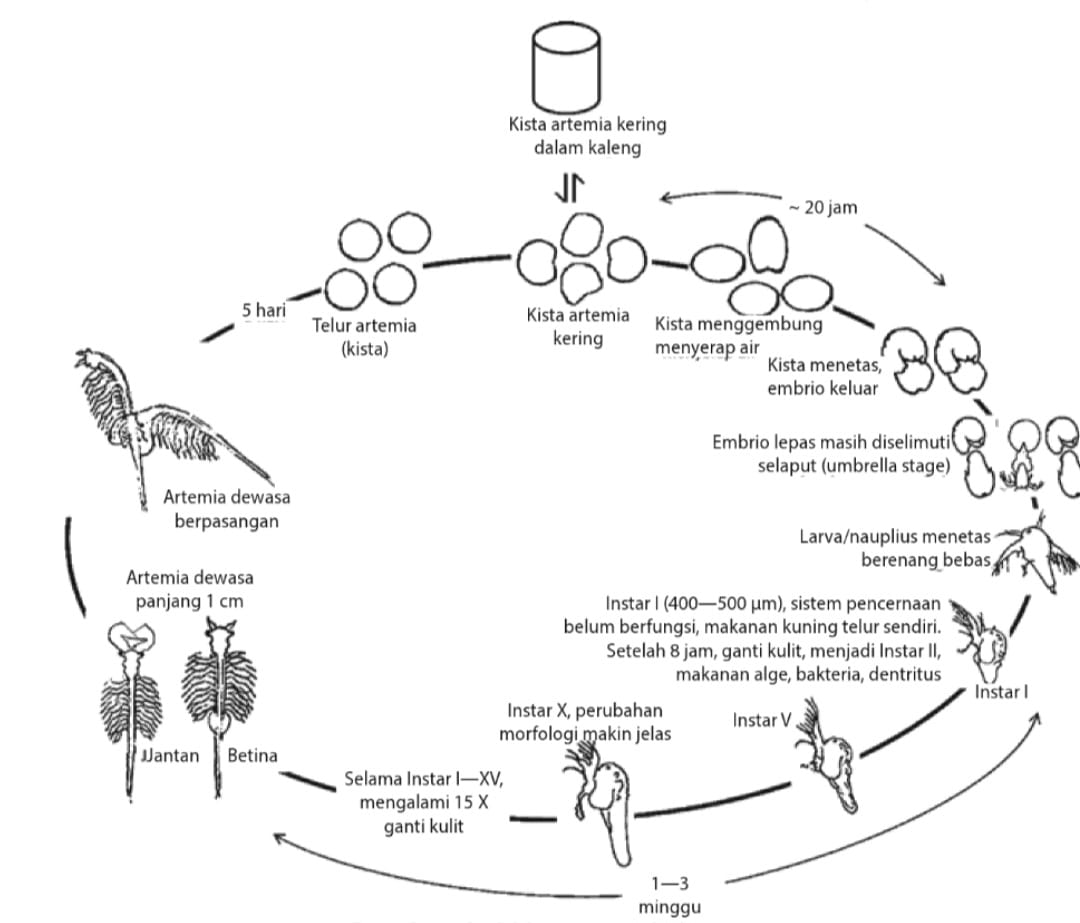
* + 1. **Siklus Hidup *Artemia salina* Leach**

Perkembangbiakan *artemia* tidak selalu terjadi melalui perkawinan, karena hewan ini mempunyai dua cara reproduksi diri yaitu jenis biseksual dan jenis partenogenenesis. Perkembangbiakan jenis biseksual harus melalui proses perkawinan antara induk jantan dan induk betina. Pada jenis partenogenesis tidak ada perkawinan karena memang tidak pernah ada jantannya. Jadi, betina akan beranak dengan sendirinya tanpa perkawinan. Pada kondisi lingkungan yang optimal, baik induk yang bereproduksi secara biseksual maupun partenogenesis akan menghasilkan nauplius. Sebaliknya bila kondisi lingkungan kurang menguntungkan, induk artemia yang semula siap melahirkan akan menghasilkan telur bercangkang tebal yang disebut kista. Dengan demikian selain bersifat ovovivipar (melahirkan telur yang sudah menjadi anak) dalam melahirkan, artemia juga bersifat vivipar yaitu mengeluarkan telur (Ghufran M.T, 2010).

Cara produksi *Artemia salina* Leach dikontrol oleh faktor lingkungan yaitu konsetrasi oksigen di air dan fluktasinya, tipe pangan, kadar garam. Pada reproduksi ovipar, setelah kopulasi, telur yang sudah difertilisasi berkembang menjadi tahap gastrula dan dikelilingi oleh kulit coklat yang kuat, berisi kitin, liproprotein, dan lain- lain. Kista yang terbentuk kemudian dilepaskan kedalam air. Kista menjadi larva bebas ketika proses awal pengeringan terjadi. Pada reproduksi ovovivipar, telur yang difertilisasi berkembang menjadi gastrula, lalu gastrula berdiferensiasi menjadi tubuh betina yang disebut nauplia. Telur menetaskan nauplia yang berwarna putih dan bersirip. Kista (0,2-0,3 mm) menjadi nauplia (0,45 mm) dalam waktu 24-36 jam. Hidrasi lengkap kista membutuhkan waktu 1 jam. Nauplia kemudian menjadi kista dewasa (maksimal 13 mm) dalam waktu 3 minggu tergantung ketersediaan pangan. Kista dapat bertahan hidup pada kondisi ekstrim hingga mencapai suhu 80ºC (Dumitrascu miora, 2011).

Kista memiliki kemampuan bertahan ketika berkontak dengan cairan agresif, kondisi kering yang ekstrim, kekurangan oksigen dan pengaruh pestisida. Analisa karbon menunjukkan bahwa umur kista radiaktif mencapai 10.000 tahun. Nauplia tumbuh optimal pada 28ºC dan 35 ppt. sedangkan suhu letal yang menyebabkan kematian nauplia adalah 37-38ºC. Nauplia akan berkembang dari 1 mata menjadi 3 mata. Nauplia berenang melalui kolam air menggunakan antenna. Namun, Artemia salina dewasa tidak bersifat fototaksis. Rahang nauplis digunakan untuk menyaring air dan fitolankton (Kholish M, 2017).

Larva nauplis mengalami 15 kali metamorphosis, larva tingkat satu dinamakan larva tingkat I, larva tingkat dua dinamakan instar II, demikian seterusnya hingga instar XV. Larva baru saja menetas atau instar I berbentuk bulat lonjong dengan panjang sekitar 400 μm dan berat μg. Instrar II panjangnya 600 μm, sedangkan instar III panjangnya 700 μm. Pada awalnya nauplia berwarna kemerah-merahan karena masih banyak menyimpan cadangan makanan. Selain itu pada fase ini, mulut dan anusnya belum ter fase instar I tidak makan. Setelah 24 jam berubah menjadi instar II dimana pada fase ini larva mulai mencari makan guna memenuhi cadangan makanan yang berkurang (Ghufran M.T, 2010).



Gambar 2 3. Siklus hidup Artemia salina Leach (Wibowo dkk, 2013)

*Artemia salina* berenang menggunakan anggota badan. Artemia salina dewasa memiliki 1 mata di bagian tengah, 2 mata lateral, otak sederhana berbentuk cincin yang mengelilingi mulutnya, *Artemia salina* dewasa juga memiliki 1 mata di bagian tengah dan 1 mata di bagian lateral, panjang salina jantan 8-10 mm dan panjang betina 10-12 mm serta memiliki warna yang bervariasi tergantung pada konsentrasi garam dalam air dan green tored (merah) pada konsentrasi tinggi ( Wibowo dkk, 2013).

* + 1. **Penggunaan *Artemia* Sebagai Hewan Uji Sitotoksisitas**

Penggunaan dengan menggunakan hewan uji larva udang *Artemia salina* Leach ini memiliki sensitivitas yang sangat tinggi terhadap senyawa sitotoksik. Larva *Artemi salina* Leach sangat mirip degan sel kanker manusia dan memiliki kesamaan DNA*- dependent* RNA*-polymerase* dengan mamalia, larva yang berumur 48 jam atau dalam fase nauplis, karena pada fase tersebut larva *Artemia salina* aktif membelah secara mitosis sama seperti sel kanker yang juga berkembang secara mitosis. Hasil uji ini dapat diketahui dari jumlah kematian anak udang *Artemia salina* Leach karena pengaruh ekstrak atau senyawa bahan alam tumbuhan tertentu dari dosis yang telah ditentukan.. Pada beberapa penelitian terdahulu menunjukkan adanya korelasi yang signifikan terhadap beberapa bahan, baik berupa ekstrak tanaman dan aksinya sebagai antikankermelihat adanya potensi sebagai antikanker tersebut (Wibowo S. et al., 2013).

# 

# BAB III

# METODOLOGI PENELITIAN

## **Rancangan Penelitian**

Penelitian yang dilakukan bersifat eksperimental. Sampel yang digunakan pada penelitian ini yaitu daun jamblang *(Syzygium cumini* L*.)*. Data yang dikumpulkan merupakan data kuantitatif dan kualitatif yang mana diambil dari hasil pengumpulan sampel, karakteristik simplisia, skrining fitokimia, serta pengaruh metode ekstraksi terhadap uji Sitotoksik menggunakan metode BSLT pada larva udang *Artemia salina* Leach.

### **Variabel Penelitian**

Variabel bebas pada penelitian ini yaitu variasi konsentrasi ekstrak etanol daun jamblang yang digunakan sebesar 100 µg/mL, 200 µg/mL, 300 µg/mL, 400 µg/mL, 500 µg/mL, 600 µg/mL, 700 µg/mL, 800 µg/mL, 900 µg/mL, 1000 µg/mL. Variabel terikat dalam penelitian ini yaitu skrining fitokimia, karakteristik simplisia, sitotoksik.

### **Parameter Penelitian**

Parameter penelitian ini meliputi makroskopik, mikroskopik, kadar air, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, uji skrining identifikasi senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin terpenoid/steroid dan glikosida. Pengaruh metode ekstraksi uji sistotoksisitas suatu ekstrak etanol daun jamblang agar mendapatkan nilai LC50.

## **Jadwal dan Lokasi Penelitian**

### **Jadwal Penelitian**

Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari sampai dengan bulan maret 2023.

### **Lokasi Penelitian**

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmasi Terpadu Universitas Muslim Nusantara Al- Washliyah Medan.

## **Bahan**

Bahan yang digunakan untuk pengujian adalah daun jamblang (*Syzygium cumini* L.), etanol 96%, aquadest, pereaksi Bouchardat, pereaksi Dragendorff, pereakasi Mayer, pereaksi Molish, Kloroform, Toluen, pereaksi Besi (III) klorida 1%, pereaksi Natrium hidroksida 2N, Asam Klorida pekat, Benzene, garam laut dan telur *Artemia salina* Leach.

## **Peralatan**

Alat yang digunakan pada pengujian ini adalah maserator, sokhletasi, rak dan tabung reaksi, alat-alat gelas (gelas ukur, Erlenmayer, pipet ukur, batang pengaduk), *hot plate*, *blender*, ayakan, cawan penguap, kertas saring, kaca objek, mikroskop, timbangan analitik, vial, oven, bejana penetesan telur *Aretmia salina* Leach, *rotary evaporator*.

## **Prosedur Penelitian dan Pengumpulan Data**

### **Pengumpulan Sampel**

Pengumpulan sampel daun jamblang (*Syzygium cumini* L.) dilakukan secara *purposive sampling*, yaitu tanpa membandingkan dengan tumbuhan serupa dari daerah lain. Sampel diambil disekitar daerah Desa Teurebue, Kecamatan Mutiara, Provinsi Aceh.

### **Determinasi Tumbuhan**

Determinasi tumbuhan dilakukan di Herbarium Medanense MEDA Universitas Sumatra Utara Medan.

### **Pembuatan Simplisia**

Sampel daun jamblang *(Syzygium cumini* L*.)* diambil di desa Teureubue, provinsi Aceh sebanyak 13 kg yang dipetik langsung dari pohon dengan kriteria daun masih segar dan bagus tanpa bolong bolong, dengan warna hijau sama rata kemudian disortasi basah dengan tujuan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan lainnya. Lalu dilakukan pencucian dengan air mengalir yang bertujuan untuk menghilangkan tanah dan pengotor lainnya yang melekat pada sampel. Kemudian dilakukan perajangan dengan cara diiris tipis yang bertujuan untuk mempermudah saat proses pengeringan, pengepakan dan penggilingan. Selanjutnya, dilakukan pengeringan dengan cara pengeringan buatan yaitu dimasukkan kedalam lemari pegering dengan suhu 40-50ºC. Kemudian, dilakukan sortasi kering, tujuan sortasi untuk memisahkan benda-benda asing seperti bagian-bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotoran-pengotoran lain yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering. Kemudian simplisia diserbukan dengan menggunakan *blender*, diayak dan ditimbang. Serbuk simplisia yang diperoleh disimpan dalam wadah yang tertutup rapat (Depkes RI, 1985).

## **Pembuatan Larutan Pereaksi**

### **Larutan Pereaksi Bouchardat**

Sebanyak 2 g iodium dan 4 g kalium iodida kemudian dilarutkan dalam air suling hingga 100 mL (Depkes RI, 1995).

### **Larutan Pereaksi Mayer**

Raksa (II) klorida sebanyak 1,35 g dilarutkan dengan 60 ml akuades di dalam gelas ukur 100 ml. pada wadah lain larutkan 5 g kalium iodida dalam 10 ml akuades. Kedua larutan dicampur dalam labu ukur 100 ml, lalu diencerkan dengan akuades sampai garis tanda (Depkes RI, 1995).

### **Larutan Pereaksi Dragendorff**

Sebanyak 20 ml larutan bismut nitrat 40% b/v dalam asam nitrat (p) dicampur dengan 50 ml larutan kalium iodida (p) 54,4% b/v, diamkan sampai memisah sempurna. Ambil larutan jernih dan encerkan dengan air secukupnya hingga 100 ml (Depkes RI, 1995).

### **Larutan Pereaksi Molish**

Sebanyak 3 g alfa-naftol dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml lalu dilarutkan dalam asam nitrat 0,5 N sampai garis tanda (Depkes RI, 1995).

### **Larutan Pereaksi Asam Klorida 2 N**

Asam klorida pekat sebanyak 19,71 ml dipipet lalu dimasukkan ke dalam gelas kimia 100 ml lalu diencerkan dengan akuades sampai garis tanda (Depkes RI, 1995).

### **Larutan Pereaksi Liebermann-Burchard**

Asam asetat anhidrat sebanyak 20 ml dipipet lalu dicampurkan dengan 1 ml asam sulfat pekat dalam beaker glass (Depkes RI, 1995).

### **Larutan Pereaksi Timbal (II) Asetat 0,4 M**

Timbal (II) asetat sebanyak 15,17 g dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml lalu dilarutkan dalam akuades bebas CO2 sampai garis tanda (Depkes RI, 1995).

### **Larutan Peraksi Besi (III) Klorida 1%**

Besi (III) klorida sebanyak 1 g dilarutkan dalam akuades dalam labu ukur 100 mL dan dicukupkan sampai garis tanda (Depkes RI, 1995).

### **Larutan Pereaksi Asam Nitrat 0,5 N**

Asam nitrat pekat sebanyak 44,3 ml dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml lalu diencerkan dengan akuades sampai garis tanda (Depkes RI, 1995).

### **Larutan Pereaksi Kloral Hidrat**

Kloral hidrat sebanyak 50 g ditimbang lalu dilarutkan dalam 20 ml akuades di dalam labu erlenmeyer (Depkes RI, 1995).

### **Larutan Pereaksi Natrium Hidroksida 2 N**

Sebanyak 8 g kristal murni natrium hidroksida dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml, lalu dilarutkan dalam akuades hingga volume 100 ml (Depkes RI, 1995).

### **Larutan Pereaksi Asam Sulfat 2 N**

Asam sulfat pekat sebanyak 10,32 ml dipipet lalu dimasukkan ke dalam gelas kimia 100 ml lalu diencerkan dengan akuades sampa garis tanda (Depkes RI, 1995).

## **Karakteristik Simplisia**

### **Pemeriksaan Makroskopik**

Pemeriksaan makroskopik dilakukan dengan cara memperhatikan bentuk, ukuran, warna, rasa dan bau terhadap simplisia daun jamblang *(Syzygium cumini* L*.)* (Depkes RI, 1995).

### **Pemeriksaan Mikroskopik**

Pemeriksaan mikroskopik dilakukan terhadap serbuk simplisia daun jamblang *(Syzygium cumini* L*.)* dengan cara serbuk simplisia ditaburkan di atas objek glass yang telah ditetesi dengan kloral hidrat sebanyak 1 tetes dan ditutup dengan *deck glass*, kemudian diamati di bawah mikroskop (Depkes RI, 1995).

### **Penetapan Kadar Air**

Penetapan kadar air dilakukan dengan metode Azeotropi. Alat terdiri dari labu alas bulat bulat 500 ml, alat penampung dan pendinginan, tabung penyambung dan penerima 10 mL.

1. Penjenuhan toluene

Sebanyak 200 ml toluen dan 2 ml air suling dimasukkan ke dalam labu alas bulat, dipasang alat penampung dan pendingin, kemudian didestilasi selama 2 jam. Destilasi dihentikan dan dibiarkan dingin selama 30 menit, kemudian volume air dalam tabung penerima dibaca dengan ketelitian 0,05 mL.

1. Penetapan kadar air simplisia

Sebanyak 5 g serbuk simplisia yang telah ditimbang seksama, dimasukkan ke dalam labu yang berisi toluen jenuh tersebut, lalu dipanaskan hati-hati selama 15 menit. Setelah toluen mendidih, kecepatan tetesan diatur 2 tetes untuk tiap detik sampai sebagian besar air terdestilasi, kemudian kecepatan destilasi dinaikkan sampai 4 tetes tiap detik. Setelah semua air terdestilasi, bagian dalam pendinginan dibilas dengan toluen. Destilasi dilanjutkan selama 5 menit, kemudian tabung penerima dibiarkan mendingin pada suhu kamar. Setelah air dan toluen memisah sempurna, volume air dibaca dengan ketelitian 0,05 mL. Selisih kedua volume air yang dibaca sesuai dengan kandungan air yang terdapat dalam bahan yang diperiksa. Kadar air dihitung dalam persen (v/b) (Depkes RI, 1995).

### **Penetapan Kadar Abu Total**

Sebanyak 2 g serbuk simplisia yang telah digerus dan ditimbang seksama dimasukkan dalam krus porselen yang telah dipijarkan dan ditara, diratakan. Krus dipijarkan perlahan-lahan hingga arang habis, pijaran dilakukan pada suhu 600ºC selama 3 jam kemudian didinginkan dan ditimbang sampai diperoleh bobot tetap. Kadar abu dihitung terhadap bahan yang dikeringkan di udara. Jika cara ini arang tidak dapat dihilangkan, ditambahkan air panas, saring melalui kertas saring bebas abu. Pijarkan sisa kertas dan kertas saring dalam krus yang sama. Masukkan filtrat ke dalam krus, diuapkan.Pijarkan hingga bobot tetap, ditimbang dan dihitung (Depkes RI, 1995).

### **Penetapan Kadar Abu Tidak Larut Asam**

Abu yang diperoleh pada penetapan kadar abu, dididihkan dengan 25 mL asam klorida encer selama 5 menit, kumpulkan bagian yang tidak larut dalam asam, saring melalui krus kaca masir atau kertas saring bebas abu yang telah diketahui beratnya, lalu sisa dipanaskan, kemudian didinginkan dan ditimbang sampai bobot tetap. Kadar abu yang tidak larut dalam asam dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara (Depkes RI, 1989).

### **Penetapan Kadar Sari Larut Air**

Sebanyak 5 gram serbuk simplisia dimaserasi dengan 100 mL kloroforom P (2,5 mL kloroforom dalam 100 mL aquadest) selama 24 jam menggunakan labu bersumbat sambil sekali-sekali dikocok selama 6 jam pertama, kemudian didiamkan. Saring, 20 ml filtrat diuapkan dalam cawan dangkal berdasar rata (yang telah ditara) di atas penangas air hingga kering, sisa dipanaskan pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Kadar dihitung dalam persen terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara (Depkes RI, 1989).

### **Penetapan Kadar Sari Larut Etanol**

Ditimbang 5 g serbuk simplisia yang telah dikeringkan di udara dimaserasi selama 24 jam dalam 100 ml etanol 96% dalam labu bersumbat sambil dikocok berkali-kali selama 6 jam pertama dan kemudian dibiarkan selama 18 jam. Kemudian disaring, 20 ml filtrat diuapkan sampai kering dalam cawan dangkal berdasarkan rata yang telah ditara dan sisanya dipanaskan pada suhu 105o sampai bobot tetap. Kadar sari larut dalam etanol dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan diudara (Depkes RI, 1989).

## **Pembuatan Ekstrak**

* + 1. **Pembuatan Ekstrak daun jamblang dengan cara Maserasi**

Pembuatan ekstrak daun jamblang dilakukan dengan cara maserasi. Sebanyak 10 bagian (500 g) serbuk simplisia dimasukkan ke dalam maserator, dituangi dengan 75 bagian pelarut etanol 96 % (3750 mL), didiamkan selama 5 hari terlindung dari cahaya sambil sesekali diaduk, lalu di peras sehingga diperoleh maserat I. Kemudian ampas yang diperoleh dibilas dengan 25 bagian etanol 96 % (1250 mL), pindahkan kedalam bejana tertutup (maserat I dan maserat II) biarkan ditempat yang sejuk terlindung dari cahaya matahari selama 2 hari, kemudian enap tuangkan sehingga diperoleh hasil ekstrak cair, lalu dipekatkan dengan cara diuapkan pada *rotary evaporator* dengan suhu tidak lebih dari 50ºC hingga diperoleh ekstrak kental ( Depkes RI, 1979).

* + 1. **Pembuatan Ekstrak daun jamblang dengan cara Soxhletasi**

Sebanyak 500 gram daun jamblang dibungkus dengan kertas saring dan diikat. Dimasukkan kedalam alat soxhlet, ditambah etanol 96% ke dalam labu soxhlet dan lakukan soxhletasi dengan suhu 70°C. Penyarian dilakukan sampai tetesan tidak berwarna lagi atau selama 18 jam. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C dan dipekatkan kembali dengan tangas air sampai diperoleh ekstrak kental (Nurhasnawati et al., 2017).

## **Skrining Fitokimia**

### **Pemeriksaan Alkaloid**

Simplisia dan ekstrak daun jamblang ditimbang sebanyak 0,5 g, kemudian ditambahkan 1 ml asam klorida 2 N dan 9 ml air suling, dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit, didinginkan dan disaring. Filtrat dipakai untuk tes alkaloid sebagai berikut:

1. Filtrat sebanyak 3 tetes ditambahkan dengan 2 tetes pereaksi Mayer, reaksi positif ditandai dengan terbentuknya endapan menggumpal berwarna putih atau kuning.
2. Filtrat sebanyak 3 tetes ditambahkan dengan 2 tetes pereaksi Bouchardat, reaksi positif ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna coklat sampai hitam.
3. Filtrat sebanyak 3 tetes ditambahkan dengan 2 tetes pereaksi Dragendorff, reaksi positif ditandai dengan terbentuknya warna merah atau jingga.

Alkaloid dianggap positif jika terjadi endapan atau kekeruhan sedikitnya 2 reaksi dari 3 percobaan di atas (Depkes RI, 1995).

### **Pemeriksaan Flavonoid**

Sebanyak 10 g serbuk simplisia dan ekstrak etanol daun jamblang ditambahkan 100 mL air panas, dididihkan selama 5 menit dan disaring dalam keadaan panas. Filtrat yang diperoleh kemudian diambil 5 mL lalu ditambahakan 0,1 g serbuk Mg dan 1 mL asam klorida pekat dan 2 mL amil alkohol lalu dikocok kemudian dibiarkan memisah. Flavonoid positif jika terbentuk warna merah, kuning, jingga pada lapisan alkohol (Depkes RI, 1995).

### **Pemeriksaan Tanin**

Sampel serbuk simplisia dan ekstrak etanol daun jamblang ditimbang sebanyak 0,5 g ditambah 10 mL akuades, dikocok dan disaring. Filtrat diencerkan dengan akuades sampai hampir tidak berwarna. Larutan diambil 2 mL ditambahkan 1 sampai 2 tetes pereaksi besi (III) klorida. Jika terjadi warna biru kehitaman atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin (Depkes, RI, 1995).

### **Pemeriksaan Saponin**

Sebanyak 0,5 g serbuk simplisia dan ekstrak etanol daun jamblang dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambahkan 10 mL akuades panas, didinginkan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik, terbentuk buih atau busa tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm. Penambahan 1 tetes larutan HCL 2 N, apabila busa tidak hilang menunjukkan adanya saponin (Depkes, RI, 1995).

### **Pemeriksaan Steroid/Triterpenoid**

Sampel serbuk simplisia dan ekstrak etanol daun jamblang ditimbang sebanyak 1 g dimaserasi dengan 20 mL eter selama 2 jam, lalu disaring. Filtrat diuapkan dalam cawan penguap kemudian ditambahkan 5 tetes asam asetat anhidrat dan 5 tetes asam sulfat pekat (pereaksi liebermann-Burchard). Terbentuknya warna ungu sampai merah ungu menunjukkan adanya triterpenoida dan terbentuknya warna biru hijau menunjukkan adanya steroid (Depkes, RI, 1995).

### **Pemeriksaan Glikosida**

Simplisia dan ekstrak daun jamblang masing-masing ditimbang sebanyak 3 gram, kemudian disari dengan 30 mL campuran 7 ml bagian etanol 96% dan 3 bagian aquades ditambah dengan 10 mL HCl 2 N. Direfluks selama 30 menit, didinginkan dan disaring. Diambil 20 mL filtrat ditambahkan 25 ml aquades dan 25 mL timbal (II) asetat 0,4 M, dikocok, lalu didiamkan selama 5 menit dan disaring. Filtrat disari dengan 20 mL campuran 3 bagian kloroform dan 2 bagian isopropanol dilakukan berulang sebanyak tiga kali. Kumpulan sari air diuapkan pada temperatur tidak lebih dari 50°C. Sisanya dilarutkan dalam 2 mL metanol. Kemudian diambil 0,1 mL larutan percobaan dimasukkan kedalam tabung reaksi, diuapkan di penangas air. Pada sisa ditambahkan 2 mL air dan 5 tetes pereaksi molish. Kemudian secara perlahan ditambahkan 2 mL asam sulfat pekat melalui dinding tabung, jika terbentuk cincin ungu pada batas kedua cairan menunjukkan adanya glikosida (Depkes, RI, 1995).

## **Uji Sitotoksisitas Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)**

### **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 saring(Djamil & Anelia, 2009).

### **Penetasan Larva *Artemia salina* Leach**

Penetesan telur dilakukan dengan cara menyiapkan wadah untuk meneteskan telur udang. Adapun wadah dibagi menjadi dua bagian, bagian gelap dan 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 penetesan tetap terjaga 25°C-31°C. Sedangkan di ruang sebelahnya diberi air laut buatan tanpa penerangan ditutup dengan alumunium foil atau lakban hitam. Telur udang sebanyak 100 mg terlebih dahulu dicuci lalu ditaburkan dan direndam pada wadah berisi akuadest selama 1 jam, lalu ditiriskan kemudian telur dimasukkan ke dalam wadah yang sudah berisi air laut buatan, dibiarkan 2×24 jam sampai menetas menjadi larva yang aktif bergerak kemudian siap digunakan sebagai hewan uji (Widyasari et al., 2018).

### **Uji Sitotoksisitas Ekstrak Etanol Daun Jamblang**

Pada pembuatan larutan induk ekstrak etanol daun jamblang pada konsentrasi 2000 µg/mL dengan menimbang 0,2 g ekstrak lalu dilarutkan dengan 100 mL air laut. 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 µg/mL dan 1 tabung digunakan untuk kontrol negatif, masing-masing dengan tiga kali pengulangan.

Disiapkan vial untuk pengujian, untuk masing-masing konsentrasi larutan uji membutuhkan 10 vial dan replikasi sebanyak 3 kali. Dalam 11 kelompok masing-masing vial terdiri dari 10 ekor larva udangyang telah diisi dengan sampel yang dilarutkan dengan air laut buatan sebanyak 10 mL. Kelompok satu (kontrol) diberi air laut buatan saja tanpa ekstrak. Kelompok dua diberi larutan uji ekstrak daun jamblang 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 di bawah penerangan lampu 40-60 watt. Pengamatan dilakukan selama 24 jam terhadap kematian larva udangkemudian dibandingkan dengan kontrol. Tingkat toksisitas ditentukan dengan menghitung jumlah larva yang mati. Kriteria standar untuk menilai kematian larva udang adalah bila larva udang tidak menunjukkan pergerakan selama beberapa detik (Widyasari *et al*, 2018).

## **Analisis Data**

Untuk melihat pengaruh metode ekstraksi dari ekstrak etanol daun jamblang *(Syzygium cumini* L*.)* terhadap larva *Artemia salina* Leach dilakukan perhitungan statistik 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 = ax + b

LC50 = arc log x

Keterangan :

x : Log Konsentrasi

a : Intercept (garis potong)

Y : Nilai Probit

b : Slope (kemiringan dari garis regresi linear)

Data hasil penelitian uji toksisitas diolah dan disajikan dalam bentuk tabel dan kurva. Data dari uji toksisitas tersebut akan dianalisis dengan analisis probit serta menggunakan *Microsoft Office Excel* untuk mencari regresi linier dengan hubungan antara nilai probit dengan log konsentrasi. 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. (Fadli et al, 2019).

# BAB IV

# HASIL DAN PEMBAHASAN

## **4.1. Hasil Identifikasi Tumbuhan Daun Jamblang (*****Syzygium cumini* L.)**

Tumbuhan daun jamblang yang digunakan dalam penelitian ini di determinasi di Herbarium Medanese Universitas Sumatera Utara, Medan. Hasil determinasi tanaman dari Herbarium Medanese diketahui bahwa jenis tanaman adalah famili *Myrtaceae*, genus *Syzygium* dengan spesies *Syzygium cumini*L. Hasil identifikasi tumbuhan daun jamblang dapat dilihat pada lampiran 3.

## **4.2. Hasil Pengelolahan Daun Jamblang (*Syzygium cumini* L.)**

Sampel daun jamblang yang telah dikumpulkan didapatkan bobotnya sebanyak 13.000 gram, setelah dilakukan pengeringan dengan suhu 50oC maka diperoleh bobot simplisia sebanyak 1.280 gram.

## **4.3. Hasil Pemeriksaan Karakterisasi Simplisia**

Hasil dari karakterisasi simplisia pada sampel daun jambalang yaitu pada pengujian makroskopis, bentuk fisik dari simplisia daun jamblang (*syzygium cumini*  L.) yaitu cukup tebal dan lebar dengan tangkai daun 1-3 cm, helai daun lebar berbentuk baji, tulang daun menyirip, Panjang daun 7-13 cm, lebar daun 5-6 cm, bulat memanjang, dan tepi rata serta berwarna hijau kecoklatan, memiliki bau yang khas dan rasa kelat.

Hasil uji mikroskopis pada serbuk simplisia daun jamblang didapatkan adanya berkas pembuluh (xilem) bentuk spiral, epidermis atas, epidermis bawah, stomata tipe parasitik, hablur kalsium oksalat bentuk kristal druse, serabut sklerenkim dan fragmen mesofil. Hasil uji mikroskopis dapat dilihat pada lampiran 14. Hasil karakterisasi simplisia daun Jamblang dapat dilihat pada tabel 4.1 berikut ini :

Tabel 4 1. Hasil Karakterisasi Daun Jamblang (*Syzygium cumini* L.)

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **No** | **Karakteristik** | **Hasil (%)** | **MMI(%)** | **Keterangan** |
| 1. | Kadar Air | 6,66% | <10 % | Memenuhi Syarat |
| 2. | Kadar Sari Larut Air | 19,64% | ˃ 6 % | Memenuhi Syarat |
| 3. | Kadar Sari Larut Etanol | 24,67% | ˃ 6,5 % | Memenuhi Syarat |
| 4. | Kadar Abu Total | 4,44% | ˂ 16,6% | Memenuhi Syarat |
| 5. | Kadar Abu Tidak Larut Asam | 0,66% | ˂ 1% | Memenuhi Syarat |

Keterangan : ˂ = Kurang dari

˃ = Lebih dari

Berdasarkan tabel diatas pemeriksaan kadar air pada serbuk simplisia dilakukan untuk mengetahui kadar air yang terkandung didalam simplisia Daun Jamblang. Persyaratan kadar air simplisia umumnya tidak lebih dari 10% karena kelebihan air dalam simplisia akan mendorong pertumbuhan mikroorganisme dan kapang (jamur), reaksi pembusukan, reaksi enzimatis, yang pada akhirnya diikuti oleh reaksi hidrolisis senyawa kimia dalam simplisia. Hasil pemeriksaan karakterisasi kadar air simplisia yang diperoleh adalah 6,66%.

Pada pengujian kadar sari larut dalam air ekstrak serbuk simplisia Daun Jamblang didapatkan persentase kadar sebesar 19,64%, sedangkan untuk pengujian kadar sari larut dalam etanol serbuk simplisia Daun Jamblang di peroleh persentase kadarnya sebesar 24,67% (lampiran 18). Hasil kadar yang didapatkan ini memenuhi persyaratan dimana untuk kadar sari yang larut dalam air besar dari 6 % dan kadar sari yang larut dalam etanol besar dari 6,5 % (Depkes RI, 1989). Kadar sari larut dalam air dan etanol merupakan pengujian untuk penetapan jumlah kandungan senyawa yang dapat terlarut dalam air dan kandungan senyawa yang dapat terlarut dalam etanol. Prinsip dari ekstraksi didasarkan pada distribusi zat terlarut dengan perbandingan tertentu antara dua pelarut yang tidak saling bercampur (Handayani *et al*, 2018).

Pada penentuan kadar sari larut air dan etanol, simplisia terlebih dahulu dimaserasi selama ± 24 jam dengan air dan etanol (96%). Ketika penentuan kadar sari larut air, simplisia ditambahkan kloroform terlebih dahulu, penambahan kloroform tersebut bertujuan sebagai zat antimikroba. Karena pada saat maserasi hanya digunakan air saja, hal ini memungkinkan ekstraknya mengalami kerusakan karena air merupakan media yang baik untuk pertumbuhan mikroba dan dikhawatirkan terjadi proses hidrolisis yang akan merusak ekstrak sehingga menurunkan mutu dan kualitas dari ekstrak tersebut. Sementara pada penentuan kadar sari larut etanol tidak ditambahkan kloroform, karena etanol sudah memiliki sifat antibakteri jadi tidak perlu ditambahkan kloroform. Data kadar sari dalam pelarut tertentu biasanya diperlukan untuk menentukan pelarut yang akan digunakan untuk mengekstraksi senyawa tertentu agar zat-zat yang terekstraksi lebih banyak yang terekstrak dari simplisia yang akan diekstrak (Aprilliani *et al*, 2017).

Pada pengujian kadar abu total serbuk simplisia Daun Jamblang didapatkan persentase kadar sebesar 4,44 % dan untuk pengujian kadar abu tidak larut asam didapatkan persentase kadarnya sebesar 0,66 %. Hasil penetapan kadar abu ini masih memenuhi persyaratan dimana untuk kadar abu total tidak lebih dari 16,6% dan kadar abu yang tidak larut dalam asam tidak lebih dari 1% (Depkes RI, 1989). Penentuan kadar abu bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak. Prinsipnya ekstrak dipanaskan hingga senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap sampai hanya unsur mineral dan anorganik saja yang tersisa. Besarnya kadar abu total dalam setiap ekstrak menunjukkan bahwa ekstrak yang diperoleh dari proses maserasi banyak mengandung mineral. Sedangkan adanya kadar abu yang tidak larut dalam asam menunjukkan adanya pasir atau pengotor lainnya yang masih ada (Angelina *et al*, 2015).

## **4.4. Hasil Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Jamblang (*Sysygium cumini* L.) Dengan Cara Maserasi**

Proses ekstraksi dengan metode maserasi diperoleh ekstrak kental sebanyak 163 gram dengan rendemen ekstrak daun jamblang sebesar 32,6%. Metode maserasi ini dipilih karena memiliki banyak keuntungan diantaranya peralatan yang digunakan sangat sederhana, biaya operasional relatif rendah, metode ekstraksi tidak dipanaskan sehingga bahan alam tidak menjadi terurai. Sedangkan kelemahannya adalah memerlukan waktu dan pelarut yang banyak. Pada penelitian ini menggunakan pelarut etanol 96% karena etanol merupakan pilihan utama dalam metode maserasi dan dapat melarutkan berbagai zat aktif serta ekstrak dapat bertahan lama karena di samping sebagai pelarut, etanol juga berfungsi sebagai pengawet (Edwinanto *et al*, 2018)).

## **4.5. Hasil Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Jamblang (*Sysygium cumini* L.) Dengan Cara Soxhletasi**

Proses ekstraksi dengan metode soxhletasi diperoleh ekstrak kental sebanyak 169 gram dengan rendemen ekstrak daun jamblang sebesar 42%. Keuntungan metode ekstraksi cara panas (soxhletasi) merupakan metode ekstraksi terbaik untuk memperoleh hasil ekstrak yang banyak dan juga pelarut yang digunakan lebih sedikit atau efisiensi bahan, sampel yang diekstraksi secara sempurna karena dilakukan berulang-ulang. Sedangkan kelemahannya yaitu proses ekstraksi dapat berlangsung dalam waktu yang cukup lama (Nurhasnawati *et al*., 2017).

## **4.6. Hasil Skrining Fitokimia**

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui metabolit sekunder senyawa fitokimia yang terkandung dari ekstrak dan serbuk daun jamblang. Hasil skrining fitokimia serbuk dan ekstrak daun jamblang dengan melihat adanya golongan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid/triterpenoid dan glikosida, hasil yang menunjukkan adanya semua senyawa tersebut terlampir pada Tabel 4.2.

Tabel 4 2. Hasil Skrining Fitokimia Serbuk dan Ekstrak Daun Jamblang (*Syzygium cumini* L)

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|  |  | **Hasil** | | |
| **No** | **Parameter** | **Simplisia** | **Ekstrak Maserasi** | **Ekstrak Soxhletasi** |
| 1. | Alkaloid | + | + | + |
| 2. | Falvonoid | + | + | + |
| 3. | Tanin | + | + | + |
| 4. | Saponin | + | + | + |
| 5. | Steroid | + | + | + |
| 6. | Glikosida | + | + | + |

Keterangan:

(+) Positif : Mengandung golongan senyawa

(­­‒) Negatif : Tidak mengandung golongan senyawa

Berdasarkan hasil pengamatan yang diperoleh dari hasil skrining fitokimia ekstrak etanol daun jamblang (*Syzygium cumini* L.) mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid, saponin, tanin, steroid/triterpenoid dan glikosida

Pada pemerikasaan flavonoid pada penambahan asam klorida pekat pada serbuk Mg dan amil alkohol membentuk warna kuning pada serbuk simplisia daun jamblang, lalu pada ekstrak maserasi dan soxhletasi didapati terjadinya pembentukan warna jingga. Hal ini menjukkan pada daun jamblang terdapat flavonoid. Perubahan warna yang terjadi disebabkan adanya reaksi reduksi oleh Mg yang dilakukan pada suasana asam dengan penambahan HCl (Leonardy *et al.*, 2019).

Pemeriksaan saponin menunjukkan hasil yang positif terhadap serbuk simplisia dan ekstrak maserasi maupun soxhletasi daun jamblang (*Syzygium cumini* L.) karena buih yang terbentuk setelah pengocokan bertahan lama dan tidak hilang dengan penambahan 1 tetes HCl 2N. 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.

Pada pemeriksaan tanin menunjukkan hasil yang positif terhadap serbuk simplisia dan ekstrak maserasi maupun sokletasi daun jamblang (*Syzygium cumini* L.) Hal ini dikarnakan terjadinya perubahan warna menjadi hijau kehitaman dengan penambahan FeCl3 dimana terdapat gugus hidroksil yang ada pada senyawa tanin didalam serbuk simplisia dan ekstrak daun jamblang sehingga terjadi reaksi dengan FeCl3 yang mana membentuk senyawa kompleks (Wahid dan Safwan, 2019).

Pada hasil pemeriksaan steroid dan triterpenoid menunjukkan hasil positif terhadap serbuk simplisia dan ekstrak maserasi maupun soxhletasi daun jamblang (*Syzygium cumini* L.) hal ini didasarkan pada kemampuannya dalam membentuk warna biru yang menunjukkan adanya triterpenoid dan warna hijau menunjukkan adanya steroid dengan diberikkan pereaksi Lieberman Bouchardat (Depkes RI, 1995). Steroid dan triterpenoid merupakan senyawa yang dapat terekstraksi dengan pelarut non polar atau semi polar. Hal ini dikarnakan senyawa triterpenoid dan steroid memiliki kemampuan membentuk warna oleh H2SO4 dalam pelarut asam asetat anhidrat (Wahid dan Safwan, 2019).

Hasil identifikasi alkaloid menunjukkan bahwa serbuk dan ekstrak etanol maserasi maupun soxhletasi daun jamblang mengandung alkaloid, karena memberikan hasil endapan kuning pada pereaksi mayer dan endapan coklat pada pereaksi bouchardat.

Pada pemeriksaan glikosida menunjukkan bahwa serbuk dan ekstrak etanol maserasi maupun soxhletasi daun jamblang mengandung glikosida, karena menghasilkan atau terbentuk cincin berwarna ungu pada batas cairan larutan sisa setelah penambahan pereaksi molisch dan asam sulfat pekat.

## **4.7. Hasil Uji Sitotoksisitas Ekstrak Etanol Daun Jamblang (*Syzygium cumini* L.) Dengan Metode BSLT**

Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BLST) adalah salah satu metode uji toksisitas yang banyak digunakan dalam penelusuran senyawa bioaktif yang bersifat toksik dari bahan alam dan dapat ditentukan dalam waktu singkat, yaitu rentang waktu 24 jam setelah pemberian dosis. Uji sitotoksik ekstrak etanol daun jamblang (*Syzygium cumini* L) menggunakan *larva Artemia salina* Leach merupakan uji pendahuluan yang dilakukan dengan metode BSLT dalam upaya pencarian senyawa antikanker dengan penentuan LC50 setelah pemaparan larutan ekstrak selama 24 jam. Penentuan LC50 merupakan kadar atau konsentrasi suatu zat, yang dapat menyebabkan 50% kematian pada hewan percobaan dari suatu kelompok spesies setelah hewan percobaan tersebut terpapar dalam waktu tertentu. Metode ini merupakan metode penapisan farmakologi awal yang sederhana, cepat, rendah biaya, dan dapat dipercaya (Wahyuni & Syamsir, 2020).

Beberapa senyawa bioaktif yang telah berhasil diisolasi dan dimonitor aktivitasnya dengan BSLT menunjukkan adanya toleransi terhadap suatu uji spesifik antikanker. Parameter yang ditunjukkan untuk menunjukkan adanya aktivitas biologi suatu senyawa pada *Artemia salina* Leach adalah jumlah kematian larva udang karena pengaruh pemberian senyawa dengan dosis yang telah ditentukan (Kurniawan, 2021).

Pembiakan telur *Artemia salina* Leach dilakukan dengan menggunakan media air laut buatan dalam wadah bersekat berlubang yang dibagi menjadi bagian gelap dan bagian terang. Penggunaan media air laut buatan bertujuan untuk menyesuaikan lingkungan hidup *Artemia* sehingga hampir sama dengan air laut alami. Telur *Artemia* ditaburkan di bagian gelap dan telur yang telah menetas akan bergerak secara alami ke bagian terang karena larva bersifat *fototaksis* positif. Selain itu alat penetasan telur *Artemia salina* harus dilengkapi dengan aerator yang harus di hidupkan terus sampai terjadi penetasan, fungsi lain dari aerator adalah untuk mencegah pengendapan telur di dasar tangki. Pengendapan telur *Artemia* ini dapat mengakibatkan kondisi *anaerob* pada telur *Artemia* sehingga perkembangan embrio akan terhambat (Meyer *et al*., 1982). Larva yang digunakan untuk penelitian ini adalah larva yang berumur 48 jam karena pada umur 48 jam organ-organ pada *Artemia* sudah terbentuk lengkap dan cadangan makanannya sudah habis sehingga nantinya pada saat pengujian kematian *Artemia* benar-benar disebabkan karena ekstrak daun jamblang dalam berbagai konsentrasi tersebut (Sugianti, 2007).

Larutan ekstrak etanol daun jamblang dibuat menjadi 10 konsentrasi untuk terlebih dahulu digunakan sebagai orientasi, yaitu konsentrasi 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 dan 1000 µg/mL dengan ditambah blanko sebagai kontrol negatif yang hanya berisi air garam dan larva udang (Rani *et al*,2022). Penambahan blanko dilakukan untuk mengoreksi kematian larva yang bukan disebabkan oleh pengaruh ekstrak etanol daun jamblang. Uji BSLT ini dilakukan masing-masing sebanyak 3 kali pengulangan (triplo) untuk memperoleh keakuratan data dan mengurangi kesalahan dalam proses penelitian. Pengamatan dilakukan 24 jam setelah perlakuan konsentrasi ekstrak. Perhitungan kematian larva dilakukan dengan cara mengamati pergerakan larva selama beberapa detik. Dikatakan hidup jika larva masih bergerak aktif, sekecil apapun gerakan tersebut. Larva tidak mungkin diam, sebab selain berfungsi sebagai alat gerak, antena pada larva juga berfungsi sebagai alat pernafasan. Setelah jumlah larva yang hidup diketahui, jumlah larva yang mati dapat dihitung, sehingga didapatkan % kematian pada masing-masing konsentrasi perlakuan dan control (Kurniawan, 2019).

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh kematian larva berbeda-beda pada masing-masing konsentrasi. Ada satu hal yang menarik pada penelitian ini, bahwa ada perbedaan pada metode ekstraksi, di sini Metode ekstraksi yang digunakan yaitu metode ekstraksi maserasi dan soxhletasi. Maserasi termasuk metode ekstraksi dingin merupakan proses perendaman sampel menggunakan pelarut untuk menarik komponen yang diinginkan dengan kondisi dingin discontinue pada suhu ruangan (27-30oC). Soxhletasi termasuk metode ektraksi panas merupakan ekstraksi continue dengan adanya pendingin balik menggunakan suhu berdasarkan titik didih pelarutnya. Titik didih pelarut etanol yaitu 78,32oC namun suhu pemanasan untuk metode soxhetasi yang digunakan disini yaitu suhu 70oC (Rosita et al, 2017). Untuk hasil uji pendahuluan pada uji sitotoksisitas ekstrak maserasi daun jamblang dapat dilihat pada tabel 4.3 dan ekstrak soxhletasi dapat dilihat pada table 4.4 berikut ini :

**Tabel 4 3.** Uji Pendahuluan Sitotoksisitas Ekstrak Maserasi Daun Jamblang (*Syzygium cumini* L.)

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **No** | **Konsentrasi (µg/mL)** | **Jumlah larva yang mati** | | | **Total** | **Rata-rata kematian larva** | **% Mortalitas** |
|
| **P1** | **P2** | **P3** |
| 1 | Blanko | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0% |
| 2 | 100 | 3 | 3 | 3 | 9 | 3 | 30,0% |
| 3 | 200 | 3 | 3 | 3 | 9 | 3 | 30,0% |
| 4 | 300 | 3 | 3 | 5 | 11 | 3,66 | 36,6% |
| 5 | 400 | 5 | 4 | 4 | 13 | 4,33 | 43,3% |
| 6 | 500 | 5 | 5 | 7 | 17 | 5,66 | 56,6% |
| 7 | 600 | 6 | 6 | 7 | 19 | 6,33 | 63,3% |
| 8 | 700 | 7 | 7 | 8 | 22 | 7,33 | 73,3% |
| 9 | 800 | 9 | 8 | 9 | 26 | 8,66 | 86,6% |
| 10 | 900 | 10 | 10 | 10 | 30 | 10 | 100% |
| 11 | 1000 | 10 | 10 | 10 | 30 | 10 | 100% |

Tabel 4 4. Uji Pendahuluan Sitotoksisitas Ekstrak Soxhletasi Daun Jamblang (*Syzygium cumini* L.)

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **No** | **Konsentrasi (µg/mL)** | **Jumlah larva yang mati** | | | **Total** | **Rata-rata kematian larva** | **% Mortalitas** |
|
| **P1** | **P2** | **P3** |
| 1 | Blanko | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0% |
| 2 | 100 | 5 | 5 | 5 | 15 | 5,00 | 50,0% |
| 3 | 200 | 5 | 6 | 6 | 17 | 5,66 | 56,6% |
| 4 | 300 | 6 | 7 | 7 | 20 | 6,66 | 66,6% |
| 5 | 400 | 8 | 8 | 7 | 23 | 7,66 | 76,6% |
| 6 | 500 | 8 | 8 | 9 | 25 | 8,33 | 83,3% |
| 7 | 600 | 9 | 9 | 9 | 27 | 9.00 | 90,0% |
| 8 | 700 | 10 | 9 | 9 | 28 | 9,33 | 93,3% |
| 9 | 800 | 10 | 10 | 10 | 30 | 10 | 100% |
| 10 | 900 | 10 | 10 | 10 | 30 | 10 | 100% |
| 11 | 1000 | 10 | 10 | 10 | 30 | 10 | 100% |

Berdasarkan data presentase dari kedua tabel tersebut didapatkan pebedaan kematian larva pada tabel 4.3 metode maserasi di ambil konsentrasi yang memberikan harga persentase kematian larva antara 30 - 80%. Sedangkan pada tabel 4.4 metode soxhletasi diambil konsentrasi yang sama memberikan harga presentase kematian larva antara 50 – 95% karena dengan persentase kematian tersebut didapatkan kurva yang berbentuk garis lurus sehingga penentuan nilai LC50 pada uji BSLT ini perbandingan pada konsentrasi 200-700 µg/mL dapat menggambarkan hasil yang lebih tepat dan bisa dibandingkan (Sugianti, 2007).

Maka dari hasil yang didapat mengindikasikan bahwa, cara ektraksi soxhletasi lah yang paling banyak merusak atau mematikan larva *Artemia salina* Leach. Hal ini sesuai peda penelitian hasnaeni *et al* (2019) bahwa ekstraksi cara soxhletasi dapat menghasilkan kadar senyawa lebih banyak terutama flavonoid dibanding cara maserasi. Peningkatan senyawa flavonoid pada suhu panas menurut Wenjuan *et al*., (2010) disebabkan karena suhu ekstraksi dapat mengakibatkan terjadinya degradasi dinding sel karena rusaknya karbohidrat dan protein oleh panas yang memudahkan keluarnya senyawa flavonoid dari dalam jaringan tanaman. sehingga senyawa yang terekstrak semakin tinggi jumlahnya disebabkan oleh suhu ekstraksi yang tinggi. Flavonoid mengalami kerusakan akibat penggunaan suhu tinggi yang dilakukan dalam jangka waktu tertentu, sehingga senyawa flavonoid diubah dari segi strukturnya yang mengakibatkan komponen itu menjadi bahan yang lain menghasilkan senyawa yang lebih baik lagi (Ioannou *et al* 2020)

Metode maserasi yaitu proses ekstraksi secara perendaman dengan sesekali pengadukan pada suhu ruang. Pengadukan berkala pada maserasi bertujuan dapat menghindari memadatnya serbuk sehingga pelarut sulit menembus bahan dan kesulitan mengambil senyawa-senyawa aktif. Maka ini dikarenakan pada metode maserasi penggunaan suhu ruangan tidak dapat mengekstraksi senyawa yang tidak larut dalam suhu ruangan dan proses penyarian kurang sempurna. Proses penyarian yang kurang sempurna ini ditandai dengan pelarut yang masih berwarna, sehingga aktivitas penarikan senyawa tidak maksimal.

Pada metode soxhletasi untuk proses pemisahan suatu komponen yang terdapat dalam simplisia disaring secara berulang-ulang. Dimana penyaringan yang berulang-ulang dapat meningkatkan senyawa yang ingin diekstrak, karena pada soxhletasi dilakukan kurang lebih sebanyak 27 siklus bahkan hingga tetesan siklus tidak berwarna lagi. Tetesan siklus tidak berwarna lagi menandakan semua senyawa pada simplisia sudah terekstraksi dengan sempurna. Penggunakan suhu panas dan pelarut etanol 96% pada metode soxhletasi dapat mengisolasi komponen yang diinginkan. Suhu tinggi atau panas yang digunakan pada metode soxhletasi yaitu panas yang tidak langsung dengan suhu 70oC. Proses panas yang tidak langsung yaitu pelarut pada labu mengalami proses penguapan kemudian menuju kondensor dan terjadi proses kondensasi. Proses panas yang tidak langsung inilah yang membuat tidak ada kehilangan atau degradasi dari senyawa yang mudah menguap. Pemanasan dalam metode soxhletasi membantu mengekstraksi senyawa-senyawa yang tidak larut dalam suhu kamar, sehingga aktivitas penarikan senyawa lebih maksimal (Rosita et al, 2017).

Tabel 4 5. Hasil Pengujian Sitotoksisitas Ekstrak Maserasi Daun Jamblang (*Syzygium cumini* L.)

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **No** | **Konsentrasi**  **(µg/mL)** | **% Mortalitas** | **Log Konsentrasi** | **Nilai Probit** |
| 1. | 200 | 30,0% | 2,3010 | 4,4756 |
| 2. | 300 | 36,6% | 2,4771 | 4,6575 |
| 3. | 400 | 43,3% | 2,6020 | 4,8313 |
| 4. | 500 | 56,5% | 2,6989 | 5,1662 |
| 5. | 600 | 63,3% | 2,7781 | 5,3398 |
| 6. | 700 | 73,3% | 2,8450 | 5,6219 |

Tabel 4 6. Hasil Pengujian Sitotoksisitas Ekstrak Soxhletasi Daun Jamblang (*Syzygium cumini* L.)

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **No** | **Konsentrasi**  **(µg/mL)** | **% Mortalitas** | **Log Konsentrasi** | **Nilai Probit** |
| 1. | 200 | 56,6% | 2,3010 | 5,1662 |
| 2. | 300 | 66,6% | 2,4771 | 5,4289 |
| 3. | 400 | 76,6% | 2,6020 | 5,7257 |
| 4. | 500 | 83,3% | 2,6989 | 5,9661 |
| 5. | 600 | 90,0% | 2,7781 | 6,2816 |
| 6. | 700 | 93,3% | 2,8450 | 6,4985 |

Berdasarkan kedua data tersebut jumlah larva tiap perlakuan adalah 10 ekor dengan 3 kali replikasi, sehingga totalnya 30 ekor. Tabel 4.5 dan 4.6 dapat diketahui perbedaan persentase mortalitas diambil dari konsentrasi yang rendah 200 µg/mL ke konsentrasi yang paling tinggi terdapat pada konsentrasi 700 µg/mL mempunyai persentase yaitu table 4.5 metode maserasi sebesar 30-80% sedangkan metode soxhletasi sebesar 50-95%. Namun pada blanko tidak terdapat kematian larva udang. Hal ini menunjukkan bahwa larva udang mengalami kematian diduga karena pengaruh pemberian ekstrak uji. Berdasarkan tabel tersebut dapat diketahui bahwa rata- rata kematian larva udang mengalami peningkatan seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak uji. Hal ini menujukkan bahwa Semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka sifat toksiknya terhadap hewan uji semakin tinggi yang mana ini menunjukan bahwa adanya aktivitas sitotoksik dari ekstrak uji (Supriningrum *et al*, 2016).

Mekanisme kematian larva *Artemia salina* Leach berhubungan dengan fungsi dari beberapa senyawa bioaktif yang terkandung dalam sampel yang dapat menghambat daya makan larva (antifedant). Beberapa golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam sampel dapat menginduksi kematian sel. Cara kerja senyawa tersebut adalah dengan bertindak sebagai *stomach poisoning* atau racun perut. Oleh karena itu, bila senyawa-senyawa ini masuk ke dalam tubuh larva, alat pencernaannya akan terganggu. Senyawa ini akan menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva. Hal ini mengakibatkan larva gagal mendapatkan stimulus rasa sehingga tidak mampu mengenali makanannya dan akibatnya larva mati kelaparan (Sari *et al,* 2020).

Efek sitotoksik terhadap larva *Artemia* yang ditunjukkan juga kemungkinan karena di dalam daun jamblang memiliki berbagai kandungan senyawa yang bersifat antioksidan seperti senyawa flavonoid, saponin yang dikatakan memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat. Peranan antioksidan sangat penting dalam meredam efek radikal bebas yang berkaitan erat dengan terjadinya penyakit degeneratif. Antioksidan adalah senyawa yang bekerja melindungi sel-sel tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas yang dapat menyebabkan salah satunya penyakit kanker (Dirgantara. 2018).

Mekanisme sebagai sitotoksisitas terhadap sel dan *Artemia* diperkirakan akibat fungsi dari golongan senyawa yang terkandung dalam sampel ada beberapa teori. Flavonoid sebagai antioksidan yaitu melalui mekanisme pengaktifan jalur apoptosis sel kanker. Mekanisme apoptosis sel ini diakibatkan karena terjadi fragmentasi DNA yang menyebabkan DNA menjadi rusak, kerusakan DNA mengakibatkan terjadilah proses apoptosis sel dan kematian sel.

Senyawa flavonoid juga dapat menghambat reseptor trosin kinase menghambat jalur transduksi signal dari membrane ke sel inti, akibatnya proses pertumbuhan sel dapat terhalang dan mengakibatkan kematian sel. Flavonoid menghambat aktivitas tirosin kinase karena aktivitas reseptor tirosin kinase yang meningkat berperan dalam pertumbuhan keganasan sel kanker (Mappasomba. 2019).

Kandungan saponin juga berpotensi sebagai antikanker yang bekerja dengan menginduksi *cell cycle arrest* dan apoptosis sel (Supriningrum dkk, 2016). Namun belum diketauhi kandungan metabolit sekunder mana yang memiliki efek paling kuat terhadap *Artemia salina* Leach.

Data masing – masing yang diperoleh pada tabel 4.5 dan 4.6 tersebut, kemudian dianalisis dengan menggunakan tabel analisis probit untuk mendapat nilai LC50. Analisis probit dilakukan untuk mengetahui tingkat konsentrasi bahan yaitu ekstrak maserasi dan soxhletasi daun jamblang menggunakan pelarut etanol 96% terhadap respon sampel (persentase kematian sel) (Naritasari *et al.*, 2010).

Setelah dilakukan analisis probit dapat diketahui grafik persamaan garis lurus dari ekstrak maserasi daun jamblang Y = 2,0867x - 0,4455 dan ekstrak soxhletasi daun jamblang Y = 2,4658x - 0,6085 dapat diliat pada gambar berikut :

Gambar 4 1. Kurva Regresi Linier Antara Log Hubungan Konsentrasi Ekstrak Maserasi Daun Jamblang dengan Nilai Probit

Gambar 4 2. Kurva Regresi Linier Antara Log Hubungan Konsentrasi Ekstrak Soxhletasi Daun Jamblang dengan Nilai Probit

Kurva diatas menunjukkan log konsentrasi terhadap nilai probit yang didapat dari persentase kematian larva. Kemudian dimasukkan nilai Y yaitu nilai probit 50% hewan uji dan didapatkan pada ekstrak maserasi daun jamblang didapatkan nilai X = 2,1827 Maka nilai LC50 antilog 2,1827 adalah 152,2942 µg/mL, sedangkan pada ekstrak soxhletasi daun jamblang nilai X = 1,7810 maka nilai LC50 antilog 1,7810 adalah 60,3905 µg/mL Antilog nilai x tersebut merupakan nilai LC50. Sedangkan R2 merupakan koefesien korelasi yang didapat dari metode maserasi R2 = 0,9372 dan metode soxhletasi R² = 0,9701 disini hubungan korelasi mendekati 1 artinya tingkat hubungan konsentrasi dengan persen kematian larva yang dihasilkan tergolong sangat kuat. perubahan nilai probit dipengaruhi oleh konsentrasi ekstrak. Hal ini menunjukkan meningkatnya konsentrasi ekstrak diikuti meningkatnya nilai probit (respon kematian larva) (Rani., *et al*. 2022).

Tabel 4 7. Hasil Nilai LC50

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **No** | **Metode Ekstraksi** | **Hasil Nilai LC50** | **Kategori** |
| 1 | Maserasi | 152,2942 µg/mL | Sangat Toksk |
| 2 | Soxhletasi | 60,3905 µg/Ml | Sangat Toksik |

Suatu senyawa bersifat toksik dan berpotensi sebagai antikanker pada uji BSLT jika memiliki nilai LC50<1000 µg/mL. Hasil LC50 yang didapat lebih kecil dari 1000 µg/mL yaitu pada ekstrak maserasi 152,2942 µg/mL sedangkan pada ekstrak soxhletasi 60,3905 µg/mL. Sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol 96% daun jamblang di kategorikan sangat toksik dan ekstrak memiliki kandungan aktif senyawa sitotoksik yang berpotensi sebagai antikanker. Nilai LC50 yang diperoleh mencerminkan toksisitas bahan terhadap hewan uji. Semakin besar harga LC50 berarti toksisitasnya semakin kecil dan sebaliknya semakin kecil harga LC50 maka semakin besar toksisitasnya (Meyer, 1982).

# BAB V

# KESIMPULAN DAN SARAN

* 1. **KESIMPULAN**

1. Golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam daun jamblang (*Syzygium cumini* L.) dengan metode skrining fitokimia yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, triterpenoid dan glikosida.
2. Berdasarkan hasil dari dua cara metode ekstraksi maserasi dan soxhletasi, aktifitas sitotoksisitas ekstrak daun jamblang (*Syzygium cumini* L.) terhadap *Artemia salina* Leach yaitu menunjukkan nilai LC50 ekstrak maserasi 152,2942 µg/mL sedangkan ekstrak soxhletasi memberikan nilai 60,3905 µg/mL dan termasuk dalam kategori sangat toksik, sehingga yang paling efektif menghasilkan hasil maksimal ialah cara ekstraksi soxhletasi karna pada nilai LC50 60,3905 µg/mL sudah memberikan 50% kematian larva *Artemia salina* Leach
   1. **SARAN**
3. Perlu penelitian lebih lanjut langsung pada sel kanker untuk membuktikan adanya aktivitas antikanker pada daun jamblang.
4. Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang paling kuat pada daun jamblang dalam menyebabkan kematian terhadap larva *Artemia salina* Leach.