

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

SKRIPSI



Oleh:

DIVA NURANZA

1913206013

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
STIKES KARYA PUTRA BANGSA
TULUNGAGUNG**

2023

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

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi
(S.Farm) Program Studi S1 Farmasi
STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung



Oleh :

DIVA NURANZA
1913206013

PROGRAM STUDI S1 FARMASI
STIKES KARYA PUTRA BANGSA
TULUNGAGUNG

2023

SKRIPSI

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

Yang diajukan oleh :

DIVA NURANZA
1913206013

Telah disetujui oleh :

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping

Rahma Diyan Martha S.Si, M.Sc

NIDN. 07.10.02.91.01

Apt. Amalia Eka P.M.Farm

NIDN. 07.08.03.91.02

SKRIPSI

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

Oleh :

DIVA NURANZA

1913206013

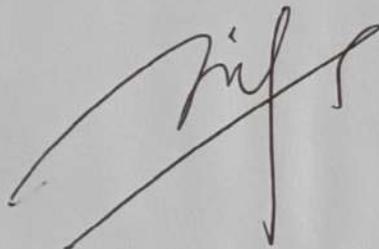
Telah lolos uji etik penelitian dan dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi Program Studi S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa

Tanggal : 01 Oktober 2023

- Anggota Penguji :
- 1. Rahma Diyan Martha, S.Si, M.Sc (.....)
 - 2. apt. Amalia Eka Putri, M.Farm (.....)
 - 3. Afidatul Muadifah, M.Sc (.....)
 - 4. apt. Choirul Huda, M.Farm (.....)

Mengetahui,

Ketua STIKes Karya Putra Bangsa



apt. Arif Santoso., M.Farm

HALAMAN PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan diterbitkan dalam daftar pustaka.

Tulungagung, Oktober 2023

Divya Nuranza

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

DIVA NURANZA

Prodi S1 Farmasi

INTISARI

Penyakit kanker adalah sekelompok penyakit seluler serta genetik. Penggunaan obat herbal merupakan suatu cara yang telah dilakukan oleh masyarakat, yaitu dengan tanaman majapahit (*Crescentia Cujete L.*) yang dapat menghambat pertumbuhan sel kanker. Penelitian ini bertujuan mencari kandungan dan kadar senyawa metabolit sekunder yang mempunyai aktivitas antikanker dalam kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) menggunakan Spektrofotometer UV-Vis, dan kadar toksisitas akut (LC_{50}) terhadap larva udang *Artemia Salina Leach* menggunakan metode BSLT. Penelitian ini dilakukan secara eksperimental dengan memperoleh fraksi kulit buah majapahit melalui maserasi menggunakan etanol 96%, diikuti dengan fraksinasi menggunakan tiga jenis pelarut yaitu aquadest (polar), etil asetat (semi polar), n-heksana (non polar), serta dilakukan uji kualitatif dan uji kuantitatif. Toksisitas fraksi kulit buah majapahit diuji dengan konsentrasi 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm, 500 ppm, 600 ppm, 700 ppm, 800 ppm, 900 ppm, 1000 ppm terhadap larva udang selama 24 jam, dan nilai LC_{50} dihitung dengan analisis probit. Hasil uji menunjukkan jika 3 fraksi kulit buah majapahit menghasilkan konsentrasi tertinggi pada fraksi etil asetat yaitu flavonoid (4,461%), tanin (2,286%), saponin (1,841%), dan alkaloid (0,874%). Nilai LC_{50} pada pengujian toksisitas akut pada fraksi aquadest 723,935 ppm, fraksi etil asetat 561,047, dan fraksi n-heksana 567,413 ppm. Dari hasil LC_{50} dapat disimpulkan jika fraksi kulit buah majapahit mempunyai toksik terhadap larva udang dan berpotensi sebagai agen antikanker dengan nilai $LC_{50} < 1000$ ppm.

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

**Toxicity Test of Aquadest, Ethyl Acetate and N-Hexane Fractions
of Majapahit Fruit Peel (*Crescentia Cujete L.*) Against *Artemia
Salina Leach* using the BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)**

DIVA NURANZA

Prodi S1 Farmasi

ABSTRACT

*Cancer is a group of cellular and genetic diseases. The use of herbal medicine is a method that has been used by the community, the majapahit plant (*Crescentia Cujete L.*) which can inhibit the growth of cancer cells. This research aims to find the content and levels of secondary metabolite compounds that have anticancer activity in the skin of Majapahit fruit (*Crescentia Cujete L.*) using a UV-Vis Spectrophotometer, and the acute toxicity level (LC50) on *Artemia Salina Leach* shrimp larvae using the BSLT method. experimentally by obtaining the majapahit fruit peel fraction through maceration using 96% ethanol, followed by fractionation using three types of solvents, namely distilled water (polar), ethyl acetate (semi-polar), n-hexane (non-polar), and qualitative and quantitative tests were carried out . The toxicity of the majapahit fruit peel fraction was tested with concentrations of 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm, 500 ppm, 600 ppm, 700 ppm, 800 ppm, 900 ppm, 1000 ppm against shrimp larvae for 24 hours, and the LC50 value was calculated by analysis probit. The test results showed that the 3 fractions of majapahit fruit peel produced the highest concentrations of the ethyl acetate fraction, namely flavonoids (4.461%), tannins (2.286%), saponins (1.841%), and alkaloids (0.874%). The LC50 value in the acute toxicity test for the distilled water fraction was 723,935 ppm, the ethyl acetate fraction 561,047ppm, and the n-hexane fraction 567,413 ppm. From the LC50 results, it can be concluded that the majapahit rind fraction is toxic to shrimp larvae and has the potential to be an anticancer agent with an LC50 value of <1000 ppm.*

Keywords: Majapahit Fruit Peel, Anticancer, LC50, BSLT Method

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, Etil Asetat, Dan N-Heksana Kulit Buah Majapahit (*Crescentia Cujete L.*) Terhadap *Artemia Salina Leach* dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) ", dengan baik meski masih terdapat 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). Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah memberikan dukungan, semangat dan doa sehingga skripsi 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 kan 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 saya yang telah memberikan do'a, dukungan dan semangat selama penyusunan skripsi.
6. Suami saya yang telah memberikan dukungan dan semangat selama penyusunan skripsi.

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, Oktober 2023

Penulis

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
BAB I.....	1
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Batasan Masalah	3
1.5 Relevansi Penelitian.....	3
BAB II.....	5
TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tanaman Majapahit (<i>Crescentia Cujete L.</i>).....	5
2.2 Penyakit Kanker.....	8
2.3 Uraian Metode Ekstraksi	10
2.4 Uraian Pelarut	14
2.5 Metode Identifikasi Senyawa	15
2.6 Uraian Tentang Artemia Salina Leach.....	17
2.7 Uraian Metode BSLT Terhadap Pengujian Antikanker	19
2.8 Uraian Toksisitas Terhadap <i>Artemia Salina Leach</i> dengan Metode BSLT.....	20
BAB III.	22
METODE PENELITIAN.....	22
3.1 Alat Dan Bahan.....	22
3.2 Populasi Penelitian.....	22
3.3 Sampel Penelitian	22
3.4 Variabel Penelitian.....	22
3.5 Metode Penyarian	23
3.6 Pemeriksaan Karakteristik Simplisia.....	24

3.7 Pembuatan Ekstrak Kulit Buah Majapahit.....	25
3.8 Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak Kulit Buah Majapahit.....	26
3.9 Fraksinasi Kulit Buah Majapahit.....	26
3.10 Uji Kualitatif.....	29
3.11 Uji Kadar Senyawa Ekstrak Kulit Buah Majapahit Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis.....	30
3.12 Skrining Potensi Anti kanker dengan Metode BSLT.....	32
BAB IV.....	36
HASIL DAN PEMBAHASAN.....	36
4.1 Determinasi Tanaman.....	36
4.2 Pembuatan Simplisia.....	36
4.3 Pemeriksaan Karakteristik Simplisia.....	37
4.4 Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak Kulit Buah Majapahit.....	38
4.5 Metode Fraksinasi.....	40
4.6 Uji Kualitatif.....	42
4.7 Uji Kadar Senyawa Fraksi Kulit Buah Majapahit.....	46
4.8 Skrining Potensi Anti kanker dengan Metode BSLT.....	47
BAB V.....	58
PENUTUP.....	58
5.1 Kesimpulan.....	58
5.2 Saran.....	58
DAFTAR PUSTAKA.....	59

DAFTAR GAMBAR

Gambar

2.1 Potensi Farmakologis Tanaman Majapahit (<i>Crescentia Cujete L</i>)	5
2.2 Buah Majapahit (<i>Crescentia Cujete L</i>)	6
2.3 Bagian Tanaman Majapahit (<i>Crescentia Cujete L</i>).....	7
2.4 Perkolasi	11
2.5 Sokletasi	12
2.6 Struktur Kimia Flavonol	15
2.7 Struktur Triterpenoid.....	17
2.8 Struktur Kimia Catechin	17
2.9 <i>Artemia Salina Leach</i>	18
2.10 Tabel Probit.....	21
3.1 Kerangka Penelitian.....	35
4.1 Hasil Pengamatan Uji Bebas Etanol.....	39
4.2 Hasil Pengamatan Skrining Fitokimis Fraksi Aquadest.....	43
4.3 Hasil Pengamatan Skrining Fitokimia Fraksi Etil Asetat.....	43
4.4 Hasil Pengamatan Skrining Fitokimia Fraksi N-Heksana.....	44
4.5 Grafik Probit Fraksi Aquadest.....	51
4.6 Grafik Probit Fraksi Etil Asetat.....	53
4.7 Grafik Probit Fraksi N-Heksana.....	55

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Nilai LC ₅₀	20
Tabel 3.1 Pembagian Kelompok Perlakuan.....	33
Tabel 3.2 Model Tabel Data Probit Analisis.....	34
Tabel 4.1 Hasil Uji Susut Pengeringan Simplisia Kulit Buah Majapahit.....	37
Tabel 4.2 Hasil Uji Kadar Air Simplisia Kulit Buah Majapahit.....	38
Tabel 4.3 Hasil Uji Bebas Etanol Ekstrak Kulit Buah Majapahit.....	38
Tabel 4.4 Rendemen Ekstrak Kulit Buah Majapahit.....	40
Tabel 4.5 Hasil Skrining Fitokimia.....	43
Tabel 4.6 Hasil Kadar Total Senyawa pada Ekstrak Kulit Buah Majapahit.....	46
Tabel 4.7 Hasil Pengamatan Kematian Larva Udang Fraksi Aquadest.....	49
Tabel 4.8 Data Pengamatan Kematian Larva Udang dengan Analisa Probit Fraksi Aquadest.....	50
Tabel 4.9 Hasil Pengamatan Kematian Larva Udang Fraksi Etil Asetat.....	52
Tabel 4.10 Data Pengamatan Kematian Larva Udang dengan Analisa Probit Fraksi Etil Asetat.....	52
Tabel 4.11 Hasil Pengamatan Kematian Larva Udang Fraksi N-Heksana.....	54
Tabel 4.12 Data Pengamatan Kematian Larva Udang dengan Analisa Probit Fraksi N-Heksana.....	54
Tabel 4.13 Nilai LC ₅₀ Fraksi Ekstrak Kulit Buah Majapahit.....	55

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Jadwal Penelitian.....	64
Lampiran 2 Hasil Determinasi Tanaman Majapahit.....	65
Lampiran 3 Dokumentasi Penelitian.....	66
Lampiran 4 Orientasi Pembuatan Seri Konsentrasi Fraksi Kulit Buah Majapahit yang Diujikan pada Larva Udang.....	76



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penggunaan obat herbal merupakan suatu cara yang telah dilakukan oleh masyarakat dan terbukti bahwa tanaman dapat menjadi ramuan tradisional yang berkhasiat menyembuhkan penyakit (Haryoto dkk.,2014). Salah satu tanaman yang memiliki manfaat yang sangat banyak bagi penduduk adalah majapahit (*Crescentia Cujete L.*). Tanaman ini memiliki senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, saponin, tanin, flavonoid yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Hasanah dkk.,2017). Beberapa senyawa metabolit sekunder antara lain saponin, flavonoid, tanin, dan fenolat mempunyai aktivitas yang berguna menghambat pertumbuhan sel kanker (Fatimah dkk.,2022).

Penyakit kanker adalah sekelompok penyakit seluler serta genetik yang diawali dari satu sel yang memiliki DNA yang akan bermutasi sebagai komponen dasar dari gen tersebut. Sel yang telah mengalami kerusakan genetik tidak lagi dapat mengikuti mekanisme pengaturan siklus sel normal sehingga dapat mengakibatkan terjadinya proses proliferasi yang tidak terkendali. Mutasi yang terjadi pada materi genetik berupa DNA pada gen yang mengatur siklus sel (pertumbuhan, kematian serta pemeliharaan sel) dapat mengakibatkan ketidakteraturan siklus sel sehingga menyebabkan terbentuknya kanker atau karsinogenesis (Parwata,2014).

Senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada suatu tanaman, merupakan senyawa aktif yang mempunyai potensi sebagai obat. Cara yang digunakan untuk mengambil senyawa metabolit sekunder pada suatu tanaman dapat dilakukan dengan ekstraksi. Terdapat beberapa metode ekstraksi yang bisa dilakukan, salah satunya dengan metode maserasi. Metode maserasi merupakan metode ekstraksi yang dilakukan dengan cara merendam simplisia nabati menggunakan pelarut tertentu selama waktu tertentu dengan sesekali dilakukan pengadukan atau penggojogan (Marjoni,2016). Menurut (Marjoni,2016), metode maserasi memiliki kelebihan yaitu peralatan yang digunakan sederhana, teknik pengerjaan relatif sederhana dan mudah dilakukan, biaya operasional relatif

rendah. Selain maserasi, dilakukan juga fraksinasi, fraksinasi adalah metode pemisahan ekstrak berdasarkan kepolaran (Akhsanita,2012). Fraksinasi ini menggunakan dua pelarut yang tidak tercampur dan memiliki tingkat kepolaran yang berbeda (Arkhsanita,2012). Tujuan dari fraksinasi adalah untuk memisahkan senyawa berdasarkan kepolarannya, sehingga jumlah dan jenisnya menjadi fraksi berbeda (Bona dkk.,2015). Kelebihan dari metode fraksinasi yaitu menggunakan pelarut lebih sedikit dan waktu fraksinasi yang relatif cepat. Prinsip dari metode ini adalah menarik senyawa pada suatu ekstrak menggunakan dua pelarut yang tidak bercampur (Mutiasari,2012).

Terdapat kandungan metabolit sekunder pada tanaman yang mempunyai efek racun, efek racun ini berkaitan dengan efek anti kanker. Untuk melihat adanya potensi anti kanker pada tanaman, maka diperlukan uji awal. Metode awal dapat dilakukan untuk melihat aktivitas efek anti kanker tersebut, yaitu dengan uji sitotoksik dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). Prinsip metode BSLT ini yaitu uji toksisitas akut terhadap larva udang dengan penentuan nilai LC_{50} dengan perlakuan 24 jam (Fatimah dkk.,2022). Cara tersebut telah populer yang digunakan dalam menemukan kandungan senyawa efek anti kanker terbaru dari tanaman, dan cara tersebut juga telah dibuktikan oleh beberapa penelitian memang memiliki aktivitas anti kanker. Untuk parameter pada uji sitotoksik yaitu menggunakan nilai LC_{50} . Pada nilai tersebut dapat diketahui bahwa dari konsentrasi sampel yang digunakan dapat menyebabkan kematian sebanyak 50% hewan yang di uji dengan rentang waktu tertentu. Apabila nilai LC_{50} menunjukkan hasil yang besar maka, senyawa pada sampel juga semakin toksik.

Berdasarkan latar belakang tersebut, peneliti merasa perlu adanya identifikasi senyawa pada kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) dengan fraksi etanol dan untuk mengetahui potensi toksisitas dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*).

1.2 Rumusan Masalah

1.2.1 Berapakah hasil konsentrasi metabolit sekunder yang terkandung pada fraksi ekstrak kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) menggunakan Spektrofotometer UV-Vis ?

1.2.2 Berapakah nilai LC_{50} dari ketiga fraksi ekstrak kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) dengan metode BSLT ?

1.2.3 Berapakah hasil paling optimal dari ketiga fraksi ekstrak kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) yang mempunyai efek toksik atau sangat toksik terhadap larva udang *Artemia Salina Leach.* ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Mengetahui konsentrasi metabolit sekunder yang terkandung pada fraksi ekstrak kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

1.3.2 Mengetahui nilai LC_{50} dari ketiga fraksi ekstrak kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) dengan metode BSLT

1.3.3 Mengetahui hasil paling optimal dari ketiga fraksi ekstrak kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) yang mempunyai efek toksik atau sangat toksik terhadap larva udang *Artemia Salina Leach.*

1.4 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1.4.1 Bagian tanaman (*Crescentia Cujete L.*) yang digunakan adalah bagian kulit buah yang didapat dari daerah Wates, Sumbergempol, Tulungagung.

1.4.2 Pelarut yang digunakan adalah etanol 96%.

1.4.3 Menganalisis metabolit sekunder menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

1.4.4 Metode yang digunakan untuk mengidentifikasi senyawa dari kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) adalah Fraksinasi.

1.5 Relevansi Penelitian

Penelitian ini memiliki relevansi dengan penelitian sebelumnya yaitu :

1.5.1 Penelitian pertama yang memiliki relevansi adalah “*Analisis Toksisitas Dan Potensi Antikanker Ekstrak Metanol Daun Majapahit (Crescentia Cujete) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test*” oleh Fatimah dkk., 2022 yang menunjukkan bahwa hasil analisis fitokimia ekstrak metanol daun Majapahit mengandung senyawa alkaloid, tanin, saponin, fenolat, dan terpenoid. Uji toksisitas ekstrak metanol daun majapahit memiliki nilai $LC_{50} < 1000$ ppm, hal ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun majapahit diketahui berpotensi dikembangkan untuk sumber antikanker.

Persamaan penelitian diatas dengan peneliti ini ialah memiliki kesamaan obyek yaitu daun Majapahit (*Crecentia Cujete L.*) dan metode uji toksisitas. Sehingga hasil dari penelitian diatas setidaknya mampu dijadikan referensi bagi peneliti dalam memperoleh data.

1.5.2 Penelitian kedua yang memiliki relevansi adalah “*Deteksi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol Kulit Batang Tanaman Majapahit (Crescentia kujete) dengan LCMS*” oleh Fatimah dkk.,2022 yang menunjukkan hasil identifikasi menggunakan LCMS diketahui bahwa senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol kulit batang tanaman majapahit sebanyak 88 senyawa. Persamaan penelitian diatas dengan peneliti ini ialah memiliki kesamaan metode identifikasi senyawa yaitu LC-MS. Sehingga hasil dari penelitian diatas setidaknya mampu dijadikan referensi bagi peneliti dalam memperoleh data.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Majapahit (*Crescentia Cujete L.*)

2.1.1 Uraian Umum Tanaman Majapahit

Tanaman majapahit (*Crescentia Cujete L.*) adalah tanaman asli salah satu di negara Amerika tengah, Kamerun, dan beberapa negara di Afrika (Mahbub dkk, dalam Kusuma dkk.,2014). Majapahit adalah sejenis tanaman diploid yang berukuran kecil ataupun sedang, berasal dari famili Biognoniaceae (Balogun & Sabiu,2021).Tanaman majapahit (*Crescentia Cujete L.*) mempunyai nama daerah yang berbeda - beda yang ada di tiap wilayah, antara lain Berenuk (Jawa Tengah), Majapahit (Jawa Timur), Bila Balanda (Makasar), Buah No (Ternate) (Atmodjo,2019). Tanaman majapahit memiliki kandungan senyawa aktif yang dapat dimanfaatkan untuk pengobatan. Di negara Bangladesh seluruh bagian yang ada pada tanaman majapahit digunakan untuk pengobatan pada penyakit salah satunya adalah kanker, pneumonia atau penyakit pada paru-paru, serta akibat gigitan ular (Rahmatullah dkk., dalam Balogun & Sabiu,2021).

S/N	Part used	Extract type	Type of assay	Concentrations tested	Pharmacological activity	Country of study
5	Leaves, bark and fruits	Ethanol (100, 50%), aqueous	<i>In vitro</i> (DPPH)	31.25, 62.5, 125, 250, 500 µg/mL	Leaves (particularly 100% ethanol) and bark established good antioxidant activities (IC ₅₀ within the tested concentrations)	Malaysia
			<i>In vitro</i> (BSLT and ASLA)	1.953, 3.907, 7.813, 15.625, 31.25, 62.50, 125, 250, 500, 1000 µg/mL	All parts (leaves > bark > fruits) of the plant extracted with three types of solvents are bioactive and cytotoxic (exhibited LC ₅₀ lower than 1000)	

Gambar 2.1 Potensi Farmakologis Tanaman Majapahit (*Crescentia Cujete L.*) (Balogun & Sabiu,2021)

2.1.2 Klasifikasi Tanaman Majapahit

Menurut (Honculada & Mabasa,2016) klasifikasi tanaman majapahit (*Crescentia Cujete L.*) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
 Division : Tracheophyta
 Class : Magnoliopsida

Superorder	: Asteranae
Order	: Lamiales
Famili	: Biognoniaceae
Genus	: <i>Crescentia L</i>
Species	: <i>Crescentia Cujete L</i>

2.1.3 Morfologi Tanaman Majapahit

Pada tanaman majapahit (Gambar 2.2) mempunyai kisaran tinggi antara 6-10 meter, batang berkayu, bulat, kulit kayunya beralur. Mempunyai daun majemuk, mempunyai tulang daun menyirip, tipis, lonjong, tetapi tepian rata. Mempunyai ujung pada daun meruncing serta pangkal daun berbentuk bulat. Panjang pada daun berkisar antara 10-15 cm, lebar 5-7 cm dan berwarna hijau. (Kusuma dkk.,2014).



Gambar 2.2 Buah Majapahit (*Crescentia Cujete L.*) (Alejandro,2022).

Tanaman majapahit mempunyai bunga tunggal yang terdapat pada bagian cabang maupun ranting, (Gambar 2.3) pada kelopak bunga memiliki bentuk seperti corong pada ujung bercangap serta memiliki warna hijau pucat maupun putih, pada bagian benang sari sebanyak 4 dengan panjang antara 2 cm serta mempunyai putik yang mirip corong berwarna putih, dan mempunyai mahkota bunga mirip bibir serta mempunyai warna putih (Kusuma dkk.,2014). Pada buah tanaman majapahit memiliki bentuk bulat, apabila ketika umur berkisar muda buah berwarna hijau, serta berwarna coklat apabila buah sudah menua. Pada proses pematangan buah majapahit tersebut membutuhkan kisaran antara 6-7

bulan sampai menua serta buah jatuh ke tanah. Buah majapahit mempunyai diameter antara 12-14 cm (Kusuma dkk,2014).

Pohon majapahit bisa tumbuh hingga 20 meter dengan tajuk yang tumbuh menjulang ke atas dan kayunya sangat keras. Perbanyakannya bisa secara generatif (biji) maupun vegetatif (cangkok) (Rismaji,2013). Batang berkayu (lignosus), berbentuk silindris, batang melintir satu sama lain, berwarna coklat, kotor permukaan kaar (Rismayani,2013).



Gambar 2.3 Bagian Tanaman Majapahit (*Crescentia Cujete L.*) (A-K) A.Ranting; B. Daun; C. Permukaan punggung kelopak; D. Permukaan kelopak; E. Bunga; F. Irisan melintang bunga; G. Benang sari besar; H. Benang sari kecil; I. Putik; J. Buah; K. Irisan melintang buah. (Madhukar dkk.,2013).

2.1.4 Kandungan Kimia Pada Tanaman Majapahit

Pada kandungan senyawa kimia aktif yang terdapat dalam tanaman majapahit (*Crescentia Cujete L.*) Buah majapahit mempunyai bau yang menyengat dan rasa pahit sehingga disebut tanaman majapahit (Nadia,2014). Pada beberapa peneliti, buah majapahit teridentifikasi memiliki kandungan seperti flavonoid (flavons dan flafonon), fenol, hidrogen sianida,saponin, tanin, alkaloid, serta cardenolides (Ejelnu dkk, dalam Balogun & Sabiu,2021), terpenoid, fitosterol, asam kresentik, asam tartarat, sitrat dan asam tanat. Terdapat juga komponen lain yaitu minyak atsiri seperti metil ester, asam N-heksadekanoat, asam benzena propanoat, fenol, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-4-hydroxy-, dan 2,4-

bis(1,1-dimethylethyl). Pada daun majapahit (*Crescentia Cujete L.*) memiliki komponen polifenol, flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, glikosida, gula pereduksi, fitosterol, serta minyak atsiri (Balogun & Sabiu,2021). Sedangkan, pada penelitian (Das dkk.,2014) pada kulit batang dan daun tanaman majapahit (*Crescentia Cujete L.*) memiliki komponen glikosida, flavonoid serta terpenoid.

2.2 Penyakit Kanker

2.2.1 Definisi Kanker

Kanker adalah penyakit salah satu penyebabnya dikarenakan terdapat pertumbuhan sel tidak terkontrol sehingga sel tersebut bermutasi secara terus menerus serta mempunyai kemampuan bermetastasis (Muray dalam Rachmawati,2020). Menurut *National Cancer Institute*, kanker adalah akibat laju dari pertumbuhan sel-sel yang tumbuh secara tidak wajar serta berlebihan sehingga sudah dianggap tidak normal, selain itu dapat menyerang bagian tubuh yang letaknya pada sisi yang berlawanan dan dapat menjalar hingga organ lainnya (Siegel dkk,2015). Berdasarkan data dari *American Cancer Society*, kanker menjadi penyebab kematian kedua dan diprediksi beberapa tahun kedepan akan melampaui penyakit jantung sebagai penyebab kematian utama saat ini (Kurniasari dkk., 2017).

2.2.2 Faktor Pemicu Terjadinya Kanker

Terdapat faktor yang menjadi penyebab munculnya kanker seperti, konsumsi makanan secara berlebihan sehingga menyebabkan IMT menjadi berlebihan juga, asupan buah dan sayur yang kurang, sering konsumsi makanan cepat saji, olahraga yang kurang atau jarang, konsumsi minuman beralkohol serta kebiasaan merokok (Ditasari & Arinda,2022). Selain itu, kanker terjadi karena adanya perubahan pada genetik dan epigenetik yang dapat merubah ekspresi gen yang berperan sebagai regulator dalam proses fundamental tubuh seperti pertumbuhan, kelangsungan hidup, dan penuaan (Robbins dkk.,2013). Kanker atau tumor ganas disebabkan oleh neoplasia, displasia, dan hiperplasia dimana ini merupakan kondisi sel yang terdapat pada jaringan berproliferasi secara tidak normal dan invasif, displasia yaitu kondisi sel yang tidak berkembang normal dengan indikasi adanya perubahan pada nukleus (inti sel), sedangkan hiperplasia

merupakan kondisi sel normal pada jaringan yang mengalami pertumbuhan berlebihan (Ariani,2015).

2.2.3 Tahapan Terbentuknya Kanker

Terbentuknya kanker terjadi pada kisaran waktu bisa sampai puluhan tahun. Proses terbentuknya kanker oleh (Widiyastuti dkk, 2019) melewati beberapa tahapan yaitu :

1. Inisiasi, merupakan proses inisiasi dari senyawa karsinogenik yang ada di sel serta adanya suatu agen promotor.
2. Promosi, pada tahap ini terjadi pembentukan masa tumor baik intraseluler maupun ekstraseluler.
3. Progesi, proses ini adalah tahap selanjutnya dari proses promosi, jika terjadinya perubahan genetik berlangsung terus-menerus sehingga, pertumbuhan sel tidak terkontrol.

2.2.4 Proses Mutasi Gen

Mutasi adalah perubahan yang terjadi pada bahan genetika (DNA maupun RNA), baik pada taraf urutan gen (disebut mutasi titik) maupun pada taraf kromosom. Mutasi pada tingkat kromosomal biasanya disebut aberasi. Mutasi pada gen dapat mengarah pada munculnya sebuah alel baru (Warmadewi,2017).

Mutasi gen, bisa disebabkan karena adanya agen kimia serta fisika yang dikenal dengan karsinogen. Mutasi gen dibedakan menjadi tiga, yaitu (Morihito dkk.,2017):

1. Mutasi gen delesi, pada tahap ini timbul pengurangan basa nitrogen.
2. Mutasi gen adisi, pada tahap ini timbul penyisipan basa nitrogen.
3. Mutasi gen substitusi, pada tahap ini timbul pergantian basa nitrogen. Mutasi gen substitusi dibagi menjadi dua yaitu transisi dan tranversi. Transisi adalah tahapan pengalihan adenin pada guanin atau timin dengan sitosin. Sementara pada tahap tranversi adalah proses pengalihan adenin dan guanin dengan sitosin dan timin maupun sebaliknya.

2.2.5 Proses Metastasis

Kanker selalu berhubungan erat dengan metastasis dan invasi. Metastasis adalah aktivitas sel yang dapat memisahkan diri dari tumor primer atau tahap awal, setelah itu bersirkulasi melewati suatu jaringan, sehingga terbentuklah tumor

sekunder atau lanjutan dari tumor primer. Pada suatu sel dapat bermetastasis jika mempunyai aktivitas memisahkan diri, bersirkulasi, dan menginvasi (Febriani & Furqon,2018). Terdapat 2 tahap metastasis, yaitu:

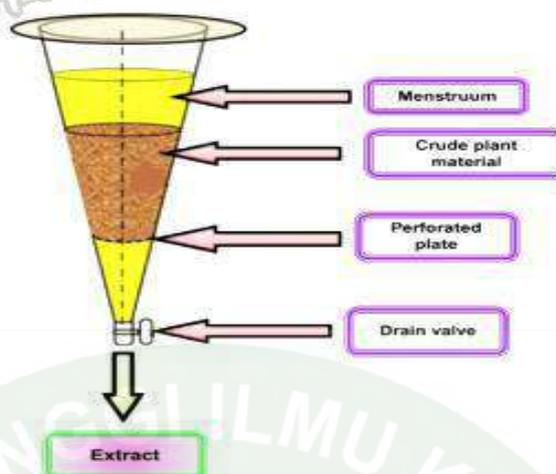
1. Hipotesis anatomical (hemodinamik) dijelaskan bahwa penyebaran sel tumor pada sistem limfatik atau vaskuler serta menetap di bagian kapiler maupun nodus limfatik yang merupakan tahap awal yang dilalui sehingga menjadi tempat berkembangnya tumor (Febriani & Furqon,2018).
2. Hipotesis *seed and soil* menjelaskan jika tumor (*seed*) hanya tumbuh di suatu organ spesifik atau organ tertentu (*soil*) (Febriani & Furqon,2018).

2.3 Uraian Metode Ekstraksi

2.3.1 Definisi Metode Ekstraksi

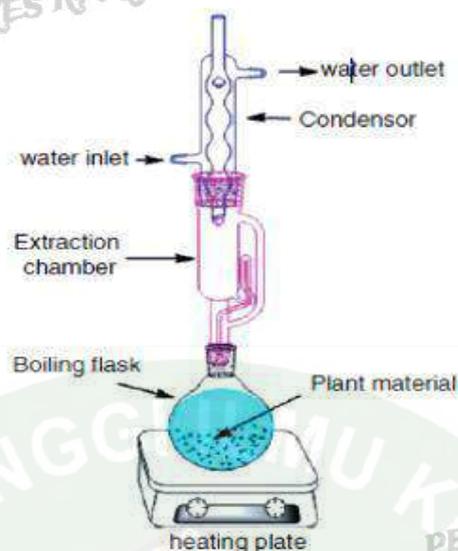
Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Dengan berkembangnya ilmu pengetahuan dan teknologi, teknik ekstraksi yang dipakai untuk mengisolasi senyawa fenolat dari simplisia nabati dan hewani, dibedakan berdasarkan metode konvensional dan non konvensional. Metode ekstraksi konvensional yaitu dengan menggunakan pelarut yang lebih banyak dan dilakukan dengan cara manual sehingga teknik kurang konsisten (Alara dkk,2021). Teknik ekstraksi konvensional antara lain :

1. Maserasi, pada proses penyarian yang dilakukan secara sederhana, dimana simplisia serbuk direndam pada pelarut yang spesifik, lalu disimpan di wadah gelap dan dilanjutkan proses agitasi yang konstan dengan suhu kamar (Olejar., dkk dalam Alara dkk.,2021). Pada maserasi, terjadi proses keseimbangan konsentrasi antara larutan dari luar dan dalam sel sehingga diperlukan penggantian pelarut secara berulang (Hanani,2016).
2. Perkolasi (Gambar 2.4), adalah jenis metode penyarian yang nyaris mirip dengan metode maserasi. simplisia serbuk ditaruh pada suatu wadah tertutup kemudian dialiri oleh pelarut. Pada perkolasi tidak membutuhkan teknik filtrasi, dikarenakan perkolator sudah terdapat filter dimana hanya pelarut yang mengandung senyawa fenolat dari ekstrak yang dapat melaluinya (Alara dkk,2021).



Gambar 2.4 Perkolasi (Alara dkk.,2021)

3. Digesti, adalah pengembangan dari metode maserasi tetapi dilakukan dengan tahap pemanasan, dan dilakukan secara konstan dengan diaduk. Menyesuaikan suhu supaya tidak merusak fenolat yang terdapat pada simplisia, dilakukan dengan suhu 40°C - 50°C . Cara ini cocok dilakukan untuk mengisolasi senyawa polifenol (Alara dkk.,2021).
4. Refluks, adalah proses ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengukangan proses pada residu pertama sampai 3-6 kali. Cara ini memungkinkan terjadinya penguraian senyawa yang tidak tahan panas (Hanani,2016).
5. Soxhletasi (Gambar 2.5), tahap ekstraksi pada sampel serbuk diletakkan di dalam timbel yang sudah dihubungkan pada kondensor beserta labu alas bulat. Pelarut yang sudah ditempatkan di dalam labu, dipanaskan sampai menguap. Uap yang dihasilkan selanjutnya terkondensasi menjadi molekul air dari pendingin balik, molekul air yang dihasilkan tersebut menetes kemudian menyari senyawa aktif dari serbuk simplisia. Jika uap cairan penyari telah mencapai sifon tube, seluruh cairan turun menuju labu alas bulat melewati pipa kapiler sifon. Ekstraksi dihentikan jika cairan yang terletak pada sifon tidak menghasilkan warna. Keuntungan dari metode ini yaitu memerlukan waktu yang cukup singkat dan tidak memerlukan volume pelarut yang banyak (Alara dkk.,2021).



Gambar 2.5 Soxhletasi (Alara dkk.,2021)

Teknik ekstraksi non-konvensional sebagai berikut :

1. *Microwave-Assisted Extraction* (MAE), adalah jenis ekstraksi yang memakai radiasi gelombang mikro sehingga pelarut yang dihasilkan cepat, efektif dan efisien. Panas yang didapatkan akan memanaskan dan menguapkan pelarut yang akan menyebabkan tekanan di dinding sel naik dan mengakibatkan sel membengkak (*swelling*), tekanan yang dihasilkan mendorong dinding sel dari dalam, meregangkan, dan memecahkan sel tersebut. Sel yang telah rusak akan memudahkan senyawa target sehingga dapat keluar dan terekstraksi (Alara dkk., 2021)
2. *Ultrasound-Assisted Extraction* (UAE), adalah metode ekstraksi pada gelombang ultrasonik yang mempunyai sifat *non-destructive* serta *non-invasive* yang mampu mempertahankan stabilnya ekstrak. Cara ini mempunyai prinsip kerja kavitasi dengan maksud merusak dinding sel simplisia dengan begitu senyawa kimia dari simplisia dapat lepas dan keluar dari sel. Keuntungan dengan cara ini yaitu peralatan yang digunakan sederhana, ekonomis daripada metode yang lain, waktu yang diperlukan singkat, dan senyawa aktif yang dihasilkan dapat lebih tinggi dari simplisia yang digunakan (Alara dkk.,2021).
3. *Pressurized Liquid Extraction* (PLE), adalah metode ekstraksi cair bertekanan atau "*Accel-erated Solvent Extraction* (ASE)". Cara ini melibatkan suhu dan tekanan yang tinggi supaya proses ekstraksi berlangsung cepat. Keuntungan

metode ini yaitu memerlukan waktu yang sedikit sehingga ekstraksi berlangsung cepat, senyawa bioaktif yang ada pada ekstrak lebih banyak, dan menghasilkan ekstrak yang banyak (Alara dkk.,2021).

4. *Enzyme-Assisted Extraction* (EAE), adalah metode ekstraksi terbaru dimana menggunakan enzim dengan tujuan untuk merusak dinding sel suatu simplisia maka dari itu kandungan dalam sitoplasma simplisia terdifusi kedalam pelarut. Senyawa fenolat suatu simplisia yang dilindungi oleh dinding sel yang tersusun atas lignin melewati ikatan hidrofobik atau hidrogen. Lignin mampu terhidrolisis dengan adanya beberapa komponen yaitu selulosa, hemiselulosa, dan pektinase (Alara dkk.,2021)

2.3.2 Maserasi

Maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi yang dilakukan dengan cara merendam simplisia nabati menggunakan pelarut tertentu selama waktu tertentu dengan sesekali dilakukan pengadukan atau penggojogan (Marjoni,2016).

Prinsip kerja dari maserasi adalah proses melarutnya zat aktif berdasarkan sifat kelarutannya dalam suatu pelarut (*like dissolve like*). Ekstraksi zat aktif dilakukan dengan cara merendam simplisia nabati dalam pelarut yang sesuai selama beberapa hari pada suhu kamar dan terlindung dari cahaya. Proses ini terjadi berulang-ulang sampai didapat suatu kesetimbangan konsentrasi larutan antara di dalam sel dengan konsentrasi larutan di luar sel (Marjoni,2016).

Pilihan utama untuk pelarut pada maserasi adalah etanol, karena memiliki keunggulan sebagai pelarut diantaranya menurut (Marjoni,2016) yaitu etanol bersifat lebih selektif, dapat menghambat pertumbuhan kapang dan kuman, bersifat non toksik (tidak beracun), etanol bersifat netral, memiliki daya absorpsi yang baik, dapat bercampur dengan air pada berbagai perbandingan.

2.3.3 Fraksinasi

Fraksinasi adalah cara pemisahan senyawa dengan tingkat kepolaranyang berbeda agar didapatkan pemurnian senyawa. Prinsip dari metode ini adalah menarik senyawa pada suatu ekstrak menggunakan dua pelarut yang tidak bercampur (Mutiasari,2012). Pelarut yang digunakan untuk proses fraksinasi adalah etil asetat dan metanol. Etil asetat merupakan pelarut semi polar sehingga

dapat menarik senyawa kurang polar (Rollando,2019), metanol merupakan jenis pelarut polar dengan begitu dapat menarik senyawa polar.

2.4 Uraian Pelarut

Pada proses ekstraksi, pelarut dapat mempengaruhi simplisia sehingga senyawa kimia yang terdapat pada simplisia terjadi penarikan secara optimal (Agustina dkk,2018). Dalam pemilihan pelarut dapat mempertimbangkan beberapa hal yaitu menurut (Guenther dalam Susanti dkk.,2012) :

1. Titik didih,sebaiknya pelarut yang akan digunakan harus mempunyai titik didih rendah, agar ketika proses penguapan pelarut dapat menguap secara menyeluruh pada suhu rendah serta tidak tertinggal pada ekstrak..
2. Selektivitas, diharapkan pelarut yang digunakan mampu melarutkan semua zat aktif yang terkandung dalam simplisia secara sempurna serta menyeluruh.
3. Biaya operasional lebih rendah
4. Toksisitas, pelarut tidak boleh mengandung toksik.
5. Pelarut tidak mudah terbakar.
6. Inert, pelarut harus bersifat inert supaya tidak ada reaksi antara pelarut yang digunakan dengan senyawa yang terdapat pada ekstrak.

Menurut penelitian (Guenther dalam Susanti dkk.,2012) pelarut yang digunakan untuk ekstraksi yaitu:

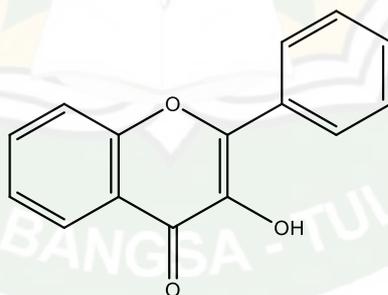
1. Etanol, adalah pelarut dipakai karena mempunyai tingkat kelarutan tinggi, inert, serta mempunyai titik didih rendah sehingga memudahkan proses penguapan.
2. Metanol, adalah pelarut yang digunakan dalam isolasi senyawa dari bahan alam.
3. Etil asetat, adalah pelarut semi polar yang mempunyai titik didih rendah (70⁰C)
4. N-heksan
5. Isopropanol
6. Aseton
7. Aquadest

2.5 Metode Identifikasi Senyawa

2.5.1 Identifikasi Flavonoid

Flavonoid adalah senyawa metabolit sekunder yang berada di tanaman yang memiliki struktur kimia ($C_6-C_3-C_6$), flavonoid tersusun dari reaksi biosintesis yang terjadi di jaringan yang ada pada tumbuhan. Flavonoid bersifat polar. Flavonoid mempunyai sifat bioaktif seperti antikanker, antioksidan, antiinflamasi, antivirus, antimutagenik, antitrombolitik, antibakteri, dan vasodilator (Luna dkk.,2020). Flavonoid diklasifikasikan menjadi beberapa golongan, beberapa golongan yang paling terkenal adalah :

1. Flavonon, proses hidroksilasi flavonon terjadi dalam bentuk tunggal maupun kombinasi dengan glikosida pada daun, buah, dan bunga.
2. Isoflavon, biasa ditemukan pada tanaman kacang-kacangan, 3-phenylchromen-4-1 merupakan struktur dasar dari isoflavon yang terbentuk selama reaksi biosintesis.
3. Flavon, memiliki struktur kimia 2-phenyl-1-benzopyran-4-1, biasanya ditemukan dalam madu dan anggur.
4. Flavonol (Gambar 2.6), merupakan golongan flavonoid yang memiliki struktur dasar 3-hydroxyflavone, yang biasanya ditemukan diberbagai buah dan sayur.



Gambar 2.6 Struktur Kimia Flavonol
(ChemDraw, 2022)

Terdapat teori terkait mekanisme flavonoid menjadi agen antikanker yaitu, flavonoid sebagai antioksidan melalui jalur pengaktifan apoptosis sel kanker yang diakibatkan karena fragmentasi DNA. Proses awal dari fragmentasi DNA yaitu pelapasan rantai proksimal DNA dari senyawa oksigen reaktif. Flavonoid mempunyai aktivitas untuk menghambat proliferasi sel kanker, caranya yaitu

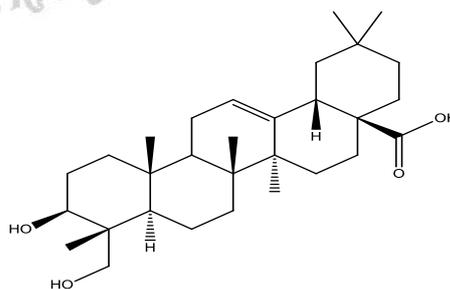
menginhibisi aktivitas protein kinase sehingga transduksi sinyal dari membran ke inti dihambat (Muaja dkk.,2013). Uji flavonoid dilakukan dengan cara, menambahkan etanol pada ekstrak serta beberapa tetes FeCl_3 hingga berubahnya warna. Reaksi positif flavonoid terjadi apabila perubahan warna menjadi ungu, biru, hijau, merah maupun hitam. Tetapi jika saat menambahkan FeCl_3 sampai 20 tetes tidak terjadi perubahan warna maka, ekstrak dipastikan tidak mengandung flavonoid (Kumalasari & Andiarna,2020).

2.5.2 Identifikasi Alkaloid

Alkaloid adalah kelompok senyawa kimia alami. Alkaloid mempunyai bioaktivitas antara lain, antitumor, antivirus, antiemetik, antikolinergik antiinflamasi, dan antihipertensi (Adejoke dkk.,2019). Pengujian pada alkaloid dapat menggunakan pereaksi meyer dan dragendroff . Pada penggunaan pereaksi meyer (*mercuri potassium iodide*) menghasilkan reaksi positif apabila ditandai adanya endapan kuning. Untuk pengujian dragendroff (larutan *potassium bismuth iodide*), menghasilkan reaksi positif jika terbentuk endapan jingga (Fachriyah dkk.,2018).

2.5.2 Identifikasi Saponin

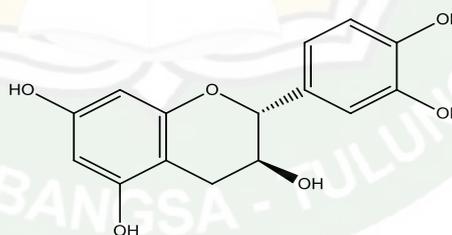
Saponin adalah senyawa glikosida yang terdapat pada tanaman tingkat tinggi serta beberapa hewan laut. Saponin adalah kelompok senyawa yang mempunyai beragam sifat fisikokimia dan struktur kimia (Patra & Saxena dalam Yunartono dkk.,2017). Uji yang dilakukan untuk mengidentifikasi saponin dengan uji pereaksi warna, dengan ditamhkannya kloroform pada ekstrak selanjutnya dipanaskan, dan ditambah pereaksi LB. Adanya cincin coklat atau violet hal ini berarti terdapat kandungan saponin triterpen (Gambar 2.7), sedangkan apabila perubahan warna menjadi biru atau hijau menunjukkan positif saponin (Rizkita dkk.,2021).



Gambar 2.7 Struktur Triterpenoid
(ChemDraw, 2022)

2.5.3 Identifikasi Tanin

Tanin adalah senyawa fenol yang mempunyai berat molekul besar, yang terdiri dari gugus hidroksil dan karboksil. Senyawa tanin mempunyai aktivitas antikanker yang menghambat aktivitas protein kinase, mengakibatkan transduksi sinyal dari membran ke inti sel menjadi terhambat. Selain itu tanin digunakan untuk mengurangi resistensi sel tumor karena kemoterapi (Marwati dkk.,2020). Pengujian pada senyawa tanin dilakukan pada uji reaksi warna dengan penambahan FeCl_3 10% menghasilkan perubahan warna biru tua atau hijau kehitaman, menghasilkan positif tanin (Sulistyarini dkk.,2019). Cara lain untuk mengidentifikasi tanin dengan uji gelatin, dengan menambahkan 1% larutan gelatin dan 10% natrium klorida pada ekstrak. Apabila terbentuk endapan putih berarti menunjukkan adanya tanin (Sulistyarini dkk.,2019).



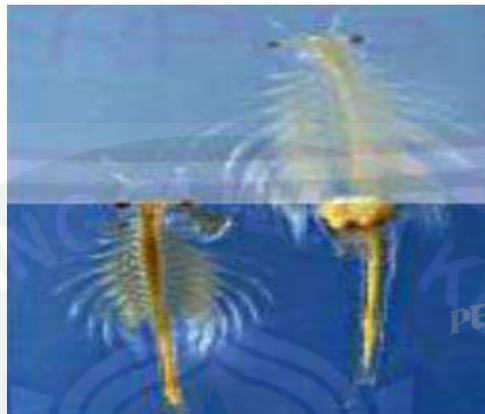
Gambar 2.8 Struktur Kimia Catechin
(ChemDraw, 2022)

2.6 Uraian Tentang *Artemia Salina* Leach

2.6.1 Definisi (*Artemia Salina* Leach)

Artemia Salina Leach (Gambar 2.9) adalah microcrustasean laut dimanfaatkan untuk mengetahui senyawa bioaktif pada ekstrak tumbuhan dan potensi toksisitasnya (Arcanjo dkk.,2012). *Artemia Salina* Leach merupakan salah

satu komponen penyusun ekosistem laut yang keberadaannya sangat penting untuk perputaran energi dalam rantai makanan, selain itu *Artemia Salina Leach* juga dapat digunakan dalam uji laboratorium untuk mendeteksi toksisitas suatu senyawa dari ekstrak tumbuhan (Hikmah,2018).



Gambar 2.9 *Artemia Salina Leach* (Millati,2016)

2.6.2 Klasifikasi (*Artemia Salina Leach*)

Klasifikasi *Artemia Salina Leach* berdasarkan (Linnaeus dalam Hamidi dkk.,2014) :

Kingdom : Animalia
 Phylum : Arthropoda
 Subphylum : Crustacea
 Class : Branchiopoda
 Order : Anostraca
 Family : Artemiidae
 Genus : Artemia
 Spesies : *Artemia salina L*

2.6.3 Faktor Yang Mempengaruhi Penetasan Telur (*Artemia Salina Leach*)

Ada beberapa kriteria yang harus diterapkan dalam proses penetasan telur *Artemia Salina Leach* antara lain (Hamidi dkk.,2014):

1. Lingkungan eksperimen, larva udang *Artemia Salina Leach* ditetaskan dalam suatu wadah yang cukup luas, agar dapat digunakan untuk menaruh suplai udara untuk menunjang penetasan larva. Suplai udara saat proses penetasan sangat penting, karena air laut buatan setidaknya harus jenuh (90%) dengan O₂

agar proses penetasan sempurna. Wadah penetasan sebelumnya diisi dengan air laut buatan sebagai media hidup larva udang (Hamidi dkk.,2014). Nilai pH air laut buatan sangat penting dalam proses penetasan larva, pH optimal untuk penetasan larva berkisar antara pH 5-8, bila perlu pH diatur dengan penambahan NaOH atau Na_2CO_3 untuk menghindari kematian larva akibat penurunan pH selama proses penetasan. Suhu juga berpengaruh dalam proses penetasan larva udang, menurut penelitian (Sorge Loos dkk., dalam Hamidi dkk.,2014) pada usia 30 jam dengan suhu 20°C - 30°C larva udang yang menetas sebanyak 50%. Selain itu, stimulasi cahaya juga mempengaruhi proses penetasan larva udang, dimana telur yang mendapat stimulasi cahaya lebih cepat menetas dari pada telur yang tidak mendapat stimulasi cahaya (Hamidi dkk.,2014).

2. Asal wilayah geografis telur *Artemia Salina Leach* harus sama.
3. Usia *Artemia Salina Leach* harus sama pada tiap perlakuan uji.
4. Kelompok kontrol uji dan negatif, merupakan hal terpenting dalam pengujian yang memaparkan korelasi antara hasil dan kesesuaian prosedur uji.

2.7 Uraian Metode BSLT Terhadap Pengujian Antikanker

Salah satu teknik yang digunakan untuk uji toksisitas adalah *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) (Mayang dan Santoso,2020). Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) adalah uji pendahuluan pada senyawa yang berguna melihat adanya suatu senyawa toksik, dengan menentukan nilai LC_{50} dari suatu senyawa aktif (Jelita dkk.,2020). Menurut (Jelita dkk.,2020) metode BSLT juga memiliki tingkat kepercayaan hingga 95%. Prinsip dari uji toksisitas menggunakan metode BSLT yaitu dengan mengamati juga menghitung persentase kematian larva udang *Artemia Salina Leach* dalam waktu 24 jam (Kumala dan Safitri dalam Mayang dan Santoso,2020). Larva udang mempunyai karakteristik kulit yang sangat tipis, juga mempunyai daya peka terhadap lingkungannya, larva akan mati jika terkontaminasi oleh zat toksik, dengan alasan ini yang menyebabkan larva udang *Artemia Salina Leach* telah digunakan di uji toksisitas (Jelita dkk.,2020). Metode BSLT mempunyai keuntungan jika diterapkan pada pengujian toksisitas senyawa antara lain, pada rentang waktu perlakuan cepat (24 jam), biaya operasional yang rendah, proses pengujian mudah dilakukan dan tidak

memerlukan teknik khusus, memerlukan sampel sedikit, dan efek toksik dapat diketahui dari kematian larva udang (Jelita dkk.,2020).

2.8 Uraian Toksisitas Terhadap (*Artemia Salina Leach*) Dengan Metode BSLT

Prinsip uji toksisitas adalah yaitu senyawa bioaktif dipastikan konsisten bersifat toksik jika diberikan dengan dosis yang tinggi, dan akan berefek farmakologis yang baik jika pada dosis rendah (Makiyah dan Tresnayanti,2017). Uji toksisitas dapat dibedakan yaitu, uji toksisitas akut, uji toksisitas sub-akut, serta uji toksisitas kronis (Singh dan Zahra, 2017). Toksisitas akut merupakan toksisitas jangka pendek pada zat toksik, berkisar kurang dari 24 jam. Toksisitas sub-akut adalah toksisitas berulang dari senyawa yang bersifat toksik pada suatu organisme dengan kisaran waktu kurang dari 1 bulan. Untuk uji toksisitas kronis adalah toksisitas berulang dari senyawa yang bersifat toksik dengan kisaran waktu lebih dari 3 bulan (Singh dan Zahra, 2017). Toksisitas berhubungan erat dengan *Lethal Concentration 50* (LC₅₀). LC₅₀ (Tabel 2.1) adalah adanya konsentrasi yang terdapat pada sampel yang menjadi penyebab kematian 50% terhadap hewan uji pada waktu tertentu (Boyd dalam Mayang dan Santoso,2020). Nilai LC₅₀ memberikan informasi mengenai tingkat toksisitas pada senyawa. Jika pada nilai LC₅₀ < 1000 mg/L, dapat diketahui bahwa senyawa di duga mempunyai efek toksik (Nguta dalam Mayang dan Santoso,2020). Perhitungan LC₅₀, menggunakan analisis probit konsentrasi (Gambar 2.10). Didapat dari nilai log probit presentase kematian hewan uji dan uji konsentrasi yang dihitung dengan persamaan linier $y=mx+b$ (Singh dan Zahra,2017).

Tabel 2.1 Nilai LC₅₀ (Sumihe dkk,2014)

Nilai LC ₅₀	Tingkat Ketoksikan
LC ₅₀ > 1.000 mg/L	Tidak toksik
LC ₅₀ ≤ 1.000 mg/L	Toksik
LC ₅₀ ≤ 30 mg/L	Sangat toksik

Gambar 2.10 Tabel 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

2.9 Hipotesis

2.9.1 Hasil konsentrasi metabolit sekunder dengan Spektrofotometer UV-Vis.

2.9.2 Hasil nilai LC₅₀ dengan metode BSLT (dapat dilihat pada tabel probit).

2.9.3 Hasil paling optimal dari ketiga fraksi terhadap larva udang *Artemia Salina* Leach.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Alat dan Bahan

3.1.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi, seperangkat alat maserasi, seperangkat alat fraksinasi, *rotary evaporator* PC 620 select, termometer (GEA), neraca analitik, timbangan digital, alat-alat gelas (PYREX), kain saring, lampu pijar (PHILIPS), aquarium, aerator (ARMADA), kaca pembesar, flacon.

3.1.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi, kulit buah tanaman majapahit (*Crescentia Cujete L.*), aquadest, ammonia, etanol, FeCl_3 (MERCK), kloroform, asam sulfat, pereaksi meyer, pereaksi dragondroff, pereaksi LB, telur *Artemia Salina Leach* (SUPREME PLUS), garam laut.

3.2 Populasi Penelitian

Populasi pada penelitian ini yaitu kulit buah tanaman majapahit (*Crescentia Cujete L.*) yang berada di STIKes Karya Putra Bangsa, Kecamatan Sumbergempol, Tulungagung.

3.3 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan pada penelitian ini yaitu kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) yang ditandai dengan bentuk daun utuh dan mempunyai warna hijau segar pada saat dipetik untuk bagian kulit yang diambil, di STIKes Karya Putra Bangsa, Kecamatan Sumbergempol, Tulungagung.

3.4 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan pada penelitian ini yaitu variabel bebas, variabel kontrol, dan variabel terikat. Variabel penelitian adalah 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 (Soleha,2015).

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas merupakan variabel yang dapat menjadi penyebab atau mempengaruhi perubahannya (Sugiyono, 2013). Variabel bebas pada penelitian ini adalah kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) dan variasi konsentrasi ekstrak kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) adalah meliputi 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm, 500 ppm, 600 ppm, 700 ppm, 800 ppm, 900 ppm, 1000 ppm, yang akan dilakukan pengujian toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

3.4.2 Variabel Kontrol

Variabel kontrol adalah faktor yang dipengaruhi satu atau lebih variabel lain (Nasution, 2017). Variabel kontrol pada penelitian ini adalah larva *Artemia Salina Leach* yang sudah berumur 24 jam, pH air laut buatan yang digunakan dalam rentang 5-8, kadar air laut buatan yang digunakan adalah 5 per mil, suhu pada proses penetasan telur *Artemia Salina Leach* pada suhu berkisar 20⁰C, wadah yang digunakan pada metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

3.4.3 Variabel Terikat

Variabel terikat adalah variabel yang menjadi akibat atau yang dipengaruhi karena terdapat variabel bebas (Sugiyono, 2013). Variabel terikat dalam penelitian ini yaitu senyawa yang terkandung pada ekstrak kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) dan nilai LC₅₀ yang nantinya didapat.

3.5 Metode Penyarian

3.5.1 Determinasi Tanaman

Sampel kulit buah tanaman majapahit (*Crescentia Cujete L.*) dideterminasi di UPT Materia Medika di Batu Malang, Jawa Timur. Tujuan determinasi tanaman yaitu guna mendapatkan identitas yang benar dari tanaman yang akan dilakukan penelitian, dan untuk menghindari dari kesalahan pada saat pengumpulan bahan awal (Diniatik, 2015).

3.5.2 Pembuatan Simplisia

Tahap pertama pembuatan simplisia yaitu :

3.5.2.1 Sortasi Basah

Sortasi basah bertujuan untuk memisahkan kotoran atau benda asing serta bagian tanaman lain yang tidak diinginkan dari bahan simplisia (B2P2TOOT,2015).

3.5.2.2 Pencucian

Pencucian dilakukan yang berguna menghilangkan kotoran atau benda asing lain yang melekat pada simplisia (B2P2TOOT,2015).

3.5.2.3 Perajangan

Proses ini bertujuan untuk memperbaiki penampilan fisik dan memenuhi standar kualitas serta meningkatkan kepraktisan dan ketahanan dalam penyimpanan. Semakin tipis ukuran hasil rajangan, maka akan semakin cepat proses penguapan air sehingga waktu pengeringannya menjadi lebih cepat (B2P2TOOT,2015).

3.5.2.4 Pengeringan

Pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air agar bahan simplisia tidak rusak dan dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama (B2P2TOOT,2015).

3.5.2.5 Sortasi Kering

Sortasi kering bertujuan untuk memisahkan bahan – bahan asing dan simplisia yang belum kering benar (B2P2TOOT,2015).

3.6 Pemeriksaan Karakteristik Simplisia

3.6.1 Uji Susut Pengeringan Simplisia

Uji susut pengeringan simplisia menggunakan cara dengan penimbangan kulit buah majapahit (*Crescentia Cejute L.*) yang masih hijau segar sebelum proses pengeringan dan setelahnya dengan pengeringan. Saat proses pengeringan dengan oven pada suhu 60°C. Rumus perhitungan uji susut pengeringan adalah :

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

Keterangan : A = bobot basah (g), dan

B = bobot kering (g)

3.6.2 Uji Kadar Air Serbuk Simplisia

Uji kadar air serbuk simplisia dikerjakan dengan menimbang sebesar 10 gram serbuk kering simplisia pada wadah yang sudah ditara dan ditimbang. Serbuk simplisia dikeringkan dengan oven suhu 105°C hingga berat konstan, kemudian menimbang dan mencatat hasil yang didapat (DepKes RI, 2014). Rumus perhitungan uji kadar air adalah :

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{A - B}{A} \times 100\% \text{ (Depkes RI, 2014)}$$

Keterangan : A= berat awal serbuk (gram), dan

B = Berat akhir serbuk (gram)

Kandungan air pada serbuk kering simplisia yang diketahui telah mencapai syarat yaitu jika tidak lebih dari 10%, karena reaksi enzimatis sehingga tidak dapat berlangsung dan mencegah terjadinya penurunan mutu terhadap serbuk simplisia (BPOM RI, 2014).

3.7 Pembuatan Ekstrak Kulit Buah Majapahit (*Crescentia Cujete L.*)

Pembuatan simplisia kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) dilakukan dengan cara membersihkan buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) yang segar dengan mencuci terlebih dahulu, selanjutnya memecah buah majapahit, tujuan dari pemecahan buah yaitu untuk mempermudah mendapatkan kulit buah dari majapahit yang sangat keras dan untuk proses pengeringan, proses pengeringan kulit buah majapahit dilakukan menggunakan panas matahari (Maharani dkk., 2018). Pembuatan maserat dari kulit buah majapahit dengan metode maserasi, sebanyak 500 gram kulit buah majapahit kering yang telah melalui proses pengeringan, kemudian ditumbuk atau di blender untuk mendapatkan serbuk dari kulit buah majapahit lalu ditambahkan 1000 ml etanol 96% sebagai pelarut kedalam botol berwarna gelap dengan daya tampung 1000 ml, setelah itu dilakukan penggojogan berulang. Pembuatan dilakukan sebanyak 2 kali, jumlah bahan sebanyak 1000 gram atau setara 1 kg. Setelah itu dilakukan penyaringan. Maserat berupa serbuk kulit buah majapahit yang masih bercampur dengan etanol 96% kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak kental. Sesudah mendapatkan ekstrak kental, kemudian

melakukan penimbangan ekstrak dan penyimpanan ekstrak. Ekstrak kental yang didapat setelah itu disimpan pada lemari pendingin (Maharani dkk.,2018).

3.8 Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak Kulit Buah Majapahit (*Crescentia Cujete L.*)

3.8.1 Uji Bebas Etanol

Uji bebas etanol memiliki tujuan yaitu memastikan ada atau tidaknya kandungan etanol yang ada pada ekstrak kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) karena jika terkandung pelarut etanol dikhawatirkan dapat membunuh bakteri dan menurunkan aktivitasnya (Kusumowati dkk.,2014).

Pengujian bebas etanol ekstrak dikerjakan yaitu pada ekstrak kental ditambahkan dengan 5 tetes H_2SO_4 pekat yang digunakan agar keadaan asam dengan 2 ml larutan kalium dikromat diawal muncul warna jingga, sehingga kemudian bereaksi etanol yang terkandung dalam larutan tersebut akan berganti warna menjadi hijau kebiruan ini dikarenakan ion dikromat berwarna jingga tereduksi menjadi ion kromium berwarna hijau (Ramadhani dkk.,2020).

3.8.2 Rendemen Ekstrak

Rumus % rendemen (DepKes, 2014) :

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

Rendemen merupakan membuat perbandingan ekstrak yang didapat dengan simplisia pada awal (Toar,2020).Hasil perhitungan rendemen diketahui dengan satuan (%) sehingga jika semakin tinggi nilai rendemen maka, nilai ekstrak yang diperoleh akan semakin banyak pula. Kualitas ekstrak yang diperoleh akan berbanding terbalik terhadap jumlah rendemen yang diperoleh. Semakin tinggi rendemen maka semakin rendah yang dihasilkan (Heri dkk.,2018).

3.9 Fraksinasi Kulit Buah Majapahit (*Crescentia Cujete L.*)

Fraksinasi merupakan cara pemisahan senyawa pada pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda. Fraksinasi pada penelitian ini yang digunakan adalah pelarut n-heksana sebagai pelarut non polar, pelarut etil asetat sebagai pelarut semi polar dan 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 etanol kulit buah majapahit yang sudah didapatkan setelah itu di fraksinasi (caircair). Sejumlah 20 gr ekstrak etanol kulit buah majapahit dilarutkan pada aquadestilata 100 ml sampai larut, setelah itu dituangkan ke dalam corong pisah lalu ditambahkan dengan pelarut n-heksana sejumlah 150 ml kemudian dihomogenkan pada corong pisah sampai terbentuk 2 fase, kemudian ditambahkan secara berulang sampai bening. Setelah itu dilanjutkan menggunakan pelarut etil asetat sejumlah 150 ml kemudian dihomogenkan pada corong pisah sampai terbentuk 2 fase, kemudian ditambahkan secara berulang hingga bening, kemudian menampung fraksi aquadest pada wadah. Hasil fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi aquadest selanjutnya dipekatkan dengan water bath dan diperoleh ekstrak fraksi n-heksana, ekstrak fraksi etil asetat, dan ekstrak fraksi aquadest (Olivia,2021).

3.9.1 Sifat Fisika

3.9.1.1 Flavonoid

Sebagian besar flavonoid berbentuk padatan kristal; tetapi glikosida flavon adalah bubuk amorf. Kebanyakan flavonoid berwarna kuning, hal ini terkait dengan adanya sistem konjugasi silang dalam molekulnya. Selain itu jenis, jumlah dan posisi substitusi kromofor (OH, OCH, dll) juga memiliki pengaruh tertentu pada warnanya. Flavonoid berwarna tersebar luas di jaringan tanaman seperti bunga, buah, daun, dan batang, yang menampilkan berbagai warna mulai dari merah hingga biru bahkan ungu (Yoshida dkk.,2012). Glikosida flavonoid memiliki aktivitas optik, dan sebagian besar bersifat kidal. Hanya flavonoid bebas dengan atom karbon kristal dalam molekulnya yang memiliki aktivitas optik. Flavonoid umumnya bebas larut dalam metanol, etanol, etil asetat, kloroform, eter, dan pelarut organik lainnya serta alkali encer, tetapi tidak larut dalam udara (Zhao dkk.,2019). Titik didih flavonoid adalah $> 90^{\circ}\text{C}$ (Roller, 2003 ; Sari dkk., 2019).

3.9.1.2 Alkaloid

Secara umum memiliki atom N walaupun ada beberapa yang mempunyai lebih dari 1 atom N seperti pada Ergotamin yang mempunyai 5 atom N. Atom N ini dapat berupa amin primer, sekunder maupun tersier yang semuanya memiliki

sifat basa (Mukhriani,2014). Pada alkaloid yang mengalami isolasi berupa padatan kristal tidak larut pada titik lebur yang tertentu atau beberapa senyawa yang kompleks, spesies aromatik berwarna (contoh berberin berwarna kuning dan betanin berwarna merah). Secara umumnya, basa bebas alkaloid dapat larut dalam pelarut organik saja, walaupun beberapa pseudo alkaloid dan proto alkaloid larut dalam air. Garam alkaloid quartener sangat larut dalam air (Anonim,2018). Titik didih alkaloid adalah 138°C (Aniszweki, 2007 ; Sari dkk.,2019).

3.9.1.3 Saponin

Saponin adalah metabolit sekunder yang disebut sejenis glikosida triterpenoid atau steroid aglikon, terdiri atas satu atau lebih gugus gula yang berikatan dengan aglikon atau sapogenin, dapat membentuk kristal berwarna kuning dan amorf, serta berbau menyengat. Rasa dari saponin sangat pahit hingga amat manis. Saponin disebut dengan senyawa nonvolatilem dan mudah larut dalam air (dingin maupun panas) dan alkohol, tetapi menghasilkan bentuk busa koloidal pada air dan mempunyai sifat detergen yang baik (Chapagrain, 2005 ; Puspa dkk.,2023). Saponin adalah senyawa amfifilik. Gugus gula (heksosa) pada saponin mampu larut pada air, namun sulit larut dalam alkohol absolut, kloroform, eter dan pelarut organik non polar lainnya (Lindeboom, 2005 ; Puspa dkk.,2023). Titik didih saponin yaitu $> 90^{\circ}\text{C}$ (Wiryowidagdo, 2008 ; Sari dkk.,2019).

3.9.1.4 Tanin

Secara umum tanin mempunyai berat molekul lebih dan sangat mudah dioksidasi menjadi suatu polimer, beberapa tanin memiliki bentuk amorf dan tidak mempunyai titik leleh. Tanin memiliki warna putih kekuning-kuningan sampai coklat terang, berdasarkan sumber tanin yang didapat. Tanin berupa serbuk atau berlapis-lapis semacam kulit kerang, berbau khas dan mempunyai rasa sepat (astringent). Warna tanin dapat berubah gelap jika terkena cahaya langsung atau dibiarkan di udara terbuka. Tanin mempunyai sifat atau daya bakteriostatik, fungistatik dan dikatakan sebagai racun (Rozanna dkk.,2014). Titik didih tanin adalah $> 98,89^{\circ}\text{C}$; Sari dkk.,2019).

3.10 Uji Kualitatif

3.10.1 Skrinning Fitokimia

3.10.1.1 Flavonoid

Skrinning fitokimia flavonoid pada ekstrak kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) dilakukan dengan menambahkan 10 mg sampel dengan 5 ml etanol dan beberapa tetes $FeCl_3$ hingga adanya perubahan warna. Dengan perubahan warna menjadi biru, ungu, hijau, merah, atau hitam dapat disimpulkan jika adanya kandungan flavonoid (Kumalasari & Andiarna,2020).

3.10.1.2 Alkaloid

Skrinning fitokimia alkaloid pada ekstrak kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) menggunakan sebanyak 2 g sampel ditambah kloroform 10 ml lalu dilarutkan. Menambahkan 5 ml kloroform-amoniak 0,05 M, filtrat yang terbentuk ditambahkan 10-20 tetes asam sulfat 2 N setelah itu dikocok perlahan selama 2-3 menit dan dibiarkan hingga terbentuk 2 lapisan, lapisan atas diambil dan diletakkan pada 2 tabung reaksi kemudian diuji dengan pereaksi Mayer dan Dragendorff. Apabila terdapat endapan putih terhadap pereaksi Mayer dan endapan jingga-merah dengan pereaksi Dragendorff dapat disimpulkan bahwa hasil positif uji alkaloid (Fachriyah dkk.,2018).

3.10.1.3 Saponin

Skrinning fitokimia saponin pada ekstrak kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) , sebanyak 0,5 gram sampel 5 ml aquadest dan dikocok kuat-kuat. Terbentuknya busa/buih pada larutan uji setelah dilakukan uji saponin berarti menghasilkan reaksi positif (Kumalasari & Andiarna,2020). Uji warna pada saponin dilakukan dengan sebanyak 0,5 gram sampel ditambah kloroform 10 ml, dipanaskan selama 5 menit sambil dikocok setelah itu ditambahkan beberapa tetes pereaksi LB. Apabila terbentuk cincin coklat atau violet maka mengandung saponin triterpen, sedangkan jika muncul warna hijau atau biru berarti mengandung saponin (Rizkita dkk.,2021).

3.10.1.4 Tanin

Skrinning fitokimia tanin pada ekstrak kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) dilakukan sebanyak 0,5 gram sampel ditambah 20 ml aquadest dan dipanaskan. Kemudian dilakukan penyaringan filtrat dan tambahkan beberapa

tetes 0,1% FeCl₃ hingga berubah warna. Apabila muncul warna hijau kecoklatan atau warna biru hitam dapat disimpulkan jika uji ini menghasilkan reaksi positif adanya tanin (Sulistyarini dkk.,2019).

3.11 Uji Kadar Senyawa Ekstrak Kulit Buah Majapahit (*Crescentia Cujete L.*) Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Uji kadar senyawa adalah uji selanjutnya pada skринning kimia yang dilakukan dengan tujuan menguji kadar pada ekstrak kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) dengan Spektrofotometer UV-Vis dengan persamaan linier senyawa standar.

3.11.1 Flavonoid

Uji kadar flavonoid dalam ekstrak kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) dengan membuat larutan standar flavonoid kemudian menyiapkan sampel dan penentuan kadar (Rajendra, 2014). Pembuatan larutan standart dengan membuat larutan induk kuersetin 100mg/l, dengan cara 10 mg kuersetin dilarutkan pada aquadest ad 100 ml. Kemudian membuat seri konsentrasi 1 mg/l, 5 mg/l, 10 mg/l, 25 mg/l, dan 50 mg/l. Kemudian penentuan kadar flavonoid caranya 1 ml supernatant lalu didiamkan 5 menit dan ditambah 0,3 ml Al₂Cl₃ 10% diamkan 5 menit lagi, tambah 2 ml NaOH 1 M. Menambahkan aquadest 10 ml lalu diukur absorbansi dengan spektrofotometer uv-vis pada 510 nm dan setelah itu dihitung persamaan linier $y = a + b(x)$.

3.11.2 Alkaloid

Uji kadar senyawa alkaloid pada ekstrak kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) dengan cara membuat larutan standart lanjut preparasi sampel dan penentuan kadar (Rajendra, 2014). Pembuatan larutan standart dengan membuat larutan induk kuinin 100mg/l, caranya 10mg kuinin 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. Setelah itu ambil fase atas digunakan proses selanjutnya. Proses preparasi standart dengan cara 5 ml kuinin tambahkan 1 ml HCl 2N, brom kresol hijau 5ml dan buffer fosfat 5ml lalu aduk ad larut. Kemudian 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).

3.11.3 Saponin

Uji kadar senyawa saponin ekstrak kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) yaitu membuat larutan standar saponin lalu preparasi sampel dan penentuan kadar (Cinelo dkk., 2014). Pembuatan larutan standart dengan 100 mg/l adalah 10 mg saponin dilarutkan dengan etanol 20% sampai 100 ml selanjutnya membuat seri konsentrasi 1 mg/l, 5 mg/l, 10 mg/l, 25 mg/l, dan 50 mg/l. kemudian membuat preparasi sampel dengan 10 gr ekstrak kental ditambah dietil eter 40 ml dimasukkan dalam corong pisah dan dihomogenkan kemudian didiamkan sampai menjadi dua fase. Diambil fase bawah dan tambah 60 ml n-butanol dan 10 ml NaCl 5% lalu disaring dan dimasukkan oven dengan suhu 60°C. penentuan kadar saponin dengan cara 5 ml sampel ditambah 0,5 ml FeCl_3 0,1M dan 0,5 ml $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 0,008 M. Diukur absorbansinya dengan spektrofotometer 645 nm dan dihitung persamaan linier $y = a + b(x)$ (Cinelo dkk., 2014).

3.11.4 Tanin

Uji kadar senyawa tannin dalam ekstrak daging buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) dengan cara pembuatan larutan standart 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 3000rpm. Kemudian selanjutnya penentuan kadar tannin adalah dengan 5 ml sampel ditambah 0,5 ml 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).

3.12 Skrinning Potensi Antikanker Dengan Metode BSLT

3.12.1 Pembuatan Air Laut Buatan

Pembuatan air laut buatan yaitu dengan mencampurkan 1 liter air dan garam ikan tidak beryodium dengan berat 35 gram untuk memperoleh tingkat salinitas 35% sebagai media penetasan telur *Artemia salina Leach* (Aqila dkk.,2017). Air laut buatan yang telah selesai dibuat setelah itu dilakukan maserasi selama 2 jam, bertujuan supaya air laut buatan mempunyai kandungan oksigen yang cukup untuk kelangsungan hidup *Artemia salina Leach*. pH optimal air laut buatan yaitu 5-8 (Suhaimi dkk.,2019).

3.12.2 Penetasan Telur *Artemia Salina Leach*

Pada proses penetasan telur *Artemia Salina Leach* dilakukan yaitu mengisi wadah yang digunakan untuk tempat penetasan, dengan air laut buatan, dilengkapi dengan aerator sebagai penyuplai oksigen. Taburkan telur *Artemia Salina Leach* dan tunggu hingga 24 jam. Suhu optimal pada penetasan telur *Artemia Salina Leach* adalah 20⁰C-30⁰C. Larva *Artemia Salina Leach* berumur 24 jam dan telah aktif bergerak dan siap digunakan sebagai hewan uji (Suhaimi dkk.,2019).

3.12.3 Pembagian Kelompok Perlakuan

Pembagian kelompok perlakuan dengan metode BSLT memakai larva *Artemia salina Leach* dengan jumlah 180 ekor dengan 5 variasi konsentrasi yaitu 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm, 500 ppm, 600 ppm, 700 ppm, 800 ppm, 900 ppm, 1000 ppm. Untuk tiap konsentrasi dari ke 5 variasi konsentrasi tersebut dibuatkan larutan induk sebanyak 10ml yaitu dengan 9 ml ekstrak kental lalu di adkan menjadi 10 ml dengan air laut buatan. Setelah itu dilakukan pengenceran dengan tiap konsentrasi sebelum dimasukkan kedalam kuvet yang telah diisi 10 larva udang yang dipilih secara random. Larva-larva dibagi 5 kelompok uji dan 1 kelompok kontrol positif yaitu perlakuan pemberian ekstrak ke larva udang, sedangkan kelompok kontrol negatif 0 perlakuan (tidak ada perlakuan). Setelah itu direplikasikan sebanyak tiga kali (Tabel 3.1). Setiap kelompok berisi sepuluh larva *Artemia salina Leach*, seperti tabel dibawah ini :

Tabel 3.1 Pembagian Kelompok 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	-	-

3.12.4 Pelaksanaan Uji Toksisitas

Pada uji toksisitas disediakan wadah atau tempat untuk dilakukannya pengujian, untuk masing-masing konsentrasi ekstrak sampel membutuhkan 3 wadah dan 6 wadah tambahan untuk pengulangan pada masing-masing konsentrasi. Selanjutnya pada tiap konsentrasi larutan dimasukkan 10 ekor larva udang *Artemia Salina Leach* yang telah diisi ekstrak sampel yang berbeda dan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Pengamatan dilakukan selama 24 jam terhadap kematian larva *Artemia Salina Leach*. Kriteria standar untuk menilai kematian larva *Artemia Salina Leach* yaitu bila larva *Artemia Salina Leach* tidak menunjukkan pergerakan selama sekitar 10 detik, (Putri dkk,2018).

Dengan mengetahui kematian larva *Artemia salina Leach*, kemudian pengolahan data dilakukan dengan menggunakan metode probit.

Data yang didapatkan kemudian dianalisis dengan menggunakan tabel analisis probit untuk mendapatkan nilai LC_{50} . *Lethal Concentration 50* adalah besarnya konsentrasi yang dapat membunuh hewan percobaan sebanyak 50% dari keseluruhannya. Nilai LC_{50} dapat dihitung dengan persamaan regresi garis lurus tersebut dengan memasukkan nilai (probit 50% kematian hewan uji) sebagai y sehingga dihasilkan x sebagai nilai log konsentrasi. Antilog nilai x tersebut merupakan nilai LC_{50} . Parameter yang ditunjukkan untuk mengetahui adanya aktivitas biologis pada suatu senyawa terhadap hewan uji ialah dengan menghitung jumlah larva yang mati karena pengaruh pemberian senyawa dengan konsentrasi yang telah ditentukan (Agustini,2013). Dibawah ini persamaan garis:

$$Y = Bx \times A$$

Keterangan : Y = nilai probit, dan X = log konsentrasi

Pada keterangan tersebut kemudian dihitung LC₅₀ yaitu memasukkan nilai probit yang dibentuk seperti tabel (Tabel 3.2) dibawah ini :

Tabel 3.2 Model Tabel Data Probit Analisis

Konsentrasi (%)	Ppm	Log(ppm)	Probit	%kematian	Rata-rata kematian	Total
-----------------	-----	----------	--------	-----------	--------------------	-------

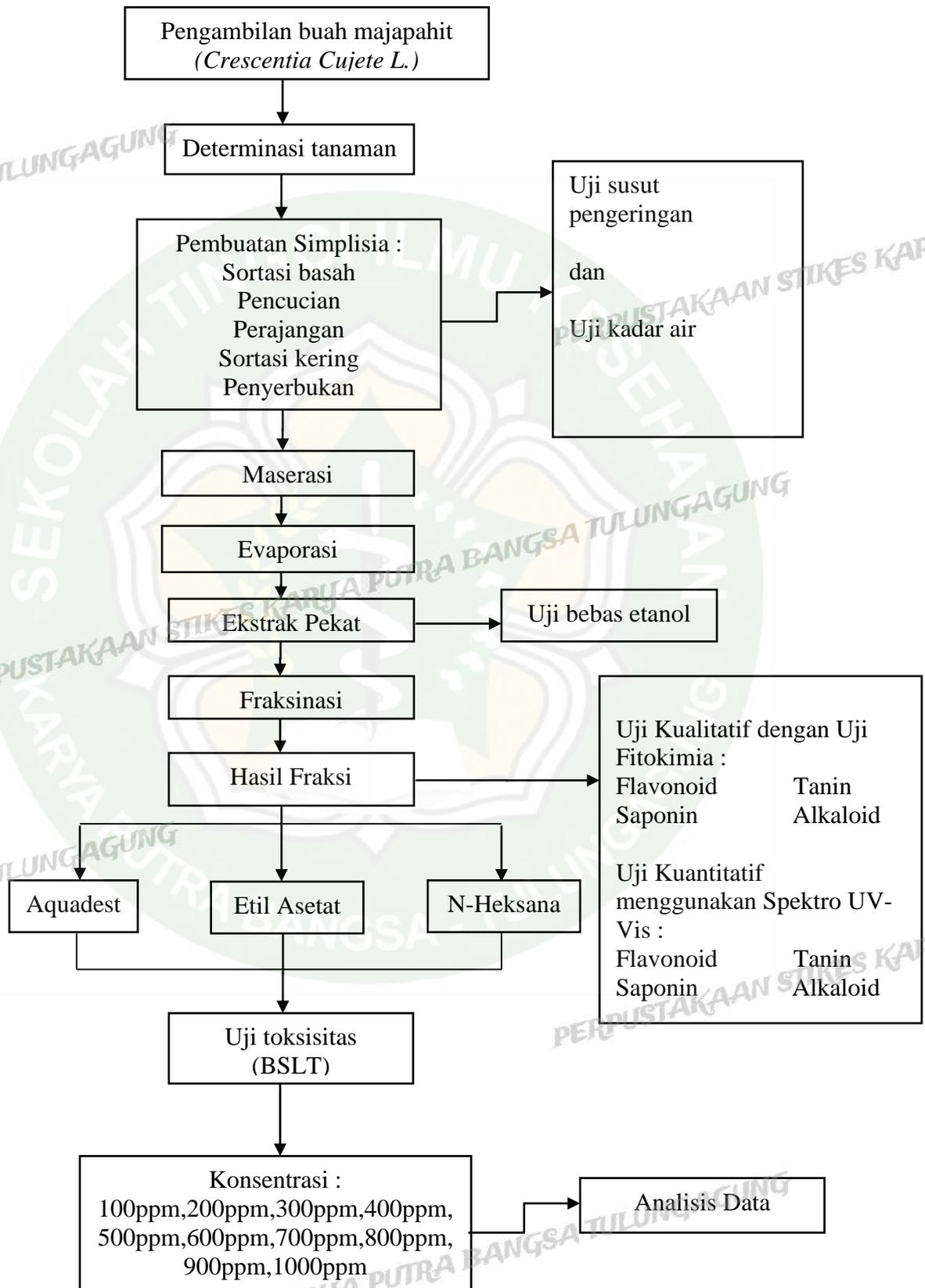
Apabila pada kontrol ada larva yang mati, maka % kematian ditentukan dengan rumus

$$\% \text{ kematian larva} = \frac{T - K}{10} \times 100\%$$

Keterangan : T = Jumlah larva uji yang mati, K = Jumlah larva kontrol yang mati, 10 = Jumlah larva uji.

3.13 Kerangka Penelitian

Gambar 3.1 Kerangka Penelitian



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Determinasi Tanaman

Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini merupakan kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*). Dilakukan determinasi tanaman terlebih dahulu yang bertujuan agar dapat dipastikan kebenaran dari jenis tanaman yang akan digunakan. Determinasi tanaman majapahit dengan kata 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*. Kunci determinasi merupakan cara atau langkah untuk mengenali organisme dan mengelompokkannya pada takson makhluk hidup. Kunci determinasi adalah uraian keterangan tentang ciri – ciri makhluk hidup yang disusun berurut mulai dari ciri umum hingga ke ciri khusus untuk menemukan suatu jenis makhluk hidup. Kunci determinasi yang paling sederhana ialah kunci dikotom. Kunci dikotom berisi keterangan yang disusun berpasangan dan menunjukkan ciri yang berlawanan (Wahono dkk.,2016). Hasil surat determinasi tanaman majapahit terdapat pada lampiran 1.

4.2 Pembuatan Simplisia

Pada pembuatan simplisia kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) dengan mengutip buah majapahit sejumlah 3257 gram yang masih hijau. Tahap pembuatan simplisia kemudian setelahnya dilakukan dengan sortasi basah guna memisahkan benda asing atau kotoran yang menempel. Kemudian dilakukan perajangan yang bertujuan membantu pada saat proses pengeringan agar simplisia cepat kering dengan mengubah ukuran simplisia dengan memotong (Handoyo dkk.,2020). Setelahnya dilakukan dengan pengeringan menggunakan oven dengan suhu 60°C, simplisia yang telah kering, kemudian dilanjutkan dengan sortasi kering. Sortasi kering bertujuan untuk memisahkan benda asing dan memilih simplisia yang telah kering (Wahyuni dkk.,2014). Simplisia kering yang telah menjadi serbuk diayak dengan ayakan ukuran 80 mesh ini dilakukan agar hasil serbuk menjadi lebih seragam (Pranoto dan Handoyo,2019).

4.3 Pemeriksaan Karakteristik Simplisia

4.3.1 Uji Susut Pengeringan Simplisia

Pada uji susut pengeringan dilakukan untuk mengetahui jumlah senyawa yang hilang pada simplisia pada saat proses pengeringan dilakukan (Najib dkk.,2018). Pada tabel 4.1 dapat dilihat bahwa pada berat awal simplisia kulit buah majapahit segar sebanyak 3,257 kg dan mengalami penyusutan dengan berat akhir yang diperoleh 883 gram, hal ini dapat terjadi karena salah satunya dipengaruhi oleh suhu, sehingga didapatkan hasil dari proses pengeringan yaitu susut pengeringan sebesar 2,78% (Kemenkes RI,2013). Hasil dari susut pengeringan dapat dipengaruhi oleh suhu, lamanya proses pengeringan pada kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*), sehingga mengalami penyusutan dari berat awal buah segar 3,257 kg menjadi 883 gram kulit buah kering. (Kemenkes RI,2013).

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

Sampel	Bobot Awal	Bobot Akhir	%Hasil
Kulit Buah Majapahit (<i>Crescentia Cujete</i>)	3,257 kg	883 gram	2,78%

Berdasarkan tabel 4.1 dapat disimpulkan hasil dari uji susut pengeringan simplisia kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) mengalami penyusutan dari berat awal buah segar 3,257 gram menjadi 0,883 gram kulit buah kering sehingga didapat yaitu sebesar 2,78% telah memenuhi standar uji susut pengeringan <10% (Sutomo,2019). Pada pengujian susut pengeringan diperoleh kadar sebesar 2,78%. Tujuan uji susut pengeringan adalah untuk mengetahui gambaran batasan maksimal besarnya senyawa yang hilang selama proses pengeringan. Prinsip kerja pada uji ini adalah pengukuran zat sisa setelah pengeringan pada suhu 105°C selama 30 menit (Anonim,2013).

4.3.2 Uji Kadar Air Simplisia

Uji kadar air sebagai salah satu parameter untuk mengetahui kualitas simplisia dan menentukan suatu residu air setelah proses pengeringan kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*). Uji kadar air pada ekstrak mempunyai syarat

yaitu 5-30% (Voight,1994; Yuri dkk.,2017). Simplisia akan tahan lama serta kandungan zat aktif didalamnya tidak berubah (Charisma,2020).

Penentuan kadar air erat hubungannya dengan kemurnian simplisia (Sutomo,2019). Kadar air yang terlalu tinggi menyebabkan bahan mudah ditumbuhi mikroba, sehingga dapat menurunkan stabilitas dan aktivitas farmakologi simplisia (Sutomo,2019).

Tabel 4.2 Hasil uji kadar air simplisia kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*)

Sampel	Bobot Awal	Bobot Akhir	%Hasil
Kulit Buah Majapahit (<i>Crescentia Cujete</i>)	10gram	9,3 gram	7%

Berdasarkan tabel 4.2 dapat disimpulkan bahwa hasil dari uji kadar air simplisia kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) yaitu sebesar 7% telah memenuhi standar uji kadar air yaitu tidak melebihi 10% .

4.4 Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak Kulit Buah Majapahit (*Crescentia Cujete*)

4.4.1 Uji Bebas Etanol

Tujuan dilakukannya uji bebas etanol adalah untuk memastikan jika ekstrak kental merupakan ekstrak murni dan tidak ada kandungan etanol di dalamnya (Tivani.dkk.,2021) . Hasil uji bebas etanol ekstrak menunjukkan bahwa ekstrak tersebut bebas etanol ditandai dengan perubahan warna dari coklat tua menjadi coklat kehitaman pada ekstrak kulit buah majapahit seperti yang ditunjukkan pada tabel 4.3.

Tabel 4.3 Hasil uji bebas etanol ekstrak kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete*)

Sampel	Perlakuan	Hasil	Perubahan Warna
Kulit Buah Majapahit (<i>Crescentia Cujete</i>)	2 tetes H ₂ SO ₄ , 1 ml K ₂ Cr ₂ O ₇	-	dari coklat tua menjadi coklat kehitaman

Keterangan : (+) terdapat etanol dan (-) tidak terdapat etanol



(a)

(b)

Gambar 4.1 Hasil Pengamatan Uji Bebas Etanol (a) sebelum perlakuan (b) sesudah perlakuan

4.4.2 Uji Rendemen Ekstrak Kulit Buah Majapahit

Rendemen merupakan suatu nilai penting dalam pembuatan produk. Rendemen adalah perbandingan berat kering produk yang dihasilkan dengan berat bahan baku (Whika,dkk.,2017). Rendemen ekstrak dihitung berdasarkan perbandingan berat akhir (berat ekstrak yang dihasilkan) dengan berat awal (berat biomassa sel yang digunakan) dikalikan 100% (Sani,dkk.,2014). Nilai rendemen juga berkaitan dengan banyaknya kandungan bioaktif yang terkandung pada kulit buah majapahit. Senyawa bioaktif merupakan senyawa yang terkandung dalam tumbuhan. Senyawa ini memiliki berbagai manfaat bagi kehidupan manusia, diantaranya dapat dijadikan sebagai sumber antioksidan, antiinflamasi, dan antikanker (Prabowo,dkk.,2014).

Bobot ekstrak kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) yang dihasilkan sebanyak 50 gram dengan bobot simplisia awal sebanyak 500 gram. Hasil dari uji rendemen ekstrak kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) sebanyak 10% hal tersebut menunjukkan bahwa nilai yang dihasilkan pada rendemen ekstrak cukup kecil. Kecilnya rendemen ekstrak yang dihasilkan dipengaruhi oleh beberapa faktor ukuran partikel, waktu ekstraksi, jenis dan jumlah pelarut (Charisma,2020).

Tabel 4.4 Rendemen Ekstrak Kulit Buah Majapahit

Sampel	Bobot Simplisia	Bobot Ekstrak	Hasil
Kulit Buah Majapahit (<i>Crescentia Cujete</i>)	500 gram	50 gram	10%

Berdasarkan tabel 4.4 dapat disimpulkan bahwa hasil dari rendemen ekstrak kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) yaitu sebesar 10% telah memenuhi standar rendemen ekstrak, yaitu syarat rendemen ekstrak kental nilainya tidak kurang dari 10% (Farmakope Herbal Indonesia, 2017).

4.5 Metode Fraksinasi

Fraksinasi merupakan cara memisahkan senyawa dengan perbedaan tingkat kepolarannya. Fraksinasi memiliki prinsip yaitu menarik senyawa pada ekstrak dengan dua macam pelarut yang saling tidak bercampur (Charisma, 2020). Fraksinasi kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) dengan pelarut aquadest sebagai pelarut polar, etil asetat sebagai pelarut semi polar, dan n-heksana sebagai pelarut non polar.

Ekstrak kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) sejumlah 20 gram dilarutkan dengan aquadest sebanyak 50 ml dituangkan ke dalam corong pisah dan ditambahkan n-heksana sebanyak 50 ml setelahnya dihomogenkan dengan perlahan, kemudian diamkan sampai terbentuk pemisahan antara n-heksana dan aquadest. Fraksi n-heksana dipisahkan dari fraksi aquadest. Fraksinasi dilanjutkan dengan pelarut etil asetat 50 ml dengan proses yang sama dengan n-heksana. Fraksinasi dilakukan replikasi 3 kali. Fraksi n-heksana, etil asetat dan aquadest dipisahkan dengan waterbath dengan suhu berbeda berdasarkan titik didih pelarut yang digunakan (Retnowati dkk., 2015).

Fraksinasi menunjukkan hasil yang berbeda dari berat jenis dari masing-masing pelarut. Ekstrak kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) dilakukan fraksinasi dengan pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda yaitu n-heksan, etil asetat, dan aquadest. Pelarut n-heksan bersifat non polar sehingga didapatkan dua fase yaitu fase non polar dan fase polar. Berat jenis fase non polar (n-heksan) yaitu 86,18 g/mL lebih kecil dibandingkan dengan berat jenis aquadest yaitu 1 g/mL, maka dari itu fase non polar berada pada bagian atas dan fase polar berada pada bagian bawah. Fraksinasi kedua yaitu antara pelarut etil asetat dengan

pelarut aquadest. Pada fraksinasi ini fase yang bersifat semi polar berada dibagian atas corong pisah karena etil asetat memiliki berat jenis yang lebih kecil dibandingkan dengan aquadest yaitu 1,326 g/mL. Selanjutnya, Fraksi dipekatkan. Tujuan dilakukan fraksinasi adalah untuk memisahkan senyawa berdasarkan kepolarannya (Sutomo dkk.,2021). Senyawa-senyawa yang bersifat polar akan masuk ke dalam pelarut polar, begitu pula senyawa-senyawa yang bersifat non polar akan masuk ke dalam pelarut non polar (Anjaswati dkk.,2021).

4.5.1 Sifat Fisika

4.5.1.1 Flavonoid

Sebagian besar flavonoid berbentuk padatan kristal; tetapi glikosida flavon adalah bubuk amorf. Kebanyakan flavonoid berwarna kuning, hal ini terkait dengan adanya sistem konjugasi silang dalam molekulnya. Selain itu jenis, jumlah dan posisi substitusi kromofor (OH, OCH, dll) juga memiliki pengaruh tertentu pada warnanya. Flavonoid berwarna tersebar luas di jaringan tanaman seperti bunga, buah, daun, dan batang, yang menampilkan berbagai warna mulai dari merah hingga biru bahkan ungu (Yoshida dkk.,2012). Glikosida flavonoid memiliki aktivitas optik, dan sebagian besar bersifat kiral. Hanya flavonoid bebas dengan atom karbon kristal dalam molekulnya yang memiliki aktivitas optik. Flavonoid umumnya bebas larut dalam metanol, etanol, etil asetat, kloroform, eter, dan pelarut organik lainnya serta alkali encer, tetapi tidak larut dalam udara (Zhao dkk.,2019). Titik didih flavonoid adalah $> 90^{\circ}\text{C}$ (Roller, 2003 ; Sari dkk., 2019).

4.5.1.2 Alkaloid

Secara umum memiliki atom N walaupun ada beberapa yang mempunyai lebih dari 1 atom N seperti pada Ergotamin yang mempunyai 5 atom N. Atom N ini dapat berupa amin primer, sekunder maupun tersier yang semuanya memiliki sifat basa (Mukhriani,2014). Pada alkaloid yang mengalami isolasi berupa padatan kristal tidak larut pada titik lebur yang tertentu atau beberapa senyawa yang kompleks, spesies aromatik berwarna (contoh berberin berwarna kuning dan betanin berwarna merah). Secara umumnya, basa bebas alkaloid dapat larut dalam pelarut organik saja, walaupun beberapa pseudo alkaloid dan proto alkaloid larut dalam air. Garam alkaloid quartener sangat larut dalam air (Anonim,2018). Titik didih alkaloid adalah 138°C (Aniszweki, 2007 ; Sari dkk.,2019).

4.5.1.3 Saponin

Saponin adalah metabolit sekunder yang disebut sejenis glikosida triterpenoid atau steroid aglikon, terdiri atas satu atau lebih gugus gula yang berikatan dengan aglikon atau sapogenin, dapat membentuk kristal berwarna kuning dan amorf, serta berbau menyengat. Rasa dari saponin sangat pahit hingga amat manis. Saponin disebut dengan senyawa nonvolatilen dan mudah larut dalam air (dingin maupun panas) dan alkohol, tetapi menghasilkan bentuk busa koloidal pada air dan mempunyai sifat detergen yang baik (Chapagrain, 2005 ; Puspa dkk.,2023). Saponin adalah senyawa ampifilik. Gugus gula (heksosa) pada saponin mampu larut pada air, namun sulit larut dalam alkohol absolut, kloroform, eter dan pelarut organik non polar lainnya (Lindeboom, 2005 ; Puspa dkk.,2023). Titik didih saponin yaitu $> 90^{\circ}\text{C}$ (Wiryowidagdo, 2008 ; Sari dkk.,2019).

4.5.1.4 Tanin

Secara umum tanin mempunyai berat molekul lebih dan sangat mudah dioksidasi menjadi suatu polimer, beberapa tanin memiliki bentuk amorf dan tidak mempunyai titik leleh. Tanin memiliki warna putih kekuning-kuningan sampai coklat terang, berdasarkan sumber tanin yang didapat. Tanin berupa serbuk atau berlapis-lapis semacam kulit kerang, berbau khas dan mempunyai rasa sepat (astringent). Warna tanin dapat berubah gelap jika terkena cahaya langsung atau dibiarkan di udara terbuka. Tanin mempunyai sifat atau daya bakteriostatik, fungistatik dan dikatakan sebagai racun (Rozanna dkk.,2014). Titik didih tanin adalah $> 98,89^{\circ}\text{C}$; Sari dkk.,2019).

4.6 Uji Kualitatif

4.6.1 Skrinning Fitokimia

Skrinning fitokimia fraksi kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete*) bertujuan supaya mengetahui kandungan senyawa yang terdapat pada fraksi kulit buah majapahit. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Fatimah dkk (2022) dinyatakan jika ekstrak etanol kulit buah majapahit terdapat senyawa metabolit sekunder yang diantaranya seperti alkaloid,tanin,saponin, dan flavonoid.

Tabel 4.5 Hasil Skrinning Fitokimia

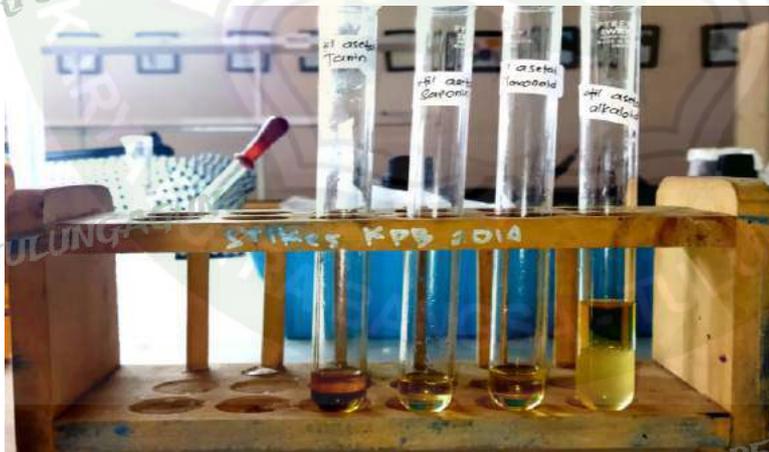
Fraksi	Flavonoid	Alkaloid	Saponin	Tanin
Aquadest	+	+	+	+
N-heksana	+	+	+	+
Etil asetat	+	+	+	+

Keterangan : (+) terdapat senyawa metabolit sekunder dan (-) tidak terdapat senyawa metabolit sekunder



(a) (b) (c) (d)

Gambar 4.2 Hasil Pengamatan Skrinning Fitokimia Fraksi Aquadest (a) tanin (b) saponin (c) flavonoid (d) alkaloid



(a) (b) (c) (d)

Gambar 4.3 Hasil Pengamatan Skrinning Fitokimia Fraksi Etil Asetat (a) tanin (b) saponin (c) flavonoid (d) alkaloid



(a) (b) (c) (d)

Gambar 4.4 Hasil Pengamatan Skринning Fitokimia Fraksi N-Heksana (a) tanin (b) saponin (c) flavonoid (d) alkaloid

Pada hasil analisis fitokimia fraksi ekstrak kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) menunjukkan bahwa pada fraksi ekstrak kulit buah majapahit terdapat senyawa metabolit sekunder yaitu diantaranya flavonoid, alkaloid, tanin dan saponin dengan berbagai kadar. Eksistensi alkaloid diketahui dengan munculnya endapan berwarna putih setelah dilakukan penambahan pereaksi meyer pada larutan. Endapan tersebut muncul akibat adanya rekasi antara alkaloid dengan potassium pada pereaksi mayer (Salamah & Ningsih, 2017). Adanya kandungan senyawa tanin pada ekstrak ditandai dengan adanya warna hijau kehitaman, yang disebabkan karena tanin mengalami kondensasi (Rorong, Sudiarso, Prasetya, Mandang, & Suryanto, 2012). Pada fraksi ekstrak kulit buah majapahit juga terdapat saponin yang diketahui dengan munculnya buih yang tetap bertahan selama 10 menit pada campuran fraksi ekstrak dengan aquadestilata yang telah digojog (Cannel, 2000; Adusei,2020). Pada fraksi ekstrak kulit buah majapahit dengan beberapa golongan senyawa yang terdeteksi pada uji fitokimia diketahui memiliki potensial sebagai antikanker.

4.6.1.1 Uji Flavonoid

Skринning fitokimia flavonoid pada fraksi kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete*) dilakukan dengan menambahkan 10 mg sampel dengan 5ml etanol dan beberapa tetes $FeCl_3$ hingga adanya perubahan warna. Dengan perubahan warna menjadi biru, ungu, hijau, merah, atau hitam dapat disimpulkan jika adanya kandungan flavonoid (Kumalasari & Andiarna,2020).

Menurut Parwarta (2014) senyawa flavonoid sebagai antikanker, antioksidan dapat mengaktifkan jalur apoptosis pada sel kanker, proses fragmentasi DNA yang awalnya dilepas dari rantai proksimal DNA. Senyawa flavonoid berkhasiat sebagai antioksidan (Oktaria dan Fana,2016).

4.6.1.2 Uji Alkaloid

Skrinning fitokimia alkaloid pada fraksi kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete*) menggunakan sebanyak 2 gram sampel ditambah kloroform 10 ml lalu dilarutkan. Menambahkan 5 ml kloroform-amoniak 0,05 M, filtrat yang terbentuk ditambahkan 10-20 tetes asam sulfat 2 N setelah itu dikocok perlahan selama 2-3 menit dan dibiarkan hingga terbentuk 2 lapisan, lapisan atas diambil dan diletakkan pada 2 tabung reaksi kemudian diuji dengan pereaksi Mayer dan Dragendroff. Apabila terdapat endapan putih terhadap pereaksi Mayer dan endapan jingga-merah dengan pereaksi Dragendroff dapat disimpulkan bahwa hasil positif uji alkaloid (Fachriyah,dkk.,2018).Menurut Oktaria dan Fana (2016), bahwa senyawa alkaloid bersifat detoksifikasi yang dapat menetralsisir racun didalam tubuh.

4.6.1.3 Uji Saponin

Skrinning fitokimia saponin pada fraksi kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete*), sebanyak 0,5 gram sampel 5 ml aquadest dan dikocok kuat-kuat. Terbentuknya busa/buih pada larutan uji setelah dilakukan uji saponin berarti menghasilkan reaksi positif (Kumalasari & Andiarna,2020). Uji warna pada saponin dilakukan dengan sebanyak 0,5 gram sampel ditambah kloroform 10 ml, dipanaskan selama 5 menit sambil dikocok setelah itu ditambahkan beberapa tetes pereaksi LB. Apabila terbentuk cincin coklat atau violet maka mengandung saponin triterpen, sedangkan jika muncul warna hijau atau biru berarti mengandung saponin (Rizkita, dkk.,2021).

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Fatimah dkk (2022) menyatakan bahwa senyawa saponin bekerja dengan cara menginduksi terjadinya apoptosis dan menekan peradangan. Senyawa saponin berkhasiat sebagai antibakteri dan virus, mengurangi kadar gula darah dan mengurangi penggumpalan darah (Oktaria dan Fana,2016).

4.6.1.4 Uji Tanin

Skriming fitokimia tanin pada fraksi kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete*) dilakukan sebanyak 0,5 gram sampel ditambah 20 ml aquadest dan dipanaskan. Kemudian dilakukan penyaringan filtrat dan ditambahkan beberapa tetes 0,1 % FeCl₃ hingga berubah warna. Apabila muncul warna hijau kecoklatan atau warna biru hitam dapat disimpulkan jika uji ini menghasilkan reaksi positif adanya tanin (Sulistyarini, dkk.,2019).

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Fatimah dkk (2022) menyatakan bahwa tannin bekerja sebagai racun perut yang akan mengakibatkan aktivitas enzim terhambat dengan pembentukan kompleks protein pada enzim substrat yang akan menyebabkan gangguan pencernaan dan akan menghambat reseptor perasa sehingga pada saat mengonsumsi larva gagal mengenali makanannya dan akan mengakibatkan kematian pada larva.

4.7 Uji Kadar Senyawa Fraksi Kulit Buah Majapahit (*Crescentia Cujete L.*) Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Uji kadar senyawa merupakan pengujian lanjut dari skriming kimia yang dilakukan dengan tujuan menguji kadar pada fraksi kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete*) dengan Spektrofotometer UV-Vis .

Tabel 4.6 Hasil Kadar Total Senyawa pada Ekstrak Kulit Buah Majapahit (*Crescentia Cujete L.*)

Fraksi	Flavonoid	Saponin	Tanin	Alkaloid
Aquadest	1,417	1,526	1,017	0,791
N-heksana	0,502	0,279	0,327	0,255
Etil asetat	4,461	1,841	2,286	0,874

Berdasarkan tabel 4.6, dapat disimpulkan bahwa kandungan senyawa flavonoid pada fraksi etil asetat yang tertinggi pada fraksi kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete*) dibandingkan aquadest dan n-heksana, karena konsentrasi dari pelarut etil asetat di dalam pelarut organik dapat meningkatkan polaritas dari pelarut pengekstraksi sehingga dapat membantu proses penarikan senyawa flavonoid, saponin, tanin dan alkaloid dalam suatu sampel, dimana pelarut etil asetat memiliki sifat semi polar yang dapat menarik senyawa yang bersifat polar maupun non polar (Nursamsiar dkk.,2021). Perbedaan pelarut pada ekstraksi bisa

mempengaruhi kandungan total senyawa bioaktif, ini dikarenakan perbedaan tingkat polaritas dari masing-masing pelarut (Megha dkk.,2014).

Dari ketiga fraksi telah diketahui bahwa urutan perolehan hasil uji Spektrofotometer yaitu fraksi etil asetat memiliki jumlah paling banyak dan yang kedua pada fraksi aquadestilata, dan terendah pada fraksi n-heksana. Dari hasil dari Spektrofotometer UV-Vis dikarenakan beberapa faktor menurut (Christian 1994; Warono dan Syamsudin, 2013) adalah sebagai berikut :

1. Penyimpanan kimia mengakibatkan terjadinya bila ada perubahan – perubahan akibat proses kimia, seperti senyawaan yang dianalisis bereaksi dengan senyawaan lain atau pelarut yang dipakai.
2. Penyimpanan alat diakibatkan karena kemungkinan masih terdapat sinar yang bersifat polikromatik. Tuntutan ini sukar dipenuhi karena monokromator kurang mampu mengisolasi panjang gelombang yang benar – benar monokromatik. Di samping kelemahan monokromator, juga ada pengaruh sinar sesatan. Sinar ini terjadi karena pantulan permukaan alat optis yang digunakan dan hamburan sinar oleh dinding dalam peralatan untuk kemudian menerobos celah tanpa lewat monokromator menuju detektor.
3. Penyimpanan terhadap hukum Lambert Beer, hukum Lambert Beer berlaku untuk konsentrasi media yang encer dan jika terlalu pekat maka fungsi absorbans terhadap konsentrasi menjadi tidak linier.

4.8 Skrinning Potensi Antikanker dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test*

Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) adalah salah satu metode untuk uji toksisitas yang mempunyai 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 mempunyai respon terhadap senyawa kimia yang mirip dengan mamalia. Metode ini dipilih karena tidak membutuhkan waktu yang lama, pengerjaannya yang mudah dan biaya tergolong murah.

4.8.1 Pembuatan Air Laut Buatan

Larva udang *Artemia Salina Leach* bertahan hidup pada kondisi air yang sudah bercampur dengan kadar garam tinggi, suhu 20°C sampai 30°C serta

mempunyai pH air 5-8, selain itu juga larva udang ini memiliki kelenjar garam yang berguna untuk mengatur atau menyesuaikan diri terhadap perubahan kadar garam, sehingga pada saat kadar garam meningkat didalam lingkungannya, hal ini tidak mempengaruhi kehidupan larva udang tersebut. Akan tetapi, air laut yang memiliki kadar garam 5 per mil akan menyebabkan proses penetasan *Artemia Salina Leach* berjalan dengan maksimal.

Pembuatan air laut buatan yaitu dengan mencampurkan 1 liter air dan garam ikan tidak beryodium dengan berat 35 gram untuk memperoleh tingkat salinitas 35% sebagai media penetasan telur *Artemia Salina Leach* (Aqiila, dkk.,2017). Air laut buatan yang telah selesai dibuat setelah itu dilakukan maserasi selama 2 jam, bertujuan supaya air laut buatan mempunyai kandungan oksigen yang cukup untuk kelangsungan hidup *Artemia Salina Leach*. pH optimal air laut buatan yaitu 5-8 (Suhaimi, dkk.,2019).

4.8.2 Penetasan Telur *Artemia Salina Leach*

Menetasakan larva udang *Artemia Salina Leach* dilakukan dengan memasukkan air laut buatan kedalam aquarium yang sudah dilengkapi dengan aerator sebagai penyuplai oksigen bagi kehidupan larva udang, setelah itu menaburkan telur larva udang *Artemia Salina Leach* kedalam aquarium dibawah cahaya lampu dan didiamkan selama 48 jam agtau 2 hari (Refli dkk.,2014). Suhu optimal pada penetasan telur *Artemia Salina Leach* adalah 20°C-30°C. Larva *Artemia Salina Leach* berumur 48 jam dan telah aktif bergerak dan siap digunakan sebagai hewan uji (Suhaimi, dkk.,2019).

4.8.3 Uji Toksisitas dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test*

Uji toksisitas mempunyai fungsi sebagai perlakuan untuk skrinning pada jenis tanaman yang berpotensi sebagai antikanker. Pemanfaatan bahan alam untuk dijadikan antikanker dibutuhkan nilai LC₅₀ yang rendah, karena semakin toksik maka semakin baik untuk mengobati kanker (Sutiningsih, dkk.,2020).

Menurut (Jelita dkk.,2020) metode BSLT juga memiliki tingkat kepercayaan hingga 95%. Prinsip dari uji toksisitas menggunakan metode BSLT yaitu dengan mengamati juga menghitung persentase kematian larva udang *Artemia Salina Leach* dalam waktu 24 jam (Kumala dan Safitri dalam Mayang dan Santoso,2020).

Larutan uji dengan konsentrasi 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm, 500 ppm, 600 ppm, 700 ppm, 800 ppm, 900 ppm, 1000 ppm, pada konsentrasi 100 ppm diberikan fraksi kulit buah majapahit yang terdiri dari fraksi aquadest sebagai fraksi polar, fraksi etil asetat sebagai fraksi semi polar dan fraksi n-heksana sebagai fraksi non polar. Hewan uji yang digunakan adalah larva udang *Artemia Salina Leach* sebanyak 10 ekor larva udang yang dipilih secara random. Pada masing-masing fraksi dipipet sebanyak 1 ml dan diberikan air laut buatan sebanyak 9 ml, kemudian pada konsentrasi 200 ppm diberikan fraksi kulit buah majapahit dan dipipet sebanyak 2 ml dan diberikan air laut buatan sebanyak 8 ml, sehingga pada tiap konsentrasi jumlah larutan yang diujikan untuk larva udang sejumlah total 10 ml pada kuvet atau flakon, begitu juga pada konsentrasi yang lain hingga 1000 ppm. Setiap konsentrasi dilakukan replikasi sebanyak 3 kali, bertujuan agar menghindari kekeliruan pada saat penelitian (Sangi, dkk.,2012), kemudian dibiarkan selama 10 detik, jika tidak ada pergerakan dari larva maka dikatakan larva mati, dan dihitung jumlah larva yang mati.

Pengolahan data dilakukan dengan menggunakan metode probit. Dengan mengetahui kematian larva *Artemia Salina Leach*, hasil kematian dari larva *Artemia Salina Leach* dimasukkan ke dalam tabel probit. Lalu dihitung nilai probitnya dengan presentase dari konsentrasi yang digunakan dengan 3 fraksi, yaitu fraksi aquadest, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksana.

Tabel 4.7 Hasil Pengamatan Kematian Larva Udang Fraksi Aquadest

Konsentrasi	R1,R2,R3	Total kematian	Rata-rata Kematian	% Kematian
100 ppm	1,1,1	3 ekor	0,1	10
200 ppm	1,2,2	5 ekor	0,16	16
300 ppm	3,4,2	9 ekor	0,3	30
400 ppm	5,3,3	11 ekor	0,36	36
500 ppm	6,7,2	15 ekor	0,5	50
600 ppm	5,8,2	15 ekor	0,5	50
700 ppm	6,4,5	15 ekor	0,5	50
800 ppm	8,7,4	19 ekor	0,63	63
900 ppm	5,7,4	16 ekor	0,53	53
1000 ppm	5,4,3	12 ekor	0,4	40
Kontrol Negatif	-	-	-	-

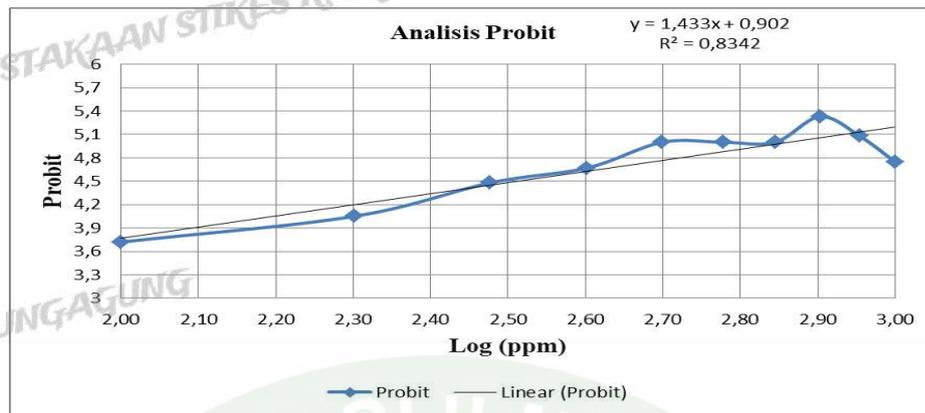
Pada tabel 4.7 pengamatan menggunakan fraksi aquadest dengan berbagai konsentrasi yang telah dilakukan memberikan hasil variasi kematian pada larva

udang *Artemia Salina Leach*. Pada konsentrasi 800 ppm dapat dilihat total kematian pada larva udang yang paling besar yaitu 19 ekor adalah jumlah kematian larva dari total replikasi pada konsentrasi tersebut yang telah diamati selama 24 jam. Terdapat juga total kematian dari larva udang yang paling sedikit pada konsentrasi 100 ppm yaitu hanya 3 ekor larva udang. Setelah mendapatkan data kematian larva udang, 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

Konsentrasi (%)	Ppm	Log(ppm)	Probit	%Kematian	Rata-rata kematian	Total
0,01	100	2	3,72	10%	3	30
0,02	200	2.301	4,05	17%	5	30
0,03	300	2.48	4,48	30%	9	30
0,04	400	2.60	4,67	37%	11	30
0,05	500	2.70	5,0	50%	15	30
0,06	600	2.78	5,0	50%	15	30
0,07	700	2.85	5,0	50%	15	30
0,08	800	2.90	5,33	63%	19	30
0,09	900	2.95	5,08	53%	16	30
0,10	1000	3.00	4,75	40%	12	30

Berdasarkan pada tabel 4.8 dapat dihitung nilai LC_{50} dengan cara menggunakan microsoft excel dengan menghitung *slope* dan *intercept*. *Slope* merupakan nilai koefisien regresi untuk variabel X, sedangkan *intercept* merupakan nilai dari rata-rata variabel Y apabila variabel tersebut mempunyai nilai sama dengan 0. Nilai *slope* sebesar 1,433 sedangkan nilai *intercept* yang diperoleh yaitu 0,902. Setelah itu menghitung nilai LC_{50} dengan persamaan $y = ax + b$, dimana a merupakan nilai dari *slope* sedangkan yang b merupakan nilai dari *intercept*. Cara kedua untuk menghitung nilai LC_{50} yaitu dengan membuat grafik antara log konsentrasi dengan nilai probit yang telah diperoleh, setelah itu membuat persamaan garis lurus pada kurva. Grafik dapat dilihat sebagai berikut :



Gambar 4.5 Grafik Probit Fraksi Aquadest

Pada grafik probit diatas, maka dihitung nilai LC_{50} menggunakan persamaan yaitu $y = 1,433x + 0,902$. Pada nilai y merupakan nilai transformasi probit, karena penelitian ini mencari nilai dari LC_{50} , maka dari itu nilai 50 dari LC yang dicari dirubah ke nilai probit. Nilai y telah dirubah menjadi 5, maka persamaan menjadi $5 = 1,433x + 0,902$ dan menghasilkan nilai LC_{50} sebesar 723,935 ppm dihitung dengan kalkulator antilog.

Grafik diatas juga menunjukkan nilai R^2 yang merupakan nilai koefisien korelasi didalam hubungan dua variabel X dan Y, guna mengukur kuatnya hubungan antara sumbu X dan Y, dari nilai R^2 pada taraf kepercayaan 95% mempunyai nilai 0,8342. Nilai tersebut menghasilkan hubungan korelasi yang linier antara konsentrasi dan probit.

Berdasarkan nilai LC_{50} yang telah dihasilkan maka disimpulkan jika fraksi aquadest kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) mempunyai sifat toksik karena nilai LC_{50} yang didapat <1000 ppm. Nilai LC_{50} fraksi aquadest lebih tinggi dibandingkan fraksi etil asetat dan fraksi n-heksana hal ini dapat dipengaruhi oleh senyawa metabolit yang terdapat pada kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*), tinggi atau rendahnya kematian larva akan berbanding terbalik dengan nilai dari LC_{50} , ketika nilai LC_{50} besar maka tingkat kematian larva udang semakin rendah begitu juga sebaliknya (Ningdah dkk.,2015).

Tabel 4.9 Hasil Pengamatan Kematian Larva Udang Fraksi Etil Asetat

Konsentrasi (%)	R1,R2,R3	Total Kematian	Rata-rata Kematian	% Kematian
100 ppm	1,1,1	3 ekor	0,1	10
200 ppm	3,2,3	8 ekor	0,26	26
300 ppm	4,3,4	11 ekor	0,36	36
400 ppm	3,4,5	12 ekor	0,4	40
500 ppm	3,5,6	14 ekor	0,46	46
600 ppm	5,5,6	16 ekor	0,53	53
700 ppm	4,6,6	16 ekor	0,53	53
800 ppm	7,6,5	18 ekor	0,6	60
900 ppm	6,7,9	22 ekor	0,73	73
1000 ppm	5,6,6	16 ekor	0,53	53
Kontrol Negatif	-	-	-	-

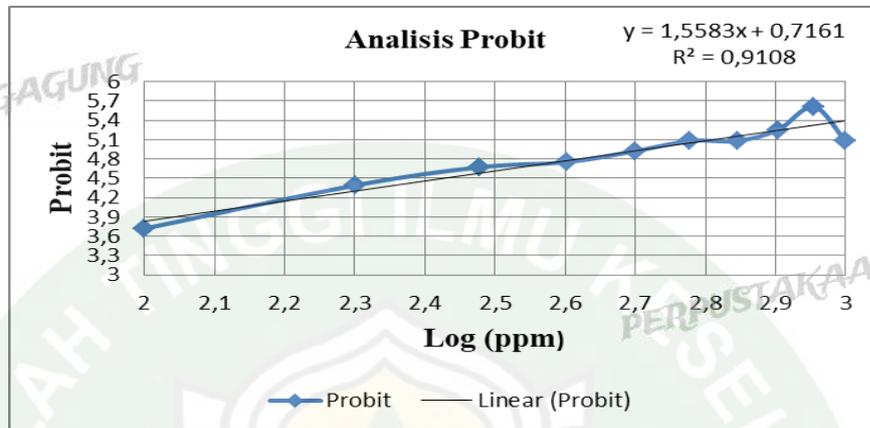
Pada tabel 4.9 yaitu pengamatan menggunakan etil asetat dengan variasi konsentrasi sehingga mendapatkan hasil variasi pada kematian larva udang. Dapat dilihat pada konsentrasi 900 ppm merupakan jumlah kematian larva udang yang paling banyak sebesar 22 ekor yang telah diamati selama 24 jam. Sedangkan pada konsentrasi 100 ppm merupakan jumlah kematian larva udang yang paling sedikit yaitu sebesar 3 ekor. Langkah berikutnya adalah menghitung kematian larva udang dengan analisa probit dengan microsoft excel sebagai berikut :

Tabel 4.10 Data Pengamatan Kematian Larva Udang Dengan Analisa Probit Fraksi Etil Asetat

Konsentrasi (%)	Ppm	Log(ppm)	Probit	%Kematian	Rata-rata kematian	Total kematian
0,01	100	2	3,72	10%	3	30
0,02	200	2.30	4,39	27%	8	30
0,03	300	2.48	4,67	37%	11	30
0,04	400	2.60	4,75	40%	12	30
0,05	500	2.70	4,92	47%	14	30
0,06	600	2.78	5,08	53%	16	30
0,07	700	2.85	5,08	53%	16	30
0,08	800	2.90	5,25	60%	18	30
0,09	900	2.95	5,61	73%	22	30
0,10	1000	3.0	5,08	53%	16	30

Pada tabel 4.10 menghitung nilai LC_{50} dengan microsoft excel yaitu menghitung *slope* dan *intercept*. *Slope* adalah nilai koefisien regresi padavariabel X, sedangkan *intercept* adalah nilai dari rata-rata variabel Y apabila variabel tersebut memiliki nilai sama dengan 0. Nilai *slope* sebesar 1,5583 dan nilai *intercept* sebesar 0,7161 . Selanjutnya menghitung nilai LC_{50} dengan persamaan y

= $ax + b$, yaitu a merupakan nilai dari *slope*, sedangkan b merupakan nilai dari *intercept*. Cara berikutnya menggunakan grafik antara log konsentrasi dengan nilai probit yang telah dihasilkan kemudian dibuat persamaan garis lurus pada kurva. Grafik dapat dilihat seperti berikut :



Gambar 4.6 Grafik Probit Fraksi Etil Asetat

Grafik probit diatas, kita dapat menghitung nilai LC_{50} menggunakan persamaan yaitu $y = ax + b$, yaitu $y = 1,5583x + 0,7161$. Pada nilai y adalah nilai transformasi probit, karena yang dicari adalah LC_{50} , maka nilai 5 dari LC dirubah ke nilai probit. nilai y telah diganti dengan angka 5, maka persamaan yang didapat $5 = 1,5583x + 0,7161$, dan menghasilkan nilai LC_{50} , sebesar 561,047 ppm dihitung dengan kalkulator antilog. Nilai LC_{50} , yang telah didapatkan, dapat disimpulkan jika fraksi etil asetat mempunyai sifat toksik karena nilai LC_{50} yang didapat < 1000 ppm. Dan nilai R^2 didapatkan sebesar 0,9108 dari fraksi etil asetat kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*).

Berdasarkan nilai LC_{50} yang telah dihasilkan maka dapat disimpulkan jika fraksi etil asetat kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) mempunyai sifat toksik karena nilai dari LC_{50} yang didapat < 1000 ppm. Nilai LC_{50} , fraksi etil asetat lebih optimum daripada perolehan dari fraksi aquadest dan n-heksana, hal ini dikarenakan dapat dipengaruhi oleh senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) yang bersifat polar. Menurut prinsip *like dissolve like* suatu senyawa akan terlarut pada sifat pelarut yang sama (Anggitha,2012).

Tabel 4.11 Hasil pengamatan kematian larva udang fraksi n-heksana

Konsentrasi	R1,R2,R3	Total Kematian n	Rata-rata Kematian n	% Kematian
100 ppm	1,2,2	5 ekor	0,16	16
200 ppm	2,4,3	9 ekor	0,3	30
300 ppm	4,3,6	13 ekor	0,43	43
400 ppm	3,4,5	12 ekor	0,4	40
500 ppm	4,7,5	16 ekor	0,5	53
600 ppm	3,5,5	13 ekor	0,43	43
700 ppm	5,6,6	17 ekor	0,56	56
800 ppm	5,7,8	20 ekor	0,67	66
900 ppm	4,7,9	18 ekor	0,6	60
1000 ppm	4,5,6	15 ekor	0,5	50
Kontrol Negatif	-	-	-	-

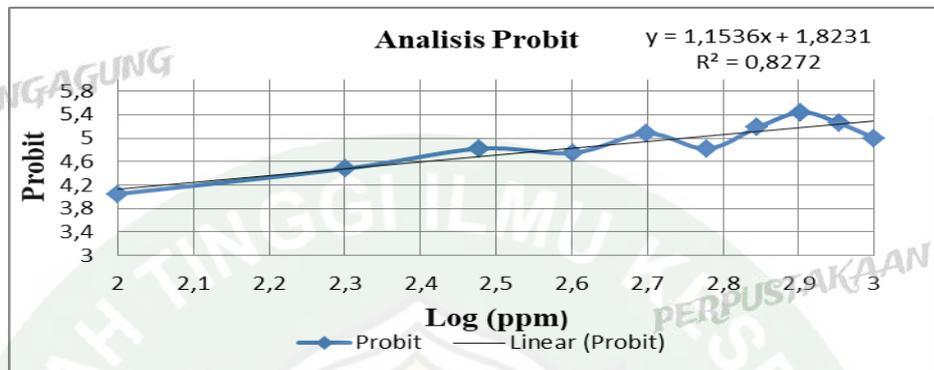
Pada tabel 4.11 yaitu pengamatan menggunakan n-heksan dengan variasi konsentrasi sehingga mendapatkan hasil variasi pada kematian larva udang. Dapat dilihat pada konsentrasi 800 ppm merupakan jumlah kematian larva udang yang paling banyak sebesar 20 ekor yang telah diamati selama 24 jam. Sedangkan pada konsentrasi 100 ppm merupakan jumlah kematian larva udang yang paling sedikit yaitu 5 ekor. Langkah berikutnya adalah menghitung kematian larva udang dengan analisa probit dengan microsoft excel sebagai berikut :

Tabel 4.12 Data Pengamatan Kematian Larva Udang dengan Analisa Probit Fraksi N-Heksana

Konsentrasi (%)	Ppm	Log(ppm)	Probit	%Kematian	Kematian	Total
0,01	100	2	4,05	17%	5	30
0,02	200	2.3	4,48	30%	9	30
0,03	300	2.5	4,82	43%	13	30
0,04	400	2.6	4,75	40%	12	30
0,05	500	2.7	5,08	53%	16	30
0,06	600	2.8	4,82	43%	13	30
0,07	700	2.8	5,18	57%	17	30
0,08	800	2.9	5,44	67%	20	30
0,09	900	3,0	5,25	60%	18	30
0,10	1000	3.0	5,00	50%	15	30

Pada tabel 4.12 menghitung nilai LC_{50} dengan microsoft excel yaitu menghitung *slope* dan *intercept*. *Slope* merupakan nilai koefisien regresi untuk variabel X, sedangkan *intercept* merupakan nilai dari rata-rata variabel Y apabila variabel tersebut mempunyai nilai sama dengan 0. Nilai *slope* sebesar 1,1536 dan nilai *intercept* sebesar 1,8231 . Selanjutnya menghitung nilai LC_{50} dengan

persamaan $y = ax + b$, yaitu a merupakan nilai dari *slope*, sedangkan b merupakan nilai dari *intercept*. Cara berikutnya menggunakan grafik antara log konsentrasi dengan nilai probit yang telah dihasilkan kemudian dibuat persamaan garis lurus pada kurva. Grafik dapat dilihat seperti berikut :



Gambar 4.7 Grafik Probit Fraksi N-Heksana

Grafik probit diatas, kita dapat menghitung nilai LC_{50} menggunakan persamaan yaitu $y = ax + b$, yaitu $y = 1,1536x + 1,8231$. Pada nilai y adalah nilai transformasi probit, karena yang dicari adalah LC_{50} , maka nilai 5 dari LC dirubah ke nilai probit. nilai y telah diganti dengan angka 5, maka persamaan yang didapat $5 = 1,1536x + 1,8231$, dan menghasilkan nilai LC_{50} , sebesar 567,413 ppm dihitung dengan kalkulator antilog. Nilai LC_{50} , yang telah didapatkan, dapat disimpulkan jika fraksi n-heksan mempunyai sifat toksik karena nilai LC_{50} yang didapat < 1000 ppm. Dan nilai R^2 didapatkan sebesar 0,8272 dari fraksi etil asetat kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*).

Tabel 4.13 Nilai LC_{50} Fraksi Ekstrak Kulit Buah Majapahit (*Crescentia Cujete L.*)

No	Fraksi Ekstrak	LC_{50} (ppm)
1	Aquadest	723,935
2	Etil Asetat	561,047
3	N-Heksana	567,413

Berdasarkan tabel 4.13 dapat disimpulkan bahwa harga LC_{50} yang paling kecil yang dimiliki oleh fraksi etil asetat yaitu sebesar 561,047 ppm berdasarkan hasil perhitungan dari kalkulator antilog. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi etil asetat adalah fraksi yang paling aktif karena pada konsentrasi ekstrak terendah senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam fraksi etil asetat telah mampu membunuh 50% hewan uji. hal ini karena konsentrasi pada fraksi etil asetat dalam pelarut organik dapat meningkatkan polaritas dari pelarut pengestraksi sehingga

dapat membantu proses penarikan senyawa metabolit sekunder yang mana diketahui senyawa-senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid mempunyai sifat kepolaran yang berbeda. Pelarut etil asetat memiliki sifat semi polar yang mana diketahui dapat menarik senyawa yang bersifat polar dan non polar (Nursamsiar dkk.,2021).

Dari data yang diperoleh fraksi aquadestilata memiliki nilai LC_{50} yang lebih kecil, yang berarti bahwa n-heksana dan etil asetat, nilai LC_{50} lebih besar pada fraksi etil asetat karena bersifat lebih toksik diantara ketiganya, hal ini dikarenakan memiliki mortalitas yang tinggi terhadap alrva *Artemia Salina Leach*. Selain itu, senyawa semi polar dan non polar yang terlarut memiliki ukuran yang lebih kecil sehingga lebih mudah masuk ke dalam membran sel larva *Artemia Salina Leach* melalui proses difusi dan mengakibatkan sel mengalami kerusakan atau cepat mati. Sedangkan seyawa polar tidak mudah terdifusi melalui membran sel kecuali dengan bantuan protein pembawa (*carrier*), hal ini mengakibatkan ketoksikan senyawa lebih rendah daya rusaknya terhadap larva udang sehingga sedikit larva yang mati.

Berdasarkan sifat dari masing – masng senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada kulit buah majapahit yaitu pada alkaloid memiliki basa nitrogen pada rantai sikliknya dan mengandung beragam substituen sehingga alkaloid bersifat semi polar (Purba,2001 ; Putri dkk.,2013). Tanin termasuk golongan polifenol yang terbagi menjadi dua golongan, yaitu tanin terhidrolisa dan tanin terkondensasi dan tanin terkondensasi yang bersifat non polar (Sangi dkk.,2008 ; Gupita,2012). Flavonoid mempunyai gugus hidroksi yang tidak tersubstitusi sehingga bersifat polar (Akbar,2010 ; Putri dkk.,2013). Saponin mempunyai glikosil yang berfungsi sebagai gugus polar dan gugus steroid sebagai gugus nonpolar (Sangi dkk.,2008 ; Putri dkk.,2013). Etil asetat yang merupakan pelarut semi polar mampu menarik senyawa – senyawa dengan rentang polaritas lebar dari polar hingga non polar.

Fraksi etil asetat mengandung senyawa metabolit sekunder yang paling efektif untuk mengobati suatu penyakit.. 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. Sifat toksik ini dikarenakan adanya potensi dari senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada fraksi etil asetat. Senyawa yang toksik yang berdifusi kedalam sel *Artemia Salina Leach* menyebabkan perubahan konsentrasi didalam dan diluar sel, sehingga merusak membran sel dan menyebabkan kerusakan membran sel dan menyebabkan kerusakan fungsional dan metabolisme sel, selain itu efek yang ditimbulkan terjadi secara cepat dalam waktu 24 jam, hingga menyebabkan 50% kematian larva udang (Salim dkk.,2022).

Mekanisme kematian larva *Artemia Salina Leach* berhubungan erat dengan fungsi senyawa flavonoid, alkaloid, saponin dan tanin yang terkandung didalam kulit buah majapahit dikarenakan dari keempat senyawa dapat menghambat daya makan larva. Cara kerja senyawa metabolit sekunder saponin yaitu dengan cara mengikat oksigen dalam air, ini dikarenakan saponin mengandung glikosida dalam tanaman yang sifatnya menyerupai daun dan larut dalam air dan dapat mematikan larva *Artemia Salina Leach* karena kekurangan oksigen. Senyawa metabolit sekunder flavonoid dapat menurunkan aktivitas enzim pencernaan dan penyerapan makanan dan bertindak sebagai stomach poisoning atau racun perut sehingga larva udang mati . (Yunita, 2009 ; Khasanah dkk.,2020). Senyawa metabolit sekunder alkaloid adalah komponen aktif yang bekerja di saraf yang dapat menyebabkan gangguan pencernaan karena alkaloid dapat bertindak sebagai racun melalui mulut larva, hal ini mengakibatkan larva gagal mendapatkan stimulus rasa sehingga tidak mampu mengenali makanannya dan larva mati kelaparan (Khasanah dkk.,2020). Cara kerja tanin yaitu merupakan senyawa antikanker yang bekerja sebagai antikoksidan dengan menghambat apoptosis (Fatimah dkk.,2022).

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

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

1. Konsentrasi senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada fraksi ekstrak kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dengan masing-masing yaitu fraksi etil asetat pada flavonoid sebesar 4,461%, alkaloid memiliki kandungan sebesar 0,874%, pada tanin sebesar 2,286%, dan saponin sebesar 1,841%. Fraksi aquadest kandungan flavonoid sebesar 1,417%, alkaloid memiliki kandungan sebesar 0,791%, kandungan tanin sebesar 1,017%, dan kandungan saponin sebesar 1,526% . Fraksi n-heksana pada flavonoid memiliki kandungan sebesar 0,502%, alkaloid sebesar 0,255%, tanin sebesar 0,327%, dan pada saponin sebesar 0,279%.

2. Skrinning potensi anti kanker fraksi kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete*) dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) menunjukkan adanya potensi sebagai anti kanker dengan nilai $LC_{50} < 1000$ ppm, yaitu fraksi aquadest sebesar 723,935 ppm, fraksi etil asetat sebesar 561,047 ppm, dan fraksi n-heksana sebesar 567,413 ppm.

3. Pada uji toksisitas fraksi kulit buah majapahit (*crescentia kujete L.*) menggunakan hewan uji larva udang *Artemia Salina Leach* yang mendapatkan hasil paling optimal dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) menunjukkan potensi anti kanker dengan ditandai nilai dari $LC_{50} < 1000$ ppm, yaitu fraksi etil asetat dengan jumlah 561,047 ppm dan termasuk kategori toksik terhadap larva udang *Artemia Salina Leach*.

5.2 Saran

Dilihat dari hasil skrinning antikanker pada fraksi kulit buah majapahit (*Crescentia Cujete L.*) menunjukkan bahwa fraksi tersebut mempunyai potensi sebagai anti kanker, sehingga diharapkan pada penelitian selanjutnya juga mendapatkan hasil yang sama beserta berupa sel kanker yang terlihat secara langsung.

DAFTAR PUSTAKA

- Adejoke, H. T., Louis, H., Amusan, O. O., & Apebende, G. (2019). A Review on Classes, Extraction, Purification and Pharmaceutical Importance of Plants Alkaloid. *Journal of Medicinal and Chemical Sciences Original Article J. Med. Chem. Sci.*, 2019(2), 130–139. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.12867.96809>
- Alara, O. R., Abdurahman, N. H., & Ukaegbu, C. I. (2021). Extraction of phenolic compounds: A review. *Current Research in Food Science*, 4(December 2020), 200–214. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.03.011>
- Atmodjo, K. (2019). Keragaman dan pemanfaatan tumbuhan Berenuk (*Crescentia cujete* L) di daerah istimewa Yogyakarta. *Biota : Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, 4(3), 116–123. <https://doi.org/10.24002/biota.v4i3.2518>
- Badaring, D. R., Sari, S. P. M., Nurhabiba, S., Wulan, W., & Lembang, S. A. R. (2020). Uji Ekstrak Daun Maja (*Aegle marmelos* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Indonesian Journal of Fundamental Sciences*, 6(1), 16. <https://doi.org/10.26858/ijfs.v6i1.13941>
- Balogun, F. O., & Sabiu, S. (2021). A review of the phytochemistry, ethnobotany, toxicology, and pharmacological potentials of *Crescentia cujete* L. (Bignoniaceae). *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021, 1–15. <https://doi.org/10.1155/2021/6683708>
- 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.
- Ditasari, I., & Arinda, D. F. (2022). Pengetahuan Gizi dan Persepsi terhadap Perilaku Konsumsi Makanan Pemicu Kanker. *Jurnal Ilmiah Kesehatan (JIKA)*, 4(1), 38–46. <https://doi.org/10.36590/jika.v4i1.214>
- Ejelonu, B. C., Lasisi, A. A., Olaremu, A. G., & Ejelonu, O. C. (2011). The chemical constituents of calabash (*Crescentia cujete*). *African Journal of Biotechnology*, 10(84), 19631–19636. <https://doi.org/10.5897/AJB11.1518>
- Fachriyah, E., Ghifari, M. A., & Anam, K. (2018). Isolation, Identification, and Xanthine Oxidase Inhibition Activity of Alkaloid Compound from

- Peperomia pellucida. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 349(1–6). <https://doi.org/10.1088/1757-899X/349/1/012017>
- Fardilla, I., & Hidajati, N. (2018). Isolasi senyawa metabolit ekunder dari ekstrak N-Heksana daun tumbuhan majapahit (*Crescentia Cujete*) isolation of secondary metabolites from N-Hexane extract of majapahit leaf (*Crescentia Cujete*). *Unesa Journal of Chemistry*, 7(1), 34–38. <https://doi.org/10.26740/ujc.v7n1.p%25p>
- Fatimah, F., Martha, R. D., & Danar, D. (2022). Analisis toksisitas dan potensi antikanker ekstrak metanol daun Majapahit (*Crescentia kujete*) 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 kujete*) dengan LCMS. *CHEESA: Chemical Engineering Research Articles*, 3(2), 88–98. <https://doi.org/10.25273/cheesa.v3i2.7688.88-98>
- Febriani, A., & Furqon, A. (2018). Metastasis kanker paru. *Jurnal Respirasi*, 4(3), 94. <https://doi.org/10.20473/jr.v4-i.3.2018.94-101>
- Hamidi, M. R., Jovanova, B., & panovska, tatjana K. (2014). Toxicological evaluation of the plant products using Brine Shrimp (*Artemia salina* L.) model. *Macedonian Pharmaceutical Bulletin*, 60(01), 9–18. <https://doi.org/10.33320/maced.pharm.bull.2014.60.01.002>
- Hidayah, N. (2016). Pemanfaatan Senyawa Metabolit Sekunder Tanaman (Tanin dan Saponin) dalam mengurangi emisi metan ternak ruminansia. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*, 11(2), 89–98.
- Humairah, A., Yuniarti, yuniarti, & Thamrin, G. A. R. (2022). *identifikasi senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan belaran tapah (Merremia peltata)*. 05(1), 86–91.
- Jelita, S. F., Setyowati, G. W., Ferdinand, M., Zuhrotun, A., & Megantara, S. (2020). Uji Toksisistas Infusa *Acalypha Simensis* Dengan Metode Brine Shrip Lethality Test (BSLT). *Jurnal Farmaka*, 18(1), 14–22.
- Jose, J. C., Oyong, G., Ajero, M. D., Chiong, I., Cabrera, E., & Tan, M. C. S.

- (2020). Insights on the chemical constituents and hydrothermal carbonization of crescentia cujete l. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 24(1), 134-145.
- Kumalasari, M. L. F., & Andiarna, F. (2020). Uji fitokimi ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum basilicum* L). *Indonesian Journal for Health Sciences*, 4(1), 39–44. <https://doi.org/10.24269/ijhs.v4i1.2279>
- Kusuma, A. M., Susanti, S., & Akbariani, G. (2014). Potensi sitotoksik ekstrak etanol daun berenuk (*Crescentia cujete* L.) terhadap sel kanker. *FARMASAINS*, 2(4), 191–195.
- Madhukar, V. K., Srivastava, S. K., & Dubey, N. K. (2013). Revision of genus *Crescentia* L. (Bignoniaceae) in India. *American Journal of Plant Sciences*, 4(June), 1164–1168.
- Maharani, E. S., Puspitawati, R., & Gunawan, H. A. (2018). Antibacterial effect of binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) leaf infusion against black pigmented bacteria. *Journal of Physics: Conference Series*, 1073(3), 1–7. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1073/3/032013>
- Mahbub, K. R., Hoq, M. M., Ahmed, M. M., & Sarker, A. (2011). In vitro antibacterial activvity of *Crescentia Cujete* and *Moringa Oleifera*. *BANGLADESH RESEARCH PUBLICATIONS JOURNAL*, 5(4), 337–343. <http://www.bdresearchpublications.com/journal/>
- Makiyah, A., & Tresnayanti, S. (2017). Uji Toksisitas Akut yang Diukur dengan Penentuan LD50 Ekstrak Etanol Umbi Iles-iles (*Amorphophallus variabilis* Bl.) pada Tikus Putih Strain Wistar. *Majalah Kedokteran Bandung*, 49(3), 145–155. <https://doi.org/10.15395/mkb.v49n3.1130>
- Marwati, M., Salampe, M., Burhan, A., Khairuddin, K., Naneng, A. A. al ma'aridj, & Oktaviani, N. (2020). Skrining Antioksidan dan Antikanker Ekstrak Etanol Daun Karamunting (*Rhonomyrtus Tomentosa* L.) Sebagai Obat Alternatif. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 6(2), 240–245.
- 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>

- Morihito, R. V. S. ., Chungdinata, S. E., Nazareth, T. A., Pulukadang, M. I., Makalew, R. A. ., & Pinontoan, B. (2017). Identifikasi perubahan struktur Dna terhadap pembentukan sel Kanker menggunakan Dekomposisi Graf. *Jurnal Ilmiah Sains*, 17(2), 153. <https://doi.org/10.35799/jis.17.2.2017.17368>
- 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>
- Nasution, S. (2017). Variabel penelitian. *Raudhah*, 05(02), 1–9. <http://jurnaltarbiyah.uinsu.ac.id/index.php/raudhah/article/view/182>
- Popper, H. H. (2016). Progression and metastasis of lung cancer. *Cancer and Metastasis Reviews*, 35(1), 75–91. <https://doi.org/10.1007/s10555-016-9618-0>
- Rachmawati, A. S. (2020). Prevalensi kanker di rumah sakit jasa Kartini kota tasikmalaya Tahun 2018. *Jurnal Kesehatan Komunitas Indonesia*, 16(1), 119–126.
- Rizkita, A. D., Dewi, S. A., Wibowo, E. A. P., & Maulana, I. (2021). Isolasi dan Identifikasi Saponin dari Ekstrak Leunca (*Solanum ningrum* L) Secara Spektrofotometri Infra Merah. *Jurnal Ilmiah Sains*, 21(2), 166–169. <https://doi.org/10.35799/jis.v21i2.34635>
- Rudiana, T., Suryani, N., & Anwar, H. (2021). Aktivitas antioksidan dan identifikasi senyawa metabolit sekunder dari ekstrak batang dahu (*Dracontomelon dao*). *JC-T (Journal Cis-Trans): Jurnal Kimia Dan Terapannya*, 5(1), 8–12. <https://doi.org/10.17977/um0260v5i12021p008>
- Saibaba, S. ., Kumar, M. S., & Pandiyan, P. shanmug. (2016). Mini review on Lc / Ms techniques. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(4), 2381–2395. <https://doi.org/10.20959/wjpps20164-6581>
- Siegel, R. L., Miller, K. D., & Jemal, A. (2015). Cancer statistics, 2015. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 65(1), 5–29. <https://doi.org/10.3322/caac.21254>
- Siegel, R. L., Miller, K. D., & Jemal, A. (2019). Cancer statistics, 2019. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 69(1), 7–34.

<https://doi.org/10.3322/caac.21551>

- 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
- Suhaimi, S., Fadli, F., & Idris, M. (2019). uji toksisitas akut ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) dengan metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test). *Medical Sains : Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 4(1), 35–42. <https://doi.org/10.37874/ms.v4i1.121>
- Sulistiyarini, I., Sari, D. A., & Wicaksono, T. A. (2019). Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Batang Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*). *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*, 56–62.
- Sumartini, sumartini, Ikrawan, Y., & Muntaha, fauzan miftah. (2020). Analisis bunga telang (*Clitoria ternatea*) dengan variasi Ph metode liquid chromatograph-tandem mass spectrometry(LC-MS/MS). *Pasundan Food Technology Journal*, 7(2), 70–77. <https://doi.org/10.23969/pftj.v7i2.2983>
- 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. <https://doi.org/10.35799/jis.14.2.2014.6070>
- Susanti, ari diana, Ardiana, D., P, gita gumelar, & G, yosephin bening. (2012). Polaritas pelarut sebagai pertimbangan dalam pemilihan pelarut untuk ekstraksi minyak bekatul dari bekatul varietas ketan (*Oriza sativa* glatinosa). *Simposium Nasional RAPI XI FT UMS*, 8–14.
- Widiyastuti, Y., Marfuatush Sholikhah, I. Y., & Haryanti, S. (2019). Efek sitotoksik formula jamu daun sirsak, buah takokak, dan umbi bidara upas terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 9(2), 140–149. <https://doi.org/10.22435/jki.v9i2.1049>
- Widyani, M., Ulfa, M., & Wirasisya, dyke gita. (2019). *Efek penghambatan radikal bebas infusa dan ekstrak etanol herba pegagan (centella asiatica L.Urb) dengan metode DPPH*. 14(1), 100–106. <https://doi.org/10.29303/jpm.v14.i1.1006>

Lampiran 1. Jadwal Penelitian

Jadwal penelitian	Tahun 2022			Tahun 2023							Tempat	
	bulan ke 10	11	12	1	2	3	4	5	6	7		
1. Pencarian judul	✓											Kampus STIKes KARTRASA
2. Studi pustaka		✓										Kampus STIKes KARTRASA
3. Persiapan penelitian			✓									Kampus STIKes KARTRASA
a.Determinasi tanaman			✓									UPT Materia Medica
b.Pembuatan ekstrak (Maserasi)				✓								Kampus STIKes KARTRASA
4. Penelitian laboratorium					✓							STIKes KPB
a.Skrining fitokimia					✓							Laboratorium Botani KPB
b.Pengujian kadar senyawa (Spektro UV-Vis)					✓							Laboratorium UMM
a.Uji aktivitas antikanker						✓	✓					Laboratorium Mikrobiologi KPB
5. Pengumpulan dan analisis data							✓					Kampus STIKes KARTRASA
a.Penyusunan laporan								✓	✓			Kampus STIKes KARTRASA
b.Pengumpulan tugas akhir									✓			Kampus STIKes KARTRASA

Lampiran 2. Hasil determinasi tanaman majapahit (*Crescentia Cujete*)

**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 : 074/700/102.20-A/2022
Sifat : Biasa
Perihal : **Determinasi Tanaman Majapahit**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama / NIM : MAYA SRI ASHIRA / 1913206024
DIVA NURANZA / 1913206013
Fakultas : S1-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	: <i>Crescentia cujete</i>
Nama Umum	: Majapahit, mojopahit, mojo, maja, berenuk, berenuk (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
Habitat: 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 : Kulit 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, 31 Oktober 2022

**KETUA UPT LABORATORIUM HERBAL
MATERIA MEDICA BATU**


MUHAMMAD MABRUR, SKM, MKes.
PEMBINA
NIP. 19680203 199203 1 004

Lampiran 3. Dokumentasi Penelitian

1. Tanaman Majapahit



Tanaman Majapahit



Buah Majapahit



Kulit Buah Majapahit

2. Pembuatan Simplisia



Sortasi Basah Kulit Buah Majapahit



Pencucian Kulit Buah Majapahit



Perajangan Kulit Buah Majapahit



Sortasi Kering Kulit Buah Majapahit



Penyerbukan Kulit Buah Majapahit

3. Pembuatan Serbuk



Penimbangan Kulit Buah Majapahit Segar



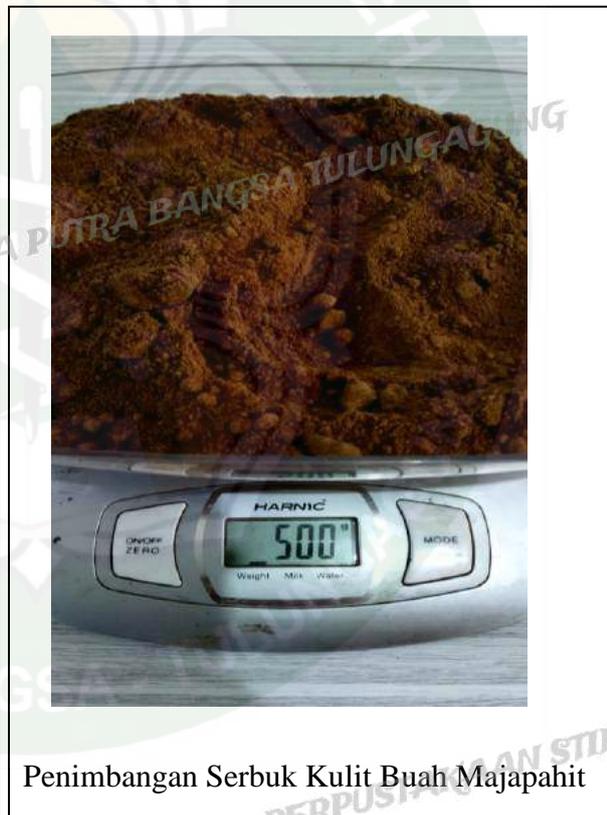
Perajangan Kulit Buah Majapahit



Simplisia Kering Kulit Buah Majapahit



Proses Pengayakan Serbuk Kulit Buah
Majapahit



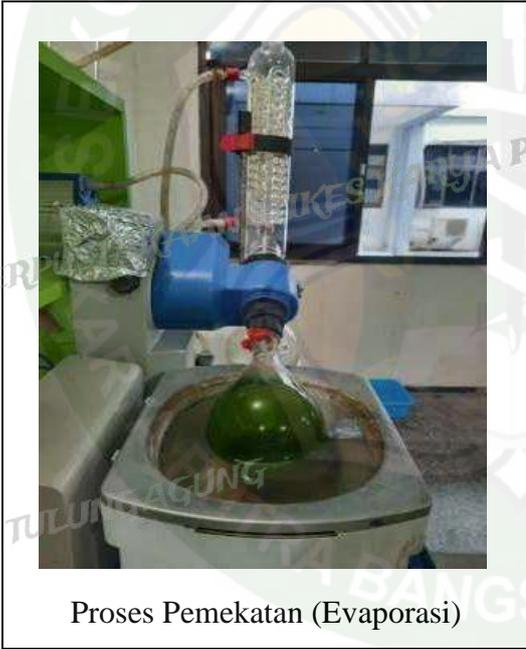
Penimbangan Serbuk Kulit Buah Majapahit



Proses Maserasi



Proses Penyaringan



Proses Pemekatan (Evaporasi)



Ekstrak Kental



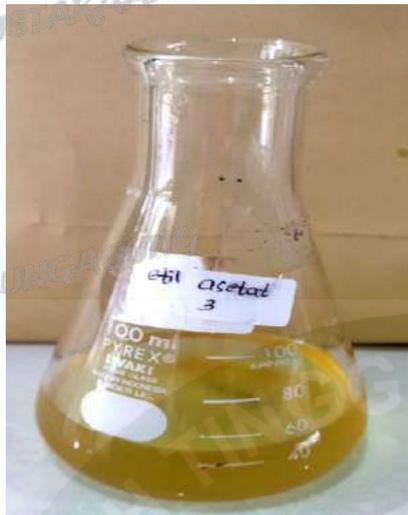
Ekstrak Kental



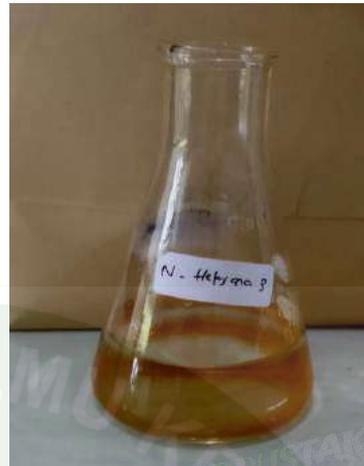
Fraksinasi



Hasil Fraksi Aquadest



Hasil Fraksi Etil Asetat



Hasil Fraksi N-Heksana

4. Skринning Fitokimia

a. Fraksi Etil Asetat

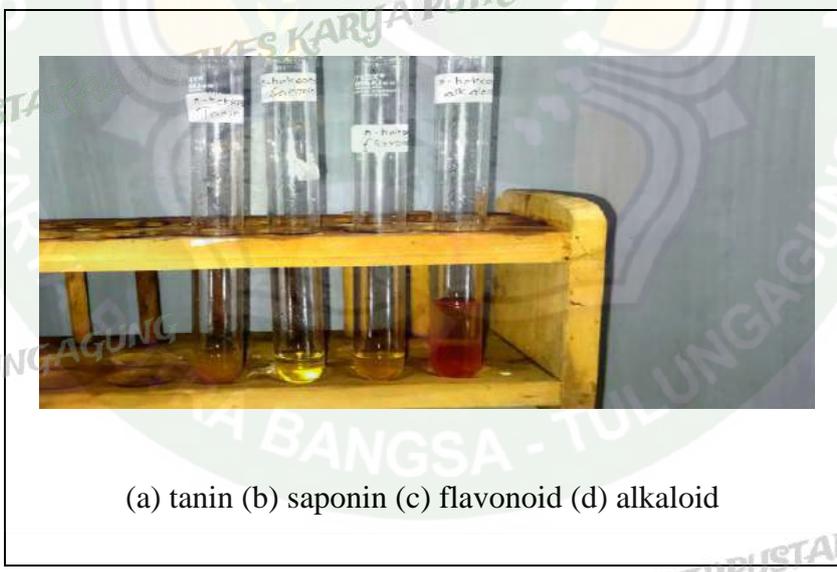


(a) tanin (b) saponin (c) flavonoid (d) alkaloid

b. Fraksi Aquadest



c. Fraksi N-Heksana



5. Uji Bebas Etanol



6. Uji Toksisitas

a. Pembuatan Konsentrasi



Seri Konsentrasi

b. Penetasan dan Pengujian



Lampiran 4. Orientasi pembuatan seri konsentrasi fraksi kulit 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

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

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

DMSO 1% = $1/100 \times 100 = 100 \text{ mg ekstrak} + 1 \text{ ml DMSO}$ di ad kan 100 ml air

laut buatan = 1 ml

Pengenceran konsentrasi :

1. 100 ppm

$$M_1.V_1 = M_2.V_2$$

$$100 \text{ ppm} . V_1 = 100 \text{ ppm} . 10 \text{ ml}$$

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

2. 200 ppm

$$M_1.V_1 = M_2.V_2$$

$$200 \text{ ppm} . V_1 = 200 \text{ ppm} . 10 \text{ ml}$$

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

3. 300 ppm

$$M_1.V_1 = M_2.V_2$$

$$300 \text{ ppm} . V_1 = 300 \text{ ppm} . 10 \text{ ml}$$

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

4. 400 ppm

$$M_1.V_1 = M_2.V_2$$

$$400 \text{ ppm} . V_1 = 400 \text{ ppm} . 10 \text{ ml}$$

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

5. 500 ppm

$$M_1.V_1 = M_2.V_2$$

$$500 \text{ ppm} . V_1 = 500 \text{ ppm} . 10 \text{ ml}$$

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

6. 600 ppm

$$M_1.V_1 = M_2.V_2$$

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

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

7. 700 ppm

$$M_1.V_1 = M_2.V_2$$

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

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

8. 800 ppm

$$M_1.V_1 = M_2.V_2$$

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

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

9. 900 ppm

$$M_1.V_1 = M_2.V_2$$

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

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

10. 1000 ppm

$$M_1.V_1 = M_2.V_2$$

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

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