

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. HASIL

1. Preparasi Sampel

Tahap preparasi sampel, daun jambu air (*Syzygium samarangense* (BL.)Merrill & Perry Varietas Deli Hijau dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selama 7 hari, setelah kering dihaluskan dengan cara diblender tanpa pelarut. Penghalusan daun menjadi serbuk dan dihasilkan sebanyak 417,64 gram.

2. Ekstraksi Sampel

Sampel daun jambu air (*Syzygium samarangense* (BL.)Merrill & Perry Varietas Deli Hijau sebanyak 300 gram dimaserasi dengan pelarut n-heksana sebanyak 3 L selama 24 jam dan diaduk. Ekstraksi dilakukan 2 kali pengulangan dan filtratnya ditampung. Residu dari maserasi n-heksana dikeringkan dan dimaserasi lagi menggunakan pelarut etil asetat sebanyak 3 L selama 24 jam dan diaduk beberapa kali. Ekstraksi dilakukan sebanyak 2 kali dan filtrat yang diperoleh ditampung. Residu dari maserasi etil asetat dikeringkan dan dimaserasi lagi menggunakan pelarut metanol sebanyak 3 L selama 24 jam dan diaduk beberapa kali. Ekstraksi dilakukan sebanyak 2 kali dan filtrat yang diperoleh ditampung. Residu dari maserasi metanol dikeringkan dan dimaserasi lagi menggunakan pelarut air sebanyak 3 L selama 24 jam dan diaduk beberapa kali. (Murni,

2012). Ekstraksi dilakukan sebanyak 2 kali dan filtrat yang diperoleh ditampung dan di *freeze dryer* dan di oven dengan suhu 50°C untuk menghilangkan kandungan airnya dan dihasilkan ekstrak kasar 8 gr berbentuk serbuk (Kumoro, 2015). Hasil secara kualitatif terhadap ekstrak daun jambu air dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil ekstraksi secara kualitatif

Sampel	Pelarut	Warna Ekstrak
Daun Jambu Air	n-Heksana	Kuning
	Etil asetat	kecoklatan
	Metanol	Hijau pekat
	Air	Hijau pekat Coklat pekat

3. Uji Fitokimia sampel

Pada uji fitokimia ini dilakukan sebagai *screening* awal untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder pada sampel. Dilakukan 6 penujian diantaranya yaitu: (Kumoro, 2015)

Tabel 4.2 adalah tabel hasil dari ekstrak daun jambu air yaitu:

Tabel 4.2 Hasil uji fitokomia secara kualitatif

No	Senyawa Kimia	Hasil ekstrak daun jambu air	Keterangan (Positif jika)
1	Alkaloid	Larutan berwarna hitam, tdk ada endapan: (-) negative	Terdapat endapan jingga
2	Steroid	Larutan berwarna jingga: (+) positif	Larutan berwarna biru,

3	Flavonoid	Larutan berwarna kuning: (+) positif	merah, hijau dan jingga Larutan berwarna kuning, merah coklat
4	Tannin	Larutan berwarna hijau kehitaman (+) positif	Larutan berwarna hijau kehitaman
5	Saponin	Ada busa selaman 15 menit: (+) positif	Terdapat busa stabil selama 15 menit
6	Polifenol	Coklat kehitaman terdapat endapan coklat: (+) positif	Terdapat endapan coklat
7	Terpenoid	Larutan berwarna coklat kemerahan: (+) positif	Terbentuk berwarna coklat kemerahan

4. Uji potensi Antikanker dengan Metode BSLT

a. Penetasan Larva Udang

Pada penetasan larva udang di suatu tempat aquarium dengan air laut buatan berkonsentrasi 20% dan diberi sinar lampu, yang berumur 2x24 hari kemudian siap untuk diujikan dengan metode BSLT, air laut buatan 20% itu dibuat dengan cara mengencerkan 20 gram garam murni pada air aqudes 1 L dan 1 gram larva udang.

b. Uji potensi Antikanker dan Nilai LC50 dengan Analisis Reed-Muench

Uji BSLT dilakukan untuk mengamati tingkat kematian larva *Artemia salina* Leach yang disebabkan oleh ekstrak air

daun jambu air, tingkat kematian atau mortalitas selanjutnya dianalisis dengan menggunakan analisis Reed-Muench.

Pada metode ini, konsentrasi yang akan dibandingkan yaitu mulai dari 0.1 ppm, 1 ppm, 10 ppm, 100 ppm, dan 1000 ppm, serta 0 ppm sebagai kontrol tanpa penambahan ekstrak air daun jambu air. Konsentrasi yang pertama yang akan dibuat yaitu konsentrasi induk yaitu konsentrasi 1000 ppm dengan melarutkan 1 gram serbuk hasil dari ekstrak air daun jambu air dengan 1 L air laut buatan 20% (Juniarti, 2009), setelah larutan induknya terbuat, untuk membuat larutan 100 ppm bisa diencerkan pada larutan induknya dengan menggunakan rumus $V_1.M_1 = V_2.M_2$ sampai pada konsentrasi yang terendah (Chang, 2005).

Pada setiap konsentrasi diambil 5 ml dan dimasukkan kedalam botol vial kemudian diberi larva udang yang sudah berumur 48 hari sebanyak 10-13 ekor, dilakukan pengujianya langsung triplo atau 3 kali pengujian diamkan selama 24 jam, pada saat pengujianya di tempatkan pada tempat tertutup dan terkena sinar lampu Setelah 24 jam diamati dan dihitung larva udang yang mati dan yang hidup pada tiap-tiap konsentrasi, dan didapat LC_{50} nya 1,093956 ppm.

B. PEMBAHASAN

1. Preparasi Sampel

Tahap pertama yaitu preparasi sampel, daun jambu air dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Daun jambu air menjadi kering dalam jangka waktu 7 hari. Pengeringan daun

jambu air bertujuan untuk menghilangkan kadar air sekitar 8-10%, karena sampel dapat terhindar dari pencemaran yang disebabkan oleh jamur, bakteri dan insektisida yang terkandung dalam daun segar. (Ridwina, 2008).Pengeringan dilakukan pada suhu kamar agar senyawa-senyawa metabolit sekunder yang ada pada daun tidak rusak akibat suhu yang tinggi.

Daun jambu air (*Syzygium samarangense* (BL.)Merrill & Perry Varietas Deli Hijau yang telah kering dihaluskan dengan cara diblender tanpa pelarut. Penghalusan daun menjadi serbuk bertujuan untuk memperluas permukaan sehingga difusi sampel dengan pelarut pada saat ekstraksi dapat berjalan dengan optimal (Kumoro, 2015).

Sampel yang telah halus dibawa ke laboratorium kimia Fakultas Sains dan Teknologi. Sampel disimpan didalam wadah kedap udara dan kedap cahaya untuk menjaga mutu sampel dan mencegah kerusakan (Kumoro, 2015)

2. Ekstraksi Sampel

Tahap pertama, sampel daun jambu air (*Syzygium samarangense* (BL.) Merrill & Perry Varietas Deli Hijau sebanyak 300 gram dimaserasi dengan n-heksana sebanyak 3 L selama 24 jam dan diaduk beberapa kali agar pelarutnya berdifusi kedalam sel untuk melarutkan senyawa yang terkandung didalamnya dan larutan melewati dinding sel serta bercampur dengan cairan disekitarnya sehingga terbentuk kesetimbangan dengan sempurna (Murni, 2012). Ekstraksi dilakukan sebanyak 2 kali dan filtrat yang diperoleh ditampung (Kumoro, 2015).

Residu dari maserasi n-heksana dikeringkan dan dimaserasi lagi menggunakan pelarut etil asetat sebanyak 3 L selama 24 jam dan diaduk beberapa kali. Hal ini dilakukan agar pelarut yang digunakan berdifusi ke dalam sel untuk melarutkan senyawa yang terkandung didalamnya dan larutan melewati dinding sel serta bercampur dengan cairan di sekitarnya sehingga terbentuk kesetimbangan (Murni, 2012). Ekstraksi dilakukan sebanyak 2 kali dan filtrat yang diperoleh ditampung (Kumoro, 2015).

Residu dari maserasi etil asetat dikeringkan dan dimaserasi lagi menggunakan pelarut metanol sebanyak 3 L selama 24 jam dan diaduk beberapa kali. (Murni, 2012). Ekstraksi dilakukan sebanyak 2 kali dan filtrat yang diperoleh ditampung (Kumoro, 2015).

Residu dari maserasi metanol dikeringkan dan dimaserasi lagi menggunakan pelarut air sebanyak 3 L selama 24 jam dan diaduk beberapa kali. (Murni, 2012). Ekstraksi dilakukan sebanyak 2 kali dan filtrat yang diperoleh ditampung dan di *freeze dryer* dan di oven dengan suhu 50°C untuk menghilangkan kandungan airnya dan dihasilkan ekstrak kasar 8 gr berbentuk serbuk (Kumoro, 2015).

3. Uji Fitokimia

Pada uji fitokimia ini dilakukan sebagai *screening* awal untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder pada sampel. Dilakukan 6 penujian diantaranya yaitu: (Kumoro, 2015)

- a. Uji alkaloid yaitu: 1,0 mL sampel ditambah dengan 2-3 tetes pereaksi Dragendorff, bila bereaksi positif akan menghasilkan endapan jingga.
- b. Uji steroid yaitu: 1,0 mL sampel ditambah dengan 1,0 mL pereaksi Lieberman-Burchard, bila positif akan memberikan warna biru atau hijau.
- c. Uji Flavonoid yaitu: 1.0 mL sampel ditambahkan dengan H_2SO_4 2N, bila bereaksi positif akan terbentuk warna kuning, merah, atau coklat (Kumoro, 2015).
- d. Uji tannin yaitu: 2 gram sampel ditambahkan 10 ml air panas kemudian ditetesi Besi III klorida, bila positif akan terbentuk warna hijau kehitaman.
- e. Uji Saponin yaitu: 2,0 mL larutan sampel dipanaskan dan dikocok beberapa menit, bila bereaksi positif akan terbentuk busa yang stabil selama 15 menit (Kumoro, 2015).
- f. Uji polifenol yaitu: 1,0 mL larutan sampel ditambah dengan beberapa tetes larutan feriklorida 5%, bila bereaksi positif akan menghasilkan endapan coklat (Kumoro, 2015)
- g. Uji terpenoid yaitu: 1.0 mL sampel dilarutkan dengan 0.5 mL kloroform, kemudian 0,5 mL anhidrida asetat dan 2 mL H_2SO_4 pekat melalui dinding tabung (Kumoro, 2015).

4. Uji Potensi Antikanker dengan Metode BSLT

a. Penetasan Larva Udang

Pada penetasan larva udang di suatu tempat aquarium dengan air laut buatan berkonsentrasi 20% dan diberi sinar lampu untuk menghangatkan dan menjaga suhu, yang

berumur 2x24 hari kemudian siap untuk diujikan dengan metode BSLT, air laut buatan 20% itu dibuat dengan cara mengencerkan 20 gram garam murni pada air aqudes 1 L dan 1 gram larva udang, telur udang berwarna coklat pekat, telur akan menetas pada umur lebih dari 24 jam, pada umur 48 jam telur berwarna merah kecoklatan dan bergerak itu menandakan bahwa udang tersebut hidup (Mudjiman, 1983). Udang tersebut akan hidup lebih lama pada air garam yang konsentrasi antara 20-30%, karena jika konsentrasi air garam kurang dari 20% atau lebih dari 30% maka udang tersebut akan mudah mati.

b. Uji potensi Antikanker dengan Metode BSLT

Uji toksisitas BSLT merupakan deteksi awal untuk mengetahui potensi bioaktivitas dan toksisitas dari sampel sehingga dapat ditentukan konsentrasi ekstrak yang aman untuk pengujian. Uji dilakukan untuk mengamati tingkat kematian larva *Artemia salina Leach* yang disebabkan oleh ekstrak air daun jambu air, tingkat kematian atau mortalitas selanjutnya dianalisis dengan menggunakan analisis Reed-Muench untuk menentukan konsentrasi LC_{50} , perhitungan LC_{50} menggunakan analisis Reed-Muench karena tidak linear jika menggunakan analisis probit, salah satu syarat menggunakan analisis probit itu harus linear dengan nilai R^2 nya mendekati satu pada log konsentari dengan % data probitnya. LC_{50} (*lethal concentration 50*) 50%, yaitu konsentrasi yang menyebabkan kematian populasi larva

Artemia salina sebesar 50% dari populasi total. Ekstrak yang mempunyai LC_{50} lebih kecil dari 1000 ppm dikatakan memiliki potensi antikanker (Mayer, 1999).

Pada metode ini, konsentrasi yang akan dibandingkan yaitu mulai dari 0.1 ppm, 1 ppm, 10 ppm, 100 ppm, dan 1000 ppm, serta 0 ppm sebagai kontrol tanpa penambahan ekstrak air daun jambu air. Konsentrasi yang pertama yang akan dibuat yaitu konsentrasi induk yaitu konsentrasi 1000 ppm dengan melarutkan 1 gram serbuk hasil dari ekstrak air daun jambu air dengan 1 L air laut buatan 20% (Juniarti, 2009), setelah larutan induknya terbuat, untuk membuat larutan 100 ppm bisa diencerkan pada larutan induknya dengan menggunakan rumus $V_1.M_1 = V_2.M_2$ sampai pada konsentrasi yang terendah (Chang, 2005).

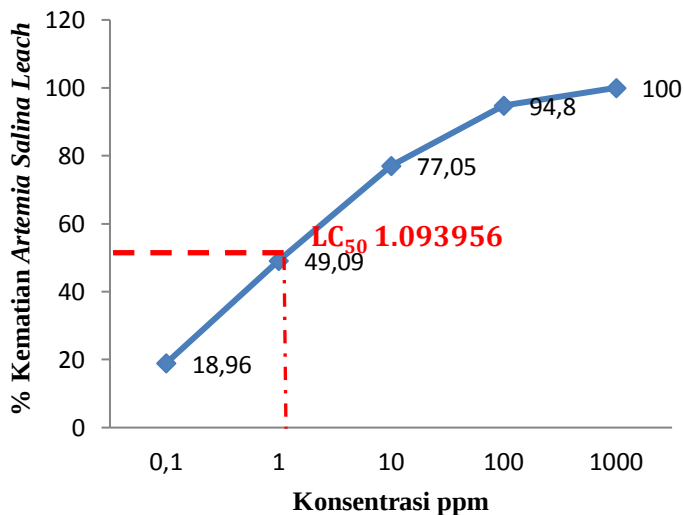
Pada setiap konsentrasi diambil 5 ml dan dimasukkan kedalam botol vial kemudian diberi larva udang yang sudah berumur 48 hari sebanyak 10-13 ekor, dilakukan pengujianya langsung triplo atau 3 kali pengujian diamkan selama 24 jam, pada saat pengujianya di tempatkan pada tempat tertutup dan terkena sinar lampu agar terjaga suhunya. Setelah 24 jam diamati dan dihitung larva udang yang mati dan yang hidup pada tiap-tiap konsentrasi, dan didapat LC_{50} nya 1,093956 ppm, suatu ekstrak menunjukkan aktivitas toksisitas dalam uji BSLT jika ekstrak dapat menyebabkan kematian 50% hewan uji pada konsentrasi kurang dari 1000 ppm untuk ekstrak kasar dan kurang dari

30 ppm untuk senyawa murni (Mayer, 1982) sehingga ekstrak air dari daun jambu air tersebut dinyatakan sitotoksik, dan Menurut McLaughlin suatu ekstrak dikatakan toksik jika nilai LC_{50} kurang dari 30 ppm berpotensi sebagai antikanker (Mc. Laughlin, 1991). Sehingga ekstrak air daun jambu air bersifat antikanker.

5. Perhitungan Nilai LC_{50} dengan Analisis Reed-Muench

Ekstrak yang akan diuji dibuat dalam konsentrasi 1000, 100, 10, 1, 0,1 ppm dan 0 ppm sebagai control (Juniarti, 2009). Untuk membuat berbagai konsentrasi, maka harus membuat konsentrasi induknya yaitu 1000 ppm dengan cara 1 gram sampel diencerkan pada 1 L air laut buatan. Untuk membuat konsentrasi 100 ppm, dapat dibuat dengan menggunakan rumus pengenceran yaitu $M_1.V_1 = M_2.V_2$ (Chang, 2005). Setelah konsentrasi dibuat maka siap untuk mengujikan larva udang selama 24 jam (Mayer, 1999).

Hasil dari uji BSLT dengan analisis Reed-Muench dapat dilihat pada grafik 4.3



Grafik 4.3 data hasil uji BSLT dengan analisis Reed-Muench

Dari grafik 4.3 terlihat bahwa hasil dari ekstrak air daun jambu air dengan uji BSLT menggunakan analisis Reed-Muench didapat LC₅₀ nya adalah 1.093956 ppm dan perhitungan lebih jelasnya bisa dilihat pada tabel 5.1.

Untuk menghitung persen kematian pada larva udang yaitu, jumlah kematian larva dibagi jumlah sigma larva mati dan jumlah sigma larva yang hidup kemudian dikali 100%. Adapun persen kematian larva yang didapat pada penelitian ini adalah sebagai berikut: (Setyaningsih, 2013).

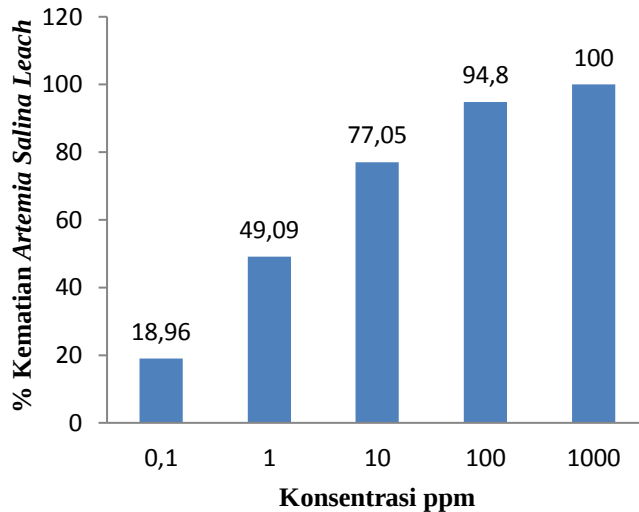


Diagram 4.4 Persentase kematian *Artemia Salina Leach* pada tiap konsentrasi ekstrak air daun jambu air.

Pada diagram 4.4 terlihat bahwa pada konsentrasi 0,1 ppm pada ekstrak air daun jambu air memberikan pengaruh terkecil pada % kematian *Artemia Salina Leach* dan pada konsentrasi 1000 ppm memberikan pengaruh terbesar pada % kematian *Artemia Salina Leach*. Semakin tinggi konsentrasi ekstraknya maka semakin tinggi pula persen kematian larvanya. Kematian larva *Artemia Salina Leach* memberikan pengaruh peningkatan yang stabil dengan konsentrasi ppm, tetapi pada konsentrasi 100-1000 memberikan peningkatan yang kecil dan rentangan yang kecil pula. Dari grafik 4.4 ada konsentrasi yang menunjukkan kematian 50%, sehingga ekstrak daun jambu air memiliki potensi antikanker (sitotoksik) dengan uji BSLT (Juniarti, 2009)

Adapun mekanisme kematian larva tersebut berhubungan dengan senyawa seperti flavonoid yang terkandung didalamnya. Senyawa tersebut bertindak sebagai racun perut atau *stomach poisoning* sehingga akan mengganggu alat pencernaannya. Selain itu reseptor perasa pada daerah mulut larva juga akan dihambat sehingga menyebabkan gagalnya stimulus rasa pada larva sehingga tidak mampu mengenali makanannya. Hal ini menyebabkan larva mati karena kelaparan (Mudjiman, 1983).

Untuk menentukan suatu ekstrak yang bersifat antikanker (sitotoksik), maka dapat menghitung dengan LC_{50} . LC_{50} (*Lethal Concentration 50*) merupakan konsentrasi zat yang menyebabkan terjadinya kematian pada 50% hewan uji. Parameter yang ditunjukkan untuk mengetahui adanya aktivitas sitotoksik pada uji BSLT, menurut McLaughlin adalah jika nilai $LC_{50} < 30$ ppm berpotensi sebagai antikanker (sitotoksik), nilai LC_{50} dari 30-200 ppm berpotensi sebagai antimikroba dan nilai LC_{50} dari 200-1000 ppm berpotensi sebagai pestisida (Mc Laughlin, 1991). Sedangkan menurut Mayer dan Anderson adalah suatu ekstrak menunjukkan aktivitas toksisitas dalam uji BSLT jika ekstrak dapat menyebabkan kematian 50% hewan uji pada konsentrasi kurang dari 1000 ppm untuk ekstrak kasar dan < 30 ppm untuk senyawa murni (Mayer, 1982).

Perhitungan nilai LC_{50} pada uji BSLT dengan menggunakan analisis Reed-Muench pada grafik 4.3 adalah 1,093956 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak air dari jambu air tersebut berpotensi sebagai antikanker.

Senyawa fitokimia yang memberikan efek toksik yaitu flavonoid, karena adanya flavonoid dalam sel, akan menyebabkan gugus OH-pada flavonoid berikatan dengan protein integral dalam membran sel, hal ini menyebabkan terhalangnya transport 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, pecahnya membran sel inilah yang menyebabkan kematian sel (Scheuer, 1994).

C. Keterbatasan Penelitian

Penelitian yang dilakukan, tentunya memiliki banyak keterbatasan. Keterbatasan penelitian ini diantaranya:

1. Uji aktivitas metabolit sekunder dalam ekstrak air daun jambu air terbatas hanya untuk menggali informasi potensi antikanker.
2. Bioassay atau uji antikanker hanya menggunakan metode BSLT.
3. Pelarut yang digunakan adalah hanya air, tidak dibandingkan dengan pelarut organik.