

**Uji Toksisitas Fraksi Aquadest, N-Heksana dan Etil Asetat Daging  
Buah Majapahit (*Crescentia Cujete L*) Terhadap *Artemia Salina*  
Leach dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)**

**SKRIPSI**



**Oleh :**

**DEWINTA HAPSARI**

**1913206010**

**PROGRAM STUDI FARMASI  
STIKES KARYA PUTRA BANGSA  
TULUNGAGUNG**

**2023**

SKRIPSI

Uji Toksisitas Fraksi Aquadest, N-Heksana dan Etil Asetat Daging  
Buah Majapahit (*Crescentia Cujete L*) Terhadap *Artemia Salina*  
Leach dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)

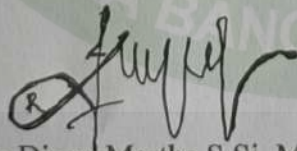
Yang diajukan oleh :

DEWINTA HAPSARI

1913206010

Telah disetujui oleh :

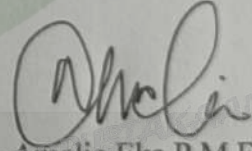
Pembimbing Utama



Rahma Diyan Martha S.Si, M.Sc

NIDN. 07.10.02.91.01

Pembimbing Pendamping



Apt. Amalia Eka P.M.Farm

NIDN. 07.08.03.91.02

HALAMAN PENGESAHAN

SKRIPSI

Uji Toksisitas Fraksi Aquadest, N-Heksana, dan Etil asetat Daging Buah Majapahit (*Crescentia Cujete L.*) Terhadap *Artemia Salina* Leach dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)

Oleh :

DEWINTA HAPSARI

1913206010

Telah lulus uji etik penelitian dan dipertahankan di hadapan Panitia Penguji

Skripsi

Program Studi S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa

Tanggal : 21 Juli 2023

Ketua Penguji : Rahma Diyan Martha, S.Si., M.Sc.

Anggota Penguji : 1. apt. Amalia Eka Putri M.Farm

2. apt. Choirul Huda M.Farm

3. apt. Arif Santoso, M.Farm

Mengetahui

Ketua STIKes Karya Putra Bangsa

apt. Arif Santoso, M.Farm.

**Uji Toksisitas Fraksi Aquadest, N-Heksana dan Etil Asetat Daging  
Buah Majapahit (*Crescentia Cujete L*) Terhadap *Artemia Salina*  
Leach dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)**

**DEWINTA HAPSARI**

**Prodi S1 Farmasi**

**INTISARI**

Penyakit kanker adalah penyebab utama kematian di seluruh dunia. Ada berbagai pengobatan untuk mencegah dan mengobati kanker, termasuk pengobatan tradisional, radiasi, dan kemoterapi. Tanaman majapahit, khususnya daging buahnya, memiliki potensi sebagai pengobatan kanker karena toksisitasnya terhadap sel kanker, seperti yang terbukti dalam penelitian sebelumnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi kandungan dan kadar senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antikanker dalam daging buah majapahit (*Crescentia cujete L*) menggunakan spektrofotometer UV-Vis, serta menentukan kadar toksisitas akut ( $LC_{50}$ ) pada fraksi tersebut terhadap larva udang *Artemia Salina* Leach menggunakan metode BSLT. Penelitian ini dilakukan secara eksperimental dengan memperoleh fraksi ekstrak daging buah majapahit melalui maserasi menggunakan etanol 96%, diikuti dengan fraksinasi menggunakan tiga pelarut, yaitu aquades (polar), n-heksana (nonpolar), dan etil asetat (semipolar), serta dilakukan uji kualitatif dan kuantitatif. Toksisitas fraksi daging buah majapahit diuji dengan konsentrasi 100ppm, 200ppm, 300ppm, 400ppm, 500ppm, 600ppm, 700ppm, 800ppm, 900ppm, dan 1000ppm terhadap larva udang *Artemia Salina* Leach selama 24 jam, dan nilai  $LC_{50}$  dihitung menggunakan analisis probit. Hasil pengujian menunjukkan bahwa fraksi daging buah majapahit mengandung flavonoid dengan konsentrasi tertinggi pada etil asetat (5,047%), saponin dengan konsentrasi tertinggi pada etil asetat (0,665%), tannin dengan konsentrasi tertinggi pada etil asetat (3,942%), dan alkaloid dengan konsentrasi tertinggi pada etil asetat (0,078%). Pengujian toksisitas akut menghasilkan nilai  $LC_{50}$  sebesar 666,81 ppm untuk fraksi aquades, 519,16 ppm untuk fraksi n-heksana, dan 640,91 ppm untuk fraksi etil asetat. Berdasarkan nilai  $LC_{50}$  yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa fraksi daging buah majapahit memiliki sifat toksik terhadap larva udang dan berpotensi sebagai agen antikanker dengan nilai  $LC_{50} < 1000$ ppm.

Kata kunci : Antikanker,  $LC_{50}$ , Daging Buah Majapahit, Metode BSLT

## KATA PENGANTAR

Puji syukur atas kehadiran Tuhan Yang Maha Esa karena dengan rahmatnya, karunia, dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Uji Toksisitas Fraksi Aquadest, N-Heksana dan Etil Asetat Daging Buah Majapahit (*Crescentia Cujete L.*) Terhadap *Artemia Salina* Leach dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)”**, dengan baik meski masih dapat terdapat banyak kekurangan di dalamnya.

Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi (S.Farm) pada Jurusan Farmasi di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan (STIKes). Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah memberikan dukungan, semangat dan doa sehingga proposal penelitian ini dapat selesai. Ucapan terima kasih penulis tujukan kepada:

1. Bapak apt. Arif Santoso., M. Farm. Selaku ketua STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung.
2. Ibu apt. Dara Pranidya Tilarso, M.Farm., selaku kaprodi STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung yang telah mendidik dan memberi bimbingan selama masa perkuliahan.
3. Ibu Rahma Diyan Martha, S.Si., M.Sc., selaku pembimbing I yang telah mendidik dan memberikan bimbingan selama penyusunan naskah.
4. Ibu apt. Amalia Eka Putri, M.Farm., selaku pembimbing II yang telah mendidik dan memberikan bimbingan selama penyusunan naskah ini.
5. Ayah, ibu, adik dan suami yang telah memberikan do'a, dukungan dan semangat selama penyusunan proposal.
6. Teman-teman semua yang telah memberikan dukungan dan semangat selama penyusunan proposal.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna, sehingga kritik dan saran yang bersifat membangun dari semua pihak sangat diharapkan untuk memperbaiki skripsi ini.

Tulungagung, Juni 2023

Penulis

## DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR .....	i
DAFTAR ISI.....	ii
DAFTAR GAMBAR .....	iv
DAFTAR TABEL.....	v
BAB I PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Batasan Masalah .....	4
1.5 Relevansi Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Tanaman Majapahit .....	5
2.1.1 Uraian Umum Tanaman Majapahit .....	5
2.1.2 Deskripsi Tanaman Majapahit ( <i>Crescentia Cujete L</i> ) .....	5
2.1.3 Kandungan senyawa kimia .....	6
2.2 Maserasi .....	8
2.3 Fraksinasi .....	9
2.4 Pelarut .....	9
2.5 Spektrofotometer UV-Vis.....	10
2.5.1 Warna Komplementer.....	11
2.6 <i>Artemia Salina</i> Leach.....	11
2.6.1 Klasifikasi .....	12
2.6.2 Morfologi Artemia.....	12
2.6.3 Habitat Artemia.....	14
2.6.4 Siklus Hidup Artemia .....	14
2.6.5. Reproduksi Artemia.....	15
2.6.6 Penetasan Artemia .....	15
2.7 Uji Toksisitas Terhadap <i>Artemia Salina</i> Leach dengan Metode BSLT..	16
2.8 Uji Toksisitas antikanker dengan metode BSLT ( <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> ) .....	18
2.9 Probit.....	19
2.10 Hipotesis .....	20

BAB III METODE PENELITIAN.....	21
3.1 Alat dan Bahan.....	21
3.2 Populasi Penelitian.....	21
3.3 Sampel Penelitian .....	21
3.4 Variabel Penelitian.....	21
3.5 Metode Penyarian .....	22
3.6 Pembuatan ekstrak daging buah majapahit ( <i>Crescentia Cujete L.</i> ).....	24
3.7 Pemeriksaan karakteristik .....	25
3.8 Uji Kuantitatif.....	27
3.8.1 Uji Kadar Senyawa Ekstrak Daging Buah Majapahit ( <i>Crescentia Cujete L.</i> ) Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis .....	27
3.9 Fraksinasi Daging Buah Majapahit ( <i>Crescentia Cujete L.</i> ).....	29
3.10 Potensi Antikanker dengan metode BSLT ( <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> ) 30	
3.11 Kerangka Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) .....	32
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....	34
4.1 Determinasi Tanaman :.....	34
4.3 Pemeriksaan Karakteristik .....	35
4.4 Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak Daging Majapahit ( <i>Crescentia kujete L.</i> ).....	36
4.5 Fraksinasi .....	37
BAB V PENUTUP.....	51
5.1 Kesimpulan .....	51
5.2 Saran .....	51
DAFTAR PUSTAKA .....	52

## DAFTAR GAMBAR

### Gambar

2.1 Perbandingan daun dan buah majapahit.....	7
2.2 <i>Artemia Salima L</i> .....	13
2.3 Morfoligi <i>Artemia Salima L</i> .....	14
2.4 Morfoligi <i>Artemia Salima L</i> Dewasa .....	15
2.5 Siklus hidup <i>Artemia Salima L</i> .....	16
2.6 Penetasan <i>Artemia Salima L</i> .....	17



## DAFTAR TABEL

### Tabel

2.1 Radiasi elektromagnetik .....	12
2.2 Warna Komplementer .....	12
2.3 Kategori toksisitas bahan .....	19
2.4 Nilai % Probit .....	21
3.1 Pembagian perlakuan .....	32
3.2 Analisa data Probit .....	33
4.1 Hasil uji susut pengeringan simplisia daging buah majapahit ( <i>Crescentia Cujete</i> ) .....	37
4.2 Hasil uji kada air simplisia daging buah majapahit ( <i>Crescentia Cujete</i> ). .....	37
4.3 Uji Bebas Etanol .....	38
4.4 Rendemen Ekstrak .....	39
4.5 Hasil skrining fitokimia.....	40
4.6 Hasil kadar total senyawa pada ekstrak daging buah majapahit ( <i>Crescentia kujete</i> ).....	45
4.7 Hasil Pengamatan Kematian larva udang fraksi aquadest .....	46
4.8 Hasil Pengamatan Kematian Larva Udang Fraksi N-Heksana .....	47
4.9 Hasil Pengamatan Kematian Larva Udang Fraksi Etil Asetat .....	47
4.10 Data pengamatan kematian larva menggunakan analisis Probit Fraksi Aquadest.....	47
4.11 Data Pengamatan Kematian Larva Udang dengan Analisa Probit Fraksi Aquadest.....	48
4.12 Data Pengamatan Kematian Larva Udang dengan Analisa Probit Fraksi N-heksana.....	48
4.13 Data Pengamatan Kematian Larva Udang dengan Analisa Probit Fraksi Etil asetat.....	49

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki keanekaragaman hayati terbesar di dunia, salah satunya yaitu keanekaragaman tumbuhan. Meskipun keanekaragaman tumbuhan besar belum semua dilakukan eksplorasi untuk melihat potensi dari tumbuhan tersebut. Salah satu tanaman yang mendapatkan perhatian khusus dan tidak terlalu banyak dimanfaatkan adalah majapahit. Di daerah Indonesia tumbuhan majapahit ini juga disebut tanaman berenuk atau majapahit (*Crescentia Cujete L*). Majapahit (*Crescentia Cujete L*) berasal dari Amerika dan dapat tumbuh di Indonesia bagian Asia Tenggara dan Asia Selatan (Rismayani, 2013).

Tumbuhan majapahit memiliki ciri-ciri yaitu akar tunggang, batang berkayu, tidak berduri, dan kulit beralur, daun yang bulat jorong terbalik, ukurannya mencapai panjang 20 cm dan lebar 7 cm, memiliki bunga tunggal warna putih kehijauan (Patricius, 2019) dan buah tanaman majapahit ini berupa buni bulat, berwarna hijau ketika masih muda jika sudah tua berubah warna menjadi coklat. Buah majapahit biasanya masak pada musim kemarau, daging buah berwarna putih dan rasanya pahit (Fatmawati, 2015).

Kandungan kimia dari buah majapahit (*Crescentia Cujete L*) merupakan alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, polifenol, vitamin A,C,E, niasin, riboflavin, thiamine, karbohidrat dan mineral-mineral yang mencakup natrium, kalium, kalsium, fosfor dan magnesium (Yani, 2012). Berdasarkan penelitian (Ejelonu dkk., dalam Fatimah dkk., 2022) menunjukkan bahwa ekstrak buah majapahit mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder antara lain adalah fenol, tanin, alkaloid, saponin, antrakuinon dan serta flavonoid (Balogun & Sabiu, 2021). Beberapa senyawa metabolit sekunder seperti saponin, flavonoid, dan tannin memiliki aktivitas untuk menghambat pertumbuhan sel kanker (Fatimah dkk., 2022).

Kanker adalah penyakit yang disebabkan karena sel mengalami pertumbuhan yang tidak terkendali, karena sel kanker dapat memenuhi sinyal pertumbuhannya sendiri (Katili dkk., 2015). Kanker juga tidak diketahui dengan pasti tetapi dipengaruhi banyak faktor seperti merokok, paparan sinar ultraviolet, kurang aktifitas, obesitas, mengkonsumsi alkohol dan lain-lain (Arter dkk, 2013). Namun kanker dapat dicegah untuk mengurangi resiko seperti dalam perkembangan obat-obatan antikanker dilakukan kemoterapi, namun faktor lain yaitu biaya yang mahal. Hal ini masyarakat mendorong dilakukannya pengobatan menggunakan obat tradisional (Muaja dkk., 2013).

Tanaman obat yang mampu mencegah penyakit tertentu dan relatif tidak memberikan dampak negatif bagi tubuh manusia dan berbagai bagian tumbuhan yang memiliki senyawa kimia yang khas (Albertus dkk., 2015). Senyawa aktif yang terdapat dalam tumbuhan hampir selalu toksik pada dosis tinggi. Uji toksisitas dilakukan untuk memperkirakan resiko yang berkaitan dengan pemaparan zat kimia dalam kondisi khusus karena kita ketahui bahwa tidak ada satupun zat kimia yang dikatakan aman (bebas resiko) sepenuhnya, karena zat kimia akan bersifat toksik pada tingkat dosis tertentu. Uji toksisitas dapat dilakukan dengan menggunakan larva udang *Artemia salina*. Larva *Artemia salina* merupakan organisme sederhana dari biota laut yang sangat kecil dan mempunyai kepekaan yang cukup tinggi terhadap toksik (Fitrah dkk., 2018).

Metode yang sering digunakan untuk mengetahui potensi efek sitotoksik suatu senyawa adalah BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) merupakan salah satu metode awal yang digunakan untuk mengamati toksisitas suatu senyawa dan merupakan metode penapisan untuk aktivitas antikanker senyawa kimia dalam ekstrak tanaman. Metode BSLT ditujukan terhadap tingkat kematian larva udang *Artemia Salina Leach* yang disebabkan oleh ekstrak uji. Hasil yang didapatkan dihitung sebagai nilai  $LC_{50}$ , dimana senyawa dengan  $LC_{50} < 30$  ppm dapat berpotensi sebagai suatu senyawa aktif yang memberikan efek antikanker (Inayah dkk, 2013). Berdasarkan pada penelitian terdahulu menurut (Rahmaningsih, 2016) kandungan bahan aktif pada tanaman majapahit (*Crescentia Cujete L*) seperti tannin, steroid, terpenoid dan saponin. Setelah itu kemudian dilakukan proses pemisahan dengan metode

fraksinasi. Sampel daun majapahit (*Crescentia Cujete L*) dengan ekstrak diperoleh dari fraksinasi dengan pelarut yang digunakan pada penelitian ini yaitu aquadest, n-heksana dan etil asetat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kandungan senyawa yang terkandung dalam tanaman majapahit mampu menghambat pertumbuhan sel kanker.

Sehingga maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian terhadap kandungan flavonoid pada ekstrak daun majapahit dengan judul "Uji Toksisitas Fraksi Ekstrak Aquadest, N-Heksana dan Etil Asetat Daging Buah Majapahit (*Crescentia Cujete L*) Terhadap *Artemia Salina* Leach dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)".

## 1.2 Rumusan Masalah

- 1.2.1 Berapa konsentrasi senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada fraksi ekstrak daging buah majapahit (*Crescentia Cujete L*) menggunakan Spektrofotometer UV-VIS?
- 1.2.2 Berapakah nilai  $LC_{50}$  dari ketiga fraksinasi daging buah majapahit (*Crescentia Cujete L*) terhadap larva udang *Artemia Salina* Leach?
- 1.2.3 Apakah fraksi daging buah majapahit (*Crescentia Cujete L*) mempunyai aktivitas antikanker?

## 1.3 Tujuan Penelitian

- 1.3.1 Dapat mengetahui konsentrasi senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam fraksi ekstrak daging buah majapahit (*Crescentia Cujete L*) menggunakan Spektrofotometri UV-VIS.
- 1.3.2 Dapat mengetahui kadar toksisitas ( $LC_{50}$ ) dari ketiga fraksinasi yang terkandung dalam ekstrak daging buah majapahit (*Crescentia Cujete L*) terhadap larva udang *Artemia Salina* Leach.
- 1.3.3 Dapat mengetahui apakah daging buah majapahit (*Crescentia Cujete L*) mempunyai aktivitas antikanker atau tidak.

#### 1.4 Batasan Masalah

- 1.4.1 Pada penelitian ini bagian tanaman majapahit (*Crescentia Cujete L.*) yang digunakan adalah bagian daging buah yang diambil dari Desa Wates, Sumbergempol, Tulungagung.
- 1.4.2 Pelarut yang digunakan adalah pelarut polar, non-polar dan semi polar.
- 1.4.3 Menganalisis metabolit sekunder menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

#### 1.5 Relevansi Penelitian

Penelitian ini memiliki relevansi pada penelitian terdahulu adalah :

- 1.5.1 Penelitian oleh Fatimah, Rahma Diyan Martha dan Asmarani Kusumawati pada tahun 2020 yang berjudul “Deteksi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol Kulit Batang Tanaman Majapahit (*Crescentia Cujete L.*) dengan LCMS”. Adapun hasil penelitiannya yaitu terdapat 12 jenis senyawa flavonoid yang terkandung pada kulit batang tanaman majapahit (*Crescentia Cujete L.*).
- 1.5.2 Penelitian oleh Fatimah, Rahma Diyan Martha dan Danar pada tahun 2022 yang berjudul “Analisis Toksisitas dan Potensi Antikanker Ekstrak Methanol Daun Majapahit (*Crescentia Cujete L.*) Dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)”. Hasil yang diperoleh adalah ekstrak methanol daun majapahit (*Crescentia Cujete L.*) memiliki potensi sebagai antikanker.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Tanaman Majapahit

##### 2.1.1 Uraian Umum Tanaman Majapahit

Tanaman majapahit (*Crescentia Cujete L*) berasal dari Amerika dan tersebar di seluruh daerah tropis termasuk Indonesia. Ciri-ciri tanaman ini memiliki tinggi 10 m dan dapat mencapai 30 m dan berakar tunggang. Batang pohon tanaman majapahit berkayu, bulat, beralur dan berwarna putih kehitaman. Daun berbentuk menyirip, lonjong, tepi rata, ujungnya membulat, panjangnya sekitar 10-15 cm dan lebarnya 5-7 cm (Hendra dkk.,2019). Bunganya simetris tunggal di cabang dan ranting. Mahkota berbentuk bibir, tabung mahkota membengkong, bentuk lonceng, berperut dengan lipatan melintang. Panjang putik 2 cm, kepala putik berbentuk corong, berwarna putih. Buah majapahit (Gambar 2.1) berbentuk bulat seperti bola voli, berdiameter 13-30 cm, kulit buah tebal dan licin. Biji tanaman ini banyak, pipih dan tertanam pada daging yang lumat (Hendra dkk.,2019).

##### 2.1.2 Deskripsi Tanaman Majapahit (*Crescentia Cujete L*)

Tanaman Majapahit (*Crescentia Cujete L*) sering dikita jumpai dan berada disekeliling kita. Biasanya ditanam di pekarangan rumah, ditepi-tepi jalan, di hutan dan di tempat lainnya. Nama lain dari tanaman majapahit ini yaitu *Crescentia Cujete L*. Dalam bahasa Inggris nama tanaman majapahit ini yaitu *calabash tree*. Tanaman majapahit (*Crescentia Cujete L*) berasal dari daerah tropis dan subtropics di Amerika yang telah dibudidayakan di Semananjung Yucatan sejak zaman praHispanic. Manfaat tanaman ini sangat banyak, semua bagian tanaman telah ditemukan berguna. Kayu dari pohon majapahit (*Crescentia Cujete L*) dimanfaatkan untuk gagang alat, iga di kapal dan untuk ternak. Selain itu khasiat lain juga mempunyai kandungan sebagai antibakteri dan antikanker (Hastuti, 2019).

Dari system taksonomi, tanaman Majapahit (*Crescentia Cujete L*) dapat diklasifikasikan sebagai berikut (Materia Medika Indonesia, 2022) :

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)

Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)

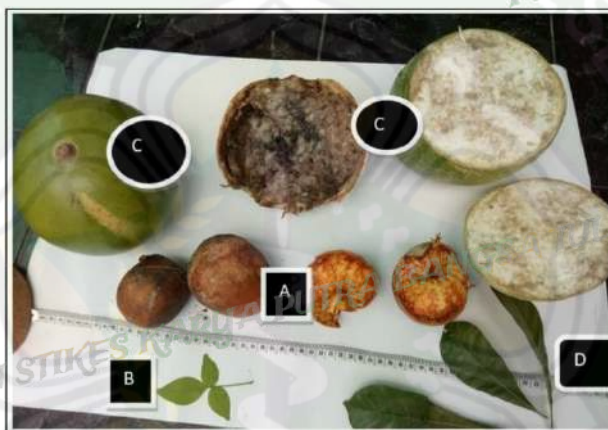
Kelas : Dicotyledonae

Bangsa : Scrophulariales

Suku : Bignoniaceae

Genus : *Crescentia*

Spesies : *Crescentia kujete L.*



**Gambar 2.1** Perbandingan daun dan buah majapahit (*Crescentia kujete L.*) A. Buah maja kecil warna kuning; B. Daun maja dengan tiga anak daun; C. Buah maja besar kulit hijau daging putih atau hitam; D. Daun majapahit bulat telur memanjang terbalik (Patricius, 2019).

### 2.1.3 Kandungan senyawa kimia

Pada buah (*Crescentia Cujete L*) mengandung 2-furocoumarins-psoralen dan marmelosin ( $C_{13}H_{12}O_3$ ) juga dapat mengobati penyakit saluran pernafasan seperti asma, bronchitis, dan urethritis. Buah dan bijinya diperas digunakan untuk diare, sakit perut, pilek, bronchitis, dan asma. Kandungan dalam daging pada buah majapahit alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, polifenol dll (Yani, 2012). Menurut Rismayani (2013), buah maja (*Crescentia Cujete L*) selain mengandung marmelosin juga minyak atsiri, pektin, saponin, dan tanin. Senyawa saponin merupakan glikosida yang memiliki aglikon berupa steroid dan triterpenoid.

### 2.1.3.1 Flavonoid

Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenolik terbesar di alam. Banyaknya senyawa flavonoid ini karena banyaknya jenis tingkat hidroksilasi, alkoksilasi dan glikosilasi pada strukturnya. Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon yang membentuk susunan C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>. Lebih dari 2000 flavonoid yang berasal dari tumbuhan tumbuhan telah diidentifikasi, diantaranya senyawa antosianin, flavonol, dan flavon. Antosianin (dari bahasa Yunani anthos=bunga, kyanos, biru tua) adalah pigmen berwarna yang umumnya terdapat di bunga berwarna merah, ungu, dan biru. Pigmen ini juga terdapat di berbagai bagian tumbuhan lain, misalnya buah tertentu, batang, daun dan bahkan akar. Flavonoid sebagian besar terhimpun dalam vakuola sel tumbuhan walaupun tempat sintesisnya ada di luar vakuola (Tatang S, 2019). Flavonoid merupakan senyawa yang bersifat non polar (Firdiyani,2015). Flavonoid memiliki sifat fisika yaitu larut dalam air, untuk bentuknya berbentuk glikosida tereliminasi larut dalam eter (Wahyusi dkk, 2020).

### 2.1.3.2 Saponin

Saponin memiliki molekul C<sub>27</sub>H<sub>42</sub>O<sub>3</sub>, memiliki titik didih sangat tinggi mencapai 158°C. saponin biasanya disebut *nonvolatilem* sangat larut dalam air panas dan membentuk busa koloidal dalam air (Simbolon dkk, 2018). Saponin merupakan senyawa yang bersifat polar sehingga larut dalam pelarut polar (Fatma dkk.,23). Saponin dalam kimia organik tidak disarankan, karena banyak konstituen tumbuhan dapat menghasilkan busa, dan banyak triterpene-glikosida bersifat amfipolar dalam kondisi tertentu, bertindak sebagai surfaktan. Penggunaan saponin yang lebih modern dalam bioteknologi adalah sebagai adjuvant dalam vaksin: Quil A dan turunannya QS-21, diisolasi dari kulit *Quillaja saponaria* Molina, untuk menstimulasi baik respon imun Th1 dan produksi sitotoksik T-limfosit (CTLs) terhadap antigen eksogen membuat mereka ideal untuk digunakan dalam subunit vaksin dan vaksin yang diarahkan melawan patogen intraseluler serta untuk vaksin kanker terapeutik tetapi dengan efek samping hemolisis yang telah disebutkan sebelumnya (Tatang S, 2019).



### 2.1.3.3 Tanin

Tanin adalah suatu senyawa fenolik yang memberikan rasa pahit dan sepat/kelat, dapat bereaksi dan menggumpalkan protein atau senyawa organik lainnya yang mengandung asam amino dan alkaloid. Tanin (dari bahasa Inggris tannin, dari bahasa Jerman Hulu Kuno tanna, yang berarti “pohon ek” atau “pohon berangan” pada mulanya merujuk pada penggunaan bahan tannin nabati dari pohon ek untuk menyamak belulang (kulit mentah) hewan agar menjadi masak yang awet dan lentur (penyamakan) (Tatang S,2019). Memiliki titik didih 1271°C. Tannin merupakan senyawa yang bersifat polar (Rizkito dkk.,2017). Tannin memiliki manfaat sebagai antidiare, astringent, antibakteri, antihiperurisemia, antioksidan dan antikanker (Patricia dan Mahatmanti, 2019). Senyawa tannin yang bermanfaat antikanker mekanismenya yaitu sebagai racun perut, menyebabkan aktivitas enzim terhambat dengan pembentukan ikatan kompleks protein pada enzim substrat yang dapat menyebabkan gangguan pencernaan dan merusak dinding sel (Hargono, 2015).

### 2.1.3.4 Alkaloid

Alkaloid adalah kelompok metabolit sekunder terpenting yang ditemukan pada tumbuhan. Keberadaan alkaloid di alam tidak pernah berdiri sendiri. Alkaloid merupakan senyawa yang bersifat polar (Liza dkk.,2020). Golongan senyawa ini berupa campuran dari beberapa alkaloid utama dan beberapa kecil (Tatang S,2019). Alkaloid memiliki sifat fisika yaitu mempunyai salah satu atom N dari lima atom N yang ada. Atom N ini dapat berupa primer, tersier dan sekunder yang bersifat basa. Untuk sifat kimia pada alkaloid berupa padatan kristal tidak larut dengan titik lebur tertentu. Hasil reaksi biasanya berupa N-oksida (Heliwati, 2018).

## 2.2 Maserasi

Maserasi ialah cara pemisahan senyawa dari pelarut melalui ekstraksi. Maserasi juga sebagai perendaman sampel menggunakan pelarut organik dengan suhu ruang dari 3 kali pengadukan (Prawirodiharjo, 2014). Pada saat proses perendaman bahan akan terjadi pemecahan dinding sel dan membran sel diakibatkan oleh perbedaan tekanan antara luar sel dengan bagian dalam sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan pecah dan terlarut

pada pelarut organik yang digunakan (Novitasari dan Putri, 2016). Ekstraksi dengan metode maserasi memiliki kelebihan yaitu terjaminnya zat aktif yang diekstrak tidak akan rusak. Maserasi biasanya digunakan untuk simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam penyari, tidak mengandung adanya benzoin, tidak ada zat pengembang dalam penyari (BPOM,2014).

### 2.3 Fraksinasi

Fraksinasi merupakan suatu pemisahan senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya agar didapatkan pemurnian senyawa. Adapun prinsip fraksinasi adalah dengan cara ekstraksi menggunakan pelarut yang sesuai dengan polaritasnya. Untuk pelarut yang digunakan seperti etil asetat, n-heksana dan etanol. (Soegandi dkk,2019). Untuk menarik lemak dan senyawa non polar digunakan n-heksan, etil asetat untuk menarik senyawa semi polar, sedangkan etanol untuk menarik senyawa-senyawa polar. Dari proses ini dapat diduga sifat kepolaran dari senyawa yang akan dipisahkan. Sebagaimana diketahui bahwa senyawa-senyawa yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut yang non polar sedangkan senyawasenyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut yang bersifat polar juga (Mutiasari, 2012).

### 2.4 Pelarut

Pelarut merupakan zat yang berfungsi sebagai media pengikat zat lain berguna agar ikut terbawa pelarut (Prawirodiharjo E, 2014). Pelarut dapat dikatakan baik apabila memiliki toksisitas rendah, menguap dengan mudah, mengawetkan dan dapat mengekstraksi dengan mudah. Faktor-faktor yang mempengaruhi dalam pemilihan pelarut yaitu keseragaman senyawa yang akan diekstraksi, jumlah senyawa yang diekstraksi, dalam melakukan penanganan ekstrak dan laju ekstaksi (Aksara dkk,2013).

#### 2.4.1 Etanol

Etanol merupakan pelarut polar karena memiliki gugus OH dengan ke elektro negatifan yang sangat tinggi, titik didih pelarut etanol 78,37°C. Menurut Suwadi (2012) pelarut adalah cairan yang akan menembus dinding sel dan masuk ke rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif ini akan larut karena disebabkan

adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam dan di luar sel. Etanol 96% yaitu jenis pelarut yang terdeteksi memiliki konsentrasi paling tinggi dengan waktu terbaik untuk proses maserasi. Etanol 96% memiliki sifat universal, polar dan mudah didapatkan. Etanol 96% dipilih karena selektif, tidak toksik, absorpsinya baik dan kemampuan penyariannya yang tinggi sehingga dapat menyari senyawa yang bersifat polar, non polar dan semi polar (Trifani.,2012).

#### 2.4.2 Aquades

Aquades merupakan air penyulingan yang sama dengan air murni ( $H_2O$ ), aquadest pada dasarnya diperoleh dengan menguapkan air pada temperature didihnya lalu air didinginkan pada suhu rendah sehingga akan mengembun. Air hasil pengembunan tersebut adalah aquadest. Untuk titik didih pelarut ini yaitu  $100^{\circ}C$  (Laurensius,2019).

#### 2.4.3 N-heksana

Heksana merupakan senyawa karbon alkane yang dirumuskan dengan  $C_6H_{14}$ , sifat dari heksana adalah mudah menguap, dapat mengekstrak minyak atsiri, dan selektif saat menguapkan zat (Hadi,2012). Pelarut ini memiliki titik didih antara  $65-70^{\circ}C$ .

#### 2.4.4 Etil asetat

Etil asetat merupakan cairan yang jernih, memiliki bau yang khas dan sebagai perekat resin, rumus etil asetat  $CH_3COOC_2H_5$ . Selain itu etil asetat berfungsi sebagai pelarut. Titik didih etil asetat ini  $77,1^{\circ}C$ . Sifat yang dimiliki ialah larut dalam kloroform, eter dan alkohol. Untuk pembuatannya dilakukan dengan asterifikasi (Sari, 2015).

### 2.5 Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis adalah alat untuk mengukur serapan yang dihasilkan dari interaksi kimia dengan radiasi elektromagnetik menggunakan molekul suatu zat kimia pada area UV-Vis. Kelebihan dari pengujian dengan spektrofotometri UV-Vis ini tergolong cepat dan dapat mendeteksi panjang gelombang di fotometer filter (Sahumena, 2020). Prinsip kerjanya menggunakan teknik analisa spektroskopik yang memiliki sumber radiasi ultraviolet , panjang

gelombang 190-380nm dan sinar yang tampak 380-780nm menggunakan instrumen ini.

**Tabel 2.1** Radiasi elektromagnetik

Macam Macam Sinar	Panjang Gelombang
Sinar X	10-100 pkm
Ultra-violet jauh	10-200 pkm
Ultra-violet dekat	200-400 pkm
Sinar tampak	400-750 pkm
Infra-merah tengah	2,5-50 $\mu$ m
Infra-merah jauh	50-1000 $\mu$ m
Gelombang mikro	0,1-100 cm
Gelombang radio	1-1000 m

### 2.5.1 Warna Komplementer

Warna komplementer adalah cahaya putih yang dilalui larutan berwarna sehingga radiasi dengan panjang gelombang tertentu akan diserap dan radiasi sinar lainnya akan diteruskan. Absorbansi maksimum dari larutan yang memiliki warna akan menjadi warna yang berlawanan dengan warna yang diamati (Lusia, 2017). Beberapa warna komplementer yang diserap spektrofotometer UV-Vis seperti tabel dibawah ini :

**Tabel 2.2** Warna Komplementer

Panjang Gelombang	Warna yang diserap	Warna komplementer
<400	Ultraviolet	-
400-435	Ungu	Hijau kekuningan
435-480	Biru	Kuning
480-490	Biru kehijauan	Jingga
490-500	Hijau kebiruan	Merah
500-560	Hijau	Ungu kemerahan
560-580	Hijau kekuningan	Ungu
595-610	Jingga	Biru kehijauan
610-750	Merah	Hijau kebiruan
>750	Inframerah	-

### 2.6 *Artemia Salina* Leach

*Artemia Salina* Leach (Gambar 2.2) merupakan sejenis udang air asin. *Artemia Salina* Leach ini umumnya tumbuh sekita 8-10 nm. Tubuhnya terdiri dari 20 segmen dan ada 10 pasang phyllopodia pipih. Mempunyai cangkang berfungsi untuk melindungi embrio terhadap kekeringan, benturan keras dan sinar ultraviolet.

### 2.6.1 Klasifikasi

Kingdom : Animalia

Phylum : Anthropoda

Kelas : Crustacea

Ordo : Anostraca

Family : Artemiidae

Genus : *Artemia*

Spesies : *Artemia Salina Leach.*

Menurut (Riska, 2022)



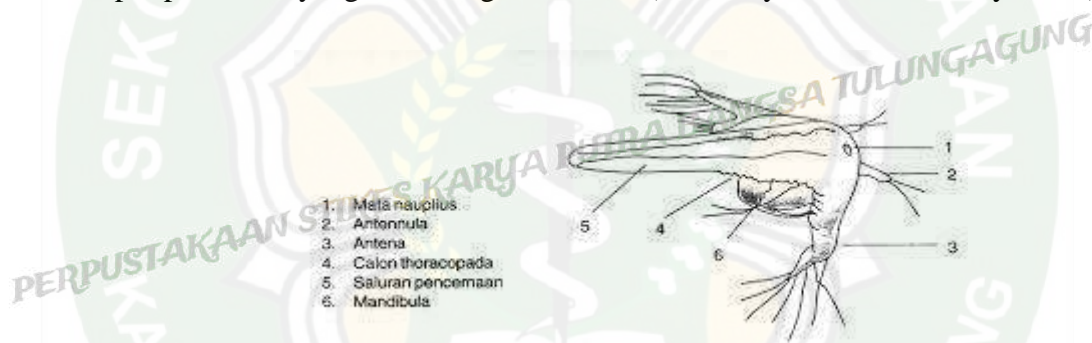
**Gambar 2.2** *Artemia Salina Leach* (Hamidi dkk., 2014)

### 2.6.2 Morfologi Artemia

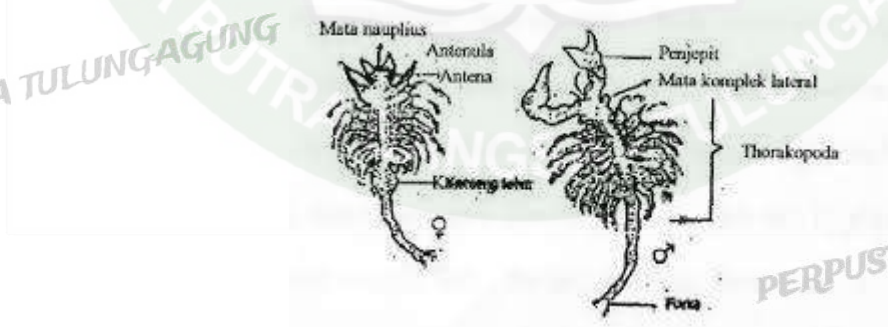
*Artemia* dewasa (Gambar 2.4) memiliki ukuran antara 10-20 mm dengan berat *sekitar* 10 mg. Bagian kepalanya lebih besar dan kemudian mengecil hingga bagian ekor. Mempunyai sepasang mata dan sepasang antenulla yang terletak pada bagian kepala. Pada bagian tubuh terdapat sebelas pasang kaki yang disebut thoracopoda. Alat kelamin terletak antara ekor dan pasangan kaki paling belakang. Salah satu antena *Artemia* jantan berkembang menjadi alat penjepit, sedangkan pada betina antena berfungsi sebagai alat sensor. Jika kandungan oksigen optimal, maka *Artemia* akan berwarna kuning atau merah jambu. Warna ini bisa berubah menjadi kehijauan apabila mereka banyak mengonsumsi mikroalga. Pada kondisi yang ideal seperti ini, *Artemia* akan tumbuh dengan cepat (Mudjiman, 2008).

Kista *Artemia* berbentuk bulat berlekuk dalam keadaan kering dan bulat penuh dalam keadaan basah. Warnanya coklat yang diselubungi oleh cangkang yang tebal dan kuat. Cangkang ini berguna untuk melindungi embrio terhadap pengaruh kekeringan, benturan keras, sinar ultra violet dan mempermudah pengapungan (Mudjiman, 2008).

Cangkang kista *Artemia* dibagi dalam dua bagian yaitu korion (bagian luar) dan kutikula embrionik (bagian dalam). Diantara kedua lapisan tersebut terdapat lapisan ketiga yang dinamakan selaput kutikuler luar. Korion dibagi lagi dalam dua bagian yaitu lapisan yang paling luar yang disebut lapisan periphal (terdiri dari selaput luar dan selaput kortikal) dan lapisan alveolar yang berada di bawahnya. Kutikula embrionik dibagi menjadi dua bagian yaitu lapisan fibrosa dibagian atas dan selaput kutikuler dalam di bawahnya. Selaput ini merupakan selaput penetasan yang membungkus embrio (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995).



**Gambar 2.3** Morfologi *Artemia Salina* Leach (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995)



**Gambar 2.4** Morfologi *Artemia Salina* Leach Dewasa (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995)

### 2.6.3 Habitat Artemia

*Artemia salina* Leach memiliki resistensi luar biasa pada perubahan dan mampu hidup pada variasi salinitas air yang luas dari air laut (2.9 - 3.5ppt) sampai danau garam salinitas tinggi (25-35ppt), dan masih dapat bertoleransi pada kadar garam 50ppt (jenuh). Beberapa ditemukan di rawa asin hanya pada pedalaman bukit pasir pantai, dan tidak pernah ditemui di lautan itu sendiri karena di lautan terlalu banyak predator. *Artemia salina* juga mendiami kolom-kolom evaporasi buatan manusia yang biasa digunakan untuk mendapatkan garam dari lautan (Mudjiman, 1995).

Insang membantunya agar cocok dengan kadar garam tinggi dengan absorpsi dan ekskresi ion-ion yang dibutuhkan dan menghasilkan urin pekat dari glandula maxillaris. Hidup pada variasi temperatur air yang tinggi pula, dari 6-37°C dengan temperatur optimal untuk reproduksi pada 25°C (suhu kamar). Keuntungan hidup pada lokasi berkadar garam tinggi adalah sedikitnya predator namun sumber makanannya sedikit (Emslie, 2003).

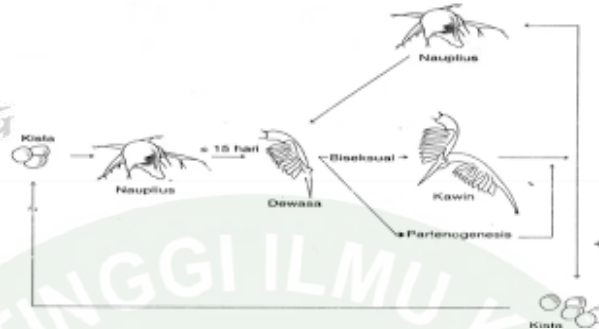
### 2.6.4 Siklus Hidup Artemia

Dalam siklus hidupnya (Gambar 2.5), proses reproduksi atau perkembangbiakan dilakukan secara generatif. Dalam proses generatif dihasilkan telur-telur atau kista yang berbentuk butiran-butiran halus. Apabila berada ditempat kering atau di air yang bersalinitas tinggi maka kista tetap dalam keadaan dorman atau tidur. Keadaan tersebut dikenal dengan istilah fase cryptobiosis. Apabila kista tersebut direndam didalam air laut dengan salinitas 30-35 ppt maka akan terjadi hidrasi (Harefa,2003).

Setelah 24 jam, membran luar akan pecah dan kista menetas menjadi embrio. Beberapa jam kemudian, embrio berkembang menjadi nauplius dan mampu berenang bebas di dalam air. Individu yang baru ditetaskan dikenal dengan instar I. Instar I ini akan berganti kulit menjadi instar II, demikian seterusnya sampai 15 kali. Setiap tahap pergantian kulit dinamai nomor instar pada tahap tersebut sehingga pergantian kulit yang terakhir disebut instar XV. Selanjutnya *Artemia* berkembang menjadi individu dewasa dengan ukuran 10-20 mm.

Perkembangan *Artemia* dari proses penetasan sampai menjadi individu dewasa membutuhkan waktu sekitar 7-10 hari. Pada saat telah menjadi dewasa,

Artemia siap untuk melakukan proses perkawinan. Proses perkawinan pada Artemia ditandai dengan penempelan individu jantan pada tubuh individu betina (riding position). Keadaan seperti ini berlangsung hingga telur masak.



**Gambar 2.5** Siklus hidup *Artemia Salina* Leach (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995).

### 2.6.5. Reproduksi Artemia

*Artemia* sp. mempunyai dua macam sistem reproduksi, yaitu secara aseksual dan seksual. *Artemia* sp. bereproduksi secara aseksual dilakukan secara partenogenesis, yaitu proses reproduksi yang dilakukan oleh induk betina tanpa adanya pembuahan oleh induk jantan. reproduksi seksual adalah proses perkawinan antara induk jantan dan betina. Berdasarkan proses perkembangan *Artemia*, dapat dilakukan secara ovipar dan ovovivipar. Perkembangan ovovivipar terjadi pada kondisi optimal, yaitu diawali dengan menetasnya telur menjadi embrio yang menyelesaikan perkembangannya berubah menjadi nauplii. Perkembangan ovipar terjadi pada kondisi lingkungan perairan dengan salinitas tinggi dan bahan pakan sangat kurang, serta fluktuasi oksigen sangat tinggi, hal ini menyebabkan terbentuknya cyste pada telur (Ramadon dkk,2013)

### 2.6.6 Penetasan Artemia

Penetasan kista *Artemia* dapat dilakukan (Gambar 2.6) dengan 2 cara, yaitu penetasan langsung dan penetasan dengan cara dekapsulasi. Cara dekapsulasi dilakukan dengan mengupas bagian luar kista menggunakan larutan hipoklorit tanpa mempengaruhi kelangsungan hidup embrio. Cara dekapsulasi merupakan cara yang tidak umum digunakan pada panti-panti benih, namun untuk meningkatkan daya tetas dan meneghilangkan penyakit yang dibawa oleh kista



Artemia cara dekapsulasi lebih baik digunakan. Langkah-langkah penetasan kista Artemia dengan cara dekapsulasi yaitu dengan cara kista artemia dihidrasi dengan menggunakan air tawar selama 1-2 jam, kemudian kista disaring menggunakan plankton net 120 mikronm dan dicuci bersih (Harefa, 1996). Tahap selanjutnya kista dicampur dengan larutan kaporit/klorin dengan dosis 1,5 ml per 1 gram kista, kemudian diaduk hingga warna menjadi merah bata, lalu kista segera disaring menggunakan plankton net 120 mikronm dan dibilas menggunakan air tawar sampai bau klorin hilang, barulah siap untuk ditetaskan selanjutnya kista akan menetas setelah 18-24 jam. Pemanenan dilakukan dengan cara mematikan aerasi untuk memisahkan cytae yang tidak menetas dengan naupli artemia (Harefa, 1996).



**Gambar 2.6** Penetasan *Artemia Salina* Leach (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995)

## 2.7 Uji Toksisitas Terhadap *Artemia Salina* Leach dengan Metode BSLT

BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) adalah salah satu metode untuk mengetahui ketoksikan senyawa kimia pada ekstrak atau senyawa bahan alam (Sukardiman, 2004). Metode BSLT dipilih karena metode ini sering digunakan untuk praskrining terhadap senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak tumbuhan karena sederhana, cepat, murah, mudah, dapat dipercaya, dan hasilnya representatif. (Meyer, 1982). Uji toksisitas anticancer menggunakan BSLT ini dapat ditentukan dari jumlah kematian *Artemia salina* Leach akibat pengaruh ekstrak atau senyawa bahan alam. Hasil uji dinyatakan sebagai LC<sub>50</sub>. Metode ini

dilakukan dengan menentukan besarnya nilai  $LC_{50}$  selama 24 jam. Data tersebut dianalisis menggunakan probit analisis untuk mengetahui nilai  $LC_{50}$ . Jika nilai  $LC_{50}$  masing-masing ekstrak atau senyawa yang diuji kurang dari  $1000 \mu\text{g/mL}$  maka dianggap menunjukkan adanya aktivitas biologik, sehingga pengujian ini dapat digunakan sebagai skrining awal terhadap senyawa bioaktif yang diduga berkhasiat sebagai antikanker (Sunarni dkk.,2003).

Pengujian ini merupakan tahap awal untuk mengetahui apakah senyawa tersebut berpotensi atau tidak sebagai antikanker yang selanjutnya dapat dilakukan uji sitotoksik menggunakan biakan sel kanker. Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) memiliki keuntungan, antara lain cepat, murah, sederhana (tidak memerlukan teknik aseptik), untuk melakukannya tidak memerlukan peralatan khusus dan membutuhkan sampel yang relatif sedikit dalam pengujian (Mukhtar, 2007).

Nilai  $LC_{50}$  merupakan nilai yang menunjukkan besarnya konsentrasi suatu bahan uji yang dapat menyebabkan 50% kematian jumlah hewan uji setelah perlakuan 24 jam. Melalui metode tersebut, pelaksanaan skrining awal suatu senyawa aktif akan berlangsung relatif cepat dengan biaya yang relatif murah. Hal ini dikarenakan hanya ekstrak atau senyawa yang memiliki aktivitas antikanker berdasarkan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) tersebut yang selanjutnya dapat diyakinkan efek antikankernya terhadap biakan sel kanker (Dwiatmaka, 2001).

Dalam pengamatan hewan coba yaitu pengamatan gejala klinis, pengamatan jumlah kematian hewan coba, pengamatan hitopatologi tubuh hewan coba, dan lain sebagainya sehingga diperoleh data kumulatif yang dinyatakan dengan  $LD_{50}$  (*medium lethal dose*) atau  $LC_{50}$  (*median lethal concentration*). Penulisan  $LC_{50}$  sebaiknya disertai hari, jika tidak disertai maka akan dianggap proses pengerjaan selama 24 jam (Loomis, 1978).

- a. a. Akut : pemaparan bahan kimia selama  $< 24$  jam
- b. b. Sub Akut : pemaparan berulang terhadap suatu bahan kimia untuk jangka waktu 1 bulan
- c. c. Subkronik : pemaparan berulang terhadap suatu bahan kimia untuk jangka 3 bulan

d. d. Kronik : pemaparan berulang terhadap bahan kimia untuk jangka waktu > 3 bulan.

Efek toksik yang ditimbulkan oleh zat bervariasi, tergantung zat, mekanisme aksi, besarnya dosis dan target organ. Efek toksik terjadi mulai adanya interaksi biokimiawi antara zat toksik atau metabolit aktifnya dengan bagian tertentu dari makhluk hidupnya (Panjaitan, 2011). Zat kimia yang masuk ke dalam tubuh akan menimbulkan efek toksik dengan cara berinteraksi langsung dan tidak langsung. Pada uji toksisitas menggunakan hewan coba *Artemia Salina* Leach digunakan pada pengujian toksisitas yaitu pendahuluan sebelum sitotoksik dimana nilai LC<sub>50</sub> dari uji toksisitas lebih kecil dari 1000 µg/ml. Parameter yang ditunjukkan pada *Artemia Salina* Leach dilihat dari jumlah kematian dari *Artemia Salina* Leach (Meyer dkk, 1982; Nur Taslim dkk.,2014). Tingkat toksisitas ditunjukkan pada table dibawah ini :

**Tabel 2.3** Kategori toksisitas bahan (Meyer dkk, 1982; Nur Taslim dkk.,2014).

Penilaian Ketoksikan	Penggolongan	LC <sub>50</sub> (ppm)
1.	Sangat Toksik	≤ 30 ppm
2.	Toksik	31 ppm ≤ LC <sub>50</sub> ≤ 1000 ppm
3.	Tidak Toksik	≥ 1000 ppm

## 2.8 Uji Toksisitas antikanker dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)

Menurut Molyneux (2007) BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) dapat mendeteksi sitotoksik dan bioaktivitas terhadap 9 KB sel karsinoma nasofaring maupun sel P-388 leukimia manusia secara in vivo seperti antikanker, antitumor dll. Hal ini dapat menyebabkan senyawa memiliki aktivitas antikanker dideteksi menggunakan *Artemia Salina* Leach dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). Mekanisme kematian larva berhubungan dengan fungsi senyawa dalam sel yang menghambat daya makan larva dimana senyawa yang terkandung tersebut bertindak sebagai stomach poisoning atau racun perut, sehingga senyawa

yang masuk kedalam tubuh larva mengagalkan timbulnya rasa stimulus untuk mengenali makananya. (Meyer, 1982).

Persen kematian *Artemia Salina* Leach dapat dihitung setelah periode inkubasi selama 24 jam setelah pemberian sejumlah larutan uji pada media hidupnya. Kematian larva udang *Artemia Salina* Leach dinyatakan berdasarkan hasil pengamatan menggunakan kaca pembesar dan ditunjukkan dengan tidak ada molitilas (pergerakan) dari larva udang. Kemudian dihitung efek farmakologisnya berdasarkan nilai probit ( $LC_{50}$ ). Kematian larva udang disebabkan karena mengalami keracunan (toxicity) akibat keberadaan senyawa bioaktif yang masuk ke dalam tubuhnya. Selain itu, system pertahanan tubuh yang dibentuk larva udang masih belum mampu untuk menghambat senyawa bioaktif yang terdapat pada media hidupnya (Kurniawan, 2018).

## 2.9 Probit

Pada nilai  $LC_{50}$  dapat memberikan informasi terkait tingkat toksisitas dari suatu senyawa. Apabila nilai  $LC_{50}$  1000 mg/L, maka suatu senyawa di duga memiliki efek toksik (Nguta dalam Mayang dan Santoso, 2020) . Maka untuk menghitung  $LC_{50}$ , dengan analisis probit konsentrasi. Diperoleh dari nilai log probit presentase (%) kematian hewan uji dan uji konsentrasi yang dihitung dengan persamaan linier  $y=mx+b$  (Singh dan Zahra, 2017).

**Tabel 2.4** Nilai % Probit (Hamidi dkk, 2014)

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.25	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.36	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
-	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
99	7.33	7.37	7.41	7.46	7.51	7.58	7.65	7.75	7.88	8.09

## 2.10 Hipotesis

2.10.1 Metabolit sekunder yang diujikan pada Spektrofotometri UV-Vis dan mengetahui hasil persen dari flavonoid, saponin, tannin dan alkaloid.

2.10.2 Hasil nilai dari  $LC_{50}$  (bias dilihat dari tabel probit).

2.10.3 Untuk mengetahui fraksi daging buah majapahit (*Crescentia cujete L*) mempunyai aktivitas antikanker bias dilihat pada tabel kategori toksisitas.



## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Alat dan Bahan**

##### **3.1.1 Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi timbangan analitik, blender, batang pengaduk, ayakan mesh 80, corong pisah (*Pyrex*), beaker gelas (*Pyrex*), oven, rak tabung, *ratory vacum evaporator*, aquarium, lampu, kaca pembesar (*Joyko*), lampu, kertas saring, pot salep, botol kaca, pipet, erlenmeyer (*Pyrex*), cawan porselin, aerator, aluminium foil, spektrofotometri UV-Vis.

##### **3.1.2 Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi serbuk daging buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*), etanol 96%, N-Heksana, aquadest, etil asetat, DMSO (Dimethyl sulfoxide), air laut, ragi, larva udang *Artemia Salina* Leach, asam sulfat, kalium dikromat, pereaksi Dragendroff, pereaksi Mayer,  $FeCl_3$ , garam ikan.

#### **3.2 Populasi Penelitian**

Populasi dalam penelitian ini adalah daging buah Majapahit (*Crescentia Cujete L.*) yang terdapat di kabupaten Tulungagung, Jawa Timur.

#### **3.3 Sampel Penelitian**

Sampel dalam penelitian ini yaitu daging buah Majapahit (*Crescentia Cujete L.*) diperoleh di Desa Wates, Kecamatan Sumbergempol, Kabupaten Tulungagung dan sudah dideterminasi di Laboratorium Materia Medika Batu, Malang.

#### **3.4 Variabel Penelitian**

Variabel penelitian yaitu segala sesuatu dalam bentuk apapun yang ditetapkan oleh peneliti sebagai hal yang akan digunakan untuk dipelajari sehingga diperoleh informasi tentang hal tersebut untuk diambil kesimpulannya (Sugiyono, 2013). Variabel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu, variabel bebas, variabel kontrol dan variabel terikat.

### 3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas merupakan variabel yang dapat menjadi penyebab atau mempengaruhi perubahannya (Sugiyono, 2013). Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian yaitu ekstrak etanol daun jinten dan variasi konsentrasi ekstrak etanol daging buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) yaitu konsentrasi 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm, 500 ppm, 600 ppm, 700 ppm, 800 ppm, 900 ppm dan 1000 ppm yang dilakukan pengujian toksisitas akut menggunakan metode BSLT.

### 3.4.2 Variabel Kontrol

Variabel kontrol yang digunakan dalam penelitian yaitu :

- a. Usia larva *Artemia salina* Leach adalah 24 jam
- b. Air laut buatan yang digunakan dengan kadar 5 per mil
- c. PH air laut yang digunakan yaitu 7 sampai 8
- d. Suhu dalam proses penetasan sekitar 25°C sampai 30°C
- e. Tempat yang digunakan untuk percobaan BSLT

### 3.4.3 Variabel Terikat

Variabel terikat merupakan variabel yang menjadi akibat atau yang dipengaruhi oleh adanya variabel bebas (Sugiyono, 2013). Variabel terikat yang digunakan dalam penelitian yaitu senyawa apa saja yang terdapat pada ekstrak daging buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) dan berapa nilai LC<sub>50</sub> yang akan diperoleh.

## 3.5 Metode Penyarian

Maserasi merupakan proses perendaman serbuk simplisia kering menggunakan pelarut pada suhu ruangan, dengan beberapa kali pengadukan. Selama proses perendaman terbentuklah perbedaan tekanan di dalam dan juga di luar sel, sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik secara sempurna.

### 3.5.1 Determinasi Tanaman

Sampel daging buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) dideterminasi di UPT Materia Medika Batu Malang, Jawa Timur. Tujuan dilakukan determinasi untuk

memperoleh kebenaran identitas dari tanaman yang akan diteliti, dan menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan awal (Diniatik,2015).

### **3.5.2 Pembuatan Simplisia**

Pembuatan simplisia daging buah majapahit (*Crescentia Ceujete L.*) memerlukan tahap sebagai berikut :

#### **3.5.2.1 Penyiapan bahan**

Pada pengambilan sampel dipilih buah yang masih berkulit hijau, langsung dipetik kemudian dibelah untuk diambil dagingnya. Untuk waktu pemetikan buah dan pengambilan daging buah majapahit (*Crescentia Ceujete L.*) jangan terlalu lama karena akan mengalami perubahan warna hitam. Buah yang digunakan yang masih muda mempunyai tempering lunak, daging buahnya cenderung berwarna putih dan agak keras (Fatmawati,2015).

#### **3.5.2.2 Sortasi basah**

Pada proses ini merupakan pemilahan hasil panen ketika sampel tanaman yang masih segar. Bertujuan untuk memisahkan pengotor anorganik meliputi tanah, kerikil atau benda-benda asing yang terdapat dari luar tanaman dan untuk memisahkan pengotor organik.

#### **3.5.2.3 Pencucian**

Pada proses pencucian dilakukan untuk menghilangkan kotoran yang melekat pada simplisia, pencucian menggunakan air bersih yang mengalir sampai daging buah majapahit (*Crescentia Ceujete L.*) benar-benar terhindar dari kotoran ataupun benda asing (Handoyo dkk,2020).

#### **3.5.2.4 Perajangan**

Pada proses perajangan dilakukan menggunakan pisau, ukuran pemotongan simplisia harus sama. Bahan yang telah dirajang dengan ukuran yang sama bertujuan untuk membantu mempercepat proses pengeringannya (Handoyo dkk,2020).

#### **3.5.2.5 Pengeringan**

Pada proses pengeringan merupakan suatu pengukuran kadar air dalam jumlah yang sedikit dari bahan atau sampel dengan bantuan energi panas. Bertujuan untuk mengurangi kandungan air yang ada di dalam bahan atau sampel sehingga bahan tidak mudah rusak untuk disimpan dalam jangka waktu yang



lama. Pengeringan dapat dilakukan dengan 2 cara yaitu menggunakan paparan sinar matahari langsung dan menggunakan oven. Untuk sampel daging buah majapahit ini di keringkan dengan oven pada suhu 60°C agar senyawa yang terkandung tidak mengalami kerusakan apabila digunakan pada suhu lebih dari 60°C (Shahdadi dkk,2015).

#### 3.5.2.6 Sortasi kering

Pada proses ini merupakan pemilahan bahan atau sampel setelah mengalami proses pengeringan. Untuk pemilahan dilakukan dengan cara bahan yang rusak akibat pengeringan kemudian ditimbang untuk mengetahui rendemen dari hasil proses pasca panen.

#### 3.5.3 Uji susut pengeringan simplisia

Uji susut pengeringan bertujuan untuk memberikan batasan maksimal besarnya senyawa yang hilang pada saat proses pengeringan Menurut Departemen Kesehatan RI. Uji susut pengeringan dilakukan dengan cara menimbang daging buah majapahit (*Crescentia cujete L*) segar dan belum melalui proses pengeringan dan setelah melakukan proses pengeringan (Wahdaningsih dkk., 2014). Syarat dari susut pengeringan <10%. Untuk rumus perhitungan uji kadar sebagai berikut:

$$\text{Susut pengeringan (\%)} = \frac{B}{A} \times 100\% \text{ (DepKes RI, 2014)}$$

Keterangan : A = bobot basah (g)

B = bobot kering (g)

#### 3.5.4. Uji kadar air simplisia

Uji kadar air bertujuan untuk menetapkan residu air setelah proses pengeringan, Menurut Departemen Kesehatan RI (2014) uji kadar air dilakukan dengan cara menimbang 10 gram serbuk simplisia yang telah ditara dan ditimbang. Pengeringan serbuk simplisia menggunakan oven pada suhu 105°C kemudian dicatat hasil yang telah diperoleh. Syarat dari uji kadar air menurut Farmakope Indonesia <10%.

### 3.6 Pembuatan ekstrak daging buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*)

Pembuatan ekstrak daging buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) dengan menggunakan metode maserasi. Metode maserasi digunakan karena prosedur dan

peralatan yang digunakan sederhana dan tidak melalui pemanasan tidak mudah terurai dan dapat menghindari kerusakan senyawa yang terkandung dalam bahan alam (Tetti, 2014).

Pertama-tama yang dilakukan dengan cara menimbang serbuk daging buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) sebanyak 500 gram. Lalu ditambah dengan pelarut etanol 96% sebanyak 5.000 mililiter atau hingga terendam. Serbuk yang di dalam bejana atau botol disimpan dalam ruangan yang terlindungi sinar matahari secara langsung. Kemudian proses perendaman dilakukan pengocokan yang berulang agar dapat mempercepat waktu penyari dalam mengekstraksi sampel (Fitrah dkk, 2022). Setelah serbuk disaring akan dihasilkan maserat. Maserat ini selanjutnya dilakukan remaserasi untuk menarik kadungan senyawa yang masih tertinggal pada saat maserasi (Chairunnisa dkk, 2019). Kemudian maserasi dilakukan dengan penguapan pelarut dengan filtrate hasil remaserasi dipekatkan dengan menggunakan oven 80°C untuk memisahkan pelarut dengan ekstrak sehingga diperoleh ekstrak kental daging buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*).

### 3.7 Pemeriksaan karakteristik

#### 3.7.1 Rendemen Ekstrak

Rendemen adalah perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal. Pengukuran rendemen dilakukan dengan membandingkan dengan ekstrak yang dihasilkan dan diperoleh. Ekstrak kering diperoleh dari pengeringan sampel di dalam oven sampai mendapatkan berat yang konstan. Perhitungan dilakukan untuk mengetahui presentase jumlah bahan yang tersisa pada proses ekstraksi dan mengetahui tingkat keefektifan dari proses yang dihasilkan (Toar, 2020). Semakin tinggi nilai rendemen menunjukkan bahwa ekstrak yang dihasilkan semakin besar. Rendemen yang baik adalah 100% (Vogel dkk.,1996).

Rumus % rendemen (DepKes, 2014) :

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak yang dihasilkan}}{\text{Bobot awal serbuk simplisia}} \times 100\%$$

#### 3.7.2 Uji Bebas Etanol

Uji bebas etanol bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya kandungan etanol dalam ekstrak daging buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) sehingga

didapatkan ekstrak yang murni. Cara melakukan uji bebas etanol yaitu tambahkan 2 tetes asam sulfat pekat dan 1 ml kalium dikromat masukkan ke dalam ekstrak daging buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) hingga homogen. Apabila muncul warna jingga menjadi hijau tua kebiruan maka ekstrak tersebut mengandung etanol (Kurniawati.,2015).

### **3.7.3 Uji Kualitatif**

#### **3.7.3.1 Skrining Fitokimia**

Skrining fitokimia adalah pengujian kandungan senyawa yang terdapat pada suatu ekstrak bertujuan untuk zat-zat kimia didalamnya dapat diidentifikasi. Prinsip pengujian ini yaitu kandungan senyawa ekstrak daging buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) adanya perubahan warna, pembentukan busa dan munculnya endapan (Wulandari, 2015).

#### **3.7.3.2 Flavonoid**

Uji flavonoid ekstrak daging buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) jika menunjukkan hasil positif (+) adalah membentuk warna atau jingga (Ergina, 2014). Pengujian ini dilakukan menambahkan 0,2 gr sampel masukkan ke dalam tabung reaksi tambahkan 0,05 gr serbuk Mg dan 1 ml HCl pekat. Lalu dikocok kuat (Arel dkk., 2018).

#### **3.7.3.3 Saponin**

Uji saponin ekstrak daging buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) jika menunjukkan hasil positif (+) adalah membentuk busa tetap stabil selama kurang lebih 7 menit (Ningsih, 2016). Busa yang terjadi pada uji saponin ini karena senyawa saponin mengandung sebagian larut air dan sebagian larut dalam pelarut non polar (Latifah, 2016). Pengujian ini dilakukan menambahkan sampel 0,2 gr masukkan ke dalam tabung reaksi tambahkan aquadest kemudian tambah 2 tetes HCl.

#### **3.7.3.4 Tanin**

Uji tannin ekstrak daging buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) jika menunjukkan hasil positif (+) adalah membentuk warna hitam kehijauan setelah ditambah  $FeCl_3$  (Harborne, 2006). Pengujian ini dilakukan dengan menambahkan 0,2 gr sampel tambah DSMO 1 ml. Lalu larutan dipindahkan ke dalam tabung reaksi 1 ml. Tetesi dengan  $FeCl_3$  2-3 tetes. Penggunaan  $FeCl_3$  bertujuan untuk

menentukan apakah sampel mengandung gugus fenol. Adanya gugus fenol ditandai warna hitam kehijauan setelah ditambahkan dengan  $\text{FeCl}_3$ .

### 3.7.3.5 Alkaloid

Uji alkaloid ekstrak daging buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) jika menunjukkan hasil positif (+) adalah membentuk endapan warna jingga (Harborne, 1987). Endapan tersebut adalah kalium alkaloid yang ditandai dengan ikatan kovalen koordinat dengan  $\text{K}^+$  sebagai ion logam. Pengujian ini dilakukan dengan cara menambahkan 0,2 gr sampel dengan DMSO 1 ml, lalu diaduk hingga larut. Kemudian pindah 1 ml larutan sampel ke dalam tabung reaksi, tambahkan dengan pereaksi dragendroff dalam tabung reaksi lalu dikocok hingga larut.

## 3.8 Uji Kuantitatif

### 3.8.1 Uji Kadar Senyawa Ekstrak Daging Buah Majapahit (*Crescentia Cujete L.*) Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

Uji kadar senyawa adalah pengujian lanjut dari skrining kimia untuk menguji kadar senyawa ekstrak daging buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan persamaan regresi linier senyawa standar.

### 3.8.2 Flavonoid

Uji kadar flavonoid dalam ekstrak daging buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) dengan cara membuat larutan standar flavonoid lalu preparasi sampel dan penentuan kadar (Rajendra, 2014). Pembuatan larutan standart dengan membuat larutan induk *quersetin* 100mg/l, caranya adalah 10 mg quersetin dilarutkan aquadest ad 100 ml. Kemudian membuat seri konsentrasi 1 mg/l, 5 mg/l, 10 mg/l, 25 mg/l, dan 50 mg/l. Ambil 0,1 ml larutan sampel atau standar, tambahkan dengan 0,1 ml  $\text{Al}_2\text{Cl}_3$  2%, homogenkan dengan vorteks, diamkan selama 60 menit pada suhu ruang. Tambahkan akuades hingga volum 1 ml. Akan terbentuk larutan berwarna merah jika terdapat flavonoid. Lalu ukur absorbansi dengan spektrofotometer pada  $\lambda$  420 nm dan kemudian dihitung persamaan linier  $y = a + b(x)$  (Oluwaseun, 2018).

### 3.8.3 Saponin

Uji kadar senyawa saponin ekstrak daging buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) dengan cara membuat larutan standar saponin lalu preparasi sampel dan penentuan kadar. Pembuatan larutan standart dengan 100 mg/l adalah 10 mg saponin dilarutkan dengan etanol 20% sampai 100 ml lalu membuat seri konsentrasi 1 mg/l, 5 mg/l, 10 mg/l, 25 mg/l, dan 50 mg/l. Untuk sampel ekstrak kental, sampel dihaluskan kemudian ditimbang sebanyak 0,5 g, lalu dilarutkan dalam etanol 90% sebanyak 10 ml, homogenisasi larutan dengan vortex, kemudian dipanaskan pada waterbath pada suhu 55 °C selama 90 menit. Larutan kemudian disaring dengan kertas saring. Ampas dilakukan reekstraksi dengan etanol 90% sebanyak 10 ml . Kedua filtrat dicampur dan dipanaskan pada suhu 90 °C sampai tertinggal separuhnya. Larutan kemudian dipindahkan ke corong pisah, lalu ditambahkan dengan dietil eter 40 ml lalu larutan dikocok dan didiamkan sampai larutan terpisah. Ambil fase bawah. Tambahkan dengan 60 ml n butanol lalu ditambahkan dengan NaCl 5% sebanyak 10 ml dan saring. Filtrat yang didapat kemudian dikeringkan pada suhu 60 °C dalam oven. Akan didapatkan saponin kering. Kemudian larutkan isolat saponin dengan etanol 20% sebanyak 5 ml. penentuan kadar saponin dengan cara 5 ml sampel ditambah 0,5 ml  $\text{FeCl}_3$  0,1M dan 0,5 ml  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  0,008 M. Diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometri 645 nm dan dihitung persamaan linier  $y = a + b(x)$  (Cinelo dkk., 2014).

### 3.8.4 Tanin

Uji kadar senyawa tannin dalam ekstrak daging buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) dengan cara pembuatan larutan sandart tannin lalu dilanjutkan preparasi sampel dan penentuan kadar larutan induk 50 mg/l dengan melarutkan *tannic acid* 5mg dalam etanol 20% ad 100 ml kemudian lalu membuat seri konsentrasi 1 mg/l, 5 mg/l, 10 mg/l, 25 mg/l, dan 50 mg/l (Rajendra, 2014). Selanjutnya membuat preparasi sampel 0,1 gr ekstrak kental lalu dilarutkan dengan 10 ml methanol p.a dan diamkan 30 menit kemudian disari dengan *vacum filter* dan disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm. Kemudian selanjutnya penentuan kadar tannin adalah dengan 5 ml sampel ditambah 0,5 ml  $\text{FeCl}_3$  0,1 M dan 0,5 ml  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  0,0008M aduk ad larut lalu diamkan 30 menit. Larutan encerkan dengan

kloroform hingga volume 10 ml kemudian diukur absorbansi menggunakan spektrofotometri pada 620nm dengan dihitung persamaan linier  $y = a + b(x)$  (Rajendra, 2014).

### 3.8.5 Alkaloid

Uji kadar senyawa alkaloid dalam ekstrak daging buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) dengan cara pembuatan larutan standart lanjut preparasi sampel dan penentuan kadar (Rajendra, 2014). Pembuatan larutan standart dengan membuat larutan induk *quinine* 100mg/l, caranya 10mg *quinine* dilarutkan menggunakan 20% etanol ad 100ml lalu membuat seri konsentrasi 1 mg/l, 5 mg/l, 10 mg/l, 25 mg/l, dan 50 mg/l. Selanjutnya membuat preparasi sampel dengan 0,1 gr ekstrak kental ditambah 10 ml kloroform dengan memasukka dalam corong pisah lalu kocok dan diamkan hingga menjadi dua fase. Kemudian ambil fase atas digunakan proses selanjutnya. Proses preparasi standart dengan cara 5 ml *quinine* tambahkan 1 ml HCl 2N, brom kresol hijau 5ml dan buffer fosfat 5ml lalu aduk ad larut. Selanjutnya penentuan kadar alkaloid dengan cara 1 ml larutan sampel fase atas diencerkan dalam kloroform hingga volume 5ml, lalu diukur absorbansi menggunakan spektrofotometri pada 470 nm dan dihitung dengan persamaan linier  $y = a + b(x)$  (Rajendra, 2014).

### 3.9 Fraksinasi Daging Buah Majapahit (*Crescentia Cujete L.*)

Fraksinasi adalah suatu proses pemisahan senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya. Fraksinasi pada penelitian ini menggunakan pelarut N-heksan sebagai pelarut non polar, menggunakan pelarut etil asetat sebagai pelarut semi polar dan menggunakan pelarut aquadestilata sebagai pelarut polar. Penelitian ini dilanjutkan dengan proses fraksinasi dan akan di dapatkan fraksi-fraksi yang mengandung senyawa yang berurutan (Purwanto, 2015).

Ekstrak yang diperoleh dilakukan fraksinasi. Sebanyak 20 gram ekstrak daging buah majapahit dilarutkan dengan aquadest 50 ml hingga larut, kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah dan ditambahkan dengan pelarut n-heksana sebanyak 50 ml, setelah itu dikocok dalam corong pisah ad homogen. Setelah itu akan terbentuk 2 fase, kemudian ditambahkan dengan pelarut etil asetat sebanyak 50 ml, dikocok lagi dalam corong pisah ad homogeny dengan 3 replikasi. Setelah

itu terbentuk 2 fase, lalu ditambahkan secara berulang hingga bening. Kemudian hasil fraksi ditampung pada wadah (Kinam dkk, 2021).

### **3.10 Potensi Antikanker dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)**

BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) adalah metode uji ketoksikan yang mempunyai korelasi positif terhadap aktivitas antikanker (Sukardiman, 2004). Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) dipilih karena dipertimbangkan tidak membutuhkan waktu yang lama, murah, akurat, mudah dan membutuhkan sampel yang sedikit. Hewan coba yang digunakan adalah *Artemia Salina* Leach karena memiliki respon terhadap senyawa kimia yang mirip dengan mamalia (Panjaitan, 2010).

#### **3.10.1 Penetasan *Artemia Salina* Leach**

Untuk melakukan penetasan yaitu air laut buatan yang telah diaerasi masukkan ke dalam aquarium untuk penetasan. Aquarium harus dibagi menjadi 2 bagian dengan satu sisi gelap dan satu sisi terang dipisahkan menggunakan sekat yang berlubang. Pada bagian terang aquarium suhunya 25°C sampai 30°C, diberikan lampu dengan tujuan agar suhu burayak tetap. Untuk bagian gelap aquarium untuk menetas *Artemia*, menetas dalam waktu 24 jam hingga 36 jam kemudian menjadi burayak. Burayak akan berenang dan berpindah menuju bagian yang terang dan meninggalkan cangkangnya pada bagian gelap melalui sekat. Warna burayak yang baru menetas adalah kemerahan. Setelah  $\pm$  2 hari burayak mendapatkan makan melalui ragi untuk dapat bertahan hidup.

Untuk ragi yang akan dibuat suspense harus dioven terlebih dahulu pada suhu 100°C selama 10 menit bertujuan untuk menghindari adanya jamur ataupun bakteri yang tumbuh pada ragi dapat mempengaruhi perkembangan burayak. Suspense ragi dibuat dengan cara yaitu campuran 3 mg ragi dan 5 ml air laut buatan.

#### **3.10.2 Pembagian Perlakuan dengan Kelompok**

Pada pembagian perlakuan ini menggunakan hewan uji larva udang *Artemia Salina* Leach. Larva udang akan dibagi menjadi 10 kelompok uji dan dilakukan replikasi sebanyak 3 kali, seperti table dibawah ini (Tabel 3.1)

**Tabel 3.1** Pembagian Perlakuan

Konsentrasi	Replikasi	Hewan Uji
100 ppm	3	30
200 ppm	3	30
300 ppm	3	30
400 ppm	3	30
500 ppm	3	30
600 ppm	3	30
700 ppm	3	30
800 ppm	3	30
900 ppm	3	30
1000 ppm	3	30
Kontrol Negatif	-	-

### 3.10.3 Uji Toksisitas Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)

Uji toksisitas akut menggunakan *Artemia Salina* Leach yang dilakukan dengan cara memasukkan larva ke dalam flakon, flakon tersebut berisi 5 ml air laut buatan. Kemudian larva-larva tersebut diberikan 1 ml larutan uji dan di beri 1 tetes ragi untuk makanan larva. Lalu dilakukan pengamatan pada larva selama 24 jam. Larva dianggap mati jika tidak menunjukkan pergerakan selama 10 detik (Fadhli & Hasanah, 2019).

Untuk selanjutnya melakukan pengamatan yaitu menghitung presentase kematian larva *Artemia Salina* Leach pada setiap konsentrasi. Hasil yang diperoleh dari perkalian rasio dengan 100%, dengan menghitung larva yang mati dibagi dengan larva awal lalu dikalikan 100% pada setiap konsentrasinya. Kemudian perbandingan kontrol negatif dan analisis probit. Efek toksisitas dilanjutkan untuk analisis persen (%) kematian larva. Rumus seperti dibawah ini :

$$\% \text{ larva} = \frac{\text{jumlah larva mati}}{\text{jumlah larva yang diuji}} \times 100\%$$

Dari data kematian larva *Artemia Salina* Leach yang diperoleh lalu dilakukan menentukan nilai probit seperti tabel dan menggunakan persamaan regresi linier seperti dibawah ini :

$$Y = Bx \times A$$

Keterangan : Y = log konsentrasi dan X = angka probit.

Dengan keterangan diatas kemudian dihitung LC<sub>50</sub> dengan menempatkan nilai probit (Sumihe dkk., 2014).



### 3.11 Kerangka Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

Menimbang garam laut 35 gram dimasukkan ke dalam aquarium kecil. Dan dilarutkan dalam 1000 ml aquades



Masukkan telur udang *Artemia Salina* Leach ke dalam aquarium

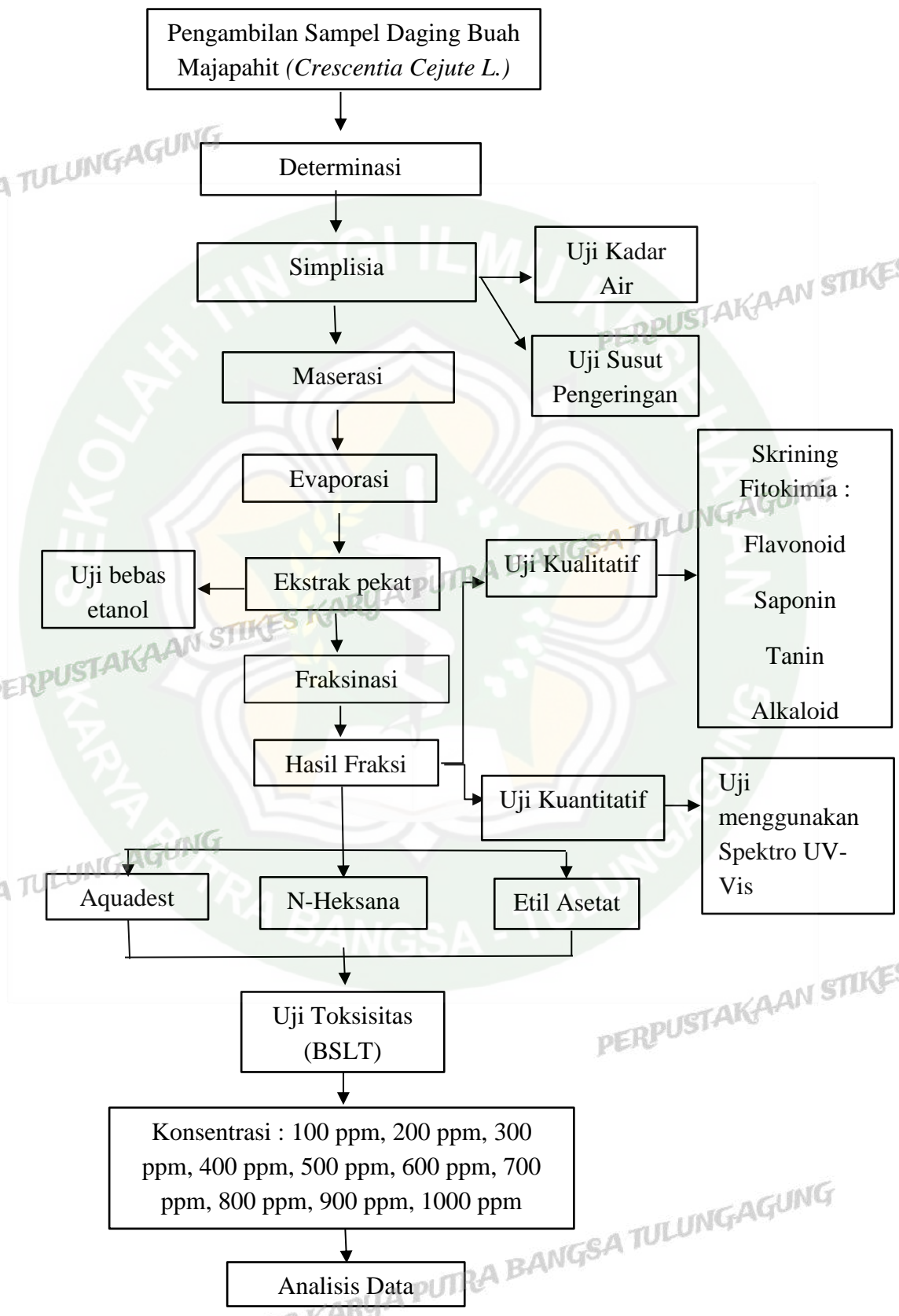


Diamati setelah 48 jam bertujuan untuk melihat apakah larva udang sudah terbentuk dengan sempurna atau belum



Jika sudah, maka larva udang siap untuk di uji toksisitas dengan cara : berbagai konsentrasi yaitu 100,200,300,400,500,600,700,800,900,1000 ppm yang sudah dilarutkan dengan DMSO akan diteteskan ke hewan uji yaitu larva udang dan diamati selama 10 detik. Berapakah udang yang mati.

### Kerangka Penelitian



## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Determinasi Tanaman :

Determinasi tanaman majapahit dilakukan di Materia Medika, Batu Malang. Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel yang digunakan merupakan daging buah majapahit (*Crescentia cujete L.*) dengan kunci determinasi 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-15b-16b-286a-287a: Bignoniaceae-1b-3a: Crescentia-3: C. cujete. Hasil surat dterminasi tanaman majapahit terdapat pada Lampiran 1. Menunjukkan bahwa morfologi habitus : pohon tinggi  $\pm 10$  m. Batang: berkayu, bulat, percabangan sympodial, membulat, panjang 10-15 cm, lebar 5-7 cm, bertangkai pendek, hijau, pertulangan menyirip, hijau. Bunga: tunggal, di cabang dan ranting, kelopak membentuk corong, ujung bercangap, hijau pucat, benang sari empat, panjang  $\pm 2$ cm, putih, putik panjang  $\pm 2$  cm, kepala putik bentuk corong putih, mahkota bentuk bibir, putih. Buah: Buni, bulat, diameter  $\pm 20$  cm, hijau kekuningan. Biji: kotak, panjang  $\pm 5$  mm, coklat. Akar: tunggang, putih kotor.

#### 4.2 Pembuatan Simplisia

Pembuatan simplisia daging buah majapahit (*Crescentia cujete L.*) dilakukan dengan mengumpulkan daging buah majapahit sebanyak 2.948 gram yang masih segar. Proses pembuatan simplisia dilanjutkan dengan sortasi basah untuk memisahkan benda asing atau kotoran yang menempel pada sampel, sehingga daging buah bersih dan dilanjutkan dengan pencucian dengan air mengalir sebanyak tiga kali bertujuan untuk menghilangkan kotoran atau pengotor lain yang masih menempel pada sampel. Daging buah majapahit (*Crescentia cujete L.*) yang telah dicuci kemudian dilakukan proses pengeringan dengan menggunakan oven pada suhu 60°C.

Berdasarkan penelitian Indri Novia dkk (2021) oven pada suhu 60°C akan menghasilkan kadar air yang rendah dibandingkan dengan sinar matahari langsung. Proses pengeringan juga dapat dipengaruhi pada saat lamanya pengeringan. Keuntungan menggunakan pengeringan dengan oven yaitu

pengurangan kadar air yang membutuhkan waktu singkat dan menjamin produk lebih baik daripada menggunakan paparan matahari langsung (Wahyuni dkk.,2014).

Simplisia yang sudah kering selanjutnya dilakukan sortasi kering. Pada sortasi kering ini bertujuan untuk memisahkan benda asing atau bagian tanaman yang tidak digunakan yang masih tertinggal atau menempel pada simplisia. Simplisia kering kemudian dihaluskan agar menjadi serbuk dan diayak menggunakan ukuran 80 mesh bertujuan untuk menyeragamkan ukuran serbuk, karena semakin kecil ukuran partikel maka semakin luas permukaan simplisia.

### 4.3 Pemeriksaan Karakteristik

#### 4.3.1 Uji Susut Pengerinan Simplisia

Uji susut pengeringan dilakukan agar mengetahui berapa besar senyawa yang hilang yang terkandung pada simplisia yang hilang pada saat proses pengeringan (Najib dkk.,2018). Berdasarkan tabel 4.1 dapat disimpulkan yang terkandung pada daging buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) sehingga hasil uji susut pengeringan diperoleh 17,87%. Hasil dari susut pengeringan dapat dipengaruhi oleh suhu, lamanya proses pengeringan pada daging buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*), sehingga mengalami penyusutan dari berat awal buah segar 2,948 gram menjadi 0,527 gram daging buah kering. (Kemenkes RI,2013).

**Tabel 4.1** Hasil uji susut pengeringan daging buah majapahit (*Crescentia Cujete*)

Sampel	Bobot Awal	Bobot Akhir	%Hasil
Daging buah majapahit ( <i>Crescentia Cujete L.</i> )	2948kg	527gr	17,87%

#### 4.3.1 Uji Kadar Air Simplisia

Uji kadar air dilakukan agar dapat mengetahui kualitas simplisia daging buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) yang akan dilakukan untuk penelitian. Apabila kadar air memenuhi dengan syarat maka kandungan air yang terdapat pada simplisia akan diminimalisir sehingga dapat mencegah terjadinya tumbuhnya bakteri atau mikroorganisme pada simplisia. Syarat kadar air simplisia <10% (Voight,1994; Yuri dkk.,2017). Hasil dari uji kadar air sebesar 3,7%, disimpulkan bahwa telah memenuhi syarat.

**Tabel 4.2** Hasil uji kadar air simplisia daging buah majapahit (*Crescentia Cujete*)

Sampel	Bobot Awal	Bobot Akhir	%Hasil
Daging buah majapahit ( <i>Crescentia Cujete L.</i> )	10 gram	9,63 gram	3,7%

#### 4.4 Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak Daging Majapahit (*Crescentia kujete L.*)

##### 4.4.1 Uji Bebas Etanol

Uji bebas etanol ekstrak daging majapahit (*Crescentia kujete L.*) dilakukan bertujuan untuk memastikan ekstrak yang dihasilkan dari proses pemekatan telah terbebas dari etanol. Hasil uji bebas etanol ekstrak daging majapahit menunjukkan bahwa ekstrak telah terbebas dari etanol ditandai dengan perubahan warna dan hasilnya tidak mengandung etanol, gambar dapat dilihat pada lampiran.

**Tabel 4.3** Uji Bebas Etanol

Sampel	Perlakuan	Hasil	Perubahan Warna
Ekstrak Daging buah Majapahit ( <i>Crescentia kujete L.</i> )	2 tetes H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , dan 1 ml K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	-	Coklat menjadi Coklat kehitaman

Keterangan : ( + ) Terdapat etanol dan ( - ) Tidak terdapat etanol

##### 4.4.2 Uji Rendemen Ekstrak Daging Buah Majapahit

Bobot ekstrak daging buah majapahit (*Crescentia kujete L.*) yang dihasilkan sebanyak 50 gram dengan bobot simplisia awal sebanyak 500 gram. Hasil dari uji randemen ekstrak daun majapahit (*Crescentia kujete L.*) sebanyak 10%, hal tersebut menunjukkan bahwa nilai yang dihasilkan pada randemen ekstrak cukup kecil. Kecilnya randemen ekstrak yang dihasilkan dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti ukuran partikel, waktu ekstraksi, jenis dan jumlah pelarut (Charisma 2020). Senyawa ekstrak daging buah majapahit bersifat non polar sehingga waktu ekstraksi dengan etanol menghasilkan nilai rendemen yang cukup kecil (Elyta dkk.,2018).

**Tabel 4.4** Rendemen Ekstrak Daging Buah Majaphit

Sampel	Bobot Simplisia	Bobot Ekstrak	Hasil
Daging Buah Majapahit ( <i>Crescentia kujete L.</i> )	500 gr	50 gr	10%

#### 4.5 Fraksinasi

Fraksinasi merupakan pemisahan senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya. Dalam penelitian ini menggunakan pelarut aquadest sebagai pelarut polar, pelarut n-heksana sebagai pelarut non-polar dan pelarut etil asetat sebagai pelarut semi polar. Akhir dari fraksinasi akan didapatkan fraksi-fraksi yang mengandung senyawa yang secara berurutan dari senyawa polar, non-polar dan semi polar (Purwanto, 2015).

Ekstrak daging buah majapahit (*Crescentia cujete L.*) dilarutkan dengan aquadest sebanyak 50 ml dimasukkan dalam labu pisah dan ditambahkan n-heksana sebanyak 50 ml kemudian dihomogenkan secara perlahan lalu diamkan hingga terjadi pemisahan antara n-heksana dan aquadest. Fraksi n-heksana dipisahkan dari fraksi aquades. Fraksinasi dilanjutkan dengan menggunakan pelarut etil asetat 50 ml dengan proses yang sama dengan n-heksana. Fraksinasi dilakukan replikasi 3 kali. Fraksi n-heksana, etil asetat dan aquadest diuapkan menggunakan waterbath pada suhu berbeda tergantung titik didih pelarut yang digunakan (Retnowati dkk., 2015).

Hasil dari fraksinasi menunjukkan fraksi n-heksana berada diatas sedangkan fraksi aquades terletak dibawah, karena aquades memiliki berat jenis (1g/mL) yang lebih besar daripada berat jenis n-heksana (86,18 g/mL). Hasil fraksi etil asetat berada dilapisan atas dan aquades dibawah karena etil asetat memiliki berat jenis (1,326 g/mL) dari pada aquades (Max R.J dkk.,2021). Menurut prinsip *like dissolve like* yaitu senyawa polar akan larut dalam senyawa polar, sedangkan senyawa non polar akan larut dalam senyawa non polar (Elyta dkk.,2018).

#### 4.6 Uji Kualitatif

##### 4.6.1 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia fraksi daging buah majapahit (*Crescentia cujete L.*) bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa yang terdapat pada fraksi daging buah majapahit (*Crescentia cujete L.*). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Fatimah dkk (2022) bahwa ekstrak etanol daun majapahit mengandung senyawa metabolit sekunder diantaranya flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid.

**Tabel 4.5** Hasil skrining fitokimia

Fraksi	Flavonoid	Alkaloid	Saponin	Tanin
Aquadest	+	+	+	+
N-heksana	+	+	+	+
Etil asetat	+	+	+	+

#### 4.6.2 Uji Flavonoid

Uji flavonoid dilakukan dengan cara mengambil sampel fraksi daging majapahit (*Crescentia Cujete L.*) sebanyak 0,2 gram masukkan kedalam beakerglass tambahkan dengan 1 ml DMSO aduk hingga larut. Kemudian masukkan 1 ml larutan sampel kedalam tabung reaksi tambahkan HCl pekat 2-3 tetes dan logam Mg secukupnya. Penambahan logam Mg dan HCl pekat larutan sampel bertujuan untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat pada struktur flavonoid dalam larutan sampel, sehingga terbentuk perubahan warna merah atau jingga (Ergina dkk, 2019). Hasil uji flavonoid pada fraksi daging majapahit (*Crescentia kujete L.*) adalah positif dengan terbentuknya perubahan warna jingga. Uji flavonoid pada sampel fraksi aquadest daging buah majapahit (*Crescentia kujete L.*) menghasilkan perubahan warna jingga yang artinya sampel fraksi aquadest menghasilkan reaksi positif. Kemudian sampel fraksi etil asetat daging buah majapahit (*Crescentia kujete L.*) menghasilkan perubahan warna jingga yang artinya sampel fraksi etil asetat menghasilkan reaksi positif. Selanjutnya, sampel fraksi n-heksana daging buah majapahit (*Crescentia kujete L.*) menghasilkan perubahan warna jingga kekuningan. Hasil dari ketiga fraksi tersebut pada uji flavonoid menghasilkan reaksi positif.

#### 4.6.3 Uji Saponin

Uji saponin dapat dilakukan dengan mengambil fraksi daging buah majapahit (*Crescentia kujete L.*) sebanyak 0,2 gram masukkan kedalam beaker glass lalu ditambahkan dengan 1 ml DMSO dan aduk hingga larut. Kemudian masukkan 1 ml larutan sampel kedalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan aquadest setelah itu dikocok dengan kuat hingga terbentuk busa setelah itu didiamkan 15 menit. Hasil positif uji saponin dapat ditandai dengan terbentuknya busa yang stabil. Busa yang dihasilkan pada uji saponin dikarenakan adanya glikosia yang membentuk busa dalam air dan dapat terhidrolisis menjadi glukosa. Uji saponin

pada sampel fraksi aquadest daging buah majapahit (*Crescentia cujete L.*) menghasilkan busa dan uji saponin pada fraksi etil asetat daging buah majapahit (*Crescentia cujete L.*) terdapat adanya busa. Kemudian uji saponin fraksi n-heksana daging buah majapahit (*Crescentia cujete L.*) terdapat adanya busa (Yuri dkk., 2017).

#### 4.6.4 Uji Tanin

Uji tanin pada fraksi daging buah majapahit (*Crescentia cujete L.*) dapat dilakukan dengan mengambil 0,2 gram hasil fraksi daun majapahit dan masukkan kedalam beakerglass. Setelah itu ditambahkan 1 ml DMSO dan aduk hingga larut. Kemudian masukkan 1 ml larutan sampel kedalam tabung reaksi dan ditambahkan larutan  $\text{FeCl}_3$  1% sebanyak 2-3 tetes. Hasil positif uji tannin dapat ditandai dengan perubahan warna hitam kehijauan. Penambahan  $\text{FeCl}_3$  digunakan untuk menentukan adanya gugus fenol pada sampel. Uji tannin pada sampel daging buah majapahit (*Crescentia cujete L.*) memperoleh hasil positif yang ditandai dengan warna hitam kehijauan (Yuri dkk., 2017). Uji tannin pada sampel fraksi aquadest daging buah majapahit (*Crescentia cujete L.*) menghasilkan perubahan warna hitam kehijauan yang artinya sampel fraksi aquadest daun majapahit (*Crescentia cujete L.*) menghasilkan reaksi positif. Uji tannin pada sampel etil asetat daging buah majapahit (*Crescentia cujete L.*) menghasilkan perubahan warna hitam kehijauan yang artinya sampel fraksi etil asetat daging buah majapahit (*Crescentia cujete L.*) menghasilkan reaksi positif. Kemudian fraksi n-heksana daging buah majapahit (*Crescentia cujete L.*) menghasilkan perubahan warna hitam kehijauan yang artinya sampel fraksi n-Heksana daging buah majapahit (*Crescentia cujete*) menghasilkan reaksi positif.

#### 4.6.5 Uji Alkaloid

Uji alkaloid dilakukan dengan cara mengambil sampel fraksi daging buah majapahit (*Crescentia cujete L.*) sebanyak 0,2 gram masukkan kedalam beakerglass dan tambahkan dengan 1ml DMSO aduk hingga larut. Kemudian masukkan 1 ml larutan sampel kedalam tabung reaksi dan tambahkan pereaksi Dragendroff. Hasil positif akan ditunjukkan dengan terbentuknya endapan jingga hingga kuning. Uji alkaloid pada sampel fraksi aquadest daging buah majapahit (*Crescentia cujete L.*) menghasilkan perubahan menjadi jingga terdapat endapan



atau 2 lapisan. Uji alkaloid pada fraksi etil asetat daging buah majapahit (*Crescentia cujete*) menghasilkan perubahan warna menjadi kuning dan terdapat endapan atau 2 lapisan (Yuri dkk., 2017). Kemudian fraksi n-heksana menghasilkan perubahan warna menjadi kuning terdapat adanya endapan atau 2 lapisan. Hasil dari uji alkaloid pada ketiga fraksi daging buah majapahit (*Crescentia cujete L.*) menghasilkan reaksi positif.

#### 4.7 Uji Kuantitatif

##### 4.7.1 Uji Kadar Senyawa Ekstrak Daging Buah Majapahit (*Crescentia cujete L.*) Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis merupakan alat yang digunakan untuk mengukur serapan yang dihasilkan dari interaksi kimia yaitu antara radiasi elektromagnetik dengan molekul. Prinsip kerja spektrofotometri UV-Vis adalah mengukur jumlah cahaya didalam gelombang yang transmisi dengan larutan energi cahaya yang akan diabsorbansikan (Nurul A.,2016). Kelebihan dari spektrofotometer adalah untuk mendeteksi panjang gelombang dari sinar uv dengan alat seperti prisma sebagai pengurai warna.

Penetapan kadar senyawa ekstrak daging buah majapahit (*Crescentia cujete L.*) dilakukan di Universitas Muhammadiyah Malang. Pada proses pengujian kadar senyawa diperlukan larutan standart berupa *quersetin* untuk senyawa flavonoid, larutan standart saponin untuk senyawa saponin.larutan standart *tannic acid* untuk senyawa tanin, dan larutan standart berupa *quinine* untuk senyawa alkaloid. Setelah penentuan larutan standart masing-masing senyawa dilakukan untuk pengukuran absorbansi pada larutan standart sebagai pembanding.

**Tabel 4.6** Hasil kadar total senyawa pada ekstrak daging buah majapahit

(*Crescentia cujete L.*), yaitu sebagai berikut:

Fraksi	Flavonoid	Saponin	Tanin	Alkaloid
Aquades	1,125	0,259	0,859	0,047
N-heksana	1,814	0,346	1,143	0,056
Etil asetat	5,047	0,665	3,492	0,078

Pada tabel diatas dapat dilihat diketahui bahwa fraksi daging buah majapahit (*Crescentia cujete L.*) mengandung beberapa metabolit sekunder yaitu flavonoid, saponin, tanin dan alkaloid sehingga diperlukan uji kuantitatif untuk mengetahui

persentase dari masing-masing metabolit sekunder tersebut. Kadar hasil spektrofotometer yang lebih kecil pada aquades dibandingkan dengan etil asetat dapat terjadi karena perbedaan sifat fisikokimia antara kedua pelarut tersebut (Skoog dkk.,2007). Kemungkinan aquades memiliki kemampuan yang lebih rendah untuk mengekstraksi senyawa-senyawa tertentu dari sampel, sehingga hasilnya lebih rendah. Namun, pernyataan tersebut mencerminkan pemahaman umum mengenai perbedaan sifat fisikokimia antara aquades dan etil asetat sebagai pelarut. Aquades adalah air murni atau air destilasi yang umumnya digunakan sebagai pelarut netral, sedangkan etil asetat adalah pelarut organik yang memiliki daya ekstraksi yang lebih tinggi terhadap senyawa-senyawa non-polar.

Menurut Christian (2019) bahwa aquades mungkin tidak efektif dalam mengekstraksi senyawa-senyawa tertentu dari sampel, sehingga menghasilkan kadar yang lebih rendah saat diukur dengan spektrofotometer dibandingkan dengan penggunaan etil asetat sebagai pelarut. Proses fraksinasi sendiri juga memiliki kelemahan yaitu tidak dapat mengekstraksi senyawa polar yang dapat bercampur dengan air

#### **4.7 Skrining Potensi Antikanker dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)**

*Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) adalah salah satu metode untuk uji toksisitas yang memiliki korelasi positif terhadap aktivitas antikanker. Korelasi positif ditunjukkan antara uji BSLT dan sitotoksitas pada kultur sel kanker (Prawirodiharjo E,2014). Hewan uji menggunakan larva udang *Artemia Salina* Leach yang memiliki respon terhadap senyawa kimia yang mirip dengan mamalia. Metode ini dipilih karena tidak membutuhkan waktu yang lama, pengerjaannya yang mudah dan memerlukan biaya murah.

##### **4.8.1 Pembuatan Air Laut Buatan**

*Artemia Salina* Leach dapat hidup pada air yang mempunyai kadar garam tinggi serta suhu 25°C hingga 30°C dan memiliki pH air 8-9. *Artemia Salina* Leach mempunyai kelenjar garam yang berfungsi untuk mengatur atau menyesuaikan diri terhadap perubahan kadar garam. Sehingga saat kadar garam meningkat dalam lingkungannya tidak mempengaruhi kehidupan *Artemia Salina* Leach. Namun, Air

laut yang mempunyai kadar garam 5 per mil akan membuat proses penetasan *Artemia Salina* Leach berjalan dengan optimal. Pembuatan air laut buatan menggunakan garam ikan sebanyak 35 gram dilakukan yang dilarutkan dalam 1000 ml aquadest.

#### 4.8.2 Penetasan *Artemia Salina* Leach

Penetasan *Artemia Salina* Leach dapat dilakukan dengan memasukkan air laut buatan kedalam aquarium yang telah dilengkapi dengan aerator. Setelah itu, masukkan larva *Artemia Salina* Leach kedalam aquarium dibawah cahaya lampu dan didiamkan selama 48 jam atau 2 hari (Refli dkk.,2014). Kemudian pada saat 24 jam setelah proses penetasan ditambahkan larutan ragi sebanyak 0,06% sebagai makanan untuk bertahan hidup. Nauplius *Artemia Salina* Leach yang telah menetas ditandai dengan warna kemerah merahan. Warna merah diperoleh dari adanya cadangan makanan dari larutan ragi. Penggunaan nauplius sebagai larva uji pada usia 48 jam atau 2 hari dikarenakan sifat nauplius lebih peka terhadap zat yang masuk dan organ yang dimiliki oleh nauplius sudah lengkap. Sehingga data kematian nauplius benar disebabkan oleh fraksi ekstrak daging buah majapahit (*Crescentia cujete L.*) (Harefa, 2003).

#### 4.8.3 Uji Toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test*

Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) merupakan salah satu metode yang digunakan untuk skrining bioaktivitas suatu senyawa murni dengan hewan uji larva *Artemia Salina* Leach. Sampel yang digunakan untuk uji toksisitas menggunakan fraksi daging buah majapahit (*Crescentia cujete L.*). Fraksi terdiri dari fraksi aquadest sebagai fraksi polar, etil asetat sebagai fraksi semipolar dan fraksi n-Heksana sebagai fraksi nonpolar. Hewan uji yang digunakan yaitu larva udang *Artemia Salina* Leach dengan 1 wadah berisi 10 ekor. Jadi 30 ekor ini menggunakan tiga replikasi, bertujuan untuk memberikan dugaan kekeliruan dan meningkatkan ketelitian pada saat penelitian. Konsentrasi yang digunakan pada fraksi aquadest, fraksi n-heksana dan fraksi etil asetat daging buah majapahit (*Crescentia cujete L.*) adalah 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm, 500 ppm, 600 ppm, 700 ppm, 800 ppm, 900 pmm, 1000 ppm. Perhitungan pembuatan seri konsentrasi terdapat pada lampiran.

**Tabel 4.7** Hasil Pengamatan Kematian larva udang fraksi aquadest

Konsentrasi	R1,R2,R3	Total Kematian	Rata-rata kematian	% Kematian
100 ppm	2,1,1	4 ekor	0,13	13,3
200 ppm	3,2,2	7 ekor	0,23	23,3
300 ppm	3,3,4	10 ekor	0,33	33,3
400 ppm	5,4,2	11 ekor	0,36	36,67
500 ppm	5,6,5	16 ekor	0,53	53,3
600 ppm	6,6,5	16 ekor	0,53	53,3
700 ppm	5,5,6	16 ekor	0,53	53,3
800 ppm	6,6,7	19 ekor	0,63	63,3
900 ppm	6,5,5	16 ekor	0,53	53,3
1000 ppm	5,4,4	13 ekor	0,43	43,3
Kontrol Negatif	-	-	-	-

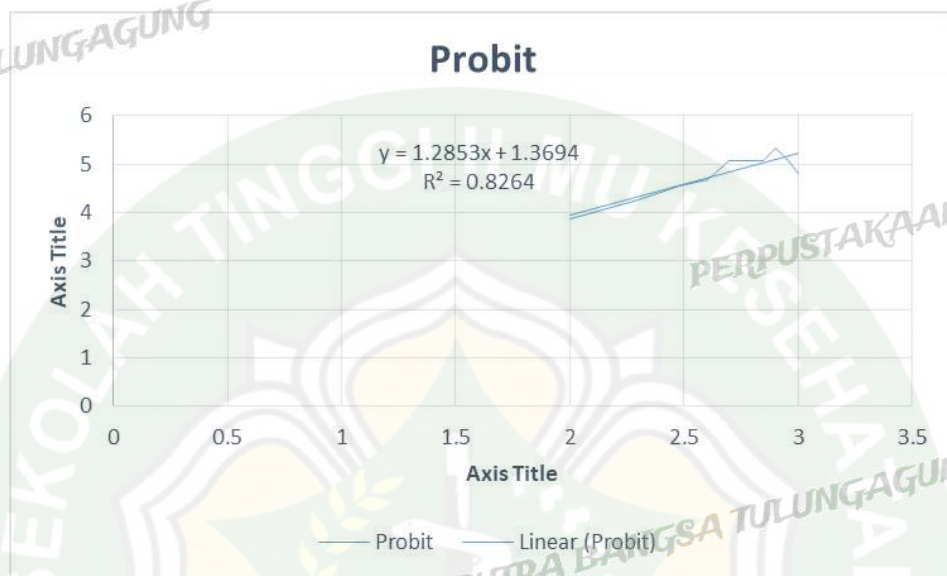
Berdasarkan tabel 4.7 yaitu pengamatan menggunakan fraksi aquadest dengan berbagai konsentrasi menghasilkan variasi kematian pada larva udang *Artemia Salina* Leach. Dapat dilihat pada konsentrasi 800 ppm merupakan banyak kematian ada 19 ekor yang diamati selama 24 jam. Dan yang paling sedikit yaitu pada konsentrasi 100 ppm ada 4 ekor saja. Selanjutnya menghitung kematian dengan menggunakan analisa probit pada microsoft excel sebagai berikut :

**Tabel 4.8** Data Pengamatan Kematian Larva Udang dengan Analisa Probit Fraksi Aquadest menggunakan microsoft excel

Concentration (%)	ppm	Log(ppm)	Probit	%Dead	Mortality	Total
0,01	100	2	3,87	13%	4	30
0,02	200	2,301	4,26	23%	7	30
0,03	300	2,477	4,56	33%	10	30
0,04	400	2,602	4,67	37%	11	30
0,05	500	2,699	5,08	53%	16	30
0,06	600	2,778	5,08	53%	16	30
0,07	700	2,845	5,08	53%	16	30
0,08	800	2,903	5,33	63%	19	30
0,09	900	2,954	5,08	53%	16	30
0,10	1000	3,000	4,82	43%	13	30

Berdasarkan tabel 4.8 dapat dihitung nilai  $LC_{50}$  dengan cara yang pertama menggunakan microsoft excel menghitung *slope* dan *intersept*. *Slope* adalah nilai koefisien regresi untuk variabel X, jika intersept adalah nilai rata-rata variabel Y

apabila variabel memiliki nilai 0. Nilai *slope* yaitu 1,2853 dan nilai *intersept* yaitu 1,3694. Selanjutnya menghitung nilai  $LC_{50}$  dengan persamaan  $y = ax + b$ , dimana  $a$  adalah nilai *slope* dan  $b$  adalah nilai *intersept*. Cara yang kedua menggunakan grafik antara log konsentrasi dengan nilai probit yang telah dihasilkan kemudian dibuat persamaan garis lurus pada kurva. Grafik dapat dilihat seperti berikut:



**Gambar 4.1** Hasil Analisa Probit Fraksi Aquadest

Berdasarkan grafik probit diatas, dapat dihitung nilai  $LC_{50}$  menggunakan persamaan yaitu  $y = 1,2853x + 1,3694$ . Dengan nilai  $y$  berisikan nilai transformasi probit, karena penelitian ini mencari nilai  $LC_{50}$  maka nilai 50 dari  $LC$  yang dicari diubah menjadi nilai probit. Nilai  $y$  telah diubah menjadi 5, jadi persamaannya menjadi  $5 = 1,2853x + 1,3694$  dan menghasilkan nilai  $LC_{50}$  sebesar 666,81 ppm dihitung menggunakan kalkulator antilog.

Grafik diatas juga didapatkan nilai  $R^2$ . Nilai  $R^2$  adalah nilai koefisien korelasi dalam hubungan dua variabel  $X$  dan  $Y$ , untuk mengukur kuatnya hubungan antara sumbu  $X$  dan  $Y$ . dari nilai  $R^2$  dengan taraf kepercayaan 95% memiliki nilai 0,8264. Nilai tersebut menunjukkan adanya hubungan korelasi yang linier antara konsentrasi dan probit.

Berdasarkan nilai  $LC_{50}$  yang telah dihasilkan maka dapat disimpulkan bahwa fraksi aquades daging buah majapahit (*Crescentia cujete L.*) memiliki sifat toksik karena nilai  $LC_{50}$  yang didapat  $<1000$  ppm. Nilai  $LC_{50}$  yang tinggi atau besar pada fraksi aquades dalam uji BSLT pada larva udang dapat disebabkan oleh

adanya faktor-faktor lain yang mempengaruhi toksisitas atau efek biologis senyawa yang diekstraksi. Misalnya, senyawa yang diekstraksi dalam fraksi aquades mungkin memiliki aktivitas biologis yang rendah atau tidak beracun terhadap larva udang dalam konsentrasi yang diuji (Saravana dkk.,2019)

Beberapa faktor yang dapat menyebabkan LC<sub>50</sub> (konsentrasi yang mematikan 50%) lebih tinggi pada fraksi aquadest dalam uji BSLT pada larva udang dibandingkan dengan fraksi etil asetat dan n-heksana. Beberapa kemungkinan faktor yang dapat mempengaruhinya adalah (Dhiya dkk.,2016):

1. Komposisi senyawa: Fraksi aquadest mungkin mengandung senyawa-senyawa yang memiliki toksisitas yang lebih rendah terhadap larva udang dibandingkan dengan senyawa-senyawa yang terdapat dalam fraksi etil asetat dan n-heksana. Setiap pelarut mungkin mengekstraksi senyawa dengan kelompok kimia yang berbeda-beda, dan kelompok kimia tersebut dapat memiliki efek toksik yang berbeda pada organisme uji.
2. Kelarutan senyawa: Larutan dalam aquadest mungkin memiliki kelarutan yang lebih rendah untuk senyawa-senyawa yang bersifat toksik terhadap larva udang dibandingkan dengan larutan dalam fraksi etil asetat dan n-heksana. Hal ini dapat menyebabkan konsentrasi toksik yang lebih rendah dalam larutan aquadest, sehingga memerlukan konsentrasi yang lebih tinggi untuk mencapai LC<sub>50</sub>.

**Tabel 4.9** Hasil Pengamatan Kematian Larva Udang Fraksi N-Heksana

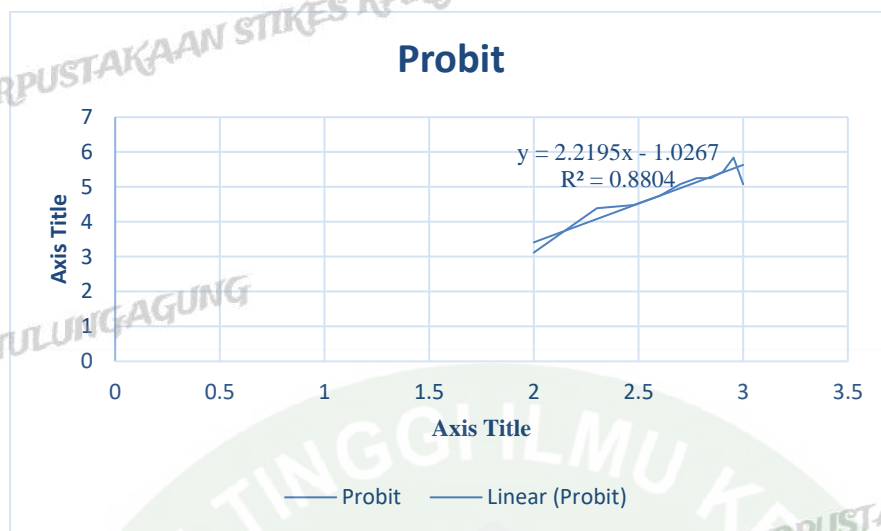
Konsentrasi	R1,R2,R3	Total Kematian	Rata-rata kematian	% Kematian
100 ppm	0,0,1	1 ekor	0,03	3,33
200 ppm	3,3,2	8 ekor	0,26	26,6
300 ppm	4,3,2	9 ekor	0,3	30
400 ppm	4,4,4	12 ekor	0,4	40
500 ppm	6,6,4	16 ekor	0,53	53,3
600 ppm	5,7,6	18 ekor	0,6	60
700 ppm	6,5,7	18 ekor	0,6	60
800 ppm	6,7,7	20 ekor	0,66	66,6
900 ppm	7,8,9	24 ekor	0,8	80
1000 ppm	6,5,5	16 ekor	0,53	53,3
Kontrol Negatif	-	-	-	-

Berdasarkan tabel 4.9 yaitu pengamatan menggunakan fraksi n-heksana dengan berbagai konsentrasi menghasilkan variasi kematian pada larva udang *Artemia Salina* Leach. Dapat dilihat pada konsentrasi 900 ppm merupakan banyak kematian ada 24 ekor yang diamati selama 24 jam. Dan yang paling sedikit yaitu pada konsentrasi 100 ppm ada 1 ekor saja. Selanjutnya menghitung kematian dengan menggunakan analisa probit pada mricrosoft excel sebagai berikut :

**Tabel 4.10** Data Pengamatan Kematian Larva Udang dengan Analisa Probit  
Fraksi N-heksana menggunakan microsoft excel

Concentration (%)	ppm	Log(ppm)	Probit	%Dead	Mortality	Total
0,01	100	2	3,12	3%	1	30
0,02	200	2,301	4,39	27%	8	30
0,03	300	2,477	4,48	30%	9	30
0,04	400	2,602	4,75	40%	12	30
0,05	500	2,699	5,08	53%	16	30
0,06	600	2,778	5,25	60%	18	30
0,07	700	2,845	5,25	60%	18	30
0,08	800	2,903	5,44	67%	20	30
0,09	900	2,954	5,84	80%	24	30
0,10	1000	3,000	5,08	53%	16	30

Berdasarkan tabel 4.10 dihitung nilai  $LC_{50}$  dengan cara yang sama dengan fraksi aquades diatas, menggunakan microsoft excel menghitung *slope* dan *intersept*. *Slope* adalah nilai koefisien regresi untuk variabel X, jika *intersept* adalah nilai rata-rata variabel Y apabila variabel memiliki nilai 0. Nilai *slope* yaitu 2,2195 dan nilai *intersept* yaitu -1,0267. Selanjutnya menghitung nilai  $LC_{50}$  dengan persamaan  $y = ax + b$ , dimana a adalah nilai *slope* dan b adalah nilai *intersept*. Cara yang kedua menggunakan grafik antara log konsentrasi dengan nilai probit yang telah dihasilkan kemudian dibuat persamaan garis lurus pada kurva. Grafik dapat dilihat seperti berikut:



**Gambar 4.2** Hasil Analisa Probit Fraksi N-heksana

Grafik probit diatas, dapat dihitung nilai  $LC_{50}$  menggunakan persamaan yaitu  $y = 2,2195x - 1,0267$ . Dengan nilai  $y$  berisikan nilai transformasi probit, karena penelitian ini mencari nilai  $LC_{50}$  maka nilai 50 dari LC yang dicari diubah menjadi nilai probit. Nilai  $y$  telah diubah menjadi 5, jadi persamaannya menjadi  $5 = 2,2195x - 1,0267$ . dan menghasilkan nilai  $LC_{50}$  sebesar 519,16 ppm dihitung menggunakan kalkulator antilog. Nilai  $LC_{50}$  yang telah dihasilkan maka dapat disimpulkan bahwa fraksi aquades daging buah majapahit (*Crescentia cujete L.*) memiliki sifat toksik karena nilai  $LC_{50}$  yang didapat  $<1000$  ppm.. Dan nilai  $R^2$  didapatkan sebesar 0,8804 dari fraksi n-heksana daging buah majapahit (*Crescentia cujete L.*).

**Tabel 4.11** Hasil Pengamatan Kematian Larva Udang Fraksi Etil Asetat

Konsentrasi	R1,R2,R3	Total Kematian	Rata-rata kematian	% Kematian
100 ppm	2,1,1	4 ekor	0,13	13,3
200 ppm	0,1,2	3 ekor	0,1	10
300 ppm	3,3,3	9 ekor	0,3	30
400 ppm	3,4,3	10 ekor	0,33	33,3
500 ppm	6,5,5	16 ekor	0,53	53,3
600 ppm	6,6,5	17 ekor	0,56	56,6
700 ppm	6,5,6	17 ekor	0,56	56,6
800 ppm	5,6,7	18 ekor	0,6	60
900 ppm	5,6,6	16 ekor	0,53	53,3
1000 ppm	4,5,6	15 ekor	0,5	5
Kontrol Negatif	-	-	-	-



Berdasarkan tabel 4.11 yaitu pengamatan menggunakan etil asetat dengan berbagai konsentrasi menghasilkan variasi kematian pada larva udang *Artemia Salina* Leach. Dapat dilihat pada konsentrasi 800 ppm merupakan banyak kematian ada 18 ekor yang diamati selama 24 jam. Dan yang paling sedikit yaitu pada konsentrasi 100 ppm ada 4 ekor saja. Selanjutnya menghitung kematian dengan menggunakan analisa probit pada mricrosoft excel sebagai berikut :

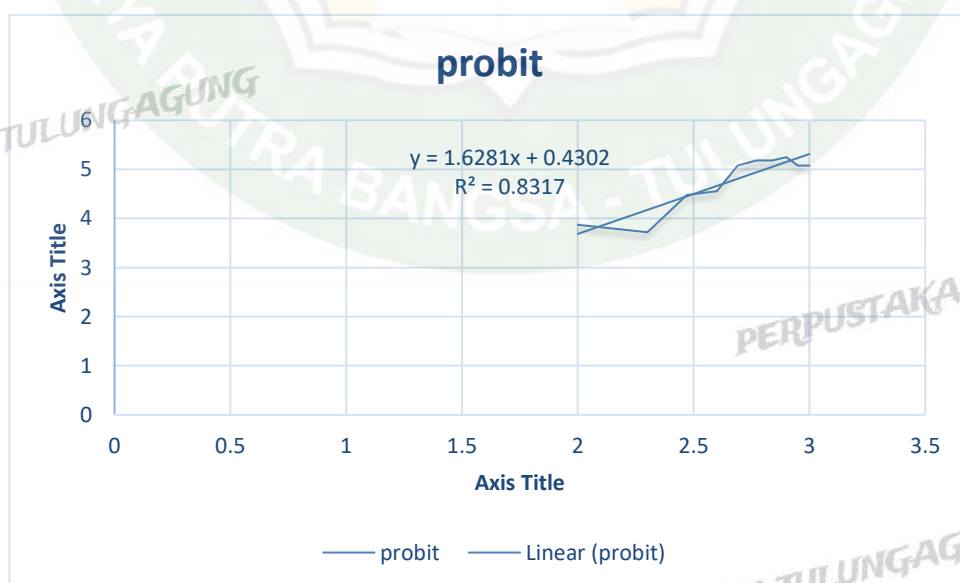


**Tabel 4.12** Data Pengamatan Kematian Larva Udang dengan Analisa Probit

Fraksi Etil asetat menggunakan microsoft excel

Concentration (%)	ppm	Log(ppm)	Probit	%Dead	Mortality	Total
0,01	100	2	3,87	13%	4	30
0,02	200	2,301	3,72	10%	3	30
0,03	300	2,477	4,48	30%	9	30
0,04	400	2,602	4,56	33%	10	30
0,05	500	2,699	5,08	53%	16	30
0,06	600	2,778	5,18	57%	17	30
0,07	700	2,845	5,18	57%	17	30
0,08	800	2,903	5,25	60%	18	30
0,09	900	2,954	5,08	53%	16	30
0,10	1000	3,000	5,00	50%	15	30

Berdasarkan tabel 4.12 dihitung nilai  $LC_{50}$  dengan cara yang sama dengan fraksi aquades dan fraksi n-heksana diatas, menggunakan microsoft excel menghitung *slope* dan *intersept*. *Slope* adalah nilai koefisien regresi untuk variabel X, jika *intersept* adalah nilai rata-rata variabel Y apabila variabel memiliki nilai 0. Nilai *slope* yaitu 1,6281 dan nilai *intersept* yaitu 0,4302. Selanjutnya menghitung nilai  $LC_{50}$  dengan persamaan  $y = ax + b$ , dimana a adalah nilai *slope* dan b adalah nilai *intersept*. Cara yang kedua menggunakan grafik antara log konsentrasi dengan nilai probit yang telah dihasilkan kemudian dibuat persamaan garis lurus pada kurva. Grafik dapat dilihat seperti berikut:

**Gambar 4.3** Hasil Analisa Probit Fraksi Etil Asetat

Grafik probit diatas, dapat dihitung nilai  $LC_{50}$  menggunakan persamaan yaitu  $y = 1,6281x + 0,4302$ . Dengan nilai  $y$  berisikan nilai transformasi probit, karena penelitian ini mencari nilai  $LC_{50}$  maka nilai 50 dari  $LC$  yang dicari diubah menjadi nilai probit. Nilai  $y$  telah diubah menjadi 5, jadi persamaannya menjadi  $5 = 1,6281x + 0,4302$ . dan menghasilkan nilai  $LC_{50}$  sebesar 640,91 ppm dihitung menggunakan kalkulator antilog. Nilai  $LC_{50}$  yang telah dihasilkan maka dapat disimpulkan bahwa fraksi aquades daging buah majapahit (*Crescentia cujete L.*) memiliki sifat toksik karena nilai  $LC_{50}$  yang didapat  $<1000$  ppm. Dan nilai  $R^2$  didapatkan sebesar 0,8317 dari fraksi etil asetat daging buah majapahit (*Crescentia cujete L.*).

Sifat toksik dari ke tiga fraksi diatas berkaitan dengan adanya kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak daging buah majapahit (*Crescentia cujete L.*) meliputi senyawa flavonoid, saponin, tanin dan alkaloid yang berpotensi sebagai antikanker dengan mekanisme kerja flavonoid dapat menurunkan aktivitas enzim pencernaan dan penyerapan makanan dan bertindak sebagai *stomach poisoning* atau racun perut sehingga larva *Artemia salina* Leach menjadi kelaparan dan mati (Nur Wakidatul dkk.,2020). Cara kerja senyawa metabolit sekunder saponin adalah dengan cara mengikat oksigen dalam air, hal ini disebabkan saponin mengandung glikosida dalam tanaman yang sifatnya menyerupai sabun dan larut dalam air dan dapat mengikat oksigen yang terlarut dalam air sehingga kadar oksigen di dalam air menurun dan dapat mematikan larva *Artemia salina* Leach karena kekurangan oksigen (Nur Wakidatul dkk.,2020). Cara kerja tanin yaitu merupakan senyawa antikanker yang bekerja sebagai antikoksidan dengan menghambat apoptosis (Fatimah dkk.,2022). Sedangkan alkaloid dapat membunuh larva udang karena alkaloid merupakan komponen aktif yang bekerja di saraf yang dapat menyebabkan gangguan pencernaan karena alkaloid dapat bertindak sebagai racun melalui mulut larva.

## BAB V

### PENUTUP

#### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan dalam penelitian dapat diambil beberapa kesimpulan sebagai berikut:

1. Konsentrasi senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada fraksi ekstrak daging buah majapahit (*Crescentia cujete L.*) dengan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis masing-masing yaitu fraksi aquades kandungan flavonoidnya sebesar 1,125% untuk n-heksana kandungan flavonoidnya sebesar 1,814% dan etil asetat kandungan flavonoidnya 5,047%. Fraksi aquades kandungan saponin sebesar 0,259%, n-heksana kandungan saponin sebesar 0,346% dan etil asetat kandungan saponin 0,665%. Fraksi aquades kandungan tannin sebesar 0,859%, fraksi n-heksana kandungan tannin sebesar 1,143% dan etil asetat kandungan tannin sebesar 3,942 dan fraksi aquades kandungan alkaloid sebesar 0,047, fraksi n-heksana kandungan alkaloid sebesar 0,056% dan fraksi etil asetat kandungan alkaloidnya sebesar 0,078%.
2. Pada uji toksisitas fraksi ekstrak daging buah majapahit (*Crescentia cujete L.*) menggunakan hewan uji larva udang *Artemia Salina* Leach mendapatkan hasil fraksi aquadest sebesar 666,81 ppm, fraksi n-heksana sebesar 519,16 ppm dan sebesar fraksi etil asetat 640,91 ppm.
3. Skrining potensi antikanker ekstrak daging buah majapahit (*Crescentia cujete L.*) dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) menunjukkan adanya potensi sebagai antikanker dengan ditandai nilai  $LC_{50} < 1000$  ppm, yaitu fraksi n-heksana sebesar 519,16 ppm dilihat dari tabel ketoksikan termasuk kategori toksik terhadap larva udang *Artemia Salina* Leach.

#### 5.2 Saran

Pada hasil skrining antikanker fraksi ekstrak daging buah majapahit (*Crescentia cujete L.*) menunjukkan sampel memiliki potensi sebagai antikanker, sehingga pada penelitian selanjutnya dapat berupa hewan uji atau sel kanker secara langsung.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adi Syakdani, Indah Purnamasari, Ester Necessary(2019). Prototipe Alat Evaporator Vakum (Efektivitas Temperatur Dan Waktu Evaporasi Terhadap Tekanan Vakum Dan Laju Evaporasi Pada Pembuatan Sirup Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.)).  
Jurnal.polsri.ac.id/index.php/kimia/index.
- Aksara, R., Weny, J. and Musa, L., 2013. Identifikasi Senyawa Alkaloid dari Ekstrak Metanol Kulit Batang Mangga (*Mangifera indica* L). *Jurnal Entropi*, 3(1), pp.514–519
- Albertus, Dewantara, I., & Herawatiningsih, R. (2015). Jenis dan potensi tumbuhan obat pada kawasan hutan adat gunung semarong kecamatan tayan hulu kabupaten sangau. 3, 446–455.
- Amir, S., Fathurrahman & Bahrudin. 2019. Pengaruh media dan interval pemupukan terhadap pertumbuhan jagung manis (*Zea mays* ssp. *indica* Sturt). *Jurnal Mitra Sains*, 4(1): 29-35.
- Anggitha , I. 2012. Perfoma Flokulasi Bioflokulan DYT Pada Beragam Keasaman dan Kekuatan Ion Terhadap Turbiditas Larutan Kaolin. Universitas Pendidikan Indonesia:Jakarta.
- Arel, A., Wardi, E. S., & Oktaviani, Y. (2018). Profil Metabolit Sekunder Ekstrak Daun Berenuk (*Crescentia cujete* L.) dan Uji Sitotoksik dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test. *Jurnal Katalisator*, 3(2), 82-88. doi:<http://doi.org/10.22216/jk.v3i2.3165>
- Arter D. Muajaa\*, Harry S. J. Koleangana, Max R. J. Runtuwenea.2013 . Uji Toksisitas dengan Metode BSLT dan Analisis Kandungan Fitokimia Ekstrak Daun Soyogik (*Saurauia bracteosa* DC) dengan Metode Soxhletasi. *urusan Kimia, FMIPA, Unsrat, Manado*.
- Asriani Suhaenah, Mamat Pranata, A. Hesti Wulandarisari Amir.(2021). Penetapan Kaar Flavonoid Fraksi Etil Aseat Daun Karet Kebo (*Ficus elastic*) dengan metode Spektrofotometri UV-VIS.

BPOM RI, 2014. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 7 Tahun 2014 tentang Pedoman Uji Toksisitas Non Klinik secara In Vitro. , (Jakarta : BPOM RI).

Brigita Olivia Intan Kinam, Rolan Rusli, Wisnu Cahyo Prabowo, Supriatno Salam, 2021. Skrining Fitokimia dan Profil KLT Ekstrak dan Fraksi dari Daun Berenuk (*Crescentia cujete L.*) serta Uji DPPH. e-ISSN: 2614-4778. 10-12 Desember 2021.

Buah Kakao (*Conopomorpha cramerella*). Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri 19 (3) : 24 – 26. Sani RN, Nisa FC, Andriani RD, Maligan JM. 2014. Analisis rendemen dan skrining fitokimia ekstrak etanol mikroalga laut *Tetraselmis chuii*. Jurnal Pangan dan Agroindustri 2(2):121-126.

Chairunnisa, S., Wartini, N.M. and Suhendra, L., 2019. Pengaruh Suhu dan Waktu Maserasi terhadap Karakteristik Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana L.*) sebagai Sumber Saponin. Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri, 7(4), p.551.

Chinelo A, Okeke CU, Bibian O, Cinyere V, and E. A. (2014). Determinasi of Saponin Content of various Parts of Six Citrus species. International Research Journal of Pure and Applied Chemistry, 1(4).

Christian, G.D. (2013). Analytical Chemistry. John Wiley & Sons.

Depkes RI. 2014. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hal. 3-30.

Dhiya S., Marzuki A., Hastuti P., Agus S., Koentjoro M.P. (2016). "Toxicity of Organic Solvents Against *Artemia salina* Leach." Indonesian Journal of Chemistry, 16(1), 100-106.

Diniatik, D. (2015). penentuan kadar flavonoid total ekstrak etanolik daun kepel (*Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook f. & Th.) dengan metode spektrofotometri. Kartika-Jurnal Ilmiah Farmasi, 3(1), 1–5.

Elyta Mariana, Edy Cahyono, Endah Fitriani Rahayu, dan Bowo Nurcahyo (2018). Validasi Metode Penetapan Kuantitatif Metanol dalam Urin Menggunakan Gas Chromatography-Flame Ionization Detector. <http://journal.unnes.ac.id/sju/index.php/ijcs>

Fatimah, F., Martha, R. D., & Danar, D. (2022). Analisis toksisitas dan potensi antikanker ekstrak metanol daun Majapahit ( *Crescentia cujete* ) dengan metode Brine Shrimp Lethality Test. *SAINTEK*, 27(1), 24–30. <https://journal.uny.ac.id/index.php/saintek>

Fatimah, F., Martha, R. D., & Kusumawati, A. (2020). Deteksi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol Kulit Batang Tanaman Majapahit (*Crescentia cujete*) dengan LCMS. *CHEESA: Chemical Engineering Research Articles*, 3(2), 88–98. <https://doi.org/10.25273/cheesa.v3i2.7688.88-98>.

Firdiyani, F., Tri, W. A., Widodo, F. M. 2015. Ekstraksi Senyawa Bioaktif sebagai Antioksidan Alami Spirulina plantensis Segar dengan Pelarut yang Berbeda. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia* 18(1): 28-37.

Fitrah, A., Devi, S, Umratul M, Aida Safriani (2022). Profil Fitokimia dan Aktivitas Ekstrak Air Daun *Tegetes erecta L.* Vol:90 Hal:690-694.

Fitrah, M., & Tahar, N. (2018). Jurnal Para Pemikir Volume 7 Nomor 1 Januari 2018 Uji TOKSISITAS fraksi daun pedada ( *Sonneratia caseolaris L.* ) terhadap larva udang ( *artemia salina leach* ) dengan menggunakan metode Brine Shrimp Lethality Test ( BSLT ) Jurnal Para Pemikir Volume 7 Nomo. 7, 181–186

Ghazali, I., 2012. Aplikasi Analisa Multivariate dengan Program SPSS 19.,(Semarang : BP Universitas Diponegoro).

Gilman, E.F, dkk, 1993. *Crescentia cejute:Calabash Tree*. Florida: University of Florida

Gunawan Hendra, Sugiarti, Wardani M, Mindawati N. 100 Spesies Pohon Nusantara Target Konservasi Ex Situ Taman Keanekaragaman Hayati. Bogor: IPB Press; 2019.

Hadi, S., 2012. Pengambilan Minyak Atsiri Bunga Cengkeh (CloveOil) Menggunakan Pelarut n-Heksana Dan Benzena. *Jurnal Bahan Alam Terbarukan*, 1(2)(ISSN 2303-0623), pp.25–30.

Hamidi, M. R., Jovanova, B., & panovska, tatjana K. (2014). Toxicological evaluation of the plant products using Brine Shrimp (*Artemia salina L.*)

- model. Macedonian Pharmaceutical. 60(01),918.  
<https://doi.org/10.33320/maced.pharm.bull.2014.60.01.002>
- Harefa, F., 1996. Pembudidayaan Artemia Untuk Pakan Udang dan Ikan. PT. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Harefa. 2003. Pembudidayaan Artemia Untuk Pakan Udang dan Ikan.PT. Penebar Swadaya . Jakarta
- Hargono, H. (2015). Analisis Fitokimia. EGC.
- Hariana A. (2007). Tumbuhan Obat Dan Khasiatnya. ITB Prees.
- Hydnophytum sp. terhadap Artemia salina Leach. Journal of Science Education, 2020: 4(1), 47-53.
- Hyeronimus S.B. 2008. Ragam dan Khasiat Tanaman Obat. 1st ed. Agro Media. Jakarta.
- Indri Novia Santi, I Made Supartha Utama, Ida Ayu Gede Bintang Madrini.(2021). Pengaruh Suhu dan Waktu Pengeringan terhadap Karakteristik Fisikokimia Buah Naga Merah (Hylocereus polyrhizus (Weber) Britton & Rose) Kering. J. Hort. Indonesia, April 2021, 12 (1): 69-80
- Indri Novia Santi, I Made Supartha Utama, Ida Ayu Gede Bintang Madrini(2021). Pengaruh Suhu dan Waktu Pengeringan terhadap Karakteristik Fisiokimia Buah Naga Merah (Hylocereus polyrhizus (Weber) Brintton & Rose) Kering. J.Hort, Indonesia 12(1): 69-80 April 2021.
- Isnansetyo Alim dan Kurniastuty. 1995. Teknik Kultur Phytoplankton Zooplankton. Pakan Alam untuk pembenihan organism laut. Yogyakarta : Kanisius.
- Julianto,Tatang Shabur Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokima/ Tatang Shabur Julianto. --Yogyakarta: Universitas Islam Indonesia, 2019.
- Jurnal Kesehatan, 7 (2): 361-367.
- Kanwar, A.S. (2007). Brine Shrimp (*Artemia salina*) a Marine Animal for Simple and Rapid Biological Assays. Chinese Clinical Medicine 2 (4): 35-42.
- Kemenkes RI.2013. Vademekum Tanaman Obat Jilid III.Surabaya:Kementriaan Kesehatan Republik Indonesia.



- Kumar, S. & Pandey, A., 2013, Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview, *The ScientificWorld Journal*, 2013, 1-16
- Kusumowati ITD, Melannisa R and Prasetyawan A, 2014. Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Senggangi (*Melastoma affine D. Don*). *Biomedika*, 6(2), pp.22–5.
- Laurensius FB, 2019. Analisis Mesin Penghasil Aquades Menggunakan Mesin Siklus Kompresi Uap Dengan Pengaruh Putaran Kipas Sebelum Evaporator. , 1–6.
- Linda Watisetyaningrum 051514153006 (2018).Pengembangan Dan Validasi Metode KCKT Untuk Uji Disolusi Andrografolida Dalam Tablet Fraksi Etil Asetat-96.
- Liza Kartika, Mirhansyah Ardana, Rolan Rusli. Aktivitas Antioksidan Tanaman Genus *Artocarpus*.<https://doi.org/10.25026/mpc.v12i1.432>.
- Loomis, T.A. 1978. Toksikologi Dasar. Diterjemahkan oleh : Donatus, I.A., Edisi III. IKIP Semarang Press, Semarang.
- Lusia Eka Putri. 2017. Penentuan Konsentrasi Senyawa Berwarna  $KMnO_4$  Dengan Metode Spektroskopi UV-Vis. *Natural. Science. Journal*, Vol,3 No. 1 Maret 2017. Hal.391-398.
- M. Alfian Ramadhon., Laksmi Sulmartiwi, Endang Dewi Masithah dan A Shofy Mubarak. Pengaruh Perbedaan Salintas Pada Induk *Artemia* sp. Terhadap Jumlah Naupli.2013.
- Mainawati, D. (2017). Uji Kandungan Metabolit Sekunder Tumbuhan Obat Yang terdapat Di Kecamatan Rambah Samo Kabupaten Rokan Hulu (Doctoral dissertation, Universitas Pasir Pengaraian).
- Materia Mediaka Indonesia, 2022. Determinasi707.pdf.
- Max R.J Runtuwene, Vanda S. Kamu, Marsella Rotty(2021). Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Dan Fraksi Heksana Daun Soyogik (*Saurauia bracteosa DC*) Terhadap Oksidasi Asam Linoleat. Vol.14 No.2.2021.
- Mayang, A., & Santoso, bilal sa. (2020). Uji toksisitas akut infusa daun sirsak (*annona muricata*) pada larva *artemia salina* menggunakan metode

- brine shrimp lethality test. *Pharmacy Medical Journal*, 3(1), 23–27.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.35799/pmj.3.1.2020.28960>
- Megha, N.M. dan Sabale, A.B. (2014). Antimikrobal Antioxidant and Hemolytic Potential of Brown Macroalga *Sargosum*, *World Journal of Pharmacy and Pharmateutical Sciences* . 3(8), pp 2091-2104.
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putman, J. E., Jacobsen, L. B., Nicols, D. E., and McLaughlin, J. L., 2010. *Brine Shrimp : A Convenient general Bioassay For Active Plant Constituents*. *Plant Medica*.
- Meyer, B.N., Ferrigni, N.R., Putnam, J.E., Jacobsen, L.B., Nichols, D.E., dan McLaughin, J.L., (1982), *Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituent*, *Planta Medica*. 45:31-34.
- Muaja, A. D., Koleangan, H. S. J., & Runtuwene, M. R. J. (2013). Uji toksisitas dengan metode BSLT dan analisis kandungan fitokimia ekstrak Daun Soyogik (*Saurauia bracteosa* DC) dengan Metode Soxhletasi. *Jurnal MIPA*, 2(2), 115–118. <https://doi.org/10.35799/jm.2.2.2013.3000>
- Mudjiman A. (1988). Udang Renix Air Asin (*Artemia Salina*). In *Bharata Karya Aksara* (pp. 17-27,34-35).
- Mudjiman, A. 2008. *Makanan Ikan*. Jakarta: PT. Penerbit Swadaya.
- Muhammad Haris Kurniawan, Berta Putri, dan Yeni Elisdiana. e-Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan Volume VII No 1 Oktober 2018.
- Muhammad N. Hasan (2014). Uji Kandungan Flavonoid dan Perbandingan Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Etanol Simplisia Bunga Pepaya Gantung Saat Kuncup dan Mekar.
- Mutiasari I.R ., 2012. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Jamur *Pleurotus ostreatus* Dengan Metode DPPH dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia Dari Fraksi Teraktif.
- Najib, A. et al., 2018. Standardisasi Ekstrak Air Daun Jati Belanda Dan Daun Jati Hijau. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 4(2), pp.241–245.
- Ningdyah, A.W . Andi , H.A dan Afghani Jayuska. (2015). Uji Toksisitas Dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) terhadap Hasil Fraksinasi Ekstrak Kulit Buah Tampoi (*Baccaurea macrocarpa*). *JKK* 4(1).pp 75-83  
 ISSN: 2303-1077.

Novitasari, A.E. dan D.Z. Putri. 2016. Isolasi dan identifikasi saponin pada ekstrak daun mahkota dewa dengan ekstraksi maserasi. *Jurnal Sains*. 6(12):10-14.

Nur Tasmin, Erwin, Irawan W. Kusuma.(2014). Isolasi, Identifikasi Dan Uji Toksisitas Senyawa Flavonoid Fraksi Kloroform Dari Daun Terap (*Artocapus Odoratissumus Blanco*). *Jurnal Kimia Mulawarman Volume 12 Nomor 1*.

Nur Wakidatul Khasanah, Bhakti Karyadi, Agus Sundaryono.(2020). Uji Fitokimia dan Toksisitas Ekstrak Umbi

Nursamsiar, Khairuddin, Megawati, Miska Basri Manga'ba, Nurfadillah G.S, Alfat Fadri, Syamsu Nur(2021).Penentuan Kadar Flavonoid dari Ekstrak Etanol dan Etil Asetat Daun Kesambi (*Schleichera oleosa L.*).Vol.46, No.2,33-37.

Oluwaseun R. Alara, Nour H. Abdurahman, Chinonso I. Ukaegbu, Soxhlet extraction of phenolic compounds from *Vernonia cinerea* leaves and its antioxidant activity, *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2018.07.003>

Opinion. 15 Januari 2008. Artemia, Pakan Alami Berkualitas untuk Ikan dan Udang. <http://www.opinion.com/MembangunIndonesia.htm> [27 April 2009].

Panjaitan. (2011). Uji Aktivitas Antioksidan dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol 70% dan Ekstrak Air Kulit Batang Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*). Universitas Syarif Hidayatulloh.

Patricius Kianto Atmodjo. (2019). "Keanekaragaman dan Pemanfaatan Berenuk (*Crescentia Cejute L*) Di Daerah Istimewa Yogyakarta". Dalam *Biota:Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati, Vol.04, No.03, Edisi Oktober 2019*. Hal.116-123. Sleman: Fakultas Teknologi, Universitas Atma Jaya Yogyakarta (UAIY).

Pratiwi, 2010. Mikrobiologi Farmasi. In: Jakarta : Penerbit Airlangga. pp. 22-24,188-189.

- Prawirodiharjo E. (2014). Uji Aktivitas Antioksidan Dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol 70% dan Ekstrak Air Kulit Batang Kayu Jawa (*Lannea Coromandelica*). Universitas Syarif Hidayatulloh.
- Purwanto, S., 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Aktif Ekstrak Daun Senggani (*Melastoma Malabathricum L*) terhadap *Escherichia Coli*. Jurnal Keperawatan Sriwijaya, 2(2), pp.84–92.
- Rahmadani, F., 2015. Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Etanol 96% Kulit Batang Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori*, *Pseudomonas aeruginosa*. , (Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Jakarta.).
- Rahmaningsih, S., & J., 2016. Study Tentang Pemanfaatan Tanaman Majapahit (*Crescentia cujete*) Untuk Penanggulangan Bakteri *Vibrio harveyi* Secara In vitro. , (VI,Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang), pp.52–58.
- Rajendra, V. D. and. (2014). Estimation of Total Phenol, Tannin, Alkaloid and Flavonoid in *hibiscus tiliaceus* Linn, Wood Extracts. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 2(4).
- Refli Hiola, Rully Turiyo dan Syamsuddin (2014). Pengaruh Salinitas yang Berbeda terhadap Penetasan Kista *Artemia Sp* di Balai Benih Ikan Kota Gorontalo Provinsi Gorontalo. Vol II Juni 2014.
- Retnowati, R., Ismawati, F. and Sutrisno, 2015. Fraksinasi Ekstrak Metanol Daun Mangga Kasturi (*Mangifera casturi Kosterm*) dengan Pelarut n-Butanol. *Kimia Student Journal*, 1 (1), pp.785–790.
- Riska Yuli Nurvianthi, Adhitama asmal. 2022. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Akar dan Biji Cempedak (*Artocarpus champeden Spreng*) Asal Luwu Utara Terhadap Larva Udang (*Artemia Salina L*) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Jurnal Kesehatan*, Vol. 09, No.01 (Juli,2022) Hal.41-54.
- Rismayani. (2013) . Manfaat Buah Maja sebagai Pestisida Nabati Untuk Hama Penggerek

- Rizkito Bay Halimu, Rieny S. Sulistyowati, Lukman Mile. Identifikasi Kandungan Tanin pada *Sonneratia Alba*.
- Saifuddin, A., Rahayu, V., dan Teruna, H.,Y, 2011, Standarisasi Bahan Obat Alam. Graha Ilmu : Yogyakarta
- Saravana Bhavan P., Nagarajan M. (2019). "Toxicity Evaluation of Organic Solvents Using *Daphnia magna*." *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(21), 4292.
- Sari Liza Azura Nst, Reni Sutri, Iriany.2015. Pembuatan Etil Asetat Dari Hasil Hidrolisis, Fermentasi Dan Esterifikasi Kulit Pisang Raja (*Musa paradisiaca L.*). *Jurnal Teknik Kimia USU*, Vol. 4, No. 1.
- Sari, V.R., 2012. Variasi Morfologi Tanaman Kepel (*Stelechocarpus burahol Hook. F & Thomson*) yang Tumbuh pada Ketinggian Berbeda. , (Universitas Airlangga.).
- Shahdadi, F., Mirzaei, H. O., & Garmakhany, A. D. (2015). Study of phenolic compound and antioxidant activity of date fruit as a function of ripening stages and drying process. *Journal of Food Science and Technology*, 52, 1814–1819.
- Silva, T.M., Nascimento, R.J., Batista, M.B., Agra, M.F., dan Camara, C.A. 2007. Brine shrimp bioassay of some species of solanum from northeastern brazil. *Revista Brasileira de Farmacognosia* (17) Hal: 35-38.
- Simbolon and Yelmir M. (2018). Pembuatan Sabun Transparan Dengan Penambahan Ekstrak Daun Seledri Sebagai Antibakteri. *Chempublish*, 3, 57–68.
- Singh, A., & Zahra, K. (2017). Lc50 assessment of cypermethrin in *Heteropneustes fossilis*: Probit analysis. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 5(5), 126–130. [www.fisheriesjournal.com](http://www.fisheriesjournal.com)
- Skoog, D.A., Holler, F.J., Crouch, S.R. (2007). *Principles of Instrumental Analysis*. Cengage Learning.
- Sogandi, Darma, D.W.S.T. and Raudatul, J., 2019. Potensi Senyawa Antibakteri Dari Ekstrak Akar Manis (*Glycyrrhiza Glabra L*) Terhadap *Bacillus Cereus*. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 22(Vol 22, No 4 (2019): Volume 22 Issue 4 Year 2019), pp.105–111.

- Stenis, V. 1974. *Flora Malesina* Vol 8 Netherland : Sijthoff and Noordhoff Internasional Publisher.
- Sugiyono, 2013. *Metode Penelitian Kuantitatif Kulitatif Dan R & D* , 80(Bandung: Alfabeta), pp.38–39.
- Sukardiman, A.R and Pratiwi, N. F. (2014). Uji Praskrining Aktivitas Antikanker Ekstrak Eter dan Ekstrak Metanol *Marchantia cf. planiloba* Steph. Dengan Metode Uji Kematian Larva Udang dan Profil Densitometri Ekstrak Aktif. *Majalah Farmasi Airlangga*, 4.
- Sukardiman., R. Abdul dan P.N. Fatma. 2004. Uji Praskrining Aktivitas Antikanker Ekstrak Eter dan Ekstrak Metanol *Marchantia planiloba* Steph. Dengan Metode Uji Kematian Larva Udang dan Profil Densitometri Ekstrak Aktif. *Majalah Farmasi Airlangga* 4 (3): 97 –100.
- Sumihe, G., Runtuwene, M. R. J., & Rorong, J. A. (2014). Analisis Fitokimia dan Penentuan Nilai LC50 Ekstrak Metanol Daun Liwas. *Jurnal Ilmiah Sains*, 14(2), 125-128. doi:<https://doi.org/10.35799/jis.14.2.2014.6070>
- Sunarni., Iskanto dan Suhartinah. 2003. Uji Toksisitas dan Anti Infeksi Ekstrak Etanol Buah *Brucea sumatrana* Roxb. Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach. dan *Staphylococcus aureus*. *Biosmart* 5 (4): 65-67.
46. Mukhtar, M.H., A.Z, Adnan dan M.W, Pitra. 2007. Uji Toksisitas Minyak Atsiri Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dengan Metode Uji Brine Shrimp Lethality Bioassay. *Jurnal Sains Teknologi Farmasi*. Vol 12(1): 1-4.
- Suratmin Utomo (2016). Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Muhammadiyah Jakarta. Pengaruh Konsentrasi Pelarut (n-Heksana) Terhadap Rendemen Hasil Ekstraksi Minyak Biji Alpukat Untuk Pembuatan Krim Pelembab Kulit.
- Syaiful Anwar, Eny Yulianti, Abdul Hakim, A. Ghanaim Fasya, Begum Fauziyah, Roihatul Muti'ah (2014). Uji Toksisitas Ekstrak Akuades (Suhu Kamar) Dan Akuades Panas (70°C) Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach.
- Tetti, M. (2014). Ekstraksi, Pemisahan Senyawa , dan Identifikasi Senyawa Aktif.

- Toar Waraney Senduk., Lita A.D.Y. Montolalu, Verly Dotulong.2020.Rendemen Ekstrak Air Rebusan Daun Tua Mangrove (*Sonneratia alba*). Jurnal Perikanan dan Kelautan Tropis. Vol.11, No.1 Januari-April 2020.
- Trifani. 2012. Ekstraksi Pelarut Cair-Cair. <http://awjee>. Diakses pada tanggal 15 Juni 2020.
- Vijay D, Rajendra S, 2014. Estimation of Total Phenol, Tannin, Alkaloid and Flavonoid in *Hibiscus tiliaceus* Linn. Wood Extracts. Research and Review: Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry Vol 2/4 2014.
- Vogel, A.I., Tatchell, A.R., Furnis, B.S.,Hannaford, A.J., Smith, P.W.G.1996. Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry. Edisi kelima New York: John Wiley & Sons.
- Voight, R. 1995,. Buku Pelajaran Teknologi Farmasi. Gadjah Mada University Press : Jogjakarta.
- Wahyuni, R., Guswandi and Rivai, H.,2014. Pengaruh Cara Pengeringan Dengan Oven, Kering Angin dan Cahaya Matahari Langsung Terhadap Mutu Simplisia Herba Sambiloto, 6.
- Wahyusi, K.N., Irnawati, N.D. and Astari, R.Z., 2020. Koefisien Perpindahan Massa Ekstraksi Flavonoid dari Buah Pare dengan Pelarut Etanol. Jurnal Teknik Kimia, 14(2), pp.40–44.
- Wulandari P. (2015). Formulasi Dan Evaluasi Sifat Fisik Sediaan Ekstrak Pegagan (*Centella Asiatica (L.) Urban*). Universitas Sanata Darma Press.
- Yani A. 2012. Fraksinasi komponen aktif antibakteri ekstrak kulit batang tanaman berenuk (*Crescentia cujete L.*) [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.8.
- KATILI, A. S. (2015). Inventarisasi tumbuhan obat dan kearifan lokal masyarakat Etnis Bune dalam memanfaatkan tumbuhan obat di Pinogu, Kabupaten Bonebolango, Provinsi Gorontalo. 1, 78–84.
- Yuda, Putu Era Sandhi Kusuma Dan Erna Cahyaningsih. 2017. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Tanaman Patikan Kebo (*Euphorbia hirta L.*).Jurnal Ilmiah Medicamento, Vol.3., No.2.

Yuri Pratiwi Utami, Abdul Halim Umar, Reny Syahrani, Indah Kadullah.  
Standardisasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Leilem (*Clerodendrum  
minahassae* Teijsm. & Binn) JPMS2017 2(1):32-39.





Lampiran 1. Jadwal Penelitian

No	Kegiatan	BULAN											Tempat
		9	10	11	12	01	02	03	04	05	06	07	
													Stikes Karya Putra Bangsa
1.	Persiapan												Stikes Karya Putra Bangsa
2.	Penyusunan Proposal												Stikes Karya Putra Bangsa
3.	Seminar Proposal												Stikes Karya Putra Bangsa
4.	Pengambilan Sampel												Wates Sumbergempol
5.	Determinasi Tanaman												Laboratorium Materia Madika Batu
6.	Pembuatan Simplisia												Laboratorium Botani Farmasi
7.	Proses Maserasi												Laboratorium Botani Farmasi
8.	Evaporasi												Laboratorium Universitas Brawijaya
9.	Fraksinasi												Laboratorium Kimia
10.	Skrining Fitokimia												Laboratorium Kimia
11.	Uji kadar senyawa dengan UV-Vis												Laboratorium UMM
12.	Uji BSLT												Laboratorium Kimia
13.	Pengumpulan Data												Stikes Karya Putra Bangsa
14.	Analisis Data												Stikes Karya Putra Bangsa
15.	Penyusunan Laporan Akhir												Stikes Karya Putra Bangsa
16.	Pengumpulan Laporan Akhir												Stikes Karya Putra Bangsa

Lampiran 2. Hasil Determinasi Daging Buah Majapahit (*Crescentia cujete L.*)

PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR  
DINAS KESEHATAN  
UPT LABORATORIUM HERBAL  
MATERIA MEDICA BATU

Jl. Lahor 87 Kota Batu  
Jl. Raya 228 Kejayan Kabupaten Pasuruan  
Jl. Kolonel Sugiono 457 – 459 Kota Malang  
Email : materiamedicabatu@jatimprov.go.id



Nomor : 074/ 707/ 102.20-A/ 2022  
Sifat : Biasa  
Perihal : **Determinasi Tanaman Majapahit**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama / NIM : DEWINTA HAPSARI / 1913206010  
DIRA TARICA PUTRI / 1913206012  
Fakultas : FARMASI, STIKES KARYA PUTRA BANGSA TULUNGAGUNG

1. Perihal determinasi tanaman majapahit

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)  
Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)  
Kelas : Dicotyledonae  
Bangsa : Scrophulariales  
Suku : Bignoniaceae  
Marga : Crescentia  
Jenis : *Crescentia cujete L.*  
Nama Umum : Majapahit, mojopahit, moja, maja, berenuk, berunuk (Jawa); tabu kayu (Melayu); bila balanda (Makasar); buah no (Ternate).  
Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-15b-16b-286a-287a: Bignoniaceae-1b-3a: Crescentia-3: *C. cujete*.

2. Morfologi

Habitus: Pohon, tinggi ±10 m. Batang: Berkayu, bulat, percabangan simpodial, beralur, putih kehitaman. Daun: Majemuk, menyirip, lonjong, tepi rata, ujung meruncing, pangkal membulat, panjang 10-15 cm, lebar 5-7 cm, bertangkai pendek, hijau, pertulangan menyirip, hijau. Bunga: Tunggal, di cabang dan ranting, kelopak bentuk corong, ujung bercangap, hijau pucat, benang sari empat, panjang ±2 cm, putih, putik panjang ±2 cm, kepala putik bentuk corong, putih, mahkota bentuk bibir, putih. Buah: Buni, bulat, diameter ±20 cm, hijau kekuningan. Biji: Kotak, panjang ±5 mm, coklat. Akar: Tunggang, putih kotor.

3. Bagian yang digunakan : Daging buah.

4. Penggunaan : Penelitian.

5. Daftar Pustaka

- Van Steenis, CGGJ. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 02 November 2022



Lampiran 3. Dokumentasi Penelitian

1. Tanaman Majapahit (*Crescentia cujete* L.)



Tanaman Majapahit



Buah Majapahit (*Crescentia cujete* L.)

## 2. Pembuatan Ekstrak



Perajangan Daging Buah



Pengeringan Menggunakan Oven



Penimbangan Simplisia Daging Buah Majapahit



Proses Pengecilan Partikel



Proses Pengayakan



Penimbangan Serbuk



Proses Maserasi



Proses Penyaringan



Proses Pemekatan (Evaporasi)



Ekstrak Kental



Fraksinasi



Hasil Filtrat Aquades



Hasil Filtrat N-heksana

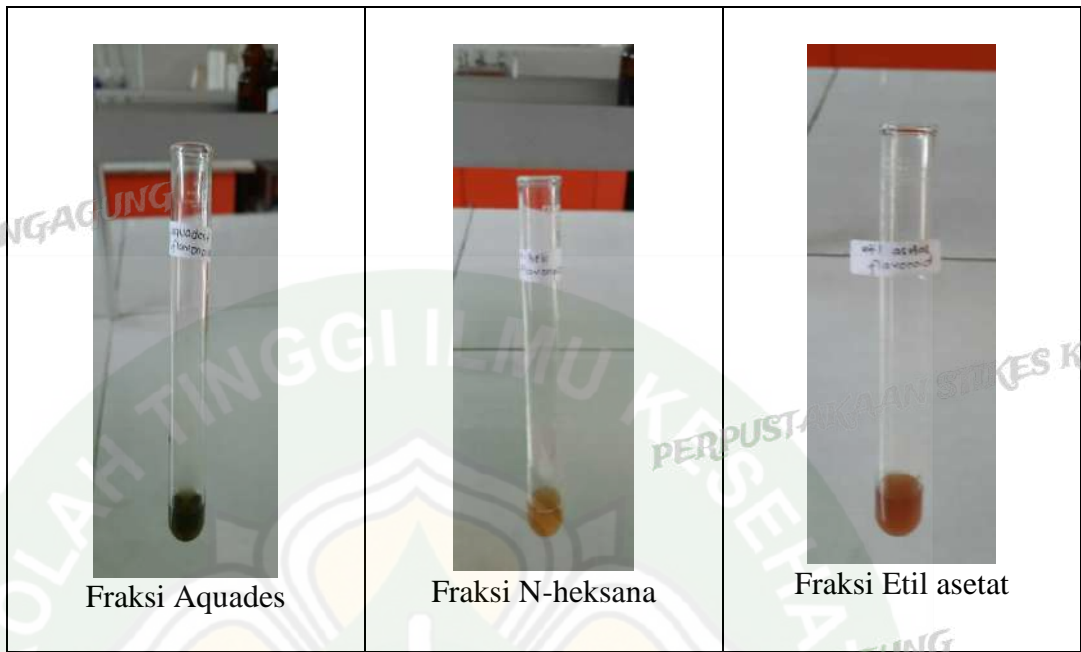


Hasil Filtrat Etil asetat

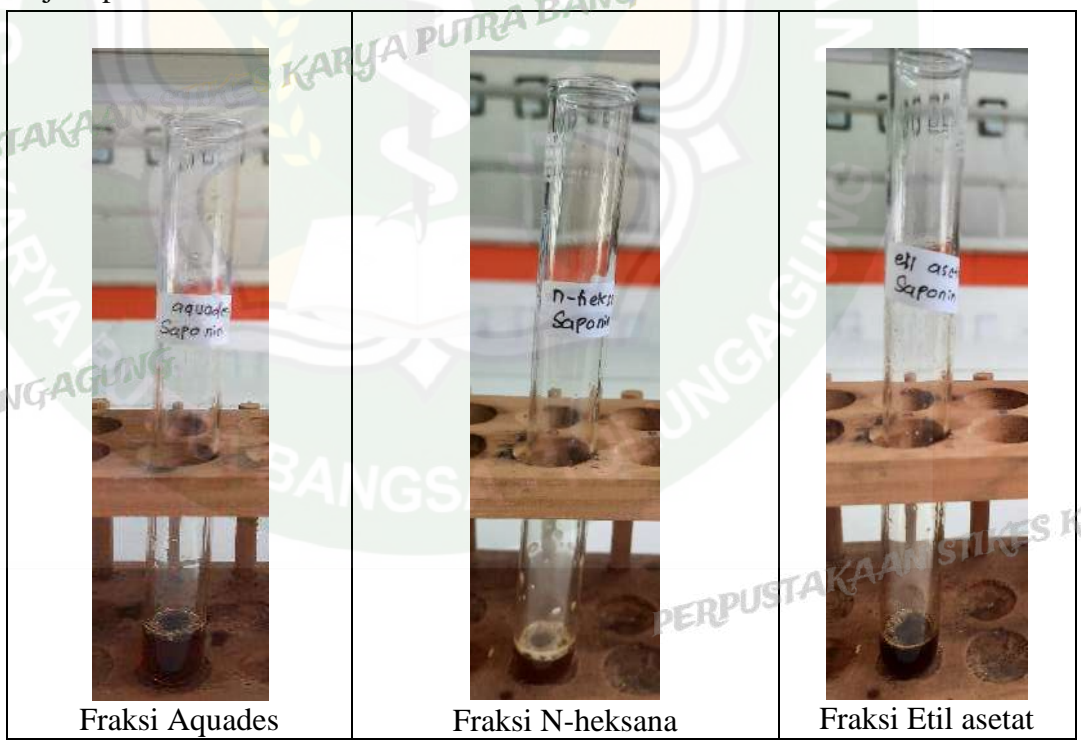


### 3. Skrining Fitokimia

#### a. Uji Flavonoid

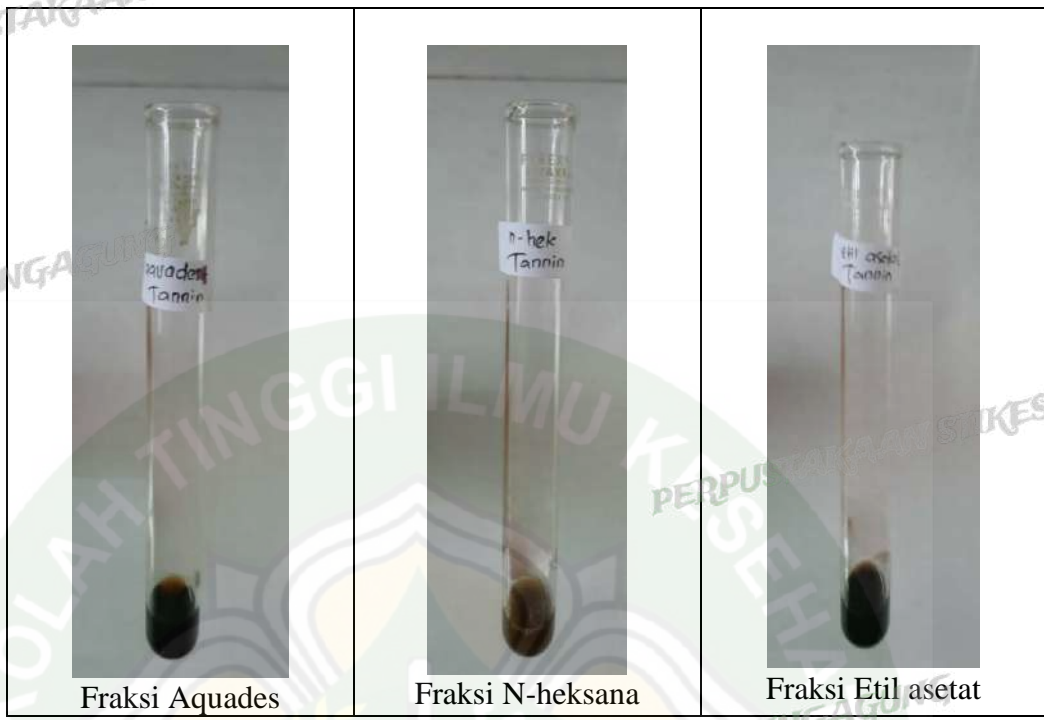


#### b. Uji Saponin

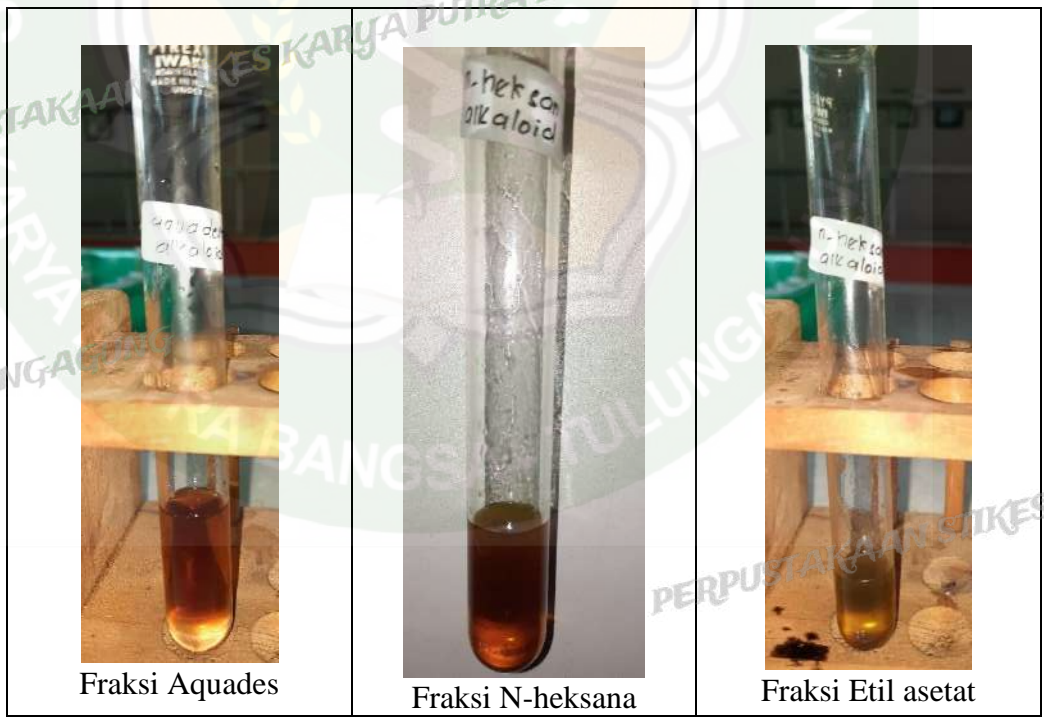




c. Uji Tanin



d. Uji Alkaloid



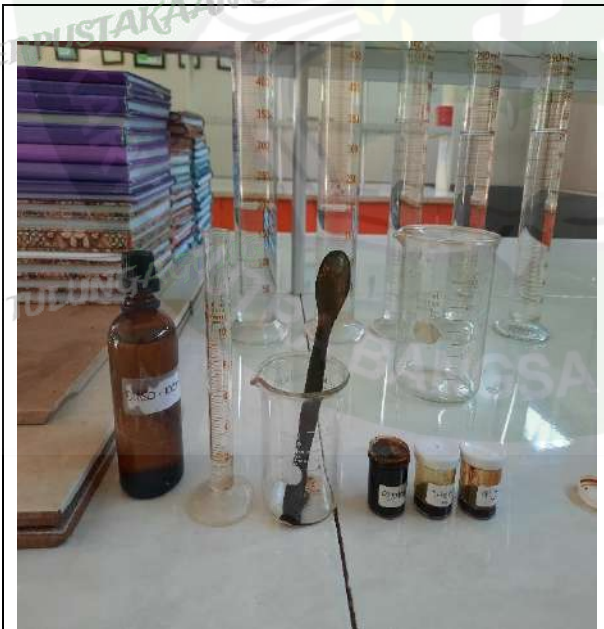
4. Uji bebas Etanol



Uji Bebas Etanol

5. Uji Toksisitas

a. Pembuatan Konsentrasi



Persiapan Pembuatan

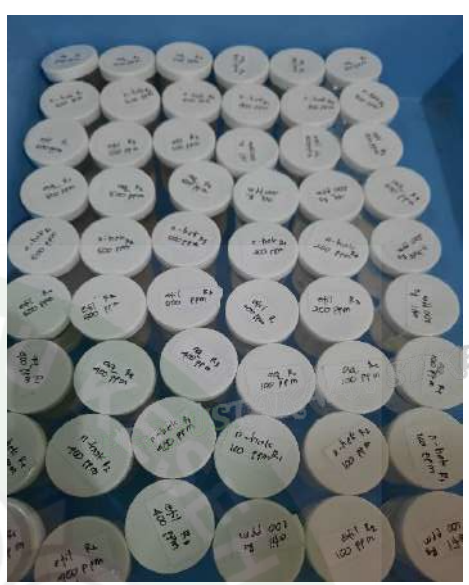


Seri Konsentrasi

b. Penetasan dan Pengujian



Penetasan larva udang



Proses Pengujian

Lampiran 4. Orientasi pembuatan seri konsentrasi fraksi daging buah majapahit (*Crescentia cujete L.*) yang akan diujikan pada larva udang *Artemia Salina* Leach.

Hasil Perhitungan Pembuatan Larutan Induk 1000 ppm dalam 100 ml, membutuhkan 100 mg Ekstrak Kental

$$1000 \text{ ppm} = 1000 \text{ mg/L}$$

$$1000 \text{ ppm} = 100 \text{ mg/100 ml}$$

$$\text{DMSO } 1\% = \frac{1}{100} \times 100 \rightarrow 100 \text{ mg ekstrak} + 1 \text{ ml DMSO diadkan } 100 \text{ ml air}$$

laut buatan

$$= 1 \text{ ml}$$

Pengenceran konsentrasi :

1. 100 ppm

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \cdot V_1 = 100 \text{ ppm} \cdot 10 \text{ ml}$$

$$V_1 = 1 \text{ ml}$$

2. 200 ppm

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \cdot V_1 = 200 \text{ ppm} \cdot 10 \text{ ml}$$

$$V_1 = 2 \text{ ml}$$

3. 300 ppm

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \cdot V_1 = 300 \text{ ppm} \cdot 10 \text{ ml}$$

$$V_1 = 3 \text{ ml}$$

4. 400 ppm

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \cdot V_1 = 400 \text{ ppm} \cdot 10 \text{ ml}$$

$$V_1 = 4 \text{ ml}$$

5. 500 ppm

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \cdot V_1 = 500 \text{ ppm} \cdot 10 \text{ ml}$$

$$V_1 = 5 \text{ ml}$$

6. 600 ppm

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$600 \text{ ppm} \cdot V_1 = 600 \text{ ppm} \cdot 10 \text{ ml}$$

$$V_1 = 6 \text{ ml}$$

7. 700 ppm

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$700 \text{ ppm} \cdot V_1 = 700 \text{ ppm} \cdot 10 \text{ ml}$$

$$V_1 = 7 \text{ ml}$$

8. 800 ppm

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$800 \text{ ppm} \cdot V_1 = 800 \text{ ppm} \cdot 10 \text{ ml}$$

$$V_1 = 8 \text{ ml}$$

9. 900 ppm

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$900 \text{ ppm} \cdot V_1 = 900 \text{ ppm} \cdot 10 \text{ ml}$$

$$V_1 = 9 \text{ ml}$$

10. 1000 ppm

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \cdot V_1 = 1000 \text{ ppm} \cdot 10 \text{ ml}$$

$$V_1 = 10 \text{ ml}$$