

**UJI AKTIVITAS ANTIKANKER EKSTRAK ETANOL DAUN
JINTEN (*Plectranthus Amboinicus*) TERHADAP
Artemia Salina LEACH DENGAN METODE
BST (*Brine Shrimp Lethality Test*)**

SKRIPSI



Oleh :

IKA RACHUTAMI

1713206013

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

2021

**UJI AKTIVITAS ANTIKANKER EKSTRAK ETANOL DAUN
JINTEN (*Plectranthus Amboinicus*) TERHADAP
Artemia Salina LEACH DENGAN METODE
BST (*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 :

IKA RACHUTAMI

1713206013

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

2021

**UJI AKVIFITAS ANTIKANKER EKSTRAK ETANOL DAUN
JINTEN (*Plectranthus Amboinicus*) TERHADAP *Artemia Salina*
LEACH DENGAN METODE BST (*Brine Shrimp Lethality Test*)**

SKRIPSI

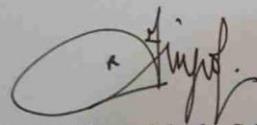
Yang diajukan oleh :

IKA RACHUTAMI

1713206013

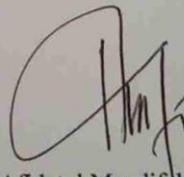
Telah disetujui oleh :

Pembimbing I,



Rahma Diyan Martha, S.Si., M.Sc.
NIDN. 0710029101

Pembimbing II,



Afidatul Muadifah, M.Si.
NIP. 0708039102

**UJI AKTIVITAS ANTIKANKER EKSTRAK ETANOL DAUN
JINTEN (*Plectranthus Amboinicus*) TERHADAP *Artemia Salina*
LEACH DENGAN METODE BST (*Brine Shrimp Lethality Test*)**

SKRIPSI

Oleh :

IKA RACHUTAMI

1713206013

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

Tanggal :

Ketua Penguji	: Rahma Diyan Martha, S.Si.,M.Sc.	(.....)
Anggota Penguji	: 1. Afidatul Muadifah, M.Si.	(.....)
	: 2. apt. Dhanang Prawira N., M.Farm	(.....)
	: 3. Apt. Ana Amalia, M.Farm	(.....)

Mengetahui,
Ketua STIKes Karya Putra Bangsa

dr. Denok Sri Utami, M.H
NIDN.07.05.09.66.01

PERNYATAAN ORISINALITAS

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, Juni 2021
Penulis,

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Ika Rachutami', written over a horizontal line.

Ika Rachutami

KATA PENGANTAR

Puji syukur atas kehadiran Tuhan Yang Maha Esa karena dengan rahmat, karunia, serta taufik dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antikanker Ekstrak Etanol Daun Jintan (*Plectranthus Amboinicus*) Terhadap *Artemia Salina* LECH Dengan Metode BST (*Brine Shrimp Lethality Test*)”, ini dengan baik meski masih terdapat banyak kekurangan di dalamnya.

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

1. Ibu Rahma Diyan Martha,S.Si.,M.Sc. selaku pembimbing I yang telah mendidik dan memberikan bimbingan selama penyusunan naskah.
2. Ibu Afidatul Muadifah,M.Si. selaku pembimbing II yang telah mendidik dan memberikan bimbingan selama masa penyusunan naskah.
3. Ibu Apt.Dara Pranidya Tilarso,M.Farm selaku Kaprodi STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung yang telah mendidik dan memberikan bimbingan selama masa perkuliahan.
4. Ayah, ibu, adik, om, tante, kakek dan nenek yang telah memberikan do'a, dukungan dan semangat selama penyusunan proposal.
5. Teman-teman semua terutama Miwin Nawang S. yang telah memberikan dukungan dan semangat selama penyusunan proposal.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, sehingga kritik dan saran yang bersifat membangun dari semua pihak sangat diharapkan untuk memperbaiki skripsi. Penulis berharap semoga skripsi ini bisa memberi manfaat bagi pembaca dan menambah pengetahuan bagi semua pihak. Terima kasih.

Tulungagung, Juni 2021



Penulis

UJI AKTIVITAS ANTIKANKER EKSTRAK ETANOL DAUN JINTEN (*Plectranthus Amboinicus*) TERHADAP *Artemia Salina* LEACH DENGAN METODE BST (*Brine Shrimp Lethality Test*)

IKA RACHUTAMI
Prodi S1 Farmasi

INTISARI

Penyakit kanker merupakan salah satu penyebab kematian utama di seluruh dunia. Ada banyak pengobatan yang dilakukan untuk penyakit kanker seperti kemoterapi, radiasi hingga pengobatan tradisional seperti penggunaan tanaman jinten. Tanaman jinten merupakan tanaman yang bersifat toksik terhadap sel kanker, hal tersebut dapat dilihat dari penelitian-penelitian yang ada, terutama pada bagian biji jinten. Meskipun demikian bagian lain tanaman jinten juga memiliki potensi yang sama, namun belum begitu banyak yang meneliti seperti pada bagian biji jinten. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui kandungan dan kadar senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antikanker pada ekstrak etanol daun jinten menggunakan spektrofotometer UV-Vis, dan untuk mengetahui kadar toksisitas akut (LC_{50}) yang terkandung dalam ekstrak etanol daun jinten terhadap larva *Artemia Salina* LEACH dengan metode BST. Pada penelitian kali ini menggunakan metode eksperimental. Ekstrak daun jinten diperoleh dengan cara maserasi menggunakan etanol 96%, yang kemudian diuji secara kualitatif dan kuantitatif. Pengujian toksisitas ekstrak daun jinten menggunakan konsentrasi 500ppm, 1000ppm, 1500ppm, 2000ppm dan 2500ppm yang diberikan pada larva *Artemia Salina* LEACH selama 24 jam dan menghitung nilai LC_{50} menggunakan analisis probit. Hasil pengujian secara kualitatif dan kuantitatif ekstrak daun jinten mengandung senyawa flavonoid sebesar 23,925%, senyawa tanin sebesar 8,208%, senyawa saponin sebesar 5,196%, dan senyawa alkaloid sebesar 4,371%. Sedangkan dari hasil pengujian toksisitas akut ekstrak etanol daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST) menghasilkan nilai LC_{50} sebesar 697,99ppm. Dari nilai LC_{50} yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) memiliki sifat yang toksik terhadap larva dan berpotensi sebagai antikanker dengan ditandai perolehan nilai $LC_{50} < 1000$ ppm.

Kata kunci : Antikanker, LC_{50} , Daun Jinten, Metode BST

TEST ANTICANCER ACTIVITY OF CUMIN LEAF ETHANOL EXTRACT (Plectranthus Amboinicus) AGAINST Artemia Salina LEACH BY BST METHOD (Brine Shrimp Lethality Test)

IKA RACHUTAMI
Pharmacy S1 Study Program

ABSTRACT

Cancer is one of the leading causes of death worldwide. There are many treatments done for cancer such as chemotherapy, radiation to traditional coronation such as the use of cumin plants. Cumin plant is a plant that is toxic to cancer cells, it can be seen from existing studies, especially on the part of cumin seeds. however, other parts of the cumin plant also have the same potential, but not so much researched as in the cumin seed section. The purpose of this study is to determine the content and levels of secondary metabolite compounds that have anticancer activity in cumin leaf ethanol extract using UV-Vis spectrophotometers, and to determine the level of acute toxicity (LC50) contained in cumin leaf ethanol extract against artemia salina LEACH larvae by BST method. In this study using experimental methods. Cumin leaf extract is obtained by maceration using ethanol 96%, which is then tested qualitatively and quantitatively. Testing the toxicity of cumin leaf extract using concentrations of 500ppm, 1000ppm, 1500ppm, 2000ppm and 2500ppm administered to artemia salina leach larvae for 24 hours and calculating LC50 values using probit analysis. Qualitative and quantitative testing results of cumin leaf extract contain flavonoid compounds of 23.925%, tannin compounds by 8.208%, saponin compounds by 5.196%, and alkaloid compounds by 4.371%. Meanwhile, from the results of acute toxicity test of cumin leaf ethanol extract (Plectranthus Amboinicus) using Brine Shrimp Lethality Test (BST) method resulted in LC50 value of 697.99ppm. From the lc50 value obtained it can be concluded that cumin leaf ethanol extract (Plectranthus Amboinicus) has toxic properties to larvae and potentially as an anticancer with marked lc50 value acquisition < 1000ppm.

Keywords: Anticancer, LC50, Cumin Leaves, BST Method

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PERSETUJUAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	v
INTISARI	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
DAFTAR SINGKATAN.....	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Bagi Peneliti	4
1.4.2 Bagi Instansi	4
1.4.3 Bagi asyarakat.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tanaman Jinten	5
2.1.1 Uraian Umum Tanaman Jinten	5
2.1.2 Deskripsi Tanaman Jinten.....	5
2.1.3 Kandungan Kimia Tanaman Jinten	6
2.2 Kanker	7
2.3 Uraian Metode Penyarian	8
2.4 Metode Identifikasi Senyawa	10

2.4.1 Flavonoid	10
2.4.2 Alkaloid	11
2.4.3 Saponin	12
2.4.4 Tanin	12
2.5 Spektrofotometri UV-Vis	13
2.5.1 Deskripsi Spektrofotometri UV-Vis	13
2.5.2 Prinsip Kerja Spektrofotometri UV-Vis	13
2.5.3 Faktor Yang menyebabkan kesalahan pengujian	14
2.5.4 Warna Komplementer	14
2.5.5 Penetapan kadar senyawa menggunakan spektrofotometri	
UV-Vis	15
2.5.5.1 Flavonoid	15
2.5.5.2 Alkaloid	15
2.5.5.3 Saponin	15
2.5.5.4 Tanin	16
2.6 Uraian <i>Artemia Salina</i> LEACH	16
2.6.1 Morfologi <i>Artemia Salina</i> LEACH	16
2.6.2 Lingkungan Hidup <i>Artemia Salina</i> LEACH	18
2.6.3 Penetasan <i>Artemia Salina</i> LEACH	18
2.6.4 Perkembangbiakan dan Siklus Hidup <i>Artemia Salina</i>	
LEACH	19
2.7 Uraian Toksisitas Terhadap <i>Artemia Salina</i> LEACH dengan	
Metode BST	19
2.8 Uraian metode BST dengan pengujian antikanker	21
BAB III METODE PENELITIAN	23
3.1 Alat dan Bahan	23
3.1.1 Alat	23
3.1.2 Bahan	23
3.2 Populasi Penelitian	23
3.3 Sampel Penelitian	23
3.4 Variabel Penelitian	23

3.4.1 Variabel Bebas	24
3.4.2 Variabel Kontrol	24
3.4.3 Variabel Terikat	24
3.5 Metode Penyarian	24
3.5.1 Determinasi Tanaman	25
3.5.2 Pembuatan Simplisia	25
3.5.3 Pemeriksaan Karakteristik Simplisia	25
3.5.3.1 Uji Susut Pengeringan Simplisia	25
3.5.3.2 Uji Kadar Air Serbuk Simplisia	25
3.5.4 Pembuatan Ekstrak Jinten	26
3.5.5 Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak	26
3.5.5.1 Uji Bebas Etanol	26
3.5.5.2 Rendemen	26
3.5.6 Skrinning Fitokimia	27
3.5.6.1 Saponin	27
3.5.6.2 Tanin	27
3.5.6.3 Alkaloid	27
3.5.6.4 Flavonoid	27
3.5.7 Uji Kadar Senyawa Ekstrak Daun Jinten menggunakan Spektrofotometri UV-Vis	28
3.5.7.1 Saponin.....	28
3.5.7.2 Tanin	28
3.5.7.3 Alkaloid.....	29
3.5.7.4 Flavonoid	30
3.5.8 Skrinning Potensi Antikanker dengan Metode BST	30
3.5.8.1 Pembuatan Air Laut Buatan	30
3.5.8.2 Penetasan <i>Siste Artemia Salina</i> LEACH.....	31
3.5.8.3 Pembagian Kelompok Perlakuan	31
3.5.8.4 Pelaksanaan Uji Toksisitas	31

3.5.9 Kerangka Penelitian	32
3.5.10 Jadwal Penelitian.....	33
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	34
4.1 Determinasi Tanaman	34
4.2 Pembuatan Simplisia	35
4.3 Pemeriksaan Karakteristik Simplisia	36
4.3.1 Uji Susut Pengeringan Simplisia	36
4.3.2 Uji Kadar Air Simplisia	36
4.4 Pembuatan Ekstrak Daun Jinten	37
4.5 Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak	38
4.5.1 Uji Bebas Etanol	38
4.5.2 Uji Rendemen	38
4.6 Skrinning Fitokimia	39
4.6.1 Uji Saponin	40
4.6.2 Uji Tanin	41
4.6.3 Uji Alkaloid	41
4.6.4 Uji Flavonoid	42
4.7 Penetapan Kadar Senyawa Ekstrak Daun Jinten dengan Spektrofotometri UV-Vis	42
4.8 Skrinning Potensi Antikanker dengan Metode BST	44
4.8.1 Pembuatan Air Laut Buatan	44
4.8.2 Penetasan <i>Siste Artemia Salina</i> LEACH	45
4.8.3 Uji Toksisitas dengan Metode BST	46
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	49
5.1 Kesimpulan	49
5.2 Saran	49
DAFTAR PUSTAKA	50
LAMPIRAN	55

DAFTAR TABEL

Tabel	
2.1 Radiasi elektromagnetik	13
2.2 Tabel warna komplementer dan panjang gelombang	15
2.3 Kategori toksisitas bahan	21
3.1 Pembagian kelompok perlakuan	31
3.2 Model tabel data probit analisis	32
4.1 Hasil uji susut pengeringan simplisia.....	36
4.2 Hasil uji kadar air simplisia serbuk daun jinten	36
4.3 Hasil uji bebas etanol daun jinten	38
4.4 Hasil rendemen ekstrak	38
4.5 Hasil skrining fitokimia	40
4.6 Tabel kadar senyawa ekstrak daun jinten	43
4.7 Tabel nilai probit ekstrak etanol daun jinten dengan menggunakan Microsoft excel	47

DAFTAR GAMBAR

Gambar

2.1 Tumbuhan jinten	6
2.2 Tahap penetasan <i>Artemia Salina</i> LEACH	16
2.3 Bagian-bagian tubuh <i>Artemia Salina</i> LEACH	17
3.1 Skema kerangka penelitian	33
4.1 Hasil pengamatan bebas etanol	38
4.2 Hasil pengamatan skrining fitokimia	40
4.3 Grafik regresi linier ekstrak etanol daun jinten terhadap nilai probit	47

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran

1. Hasil determinasi	55
2. Dokumentasi penelitian	56
3. Orientasi seri konsentrasi	59
4. Perhitungan nilai LC ₅₀	64
5. Jadwal penelitian.....	65
6. Alur prosedur kerja	66

DAFTAR SINGKATAN

BST = *Brine Shrimp Lethality Test*

LC₅₀ = Lethal Concentration 50

LD₅₀ = Lethal Dose 50

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit kanker merupakan suatu penyakit yang ditandai dengan pertumbuhan sel yang tidak terkontrol dan penyebaran sel yang tidak normal didalam tubuh (Rita and Suirta, 2008). Terdapat berbagai macam jenis kanker yang diberi nama sesuai dengan pertumbuhan kanker itu sendiri (Rita and Suirta, 2008). Mekanisme terjadinya penyakit kanker karena adanya kerusakan atau mutasi sel proto onkogen yang terikat dengan protein sehingga menghambat pertumbuhan sel normal (Winarsih hery, 2007).

Tahun 2012, kanker menjadi penyebab kematian sekitar 8,2 juta orang. Kanker paru, hati, perut, kolorektal, dan kanker payudara adalah penyebab terbesar kematian akibat kanker setiap tahunnya (KemenKes RI, 2015). Tahun 2018 tercatat 17 juta kasus kanker yang menyebabkan 9,5 juta kematian penduduk dunia disebabkan karena penyakit kanker (Robert *et al.*, 2019). Macam-macam terapi kanker yang dilakukan di Indonesia meliputi operasi, kemoterapi, radiasi, modulasi, hormon, pengobatan alternatif dan dengan meningkatkan sistem imun tubuh. Kelemahan dari terapi-terapi diatas dapat merusak sel-sel normal yang ada di dalam tubuh (Winarsih hery, 2007). Sehingga pengobatan secara tradisional atau herbal banyak digunakan oleh masyarakat. Selain obat tradisional atau obat herbal lebih aman dan ekonomis, obat tradisional atau obat herbal juga sudah terbukti khasiatnya secara klinis seperti vincristine (Rita and Suirta, 2008). Vincristine merupakan senyawa kimia golongan alkaloid vinca yang berasal dari tanaman vinca rosea yang memiliki mekanisme kerja menghambat sel mitosis sehingga menyebabkan sel mati (Jefrin Sambara and Ni Nyoman Yuliani, 2016).

Obat tradisional atau obat herbal merupakan bahan atau ramuan yang berasal dari tumbuhan, hewan, mineral, sediaan sari atau campuran yang

digunakan berdasarkan pengalaman secara turun-temurun (BPOM, 2005). Menurut beberapa peneliti obat tradisional atau obat herbal tidak menimbulkan efek samping yang tinggi karena mudah untuk dicerna dalam tubuh. Bagian tanaman yang biasa dijadikan obat tradisional atau obat herbal oleh masyarakat yaitu, akar, daun, batang, buah, bunga, rimpang (BPOM, 2005). Seperti akar alang-alang yang dapat digunakan untuk analgesik, kulit batang kayu manis dapat digunakan sebagai antihipertensi, tanaman seledri dapat digunakan sebagai antitoksisitas, daun jinten dapat digunakan sebagai antibakteri dan masih banyak lagi yang lainnya (Dwilana O., 2010). Salah satu sumber alam lokal yang berpotensi untuk pengobatan penyakit kanker adalah tanaman jinten (Susanti, 2014).

Tanaman Jinten dibudidayakan untuk menghasilkan biji jinten yang berkualitas sebagai rempah-rempah atau pelengkap masakan, selain itu biji jinten atau habatussaudah sudah banyak digunakan sebagai pengobatan secara herbal. Seperti artikel yang disusun oleh Susanti (2014) mengenai potensi timoquinon dari ekstrak biji jintan hitam untuk kanker serviks, artikel yang disusun oleh Puji (2012) mengenai aktivitas antiproliferatif jinten hitam pada sel paru tikus yang diinduksi 7,12-dimetilbenz-[a]antrasena (DMBA) dan masih banyak lagi. Pada bagian daun tanaman jinten juga terdapat berbagai golongan senyawa metabolit seperti flavonoid, saponin, alkaloid, minyak atsiri, polifenol (Muniroh, 2013) yang dapat berpotensi sebagai analgesik, antiradang, antibakteri dan lain sebagainya. Menurut penelitian Ling dan Feng, senyawa metabolit sekunder yang dimiliki daun jinten terbukti memiliki sifat yang beracun atau toksik terhadap mencit. Namun pada penelitian yang dilakukan oleh Lailatul, *et al.* (2013) dengan judul “efek anti radang dan toksisitas akut ekstrak daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) pada tikus yang diinduksikan arthritis” di mana mencit diuji secara *in vivo* dengan menggunakan ekstrak daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) berkadar 1900mg/kg, 2800mg/kg, 5000mg/kg kemudian dihitung LD₅₀nya. Meskipun demikian pada penelitian di atas belum menemukan hasil yang maksimal di mana belum ada mencit yang sampai mengalami 50% kematian setelah pemberian ekstrak, hal tersebut yang membuat peneliti belum bisa

melakukan perhitungan LD₅₀ dan melakukan pengamatan saja berdasarkan reaksi yang ditunjukkan mencit setelah pemberian ekstrak selama 24 jam. Sehingga perlu dilakukan pengembangan lagi baik dibagian peningkatan dosis ataupun metode yang digunakan.

Penelitian pada kali ini dilakukan terhadap ekstrak etanol daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) dengan tujuan untuk mengetahui apakah ekstrak etanol daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) memiliki sifat toksik terhadap larva artemia salina dengan menggunakan metode BST hingga diperoleh nilai LC50. Adanya kolerasi positif antara metode BST dengan uji sitotoksik menggunakan kultur sel kanker maka metode ini sering dimanfaatkan untuk skrining senyawa antikanker (Anderson, 1991). Metode BST ini memiliki beberapa keuntungan antara lain harganya yang terjangkau, kecepatan proses pengujiannya yang cepat, hasilnya yang tepat, metodenya yang sederhana dan bersifat reproduibel (Mayer *et al.*, 1982).

Berdasarkan uraian latar belakang diatas peneliti tertarik melakukan penelitian dengan judul “Uji Aktivitas Antikanker Ekstrak Etanol Daun Jinten (*Plectranthus Amboinicus*) Terhadap *Artemia Salina* Leach Dengan Metode BST (*Brine Shrimp Lethality Test*)”. Hasil analisa kualitatif dan kuantitatif mengenai senyawa potensial antikanker pada ekstrak daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) dapat diketahui, sehingga mempermudah proses lebih lanjut kearah pengembangan obat kanker berbasis senyawa bahan alam.

1.2 Rumusan Masalah

Sesuai dengan latar belakang yang telah dikemukakan diatas, maka yang menjadi permasalahan dalam penelitian ini adalah :

- a. Senyawa metabolit sekunder apa saja yang terkandung dalam ekstrak daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) yang memiliki aktivitas antikanker?
- b. Berapakah konsentrasi senyawa metabolit sekunder, yang memiliki aktivitas antikanker pada ekstrak etanol daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) menggunakan spektrofotometer UV-VIS?

- c. Berapakah nilai LC_{50} dari pengujian toksisitas akut ekstrak daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) menggunakan metode BST?

1.3 Tujuan Penelitian

- a. Untuk mengetahui metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antikanker pada ekstrak daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*).
- b. Untuk mengetahui berapa kadar konsentrasi senyawa metabolit sekunder, yang memiliki aktivitas antikanker pada ekstrak etanol daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) menggunakan spektrofotometer UV-VIS.
- c. Untuk mengetahui berapa kadar toksisitas akut (LC_{50}) yang terkandung dalam ekstrak etanol daun jinten terhadap larva *Artemia salina* dengan metode BST.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Peneliti

Penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan terkait adanya ketoksitasan ekstrak etanol daun jinten dan seberapa besar efek yang ditimbulkan terhadap larva *Artemia salina*.

1.4.2 Bagi Instansi

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah terkait hasil pengujian toksisitas ekstrak etanol daun jinten dengan nilai LC_{50} dalam metode BST, sebagai bahan referensi penelitian selanjutnya.

1.4.3 Bagi Masyarakat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan ilmiah terhadap masyarakat mengenai manfaat dari daun jinten yang memiliki kegunaan sebagai antikanker.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Jinten

2.1.1 Uraian umum tanaman jinten

Jinten termasuk dalam tanaman semak yang menjalar. Tumbuhan jinten ini banyak tumbuh di Afrika, Asia, dan Australia (Muniroh, 2013). Di wilayah Indonesia tanaman jinten banyak ditemukan di wilayah Sumatera, Bali dan Sulawesi. Masyarakat mengenal pohon jinten sebagai pohon bangun-bangun atau pohon torbangun yang memiliki lama hidup sekitar 3 sampai 10 tahun (Muniroh, 2013). Tanaman jinten sudah terkenal dalam dunia kesehatan baik dalam dunia penelitian. jinten merupakan salah satu tanaman yang mengandung senyawa-senyawa yang bersifat antioksidan, antibakteri, antiradang, antikanker seperti flavonoid, saponin, alkaloid, minyak atsiri, polifenol (Muniroh, 2013). Tanaman jinten dapat dibagi menjadi dua jenis yaitu (Yusarman, 2016) :

1. Jinten putih (*Cuminum cyminum*)
2. Jinten hitam (*Nigella sativa Linn*).

2.1.2 Deskripsi tanaman jinten

Klasifikasi tanaman jinten hitam menurut (Hutapea, 1994):

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Asteridae
Ordo	: Lamiales
Famili	: Lamiaceae
Genus	: <i>Plectranthus</i>
Species	: <i>Plectranthus Amboinicus (Lour.) Spreng.</i>



Gambar 2.1. Tumbuhan jinten (*Plectranthus Amboinicus*)
(Kemenkes RI, 2011).

Tanaman jinten merupakan tumbuhan herba yang dapat tumbuh lama sekitar tiga sampai sepuluh tahun (Muniroh, 2013). Tanaman jinten memiliki batang berkayu, lunak, ramping, bercabang, memiliki ruas, penampang bulat, diameter pangkal kurang lebih 15 mm, diameter tengah kurang lebih 10 mm, diameter ujung kurang lebih 5 mm dan tinggi batang mencapai 20 sampai 30 cm. Batang tanaman jinten yang masih muda memiliki rambut-rambut sedikit kasar, mudah patah dan patahan ruas batang mudah ditumbuhi akar (Muniroh, 2013). Untuk daun tanaman jinten memiliki bentuk bulat telur dengan panjang daun 5 sampai 10 cm, tepian daun bergerigi, merupakan daun tunggal yang tebal, dan memiliki tulang daun yang menyirip.

Tanaman jinten memiliki bunga yang majemuk, bentuk yang tandan, memiliki kelopak yang berbentuk mangkok, berwarna hijau keunguan, memiliki putik satu dan berwarna coklat pada bagian kepalanya (Syamsuhidayat, 1991). Tanaman jinten juga memiliki buah yang berbentuk oval mengerombol dengan panjang buah antara 4 sampai 5 mm yang tiap buah mengandung satu biji. Biji buah jintan memiliki bentuk yang menyerupai buah adas namun memiliki ukuran yang jauh lebih kecil dan berwarna gelap kehitaman. Akar tanaman jinten merupakan akar tunggang berwarna putih (Syamsuhidayat, 1991).

2.1.3 Kandungan kimia tanaman jinten

Jinten merupakan tumbuhan yang mampu digunakan atau dikembangkan sebagai obat herbal. Karena pada jinten banyak mengandung metabolit sekunder yang mempunyai aktivitas farmakologi dalam mengatasi berbagai macam

penyakit. Dengan adanya efek yang lebih besar antar senyawa metabolit sekunder menyebabkan efek farmakologi. Berdasarkan pada beberapa hasil penelitian menyatakan bahwa daun tanaman jinten (*Plectranthus Amboinicus*) mengandung senyawa metabolit skunder berupa flavonoid, saponin, alkaloid, minyak atsiri, polifenol (Muniroh, 2013).

2.2 Kanker

Kanker merupakan pertumbuhan jaringan secara berlebih atau poliferasse sel abnormal secara terus menerus yang memiliki kemampuan untuk menyerang dan merusak sel lainnya dengan cara jaringan sel-sel kanker menyusup ke jaringan sekitar (invasi) serta menyebar keseluruh jaringan (metastasis) (dewiani, 2015). Tahapan pembentukan sel kanker yaitu (dewiani, 2015) :

1. Inisiasi, terjadinya mutasi DNA akibat pembentukan metabolit reaktif yang berikatan secara kovalen dengan DNA.
2. Promosi, perubahan fungsi seluler serta pertumbuhan neoplasma.
3. Progresif, manifestasi pertumbuhan tumor menjadi kanker dengan invasi dan metastasis.

Terdapat empat fase dalam siklus sel organisme eukariotik, yaitu :

1. Fase Gap (G1) atau fase pascamitosis, fase awal sintesis asam ribonukleat dan protein.
2. Fase sintesis (S), fase replikasi annin DNA sampai dihasilkan dua set komplit DNA.
3. Fase Gap (G2) atau fase pramitosis, fase persiapan memasuki fase mitosis.
4. Fase mitosis (M), fase material inti diturunkan annin pada sel anak dengan pembagian sel kromosom hingga dihasilkan dua sel anak.

Pada sel kanker jumlah sel P53 berkurang atau bahkan tidak ada karena adanya mutasi, sehingga sel tidak bisa memasuki fase G0 sehingga sel akan terus membelah karena siklus sel terjadi terus menerus tanpa ada jangka waktu (dewiani, 2015).

Ada beberapa karsinogen yang diduga dapat menimbulkan resiko terjadinya kanker, seperti faktor fisika (radiasi, radioterapi, dsb), virus (hepatitis B, C, dsb),

hormon dan senyawa kimia (dewiani, 2015). Sedangkan menurut mekanisme biokimia penyakit kanker disebabkan oleh dua faktor, yaitu karena sters oksidatif dan radikal hidroksil. Pada keadaan stres oksidatif yang muncul terjadi karena tidak ada keseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan (dewiani, 2015).

Tubuh juga memproduksi radikal bebas yang berfungsi untuk memberi sinyal dalam melakukan apoptosis atau kematian sel yang terprogram (Pawarta, 2014). Namun jumlah radikal bebas yang berlebihan dalam tubuh dapat menyebabkan rusaknya regulasi, rusaknya aktivitas sel bahkan rusaknya DNA (Pawarta, 2014). DNA yang rusak mengakibatkan perubahan genetic secara permanen bahkan dapat menginisiasi terjadinya kanker (Reynertson, 2007). Adanya radikal berlebih dalam tubuh dapat dicegah dengan senyawa antioksidan baik itu alami maupun sintetis (dewiani, 2015). Senyawa antioksidan alami dapat diperoleh dari bahan-bahan yang mengandung senyawa flavonoid golongan flavonon sebagai zat antimutagenik, antiinflamasi, antiviral dan antikanker (Pawarta, 2014).

Diduga senyawa tannin juga memiliki sifat preventif kepada kanker, dimana proliferasi sel tumor dihambat dengan cara menginduksi penahanan siklus sel dan dengan menginduksi apoptosis. Selain itu macam-macam vitamin dalam ekstrak juga berfungsi sebagai antioksidan sehingga dapat mengurangi sters oksidatif akibat agen beracun dan menurunkan perkembangan sel kanker. Macam vitamin dalam ekstrak daun jinten seperti vitamin A, B dan C.

2.3 Uraian Metode Penyarian

Penyarian atau ekstraksi merupakan proses pemisahan dan juga pemindahan massa aktif yang semula didalam sel ditarik keluar oleh pelarut, sehingga zat-zat yang terlarut akan terpisah dengan bahan-bahan yang tidak terlarut (Prawirodiharjo E., 2014). Metode penyarian atau ekstraksi dapat dibedakan menjadi dua yaitu dengan cara dingin dan dengan cara panas. Pada penelitian ini menggunakan cara dingin yaitu metode maserasi.

Metode maserasi merupakan proses pemisahan senyawa dengan pelarut melalui penyaringan (Prawirodiharjo E., 2014). Maserasi juga dapat diartikan

sebagai perendaman sampel menggunakan pelarut organik pada suhu ruangan dengan beberapa kali pengadukan (Prawirodiharjo E., 2014). Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif kemudian zat aktif akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel maka larutan yang terpekat akan terdesak ke luar, peristiwa tersebut berulang hingga terjadi keseimbangan (Prawirodiharjo E., 2014). Maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengandung zat yang mudah mengembang dalam cairan penyari, tidak mengandung benzoin, stirak dan lain-lain (BPOM, 2014).

Kekurangan dari metode ini yaitu tidak semua bahan alam dapat diambil senyawanya, selain itu pelarut yang digunakan juga cukup banyak (Prawirodiharjo E., 2014). Namun metode ini sangat menguntungkan karena peralatan yang mudah ditemukan, pengerjaannya yang sederhana dan senyawa yang bersifat termostabil akan terlarut dengan baik (Hargono, 2015). Senyawa termostabil dapat terlarut dengan baik karena adanya isolasi senyawa akibat pemecahan dinding atau membran sel, berdasarkan perbedaan tekanan didalam dan di luar sel sehingga membuat metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik secara sempurna. Senyawa yang dihasilkan dalam metode ini sangat baik karena lama perendamannya dapat diatur (Mardisiswoyo, 1965).

Pelarut merupakan suatu zat yang berfungsi sebagai media penarik atau pengikat zat lain agar ikut terbawa oleh pelarut tersebut (Prawirodiharjo E., 2014). Sebuah pelarut dapat dikatakan baik, apabila memiliki toksisitas yang rendah, dapat mengawetkan, dapat menguap dengan mudah dan dapat mengekstraksi senyawa dengan mudah (Prawirodiharjo E., 2014). Pelarut yang digunakan dalam metode maserasi ini yaitu pelarut etanol.

Etanol (C_2H_5OH) memiliki nama lain etil alkohol, hidroksietana, alkohol murni, dan alkohol absolut. Etanol merupakan molekul yang sangat polar karena adanya gugus hidroksil (OH) dengan ke elektro negatifan oksigen yang sangat tinggi yang menyebabkan terjadinya ikatan hidrogen dengan molekul lain,

sehingga etanol dapat berikatan dengan molekul polar dan molekul ion. Gugus etil (C_2H_5) pada etanol bersifat non-polar, sehingga etanol dapat berikatan juga dengan molekul non-polar. Oleh karena itu, etanol dapat melarutkan baik senyawa polar maupun non-polar. Etanol memiliki titik didih $78,4^0C$, dan tidak berwarna (Astarina, 2013). Menurut Astarina (2013), etanol 96 % merupakan pelarut terbaik untuk senyawa yang mempunyai berat molekul rendah seperti flavonoid, saponin dan alkaloid. Etanol 96% menghasilkan rendemen ekstrak paling besar sebanyak 38,2167%, hal tersebut menunjukkan etanol 96% memiliki kemampuan mengekstrak senyawa yang lebih baik. Semakin tinggi konsentrasi pelarut semakin besar kadar senyawa yang tertarik dalam pelarut (Siti, 2009).

2.4 Metode Identifikasi Senyawa

2.4.1 Flavonoid

Flavonoid merupakan sebuah senyawa yang terdapat pada tanaman yang mempunyai struktur kimia C6-C3-C6 yang tersusun oleh 15 atom karbon sebagai inti dasarnya (Prawirodiharjo E., 2014). Flavonoid adalah senyawa yang paling kuat dan sebagai antioksidan paling efektif digunakan pada manusia. Kegunaan flavonoid sebagai antioksidan, anti aterosklerosis, antiplatelet, antivirus, antiinflamasi, antiarthritis, antidiare, antikanker, dan antibakteri (Pawarta, 2014). Senyawa ini merupakan sebuah zat berwarna merah, ungu, dan biru serta sebagian ditemukan pada tumbuhan dengan z berwarna kuning (Prawirodiharjo E., 2014).

Mekanisme kerja flavonoid sebagai antikanker dengan pengaktifan jalur apoptosis sel kanker merupakan proses fragmentasi DNA yang diawali dengan dilepasnya rantai proksimal DNA oleh senyawa oksigen reaktif seperti radikal hidroksil (Pawarta, 2014). Flavonoid sebagai penghambat proliferasi tumor atau kanker yang salah satunya dengan menginhibisi aktivitas protein kinase sehingga menghambat jalur transduksi sinyal dari membran sel ke dalam inti sel.

Identifikasi senyawa flavonoid menggunakan reaksi warna bisa menggunakan beberapa cara, seperti cara-cara dibawah ini :

- a. Pengujian shinoda satu, dimana larutan sampel ditambahkan 2-3 tetes etanol, serbuk magnesium dan beberapa tetes asam klorida 5 M. Bila timbul

warna jingga atau orange maka sampel mengandung flavonol, flavonoid, dihidroflavonol.

- b. Pengujian shinoda dua, dimana larutan sampel diuapkan hingga kering kemudian ditambahkan 2-3 tetes etanol, serbuk Zn dan beberapa tetes asam klorida 5 M. Bila timbul warna merah hingga warna merah lembayung maka sampel mengandung dihidroflavonol, sedangkan bila tidak berwarna maka mengandung flavonol, dan bila berwarna merah muda lemah maka mengandung flavonoid.
- c. Pengujian dengan larutan besi (III) klorida, dimana larutan sampel ditambahkan larutan besi (III) klorida. Bila timbul warna hijau biru maka larutan sampel mengandung flavonoid yang mengandung gugus hidroksil bebas pada cincin A dan B.
- d. Pengujian dengan diuapkan, dimana larutan sampel yang akan digunakan diuapkan kemudian ditambahkan 1 ml etanol, 10 mg natrium borohidrida, 2 tetes asam klorida 2 N setelah itu diamkan selama 1 menit. Setelah proses pendiaman ditambahkan beberapa tetes asam klorida pekat. Apabila muncul perubahan warna atau timbul warna baru yaitu warna lembayung maka sampel mengandung flavonon.
- e. Pengujian dengan timbal asetat, dimana larutan sampel ditambahkan timbal asetat beberapa tetes. Bila timbul endapan biru maka larutan sampel mengandung flavonoid.

2.4.2 Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa yang mengandung paling sedikit satu buah atom nitrogen dan berasal dari bagian cincin heterosiklik yang memiliki sifat basa (Lenny, 2006). Alkaloid pada tanaman dapat berbentuk amin, primer, skunder, tersier maupun kuarter dan bentuk tersebut yang menentukan kebiasaan alkaloid (Robby C., 2009). Beberapa senyawa alkaloid bersifat racun untuk organisme lain (Robby C., 2009). Menurut Tiwari and Kumar, pada tahun 2011 identifikasi alkaloid dengan reaksi warna dapat dilakukan dengan cara :

- a. Pengujian meyer (*mercuri potassium iodide*), bila terdapat endapan kuning maka sampel mengandung alkaloid.

- b. Pengujian wagner (*iodine potassium iodide*), bila terdapat endapan coklat kemerahan maka sampel mengandung alkaloid.
- c. Pengujian dragendroff (*larutan potassium bismuth iodide*), bila terdapat endapan jingga maka terkandung alkaloid didalamnya.
- d. Pengujian hager (*larutan asam pikrat jenuh*), bila terdapat endapan kuning maka sampel mengandung alkaloid.

2.4.3 Saponin

Saponin mempunyai rumus molekul $C_{27}H_{42}O_3$ dan mempunyai titik didih yang sangat tinggi, sampai mencapai $158^{\circ}C$ (Simbolon and Yelmir M., 2018). Saponin disebut juga *nonvolatilem* dan sangat larut dalam air panas ataupun dingin serta alkohol, tetapi membentuk busa koloidal dalam air dan mempunyai sifat deterjen yang baik (Simbolon and Yelmir M., 2018).

Senyawa saponin mempunyai mekanisme antibakteri dengan menurunkan aktivitas enzim pencernaan serta penyerapan makanan (*stomach poisoning*). Menurut Tiwari dan Kumar (2011) identifikasi saponin dapat dilakukan dengan cara :

- a. Pengujian buih, dimana ekstrak diencerkan dengan aquades sebanyak 20 ml kemudian dikocok selama 15 menit. Bila terdapat busa setinggi 1 cm maka sampel mengandung saponin
- b. Pengujian busa, dimana ekstrak dicampur dengan air dengan perbandingan 1 : 4. Jika terbentuk busa dan dapat bertahan selama 10 menit maka sampel mengandung saponin.

2.4.4 Tanin

Senyawa tanin merupakan senyawa yang bersifat polar karena adanya gugus OH (Siti, 2009). Tanin mempunyai titik didih $1271^{\circ}C$, tanin merupakan suatu golongan senyawa polifenol yang banyak dijumpai pada tanaman (Siti, 2009). Umumnya tanin tersebar pada bagian tanaman spesifik seperti pada bagian kulit kayu, batang, daun, serta buahnya. Tanin mempunyai khasiat sebagai astringent, antidiare, antibakteri, antioksidan, dan antihiperurisemia (Patricia and Mahatmanti, 2019).

Mekanisme senyawa tanin dalam antikanker sebagai racun perut, menyebabkan aktivitas enzim terhambat dengan pembentukan ikatan kompleks protein pada enzim substrat yang dapat menyebabkan gangguan pencernaan dan merusak dinding sel. Sehingga larva *Artemia salina* tidak memiliki nafsu makan secara perlahan. Identifikasi tanin dapat dilakukan dengan ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl_3 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kebiruan atau hitam hijau (Boroco Celosia et al., 2006). Senyawa tanin juga dapat diuji menggunakan larutan fenozon. Bila muncul endapan maka sampel mengandung tannin (Hargono, 2015).

2.5 Spektrofotometri UV-Vis

2.5.1 Deskripsi spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-VIS merupakan alat yang digunakan mengukur serapan yang dihasilkan dari interaksi kimia antara radiasi elektromagnetik dengan molekul atau atom suatu zat kimia pada daerah UV-VIS (BPOM, 2005). Kelebihan spektrofotometer dengan fotometer merupakan dapat mendeteksi panjang gelombang dari sinar putih sebagai pengurai warna-warna, pada panjang gelombang tertentu di fotometer filter (gandjar I.G., 2007).

2.5.2 Prinsip kerja spektrofotometri UV-VIS

Spektrofotometer UV-VIS merupakan teknik analisis spektroskopik yang memiliki sumber radiasi elektromagnetik ultraviolet dengan panjang gelombang 190 – 380nm dan sinar tampak 380 – 780 nm dengan instrumen spektrofotometer (Mulja and Suharman, 1995).

Tabel 2.1 Radiasi elektromagnetik (Mulja and Suharman, 1995).

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

Spektrofotometer UV-VIS merupakan metode analisa yang dapat digunakan sebagai analisis secara kualitatif dan kuantitatif. Hal-hal yang harus diperhatikan untuk analisa secara kuantitatif adalah (Nurul A., 2016):

- a. Membandingkan λ maksimum
- b. Membandingkan serapan (A), daya serap (a)
- c. Membandingkan spektrum serapan

Prinsip dari spektrofotometri UV-VIS adalah mengukur jumlah cahaya yang diabsorpsi atau ditransmisikan oleh molekul-molekul didalam larutan dimana panjang gelombang yang ditransmisi oleh larutan sebagian energi cahaya akan diabsorbansikan (Nurul A., 2016).

2.5.3 Faktor yang menyebabkan kesalahan pengujian

Faktor-faktor yang menyebabkan kesalahan dalam mengukur konsentrasi menggunakan spektrofotometer (gandjar I.G., 2007):

- a. Adanya serapan pelarut, dimana dapat diatasi dengan penggunaan blanko.
- b. Serapan kuvet, dimana menggunakan kuvet berbahan kaca atau kuarsa.
- c. Kesalahan pengukuran fotometrik normal dengan absorbansi sangat rendah atau sangat tinggi, dimana dapat diatasi dengan pengaturan konsentrasi, sensitivitas alat yang digunakan.

2.5.4 Warna komplementer

Warna komplementer merupakan cahaya putih yang dilewatkan melalui larutan berwarna sehingga membuat radiasi dengan panjang gelombang tertentu akan diserap secara selektif dan radiasi sinar lainnya akan diteruskan (gandjar I.G., 2007). Absorbansi maksimum dari larutan berwarna, terjadi pada daerah warna yang berlawanan dengan warna yang diamati, dengan kata lain warna yang diserap merupakan warna komplementer dari warna yang diamati (gandjar I.G., 2007). Berikut beberapa warna komplementer yang dapat diserap spektrofotometer UV-VIS (gandjar I.G., 2007):

Tabel 2.2 Tabel warna komplementer dan panjang gelombang (gandjar I.G., 2007).

Panjang gelombang (nm)	Warna-warna yang diserap	Warna komplementer (warna yang terlihat)
< 400	Ultraviolet	-
400 – 435	Ungu	Hijau kekuningan
435 – 480	Biru	Kuning
480 – 490	Biru kehijauan	Jingga
490 – 500	Hijau kebiruan	Merah
500 – 560	Hijau	Unggu kemerahan
560 – 580	Hijau kekuningan	Unggu
595 – 610	Jingga	Biru kehijauan
610-750	Merah	Hijau kebiruan
> 750	Inframerah	-

2.5.5 Penetapan kadar senyawa menggunakan spektrofotometer UV-VIS

2.5.5.1 Flavonoid

Penetapan kadar flavonoid total dengan cara ekstrak kental daun jinten dilarutkan dengan metanol p.a sambil diaduk hingga membentuk larutan yang akan dianalisis secara kuantitatif dengan spektrofotometri UV-VIS pada range panjang gelombang 510nm. Pada penetapan kadar flavonoid total menggunakan larutan pembanding berupa quersetin (April, 2019).

2.5.5.2 Alkaloid

Penetapan kadar alkaloid total dengan cara sampel daun jinten 0,106 gram dilarutkan dengan metanol p.a sambil diaduk hingga membentuk larutan yang akan dianalisis secara kuantitatif dengan spektrofotometri UV-VIS pada range panjang gelombang 470nm. Pada penetapan kadar alkaloid total menggunakan larutan pembanding berupa magnoflorine (Nurul A., 2016).

2.5.5.3 Saponin

Penetapan kadar saponin total dengan cara ekstrak kental daun jinten dilarutkan dengan metanol p.a sambil diaduk hingga membentuk larutan yang akan dianalisis secara kuantitatif dengan spektrofotometri UV-VIS pada range panjang gelombang 645nm. Pada penetapan kadar saponin total menggunakan larutan pembanding berupa saponin (Suharto *et al.*, 2012).

2.5.5.4 Tanin

Penetapan kadar tanin total dengan cara ekstrak kental daun jinten sebanyak 0,106 gram dilarutkan dengan metanol p.a sambil diaduk hingga membentuk larutan yang akan dianalisis secara kuantitatif dengan spektrofotometri UV-VIS pada range panjang gelombang 620nm. Pada penetapan kadar tanin total menggunakan larutan pembanding berupa tannic acid (Yenti, 2014).

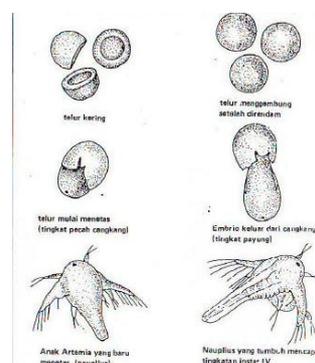
2.6 Uraian *Artemia Salina Leach*

Brine shrimp atau yang sering dikenal sebagai *artemia* merupakan jenis udang-udangan yang primitif, dimana pada tahun 1778 bernama *cancer salinus* yang diubah lagi menjadi *artemia salina* oleh leach mulai tahun 1819 (Yuliantini, 2001). Pada penelitian ini *Artemia salina* Leach yang digunakan termasuk dalam familia Artemidae (Yuliantini, 2001).

2.6.1 Morfologi *artemia salina leach*

Menurut Mudjiman A. (1988), klasifikasi *Artemia Salina Leach* yaitu :

Kingdom	: Animal
Sub kingdom	: Metazoa
Filum	: Arthropoda
Kelas	: Crustaceae
Ordo	: Anostraca
Famili	: Artemidae
Genus	: Artemia
Spesies	: Artemia salina Leach



Gambar 2.2. Tahap penetasan *Artemia salina Leach* (Mudjiman, 1991).

Morfologi *Artemia salina* Leach yaitu (Mudjiman, 1991):

a. Telur

Telur *Artemia salina* Leach disebut dengan *siste*. Siste merupakan embrio yang diselubungi dengan cangkang yang tebal dan juga kuat. Cangkang pada telur berfungsi untuk melindungi embrio dari segala mara bahaya seperti benturan, sinar ultraviolet, kekeringan ataupun keadaan ekstrim lainnya.

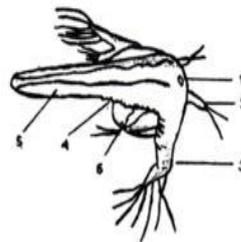
b. Burayak

Burayak atau larva *Artemia salina* Leach disebut dengan nauplius. Burayak merupakan larva yang menetas dari telur dalam waktu 24 sampai 36 jam dalam air laut bersuhu 25⁰C. Sebelum burayak dapat menjadi *Artemia* dewasa, burayak akan mengalami metamorfosis (perubahan bentuk) sebanyak 15 kali.

c. *Artemia* Dewasa

Artemia dewasa merupakan *Artemia salina* Leach yang bentuknya sudah sempurna yang tidak mengalami metamorfosis lagi. *Artemia* dewasa memiliki bentuk menyerupai udang kecil dengan panjang sekitar 1 cm dan beratnya 10 mg. *Artemia* dewasa memiliki bagian kepala yang lebih besar daripada bagian tubuh yang lain (mengecil sampai ke bagian ekor), dikepalanya terdapat sepasang antanula (sungut) dan juga sepasang mata. Panjang ekor *Artemia* dewasa mencapai sepertiga dari total panjang tubuh yang dimilikinya. Pada bagian tubuh terdapat sebelas pasang torakopoda (kaki) dan terdapat sepasang kelamin diantara ekor dan pasangan kaki.

- Keterangan
1. Mata nauplius
 2. Antennula
 3. Antena
 4. Calon thoracopoda
 5. Saluran pencernaan
 6. mandibula



Gambar 2.3. Bagian-bagian tubuh *Artemia salina* Leach (Mudjiman, 1991).

2.6.2 Lingkungan hidup *artemia salina leach*

Di alam, pertumbuhan *Artemia salina Leach* ditemukan pada danau garam dan perairan pantai bersalinitas tinggi antara 15-300 per mil (Mudjiman A., 1988). Pada kadar garam yang tinggi *Artemia salina Leach* dapat hidup dengan baik, karena tidak semua jenis hewan laut dapat hidup pada air berkadar garam yang tinggi meskipun begitu pada perkembangan biakan telur *Artemia salina Leach* membutuhkan air dengan kadar garam yang lebih rendah (Mudjiman A., 1988). *Artemia salina Leach* dapat bertahan hidup dengan baik pada suhu 25⁰C sampai 30⁰C dan tidak dapat hidup pada suhu kurang dari 35⁰C atau lebih dari 60⁰C (Mudjiman, 1991). Untuk telur *Artemia salina Leach* yang kering dapat bertahan pada suhu -237⁰C dan 100⁰C (Mudjiman, 1991).

Kandungan oksigen terlarut yang baik untuk pertumbuhan *Artemia salina Leach* mendekati titik jenuh, yaitu sekitar 3 mg/L (Mudjiman A., 1988). Meskipun *Artemia salina Leach* sangat pandai menyesuaikan diri dalam berapapun kadar oksigen terlarut yang ada namun pada kadar tersebut pertumbuhan *Artemia salina Leach* sangan baik (Mudjiman A., 1988). Untuk kadar PH pada *Artemia salina Leach* dewasa belum diketahui pasti, namun pada telur *Artemia salina Leach* sangat bagus pada kondisi PH 8 sampai 9 (Mudjiman A., 1988). Apabila kadar PH pada proses penetasan telur *Artemia salina Leach* kurang dari itu akan menyebabkan penurunan dimana, siste (telur) akan mengalami waktu penetasan yang lama atau bahkan tidak menetas (Mudjiman A., 1988).

2.6.3 Penetasan *artemia salina leach*

Tahapan penetasan telur *Artemia salina Leach* menurut Mudjiman A. (1988), yaitu :

1. Pembuatan air garam berkadar 5 per mil

Telur-telur *Artemia salina Leach* dapat ditetaskan dalam air laut atau dengan air laut buatan berkadar 5 per mil. Agar PH air laut yang digunakan stabil, bisa menambahkan 2 gram/l natrium hidrokarbonat.

2. Pencucian telur *Artemia salina Leach*

Telur *Artemia salina Leach* direndam menggunakan air tawar selama 1 jam kemudian disaring sambil disemprot air tawar kemudian ditiriskan hingga

kering. Setelah kering dimasukkan sebanyak 5 sampai 7 g/l kedalam ruang penetasan atau ruang yang telah diberi air garam dengan kadar 5 per mil.

3. Pengontrolan

Pengontrolan suhu dan juga kandungan oksigen terlarut dengan suhu 25⁰C sampai 30⁰C dan kandungan oksigen terlarut sebanyak 2 mg/l.

2.6.4 Perkembangbiakan dan siklus hidup artemia salina leach

Bila berdasarkan perkembangbiakannya *Artemia salina Leach* dibedakan menjadi dua yaitu jenis biseksual dan jenis partenogenetik. Baik jenis biseksual maupun jenis partenogenetik dapat terjadi secara ovipar maupun ovovivipar (Mudjiman, 1991). Perkembangbiakan *Artemia salina Leach* secara ovovivipar terjadi karena keadaan lingkungan yang baik, namun apabila keadaan lingkungan memburuk maka akan terjadi oviparitas. Meskipun demikian cangkang pada telur *Artemia salina Leach* dapat melindungi embrio didalamnya sehingga dalam keadaan buruk akan mengalami diapause dan aktif kembali pada keadaan lingkungan yang baik (Mudjiman, 1991). *Artemia salina Leach* dewasa dapat berkembang biak atau bertelur selama empat sampai lima hari sekali sebanyak 50 sampai 300 butir telur. *Artemia salina Leach* menjadi dewasa setelah berusia 14 hari dan dapat hidup sampai enam bulan (Mudjiman, 1991).

2.7 Uraian Toksisitas Terhadap Artemia Salina Leach Dengan Metode BST

Toksisitas merupakan suatu sifat yang digunakan untuk perbandingan antar zat, dimana terdapat pemaparan informasi mengenai efek toksik atau menilai batas keamanan suatu senyawa (Loomis, 1978). Toksisitas juga dapat diartikan sebagai suatu keadaan yang menandai adanya efek toksik atau racun yang terdapat pada bahan sebagai sediaan single dose atau campuran (Donatus, 1990). Pengukuran tingkat ketoksikan suatu senyawa dapat dilakukan dengan cara kuantitatif. Toksisitas sendiri tidak begitu bersifat informatif bila berdiri sendiri atau informasi yang diberikan tidak begitu kuat namun jika ditambahkan dengan informasi lain seperti mekanisme biologi, maka informasi toksisitas sangat kuat (Loomis, 1978). Berdasarkan sumbernya zat toksik dapat dibedakan menjadi dua, yaitu zat toksik buatan atau sintetik dan zat toksik dari alam.

Secara umum uji toksisitas dapat dikelompokkan menjadi uji toksisitas jangka pendek/akut, dan uji toksisitas jangka panjang. Uji toksisitas akut dimaksudkan untuk mendapatkan informasi tentang gejala keracunan, penyebab kematian, urutan proses kematian dan rentang dosis yang mematikan hewan uji. Uji toksisitas akut merupakan efek yang merugikan, segera sesudah pemberian suatu bahan sebagai dosis tunggal atau berulang yang diberikan dalam 24 jam (Donatus, 1990). LC_{50} ditetapkan sebagai tanda yang dapat menyebabkan kematian 50% hewan uji (Panjaitan, 2011). Jumlah kematian hewan uji dipakai sebagai ukuran untuk efek toksik suatu bahan (kimia) pada sekelompok hewan uji. Jika dalam hal ini hewan uji dipandang sebagai subjek, respon berupa kematian tersebut merupakan suatu respon diskretik. Ini berarti hanya ada dua macam respon yaitu ada atau tidak ada kematian (Donatus, 1990).

Dalam menentukan toksisitas suatu senyawa baru, persiapkan satu kisaran dosis kasar yang akan diberikan pada hewan coba dengan takaran empat tingkat dosis dimana dosis terendah merupakan dosis yang tidak membuat hewan coba mengalami efek kematian hingga dosis tertinggi membuat hewan coba mengalami efek kematian secara keseluruhan atau sebagian besar hewan coba (Donatus, 1990). Pengamatan yang dilakukan berupa pengamatan gejala seperti gejala klinis, pengamatan histopatologi tubuh hewan coba, jumlah kematian hewan coba, dan lain sebagainya sehingga diperoleh data kumulatif yang dinyatakan dengan LD_{50} (*median lethal dose*) atau LC_{50} (*median lethal concentration*). Penulisan LC_{50} harus disertai hari, bilamana tidak disertakan maka akan dianggap proses pengerjaan selama 24 jam (Loomis, 1978). Jangka waktu dan frekuensi paparan (Panjaitan, 2011).

- a. Akut : pemaparan bahan kimia selama kurang dari 24 jam
- b. Sub akut : pemaparan berulang terhadap suatu bahan kimia untuk jangka waktu 1 bulan atau kurang
- c. Subkronik : pemaparan berulang terhadap suatu bahan kimia untuk jangka waktu 3 bulan
- d. Kronik : pemaparan berulang terhadap bahan kimia untuk jangka waktu lebih dari 3 bulan.

Efek toksik yang ditimbulkan oleh suatu zat sangat bervariasi, tergantung dari zat, target organ, mekanisme aksi, dan besarnya dosis. Semua efek toksik yang terjadi dimulai adanya interaksi biokimiawi antara zat toksik atau metabolit aktifnya dengan bagian tertentu (enzim, asam nukleat, membran sel) dari makhluk hidup atau reseptornya. Perubahan yang terjadi pada reseptor merupakan stimulus yang dapat berupa positif atau negatif (Panjaitan, 2011). Zat kimia yang masuk ke dalam tubuh dapat menimbulkan efek toksik melalui 2 cara, yakni: berinteraksi secara langsung (toksik intraseluler) dan secara tidak langsung (toksik ekstraseluler). Toksik intraseluler adalah toksisitas yang diawali dengan interaksi langsung antara zat kimia atau metabolit dengan reseptornya. Sedangkan toksisitas ekstra seluler terjadi secara tidak langsung dengan mempengaruhi lingkungan sel sasaran tetapi dapat berpengaruh pada sel sasaran (Panjaitan, 2011). Pada uji toksisitas yang menggunakan hewan coba berupa *Artemia salina* Leach digunakan pada pengujian toksisitas yaitu pendahuluan sebelum pengujian sitotoksik dimana nilai LC_{50} dari uji toksisitas lebih kecil dari 1000 $\mu\text{g/ml}$. Parameter yang ditunjukkan pada *Artemia salina* Leach dilihat dari jumlah kematian dari *Artemia salina* Leach (Mayer *et al.*, 1982). Tingkat toksisitas ditunjukkan pada tabel dibawah ini:

Tabel 2.3 Kategori toksisitas bahan (Mayer *et al.*, 1982).

Kategori	LC_{50} (ppm)
Sangat toksik	< 100
Toksik	< 1000
Praktis tidak toksik	> 1000

2.8 Uraian Metode BST Dengan Pengujian Antikanker

Brine Shrimp Lethality Test (BST) merupakan pengujian senyawa umum untuk mendeteksi beberapa bioaktivitas dan sitotoksik terhadap 9 kB sel karsinoma nasofaring maupun sel P-388 leukemia manusia secara *in vivo* seperti antikanker, antitumor, antimikroba, antimalaria, dsb (Molyneux, 2007). Hal yang menyebabkan senyawa memiliki aktivitas antikanker dapat dideteksi dengan metode BST karena *Artemia salina* lech memiliki kesamaan tanggapan

dengan mamalia seperti tipe DNA-dependent RNA polymerase (Panjaitan, 2011).

Beberapa kelebihan dari metode BST (*Brine Shrimp Lethality Test*) dari uji bioaktivitas merupakan kecepatan waktu pengujian, sederhana dalam setiap proses pengujian, biaya yang terjangkau, jumlah organisme yang memenuhi kebutuhan validasi statistik dengan sedikit sampel (Mayer *et al.*, 1982). Dalam mekanisme kematian larva berhubungan dengan fungsi senyawa dalam sel yang menghambat daya makan larva dimana senyawa yang terkandung tersebut bertindak sebagai stomach poisoning atau racun perut, sehingga senyawa yang masuk kedalam tubuh larva mengagalkan timbulnya rasa stimulus untuk mengenali makanannya.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Alat Dan Bahan

3.1.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi, neraca analitik, oven, blender, ayakan mesh 80, seperangkat alat maserasi, kertas saring, seperangkat alat gelas, *rotary vacuum* evaporator PC 620 select, akuarium, kain hitam, sekat berlubang, alat pengatur oksigen AA-350, lampu, kaca pembesar, flakon, instrumen spektrofotometri UV-VIS Agilent carry 60.

3.1.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah serbuk daun jinten sebanyak 300 gram, etanol 96% PA sebanyak 1000 ml, asam sulfat pekat PA, kalium dikromat, aquadest, FeCl_3 1%, dragendroff, DMSO PA, logam Mg, klorida, magnesium sulfat, magnesium klorida, kalsium klorida, kalium klorida, natrium hidrokarbonat, quersetin, magnoflorine, tannic acid dan saponin.

3.2 Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini yaitu daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) yang terdapat di Desa Wates, Kecamatan Sumbergempol, Kabupaten Tulungagung.

3.3 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) segar yang ditandai dengan bentuk daun yang utuh serta warna hijau segar pada diambil di pekarangan warga Desa Wates, Kecamatan Sumbergempol, Kabupaten Tulungagung.

3.4 Variabel Penelitian

Variabel penelitian merupakan segala sesuatu yang ditetapkan oleh peneliti dalam bentuk apapun sebagai hal yang digunakan untuk dipelajari sehingga dapat

diperoleh informasi untuk diambil kesimpulan (Sugiyono, 2013). variabel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu, variabel bebas, terkontrol dan terikat.

3.4.1 Variabel bebas

Variabel bebas merupakan variabel yang dapat menjadi penyebab atau mempengaruhi perubahannya (Sugiyono, 2013). Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian yaitu ekstrak etanol daun jinten dan variasi konsentrasi ekstrak etanol daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) yaitu 500 ppm, 1000 ppm, 1500 ppm, 2000 ppm, dan 2500 ppm yang dilakukan pengujian toksisitas akut menggunakan metode BST.

3.4.2 Variabel kontrol

Variabel kontrol merupakan variabel yang dapat dikendalikan sehingga memperoleh hasil yang tetap atau konstan. Variabel kontrol yang digunakan dalam penelitian yaitu :

- a. Usia larva *Artemia salina* Leach adalah 24 jam
- b. Air laut buatan yang digunakan dengan kadar 5 per mil
- c. PH air laut yang digunakan yaitu 7 sampai 8
- d. Suhu dalam proses penetasan sekitar 25⁰C sampai 30⁰C
- e. Tempat yang digunakan untuk percobaan BST

3.4.3 Variabel terikat

Variabel terikat merupakan variabel yang menjadi akibat atau yang dipengaruhi oleh adanya variabel bebas (Sugiyono, 2013). Variabel terikat yang digunakan dalam penelitian yaitu senyawa apa saja yang terdapat pada ekstrak daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) dan berapa nilai LC₅₀ yang akan diperoleh.

3.5 Metode Penyarian

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

3.5.1 Determinasi tanaman

Sampel tanaman daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) dideterminasi di UPT Materia Medika Batu Malang, Jawa Timur. Tujuan dilakukan determinasi untuk mengetahui kebenaran jenis tanaman (DepKes RI, 2000).

3.5.2 Pembuatan simplisia

Pembuatan simplisia daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) dilakukan dengan cara membersihkan daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) yang segar dengan mencuci terlebih dahulu, selanjutnya memotong kecil daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) dengan tingkat ketebalan yang sama, proses pengeringan daun jinten dilakukan menggunakan oven dengan suhu 60⁰C karena senyawa dalam daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) akan mengalami kerusakan apabila digunakan suhu lebih dari 60⁰C (Shahdadi *et al.*, 2015). Menghaluskan simplisia dengan menggunakan blender dan mengayak serbuk simplisia kasar dengan pengayak ukuran 80 Mesh (DepKes RI, 1995).

3.5.3 Pemeriksaan karakteristik simplisia

3.5.3.1 Uji susut pengeringan simplisia

Uji susut pengeringan simplisia dilakukan dengan cara melakukan penimbangan pada daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) segar sebelum dilakukan pengeringan dan setelah dilakukan pengeringan. Pada proses pengeringan ini menggunakan oven dengan suhu 60⁰C. Rumus perhitungan uji susut pengeringan yaitu :

$$\text{Susut pengeringan (\%)} = \frac{B}{A} \times 100\% \text{ (DepKes RI, 2000).}$$

Keterangan : A = bobot daun basah (gram) dan B = bobot daun kering (gram)

3.5.3.2 Uji kadar air serbuk simplisia

Uji kadar air serbuk simplisia dilakukan dengan cara kurang lebih 10 gram serbuk simplisia kedalam wadah yang telah ditara dan ditimbang. Mengeringkan serbuk simplisia pada oven dalam suhu 105⁰C sampai berat konstan, dilakukan penimbangan dan mencatat hasil yang diperoleh (DepKes RI, 2000). Rumus perhitungan uji kadar air yaitu :

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{A-B}{A} \times 100\% \text{ (DepKes RI, 2000).}$$

Keterangan : A = berat awal serbuk (gram) dan B = berat akhir serbuk (gram)

3.5.4 Pembuatan ekstrak jinten

Pembuatan ekstrak daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) dengan menggunakan metode maserasi, masukkan serbuk daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) sebanyak 300 gram kedalam botol maserasi dan ditambahkan etanol 96% 1000 ml sambil beberapa kali pengaduk. Maserat yang telah didapat disaring dengan menggunakan kain flanel, dilakukan replikasi sampai memperoleh larutan berwarna bening hal ini bertujuan agar senyawa yang terkandung didalam ekstrak dapat tersari seluruhnya dengan proses remaserasi (DepKes RI, 1995). Langkah selanjutnya yaitu pemekatan ekstrak yang telah disari. Proses pemekatan ini dilakukan dengan menggunakan evaporator sampai didapatkan ekstrak kental atau rendemen, setelah diperoleh ekstrak kental dilakukan penimbangan ekstrak dan penyimpanan ekstrak. Ekstrak kental yang telah diperoleh kemudian disimpan dalam lemari pendingin (Simbolon and Yelmir M., 2018).

3.5.5 Pemeriksaan karakteristik ekstrak

3.5.5.1 Uji bebas etanol

Uji bebas etanol dilakukan dengan dua cara yaitu, penambahan 1 ml asam asetat dan 1 ml asam sulfat pekat ditambah kedalam ekstrak etanol daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) hingga homogen. Tabung kemudian ditutup dengan kapas kemudian dipanaskan, apabila tercium bau ester maka ekstrak tersebut masih mengandung etanol (Ramadhani, 2009). Cara kedua yaitu dengan penambahan 2 tetes asam sulfat pekat dan 1 ml kalium dikromat dalam ekstrak etanol daun jinten hingga homogen, jika muncul warna jingga menjadi hijau tua kebiruan maka ekstrak tersebut mengandung etanol, karena ion dikromat yang berwarna jingga telah tereduksi menjadi ion kromium yang berwarna hijau (Ramadhani, 2009).

3.5.5.2 Rendemen

Rendemen merupakan perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal (Hariana A., 2007). Rumus perhitungan persen rendemen yaitu:

$$\text{Rendemen ekstrak \%} = \frac{\text{Berat ekstrak kental}}{\text{Berat serbuk simplisia}} \times 100\% \text{ (DepKes RI, 2000).}$$

3.5.6 Skrining fitokimia

Skrining fitokimia merupakan pengujian kandungan senyawa pada suatu ekstrak agar zat-zat kimia didalamnya dapat teridentifikasi. Prinsip dari pengujian kandungan senyawa daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) adalah perubahan warna, pembentukan busa dan munculnya endapan (Wulandari P., 2015).

3.5.6.1 Saponin

Skrining fitokimia senyawa saponin dalam ekstrak daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) dilakukan dengan cara menambahkan 1 mL sampel dengan 4 mL aquadest. Kemudian dikocok perlahan dan didiamkan selama kurang lebih 15 menit. Hasil positif terdapat saponin ditunjukkan dengan terbentuknya busa yang stabil atau bertahan lama (Harborne J.B., 2006).

3.5.6.2 Tanin

Skrining fitokimia senyawa tanin dalam ekstrak daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) dilakukan dengan cara menambahkan sebanyak 0,2 gram sampel dengan DMSO 1ml, kemudian diaduk hingga larut. Pindahkan sebanyak 1 mL larutan sampel kedalam tabung reaksi, tambahkan dengan larutan FeCl₂ 1% sebanyak 2-3 tetes. Jika hasilnya positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kebiruan atau hitam hijau (Harborne J.B., 2006).

3.5.6.3 Alkaloid

Skrining fitokimia senyawa alkaloid dalam ekstrak daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) dilakukan dengan cara menambahkan sebanyak 0,2 gram sampel dengan DMSO 1ml, kemudian diaduk hingga larut. Pindahkan sebanyak 1 mL larutan sampel kedalam tabung reaksi, tambahkan dengan pereaksi dragendroff dalam tabung reaksi dan dikocok hingga larut. Bila terbentuk warna merah atau jingga dan terbentuk endapan berwarna jingga sampai kuning maka sampel tersebut mengandung senyawa alkaloid (Dewi and Venty S., 2005).

3.5.6.4 Flavonoid

Skrining fitokimia senyawa flavonoid dalam ekstrak daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) dilakukan dengan cara menambahkan sebanyak 0,2

gram sampel dengan DMSO 1ml, kemudian diaduk hingga larut. Pindahkan sebanyak 1 mL larutan sampel kedalam tabung reaksi, tambahkan dengan logam Mg dan HCl pekat sebanyak 2-3 tetes. Bila terbentuk warna jingga atau orange maka sampel tersebut mengandung senyawa flavonoid (Ergina and Nuryanti, 2014).

3.5.7 Uji Kadar Senyawa Ekstrak Daun Jinten (*Plectranthus Amboinicus*) Menggunakan Spektrofotometri UV-VIS

Uji kadar senyawa ekstrak merupakan pengujian lanjutan dari skrining kimia, dimana kita menguji kadar senyawa ekstrak daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) menggunakan spektrofotometer UV-VIS dengan bantuan persamaan regresi linier senyawa standar.

3.5.7.1 Saponin

Uji kadar senyawa saponin dalam ekstrak daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) dilakukan dengan cara pembuatan larutan standar saponin terlebih dahulu yang kemudian dilanjutkan preparasi sampel dan penentuan kadar (Chinelo *et al.*, 2014). Tahapan pembuatan larutan standar yaitu dengan 100 mg/L dengan cara 10 mg saponin dilarutkan dengan etanol 20% sampai 100 ml yang kemudian membuat seri konsentrasi 1 mg/L, 5 mg/L, 10 mg/L, 25 mg/L, 50 mg/L (Chinelo *et al.*, 2014). Tahap selanjutnya membuat preparasi sampel dengan cara 10 gram ekstrak kental ditambahkan dietil eter 40 ml yang diletakkan dalam corong pisah, kocok dan diamkan hingga menjadi dua fase, ambil fase bawah dan tambahkan 60ml n-butanol dan 10ml NaCl 5% kemudian disaring dan di oven dengan suhu 60⁰C hingga kering dan dilarutkan dengan 5 ml etanol 20% (Chinelo *et al.*, 2014). Tahap selanjutnya yaitu penentuan kadar saponin dengan cara 5 ml sampel ataupun standar ditambahkan dengan 0,5 ml FeCl₃ 0,1M dan 0,5ml K₃Fe(CN)₆ 0,008M kemudian aduk hingga larut dan diamkan selama 30 menit, encerkan larutan dengan kloroform sampai volume menjadi 10 ml lalu ukur absorbansi menggunakan spektrofotometri pada 645 nm yang kemudian dihitung menggunakan persamaan linier $y = a + b(x)$ (Chinelo *et al.*, 2014).

3.5.7.2 Tanin

Uji kadar senyawa tanin dalam ekstrak daun jinten (*Plectranthus*

Amboinicus) dilakukan dengan cara pembuatan larutan standar tannin terlebih dahulu yang kemudian dilanjutkan preparasi sampel dan penentuan kadar (Rajendra, 2014). Tahapan pembuatan larutan standar yaitu dengan membuat larutan induk 50 mg/L dengan cara 5 mg *tannic acid* dilarutkan dalam etanol 20% sampai 100 ml yang kemudian dibuat seri konsentrasi 1 mg/L, 5 mg/L, 10 mg/L, 25 mg/L dan 50 mg/L (Rajendra, 2014). Tahap selanjutnya membuat preparasi sampel dengan cara 0,1 gram ekstrak kental dilarutkan dalam 10 ml metanol p.a yang kemudian didiamkan 30 menit serta disari menggunakan *vaccum filter* dan disentrifugasi dengan kecepatan 3000rpm (Rajendra, 2014). Tahap selanjutnya yaitu penentuan kadar tanin dengan cara 5 ml sampel ataupun standar ditambahkan dengan 0,5 ml FeCl_3 0,1M dan 0,5 ml $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 0,008M kemudian aduk hingga larut dan diamkan selama 30 menit, encerkan larutan dengan kloroform sampai volume menjadi 10 ml lalu ukur absorbansi menggunakan spektrofotometri pada 620nm yang kemudian dihitung menggunakan persamaan linier $y = a + b(x)$ (Rajendra, 2014).

3.5.7.3 Alkaloid

Uji kadar senyawa alkaloid dalam ekstrak daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) dilakukan dengan cara pembuatan larutan standar alkaloid terlebih dahulu yang kemudian dilanjutkan preparasi sampel dan penentuan kadar (Rajendra, 2014). Tahapan pembuatan larutan standar yaitu dengan membuat larutan induk *quinine* 100mg/l dengan cara 10mg *quinine* dilarutkan dengan etanol 20% sampai 100ml yang kemudian membuat seri konsentrasi 1 mg/L, 5 mg/L, 10 mg/L, 25 mg/L dan 50 mg/L (Rajendra, 2014). Tahap selanjutnya membuat preparasi sampel dengan cara 0,1 gram ekstrak kental ditambahkan kloroform 10 ml yang diletakkan dalam corong pisah, kocok dan diamkan hingga menjadi dua fase, ambil fase atas untuk proses selanjutnya (Rajendra, 2014). Sedangkan proses preparasi standar yaitu dengan cara 5ml *quinine* ditambahkan dengan 1ml HCl 2N, 5 ml brom kresol hijau dan 5 ml bufer fosfat dan diaduk hingga larut. Tahap selanjutnya yaitu penentuan kadar alkaloid dengan cara 1 ml larutan sampel fase atas atau standar diencerkan dalam kloroform hingga volume menjadi 5 ml, kemudian ukur absorbansi menggunakan spektrofotometri pada 470

nm yang kemudian dihitung menggunakan persamaan linier $y = a + b(x)$ (Rajendra, 2014).

3.5.7.4 Flavonoid

Uji kadar senyawa flavonoid dalam ekstrak daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) dilakukan dengan cara pembuatan larutan standar flavonoid terlebih dahulu yang kemudian dilanjutkan preparasi sampel dan penentuan kadar (Rajendra, 2014). Tahapan pembuatan larutan standar yaitu dengan membuat larutan induk *quercetin* 100 mg/l dengan cara 10 mg *quercetin* dilarutkan dengan aquadest sampai 100ml yang kemudian membuat seri konsentrasi 1 mg/L, 5 mg/L, 10 mg/L, 25 mg/L dan 50 mg/L (Rajendra, 2014). Tahap selanjutnya yaitu penentuan kadar flavonoid dengan cara 1 ml supernatan ataupun standar ditambahkan 0,3 ml NaNO_2 5% kemudian didiamkan selama 5 menit, lalu ditambahkan 0,3 ml Al_2Cl_3 10% diamkan lagi selama 5 menit, tambahkan juga 2 ml NaOH 1 M dan diamkan selama 1 menit, jangan lupa ditambahkan aquadest sebanyak 10 ml kemudian ukur absorbansi menggunakan spektrofotometri pada 510nm yang kemudian dihitung menggunakan persamaan linier $y = a + b(x)$ (Rajendra, 2014).

3.5.8 Skrining Potensi Antikanker dengan metode BST

Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST) merupakan salah satu metode uji ketoksikan yang memiliki korelasi positif terhadap aktivitas antitumor atau antikanker, selain itu metode ini juga memiliki beberapa keunggulan yaitu mudah dilakukan, sederhana, memerlukan sedikit bahan uji, tidak membutuhkan waktu yang lama dan tidak memerlukan tindakan aseptik (Mayer *et al.*, 1982). Prosedur dari metode BST yaitu dengan menentukan nilai LC_{50} dari konsentrasi suatu sampel dalam kematian hewan uji selama 24 jam menggunakan regresi linier (Prawirodiharjo E., 2014).

3.5.8.1 Pembuatan Air Laut Buatan

Artemia salina Leach dapat hidup dengan baik, pada air laut berkadar garam 5 per mil (Mudjiman A., 1988). Untuk membuat air laut buatan diperlukan natrium klorida sebanyak 5 gram, magnesium sulfat sebanyak 1,3 gram,

magnesium klorida sebanyak 1 gram, kalsium klorida sebanyak 0,3 gram, kalium klorida 0,2 gram, natrium hidrokarbonat 2 gram dan aquadest. Semua bahan dilarutkan kecuali natrium bikarbonat yang dilarutkan dengan air bebas karbondioksida dan magnesium sulfat yang dilarutkan dengan aquadest panas. Setelah semua terlarut, kemudian semua larutan disatukan dalam labu ukur berukuran 1000 ml kemudian ditambahkan aquadest sampai 1000 ml dan digojok hingga terlarut merata. Air laut yang sudah jadi kemudian diaerasi selama 2 jam, dengan tujuan agar air laut buatan memiliki kandungan oksigen yang cukup untuk kelangsungan hidup *Artemia salina Leach*.

3.5.8.2 Penetasan siste *Artemia*

- Masukkan 1 liter air laut buatan berkadar 5 per mil pada aquarium penetasan
- Masukkan telur larva *Artemia salina Leach* yang telah direndam aquadest selama 1 jam → dibagian gelap → tutup dengan kain hitam → tunggu selama 24 sampai telur menetas.
- Telur yang menetas akan berpindah pada bagian yang terang
- Bagian terang diberi lampu penerangan agar suhu yang ada stabil kurang lebih 25⁰C sampai 30⁰C → Udang siap digunakan.

3.5.8.3 Pembagian kelompok perlakuan

Pembagian kelompok perlakuan pada metode BST menggunakan larva *Artemia salina Leach* sebanyak 180 ekor. Larva-larva tersebut dibagi dalam lima kelompok uji dan 1 kelompok kontrol negatif yang nantinya akan direplikasikan sebanyak tiga kali. Setiap kelompok berisi sepuluh larva *Artemia salina Leach*, seperti tabel dibawah ini :

Tabel 3.1 Pembagian kelompok perlakuan

Konsentrasi	Replikasi
Kontrol negatif	3
500ppm	3
1000ppm	3
1500ppm	3
2000ppm	3
2500ppm	3

3.5.8.4 Pelaksanaan uji toksisitas

Pada uji toksisitas akut menggunakan larva *Artemia salina* Leach dilakukan dalam dengan cara membagi larva pada flakon-flakon yang telah disiapkan, dimana flakon telah berisi 5ml air laut buatan. Setelah larva sudah dibagi diberi 1 ml larutan uji dan 1 tetes suspensi ragi sebagai sumber makanan larva (Meyer *et al.*, 1982). Kemudian diamkan larva selama 24 jam, setelah 24 jam amati pergerakannya selama 10 detik, apabila larva *Artemia salina* Leach tidak ada pergerakan selama 10 detik maka larva *Artemia salina* Leach dapat dikatakan mati (Meyer *et al.*, 1982). Efek toksisitas dianalisis dari pengamatan dengan persen kematian. Rumus prosentase kematian larva yaitu :

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

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

$$Y = Bx + A$$

Keterangan: Y = log konsentrasi dan X = Angka probit
Dari persamaan tersebut kemudian dihitung LC₅₀ dengan memasukkan nilai probit (Mayer *et al.*, 1982) yang dibentuk seperti tabel dibawah ini:

Tabel 3.2 Model Tabel Data Probit Analisis

Konsentrasi	Log 10	Probit	% dead	Mortality	Total hewan uji
Kontrol (-)					
500 ppm					
1000 ppm					
1500 ppm					
2000 ppm					
2500 ppm					

Apabila pada kontrol ada larva yang mati, maka % kematian ditentukan dengan rumus Abbot (Meyer *et al.*, 1982).

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

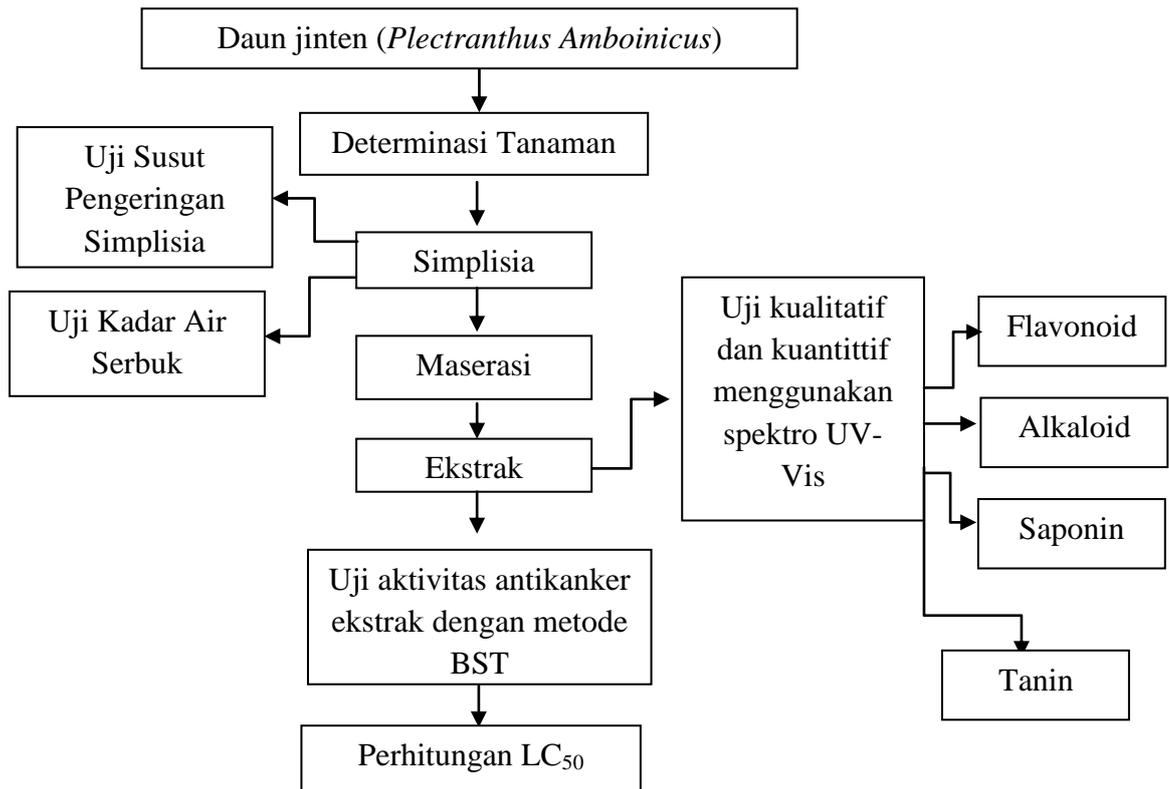
Keterangan : T = Jumlah larva uji yang mati

K = Jumlah larva kontrol yang mati

10 = Jumlah larva uji

3.5.9 Kerangka Penelitian

Kerangka penelitian merupakan bagian tentang penelitian terhadap rancangan kegiatan yang akan dilakukan dalam penelitian meliputi apa yang akan diteliti, variabel yang dapat mempengaruhi dalam jalannya penelitian, dan variabel yang akan diteliti (Panjaitan, 2011). Gambar skema penelitian seperti dibawah ini:



Gambar 3.1. skema kerangka penelitian

3.5.10 Jadwal Penelitian

Jadwal penelitian bertujuan untuk mengatur dan sebagai pengingat tahapan penelitian yang dilakukan. Tabel jadwal penelitian terletak pada lampiran 5.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bahan Alam dan Mikrobiologi STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung serta di ruang Instrumentasi Spektrofotometer Ultra Violet-Visibel Universitas Muhammadiyah Malang, tanggal 24 Desember 2020 –26 Maret 2021. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui toksisitas akut (LC50) ekstrak etanol daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*), dengan tahapan penelitian dimulai dari pembuatan ekstrak daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*), dilanjutkan pengujian secara kualitatif dan kuantitatif menggunakan spektro UV-Vis, dan pengujian toksisitas menggunakan metode BST. Hasil penelitian yang sudah dilakukan, didapatkan hasil sebagai berikut:

4.1 Determinasi Tanaman

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun jinten. Tanaman jinten yang akan digunakan dalam penelitian dideterminasi terlebih dahulu untuk mengidentifikasi jenis tanaman yang akan digunakan. Determinasi tanaman jinten dilakukan di Materia Medika, Batu. Berdasarkan buku “Inventaris Tanaman Obat (I)” karangan Syamsuhidayat, Sri sugati *et all* (1991) hasil determinasi tanaman jinten :

Kingdom	: Plantae	Species	: <i>Plectranthus Amboinicus</i>
Subkingdom	: Tracheobionta		(<i>Lour.</i>)Spreng.
Super Divisi	: Spermatophyta	<i>Sinonim</i>	: <i>Coleus amboinicus</i> Lour.
Divisi	: Magnoliophyta	=	<i>C.Aromaticus</i> =
Kelas	: Magnoliopsida		<i>Plectranthus Aromaticus</i>
Subkelas	: Asteridae		<i>Roxb.</i> .
Ordo	: Lamiales		
Famili	: Lamiaceae		
Genus	: <i>Plectranthus</i>		

Berdasarkan determinasi tersebut dapat dipastikan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman jinten. Adapun surat pengesahan hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 1.

4.2 Pembuatan simplisia

Proses pembuatan simplisia daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) dilakukan dengan memilih daun jinten yang sehat, hal itu dapat dilihat dari keadaan daun yang tampak segar, bentuk yang bagus atau tidak terserang penyakit, dan berwarna hijau cukup gelap. Pemilihan warna hijau yang cukup gelap pada daun bertujuan untuk hasil senyawa flavonoid yang tinggi dalam daun yang akan diteliti. Setelah didapatkan daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) yang baik dilakukan sortasi kering dan sortasi basah, dengan tujuan agar daun jinten yang akan diuji tidak tercampur dengan bagian tanaman yang lain maupun material-material lain yang tidak dibutuhkan (DepKes RI, 1995).

Sebelum dilakukan pengeringan, daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) dipotong-potong dengan ukuran yang sama. Tujuan dari pemotongan daun jinten yaitu untuk mempermudah proses pengeringan. Daun jinten dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 60⁰C (Shahdadi *et al.*, 2015). Penggunaan oven dalam proses pengeringan bertujuan untuk mempercepat pengeringan dan untuk menjaga kandungan senyawa yang terkandung dalam daun jinten karena menggunakan suhu yang stabil dari awal pengeringan hinggaakhir. Pengeringan daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) bertujuan untuk mempermudah pembuatan serbuk daun jinten karena kandungan air yang dimiliki sudah menguap atau hilang. Pengeringan daun jinten juga dapat berfungsi untuk menjaga komponen senyawa yang ada dari tumbuhnya jamur, bakteri, kapang dan perubahan kimia akibat enzim yang berubah selama proses penyimpanan (Sri Y., 2001).

Daun jinten yang sudah kering diserbukkan menggunakan blender dan diayak menggunakan ayakan ukuran 80 mesh (DepKes RI., 1995). Tujuan dari pengayakan serbuk daun jinten untuk menyamakan ukuran serbuk dan memperluas permukaan serbuk, karena semakin kecil ukuran partikel maka semakin luas permukaan yang dimilikinya sehingga kontak partikel dengan pelarut semakin besar (Voight R., 1971).

4.3 Pemeriksaan Karakteristik Simplisia

4.3.1 Uji Susut Pengeringan Simplisia

Tabel 4.1 Hasil uji susut pengeringan daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*)

Sampel		Bobot Awal	Bobot Akhir	% Hasil
Daun (<i>Plectranthus</i> <i>Amboinicus</i>)	Jinten	6, 667 kg	0,429 kg	6,43%

Uji susut pengeringan dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui seberapa besar kandungan air yang hilang dari proses pengeringan (DepKes RI., 2000). Berdasarkan tabel IV.1. dapat disimpulkan bahwa kandungan air dalam daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) sangat besar dengan hasil uji susut pengeringan sebesar 6,43%. Sehingga apabila akan menggunakan daun jinten sebagai sampel yang melewati proses pengeringan membutuhkan daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) yang cukup banyak.

4.3.2 Uji Kadar Air Simplisia

Tabel 4.2 Hasil uji kadar air simplisia serbuk daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*)

Sampel	Bobot Awal	Rata-rata bobot Akhir	% Hasil
Daun Jinten (<i>Plectranthus</i> <i>Amboinicus</i>)	10 g	9 g	1,05 %

Uji kadar air digunakan untuk menetapkan jumlah semua jenis bahan yang mudah menguap selama kondisi tertentu atau selama proses pemanasan (DepKes RI., 2000). Uji kadar air dapat digunakan sebagai salah satu parameter untuk melihat kualitas simplisia daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) yang digunakan. Menurut DepKes RI (2000), kadar air yang dipersyaratkan yaitu tidak melebihi 10%. Jika kadar air sesuai dengan yang dipersyaratkan maka dapat meminimalisir kandungan air dalam simplisia yang dapat mencegah pertumbuhan dan aktivitas enzim mikroorganisme pada simplisia sehingga simplisia daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) tahan lama serta kandungan zat aktif didalamnya tidak berubah.

Hasil uji kadar air dapat dilihat pada Tabel IV.2. uji kadar air diperoleh hasil sebesar 1,05%. Hasil yang diperoleh ini menunjukkan bahwa simplisia yang digunakan telah memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan yaitu kurang dari 10%.

4.4 Pembuatan Ekstrak Daun Jinten

Proses ekstraksi serbuk simplisia daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) dilakukan menggunakan metode maserasi. Maserasi dipilih karena proses pengerjaan yang mudah dan peralatan yang cukup sederhana, serta baik untuk senyawa – senyawa yang tidak tahan dengan pemanasan. Pada maserasi ini, digunakan serbuk simplisia daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) sebanyak 300 gram dan proses maserasi dilakukan dengan merendam serbuk simplisia menggunakan pelarut etanol 96% 3000ml dengan beberapa kali pengaduk. Pemilihan pelarut etanol 96% sebagai pelarut ekstrak dikarenakan etanol 96% merupakan pelarut semipolar yang dapat menarik senyawa polar dan nonpolar yang terkandung dalam simplisia serta dengan kandungan etanol yang tinggi dapat mencegah tumbuhnya khamir dan kapang selama proses perendaman. Selain itu, juga memiliki toksisitas yang lebih rendah dibandingkan pelarut organik lain seperti metanol, kloroform (Saifudin A and Rahayu V, 2011).

Dalam proses maserasi dilakukan pengulangan atau remaserasi terhadap residu daun jinten hingga memperoleh ekstrak bening. Proses remaserasi bertujuan untuk memperoleh ekstrak yang banyak sehingga senyawa yang terdapat dalam simplisia dapat tersari secara keseluruhan. Ekstrak yang didapat kemudian dipekatkan menggunakan evaporator dengan suhu 70⁰C hingga mendapat ekstrak kental. Penggunaan evaporator bertujuan untuk mengurangi kontak langsung antara ekstrak dan suhu panas secara terus menerus agar senyawa yang terkandung tidak berubah atau rusak.

4.5 Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak

4.5.1 Uji Bebas Etanol

Uji bebas etanol ekstrak daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) bertujuan untuk memastikan bahwa ekstrak yang dihasilkan bebas dari etanol karena pelarut

Uji bebas etanol ekstrak daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) bertujuan untuk memastikan bahwa ekstrak yang dihasilkan bebas dari etanol karena pelarut tersebut dapat membunuh bakteri ataupun mikroorganisme lain sehingga dikhawatirkan mempengaruhi kadar toksisitas suatu senyawa (Suherman S., 2006). Hasil uji bebas etanol ekstrak menunjukkan bahwa ekstrak tersebut bebas etanol yang ditandai dengan perubahan warna dari orange menjadi coklat kehitaman pada ekstrak seperti yang ditunjukkan pada tabel IV.3

Tabel 4.3 Hasil uji bebas etanol daun jinten

Sampel	Perlakuan	Hasil	Perubahan warna
Ekstrak daun Jinten (<i>Plectranthus Amboinicus</i>)	2 tetes asam sulfat pekat, 1 ml kalium dikromat	-	Coklat kehitaman

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



Gambar 4.1 Hasil pengamatan uji bebas etanol

4.5.2 Uji Rendemen

Tabel 4.4 Hasil Rendemen Ekstrak

Sampel	Bobot Simplisia	Bobot Ekstrak	% Hasil
Daun Jinten (<i>Plectranthus Amboinicus</i>)	300 g	30 g	10 %

Rendemen ekstrak dihitung berdasarkan perbandingan berat akhir ekstrak dengan berat awal yang digunakan kemudian dikalikan 100%. Hasil rendemen yang tinggi menunjukkan bahwa senyawa-senyawa kimia yang dapat tersari dalam ekstrak juga cukup besar. Hasil penelitian menunjukkan rendemen ekstrak juga cukup besar. Hasil penelitian menunjukkan rendemen ekstrak daun jinten

(*Plectranthus Amboinicus*) sebesar 10 %. Artinya, setelah melalui proses ekstraksi, serbuk simplisia daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) kehilangan berat sebesar 90%. Hal ini menunjukkan rendemen yang dihasilkan sangat kecil, sehingga untuk menghasilkan ekstrak daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) memerlukan sampel banyak. Kecilnya nilai rendemen yang dihasilkan dipengaruhi oleh ukuran partikel, waktu ekstraksi, serta jenis dan jumlah pelarut (Saifudin A and Rahayu V, 2011).

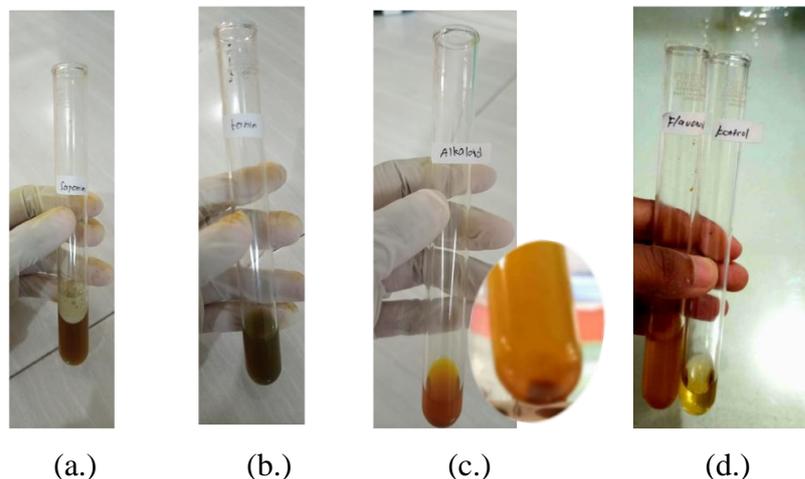
4.6 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia ekstrak daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) bertujuan untuk memastikan keberadaan senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalamnya (Wulandari P., 2015). Pada penelitian kali ini peneliti hanya menguji kandungan senyawa alkaloida, flavonoid, saponin, tanin pada daun jinten. Karena menurut beberapa peneliti keempat senyawa tersebut memiliki sifat toksik terhadap mikroorganisme yang memiliki potensi sebagai antikanker, seperti menurut pawarta (2014) senyawa flavonoid sebagai antikanker sebagai oksidan dapat mengaktifkan jalur apoptosis sel kanker merupakan proses fragmentasi DNA yang diawali dengan dilepasnya rantai proksimal DNA oleh senyawa oksigen reaktif seperti radikal hidroksil sedangkan sebagai penghambat proliferasi tumor atau kanker yang salah satunya dengan menghambat aktivitas protein kinase sehingga menghambat jalur transduksi sinyal dari membran sel ke dalam inti sel, menurut Smets (2001) senyawa alkaloid berperan sebagai tubulin inhibitor yang membuat polimerisasi protein menjadi mikrotubulus terhambat sehingga siklus sel berhenti pada metafase yang mengakibatkan sel mengalami apoptosis, menurut Tiwari dan Kumar (2011) senyawa saponin mempunyai mekanisme antibakteri dengan menurunkan aktivitas enzim pencernaan serta penyerapan makanan (*stomach poisoning*) dan senyawa tanin dalam antikanker sebagai racun perut, menyebabkan aktivitas enzim terhambat dengan pembentukan ikatan kompleks protein pada enzim substrat yang dapat menyebabkan gangguan pencernaan dan merusak dinding sel. Hasil skrining penelitian sebagai berikut:

Tabel 4.5 Hasil skrining fitokimia

Golongan senyawa	Pereaksi	Perubahan warna	Hasil
Saponin	Ekstrak + aquadest	Terbentuk busa	+
Tanin	Ekstrak + FeCl ₃ 1%	Hitam kehijauan	+
Flavonoid	Ekstrak + HCl pekat	Jingga orange	+
Alkaloid	Ekstrak + dragendroff	Endapan Berwarna Jingga	+

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



Gambar 4.2 hasil pengamatan skrining fitokimia senyawa (a.) saponin, (b.) tanin, (c.) flavonoid, (d.) alkaloid dan Larutan kontrol.

4.6.1 Uji Saponin

Saponin merupakan senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun yang dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya dalam membentuk busa. Saponin termasuk golongan triterpenoid yang mempunyai kerangka karbon berdasarkan isoprena (R.Balafif *et al.*, 2013)

Pertama-tama sampel diambil sebanyak kurang lebih 1 ml ditambahkan 4 ml aquadest. Filtrat dikocok dan didiamkan selama 10 menit. Terbentuknya busa yang stabil (bertahan lama) menunjukkan positif terdapat saponin (Harborne J.B., 2006)

Diperoleh hasil positif dengan terbentuknya busa. Busa yang dihasilkan pada uji saponin disebabkan karena adanya glikosia yang dapat membentuk busa dalam air dan terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Ningsih and Zusfahair, 2016).

4.6.2 Uji Tanin

Langkah awal dalam pengujian senyawa tanin pada ekstrak daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) yaitu dengan mengambil sampel sebanyak 0,2 g ditambah DMSO 1 ml. Kemudian sebanyak 1 mL larutan sampel dipindahkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl_3 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kehijauan (Harborne J.B., 2006). Pengujian ini memperoleh hasil positif dimana hasil yang didapatkan pada ekstrak daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) terbentuk warna hitam kehijauan yang menandakan terbentuknya senyawa kompleks antara tanin dan Fe^{3+} yang memberikan indikasi perubahan warna hijau, merah, ungu, biru, atau hitam yang kuat (Ergina and Nuryanti, 2014).

Uji skrining fitokimia dengan menggunakan FeCl_3 digunakan untuk menentukan apakah sampel mengandung gugus fenol. Adanya gugus fenol ditunjukkan dengan warna hitam kehijauan setelah ditambahkan dengan FeCl_3 , sehingga apabila uji fitokimia dengan FeCl_3 1% memberikan hasil positif dimungkinkan dalam sampel terdapat senyawa fenol dan dimungkinkan salah satunya adalah tanin karena tanin merupakan senyawa polifenol (Ergina and Nuryanti, 2014). Terbentuknya warna hitam kehijauan pada ekstrak setelah ditambahkan dengan FeCl_3 karena tanin akan membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe^{3+} .

4.6.3 Uji Alkaloid

Uji alkaloid ini dilakukan dengan mengambil sampel ekstrak kering daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) sebanyak 0,2g dicampur dengan 1 mL DMSO. Kemudian sebanyak 1 mL larutan sampel dipindahkan kedalam tabung reaksi dan ditambah uji dragendorff. Adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan jingga sampai kuning (Dewi and Venty S., 2005). Endapan tersebut merupakan

kalium alkaloid, yang ditandai dengan ikatan kovalen koordinat dengan K^+ sebagai ion logam. Hasil uji alkaloid ekstrak daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) adalah positif, ditunjukkan dengan terbentuknya endapan berwarna jingga sampai kuning.

4.6.4 Uji Flavonoid

Uji flavonoid ini dilakukan dengan mengambil sampel ekstrak kering daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) sebanyak 0,2g dicampur dengan 1 mL DMSO. Kemudian sebanyak 1 mL larutan sampel dipindahkan kedalam tabung reaksi dan ditambah logam Mg dan HCl pekat sebanyak 2-3 tetes. Penambahan logam Mg dan HCl telah mereduksi inti benzopiron yang terdapat dalam struktur flavonoid sehingga terbentuk garam flavilium berwarna merah atau jingga (Ergina and Nuryanti, 2014). Hasil uji flavonoid ekstrak daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) adalah positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna jingga orange.

4.7 Penetapan Kadar Senyawa Ekstrak Daun Jinten (*Plectranthus Amboinicus*) Dengan Metode Spektrofotometri UV-VIS

Spektrofotometri UV-VIS merupakan alat yang digunakan mengukur serapan yang dihasilkan dari interaksi kimia antara radiasi elektromagnetik dengan molekul atau atom suatu zat kimia pada daerah UV-VIS (DepKes RI., 1995). Kelebihan spektrofotometer dengan fotometer yaitu, dapat mendeteksi panjang gelombang dari sinar putih dengan menggunakan alat seperti prisma, greting atau celah optis sebagai pengurai warna-warna, pada panjang gelombang tertentu di fotometer filter (Gandjar I., 2007). Prinsip dari spektrofotometri UV-VIS adalah mengukur jumlah cahaya yang diabsorpsi atau ditransmisikan oleh molekul-molekul didalam larutan dimana panjang gelombang yang ditransmisi oleh larutan sebagian energi cahaya akan diabsorbansikan (Nurul A., 2016).

Penetapan kadar senyawa ekstrak daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) dilakukan di Universitas Muhammadiyah Malang. Dalam proses pengujian kadar senyawa diperlukan larutan standar berupa quersetin untuk senyawa flavonoid, larutan standar magnoflorine untuk senyawa alkaloid, larutan standar *tannic acid* untuk senyawa tanin dan larutan standar saponin untuk senyawa saponin. Setelah

penentuan larutan standar untuk masing-masing senyawa dilakukan pengukuran absorbansi pada larutan standar sebagai pembanding. Tiap-tiap larutan standar dibuat dalam lima seri konsentrasi, yaitu 1ppm, 5ppm, 10ppm, 25ppm dan 50ppm. Pengukuran absorbansi dilakukan menggunakan spektrofotometri UV-VIS dengan panjang gelombang 645nm untuk saponin, 620nm untuk tanin, 470nm untuk alkaloid dan 510nm untuk flavonoid. Hasil dari serapan yang diperoleh diplot, dimasukkan kedalam rumus persamaan kurva baku $y = ax + b$ dimana persamaan kurva baku senyawa saponin menjadi $y = 0,0085x + 0,0062$, kurva baku senyawa tanin menjadi $y = 0,0303x + 0,0080$, kurva baku senyawa alkaloid menjadi $y = 0,0226x + 0,0085$ dan kurva baku senyawa flavonoid menjadi $y = 0,0137x + 0,0064$.

Nilai koefisien korelasi (r) merupakan nilai yang digunakan untuk mengetahui kuat, sedang atau lemahnya hubungan diantara variable yang diteliti. Dimana nilai koefisien korelasi dikatakan sangat kuat apabila nilai (r) mendekati 1. Larutan standar yang digunakan memiliki hubungan yang linier antara absorbansi dengan konsentrasi dengan hasil koefisien korelasi (r) sebesar 0,9961 untuk larutan standar quersetin, 0,898 untuk larutan magnoflorine, 0,9805 untuk larutan standar tannic acid, dan 0,9979 untuk larutan standar saponin.

Perhitungan kadar senyawa total pada sampel dilakukan sebanyak dua kali replikasi. Hasil kadar total senyawa pada ekstrak daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*), yaitu:

Tabel 4.6 Tabel kadar senyawa ekstrak daun jinten

Senyawa	% senyawa total
Saponin	5,20
Tanin	8,21
Flavonoid	23,93
Alkaloid	4,37

Dari data perhitungan senyawa total diatas, dapat diketahui bahwa kandungan senyawa flavonoid adalah senyawa yang paling banyak pada ekstrak daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) yang kemudian senyawa tanin, saponin dan terakhir senyawa alkaloid.. Adanya senyawa flavonoid dalam lingkungan sel kanker, menyebabkan gugus OH pada flavonoid berikatan dengan protein integral

membran sel. Hal ini menyebabkan ter bendungnya transpor aktif $\text{Na}^+ - \text{K}^+$. Transpor aktif yang berhenti menyebabkan pemasukan ion Na^+ yang tidak terkendali ke dalam sel, hal ini menyebabkan pecahnya membran sel. (Scheuer, 1994). Pecahnya membran sel inilah yang menyebabkan kematian sel.

4.8 Skrining Potensi Antikanker dengan metode Brine Shrimp Lethality Test

Brine Shrimp Lethality Test (BST) merupakan salah satu metode uji ketoksikan yang memiliki korelasi positif terhadap aktivitas antitumor atau antikanker (Sukardiman, A.R and Pratiwi, 2004). Korelasi positif ditunjukkan antara uji BST dan sitotoksitas pada kultur sel kanker dan memiliki tingkat kepercayaan hingga 95% (Prawirodiharjo E., 2014). Metode BST dipilih karena tidak membutuhkan waktu yang lama, mudah, murah, akurat dan membutuhkan sampel sedikit (Mayer *et al.*, 1982). Hewan uji yang digunakan adalah *Artemia salina* karena memiliki respon terhadap senyawa kimia yang mirip dengan mamalia, seperti DNA dependent RNA polymerase dan organisme ini memiliki sebuah sistem transport Na^+ dan K^+ dependent ATPase (Panjaitan, 2011).

4.8.1 Pembuatan Air Laut Buatan

Artemia salina Leach dapat hidup dengan baik, pada air berkadar garam tinggi. Serta suhu antara 25°C sampai 30°C , kandungan oksigen mendekati titik jenuh, yaitu sekitar 3 mg/L dan memiliki PH air sebesar 8 sampai 9 (Mudjiman A., 1988). Kestabilan PH sangat penting dalam penetasan *siste*, karena pemecahan cangkak *siste* dapat terjadi dengan adanya bantuan enzim.

Artemia salina Leach memiliki kelenjar garam yang dapat mengatur atau menyesuaikan diri terhadap perubahan kadar garam dalam lingkungannya. Sehingga peningkatan kadar garam dalam lingkungan hidupnya tidak begitu mempengaruhi kehidupan *Artemia salina Leach*, baik itu kurang dari 35 per mil atau bahkan sampai 140 per mil (S., Baud, Sangi, 2014). Namun pada air laut berkadar garam 5 per mil merupakan lingkungan yang baik dalam proses penetasan, sehingga *siste* dapat menetas secara optimal (Mudjiman A., 1988).

Dalam air laut buatan berkadar garam 5 per mil memiliki makna 1 ml aquadest mengandung 5 mg natrium klorida. Untuk membuat air laut buatan diperlukan natrium klorida sebanyak 5 gram, magnesium sulfat sebanyak 1,3 gram, magnesium klorida sebanyak 1 gram, kalsium klorida sebanyak 0,3 gram, kalium klorida 0,2 gram, natrium hidrokarbonat 2 gram dan aquadest. Semua bahan dilarutkan kecuali natrium bikarbonat yang dilarutkan dengan air bebas karbondioksida dan magnesium sulfat yang dilarutkan dengan aquadest panas. Setelah semua terlarut, kemudian semua larutan disatukan dalam labu ukur berukuran 1000ml kemudian ditambahkan aquadest sampai 1000ml dan digojok hingga terlarut merata. Air laut yang sudah jadi kemudian diaerasi selama 2 jam, dengan tujuan agar air laut buatan memiliki kandungan oksigen yang cukup untuk kelangsungan hidup *Artemia salina* Leach.

4.8.2 Penetasan *Siste Artemia*

Siste Artemia yang kering atau berkadar air kurang dari 10% direndam dalam aquadest terlebih dahulu dalam waktu 1 jam, hal ini bertujuan untuk mengaktifkan metabolis embrio yang sedang dalam keadaan diapauze atau terhenti sementara. Dalam penggunaan waktu satu jam perendaman diperkirakan dapat meningkatkan kadar air dalam *siste* yang semula 10% menjadi 65% dengan menyerap aquadest. Setelah satu jam perendaman, *siste* ditiriskan untuk mengurangi sisa-sisa aquadest (Prawirodiharjo E., 2014).

Air laut buatan yang telah diaerasi dimasukkan dalam aquarium khusus penetasan, dimana aquarium tersebut memiliki dua bagian dengan satu bagian gelap dan satu bagian terang yang dipisahkan oleh sekat berlubang. Bagian terang aquarium diberi lampu dengan tujuan menjaga suhu lingkungan burayak agar tetap pada suhu 25⁰C sampai 30⁰C. Pada bagian gelap aquarium digunakan untuk menetas *siste Artemia*. *Siste Artemia* menetas dalam waktu 24 sampai 36 jam yang kemudian menjadi burayak atau nauplius. Kemudian burayak atau nauplius berenang berpindah menuju bagian yang lebih terang dan meninggalkan cangkangnya dibagian gelap melalui sekat. Burayak atau nauplius yang baru

menetas memiliki warna kemerah-merahan. Warna kemerahan tersebut diperoleh karena adanya cadangan makanan didalam tubuhnya, yang dapat bertahan selama ± 2 hari tanpa diberi makan. Setelah ± 2 hari burayak atau nauplius harus mendapatkan makanan berupa suspensi ragi agar dapat bertahan hidup. Ragi yang akan dibuat suspensi harus dioven terlebih dahulu pada suhu 100°C selama 10 menit untuk menghindari adanya jamur maupun bakteri yang tumbuh dalam ragi, yang dapat mempengaruhi perkembangan burayak atau nauplius. Suspensi ragi dibuat dengan campuran 3 mg ragi dan 5 ml air alut buatan.

Burayak atau nauplius yang digunakan untuk penelitian ini yaitu burayak atau nauplius yang berusia 48 jam atau 2 hari. Penggunaan burayak berusia 48 jam karena sifat burayak atau nauplius yang lebih peka terhadap zat yang masuk dan organ-organ yang dimiliki sudah lengkap. Sehingga data kematian burayak atau nauplius benar-benar disebabkan oleh ekstrak daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*).

4.8.3 Uji Toksisitas Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BST)

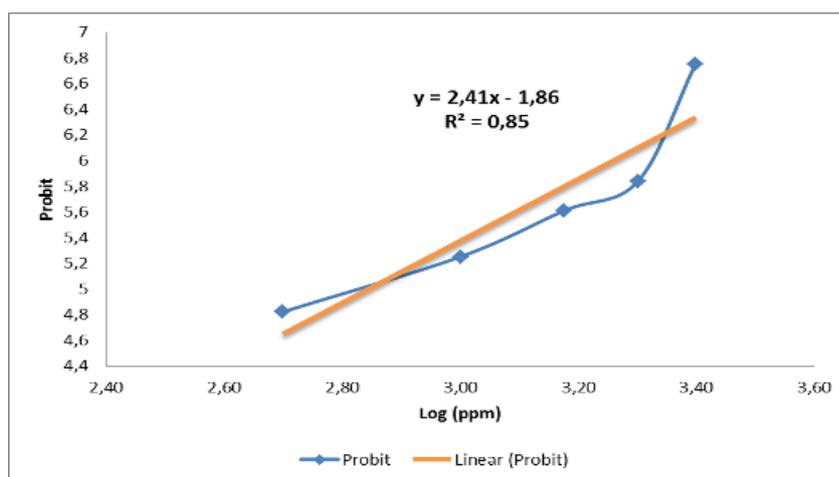
Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST) merupakan salah satu metode skrining bioaktivitas suatu ekstrak atau senyawa murni dengan hewan uji larva *Artemia salina* Leach. Sampel yang digunakan adalah ekstrak etanol daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) dengan konsentrasi 500ppm, 1000ppm, 1500ppm, 2000ppm dan 2500ppm. Konsentrasi tersebut didapat setelah melakukan uji pendahuluan dengan kadar 100ppm, 500ppm dan 1000ppm yang kemudian diambil data prosentase kematian larva antara 20% sampai 80%, karena dengan prosentase tersebut sudah dapat memberikan kurva yang lebih linier dan nilai LC_{50} yang diperoleh dapat menggambarkan hasil yang lebih sebenarnya (Kartikasari et al., 2014). Perhitungan pembuatan seri konsentrasi dapat dilihat pada lampiran 3.

Setelah pengujian dan mendapatkan jumlah larva yang mati, maka dilakukan perhitungan prosentase kematian untuk memperoleh nilai probit. Nilai probit dapat diperoleh dengan melihat tabel probit. Hasil pengamatan dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 4.7 Tabel nilai probit ekstrak etanol daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) dengan menggunakan microsoft excel

konsentrasi (ppm)	log 10 (konsentrasi)	Probit	% kematian	Mortalit y	Total hewan uji
500	2,60	4,82	43%	13	30
1000	3,00	5,25	60%	18	30
1500	3,18	5,61	73%	22	30
2000	3,30	5,84	80%	24	30
2500	3,40	6,75	96%	29	30

Berdasarkan tabel diatas, dapat di lakukan proses perhitungan nilai LC_{50} . Untuk menghitung nilai LC_{50} dapat menggunakan dua cara yang pertama dengan menghitung *slope* dan *intersept* menggunakan microsoft excel. *Slope* merupakan nilai koefisien regresi untuk variabel X, sedangkan *intersept* merupakan nilai rata-rata variabel Y apabila variabel X memiliki nilai 0. Nilai slope yang diperoleh sebesar 2,41 sedangkan nilai intersept yang diperoleh yaitu -1,86. Kemudian hitung nilai LC_{50} persamaan $y = ax + b$, dimana a merupakan nilai slope sedangkan, b nilai merupakan nilai dari *intersept*. Cara kedua untuk menghitung nilai LC_{50} yaitu dengan membuat grafik antara log konsentrasi dengan nilai probit yang telah diperoleh, setelah itu dibuat persamaan garis lurus pada kurva. Grafik dapat dilihat seperti berikut:



Gambar 4.3 Grafik regresi linier ekstrak etanol daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) terhadap nilai probit.

Dari grafik diatas dapat dihitung nilai LC_{50} nya menggunakan persamaan yang diperoleh yaitu $y = 2,41x - 1,86$. Dengan nilai y beriskani nilai transformasi probit, karena penelitian kali ini mencari nilai LC_{50} maka nilai 50 dari LC yang akan dicari diubah dalam nilai probit terlebih dahulu. Nilai y yang telah diubah menghasilkan nilai 5, sehingga persamaannya menjadi $5 = 2,41x - 1,86$ dan mendapat nilai LC_{50} sebesar 697,99ppm.

Dari grafik diatas juga diperoleh nilai R^2 . Dimana R^2 ini merupakan nilai koefisien korelasi dalam hubungan dua variabel X dan Y, yang mengukur kuatnya hubungan antara X dan Y. Dari nilai R^2 dengan taraf kepercayaan 95% pada derajat besar 3 memiliki nilai 0,85. Nilai R^2 tersebut menunjukkan adanya hubungan korelasi yang linier antara konsentrasi dan probit, dimana akan ada peningkatan nilai probit apabila nilai konsentrasi meningkat.

Berdasarkan perhitungan nilai LC_{50} yang telah didapat, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) memiliki sifat toksik karena nilai LC_{50} yang dimiliki <1000ppm yang berpotensi sebagai antikanker. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan mayer (1982) yang menyatakan bahwa senyawa dengan nilai $LC_{50} < 100$ memiliki sifat yang sangat toksik, namun pada kategori toksik memiliki nilai $LC_{50} < 1000$ dan kategori praktis tidak toksik memiliki nilai nilai $LC_{50} > 1000$ (Meyer *et al.*, 1982).

Adanya sifat toksik ini dapat berkaitan dengan senyawa-senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) seperti senyawa flavonoid 23,93%, tanin 8,21%, saponin 5,20%, dan alkaloid 4,37% yang dapat berpotensi sebagai antikanker dengan mekanisme kerja sebagai *stomach poisoning*, akibat aktivitas enzim yang terhambat dengan pembentukan ikatan kompleks protein pada enzim substrat sehingga menyebabkan sel mengalami apoptosis dan merusak dinding sel pencernaan dari larva *Artemia*.

Pada hasil skirining antiknker ekstrak etanol daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) menunjukkan hasil yang positif atau potensial, sehingga perlu dilakukan penelitian lanjutan pada hewan uji atau sel kanker secara langsung.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

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

1. Pengujian skrining fitokimia pada ekstrak etanol daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) menunjukkan bahwa ada kandungan senyawa saponin, tanin, alkaloid dan flavonoid.
2. Pengujian kadar senyawa total ekstrak etanol daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) dengan instrumen spektrofotometri UV-VIS mendapatkan hasil prosentase kadar senyawa flavonoid total sebesar 23,93%, kadar prosentase senyawa tanin total sebesar 8,21%, kadar prosentase senyawa saponin total sebesar 5,20%, sedangkan kadar prosentase alkaloid total sebesar 4,38%.
3. Skrining potensi antikanker ekstrak etanol daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST) menunjukkan adanya potensi sebagai antikanker dengan ditandai perolehan nilai $LC_{50} < 1000\text{ppm}$, yakni sebesar 697,99ppm.

5.2 Saran

Pada hasil skrining antikanker ekstrak etanol daun jinten (*Plectranthus Amboinicus*) menunjukkan hasil yang positif atau potensial, sehingga perlu dilakukan penelitian lanjutan pada hewan uji atau sel kanker secara langsung.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson. (1991). *Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Waru (Hibiscus Tiliaceus L.) Terhadap Larva Arthemias Salina Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BST)*. 3(1), 22443–1249.
- April. (2019). Bioaktivitas Dan Antioksidan Flavonoid. *Jurnal Zarah*, 6.
- Astarina N.W.G., W. (2013). Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Rimpang Bangle (zingiber purpureum Roxb). *Jurnal Farmasi Udaya, Vol.II*.
- Boroco Celosia, Malik, A., Edward, F., & Waris, R. (2006). *FLAVONOID TOTAL EKSTRAK METANOLIK HERBA*. 1(1), 1–5.
- BPOM, R. (2005). Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Rimpang Bangle (Zingiber Purpureum Roxb). *Dirjen Pom*.
- BPOM, R. (2014). Persyaratan Mutu Obat Tradisional. *Dirjen Pom*.
- Chinelo A, Okeke CU, Bibian O, Cinyere V, and E. A. (2014). Determinasi of Saponin Content of various Parts of Six Citrus species. *International Research Journal of Pure and Applied Chemistry*, 1(4).
- Dewi S.M., Venty S., and S. (2005). Skrining Fitokimia dan analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (Sechium edule Jecq.Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. *Jurnal Biofarmasi*, 1(3), 26–31.
- dewiani. (2015). Phytochemical And Anti-Ulcer Investigations Of 95% Ethanolic-Benzene Chloroform. *Annals Of Biological Research*, 1(1), 15–20.
- Donatus, L. A. (1990). Toksikologi Pangan. *PAU Pangan Dan Gizi UGM, Yogyakarta, Ed.I*, 246–247.
- Dwilana O. (2010). Standarisasi Simplisia Daun Justicia gendarussa Burn f. Dari Berbagai Tempat Tumbuh. *Universitas Airlangga*.
- Ergina, Nuryanti, S. and P. (2014). Qualitative Test of Secondary Metabolites Compounds in Palado Leaves (Agave Angustifolia) Extracted With Water and Ethanol. *Jurnal Akademika Kimia*, 3, 165–172.
- Gandjar I. (2007). Kimia Farmasi Analisis. *Penerbit Pustaka Pelajar*.
- gandjar I.G, R. A. (2007). *Kimia Farmasi Analisis*. Penerbit Pustaka Pelajar.
- Harborne J.B. (2006). Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis

- Tumbuhan Edisi 2. *ITB Press*.
- Hargono, H. (2015). Analisis Fitokimia. *EGC*.
- Hariana A. (2007). Tumbuhan Obat Dan Khasiatnya. *ITB Prees*.
- Hutapea. (1994). Metode Fitokimia. *ITB Prees*.
- Jefferin Sambara, Ni Nyoman Yuliani, M. Y. E. (2016). PEMANFAATAN TANAMAN OBAT TRADISIONAL OLEH MASYARAKAT KELURAHAN MERDEKA KECAMATAN KUPANG TIMUR 2016. *JURNAL INFO KESEHATAN*, 14, 114–124.
- Kartikasari, D., Farmasi, P., Farmasi, A., & Pontianak, Y. (n.d.). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Batang Seledri (*Apium Graveolens*) Dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test). 2.
- Kemkes RI. (2011). Situasi diare di Indonesia. *Jurnal Buletin Jendela Data & Informasi Kesehatan*, 2, 1–44.
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. (2015). Panduan Program Nasional Gerakan Pencegahan dan Deteksi dini Kanker. *Direktorat Bina Pelayanan Kesehatan*.
- Lenny. (2006). *Senyawa Flavonoid, Fenil Propanoida Dan Alkaloida*.
- Loomis, T. A. (1978). esswntial of Toxicologi. *IKIP Semarang Prees, Ed.III*, 228–233.
- Mardisiswoyo, s dan M. R. . (1965). *Tjobe Pujang Warisan Nenek Mojang* (Cetakan pe). Penerbit Prapantja.
- Mayer, B.N., Ferrigni, N.P., Putnam, J.E., Jacobsen, L.B., Nichols, D.E., Mc Laughin, J. L. (1982). brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Journal of Medicinal Plant Research Planta Medica*, 45, 31–32.
- Meyer, B.N., Ferrighni., Putnam., Jacobson., N. and J. . M. (1982). Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay For Active Plant Constituen. In *Planta Medica*.
- Molyneux, C. and. (2007). Comparison Between Two Brine Shrimp Assays to Detect In Vitro Cvtoxicity In Marine Natural products. *BMC Biotechnology*, 1(2), 1472–6570.
- Mudjiman A. (1988). Udang Renix Air Asin (*Artemia Salina*). In *Bharata Karya*

- Aksara* (pp. 17-27,34-35).
- Mudjiman, A. (1991). Makanan Ikan. *Penebar Swadaya. Jakarta*, 72–88.
- Mulja and Suharman. (1995). Oxidant, antioksidan dan Disease Prevention International Life. *Sciences Institutes (ILSI)*.
- Muniroh. (2013). *Efek Antiradang dan Toksisitas Akut Ekstrak Daun Jintan (Plectranthus amboinicus) pada Tikus yang Diinduksi Arthritis*. 1(17).
- Ningsih, D.R., Zusfahair, D. K. (2016). *Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Serta Uji Aktivitas Ekstrak Daun Sirsak Sebagai Antibakteri*, *Molekul*. 11, 101–111.
- Nurul A. (2016). Penentuan Kadar Alkaloid Pada Ekstrak Daun Tanaman Menggunakan Metode NIR dan Kemometrik. *Universitas Jember Prees*.
- Panjaitan. (2011). Uji Aktivitas Antioksidan dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol 70% dan Ekstrak Air Kulit Batang Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*). *Universitas Syarif Hidayatulloh*.
- Patricia, A. D., & Mahatmanti, F. W. (2019). *Indonesian Journal of Chemical Science Uji Daya Antibakteri Gel Hand Sanitizer Minyak Atsiri Seledri (Apium graveolens)*. 8(1).
- Pawarta. (2014). *Habbatus Sauda dalam menangani berbagai penyakit*. 81–105.
- Prawirodiharjo E. (2014). Uji Aktivitas Antioksidan Dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol 70% dan Ekstrak Air Kulit Batang Kayu Jawa (*Lannea Coromandelica*). *Universitas Syarif Hidayatulloh*.
- R.Balafif, Andayani, Y., and Gunawan, E. R. (2013). Analisis senyawa triterpenoid dari hasil fraksinasi ekstrak air buah buncis (*Phaseolus vulgaris* Linn). *CHEMISTRY PROGRESS*, 6(2).
- Rajendra, V. D. and. (2014). Estimation of Total Phenol, Tannin, Alkaloid and Flavonoid in hibiscus tiliaceus Linn, Wood Extracts. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2(4).
- Ramadhani, A. N. (2009). *UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL DAUN SUKUN (Artocarpus altilis) TERHADAP LARVA ARTEMIA SALINA LEACH DENGAN METODE BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BST)*.
- Republik Indonesia, D. K. (1995). Farmakope Indonesia Edisi IV. : : *Departemen Kesehatan Republik Indonesia*.

- Republik Indonesia, D. K. (2000). Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. *Direktorat Jendral Pengawasan Obat Dan Makanan*.
- Reynertson. (2007). Kandungan Organik Tumbuhan. *ITB Prees*, 191–193.
- Rita and Suirta. (2008). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Yang Berpotensi Sebagai Antitumor Pada Daging Buah Pare (*Momordica Charantia L.*),. *Jurnal Kimia*, 1(2), 1907–9850.
- Robby C. (2009). Kandungan Organik Tumbuhan. *ITB Prees*, 191–193.
- Robert A.S., Kimberly S.A., Durado B., Stacey A.F., Deana M.B., Drbbie S., R. C. W. (2019). Cancer Screening In The United States, Review Of Current American Cancer Society Guidelines And Current Issues In Cancer Screening. *A Cancer Journal For Clinicans*, 3(69), 184–210.
- S., Baud, Sangi, M. S. and K. (2014). Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Batang Tanaman Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli L.*) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Jurnal Ilmiah Sains*, 14, 106–112.
- Saifudin A, Rahayu V, T. H. Y. (2011). Standardisasi bahan obat bahan alam. In *Graha Ilmu*.
- Shahdadi, F., Mirzaei, H. O., & Garmakhany, A. D. (2015). Study of phenolic compound and antioxidant activity of date fruit as a function of ripening stages and drying process. *Journal of Food Science and Technology*, 52, 1814–1819.
- Simbolon and Yelmir M. (2018). Pembuatan Sabun Transparan Dengan Penambahan Ekstrak Daun Seledri Sebagai Antibakteri. *Chempublish*, 3, 57–68.
- Siti, S. (2009). Uji Aktivitas Antibakteri dan Ekstrak n-Heksan dan Etanol Daun Sirih (*Piper batle Linn*) serta Identifikasi Senyawa Aktifnya. In *Universitas Islam Negeri Sunan Ampel Kalijaga*.
- Sri Y. (2001). Toksisitas Fraksi Aktif Daun Seledri (*Apium Graveolens Linn.*) Terhadap Larva *Artemia Salina LEACH*. *Universitas Sanata Dharma*, 35–42.
- Sugiyono. (2013). Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif, dan R&D. In *Alfabeta* (pp. 60–64).

- Suharto et al. (2012). , Studi Kandungan Bahan Aktif Tumbuhan Meranti Merah (Shorea leprosula Miq.) Sebagai Sumber Senyaa Antibakteri. *Jurnal Kesehatan, 11*, 1–15.
- Suherman, S., H. and S. (2006). Uji Toksisitas Ekstrak Lempayung Gajah (Zingiber zerumbet) Terhadap Larva Udang (Artemia salina Leach). *BulLittr, 17*, 30–38.
- Sukardiman, A.R and Pratiwi, N. F. (2004). Uji Praskrining Aktivitas Antikanker Ekstrak Eter dan Ekstrak Metanol Marchantia cf. planiloba Steph. Dengan Metode Uji Kematian Larva Udang dan Profil Densitometri Ekstrak Aktif. *Majalah Farmasi Airlangga, 4*.
- Susanti. (2014). *Potensi Timoquinon Dari Ekstrak Biji Jintan Hitam Untuk Kanker Serviks. 3*(1), 1907–0357.
- Syamsuhidayat. (1991). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. 9–12*.
- Tiwari, P., Kumar, M., K. H. (2011). Phytochemical Screening and extraction : a review. *International Pharmaceutical Sclencia, Vol.I*, 98–106.
- Voight R. (1971). Buku Pelajaran Teknologi Farmasi Edisi V. In *buku teknologi farmasi* (pp. 558-564,570). Gadjah Mada University Press.
- Winarsih hery. (2007). *antioksidan alami dan radikal* (Kanisius (ed.); V).
- Wulandari P. (2015). Formulasi Dan Evaluasi Sifat Fisik Sediaan Ekstrak Pegagan (Centella Asiatica (L.) Urban). *Universitas Sanata Darma Press*.
- Yenti, I. and. (2014). *Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Waru (Hibicus tiliaceus L.) Terhadap Larva Arthemia salina Lech dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BST). 1*(3), 2443–1249.
- Yuliantini. (2001). *Toksisitas Fraksi Aktif Daun Seledri (Apium Graveolens L.) Terhadap Larva Artemia Salina Leach*.
- Yusarman. (2016). *Daya Antibakter Fraksi Etanol Daun Jinten (Coleus ambonicus Lour.). 1*(2).

Lampiran 1. Hasil Determinasi Daun Jinten (*Plectranthus Amboinicus*)

**PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR**
DINAS KESEHATAN
UPT LABORATORIUM HERBAL MATERIA MEDICA BATU
Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396, e-mail: materiamedicabatu@jatimprov.go.id
KOTA BATU 65313

Nomor : 074/ 599A/ 102.7/ 2020
Sifat : Biasa
Perihal : **Determinasi Tanaman Daun Jinten**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : IKA RACHUTAMI
NIM : 1713206013
Fakultas : FARMASI, STIKES KARYA PUTRA BANGSA TULUNGAGUNG

1. Perihal determinasi tanaman daun jinten/ jintan ireng

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
Sub Kelas	: Asteridae
Ordo	: Lamiales
Famili	: Lamiaceae
Genus	: <i>Plectranthus</i>
Spesies	: <i>Plectranthus amboinicus</i> (Lour.) Spreng.
Sinonim	: <i>Coleus amboinicus</i> Lour. = <i>C. aromaticus</i> Benth. = <i>C. suborbiculatus</i> Zoll. & Mor. = <i>Plectranthus aromaticus</i> Roxb.

Nama Daerah : Daun Jinten (Indonesia), bangun-bangun (Batak), sukan (Melayu), ajiran (Sunda), daun jinten (Jawa Tengah), daun kambing (Madura), iwak kunu etu (Timor).

2. Morfologi : Habitus: tera tahunan, pangkal berkayu, dan mencapai tinggi 1 m. Batang: beruas, batang keluar dari ruas yang menyentuh tanah. Daun: tunggal, berdaging, berbentuk bulat telur, ujung dan pangkalnya runcing dengan tepian bergerigi/beringgit, kecuali pada bagian pangkal; pertulangan menyirip; dan bercabang-cabang membentuk seperti jala; permukaannya berambut tebal, seperti beludru berwarna putih; panjang 5-7 cm, dan lebar 4-6 cm; warnanya hijau muda, jika diremas berbau harum. Bunga: majemuk berupa tandan, panjang 20 cm, keluar dari ujung percabangan dan ketiak daun, warna biru keunguan. Biji: keras, gepeng, dan berwarna coklat muda.

3. Bagian yang digunakan : Daun.

4. Penggunaan : Penelitian.

5. Daftar Pustaka

- Setiawan, Dalimartha. 2007. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia 4*. Jakarta: Puspa Swara.
- Syamsuhidayat, Sri sugati, dan Hutapea, Johnny Ria. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (I)*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.

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

Batu, 23 Desember 2020


KEPALA UPT LABORATORIUM HERBAL
MATERIA MEDICA BATU
ACHMAID MABRUR, SKM, M.Kes.
PEMBINA
NIP. 19680203 199203 1 004

Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian1. Tanaman Jinten (*Plectranthus Amboinicus*)

Tanaman Jinten



Daun Jinten Tampak Depan



Daun Jinten Tampak Belakang

2. Pembuatan Ekstrak



Pemotongan Daun Jinten



Pengeringan Menggunakan Oven



Simplisia Kering Daun Jinten



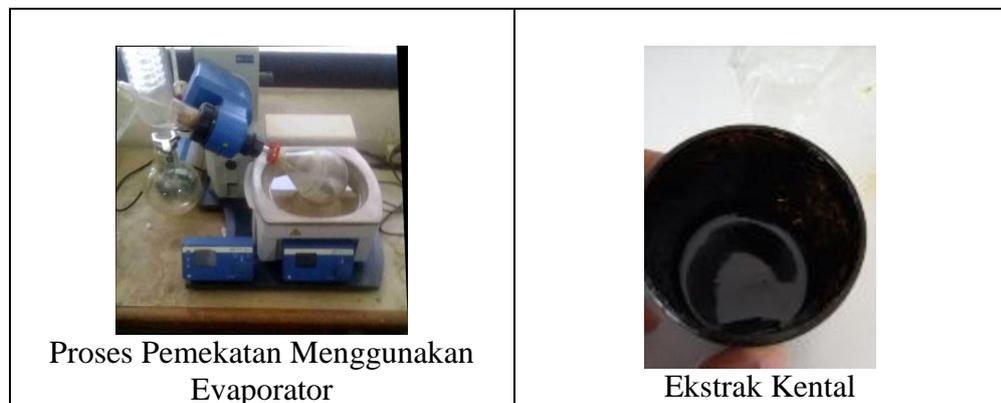
Proses Pengecilan Ukuran Partikel



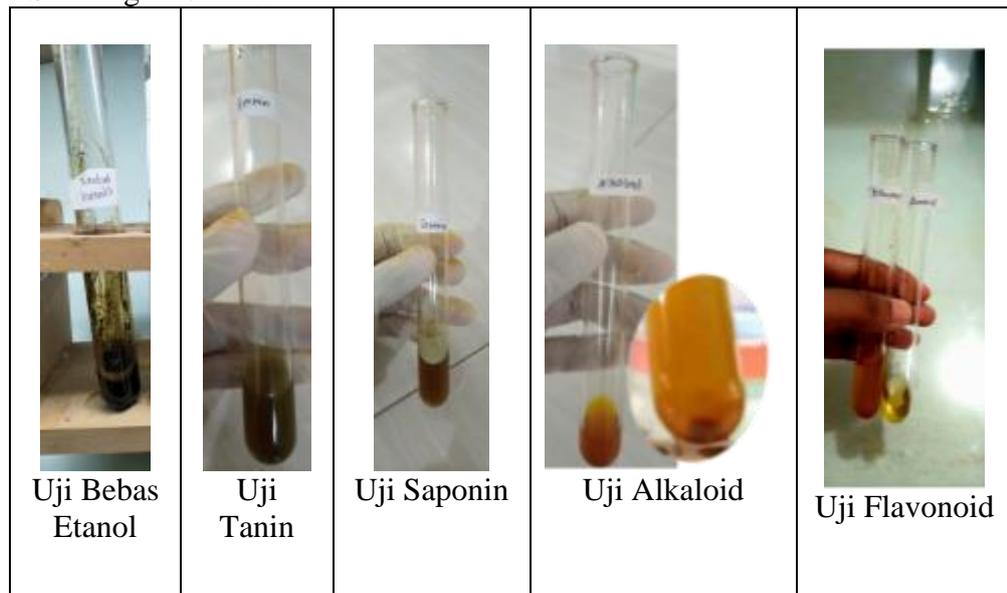
Proses Pengayakan



Penimbangan Serbuk Daun Jinten



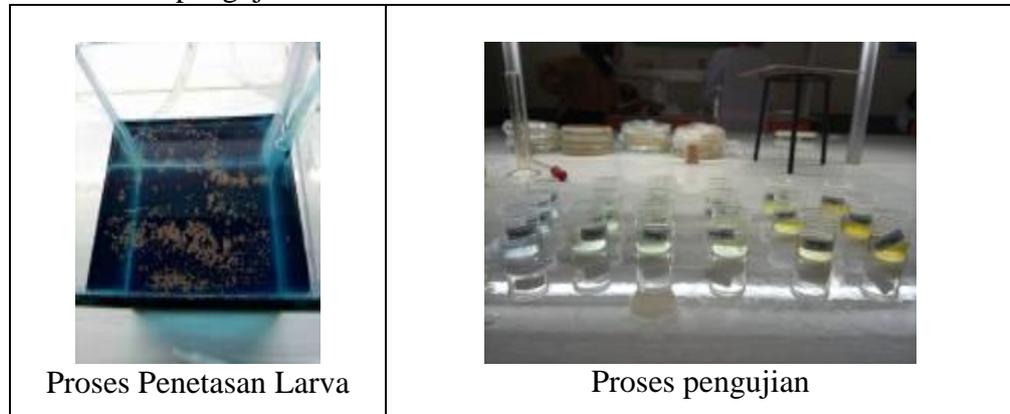
3. Skrining Fitokimia



4. Uji Toksisitas
a. Pembuatan seri konsentrasi



- b. Penetasan dan pengujian toksisitas



Lampiran 3. Orientasi Untuk Mendapatkan Seri Konsentrasi Ekstrak Daun Jinten (*Plectranthus amboinicus*) yang Akan Digunakan dalam Pengujian.

1. Pembuatan larutan induk 1600ppm

Larutan induk dibuat dengan menimbang 80mg ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) yang kemudian dilarutkan dengan 50ml aquadest.

2. Pembuatan larutan dengan konsentrasi 100ppm, 500ppm dan 1000ppm

- a. Konsentrasi 100ppm dalam 50ml

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1600\text{ppm} \times V_1 = 100\text{ppm} \times 50\text{ml}$$

$$V_1 = \frac{100\text{ppm} \times 50\text{ml}}{1600\text{ppm}}$$

$$V_1 = 3,125\text{ml}$$

b. Konsentrasi 500ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1600\text{ppm} \times V_1 = 500\text{ppm} \times 50\text{ml}$$

$$V_1 = \frac{500\text{ppm} \times 50\text{ml}}{1600\text{ppm}}$$

$$V_1 = 15,625\text{ml}$$

c. Konsentrasi 1000ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1600\text{ppm} \times V_1 = 1000\text{ppm} \times 50\text{ml}$$

$$V_1 = \frac{1000\text{ppm} \times 50\text{ml}}{1600\text{ppm}}$$

$$V_1 = 31,25\text{ml}$$

3. Jumlah larva yang mati tiap 10 ekor

Replikasi	Kontrol (-)	Perlakuan (ppm)		
		100	500	1000
1	0	3	3	6
2	0	2	5	6
3	0	3	5	6
Total	0	7	13	18
kematian				
Rata-rata	0	2,6	4,3	6

4. Perhitungan persen kematian

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

$$\text{a. Konsentrasi 100ppm} = \frac{2,6 - 0}{10} \times 100\% = 26 \%$$

$$\text{b. Konsentrasi 500ppm} = \frac{4,3 - 0}{10} \times 100\% = 43 \%$$

$$\text{c. Konsentrasi 1000ppm} = \frac{6 - 0}{10} \times 100\% = 60\%$$

5. Pembuatan larutan induk 2500ppm

Larutan induk dibuat dengan menimbang 125mg ekstrak daun jinten

(*Plectranthus amboinicus*) yang kemudian dilarutkan dengan 50ml aquadest.

6. Pembuatan seri konsentrasi 100ppm, 300ppm, 500ppm, 700ppm dan 900ppm.

a. Konsentrasi 100ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$2500\text{ppm} \times V_1 = 100\text{ppm} \times 50\text{ml}$$

$$V_1 = \frac{100\text{ppm} \times 50\text{ml}}{2500\text{ppm}}$$

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

b. Konsentrasi 300ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$2500\text{ppm} \times V_1 = 300\text{ppm} \times 50\text{ml}$$

$$V_1 = \frac{300\text{ppm} \times 50\text{ml}}{2500\text{ppm}}$$

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

c. Konsentrasi 500ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$2500\text{ppm} \times V_1 = 500\text{ppm} \times 50\text{ml}$$

$$V_1 = \frac{500\text{ppm} \times 50\text{ml}}{2500\text{ppm}}$$

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

d. Konsentrasi 700ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$2500\text{ppm} \times V_1 = 700\text{ppm} \times 50\text{ml}$$

$$V_1 = \frac{700\text{ppm} \times 50\text{ml}}{2500\text{ppm}}$$

$$V_1 = 14\text{ml}$$

e. Konsentrasi 900ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$2500\text{ppm} \times V_1 = 900\text{ppm} \times 50\text{ml}$$

$$V_1 = \frac{900\text{ppm} \times 50\text{ml}}{2500\text{ppm}}$$

$$V_1 = 18\text{ml}$$

7. Jumlah larva yang mati tiap ekor

Replikasi	Kontrol (-)	Perlakuan (ppm)				
		100	300	500	700	900
1	0	0	4	5	6	6
2	0	4	2	4	7	6
3	0	4	3	5	2	4
Total	0	8	9	14	15	16
kematian						
Rata-rata	0	2,6	3	4,6	5	5,3

8. Perhitungan persen kematian

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

$$\text{a. Konsentrasi 100ppm} = \frac{2,6-0}{10} \times 100\% = 26 \%$$

$$\text{b. Konsentrasi 300ppm} = \frac{3-0}{10} \times 100\% = 30 \%$$

$$\text{c. Konsentrasi 500ppm} = \frac{4,6-0}{10} \times 100\% = 4,6\%$$

$$\text{d. Konsentrasi 700ppm} = \frac{5-0}{10} \times 100\% = 50\%$$

$$\text{e. Konsentrasi 900ppm} = \frac{5,3-0}{10} \times 100\% = 5,3\%$$

9. Penentuan dan perhitungan seri konsentrasi

a. Seri konsentrasi ditentukan dengan kelipatan 500ppm, hal ini dimaksudkan untuk mendapatkan nilai % kematian yang jelas dibandingkan dengan nilai % kematian konsentrasi yang berdekatan.

b. Pembuatan larutan induk 6000ppm

Larutan induk dibuat dengan menimbang 300mg ekstrak daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) yang kemudian dilarutkan dengan 50ml aquadest.

c. Perhitungan seri konsentrasi 500ppm, 1000ppm, 1500ppm, 2000ppm dan 2500ppm

- Konsentrasi 500ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$6000\text{ppm} \times V_1 = 500\text{ppm} \times 50\text{ml}$$

$$V_1 = \frac{500\text{ppm} \times 50\text{ml}}{6000\text{ppm}}$$

$$V_1 = 4,2\text{ml}$$

- Konsentrasi 1000ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$6000\text{ppm} \times V_1 = 1000\text{ppm} \times 50\text{ml}$$

$$V_1 = \frac{1000\text{ppm} \times 50\text{ml}}{6000\text{ppm}}$$

$$V_1 = 8,4\text{ml}$$

- Konsentrasi 1500ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$6000\text{ppm} \times V_1 = 1500\text{ppm} \times 50\text{ml}$$

$$V_1 = \frac{1500\text{ppm} \times 50\text{ml}}{6000\text{ppm}}$$

$$V_1 = 12,5\text{ml}$$

- Konsentrasi 2000ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$6000\text{ppm} \times V_1 = 2000\text{ppm} \times 50\text{ml}$$

$$V_1 = \frac{2000\text{ppm} \times 50\text{ml}}{6000\text{ppm}}$$

$$V_1 = 16,6\text{ml}$$

- Konsentrasi 2500ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$6000\text{ppm} \times V_1 = 2500\text{ppm} \times 50\text{ml}$$

$$V_1 = \frac{2500\text{ppm} \times 50\text{ml}}{6000\text{ppm}}$$

$$V_1 = 20,8\text{ml}$$

d. Jumlah larva yang mati tiap ekor dan perhitungan persen kematian

Replikasi	Kontrol (-)	Perlakuan (ppm)				
		500	1000	1500	2000	2500
1	0	5	6	6	7	10
2	0	4	4	7	9	10
3	0	4	8	9	8	9
Total	0	13	18	22	24	29
kematian						
Rata-rata	0	4,3	6	7,3	8	9,6
% Kematian	100%	43%	60%	73%	80%	96%

Perhitungan persen kematian

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

Lampiran 4. Perhitungan Nilai LC₅₀ Dengan Menggunakan Analisis Probit Terhadap Ekstrak Daun Jinten (*Plectranthus amboinicus*).

a. Harga probit sesuai prosentase (Mursyidi,1985)

%	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	3,65
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	4,29	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

b. Data yang diperoleh

Concentration (ppm)	log 10	Probit	% Dead	Mortality	Total hewan uji
500	2,70	4,82	43%	13	30
1000	3	5,25	60%	18	30
1500	3,18	5,61	73%	22	30
2000	3,30	5,84	80%	24	30
2500	3,40	6,75	96%	29	30

c. Coeffisients

Intercept -1,86 (b)

Log (ppm) 2,41 (a)

d. Perhitungan persamaan

$$y = ax + b$$

$$y = 2,41x + (-1,86)$$

$$5 = 2,41x - 1,86$$

$$x = (5 + 1,86) : 2,41$$

$$x = 2,84$$

e. Perhitungan LC50

$$LC_{50} = \text{antilog } x \quad 697,99 \quad (\text{ppm})$$

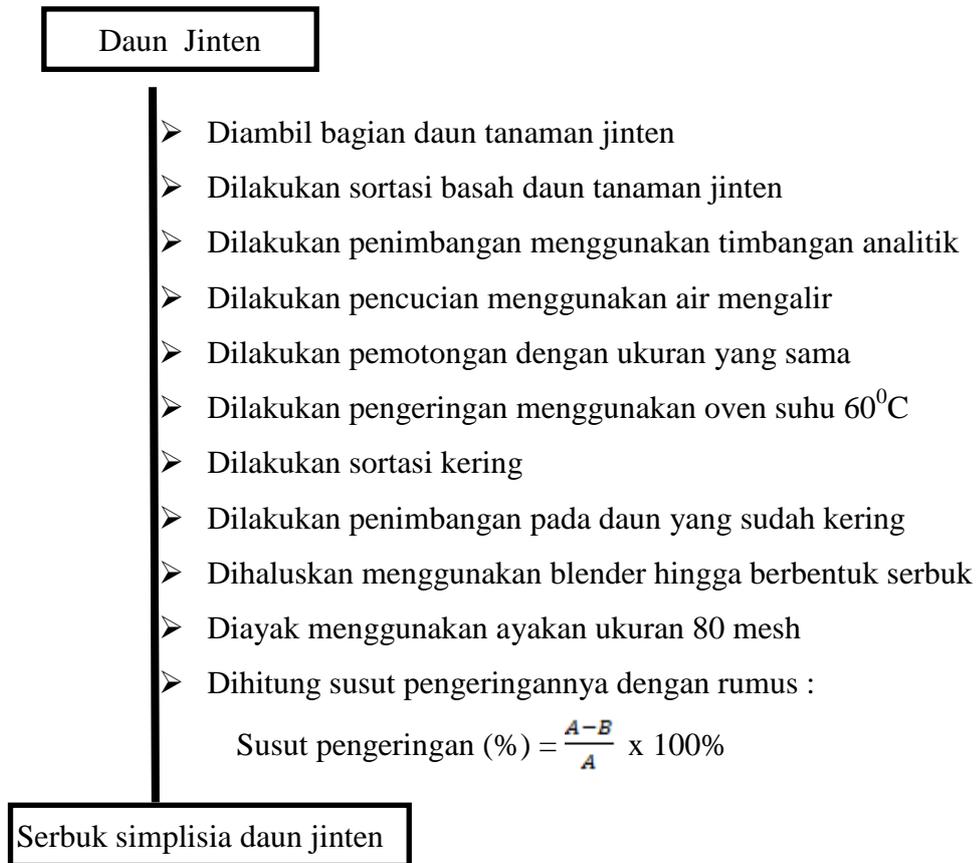
$$0,07 \quad (\%)$$

Lampiran 5. Jadwal Penelitian

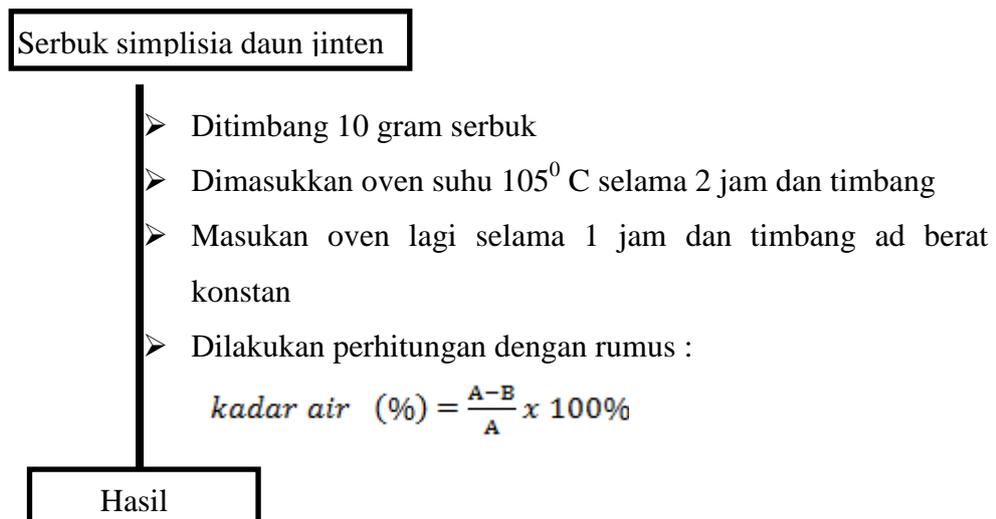
N O	JADWAL KEGIATAN	Tahun											TEMPAT		
		Tahun 2020				Tahun 2021									
		9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7			
1.	Pengajuan judul	√													STIKes Karya Putra Bangsa
2.	Studi literatur		√	√											STIKes KPB
3.	Persiapan Penelitian dan pembuatan ethical clearance					√									Lab.Botani KPB dan UBAYA
	a. Determinasi tanaman				√										UPT Materia Medika Batu Malang, Jawa Timur
	b. Pembuatan simplisia				√										Lab.BotaniKPB
	c. Pembuatan ekstrak					√									Lab.BotaniKPB
4.	Penelitian Laboratorium														
	a. Evaluasi simplisia						√								Laboratorium Botani KPB
	b. Evaluasi Ekstrak						√								Laboratorium Botani KPB
	c. Skrining fitokimia						√								Laboratorium Botani
	d. Pengujian kadar senyawa menggunakan UV-Vis						√								Laboratorium UMM
	e. Uji aktivitas antikanker ekstrak etanol daun dan batang seledri							√	√						Lab. Mikrobiologi KPB
5.	Pengumpulan dan Analisis Data									√					
	a. Penyusunan laporan akhir											√			STIKes KPB
	b. Pengumpulan laporan akhir											√			STIKes KPB

Lampiran 6. Alur Prosedur Kerja

1. Pembuatan serbuk simplisia



2. uji kadar air serbuk



3. Pembuatan ekstrak etanol daun jinten

Serbuk simplisia daun jinten

- Ditimbang dengan neraca analitik sebanyak 300 gram → dimasukkan kedalam botol maserasi
- Ditambahkan etanol 96% sampai terendam
- Direndam dengan penggojokan satu kali tiap hari
- Dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring → replikasi sampai pelarut berwarna bening
- Dilakukan pemekatan menggunakan evaporator → diperoleh ekstrak kental
- Dilakukan perhitungan persen rendemen.

$$\text{rendemen ekstrak \%} = \frac{\text{berat ekstrak kental}}{\text{berat serbuk simplisia}} \times 100\%$$

Ekstrak kental daun jinten

4. Pengujian bebas etanol

Ekstrak kental daun jinten

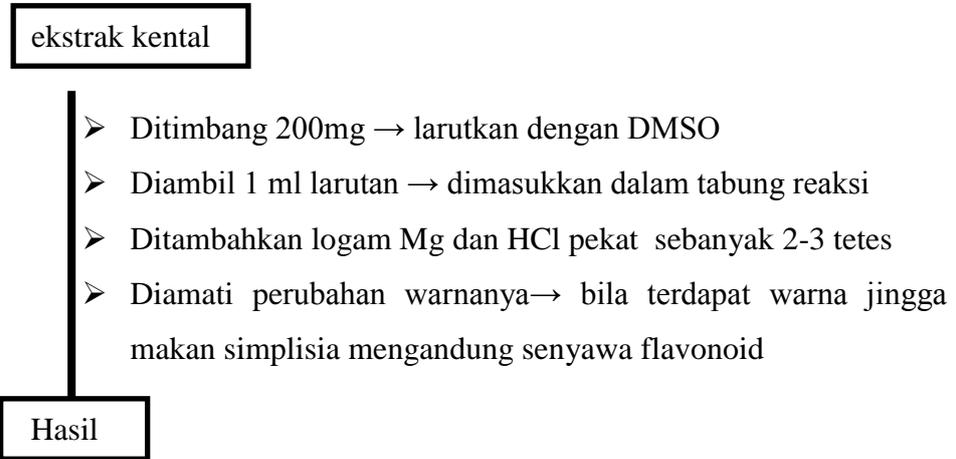
- Ditimbang 1 gram ekstrak menggunakan neraca analitik
- Ditambahkan 1 ml kalium dikromat
- Ditambahkan 2 tetes asam sulfat pekat
- Diaduk dan diamati perubahan warnanya

Hasil

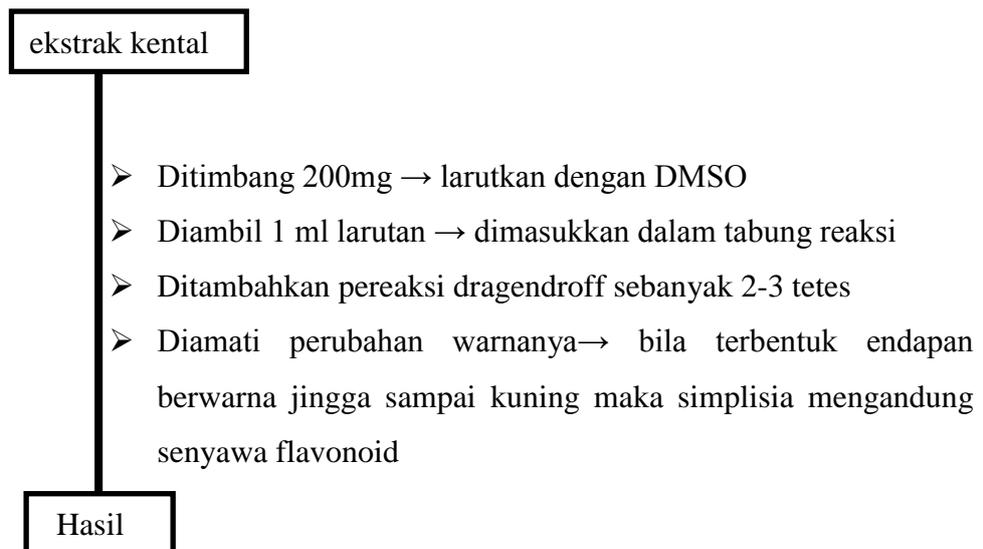
5. Pengujian skrining fitokimia

a. Secara kualitatif

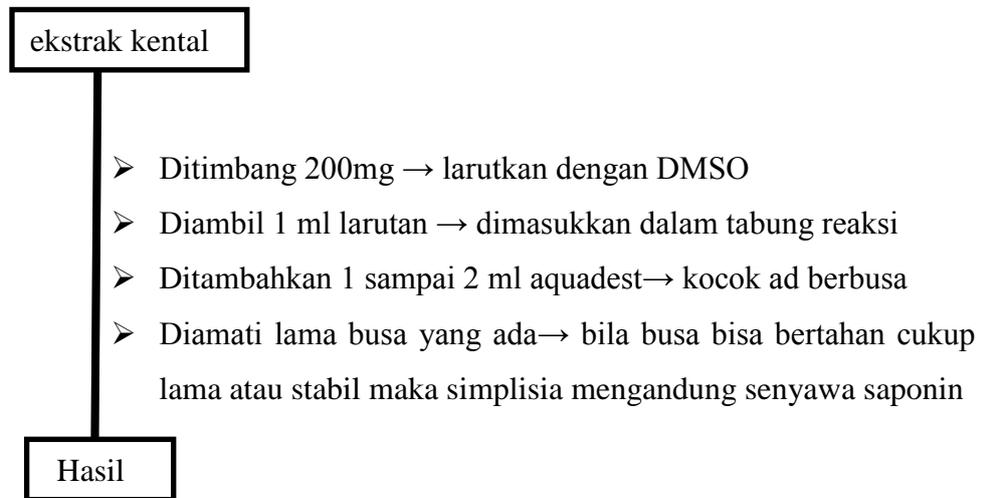
- Uji flavonoid



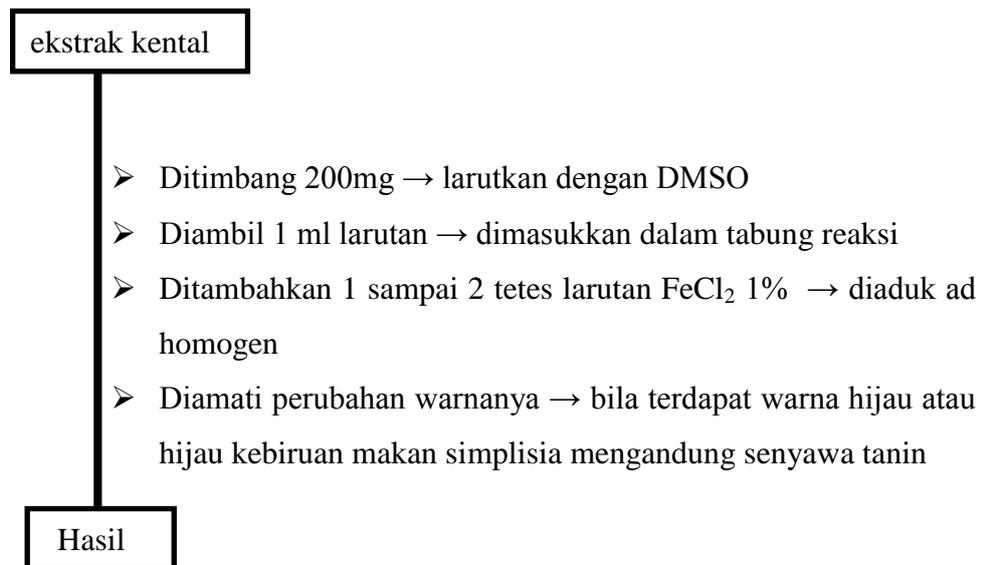
- Uji alkaloid



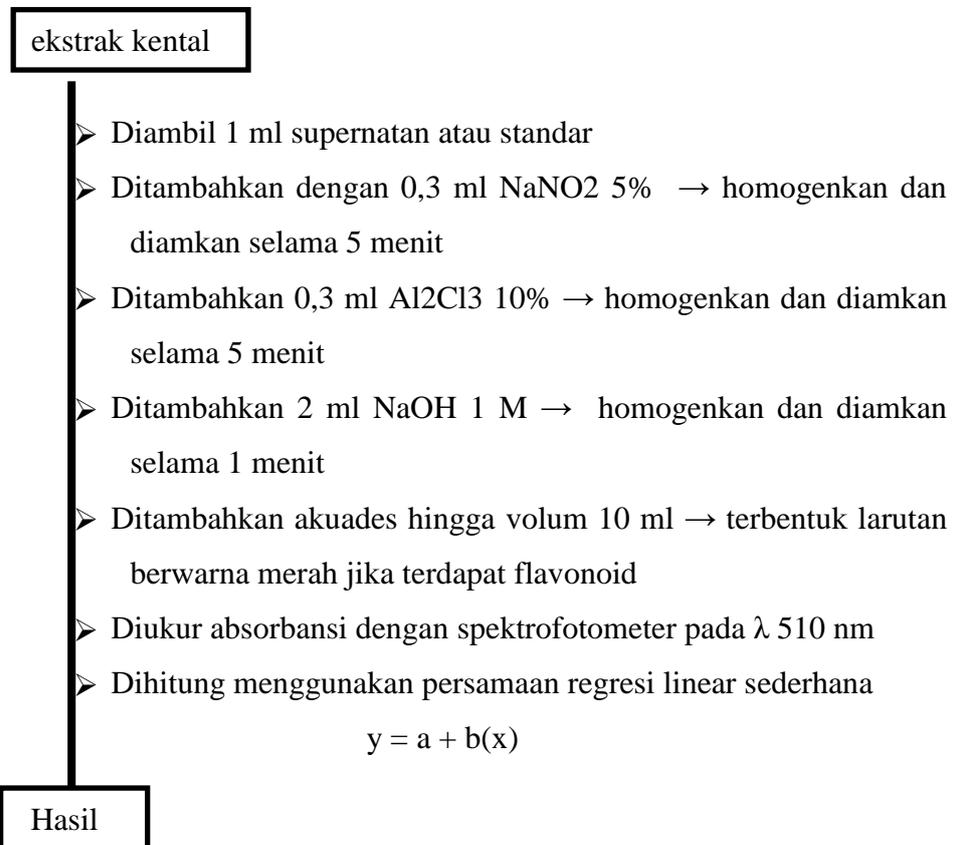
- Uji saponin



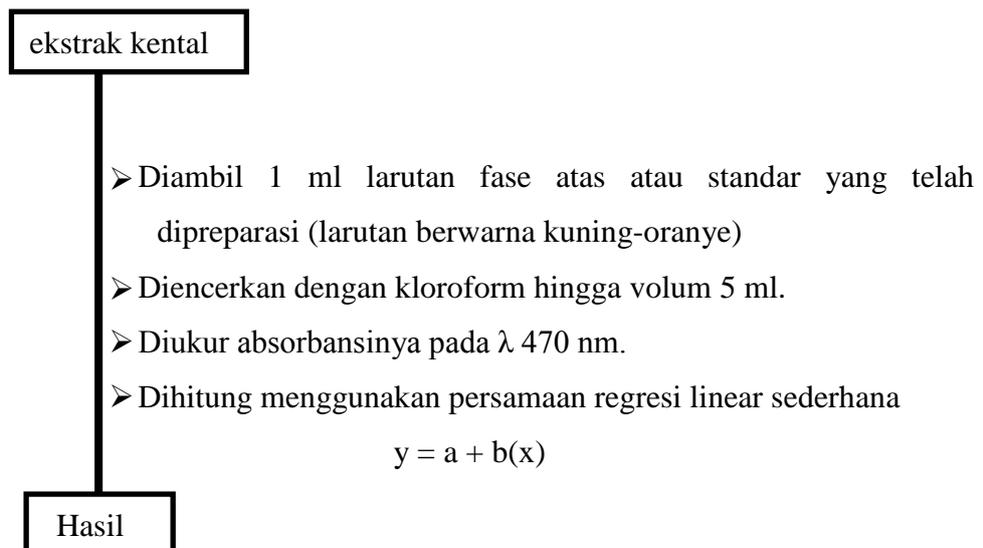
- Uji tanin



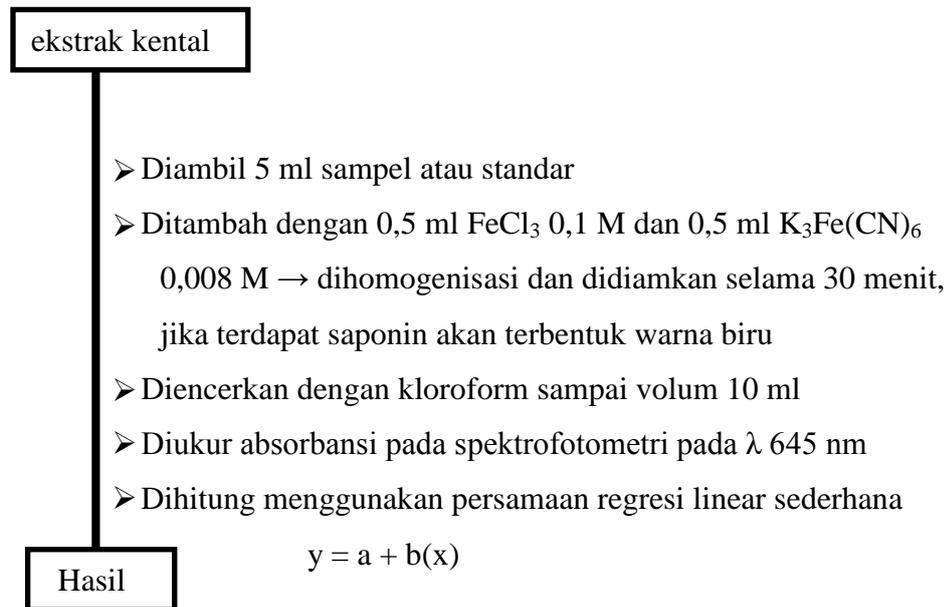
- b. Secara kuantitatif menggunakan spektrofotometer UV-Vis
- Uji flavonoid



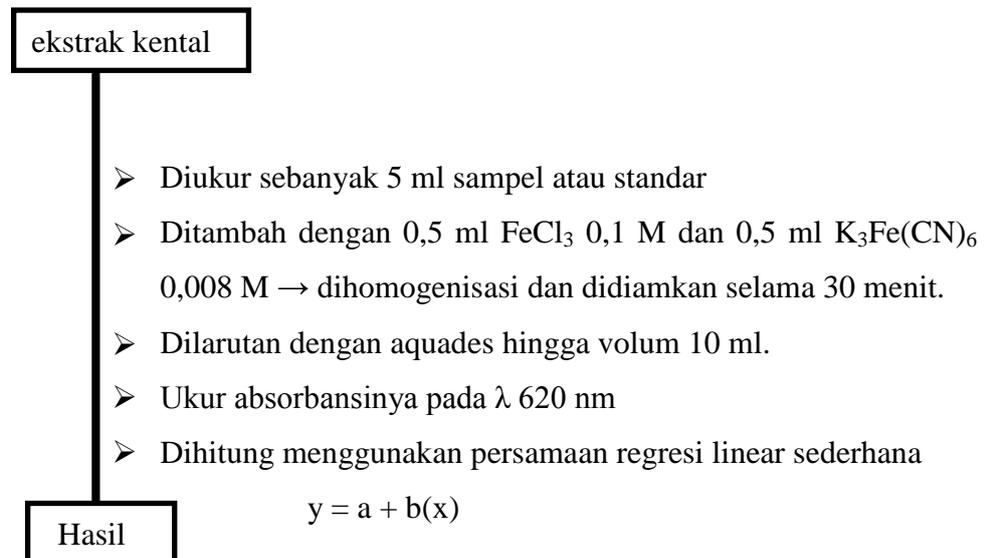
- Uji alkaloid



- Uji saponin

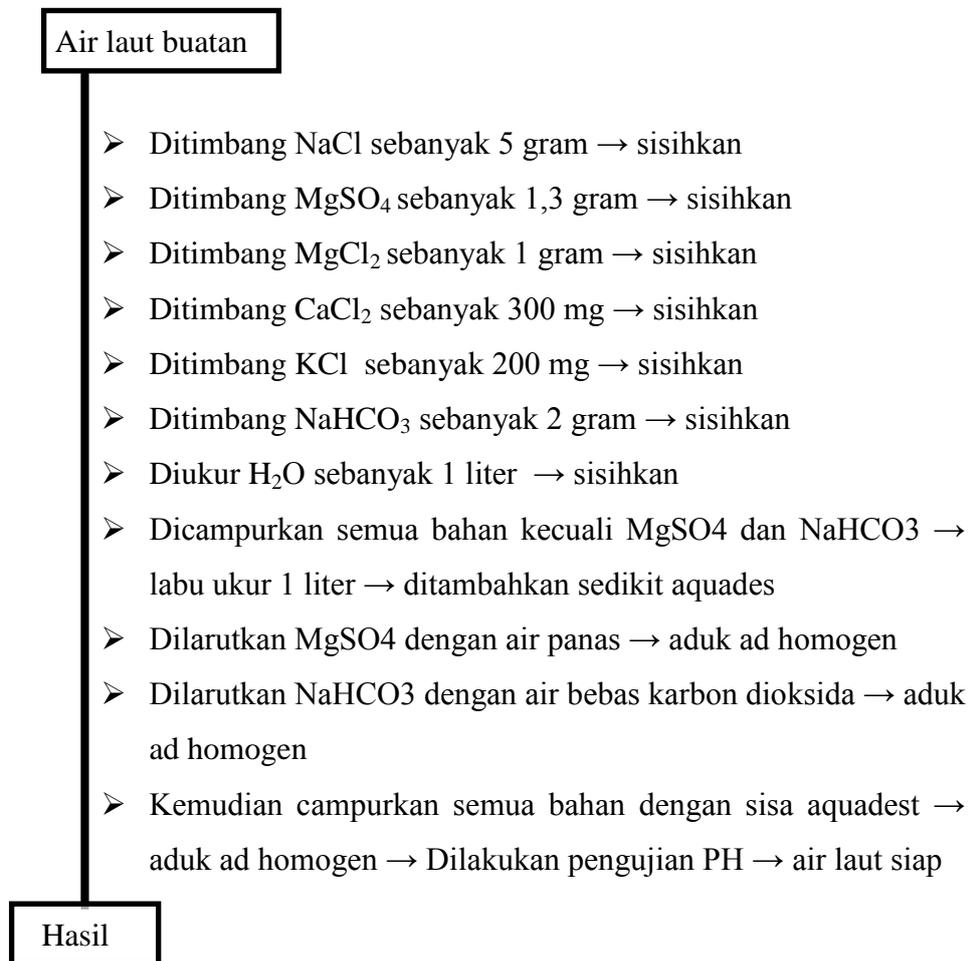
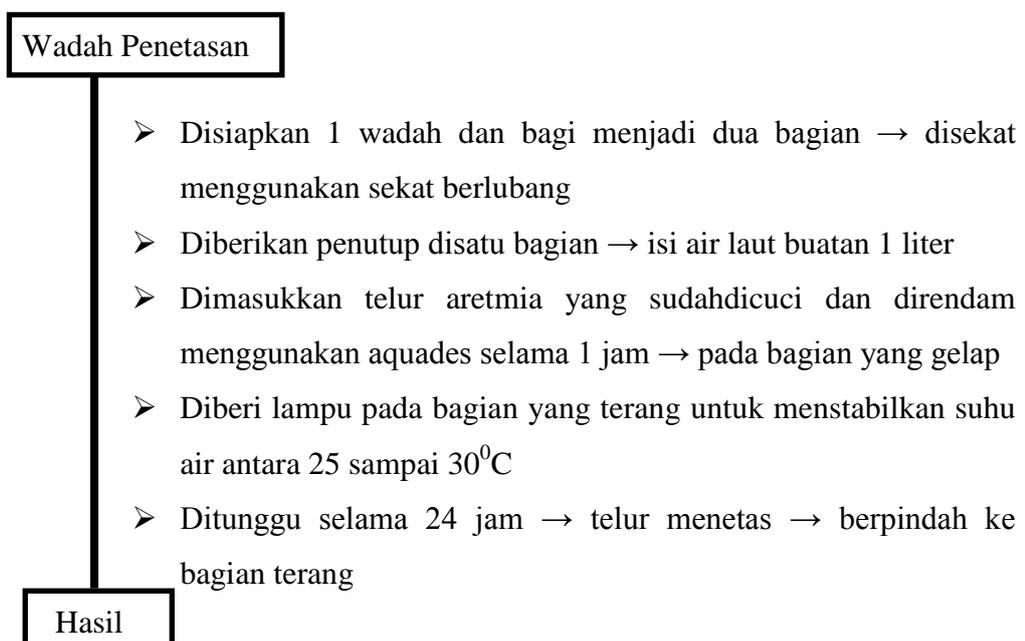


- Uji tanin

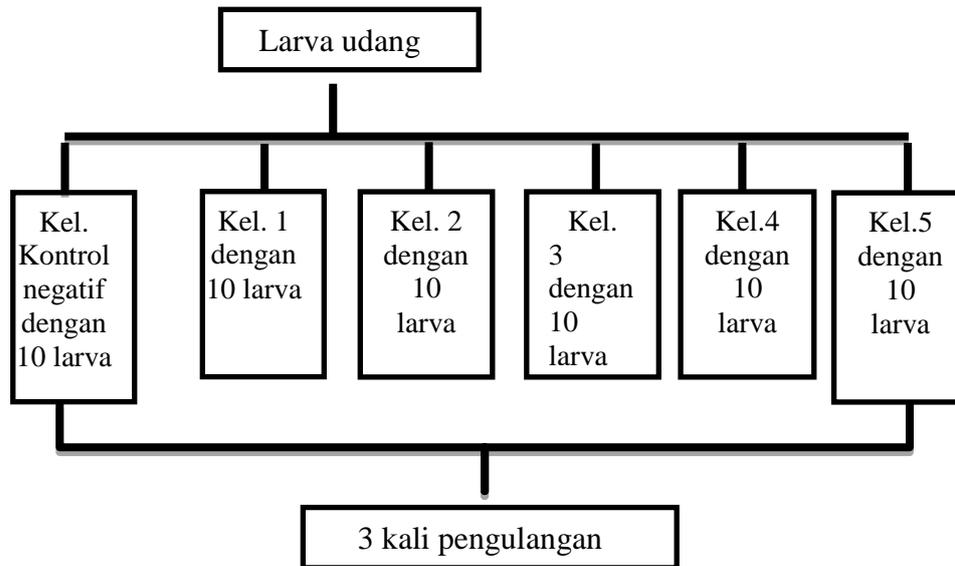


6. Uji toksisitas menggunakan metode BST

a. Pembuatan air laut buatan berkadar 5 per ml

b. Penetasan larva *Artemia Salina Leach*

c. Pembagian kelompok pengujian ketoksikan ekstrak daun jinten



Keterangan :

- kelompok kontrol negatif → tidak diberikan tambahan perlakuan
- kelompok 1 → diberikan larutan ekstrak daun jinten 500ppm
- kelompok 2 → diberikan larutan ekstrak daun jinten 1000ppm
- kelompok 3 → diberikan larutan ekstrak daun jinten 1500ppm
- kelompok 4 → diberikan larutan ekstrak daun jinten 2000ppm
- kelompok 5 → diberikan larutan ekstrak daun jinten 2500ppm