

**UJI TOKSISITAS FRAKSI N- HEKSANA, ETIL ASETAT,  
DAN ETANOL-AIR DAUN KERSEN (*Muntingia  
calabura*) DENGAN METODE *Brine Shrimp Lethality  
Test* (BSLT)**

**SKRIPSI**



**Oleh :**

**ELFANNY AULIA RACHMAN**

**NIM. 1608036026**

**PROGRAM STUDI KIMIA  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UIN WALISONGO SEMARANG  
2022**

# HALAMAN PENGESAHAN

## HALAMAN PENGESAHAN

Naskah skripsi berikut ini :

Judul : **UJI FRAKSI N-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN ETANOL-AIR DAUN KERSEN (*Muntingia calabura*) DENGAN METODE *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)**

Nama : Elfanny Aulia Rachman

NIM : 1608036026

Jurusan : Kimia

Telah diujikan dalam sidang munaqosah oleh Dewan Penguji Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo dan dapat diterima sebagai salah satu syarat memperoleh gelar sarjana sains dalam bidang Ilmu Kimia

Semarang, 20 Desember 2022

### DEWAN PENGUJI

Ketua Sidang



Mutista Hafshah, M.Si.  
NIP. 199401022019032015

Sekretaris Sidang



Dr. Ervin Tri Suryandari, M.Si.  
NIP. 197407162009122001

Penguji I



Ana Mardiyah, M.Si.  
NIP. 198905252019032019

Penguji II



Hris Nur Latifah, M.Si.  
NIP. 199203042019032019



Pembimbing I



Ratih Rizqi Nirwana, S.Si., M.Pd.  
NIP. 19810414 2005012 003

Pembimbing II



Mutista Hafshah, M.Si.  
NIP. 19940102 201903 2 015

## PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertandatangan dibawah ini :

Nama : Elfanny Aulia Rachman

NIM : 1608036026

Jurusan : Kimia

Menyatakan bahwa skripsi yang berjudul :

**“UJI FRAKSI N-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN ETANOL-AIR  
DAUN KERSEN (*Muntingia Calabura*) DENGAN METODE  
*Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*”**

Secara menyeluruh merupakan hasil penelitian atau karya sendiri, kecuali pada bagian tertentu yang merujuk dari sumbernya.

Semarang, 20 Desember 2022

Pembuat pernyataan



Elfanny Aulia Rachman

## NOTA DINAS

Semarang, 19 Desember 2022

Yth. Ketua Program Studi Kimia  
Fakultas Sains dan Teknologi  
UIN Walisongo Semarang

*Assalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh.*

Dengan ini diberitahukan bahwa saya telah melakukan bimbingan, arahan dan koreksi naskah skripsi dengan:

Judul : **UJI FRAKSI N-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN ETANOL-AIR DAUN KERSEN (*Muntingia Calabura*) DENGAN METODE *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).**

Penulis : Elfanny Aulia Rachman

NIM : 1608036026

Jurusan : Kimia

Saya memandang bahwa naskah skripsi tersebut sudah dapat diajukan kepada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang untuk diajukan dalam sidang Munaqosyah.

*Wassalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh.*

Pembimbing I



Ratih Rizqi Nirwana, S.Si.,M.Pd.

NIP. 19810414 2005012 003

## NOTA DINAS

Semarang, 19 Desember 2022

Yth. Ketua Program Studi Kimia  
Fakultas Sains dan Teknologi  
UIN Walisongo Semarang

*Assalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh.*

Dengan ini diberitahukan bahwa saya telah melakukan bimbingan, arahan dan koreksi naskah skripsi dengan:

Judul : **UJI FRAKSI N-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN ETANOL-AIR DAUN KERSEN (*Muntingia Calabura*) DENGAN METODE *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).**

Penulis : Elfanny Aulia Rachman

NIM : 1608036026

Jurusan : Kimia

Saya memandang bahwa naskah skripsi tersebut sudah dapat diajukan kepada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang untuk diajukan dalam sidang Munaqosyah.

*Wassalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh.*

Pembimbing II



Mutista Hafsah, M.Si.

NIP. 19940102 201903 2 015

## ABSTRAK

Judul : **UJI FRAKSI N-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN ETANOL-AIR DAUN KERSEN (*Muntingia Calabura*) DENGAN METODE *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).**

Penulis : Elfanny Aulia Rachman

NIM : 1608036026

Kersen (*Muntingia calabura*) adalah tanaman yang memiliki potensi sebagai bahan obat. Tujuan dari penelitian ini untuk menganalisa kandungan fitokimia dan uji toksisitas pada masing-masing fraksi daun kersen. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dengan etanol sebagai pelarut yang selanjutnya difraksinasi dengan pelarut n-heksana, etil asetat dan etanol-air. Uji toksisitas dilakukan dengan menggunakan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kersen mempunyai rendemen 14,5%, fraksi n-heksana 3,8%, etil asetat 2,1%, dan etanol-air 6,2%. Uji fitokimia daun kersen fraksi n-heksana memiliki kandungan senyawa triterpenoid. Pada fraksi etil asetat terdapat kandungan flavonoid dan tanin. Sedangkan pada fraksi etanol-air terdapat kandungan senyawa paling banyak yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Uji toksisitas dilakukan dengan memasukkan larva udang *Artemia salina* Leach ke dalam larutan uji dengan masing-masing konsentrasi larutan yang berbeda. Nilai  $LC_{50}$  dihitung berdasarkan persen kematian larva udang menggunakan analisis probit. Hasil perhitungan  $LC_{50}$  ekstrak daun kersen pada fraksi n-heksana sebesar 437,6 ppm, fraksi etil asetat sebesar 401,9 ppm dan fraksi etanol-air sebesar 369,8 ppm. Hasil perhitungan  $LC_{50}$  pada penelitian ini menunjukkan bahwa fraksi etanol-air daun kersen memiliki tingkat toksisitas paling tinggi diantara fraksi etil asetat dan n-heksana.

Kata Kunci : Daun Kersen (*Muntingia calabura*), Fraksinasi, Fitokimia, BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*).

## **KATA PENGANTAR**

Alhamdulillah, puji syukur kehadirat Sang Rahman Allah SWT. Yang telah melimpahkan rahman dan rahimNya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini dengan penuh kemudahan. Shalawat dan salam semoga tetap tercurah limpahkan kepada Nabi dan Rasul Muhammad saw, sang revolusioner dalam menegakkan kebenaran dan keadilan di muka bumi. Karena perjuangan beliau antara yang haq dan bathil menjadi jelas dan kebenaran hukum dapat ditegakkan.

Penulis menyusun skripsi ini bertujuan untuk memenuhi persyaratan akademis dalam memperoleh gelar keserjanaan pada Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang. Penulis sadar bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan dikarenakan keterbatasan pengetahuan dari penulis. Akan tetapi dengan usaha keras dan kemampuan yang ada serta dukungan para pihak, akhirnya skripsi ini dapat terselesaikan. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih yang tiada batasnya kepada yang terhormat:

1. Bapak Dr. Ismail, M.Ag., selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang.

2. Ibu Hj. Malikhatul Hidayah, S.T., M.Pd., selaku Ketua Prog Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang.
3. Ibu Ratih Rizqi Nirwana, S.Si., M.Pd. dan ibu Mutista Hafsah, M.Si., selaku dosen pembimbing yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga dan pikiran dalam memberikan bimbingan serta arahan kepada penulis.
4. Ibu Anita , Mas Mughis dan segenap asisten yang telah membantu dalam proses penelitian dan pengarahan kepada penulis.
5. Segenap Bapak/Ibu dosen Jurusan Kimia UIN Walisongo Semarang yang telah memberikan dan membekali ilmu pengetahuan.
6. Kepada bapak Nurohman, Ibu Elok Fatrikha ayah dan ibu saya yang telah memberikan do'a, dukungan, dan materi serta kasih sayang yang tulus dengan pengorbanan yang luar biasa.
7. Nelis dan Lili adik saya tercinta, yang selalu memberi motivasi untuk menjadikan saya sebagai seorang kaka yang baik.
8. Kepada teman teman Kimia 2016, terima kasih sudah menjadi keluarga kedua di UIN Walisongo. Semoga kelak kita semua menjadi orang yang bermanfaat untuk agama, nusa dan bangsa.

9. Keluarga Pondok Roudlotut Tholibin yang selalu memberikan pesan moral sehingga saya dapat menyelesaikan tugas pada waktu yang tepat, yaitu 13 semester.
10. Kepada teman spesial Srie Wulandani yang selalu menemani di setiap suka dan duka, semoga kita ditakdirkan untuk selalu bersama.
11. Semua pihak yang telah membantu dan mendukung pelaksanaan penelitian mulai dari awal sampai akhir yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu.

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	i
<b>PERNYATAAN KEASLIAN</b> .....	ii
<b>NOTA DINAS</b> .....	iii
<b>NOTA DINAS</b> .....	iv
<b>ABSTRAK</b> .....	v
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	vi
<b>DAFTAR ISI</b> .....	ix
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xiii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xiv
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	1
A. Latar Belakang .....	1
B. Rumusan Masalah .....	8
C. Tujuan Penelitian.....	9
D. Manfaat Penelitian .....	9
<b>BAB II LANDASAN TEORI DAN KAJIAN PUSTAKA</b> .....	10
A. LANDASAN TEORI .....	10
1. Kersen ( <i>Muntingia calabura</i> ).....	10
2. Fitokimia .....	13
3. Kanker.....	20
4. Ekstraksi.....	23
5. Fraksinasi .....	25

6. <i>Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)</i> .....	31
B. KAJIAN PUSTAKA .....	32
<b>BAB III METODE PENELITIAN</b> .....	36
A. Waktu dan Tempat Penelitian.....	36
B. Alat dan Bahan .....	36
1. Alat .....	36
2. Bahan.....	36
C. Metode Ekstraksi.....	37
1. Preparasi Daun Kersen .....	37
2. Ekstraksi Daun Kersen .....	37
3. Fraksinasi Cair-Cair .....	38
D. Penapisan Fitokimia .....	39
1. Identifikasi Senyawa Alkaloid .....	39
2. Identifikasi Senyawa Flavonoid .....	39
3. Identifikasi Senyawa Saponin .....	39
4. Identifikasi Senyawa Tanin .....	39
5. Identifikasi Senyawa Triterpenoid.....	40
E. Uji Toksisitas .....	40
1. Pembuatan Air Laut Buatan (ALB) .....	40
2. Penetasan Telur <i>Artemia salina leach</i> .....	40
3. Uji Toksisitas (BSLT) .....	41
4. Perhitungan LC <sub>50</sub> .....	42
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	44
A. Preparasi dan Ekstraksi Daun Kersen .....	44

B.	Fraksinasi Cair-Cair Ekstrak Daun Kersen .....	45
C.	Penapisan Fitokimia Ekstrak Daun Kersen .....	47
a.	Identifikasi Senyawa Alkoloid .....	48
b.	Identifikasi Senyawa Flavonoid .....	50
c.	Identifikasi Senyawa Saponin .....	52
d.	Identifikasi Senyawa Tanin .....	55
e.	Identifikasi Senyawa Triterpenoid .....	56
D.	Uji Toksisitas Daun Kersen .....	58
<b>BAB V</b>	<b>KESIMPULAN</b> .....	<b>66</b>
A.	Kesimpulan .....	66
B.	Saran .....	66
<b>DAFTAR PUSTAKA</b>	.....	<b>67</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b>	.....	<b>74</b>
<b>DAFTAR RIWAYAT HIDUP</b>	.....	<b>91</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Daun dan Buah Kersen ( <i>Muntingia calabura</i> ).....	10
Gambar 2. 2 Contoh struktur golongan senyawa alkaloid.....	14
Gambar 2. 3 Struktur senyawa flavonoid .....	16
Gambar 2. 4 Struktur senyawa Saponin .....	17
Gambar 2. 5 Struktur senyawa tanin.....	18
Gambar 2. 6 Struktur senyawa terpenoid.....	19
Gambar 2. 7 Sel kanker.....	21
Gambar 2. 8 Perbandingan antara sel normal dan sel kanker	22
Gambar 4. 1 Identifikasi senyawa alkaloid.....	49
Gambar 4. 2 Reaksi gugus alkaloid dengan pereaksi Meyer..	50
Gambar 4. 3 Reaksi antara gugus alkaloid dengan Pereaksi Dragendorff .....	50
Gambar 4. 4 Identifikasi senyawa flavonoid.....	51
Gambar 4. 5 Reaksi pembentukan garam flavilium.....	52
Gambar 4. 6 Identifikasi senyawa saponin.....	53
Gambar 4. 7 Reaksi pembentukan busa pada uji saponin.....	54
Gambar 4. 8 Identifikasi senyawa tanin .....	55
Gambar 4. 9 Reaksi senyawa fenolik dengan pereaksi $FeCl_3$ .	56
Gambar 4. 10 Identifikasi senyawa triterpenoid .....	57
Gambar 4. 11 Analisa $LC_{50}$ fraksi etanol-air .....	60
Gambar 4. 12 Analisa $LC_{50}$ fraksi etil asetat.....	62
Gambar 4. 13 Analisa $LC_{50}$ fraksi etil asetat.....	63

## DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Senyawa terpenoid berdasarkan jumlah atom penyusun atom karbon.....	20
Tabel 3. 1 Tabel Pengenceran Uji Toksisitas BSLT .....	41
Tabel 3. 2 Tabel Probabilitas.....	43
Tabel 4. 1 Hasil rendamen ekstrak daun kersen.....	47
Tabel 4. 2 Uji fitokimia ekstrak daun kersen.....	47
Tabel 4. 3 Hasil Uji Aktivitas Toksis Daun Kersen Fraksi Etanol .....	59
Tabel 4. 4 Hasil Uji Aktivitas Toksis Daun Kersen Fraksi Etil Asetat .....	61
Tabel 4. 5 Hasil Uji Aktivitas Toksis Daun Kersen Fraksi n-Heksana.....	62
Tabel 4.6 Tabel Tingkat Nilai Uji Toksisitas LC <sub>50</sub> .....	65

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Langkah Kerja Penelitian.....	74
Lampiran 2 Perhitungan Rendemen Ekstrak Daun Kersen ..	77
Lampiran 3 Penapisan Fitokimia Ekstrak Daun Kersen .....	78
Lampiran 4 Pembuatan Larutan Induk 1000 ppm .....	79
Lampiran 5 Uji Toksisitas Daun Kesen .....	82
Lampiran 6 Analisa Probit dan Perhitungan LC <sub>50</sub> .....	85

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **A. Latar Belakang**

Kemoterapi merupakan salah satu metode pengobatan penyakit kanker. Namun, efek samping metode ini dianggap membahayakan karena penggunaan radioaktif sehingga tidak hanya menyerang sel kanker tapi juga menyerang sel normal lainnya serta membutuhkan biaya yang mahal karena penggunaan obat-obatan sintetis. Meninjau dengan kekurangan metode kemoterapi tersebut, banyak penelitian yang telah dilakukan pada tanaman untuk menemukan obat anti kanker. Telah banyak dilakukan penelitian untuk menemukan obat antikanker dari tumbuhan (Pratama & Nuwarda, 2018).

Kanker menjadi salah satu penyakit paling mematikan di dunia. Tahun 2022, jumlah penderita kanker meningkat menjadi 19,3 juta dan angka kematian menjadi 10 juta (WHO, 2020). Badan kesehatan dunia WHO, membentuk badan internasional untuk penelitian penyakit kanker, yaitu IARC (*International Agency for Research on Cancer*). Terdapat 19,3 juta kasus kanker diseluruh dunia, dengan penyakit terbanyak adalah kanker payudara 11,7%,

kanker paru 11%, kanker perut 5,6%, kanker hati 4,7%, kanker rahim 3,1% dan kanker lainnya 6% (IARC, 2021).

Menurut survei kesehatan dasar (Riskesdas), kasus kanker di Indonesia meningkat 1,4% pada tahun 2013 menjadi 1,79% per 1000 penduduk pada tahun 2018. Pada provinsi Yogyakarta memiliki angka kasus kanker tertinggi yaitu 4,86% per 1000 penduduk; Sumatera Barat 2,47% per 1000 penduduk; dan Gorontalo 2,44% per 1000 penduduk (Riskesdas, 2018).

Secara umum, ada dua faktor yang dapat memengaruhi munculnya gejala kanker yang paling umum, yaitu faktor intrinsik seperti perubahan hormonal, kebiasaan merokok, radiasi, virus, paparan bahan kimia dan kurangnya aktivitas fisik. Menurut Syahrudin *et al.*, (2010), faktor utama yang dapat dikendalikan oleh penderita kanker paru-paru adalah paparan asap rokok, tinggal atau bekerja ditambang atau pabrik yang terkontaminasi karsinogen, dan kemudian tinggal di daerah dengan tingkat polusi yang tinggi. Sementara itu, faktor yang kedua adalah faktor yang tidak dapat dikendalikan, seperti usia lebih dari 40 tahun, dan adanya riwayat kanker dalam keluarga.

Senyawa yang diisolasi dari tumbuhan, hewan dan mikroorganisme memiliki banyak manfaat sebagai obat

yang dapat digunakan dalam pengobatan tradisional maupun modern. Al-Qur'an telah menjelaskan berbagai manfaat tumbuhan-tumbuhan. Allah berfirman dalam Surah An-Nahl ayat 68-69:

*"Dan Tuhanmu mewahyukan kepada lebah: "Buatlah sarang-sarang di bukitbukit, di pohon-pohon kayu, dan di tempat-tempat yang dibikin manusia (68), Kemudian makanlah dari tiap-tiap (macam) buah-buahan dan tempuhlah jalan Tuhanmu yang Telah dimudahkan (bagimu). dari perut lebah itu ke luar minuman (madu) yang bermacam-macam warnanya, di dalamnya terdapat obat yang menyembuhkan bagi manusia. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kebesaran Tuhan) bagi orang-orang yang memikirkan (69)," (An-Nahl/ 16 : 68-69)*

Ayat tersebut membuktikan bahwa pada zaman Nabi pun telah dikenal obat-obatan yang alami maupun buatan. Hal ini membenarkan bahwa Al-Qur'an adalah *kalamullah* yang berita dan informasi didalamnya semua terbukti kebenarannya. Seiring waktu, pengobatan alami telah menurun dan digantikan oleh obat sintetik. Namun, ada ajakan untuk kembali ke pengobatan alternatif guna mengurangi efek negatif obat sintetik. Pemanfaatan tumbuhan sebagai alternatif pengobatan dengan memanfaatkan kandungan dalam setiap tumbuhan kini lebih digaugi dan berkembang dengan cepat.

Salah satu kandungan metabolit sekunder dalam tanaman yang memiliki potensi sebagai obat kanker adalah flavonoid. Flavonoid memiliki manfaat kesehatan termasuk antioksidan, anti inflamasi, dan sifat melawan kanker yang dapat ditemukan pada sayuran dan buah-buahan. Flavonoid merupakan senyawa polifenol dengan 15 atom karbon yang tersusun dalam suatu konfigurasi  $C_6-C_3-C_6$  (Arifin & Ibrahim, 2018). Tumbuhan yang mengandung flavonoid banyak digunakan dalam pengobatan tradisional (Saragih & Arsita, 2019).

Rambitan, *et al* (2021) dan Saati (2005) menyatakan dalam penelitian farmakologi bahwa senyawa golongan flavonoid memperlihatkan aktivitas seperti diuretik, antihipertensi, antifungi, antihistamin, insektisida, antivirus dan menghambat kerja enzim. Senyawa flavonoid terdapat pada tumbuhan hijau, buah, biji-bijian dan rempah-rempah. Kandungan flavonoid ada hampir di setiap buah-buahan. Namun, varietas tertentu memiliki kandungan yang lebih tinggi daripada varietas lain termasuk didalamnya adalah tanaman kersen (Setyowati & Cahyanto, 2016).

Kandungan flavonoid dalam kersen (*Muntingia calabura*) memiliki potensi sebagai antioksidan, hepatoprotektor, anti kanker, antiinflamasi, dan

antiplatelet (Mintowati, Setya & Maria, 2013). Kersen (*Muntingia calabura*) merupakan spesies tunggal dari *Muntingia Family*. Pemanfaatan daun kersen masih belum optimal dikarenakan kurangnya pengetahuan tentang pemanfaatannya serta dianggap tidak memiliki nilai ekonomis. Menurut analisis fitokimia, ekstrak daun kersen mengandung senyawa fenol, steroid/ triterpenoid, saponin dan flavonoid (Farida, Y., S, Setyorini., & Sari, 2009).

Daun kersen memiliki beberapa kandungan bioaktif yang bermanfaat untuk kesehatan. Menurut Cornelia *et al* (2018) uji *screening* fitokimia daun kersen menunjukkan adanya kandungan senyawa flavonoid, saponin, tanin, triterpen, dan steroid. Bahan kimia daun kersen berupa protein, air, karbohidrat, lemak, abu, serat, kalsium, besi, fosfor, karoten, tianin, niacin, ribofalin, saponin dan flavonoid serta vitamin C (Sitiatava, 2018).

Dalam penelitian yang dilakukan oleh Setyowati dan Cahyanto, (2016), uji toksisitas pada daun kersen ekstrak metanol dengan perhitungan analisis probit menggunakan *Minitab* 15 diperoleh rata-rata  $LC_{50}$ , setelah dilakukan 3 kali pengulangan mendapatkan hasil sebesar 295,763 ppm. Berdasarkan nilai tersebut, maka ekstrak kasar daun kersen memiliki aktivitas toksik yang tinggi

dan memiliki potensi untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai antikanker. Salah satu pengembangannya dapat dilakukan dengan fraksinasi ekstrak. Tujuan fraksinasi adalah untuk memisahkan komponen-komponen dalam ekstrak daun kersen sesuai dengan tingkat kepolarannya. Fraksinasi dilakukan menggunakan pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda, seperti etanol (pelarut polar), etil asetat (pelarut semi polar), n-heksana (pelarut non polar). Oleh karena itu, perlu dilakukan fraksinasi ekstrak etanol daun kersen dengan berbagai variasi kepolaran pelarut untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder dari masing-masing fraksi dan menetapkan fraksi yang paling tinggi aktivitas toksisitasnya.

Suatu tanaman untuk dapat dijadikan suatu obat harus memenuhi standar mutu dari WHO, meliputi standar kualitas, keamanan dan khasiat (Depkes RI, 2002). Uji toksisitas merupakan salah satu upaya untuk mengetahui potensi suatu tanaman dapat dikembangkan sebagai obat, khususnya sebagai anti kanker.

Metode yang sering digunakan dalam pengujian antikanker adalah metode pengujian *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) (Setyowati & Cahyanto, 2016). Beberapa keuntungan dari metode ini adalah sederhana

dan murah, tidak memerlukan spesifikasi khusus untuk pengaplikasiannya dan sangat andal (95%) untuk memantau aktivitas toksik senyawa dalam ekstrak tumbuhan untuk memberikan hasil. Aktivitas toksik diketahui dari jumlah kematian larva *Artemia salina* Leach karena pengaruh ekstrak senyawa yang diketahui memiliki aktivitas toksisitas (Setyowati & Cahyanto, 2016).

Prinsip metode pengujian menggunakan BSLT didasarkan pada senyawa aktif dan sifat toksisnya yang mampu membunuh larva udang *artemia salina* Leach sebagai hewan uji, metode ini digunakan untuk melihat tingkat mortalitas yang disebabkan oleh bahan uji. Hasil yang diperoleh dihitung sebagai  $LC_{50}$  (*lethal concentration*) bahan uji, yaitu jumlah dosis atau konsentrasi dalam bahan uji yang dapat menyebabkan kematian larva udang sejumlah 50% setelah masa inkubasi 24 jam (Rosa Fatimah, 2020).

Menurut Sadli, (2016) nilai  $LC_{50}$  pada sampel uji yang sudah difraksinasi sesuai dengan tingkat konsentrasinya yaitu kategori sangat tinggi (*highly toxic*) dengan konsentrasi 1-10 mg/L, sedangkan kategori sedang (*medium toxic*) pada konsentrasi 10-100 mg/L dan kategori rendah (*low toxic*) pada konsentrasi 100-1000

mg/L. Aktivitas toksisitas diukur melalui metode BSLT dihitung dengan membandingkan hasil perhitungan  $LC_{50}$ , dimana  $LC_{50}$  adalah ukuran toksisitas suatu senyawa dan dapat membunuh 50% populasi hewan uji. Semakin rendah nilai  $LC_{50}$ , maka senyawa tersebut semakin toksik untuk sel kanker.

Metode BSLT merupakan metode *screening* pertama untuk senyawa antikanker. Dalam penelitian ini daun kersen digunakan sebagai bahan uji. Bertujuan untuk mengetahui potensi toksisitas pada fraksinasi n-heksana, etil asetat dan etanol-air ekstrak etanol daun kersen terhadap larva sebagai *screening* awal antikanker.

## B. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian diatas dapat dirumuskan masalah yaitu:

1. Kandungan metabolit sekunder apa saja yang terdapat pada fraksi n-heksana, etil asetat dan etanol-air ekstrak etanol daun kersen?
2. Berapa nilai  $LC_{50}$  uji toksisitas menggunakan metode BSLT dari fraksi n-heksan, etil asetat, dan etanol-air ekstrak etanol daun kersen?

### C. Tujuan Penelitian

Tujuan Penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder apa saja yang terdapat pada fraksi n-heksana, etil asetat dan etanol-air ekstrak etanol daun kersen.
2. Untuk menentukan besar nilai  $LC_{50}$  uji toksisitas menggunakan metode BSLT dari fraksi n-heksan, etil asetat, dan etanol-air ekstrak etanol daun kersen.

### D. Manfaat Penelitian

Manfaat Penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Manfaat bagi peneliti  
Mengetahui kandungan metabolit sekunder dan besar nilai  $LC_{50}$  fraksi n-heksana, etil asetat, dan etanol-air ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura*).
2. Manfaat bagi masyarakat  
Memberikan pengetahuan manfaat dan kegunaan buah kersen (*Muntingia calabura*) sebagai obat kepada masyarakat.

## BAB II

### LANDASAN TEORI DAN KAJIAN PUSTAKA

#### A. LANDASAN TEORI

##### 1. Kersen (*Muntingia calabura*)

Kersen (*Muntingia calabura*) disebut juga ceri atau talok, merupakan tumbuhan yang umum dijumpai di daerah tropis seperti Indonesia. Adapun daun dan buah kersen dapat dilihat pada gambar 2.1.



Gambar 2. 1 Daun dan Buah Kersen (*Muntingia calabura*) sumber : Saraswati *et al.*, 2019

Kersen tumbuh dengan cepat dan mampu mencapai ketinggian 10 meter dengan cabang ranting yang banyak sehingga dapat digunakan untuk berteduh. Kersen memiliki nama lain dari daerahnya masing-masing yakni seri atau ceri (Melayu), talok (Jawa), kersen (Sunda), dan nama Belanda adalah *japanese cerry* atau *japanese kers* dan nama ilmiahnya adalah *Muntingia calabura* (Saraswati *et al.*, 2019).

Klasifikasi tanaman kersen (*Muntingia calabura*) adalah sebagai berikut :

Kingdom : *Plantae*  
Divisi : *Tracheophyta*  
Kelas : *Malvidae Ordo*  
Ordo : *Malvales*  
Famili : *Muntingiaceae*  
Genus : *Muntingia*  
Spesies : *Muntingia Calabura* (Sitiatava, 2018).

a. Morfologi

Daun : Berbentuk bulat telur, panjang 2,5 cm sampai 15 cm, lebar 1 cm sampai 6,5 cm, dengan tepi daun bergerigi, struktur berseling mendatar serta bentuk ujung runcing. Warna daun hijau muda dengan bulu rapat pada bagian bawah daun.

Batang : Bisa tumbuh mencapai tinggi 10 meter, rata-rata sekitar 1-4 meter. Cabang pohon mendatar membentuk naungan rindang

Bunga : Berwarna putih terletak di ujung ranting, memiliki tangkai panjang, mahkota bertepi rata, bentuknya bulat telur, benang sari berjumlah banyak sekitar 10 sampai 100 helai.

Buah : Berbentuk bulat, rasa manis, memiliki biji kecil seperti pasir, berwarna hijau, jika masak berwarna merah.

Biji : Berwarna kuning kecil seperti pasir.  
(Sitiatava, 2018)

b. Persebaran dan Habitat

Tanaman kersen berasal dari Amerika tropis seperti negara Meksiko selatan, Karibia sampai Peru dan Bolivia. Kersen masuk ke negara Filipina pada akhir abad 19 M, hingga menyebar ke seluruh kawasan tropika Asia. Jenis ini terdapat disebagian barat Semenanjung Malaysia, Kalimantan, Sumatera dan Jawa. Tumbuhan kersen tumbuh liar ditempat terbuka dan perbukitan, ditepi jalan, tepi sungai, dan juga daratan rendah yang memiliki pengairan baik. Kersen banyak ditanam sebagai pohon buah dan pohon peneduh karena memiliki dahan yang rindang (Danugroho & Widyaningrum, 2014)

Daun kersen terdapat kandungan flavonoid, saponin, tanin, triterpenoid, antrakuinon, air, fenol, alkaloid, protein, lemak, kalsium, besi, fosfor, tianin dan kandungan vitamin C (Danugroho & Widyaningrum, 2014). Menurut Puspitasari &

Wulandari, (2017), kadar kandungan flavonoid dalam daun kersen sangat tinggi jika dibandingkan dengan senyawa lain. Kandungan total ekstrak etil asetat daun kersen sebesar 93,21 mg/L ekstrak. Senyawa flavonoid yang terkandung dalam daun kersen antara lain yaitu flavan, flavanon, flavon, biflavan, dan flavanol (Puspitasari & Wulandari, 2017).

Senyawa yang terdapat pada daun kersen, seperti flavonoid, saponin dan tanin, memiliki efek antiinflamasi, antipiretik, antibakteri, antioksidan dan analgesik serta banyak digunakan dalam pengobatan tradisional (Danugroho & Widyaningrum, 2014). Senyawa dalam daun kersen berfungsi sebagai antiinflamasi umumnya adalah flavonoid golongan flavanol seperti kaempferol dan kuercetin (Sukmawan & Aryani, 2016).

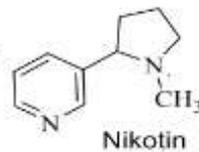
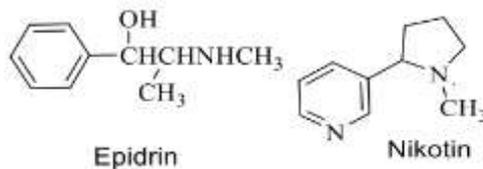
## 2. Fitokimia

Fitokimia adalah kajian ilmu yang mempelajari sifat dan interaksi antara senyawa kimia metabolit sekunder dalam tumbuhan. Untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder pada kersen, maka dilakukan uji fitokimia. Uji fitokimia pada kersen bertujuan untuk mengetahui beberapa

kandungan metabolit sekunder. Kandungan metabolit sekunder pada kersen antara lain:

a. Alkaloid

Alkaloid merupakan golongan senyawa bahan alam terbanyak di bumi (Julianto, 2018). Berbagai jenis tumbuhan hampir seluruhnya memiliki kandungan alkaloid. Ciri khas alkaloid adalah selalu mengandung atom N (nitrogen) pada setiap strukturnya, dan bersifat basa. Saat ini sudah ditemukan lebih dari 5000 jenis alkaloid di alam yang memiliki keaktifan fisiologis tertentu. Walaupun masih sering ditemukan dalam berbagai jenis tumbuhan, namun biasanya kadarnya tidak lebih dari 1% (Endarni, 2016). Gambar 2.2 berikut ini merupakan contoh senyawa pada golongan alkaloid.



Gambar 2. 2 Contoh struktur golongan senyawa alkaloid. Sumber : (Julianto, 2018)

Golongan senyawa alkaloid diklasifikasikan berdasarkan jenis cincin heterosklik nitrogen

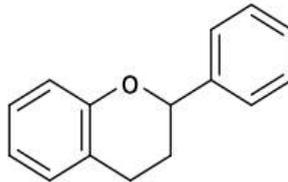
pada bagian struktur molekulnya. Klasifikasinya dibedakan dalam beberapa jenis, diantaranya adalah alkaloid piridin, alkaloid pirolidin, alkaloid piperidin, alkaloid tropana, alkaloid isokuinolin, dan alkaloid indol. Selain itu, beberapa jenis alkaloid memiliki struktur kimia yang berbeda walaupun dalam jenis tumbuhan yang sama. Penelitian biogenesis membedakan alkaloid menjadi 3 yaitu :

- 1) Alkaloid alisiklik, berasal dari lisin dan asam amino ornitin
- 2) Alkaloid aromatik jenis fenilalanin, berasal dari fenilalanin, 3,4 - dihidroksifenilalanin dan tirosin
- 3) Alkaloid aromatik jenis indol, berasal dari triptofan (Julianto, 2018).

b. Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa yang memiliki 15 atom karbon yang umumnya terdapat pada tumbuhan seperti ditunjukkan pada gambar 2.3. Lebih dari 2000 flavonoid pada tumbuhan yang telah diidentifikasi, tapi ada tiga kelompok yang paling umum, yaitu antosianin,

flavonol, dan flavon. Pada umumnya, komponen flavonoid terikat atau terkonjugasi dengan senyawa gula (Harbone, 1987).

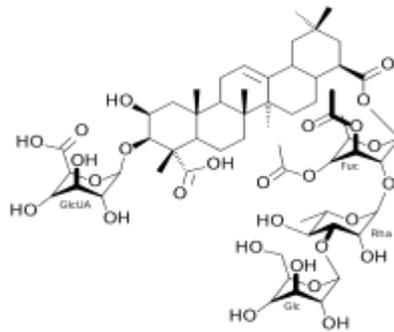


Gambar 2. 3 Struktur senyawa flavonoid Sumber : Julianto, 2018

Flavonoid memiliki kemampuan untuk mendonorkan atom hidrogen serta dapat mengkelat ion-ion logam sehingga menjadikan flavonoid termasuk ke dalam salah satu senyawa antioksidan. Sebagian flavonoid memiliki bentuk sebagai glikosida, biasanya bersifat polar, dapat terekstrak pada pelarut etanol, metanol, dan air. Flavonoid mampu menghambat penggumpalan keping sel darah dan berfungsi sebagai *inhibitor* yang memperlambat perkembangan sel kanker (Astika *et al.*, 2018).

### c. Saponin

Saponin merupakan golongan senyawa kimia yang banyak terdapat pada berbagai jenis tumbuhan. Meskipun berlimpah pada hampir semua spesies tanaman, saponin terkandung dalam jumlah yang kecil. Kestabilan saponin tergantung pada  $\text{pH} < 2$  dan  $\text{pH} > 12$ .



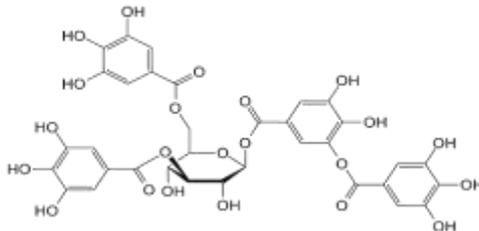
Gambar 2. 4 Struktur senyawa Saponin Sumber : Julianto, 2018

Senyawa ini adalah glikosida amfipatik (senyawa kimia yang mengandung bagian polar dan non polar) yang berbusa saat dikocok dengan kuat dalam larutan. Gelembung ini stabil dan tidak mudah hilang. Struktur senyawa saponin ditunjukkan pada gambar 2.4. Saponin merupakan golongan senyawa aktif yang memiliki sifat antimikroba yang dapat menjaga

tubuh dari virus, bakteri, dan jamur. (Minarno, 2016).

d. Tanin

Tanin merupakan senyawa makromolekul dari kelompok polifenol yang memiliki kandungan hidroksil tinggi. Tanin mengandung gugus hidroksil dan gugus lain yang sesuai seperti karboksil untuk membentuk suatu ikatan kompleks yang efektif dengan protein dan makromolekul lain sehingga menyebabkan berat molekul menjadi besar.



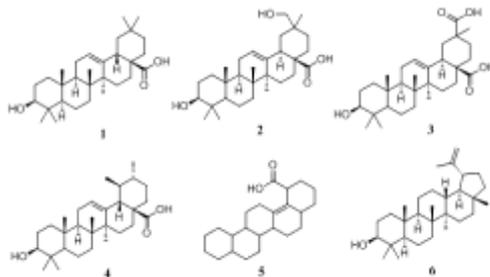
Gambar 2. 5 Struktur senyawa tanin sumber : Julianto, 2018

Tanin juga berpotensi menjadi astringen, antioksidan, anti jamur, antiseptik, anti rayap, dan dapat mengikat kandungan logam. Struktur senyawa tanin dapat dilihat pada gambar 2.5. Anggota kelompok senyawa fenolik umumnya dapat larut pada pelarut organik yang bersifat

polar dan mudah larut dalam air (Hidjrawan Yusi, 2018).

e. Terpenoid

Terpenoid seperti yang ditunjukkan pada gambar 2.6 mencakup sejumlah besar senyawa dalam tumbuhan. Terpenoid adalah kelompok metabolit sekunder yang terbesar, dapat dilihat dari jumlah senyawa maupun variasi kerangka dasar strukturnya. Senyawa terpenoid berasal dari molekul isoprene ( $C_5H_8$ ) dan memiliki kerangka karbon yang dibangun oleh dua atau lebih gugus  $C_5$ .



Gambar 2. 6 Struktur senyawa terpenoid Sumber : Julianto, 2018

Senyawa – senyawa yang termasuk dalam golongan terpenoid dikelompokkan berdasarkan

jumlah atom karbon penyusun yang dapat dilihat pada tabel 2.1.

Tabel 2. 1 Senyawa terpenoid berdasarkan jumlah atom penyusun atom karbon

<b>Kelompok Terpenoid</b>	<b>Jumlah Atom C</b>
Monoterpen	10
Seskuiterpen	15
Diterpen	20
Triterpen	30
Tetraterpen	40

(Rachmawan & Dalimunthe, 2017).

Senyawa terpenoid menunjukkan pita serapan yang kuat pada daerah ( $\lambda$  maks 400-500 nm). Setiap bagian golongan terpenoid sangat penting, baik pada pertumbuhan dan metabolisme maupun pada ekologi tumbuhan (Dwisari *et al.*, 2016).

### 3. Kanker

Sel Kanker seperti yang diperlihatkan pada gambar 2.7 merupakan salah satu penyakit yang paling berbahaya dan membunuh banyak orang. Baik di negara maju maupun berkembang, kanker

mempunyai angka kematian yang tinggi (Els, 2022). Menurut *World Health Organization* (WHO) pada tahun 2013, kasus kanker meningkat dari 12,7 juta menjadi 14,2 juta dari tahun 2008 hingga 2012 (Kemenkes RI, 2015).

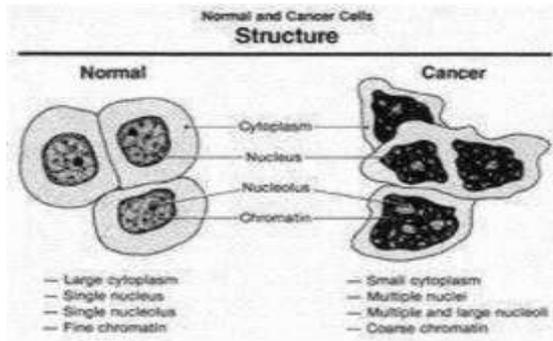


Gambar 2. 7 Sel kanker sumber : Megasari, 2010

Kanker disebabkan oleh pembelahan sel yang tidak terkendali dan kemampuan sel-sel tersebut untuk menyerang jaringan biologis lain, baik dengan proliferasi langsung ke jaringan terdekat (invasi) atau dengan migrasi sel ke tempat yang jauh (metastasis). Proliferasi yang tidak terkendali ini menyebabkan kerusakan DNA, kemudian mutasi pada gen esensial mengontrol pembelahan sel pada jaringan dan organ (Megasari, 2010).

Terjadinya, penyebarannya, dan perilaku jenis kanker tertentu bergantung pada beberapa faktor, termasuk jenis kelamin, usia, ras, dan paparan karsinogen lingkungan. Paparan karsinogen

lingkungan adalah pemicu terbesar kanker (Katzung, 2006).



Gambar 2. 8 Perbandingan antara sel normal dan sel kanker sumber : Megasari, 2010

Fisiologi sel yang berubah akan tumbuh menjadi malignan, yang merupakan penyebab terjadinya kanker. Sifat sel kanker yang ditunjukkan pada gambar 2.8 adalah sebagai berikut:

- a. Memiliki sinyal pertumbuhan sendiri yang dapat mempercepat siklus sel dan tidak dapat dihentikan dan menghasilkan lonjakan pertumbuhan yang tidak terduga.
- b. Kekurangan prog-apoptosis (kemampuan untuk memperbanyak bunuh diri sel), sehingga sel-sel tersebut tidak pernah menua.
- c. Penyebaran sel ke jaringan lain yang disebut metastasis.

d. Replikasi diri tanpa batas. Memiliki kemampuan angiogenesis (pembentukan pembuluh darah) (Hanahan & Weinberg, 2000).

#### 4. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan salah satu metode kimia pemisahan yang membahas cara memisahkan suatu komponen zat menjadi komponen zat lain (Tetti, 2014). Ekstraksi adalah proses pemisahan komponen kimia dari suatu campuran dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi dianggap selesai setelah konsentrasi senyawa dalam pelarut dan konsentrasi senyawa dalam sel tanaman telah mencapai kesetimbangan (Tetti, 2014).

Proses ekstraksi terbagi menjadi dua fase yaitu fase pencucian dan fase ekstraksi. Fase pencucian (rafinat) yaitu fase residu yang berisi eluen dan sisa solut. Sedangkan fase ekstraksi yaitu fase yang berisi solut dan solven. Penggunaan solven sangat diperlukan pemilihan yang tepat sehingga mendapatkan solven yang baik. Solven yang baik memiliki beberapa sifat sebagai berikut :

- a. Tidak mudah menguap saat proses ekstraksi;
- b. Solven dapat melarutkan solut namun tidak melarutkan eluen (fase gerak);

- c. Mudah terpisah dengan solut sehingga dapat digunakan ulang;
- d. Bahan tersedia dan harganya terjangkau.

Metode ekstraksi bisa dilakukan dengan metode panas atau dingin. Ekstraksi dengan metode panas meliputi ekstraksi reflux, ekstraksi sokletasi, ekstraksi digesti, ekstraksi destilasi dan ekstraksi infuse. Sedangkan ekstraksi metode dingin meliputi ekstraksi maserasi dan ekstraksi perkolasi (Nugroho & Mangkurat, 2019).

Salah satu metode ekstraksi secara panas adalah sokletasi. Sokletasi merupakan salah satu ekstraksi atau proses pemisahan suatu komponen zat padat menggunakan pelarut dengan beberapa penyaringan yang berulang, sehingga komponen yang diinginkan dapat terisolasi. Sokletasi umumnya digunakan untuk pelarut organik tertentu dengan cara dipanaskan, lalu uap pelarut yang timbul naik melalui pipa dan melewati pendingin sehingga mengembun dan pelarut tersebut menetes kembali ke dalam labu dengan membawa senyawa kimia yang akan diisolasi (Ansel, 1989)

Penelitian ini menggunakan ekstraksi secara dingin karena untuk menghindari zat dalam sampel

terurai saat pemanasan dengan menggunakan metode ekstraksi maserasi. Maserasi adalah proses ekstraksi Simplisia menggunakan pelarut dengan pengadukan berulang pada suhu ruang. Metode maserasi dimaksudkan untuk menarik zat-zat penting, baik yang tahan panas maupun tidak. Metode maserasi melibatkan ekstraksi sesuai dengan prinsip mencapai konsentrasi kesetimbangan antara pelarut dan zat yang terkandung dalam sel tanaman (Jalaluddin, 2020).

Metode maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia ke dalam pelarut. Pelarut akan menembus dinding sel tanaman lalu masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif (Jalaluddin, 2020). Perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di luar sel dan di dalam sel, maka akan melarutkan zat aktif. Peristiwa ini terus berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi zat aktif antara dalam dan luar sel (Jalaluddin, 2020).

## 5. Fraksinasi

Fraksinasi adalah proses pemisahan senyawa berdasarkan derajat kepolarannya. Senyawa dipisahkan menjadi fraksi yang berbeda tergantung pada jenis sifat kepolaran. Salah satu metode yang

sering digunakan untuk fraksinasi adalah corong pisah dan kromatografi kolom. Metode corong pemisah adalah alat fraksinasi dalam pemisahan ekstraksi cair-cair untuk memisahkan komponen-komponen dalam suatu campuran antara dua fase pelarut dengan tingkat densitas yang berbeda. Secara umum, salah satu pelarut berupa air dan yang lainnya berupa pelarut organik lipofilik seperti eter, diklorometana, kloroform, atau etil asetat. Kebanyakan pelarut organik berada diatas fase air kecuali beberapa pelarut yang memiliki atom dari unsur halogen (Nugroho & Mangkurat, 2019).

Fraksinasi dapat ditujukan untuk mendapatkan fraksi (bagian) tertentu dari suatu ekstrak, dimana bagian itulah yang merupakan fraksi aktif, dan perlu dipisahkan dari fraksi lainnya yang kurang aktif. Tujuan lainnya adalah dalam rangka mendapatkan ekstrak yang lebih murni, sehingga perlu dihilangkan senyawa-senyawa lain yang mengotori atau mengganggu. Fraksinasi juga diperlukan ketika akan melakukan isolasi atau pemisahan satu senyawa metabolit sekunder tunggal.

Macam – macam proses fraksinasi :

- a. Fraksinasi dengan *liquid-liquid extraction* adalah pemisahan sekelompok senyawa dari kumpulan senyawa dalam sebuah ekstrak yang telah dilarutkan pada suatu pelarut dengan cara menambahkan jenis pelarut lain yang memiliki polaritas berbeda dan tidak dapat bercampur antara keduanya (*immiscible*). Pada umumnya fraksinasi dengan metode ini dilakukan dengan menggunakan labu pemisah (*separating funnel*).
- b. kromatografi kolom, merupakan proses pembagian fraksinya dilakukan pada sebuah kolom dengan menggunakan prinsip-prinsip kromatografi dimana sama-sama prinsip tingkat kepolaran atau polaritas, prinsip yang sama seperti pada *liquid-liquid extraction*. Pada kromatografi kolom dikenal fase gerak (*mobile phase*) dan fase diam (*stationary phase*). Untuk memahami teknik ini, maka perlu dijelaskan lebih detail mengenai prinsip kerja dari kromatografi.

Fraksinasi cair-cair adalah metode pemisahan di mana senyawa-senyawa yang diinginkan dapat

dipisahkan menggunakan dua pelarut cair yang tidak dapat bercampur satu sama lain. Prinsip fraksinasi cair-cair didasarkan pada hukum distribusi Nernst, di mana zat terlarut dibagi menjadi dua pelarut yang tidak dapat bercampur. Semakin stabil kompleks khelat, semakin tinggi efisiensi ekstraksi (Dwisari et al., 2016).

Ekstraksi cair-cair adalah pemisahan komponen kimia antara dua fase pelarut yang tidak bercampur satu sama lain, dengan beberapa komponen larut pada fase pertama dan beberapa pada fase kedua. Dua fasa yang mengandung bahan yang dipisahkan kemudian dikocok dan didiamkan sampai benar-benar terpisah, membentuk dua lapisan fasa cair. Saat memisahkan komponen kimia. Jika cairan yang tidak bercampur dengan cairan pertama ditambahkan ke dalam ekstrak cairan kedua, akan terbentuk 2 lapisan. Salah satu komponen campuran larut dalam dua lapisan (biasanya disebut fase) dan setelah beberapa waktu mencapai konsentrasi kesetimbangan di kedua lapisan. Waktu untuk mencapai kesetimbangan biasanya dipersingkat dengan mencampurkan dua fasa dalam corong pisah (Danugroho & Widyaningrum, 2014)

Alat yang biasa digunakan untuk fraksinasi cair-cair adalah corong pisah. Prinsip kerja corong pisah adalah memisahkan zat/senyawa tertentu dalam suatu sampel berdasarkan kelarutannya dalam pelarut tertentu dengan fase yang berbeda. Tempatkan campuran dua fasa dalam corong pisah, diamkan hingga terjadi pemisahan antara kedua fasa, buka sumbat dan keran, dan kendalikan keran untuk memisahkan kedua fasa larutan (Nugroho & Mangkurat, 2019).

Ekstraksi cair-cair selalu terdiri dari sedikitnya dua tahap, yaitu pencampuran secara intensif bahan ekstraksi dengan pelarut dan pemisahan kedua fase cair itu sesempurna mungkin. Pada ekstraksi cair-cair, komponen terlarut dipisahkan dari larutan pembawa menggunakan pelarut lain. Campuran larutan pembawa dan pelarut ini bersifat heterogen, jika dipisahkan terdapat 2 fase yaitu fase diluen (rafinat) dan fase pelarut (ekstrak). Perbedaan konsentrasi zat terlarut di dalam suatu fasa dengan konsentrasi pada keadaan setimbang merupakan pendorong terjadinya pelarutan (pelepasan) zat terlarut dari larutan yang ada. Gaya penggerak (*driving force*) yang memicu proses

ekstraksi dapat ditentukan dengan mengukur jarak sistem kesetimbangan Wibawa, (2012). Beberapa kriteria pelarut yang digunakan dalam fraksinasi cair-cair antara lain:

- 1) Mempunyai kemampuan tinggi dalam melarutkan komponen zat terlarut dalam campuran
- 2) Memiliki perbedaan berat jenis antara ekstrak dan rafinat yang lebih besar
- 3) Pelarut dan larutan ekstrak tidak mudah tercampur
- 4) Tidak mudah bereaksi dengan zat yang diekstraksi
- 5) Tidak merusak alat secara korosif

(Retnosari, 2013)

Kemudian pada fraksinasi kering umumnya menggunakan kromatografi kolom. Kromatografi kolom merupakan kromatografi yang digunakan untuk memisahkan pigmen warna pada tumbuhan. Pemisahan dalam kromatografi kolom terjadi karena adanya perbedaan absorbansi antara fasa diam terhadap komponen-komponen sampel yang terpisah dengan fasa gerak (eluen) pelarutnya (Nugroho & Mangkurat, 2019). Eluen akan membawa senyawa mengalir melalui fasa diam sehingga terjadi adsorpsi senyawa-senyawa oleh adsorben. Hasil yang

diperoleh berupa fraksi-fraksi senyawa (eluat) yang kemudian ditampung pada bagian bawah kolom (Fadhly *et al.*, 2015).

6. *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) merupakan metode untuk menentukan toksisitas senyawa yang dibuat dari ekstrak tumbuhan terhadap sel, dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach sebagai bioindikator (Sukandar *et al.*, 2008)

*Artemia salina* Leach atau yang lebih dikenal *Brine Shrimp* adalah salah satu jenis udang primitif yang sudah ditemukan sejak tahun 1778 oleh Linnaeus. Udang tersebut diberi nama *Cancer Salinus* oleh Linnaeus, kemudian diubah menjadi *Artemia salina* Leach oleh Leach pada tahun 1819. *Artemia salina* Leach juga diminati oleh teknisi pembenihan karena memiliki beberapa kelebihan seperti mudah beradaptasi dan dapat dimanfaatkan untuk pakan ikan (Sukandar *et al.*, 2008).

Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) adalah salah satu metode *screening* bahan yang memiliki potensi sebagai tanaman obat yang berkhasiat, dengan menggunakan larva udang *Artemia*

*salina* Leach sebagai bioindikator (Nurhayati *et al.*, 2006). Penggunaan larva udang *Artemia salina* Leach memiliki sifat sensitifitas yang cukup tinggi terhadap kandungan racun. Metode ini merupakan penapisan untuk aktivitas antikanker senyawa kimia dalam ekstrak tanaman dan untuk mengamati toksisitas dari suatu senyawa.

Nilai persen mortalitas ekstrak yang diuji, ditentukan dengan menghitung kematian pada larva udang. Setelah mendapatkan nilai mortalitasnya, dihitung nilai  $LC_{50}$  (*Lethal Concentration*) ekstrak sampel. Jumlah konsentrasi ekstrak uji yang dapat menyebabkan kematian larva udang sejumlah 50% setelah diuji selama 24 jam, digunakan sebagai data yang dianalisis menggunakan metode analisis probit guna mendapatkan nilai  $LC_{50}$ . Senyawa dengan nilai  $LC_{50} < 1000$  ppm dikatakan memiliki potensi bioaktivitas sebagai obat anti kanker (Meyer *et al.*, 1982).

## B. KAJIAN PUSTAKA

1. Penelitian Setyowati & Cahyanto (2016) tentang sifat toksisitas dan komponen kimia ekstrak daun kersen. Ekstraksi dilakukan menggunakan metanol sebagai

pelarut selama meserasi. Ekstrak yang diperoleh diuji komposisi kimianya menggunakan metode fotokimia dan pengujian toksisitas dengan metode BSLT. Menurut penelitian, kandungan ekstrak daun kersen mengandung senyawa steroid, flavonoid, alkaloid dan saponin. Tes BSLT mengungkapkan ekstrak daun kersen memiliki aktivitas toksisitas dengan nilai  $LC_{50}$  sebesar 295,76 ppm.

2. Penelitian Anggraini, Septiarini & Wardani (2021) bertujuan mengidentifikasi daya hambat ekstrak dan perbandingan fraksinasi n-Heksana, Etil asetat dan air terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* serta untuk mengetahui fraksi paling aktif dalam menghambat bakteri. Daun kersen diekstrak menggunakan etanol 96%. Pengujian dengan metode difusi menggunakan konsentrasi dan metode dilusi menggunakan kontrol positif ciprofloxacin. Hasil uji aktivitas antibakteri didapatkan bahwa ekstrak, fraksi n-heksana, etil asetat, dan air memiliki daya hambat terhadap bakteri. Fraksi yang paling aktif dalam penelitian ini adalah fraksi etil asetat dengan daya hambat fraksi etil asetat pada konsentrasi 20% dengan rata-rata zona hambat sebesar 11,6 mm.

3. Astika *et al* (2018) Melakukan ekstraksi terhadap daun kersen dengan tujuan untuk mengetahui kadar flavonoid pada ekstrak etanol dan ekstrak etil asetat menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Uji kualitatif ekstrak etanol dan etil asetat diuji menggunakan pereaksi warna. Uji kuantitatif menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 438 nm. Hasil kualitatif ekstrak etanol terbentuk warna jingga dan ekstrak etil asetat terbentuk warna kuning yang menandakan sampel mengandung flavonoid. Hasil analisa kuantitatif kadar rata-rata flavonoid ekstrak etanol yaitu 5,12 % dan ekstrak etil asetat yaitu 52,56 % dengan waktu maserasi selama 2 hari. Hasil statistik menggunakan uji t didapatkan nilai t hitung 234,0661 lebih besar dari t tabel dengan nilai derajat kebebasan 4 dengan taraf kepercayaan 99% yaitu 4,60.
4. Penelitian yang dilakukan oleh Chintya, (2022) melakukan uji antioksidan dan toksisitas pada ekstrak daun kersen. daun kersenl diekstrak dengan metode sokletasi dengan pelarut etanol 96% . pada pengujian menggunakan metode DPPH hasil perhitungan IC<sub>50</sub> sebesar 43,29 ppm dimana masuk kategori

antoksidan kuat dan nilai  $LC_{50}$  sebesar 931,87 kategori toksik sedang.

5. Penelitian Fatimah, (2020) melakukan studi daun kersen untuk mengetahui konsentrasi minimum rebusan daun kersen yang beracun. Pengujian toksisitas dilakukan dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) pada hewan uji coba menggunakan larva *Artemia salina* Leach pada setiap perlakuan dengan konsentrasi yang berbeda yaitu  $250 \text{ mg L}^{-1}$  sampai  $25000 \text{ mg L}^{-1}$  dan diulang sebanyak 3 kali. Hasil pemeriksaan menunjukkan bahwa daun kersen mengandung metabolit sekunder flavonoid, tanin dan alkaloid. Hasil uji toksisitas menunjukkan bahwa perebusan daun kersen memberikan efek toksik akut pada hewan uji dengan nilai  $LC_{50}$  sebesar  $621,25 \text{ mg L}^{-1}$ .

Penelitian ini adalah pengembangan dari kajian pustaka sebelumnya, dengan menggabungkan metode fraksinasi dari berbagai pelarut menggunakan fraksinasi cair-cair. Penelitian ini menggunakan variasi fraksinasi n-heksana, etil asetat dan etanol-air . Uji BSLT digunakan untuk menguji tingkat toksisitas senyawa.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September 2022 hingga November 2022. Tempat penelitian dilakukan di laboratorium kimia analitik Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang.

#### **B. Alat dan Bahan**

##### **1. Alat**

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu corong pisah merek Iwaki, gelas ukur merk Iwaki, erlenmeyer merek Iwaki, batang pengaduk, gelas beaker merek Iwaki, corong kaca, tabung reaksi merek Iwaki, penangas air, pipet volume merek pyrex, pipet ukur merek pyrex, neraca analitik *type* AND, *blender*, *Rotary evaporator* RE100-S Merk Dlab , lampu, botol vial, kertas saring, cawan porselein.

##### **2. Bahan**

Bahan yang digunakan yaitu daun Kersen (Muntingia calabura), Akuades, Etanol teknis 96%, n-Heksana merek Merck, etil asetat merek Merck, larva udang *Artemia salina* Leach, HCl 2%, logam Mg, HCl

pekat merek Merck , HCL 1M merek Merck,  $\text{FeCl}_3$  merek Merck 1M,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  merek Merck 1M,  $\text{CH}_3\text{COOH}$  merek Merck 1M, dimetil sulfoksida (DMSO) merek Merck, dietil eter ( $\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}$ ) merek Merck, pereaksi Meyer merek Merck, dan NaCl merek Merck.

### C. Metode Ekstraksi

#### 1. Preparasi Daun Kersen

Daun kersen yang dipilih yaitu daun yang masih segar berwarna hijau tua, tidak kekuningan dan tidak kecoklatan, ukuran panjang antara 4-7 cm dan lebar 3-4 cm. Daun dianginkan dalam ruangan tanpa sinar matahari secara langsung selama 5 hari. Setelah mengering, daun dipotong menjadi ukuran kecil sehingga mudah saat diblender.

#### 2. Ekstraksi Daun Kersen

Sebanyak 60 g sampel daun dimasukan kedalam wadah, kemudian direndam menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 1 L hingga sampel terendam seluruhnya, wadah ditutup rapat. Perendaman sampel dilakukan selama 7 jam. Proses maserasi diulangi sebanyak 3 kali dengan pelarut baru. Filtrat diambil dan dilakukan penguapan dengan

menggunakan *Rotary evaporator* pada suhu 40 °C (Puspitasari, & Proyogo, 2017).

### 3. Fraksinasi Cair-Cair

Sebanyak 8,7 g sampel ekstrak etanol dilarutkan dengan 50 mL etanol dan ditambahkan pelarut n-heksan. Kemudian dikocok sampai larutan terpisah menjadi dua lapisan. Pengocokan dilakukan secara bertahap (setiap perlakuan sebanyak 25 mL), diulangi sampai larutan n-heksan pada campuran terlihat bening. Lapisan atas (fraksi n-heksan) dipisahkan dengan lapisan bawah (fraksi etanol), kemudian dievaporasi. Fraksi kental etanol dilarutkan dalam etanol air dengan volume perbandingan 1 (etanol) : 5 (air) kemudian ditambahkan etil asetat dan dikocok sampai terbentuk dua lapisan, dilakukan secara bertahap (setiap pemisahan sebanyak 25 mL) sampai larutan etil asetat terlihat bening. Lapisan atas (fraksi etil asetat) dan lapisan bawah (fraksi etanol-air), keduanya dievaporasi. (Ningdyah *et al.*, 2015). Hasil fraksinasi akan diuji fitokimia dan diuji aktivitas toksisitasnya menggunakan metode BSLT dengan parameter  $LC_{50}$  pada berbagai varian konsentrasi (Mutmainnah *et al.*, 2017).

#### D. Penapisan Fitokimia

##### 1. Identifikasi Senyawa Alkaloid

Uji kandungan metabolit sekunder alkaloid dilakukan menggunakan 2 mL ekstrak ditambah 2 mL HCl 2%, kemudian ditambahkan pereaksi Dragendrof (terbentuk endapan kuning dan larutan keruh) dan pereaksi Meyer (terbentuk endapan putih kekuningan) (Sa'adah & Nurhasnawati, 2017).

##### 2. Identifikasi Senyawa Flavonoid

Uji kandungan flavonoid menggunakan ekstrak sampel sebanyak 2 mL dan ditambahkan logam Mg dan 4 tetes HCl pekat. Reaksi positif menunjukkan warna merah, jingga atau gelap (Hadi & Permatasari, 2019).

##### 3. Identifikasi Senyawa Saponin

Uji saponin menggunakan 2 mL ekstrak sampel dan dilarutkan ke air lalu dikocok kemudian ditambahkan 10 tetes HCl 0,1 N. Reaksi positifnya menunjukkan terbentuknya busa stabil (Sa'adah & Nurhasnawati, 2017).

##### 4. Identifikasi Senyawa Tanin

Uji golongan tanin menggunakan 2 mL ekstrak ditambah 2 - 3 tetes FeCl<sub>3</sub>, reaksi positifnya adalah

perubahan warna larutan menjadi warna biru atau hitam (Irma *et al*, 2016).

#### 5. Identifikasi Senyawa Triterpenoid

Sebanyak 1 g ekstrak ditambah dietil eter kemudian diuapkan di cawan porselein. Residu yang ada ditambah 2 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat. Reaksi positif menunjukkan endapan warna violet atau biru (Irma *et al*, 2016).

### E. Uji Toksisitas

#### 1. Pembuatan Air Laut Buatan (ALB)

Air laut buatan dibuat dengan cara menyiapkan garam meja sebanyak 15 g dilarutkan dalam 1 L aquades. Larutan diaduk sampai serbuk NaCl larut atau homogen.

#### 2. Penetasan Telur *Artemia salina leach*

Air laut buatan dimasukkan ke dalam wadah. Pada bagian bawah diberi pompa air. Sebanyak 1 g telur larva *Artemia salina* diletakkan di bagian wadah dan didiamkan, larva akan menetas setelah 24 jam. Larva *Artemia salina leach* yang baik digunakan untuk penelitian adalah yang berusia 2 hari. Apabila larva berusia lebih dari 2 hari dikhawatirkan larva mati disebabkan asupan makanan pada larva telah habis,

bukan karena proses uji toksisitas (Setyowati & Cahyanto, 2016; Miranda, 2016)

### 3. Uji Toksisitas (BSLT)

Uji toksisitas BSLT menggunakan varian konsentrasi larutan induk ekstrak 1000 ppm, kemudian divariasikan dari 100 ppm hingga 900 ppm seperti pada tabel 3.1 dimana setiap konsentrasi dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali dan dibandingkan dengan kontrol.

Tabel 3. 1 Tabel Pengenceran Uji Toksisitas BSLT

No	Ppm	Volume larutan induk (mL)	Volume Pelarut (mL)	Volume total
1	100	1	9	10
2	200	2	8	10
3	300	3	7	10
4	400	4	6	10
5	500	5	5	10
6	600	6	4	10
7	700	7	3	10
8	800	8	2	10
9	900	9	1	10

Setiap varian konsentrasi diisi dengan 10 ekor larva *Artemia salina* Leach dalam botol vial 5 mL.

Masing-masing larutan uji dipipet sebanyak 3 mL dan dimasukkan ke dalam vial 5mL, selanjutnya ditambahkan air laut buatan dan 10 ekor larva *Artemia salina* hingga volumenya mencapai 5 mL, jika ekstrak pada fraksinasi n-heksana tidak larut dalam air laut ditambahkan katalis Dimetil sulfoksida (DMSO) (Dwijayanti et al., 2015). Pengujian dilakukan selama 24 jam kemudian dilihat jumlah larva *Artemia salina* yang mati. Kriteria standar untuk menilai kematian larva *Artemia salina* Leach yaitu apabila larva tidak menunjukkan pergerakan selama beberapa detik setelah diobservasi (Setyowati & Cahyanto, 2016).

#### 4. Perhitungan LC<sub>50</sub>

Uji toksisitas senyawa ditentukan dengan menghitung besar nilai LC<sub>50</sub> yang dapat mematikan larva *Artemia salina* (50%) dan dilakukan perhitungan dengan analisa unit probabilitas (Wilapangga & Syaputra, 2018). Nurhayati *et al.* (2006) menuturkan efek toksisitas dianalisa melalui pengamatan dengan persen kematian dihitung menggunakan persamaan 3.1 sebagai berikut:

$$\% \text{ Mortalitas} = \frac{\text{Jumlah larva mati}}{\text{Jumlah larva uji}} \times 100\% \quad (3.1)$$

Apabila dalam kontrol terdapat larva yang mati, maka % kematian ditentukan menggunakan persamaan 3.2 :

$$\% \text{ Mortalitas} = \frac{\text{Uji-Kontrol}}{\text{Kontrol}} \times 100\% \quad (3.2)$$

Setelah mengetahui persen mortalitas larva *Artemia salina*, nilai probabilitas diambil melalui tabel probabilitas dalam tabel 3.2 dan diregresikan secara linier menggunakan persamaan 3.3 :

$$Y = ax + b \quad (3.3)$$

Keterangan :

Y = Nilai Probabilitas

a = Konsentrasi regresi

b = Slope/kemiringan regresi

x = Logaritma konsentrasi uji

Tabel 3. 2 Tabel Probabilitas (Salsabila, 2021)

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2,67	2,95	3,12	3,25	3,36	3,45	3,52	3,59	3,66
10	3,72	3,77	3,82	3,87	3,92	3,96	4,01	4,05	4,08	4,12
20	4,16	4,19	4,23	4,26	4,29	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
-	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
99	7,33	7,37	7,41	7,46	7,51	7,58	7,65	7,75	7,88	8,09

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. Preparasi dan Ekstraksi Daun Kersen

Daun kersen (*Muntingia calabura*) yang telah dikeringkan selama 5 hari, dipreparasi menjadi serbuk. Sebanyak 60 g serbuk dimeserasi dengan pelarut etanol 96%. Etanol digunakan sebagai pelarut karena bersifat universal, polar, dan mudah didapatkan. Etanol dipilih karena memiliki absorpsi yang baik, selektif, tidak toksik dan kemampuan penyaringan yang tinggi sehingga dapat menyaring senyawa yang bersifat non-polar, semi-polar, dan polar (Trifani, 2012). Setiap 7 jam pelarut diganti dengan yang baru, diulangi sebanyak 3 kali. Maserasi adalah proses merendam sampel dalam pelarut organik pada suhu kamar. Perendaman sampel tanaman mendorong pecahnya dinding dan membran sel karena perbedaan tekanan antara bagian dalam dan luar sel, membuat metode ini sangat bermanfaat untuk pemisahan zat alami. Hal ini memungkinkan metabolit sekunder yang terkandung dalam sel larut dalam pelarut organik dan waktu perendaman sampel disesuaikan, sehingga memastikan ekstraksi senyawa lengkap. Etanol 96% memiliki gugus OH<sup>-</sup> polar yang dapat mengekstraksi

senyawa. Etanol juga memiliki titik didih yang rendah dan cenderung aman serta tidak beracun (Puspitasari & Wulandari, 2017).

Sampel yang telah dimaserasi, dilanjutkan dengan proses evaporasi. *Evaporator* diatur pada suhu tidak boleh lebih dari titik didih etanol yaitu 78,4 °C. Pada penelitian ini *evaporator* diatur pada suhu 40°C sehingga pelarut dapat menguap namun tidak merusak komponen pada ekstrak sampel. Proses evaporasi bertujuan untuk memisahkan pelarut dengan ekstrak sehingga diperoleh ekstrak kental etanol daun kersen yang berwarna coklat tua sebanyak 8,7 g. Prinsip *Rotary evaporator* adalah pemisahan antara senyawa dan pelarutnya dengan adanya pemanasan dan penurunan tekanan pada sistem sehingga pelarut dapat menguap pada suhu lebih rendah dari titik didih. Filtrat selanjutnya diuji fitokimia dan fraksinasi.

#### B. Fraksinasi Cair-Cair Ekstrak Daun Kersen

Fraksinasi ekstrak daun kersen dilakukan dengan metode ekstraksi cair-cair. Fraksinasi menggunakan 3 macam pelarut yang berbeda sesuai dengan tingkat kepolarannya yaitu dari pelarut dengan kepolaran rendah sampai pelarut dengan kepolaran yang lebih tinggi yaitu

n-heksana, etil asetat dan kemudian etanol. Ekstrak kering daun kersen ditimbang sebanyak 8,7 g kemudian dilarutkan dengan 50 mL etanol. Selanjutnya ditambahkan pelarut n-heksana dan dilakukan pengocokan di dalam corong pisah. Penambahan pelarut pada perlakuan ini sebanyak 300 mL dilakukan secara bertahap sebanyak 25 mL dalam 12 kali pengulangan. Setelah beberapa menit kemudian terbentuk dua lapisan yaitu lapisan atas (fraksi n-heksana) dan lapisan bawah (fraksi etanol), kemudian keduanya dievaporasi. Fraksi etanol diambil untuk dilanjutkan fraksinasi dengan pelarut etil asetat. Fraksi kental etanol dilarutkan dalam etanol-air dengan perbandingan 1 (etanol) : 5 (air). Irianty & Yenti, (2014). Penambahan air bertujuan untuk meningkatkan kepolaran. Fraksinasi kedua menggunakan pelarut etil asetat sebanyak 200 mL, dilakukan secara bertahap (setiap pemisahan sebanyak 25 mL sebanyak 8 kali) dan terbentuk dua lapisan, yaitu fraksi etil asetat (atas) dan fraksi etanol-air (bawah) kemudian dievaporasi. Proses fraksinasi dilakukan secara berulang hingga lapisan atas terlihat bening. Hasil fraksinasi ditimbang dan diperoleh bobot fraksi n-heksana sebesar 2,3 g, fraksi etil asetat 3,7 g dan fraksi etanol-air 1,2 g yang ditunjukkan pada tabel 4.1 :

Tabel 4. 1 Hasil rendemen ekstrak daun kersen

No	Fraksinasi	Berat fraksi(g)	% Rendemen
1	Ekstrak Etanol	8,7	14,5
2	N-Heksana	2,3	3,8
3	Etil Asetat	3,7	2,1
4	Etanol-air	1,2	6,2

### C. Penapisan Fitokimia Ekstrak Daun Kersen

Hasil pemeriksaan metabolit sekunder fraksinasi ekstrak etanol daun kersen dapat dilihat pada tabel 4.2.

Tabel 4. 2 Uji fitokimia fraksi daun kersen

Metabolit Sekunder	Fraksi n-heksana	Fraksi Etil Asetat	Fraksi Etanol-air	Identifikasi
Alkaloid	-	-	+	Endapan coklat-putih kekuningan / larutan keruh
Flavonoid	-	+	+	Larutan merah-jingga
Saponin	-	-	+	Busa / buih stabil
Tanin	-	+	+	Biru - hijau kehitaman
Triterpenoid	+	-	-	Endapan ungu, coklat atau hijau biru

Keterangan :(+ ) Mengandung senyawa yang teridentifikasi

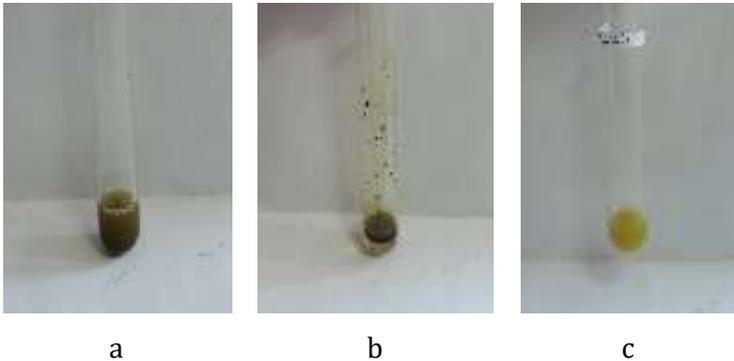
(- ) Tidak mengandung senyawa yang teridentifikasi

Berdasarkan hasil uji fitokimia senyawa yang terkandung dalam sampel dalam fraksinasi n-heksana menunjukkan hasil positif triterpenoid, sedangkan fraksinasi etil asetat menunjukkan hasil positif pada flavonoid dan tanin, kemudian dalam fraksinasi etanol-air adalah flavonoid, tanin, alkaloid, dan saponin.

#### a. Identifikasi Senyawa Alkaloid

Daun Kersen (*Muntingia Calabura*) mengandung alkaloid. Hasil positif dalam fraksi etanol-air ditandai adanya endapan coklat-putih kekuningan seperti gambar 4.1 (Fatimah *et al.*, 2015 ; Wahdaningsih *et al.*, 2014). Sedangkan dalam pelarut etil asetat dan n-heksana memberikan hasil negatif (Fatimah *et al.*, 2015). Hal tersebut sesuai dengan penelitian Prasetyo *et al.*,(2014) ; Syahara & Siregar, (2014) ; Landyyun Sjahid, (2019) dan Setyowati & Cahyanto, (2016) yang menyatakan terdapat metabolit skunder alkaloid dalam fraksi etanol dan etanol air daun kersen.

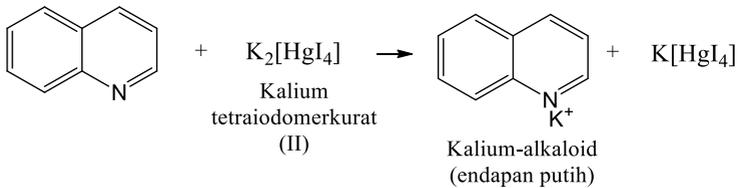
Alkaloid adalah senyawa organik yang bersifat basa. Sifat basa ini disebabkan oleh adanya atom N (Nitrogen) pada molekul senyawa tersebut dalam cincin heterosiklik atau aromatis (Hadrami dkk., 2011).



Gambar 4. 1 Identifikasi senyawa alkaloid (a) fraksi n-heksana (b) fraksi etil asetat (c) fraksi etanol-air

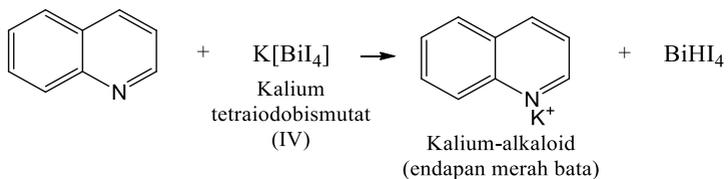
Alkaloid dapat diuji keberadaannya dalam tumbuhan dengan beberapa jenis uji, seperti uji menggunakan pereaksi Mayer maupun Dragendorff. Prinsip dari metode uji alkaloid ini adalah reaksi pengendapan yang disebabkan oleh pertukaran ligan (Agustina dkk., 2016). Pereaksi Mayer mengandung  $\text{Hg}^{2+}$  dan KI dan hasil positifnya menunjukkan adanya endapan putih ( $\text{R}_3\text{N} \cdot \text{K}_2\text{H}_{314}(\text{s})$ ).

Berdasarkan literatur dari Harborne (1987), reaksi yang terjadi antara gugus alkaloid dan pereaksi Mayer ditunjukkan pada Gambar 4.2



Gambar 4. 2 Reaksi gugus alkaloid dengan pereaksi Meyer sumber : Harborne, 1987

Pereaksi Dragendorff mengandung ion  $Bi^{3+}$  dan HI, dimana pada sampel menghasilkan uji positif yaitu terbentuk endapan merah bata ( $R_3N.HBiI_4(s)$ ). Reaksi yang terjadi antara gugus alkaloid dan pereaksi Dragendorff menurut Harborne (1987) ditunjukkan oleh Gambar 4.3

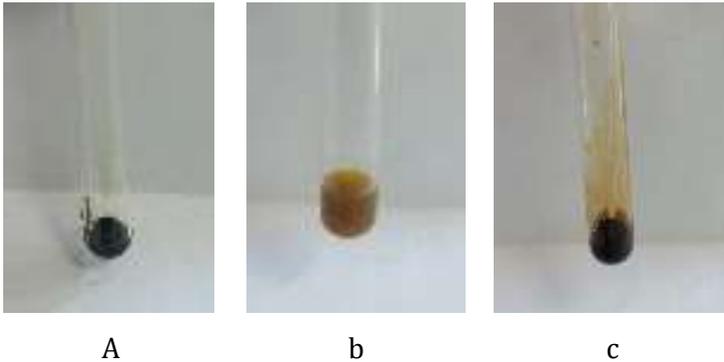


Gambar 4. 3 Reaksi antara gugus alkaloid dengan Pereaksi Dragendorff sumber : Harborne, 1987

#### b. Identifikasi Senyawa Flavonoid

Ekstrak sampel daun kersen mengandung flavonoid seperti yang ditunjukkan pada gambar 4.4, karena menghasilkan perubahan warna merah tua/merah bata

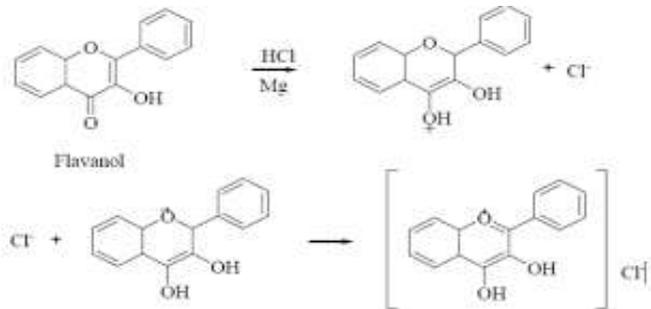
pada sampel uji dalam pelarut etanol dan etil asetat (Fatihah *et al*, 2015).



Gambar 4. 4 Identifikasi senyawa flavonoid (a) fraksi n-heksana (b) fraksi etil asetat (c) fraksi etanol-air

Hasil tersebut selaras dengan penelitian yang dilakukan oleh Prasetyo *et al.*,(2014) ; Syahara & Siregar, (2014) ; Landyyun Sjahid, (2019) dan Setyowati & Cahyanto, (2016) yang menyatakan fraksi etanol mengandung flavonoid, dan Landyyun Sjahid, (2019) menyatakan dalam penelitiannya bahwa flavonoid juga teridentifikasi dalam fraksi etil asetat ekstrak daun kersen.

Warna tersebut adalah garam flavilium yang terbentuk dengan penambahan asam klorida pekat dan bubuk magnesium untuk mereaksikan dan mereduksi benzopiron pada stuktur flavonoid ekstrak tumbuhan (Tiwari *et al.*, 2011). Reaksi ditunjukkan pada gambar 4.5



Gambar 4. 5 Reaksi pembentukan garam flavilium  
sumber : Harborne, 1987

Uji flavonoid dilakukan dengan menambahkan serbuk Mg dan larutan HCl. Selama proses penambhana ini terjadi reaksi eksoterm, yaitu pelepasan kalor yang ditandai dengan terbentuknya gas, gelembung dan pelepasan kalor pada permukaan tabung reaksi. Gelembung tersebut yang terbentuk adalah gas H<sub>2</sub>. Reaksi yang terjadi adalah sebagai berikut ;

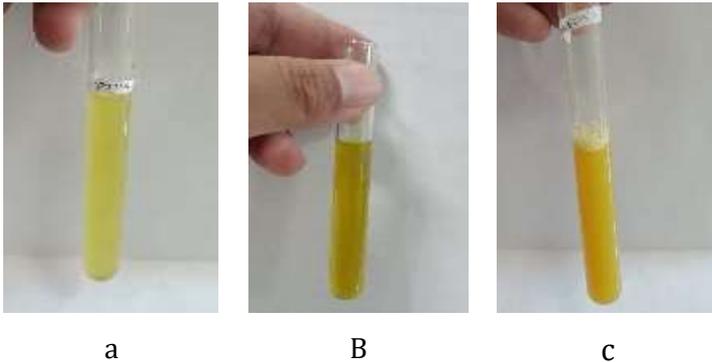


Produk yang dihasilkan dalam reaksi di atas adalah MgCl<sub>2</sub> dan H<sub>2</sub>.

### c. Identifikasi Senyawa Saponin

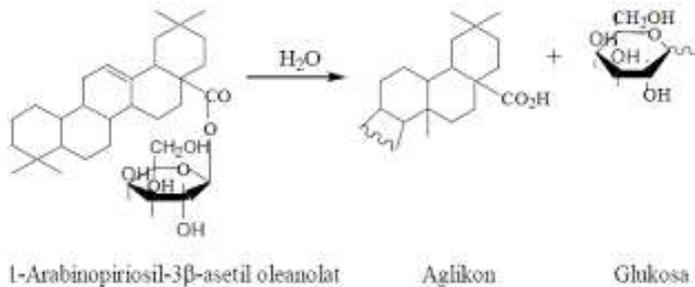
Ekstrak sampel daun kersen mengandung saponin dalam fraksi etanol-air , karena terdapat busa permanen

pada sampel uji seperti yang ditunjukkan pada gambar 4.6:



Gambar 4. 6 Identifikasi senyawa saponin (a) fraksi n-heksana (b) fraksi etil asetat (c) fraksi etanol-air

Penelitian Prasetyo *et al.*,(2014) ; Syahara & Siregar, (2014) ; Landyyun Sjahid, (2019) dan Setyowati & Cahyanto, (2016) juga mengemukakan hasil yang sama dimana ekstrak daun kersen positif mengandung saponin pada fraksi etanol. Busa tersebut menandakan adanya kandungan glikosida yang dapat membentuk buih di dalam air (Fatimah *et al*, 2015). Reaksi pembentukan saponin terdapat pada Gambar 4. 7



Gambar 4. 7 Reaksi pembentukan busa pada uji saponin  
sumber : Harborne, 1987

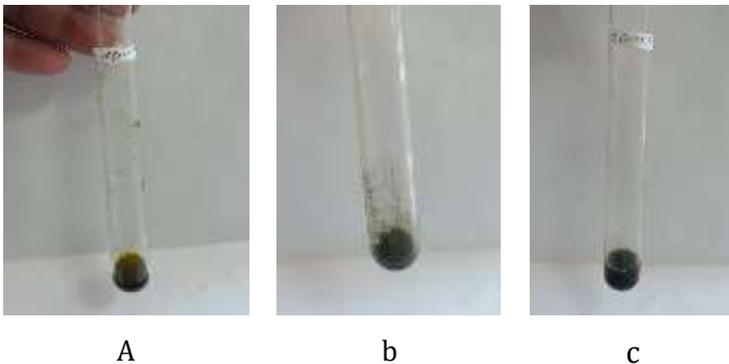
Saponin merupakan suatu glikosida (gula pada tumbuhan) dengan gugus hidroksil pada molekulnya dengan rumus  $\text{C}_{32}\text{H}_{48}\text{O}_7$ . Glikosida berfungsi sebagai gugus polar, sedangkan steroid dan terpenoid sebagai sebagai gugus nonpolar. Senyawa dengan gugus polar dan non polar bersifat aktif sehingga saponin akan membentuk misel bila dikocok. Misel terdiri dari gugus hidrofil (polar) pengikat air dan gugus hidrofob (non polar) yang tidak suka air. Keadaan inilah yang tampak seperti busa (Agustina *et al.*, 2016).

Uji positif penapisan fitokimia untuk saponin adalah terbentuknya busa yang stabil setelah dilakukan pengocokkan secara vertikal. Hal ini karena saponin merupakan senyawa mirip sabun dengan gugus hidrofilik

dan hidrofobik yang dapat berperan sebagai permukaan aktif dalam pembentukan busa. (Harborne, 1987).

#### d. Identifikasi Senyawa Tanin

Fraksi etil asetat dan fraksi etanol positif mengandung tanin, karena menghasilkan perubahan warna hitam-kehijauan pada sampel uji (Sulasmi et al., 2018; Fatihah *et al*, 2015) seperti gambar 4.8.

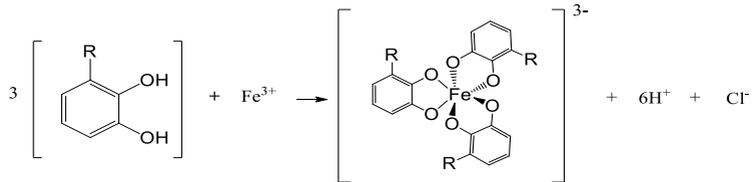


Gambar 4. 8 Identifikasi senyawa tanin (a) fraksi n-heksana (b) fraksi etil asetat (c) fraksi etanol-air

Uji penapisan fitokimia tanin menggunakan pereaksi  $\text{FeCl}_3$  1%. Reagen bertindak sebagai sumber atom pusat, dimana senyawa fenolik adalah ligan, yang membutuhkan atom pusat untuk membentuk kompleks yang stabil, sehingga terbentuk kompleks antara atom pusat  $\text{Fe}^{3+}$  dengan ligan. (Harborne, 1987). Identifikasi positif dari uji

tanin adalah terbentuk larutan berwarna hijau kehitaman.

Reaksi yang terjadi ditunjukkan oleh Gambar 4. 9



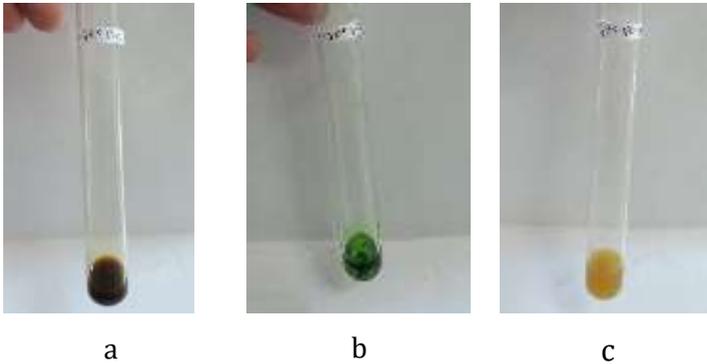
Gambar 4. 9 Reaksi senyawa tanin dengan pereaksi  $\text{FeCl}_3$

sumber : Harborne, 1987

#### e. Identifikasi Senyawa Triterpenoid

Ekstrak daun kersen dalam fraksi n-heksana mengandung terpenoid jenis triterpenoid, karena memberikan perubahan warna merah-kecoklatan pada sampel uji seperti yang diungkapkan (Landyyun Sjahid, 2019) dalam penelitiannya, yang mengutarakan bahwa ekstrak daun kersen positif tritepenoid pada pelarut n-heksana, seperti ditunjukkan pada gambar 4.10.

Prinsip identifikasi triterpenoid menggunakan asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat. Perubahan warna ini dimulai dengan proses penggunaan anhidrida asetat menjadi gugus hidroksil asetat, membentuk ikatan rangkap. Selain itu, terjadi pelepasan ikatan hidrogen, ikatan rangkap bergerak, dan senyawa beresonansi untuk bertindak sebagai elektrofil atau karbokation.



Gambar 4. 10 Identifikasi senyawa triterpenoid (a) fraksi n-heksana (b) fraksi etil asetat (c) fraksi etanol-air

Karbokation melepaskan hidrogen dan elektron, menyebabkan senyawa tersebut mengalami pemanjangan konjugat dan membentuk warna jingga kecoklatan (Siadi, 2012). Triterpenoid adalah senyawa dengan kerangka karbon yang berasal dari enam unit isoprena yang secara biosintesis diubah menjadi hidrokarbon  $C^{30}$  asiklik, yaitu skualena (Wilapangga & Syaputra, 2018). Terpenoid memiliki sifat fisik tidak berwarna, memiliki bau khas, memiliki berat jenis lebih ringan daripada air, mudah menguap, dan bersifat optis aktif (McGarvey dan Croteau, 1995).

Uji triterpenoid dilakukan dengan penambahan anhidrida asam asetat dan  $H_2SO_4$  pekat. Penambahan  $H_2SO_4$  pekat bertujuan untuk mendekstruksi kompleks asetil triterpenoid. Uji positif terhadap triterpenoid

adalah jika terbentuk kristal/endapan berwarna merah kecoklatan (Harborne, 1987).

#### D. Uji Toksisitas Daun Kersen

Penentuan toksisitas pada penelitian ini menggunakan metode BSLT, metode ini digunakan sebagai uji pendahuluan untuk mengetahui tingkat toksisitas ekstrak daun kersen fraksi n-heksana, etil asetat dan etanol. Langkah pertama dalam uji toksisitas adalah membuat larutan induk ekstrak daun kersen 1000 ppm, selanjutnya diencerkan dengan variasi konsentrasi menjadi 100 – 900 ppm. Kontrol negatif berisi air laut buatan. Penambahan larutan kontrol negatif bertujuan untuk mengetahui pengaruh air laut buatan maupun faktor lain yang menyebabkan kematian larva *Artemia salina leach*. 3 mL larutan ekstrak dengan variasi konsentrasi dan kontrol negatif dimasukkan kedalam botol vial 5 mL yang selanjutnya dimasukkan 10 ekor larva *Artemia salina leach* dan selanjutnya ditambahkan air laut hingga volume larutan menjadi 5 mL. Setiap konsentrasi diulang sebanyak tiga kali. Setiap vial kemudian diinkubasi di bawah lampu pada suhu kamar selama 24 jam. Uji toksisitas dengan menggunakan metode BSLT dihitung dengan mengamati pergerakan selama berada dalam larutan uji. Apabila larva *Artemia*

*salina leach* tidak bergerak maka bisa dikatakan larva *Artemia salina leach* mengalami kematian. Tabel 4.3, menunjukkan jumlah kematian larva dalam fraksi etanol-air.

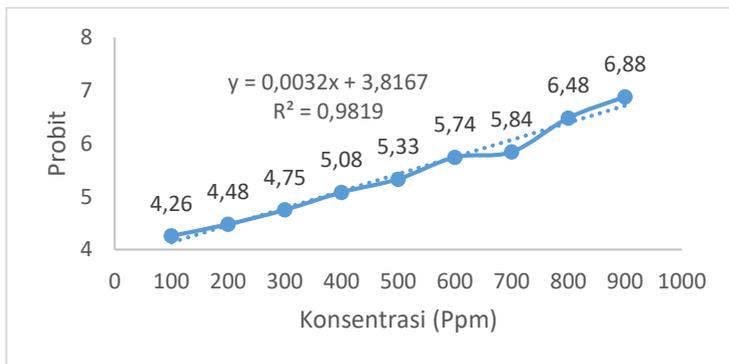
Tabel 4. 3 Hasil Uji Toksisitas Fraksi Etanol Air Daun Kersen

Konsentrasi (ppm)	Jumlah larva yang mati (ekor)	Nilai Probit
100	2,33 ± 0,58	4,26
200	3,00 ± 0,00	4,48
300	4,00 ± 0,00	4,75
400	5,33 ± 0,58	5,08
500	6,33 ± 0,58	5,33
600	7,67 ± 0,58	5,74
700	8,00 ± 1,00	5,84
800	9,33 ± 0,58	6,48
900	9,67 ± 0,58	6,88

Berdasarkan tabel 4.3 diatas dapat dilihat bahwa pada konsentrasi 900 ppm adalah tingkat kematian tertinggi, dan tingkat kematian terendah adalah 100 ppm untuk tiap konsentrasi dimasukkan 10 larva udang. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak semakin besar tingkat kematian yang dialami oleh larva.

Hasil analisa probit menggunakan *microsoft office excel* didapatkan dari memplotkan konsentrasi dan nilai probitnya, sehingga didapatkan persamaan garis lurus  $y = 0,0032x + 3,8167$ , lalu dimasukkan angka 5 pada nilai Y

sehingga didapatkan nilai  $LC_{50}$  fraksi etanol-air adalah 369,8 ppm. Penelitian terkait oleh Sadli et al, (2016) menyebutkan bahwa tingkat konsentrasinya  $LC_{50}$  yang dikategorikan oleh Meyer, sangat beracun (*high toxic*) dengan konsentrasi 1-10 ppm, cukup beracun (*medium toxic*) dengan konsentrasi 10-100 ppm dan beracun rendah (*low toxic*) dengan konsentrasi 100-1000 ppm. Kemudian pada penelitian Dwi Putri, (2022) melakukan uji aktioksidan dan toksisitas pada ekstrak etanol daun kersen bengkulu mendapatkan hasil uji toksisitas menggunakan metode BSLT dengan nilai  $LC_{50}$  sebesar 931,87 ppm dan Fatimah, (2020) melakukan penelitian yang serupa menggunakan rebusan daun kersen dan didapatkan nilai  $LC_{50}$  sebesar 621,25 ppm. Regresi linier analisa  $LC_{50}$  fraksi etanol-air dapat dilihat pada gambar 4.11



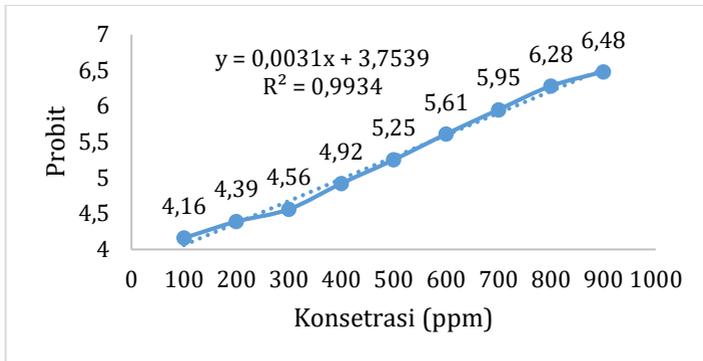
Gambar 4. 11 Analisa  $LC_{50}$  fraksi etanol-air

Analisa pada fraksi etil asetat daun kersen dengan menggunakan larva *Artemina salina* Leach pada konsentrasi larutan uji menunjukkan hasil sebagai berikut.

Tabel 4. 4 Hasil Uji Toksisitas Fraksi Etil Asetat Daun Kersen

Konsentrasi (ppm)	Jumlah larva yang mati (ekor)	Nilai Probit
100	2,00 ± 0,00	4,16
200	2,67 ± 0,58	4,39
300	3,33 ± 0,58	4,56
400	4,67 ± 0,58	4,92
500	6,00 ± 1,00	5,25
600	7,33 ± 0,58	5,61
700	8,33 ± 0,58	5,95
800	9,00 ± 0,00	6,28
900	9,33 ± 0,58	6,48

Sama halnya dengan fraksi etanol-air, pada fraksi etil asetat memberikan persen kematian larva terbanyak pada konsentrasi larutan 900 ppm dan kematian terendah pada 100 ppm. Hasil analisa probit dan konsentrasi didapatkan persamaan regresi linier dengan nilai  $y = 0,0031x + 3,7539$  sehingga didapatkan nilai  $LC_{50}$  fraksi etil asetat adalah 401,9 ppm dan termasuk dalam kategori *low toxic*. Nilai regresi linier fraksi etil asetat ditunjukkan oleh gambar 4.12



Gambar 4. 12 Analisa LC<sub>50</sub> fraksi etil asetat

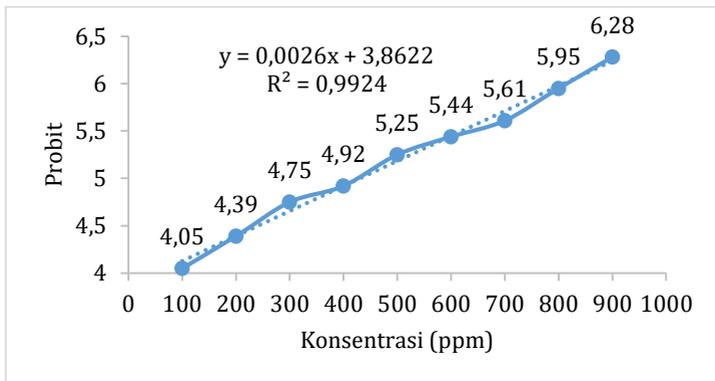
Analisa pada fraksi n-heksana daun kersen dengan menggunakan larva *Artemina salina* Leach pada konsentrasi larutan uji dengan konsentrasi 100 hingga 900 ppm menunjukkan hasil sebagai berikut

Tabel 4. 5 Hasil Uji Toksisitas Fraksi n-Heksana Daun Kersen

Konsetrasi (ppm)	Jumlah larva yang mati (ekor)	Nilai Probit
100	1,67 ± 0,58	4,05
200	2,67 ± 0,58	4,39
300	4,00 ± 0,00	4,75
400	4,67 ± 0,58	4,92
500	6,00 ± 0,00	5,25
600	6,67 ± 0,58	5,44
700	7,33 ± 0,58	5,61
800	8,33 ± 0,58	5,95
900	9,00 ± 0,00	6,28

Hasil perhitungan persen mortalitas menunjukkan pada konsentrasi 900 ppm memberikan dampak paling

signifikan terhadap kematian larva, sedangkan pada konsentrasi 100 ppm memberikan hasil terkecil terhadap kematian larva. Hal tersebut menunjukkan besarnya konsentrasi berpengaruh terhadap persen kematian larva *Artemia salina* Leach. Regresi linier didapatkan dari plotting konsentrasi dan nilai probit sehingga dihasilkan persamaan  $y = 0,0026x + 3,8622$  sehingga didapatkan hasil perhitungan  $LC_{50}$  adalah 437,6 ppm. Regresi linier analisa  $LC_{50}$  fraksi n-heksana dapat dilihat pada gambar 4.13 :



Gambar 4. 13 Analisa  $LC_{50}$  fraksi n-heksana

Hasil penelitian diatas menunjukkan bahwa fraksi etanol-air memiliki nilai  $LC_{50}$  sebesar 369,8 ppm, fraksi etil asetat sebesar 401,9 ppm dan fraksi n-heksana sebesar 437,6 ppm. Hasil serupa juga diperoleh dalam penelitian Setyowati & Cahyanto, (2016) yang menyatakan bahwa ekstrak metanol daun kersen

memberikan hasil  $LC_{50}$  295,76 ppm dimana pada fraksinasi dengan menggunakan pelarut polar memberikan hasil yang maksimal dalam membunuh larva.

Menurut Setyowati & Cahyanto, (2016), aktivitas toksik pada ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura*) muncul karena adanya senyawa metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, steroid dan saponin yang terkandung dalam tanaman tersebut. Diantara metabolit sekunder yang telah disebutkan, flavonoid diperkirakan memiliki peran terbesar dimana pada kadar tertentu dapat memberikat toksisitas akut sebagai obat antikanker melalui pengaktifan jalur apoptosis sel kanker. Fraksinasi ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura*) etanol-air, etil asetat dan n-heksana termasuk dalam kategori *low toxic* karena memiliki nilai  $LC_{50}$  diantara 369,8 ppm - 437,6 ppm.

Pada penelitian ini dilakukan proses fraksinasi untuk memisahkan komponen pada sampel uji sesuai sifat kepolarannya. Tiingkat uji toksisitas fraksi menurut Meyer dapat dilihat pada tabel 4.6.

Tabel 4.6. tingkat nilai uji toksisitas LC<sub>50</sub> sumber : Salsabila, 2021.

Tingkat Toksik	Nilai LC <sub>50</sub> (ppm)
<i>High Toxic</i>	1-10
<i>Medium Toxic</i>	10-100
<i>Low Toxic</i>	100-1000
<i>Not Toxic</i>	>1000

Menurut (Meyer et al., 1982) senyawa dapat disebut toksik apabila setelah dilakukan pengujian dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) memiliki nilai LC<sub>50</sub> kurang dari 1000 ppm maka berpotensi sebagai kandidat antikanker. Penelitian terkait oleh Ghazian Salsabila, (2021) dalam penelitiannya ekstrak etanol daun jambu air semarang (*Syzygium samarangense* (bl.) Merr et. Perry) tingkat toksisitas LC<sub>50</sub> dikategorikan dalam beberapa tingkat, yaitu 1 ppm -10 ppm sebagai *high toxic*, 10 ppm – 100 ppm *medium toxic*, 100 ppm – 1000 *low toxic* dan diatas 1000 ppm *not toxic*. Berdasarkan kategori toksik tersebut maka pada penelitian ini diperoleh nilai LC<sub>50</sub> diantara 369,8 ppm – 437,6 ppm dengan kategori *low toxic*.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN**

#### **A. Kesimpulan**

Kesimpulan yang didapatkan dalam penelitian meliputi :

1. Metabolit skunder yang terkandung dalam fraksinasi n-heksana daun kersen (*Muntingia calabura*) mengandung triterpenoid, pada fraksi etil asetat memberikan hasil positif senyawa flavonoid dan tanin, dan fraksi etanol-air meliputi alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin.
2. Nilai LC<sub>50</sub> fraksi n-heksana, etil asetat dan etanol-air daun kersen (*Muntingia calabura*) secara berturut-turut adalah 437,6 ppm, 401,9 ppm dan 369,8 ppm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun kersen dari fraksi etanol-air, etil asetat dan n-heksana termasuk dalam kategori *low toxic* (100 - 1000 ppm).

#### **B. Saran**

Penelitian ini dapat dikembangkan kedalam kajian penelitian yang lebih lanjut seperti uji antioksidan daun kersen dengan menggunakan metode fraksinasi yang lain.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, S., Wiraningtyas, A., & Bima, K. (2016). Skrining Fitokimia Tanaman Obat Di Kabupaten Bima. *Cakra Kimia*, 4(1), 71-76.
- Anggraini, P. H., Septiarini, A. D., & Wardani, T. S. (2021). Uji Daya Hambat Ekstrak Dan Fraksi N-Heksan, Fraksi Etil Asetat, Fraksi Air Daun Kersem (Muntingia calabura L) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus ATCC 25923. *Duta Pharma Journal*, 1(2), 8-19.
- Ansel, H. C. (1989). *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi* (F. Ibrahim (ed.); Edisi keem). UI Press.
- Arifin, B., & Ibrahim, S. (2018). Struktur, Bioaktivitas Dan Antioksidan Flavonoid. *Jurnal Zarah*, 6(1), 21-29.
- Astika, D., Nofita, & Dina, R. (2018). Perbandingan Kadar Flavonoid Pada Ekstrak Etanol Dan Ekstrak Etil Asetat Daun Kersem (Muntingia calabura L) Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Analis Farmasi*, 3(4), 294-293.
- Chintya Dwi Putri, S. Z. N. (2022). *Uji Aktivitas Antioksidan Dan Toksisitas*. 1(2).
- Danugroho, Ery Septyan, & Widyaningrum, Nova Ragma. (2014). Aktivitas Analgetik Infusa Daun Kersem (Muntingia calabura L) Pada Mencit Jantan Ras Swiss. *Indonesian Journal On Medical Science*, 1(2), 1-24.
- Dwijayanti, E., Alimuddin, A. H., & ... (2015). Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Sitotoksik Pada Kulit Batang Tampoi (Baccaurea macrocarpa) Terhadap Artemia Salina Leach Dengan .... *Jurnal Kimia ...*, 3(4), 6-10.
- Dwisari, F., Harlia, & Andi Hairil Alimuddin. (2016). Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Terpenoid Ekstrak Metanol Akar Pohon Kayu Buta-Buta (Excoecaria agallocha L.). *Jurnal Kajian Komunikasi (JKK)*, 5(3), 25-30.

- Els, V. (2022). Keterkaitan Cara Kerja Kontrasepsi Hormonal Dengan Risiko Terjadinya Kanker Payudara. *Essential: Essence of Scientific Medical Journal*, 19(2), 25.
- Endarni, L. H. (2016). Farmakognisi Dan Fitokimia. In *Kemntrian Kesehatan Republik Indonesia* (Vol. 1, Issue December).
- Fadhly, E., Kusrini, D., & Fachriyah, E. (2015). Isolasi, Identifikasi Senyawa Alkaloid dari Daun Rivina humilis L. serta Uji Sitotoksik Menggunakan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test). *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 18(2), 67–72.
- Farida, Y., S, Setyorini., & Sari, W. L. (2009). Uji aktivitas antioksidan pada buah talok dengan metode DPPH dan Rancimat. *Seminar PATPI, November*, 1–7.
- Fatihah Olpah Siara, Arsyik Ibrahim, Hanggara Aridian, R. R. (2015). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Batang Kersen (Muntingia Calabura L.). *Analisis Standar Pelayanan Minimal Pada Instalasi Rawat Jalan Di RSUD Kota Semarang*, 3(April 2017), 103–111.
- Hadi, K., & Permatasari, I. (2019). Uji Fitokimia Kersen (Muntingia calabura .L) dan Pemanfaatannya Sebagai Alternatif Penyembuhan Luka. *Prosiding Sains TeKes*, 1, 22–31.
- Hadrami, A. El, Daayf, F., & Hadrami, I. El. (2011). Secondary Metabolites of Date Palm. In *Date Palm Biotechnology* (pp. 653–674).
- Hafsah, L. (2022). GAMBARAN TINGKAT KECEMASAN PADA PASIEN KANKER YANG MENJALANI KEMOTERAPI DI RSUD Dr. M. YUNUS BENGKULU. 5(2), 21–28.
- Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2000). *Keunggulan dari Kanker Sel*.
- Harborne, J. B. (1987). *Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Penerbit ITB Bandung.
- Hidjrawan Yusi. (2018). IDENTIFIKASI SENYAWA TANIN PADA DAUN BELIMBING WULUH (Averrhoa bilimbi L.)No Title. *Jurusan Teknik Industri*, 4(2), 78–82.

- Jalaluddin, J. (2020). *POTENSI FOTOPROTEKSI EKSTRAK ETANOL DAUN JAMBU AIR SEMARANG (Syzygium samarangense (bl.) Merr et. Perry) SKRIPSI*.
- Julianto, T. S. (2018). Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia. In *Journal of Chemical Information and Modeling* (Vol. 53, Issue 9).
- Landyyun Sjahid. (2019). *Aktivitas Antiinflamasi Fraksi-Fraksi Ekstrak Etanol 96% Daun Kersen (Muntingia Calabura L) pada Tikus Putih Jantan*. 16(01), 1–16.
- Megasari. (2010). *Pengaruh Program Sekolahku Terhadap Perkembangan Psikososial Anak Penderita Kanker di Yayasan Kasih Anak Kanker Indonesia*.
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. E., & McLaughlin, J. L. (1982). Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica*, 45(1), 31–34.
- Minarno, E. B. (2016). ANALISIS KANDUNGAN SAPONIN PADA DAUN DAN TANGKAI DAUN *Carica pubescens* Lenne & K. Koch. *El-Hayah*, 5(4), 143.
- Mutmainnah, P. A., Hakim, A., & Savalas, L. R. T. (2017). Identifikasi Senyawa Turunan Hasil Fraksinasi Kayu Akar *Artocarpus Odoratissimus*. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*, 3(2).
- Nugroho, A., & Mangkurat, U. L. (2019). *Teknologi Bahan Alam Buku Ajar : Teknologi Bahan Alam i* (Issue January 2017).
- Nurhayati, A. P. D., Abdulgani, N., & Febrianto, R. (2006). Uji Toksikitas Ekstrak *Eucaema alvarezii* terhadap *Artemia salina* Leach Studi Pendahuluan Potensi Antikanker. *Akta Kimindo*, 2(1), 41–46.
- Phytochemical Methods. (2020). In *Ethnoveterinary Botanical Medicine*.
- Prasetyo, A. D., Sasongko, H., Iii, K., & Soepomo, J. P. (2014). *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70 % Daun Kersen ( Muntingia Calabura L .) Terhadap Bakteri Bacillus subtilis dan Shigella*

*dysenteriae Sebagai Materi Pembelajaran Biologi SMA Kelas X untuk Mencapai Kd 3. 4 pada Kurikulum 2013. 1(1), 98–102.*

- Pratama, F. E., & Nuwarda, R. F. (2018). Review: Senyawa Aktif Antikanker Dari Bahan Alam Dan Aktivitasnya. *Farmaka, 16(1)*, 1–15.
- Puspitasari, & Proyogo, L. . (2017). Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi Dan Sokletasi Terhadap Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura*). *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta, 1(2)*, 1–8.
- Puspitasari, A. D., & Wulandari, R. L. (2017). Aktivitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etil Asetat Daun Kersen (*Muntingia calabura*). *Jurnal Pharmascience, 4(2)*.
- Putri, C. A., Yuliet, & Khaerani, K. (2018). EFEKTIVITAS EKSTRAK DAUN KERSEN (*Muntingia calabura* L.) TERHADAP PENURUNAN KADAR KOLESTEROL TOTAL TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus norvegicus* L.) YANG DIINDUKSI PAKAN TINGGI LEMAK Cornelia. *Biocelebes, 12(1)*, 65–72.
- Rachmawan, A., & Dalimunthe, C. I. (2017). Prospek Pemanfaatan Metabolit Sekunder Tumbuhan Sebagai Pestisida Nabati Untuk Pengendalian Patogen Pada Tanaman Karet. *Warta Per karetan, 36(1)*, 15–28.
- Rambitan, S. R., Manampiring, A., Fatimawali, ., Kepel, B. J., Budiarmo, F., & Bodhi, W. (2021). Molecular Docking Senyawa Vitexin, Ursolic Acid dan Flavonol dalam Tumbuhan Binahong (*Androdera Cordifolia* (Ten.) Steenis) yang Berpotensi sebagai Penghambat Pertumbuhan COVID-19. *Jurnal E-Biomedik, 9(2)*, 201–207.
- Retnosari, A. (2013). *EKSTRAKSI DAN PENENTUAN KADAR SILIKA (SiO<sub>2</sub>) HASIL EKSTRAKSI DARI ABU TERBANG ( FLY ASH ) BATUBARA.*
- Rosa Fatimah, B. S. A. S. (2020). Toksisitas Akut Dekok Daun Kersen (*Muntingia calabura*) Menggunakan Metode BSLT(Brine Shimps Lethality Test). *Pharmacy Medical Journal, 70(3)*, 360–374.

- Sa'adah, H., & Nurhasnawati, H. (2017). PERBANDINGAN PELARUT ETANOL DAN AIR PADA PEMBUATAN EKSTRAK UMBI BAWANG TIWAI (*Eleutherine americana* Merr) MENGGUNAKAN METODE MASERASI. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 1(2), 149.
- Saati, E. A. (2005). Studi Stabilitas Ekstrak Pigmen Antosianin Bunga Mawar Rontok Pada Periode Simpan Tertentu (Kajian Keragaman pH, Media, dan Suhu Pasteurisasi. In *Gamma* (Vol. 1, Issue 1, pp. 77–82).
- Sadli, Irma Sari; T. M. (2016). *OTOXIC ACTIVITY OF N-HEXANE EXTRACT OF KERSEN (Muntingia calabura) NG THE BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BSLT) METHOD*. *TE n Fa*. 16(2), 11–12.
- Salsabila, G. (2021). UJI POTENSI TABIR SURYA DAN UJI TOKSISITAS EKSTRAK ETANOL DAUN JAMBU AIR SEMARANG (*Syzygium samarangense* (bl.) Merr et. Perry). *Skripsi*, 6.
- Saragih, D. E., & Arsita, E. V. (2019). The phytochemical content of *Zanthoxylum acanthopodium* and its potential as a medicinal plant in the regions of Toba Samosir and North Tapanuli, North Sumatra. *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia*, 5(1), 71–76.
- Saraswati, R., Susilowati, M. H. D., Restuti, R. C., & Pamungkas, F. D. (2019). *Buku Pemanfaatan Daun untuk Ecoprint dalam Menunjang Pariwisata*. M. H. Dewi Susilowati Ratri Candra Restuti Fajar Dwi Pamungkas Departemen Geografi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam i Indonesia Universitas. October, 1–102.
- Semirata, P., & Lampung, F. U. (2013). *Semirata 2013 FMIPA Unila [291 STRUKTUR ANATOMI DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK METANOL DAUN KERSEN (Muntingia calabura)*. 291–296.
- Setyowati, W. A. E., & Cahyanto, M. A. S. (2016). Kandungan Kimia dan Uji Aktivitas Toksik Menggunakan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) dari Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*). *Jurnal Kimia Dan Pendidikan Kimia (JKPK)*, 1(2), 41–

47.

- Siadi, K. (2012). Ekstrak Bungkil Biji Jarak (*Jatropha curcas*) Sebagai Biopestisida yang Efektif dengan Penambahan Larutan NaCl. *Jurnal Mipa*, 35(1).
- Sitiatava, R. (2018). *UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI FRAKSI ETIL ASETAT DAUN KERSEN ( Muntingia calabura L ) DAN DAUN SUKUN ( Artocarpus altilis ) TERHADAP BAKTERI Staphylococcus aureus.*
- Sri Irianty, R., & Yenti, S. R. (2014). PENGARUH PERBANDINGAN PELARUT ETANOL-AIR TERHADAP KADAR TANIN PADA SOKLETASI DAUN GAMBIR (*Uncaria gambir* Roxb). *Sagu*, 13(1), 1-7.
- Sukandar, D., Hermanto, S., & Lestari, E. (2008). Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Jurnal Kimia VALENSI*, 1(2).
- Sukmawan, Y. P., & Aryani, R. (2016). UJI AKTIVITAS PENYEMBUHAN LUKA FORMULA GEL EKSTRAK ETANOL DAUN BABADOTAN (*Ageratum conyzoides* L) TERHADAP TIKUS JANTAN WISTAR. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-Ilmu Keperawatan, Analisis Kesehatan Dan Farmasi*, 16(1), 88.
- Sulasmis, E. S., Wuriana, Z. F., & Sari, M. S. (2018). *Analisis Kualitatif Kandungan Senyawa Aktif ( Flavonoid , Alkaloid , Polifenol , Saponin , Terpenoid dan Tanin ) pada Ekstrak Metanol Daun dan Rhizoma Phymatodes scolopendria ( Burm .) Ching di Taman Nasional Baluran. September.*
- Syahara, S., & Siregar, Y. F. (2014). *Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Kersen ( Muntingia Calabura ).* 4(2), 121-125.
- Syahrudin, E., Pratama, A. D., & Arief, N. (2010). A Retrospective Study: Clinical and Diagnostic Characteristics in Advanced Stage of Lung Cancer Patients with Pleural Effusion in Persahabatan Hospital 2004 - 2007. *J Respor Indo*, 30(3), 146-151.

- Tetti, M. (2014). Ekstraksi, pemisahan senyawa, dan identifikasi senyawa aktif. *Jurnal Kesehatan UIN Alauddin*, 7(2), 361–367.
- Tiwari, P., Kumar, B., Mandeep, K., Kaur, G., & Kaur, H. (2011). Phytochemical screening and Extraction: A Review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1(1), 98–106.
- Trifani. (2012). *Ekstraksi Pelarut Cair-cair*. Universitas Indonesia.
- Wahdaningsih, S., Untari, E. K., & Fauziah, Y. (2014). Antibakteri Fraksi n-Heksana Kulit *Hylocereus polyrhizus* Terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acnes*. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 1(3), 180–193.
- Wahyu Ningdyah, A., Hairil Alimuddin, A., & Jayuska, A. (2015). *UJI TOKSISITAS DENGAN METODE BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) TERHADAP HASIL FRAKSINASI EKSTRAK KULIT BUAH TAMPOI (Baccaurea macrocarpa)*. 4(1), 75–83.
- WHO, G. (2020). Cancer Incident in Indonesia. *International Agency for Research on Cancer*, 858, 1–2.
- Wibawa, I. (2012). *Ekstraksi Cair-cair*. Teknik Kimia Universitas Lampung.
- Wilapangga, A., & Syaputra, S. (2018). Analisis Antibakteri metode Agar Cakram dan Uji Toksisitas menggunakan BSLT ( Brine Shrimp Lethality Test) dari Ekstrak Metanol Daun Salam (*Eugenia polyantha*). *Indonesian Journal of Biotechnology and Biodiversity*, 2(2), 50–56.
- Wilvestra, S., Lestari, S., & Asri, E. (2018). Retrospective Study of Skin Cancer at The Dermatology and Venerology clinic Dr. M. Djamil Padang 2015-2017. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 7(Supplement 3), 47–49.

## DAFTAR LAMPIRAN

### Lampiran 1 Langkah Kerja Penelitian

#### 1. Preparasi Daun kersen

##### Preparasi sampel

- Sampel dikeringkan dalam udara terbuka selama 5 hari hingga kering
- Daun dipotong, dan dihaluskan menggunakan blender

##### Daun kersen kering

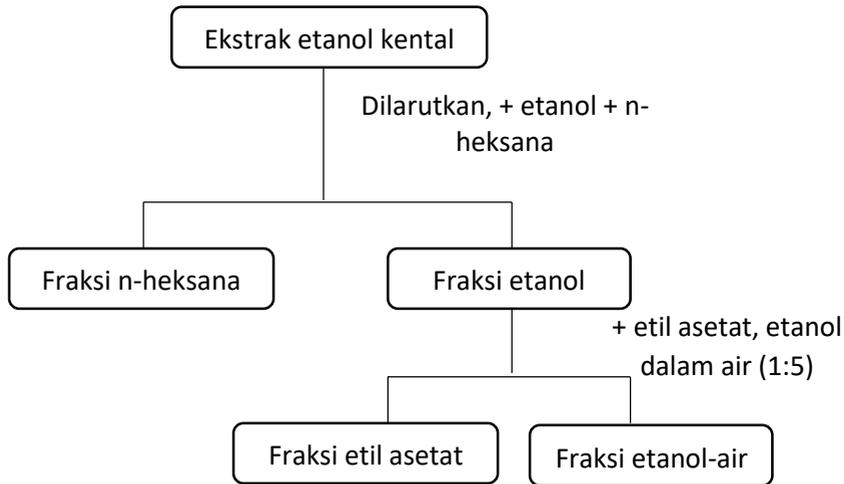
#### 2. Ekstraksi Daun Kersen

##### Meserasi Daun Kersen

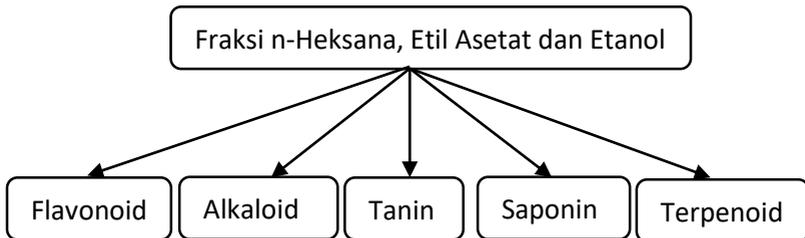
- 50 g daun kersen kering dimasukkan kedalam wadah
- Ditambahkan 1 L Etanol 96%
- Direndam selama 7 jam
- Ulangi proses diatas sebanyak 3 x untuk mendapatkan banyak fitrat
- Filtrat daun Kersen diuapkan menggunakan Evaporator

##### Ekstrak Etanol Daun Kersen

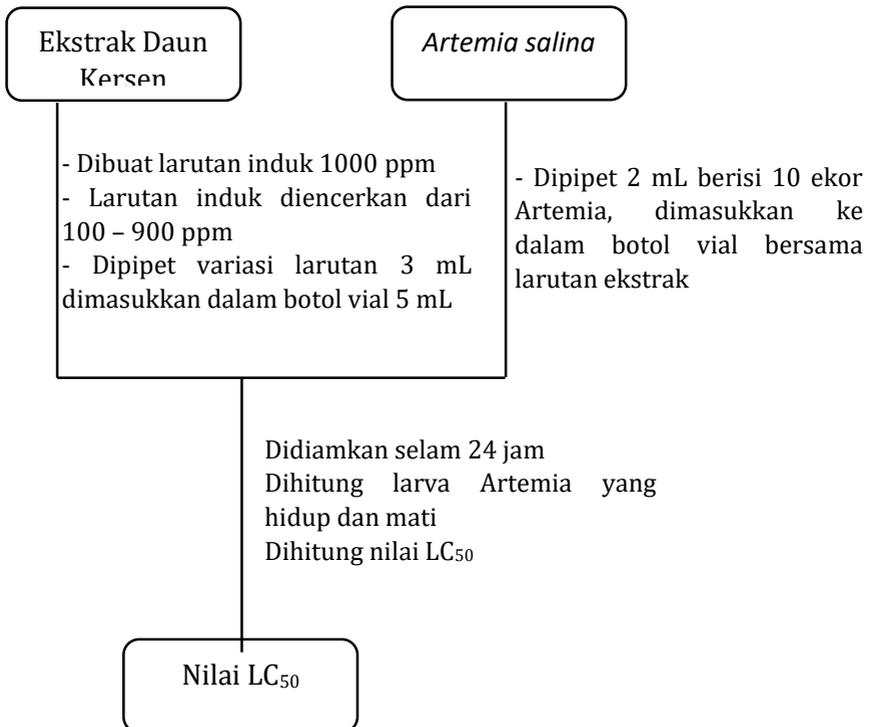
### 3. Fraksinasi Cair-Cair Ekstrak Daun Kersen



### 4. Uji Fitokimia



## 5. Uji Toksisitas Daun Kersen



## Lampiran 2 Perhitungan Rendamen Ekstrak Daun Kersen

1. Nilai rendamen ekstrak daun kersen

$$\text{Rendamen} = \frac{\text{Berat Ekstrak (g)}}{\text{Berat Simplisia (g)}} \times 100\%$$

$$\text{Rendamen} = \frac{8,7 \text{ g}}{60 \text{ g}} \times 100\%$$

$$\text{Rendamen} = 3,833 \%$$

2. Nilai rendamen fraksi n-Heksana

$$\text{Rendamen} = \frac{2,3 \text{ g}}{60 \text{ g}} \times 100\%$$

$$\text{Rendamen} = 14,5 \%$$

3. Nilai rendamen fraksi Etil Asetat

$$\text{Rendamen} = \frac{3,7 \text{ g}}{60 \text{ g}} \times 100\%$$

$$\text{Rendamen} = 6,166 \%$$

4. Nilai rendamen fraksi Etanol-Air

$$\text{Rendamen} = \frac{2,4 \text{ g}}{60 \text{ g}} \times 100\%$$

$$\text{Rendamen} = 2,016\%$$

## Lampiran 3 Penapisan Fitokimia Ekstrak Daun Kersen

No	Metabolit Sekunder	Fraksi Etanol-Air	Fraksi n-Heksana	Fraksi Etil Asetat
1	Alkaloid	 positif	 negatif	 Negatif
2	Flavonoid	 Positif	 Negatif	 Positif
3	Saponin	 Positif	 Negatif	 Negatif
4	Tanin	 Positif	 negatif	 Positif

5	Triterpenoid			
		negatif	Positif	Negatif

#### Lampiran 4 Pembuatan Larutan Induk 1000 ppm

##### A. Larutan induk 1000 ppm ekstrak daun kersen

$$\frac{1000 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}} = \frac{x}{50 \text{ ml}}$$

$$x = \frac{1000 \text{ mg} \times 50 \text{ ml}}{1000 \text{ ml}}$$

$$x = 0,05 \text{ g}$$

##### B. 100 ppm

$$M_1 V_1 = M_2 V_2$$

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

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

##### C. 200 ppm

$$M_1 V_1 = M_2 V_2$$

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

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

D. 300 ppm

$$M_1V_1 = M_2V_2$$

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

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

E. 400 ppm

$$M_1V_1 = M_2V_2$$

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

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

F. 500 ppm

$$M_1V_1 = M_2V_2$$

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

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

G. 600 ppm

$$M_1V_1 = M_2V_2$$

$$V_1 = \frac{10 \text{ ml} \times 600 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}}$$

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

H. 700 ppm

$$M_1V_1 = M_2V_2$$

$$V_1 = \frac{10 \text{ ml} \times 700 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}}$$

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

I. 800 ppm

$$M_1V_1 = M_2V_2$$

$$V_1 = \frac{10 \text{ ml} \times 800 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}}$$

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

J. 900 ppm

$$M_1V_1 = M_2V_2$$

$$V_1 = \frac{10 \text{ ml} \times 900 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}}$$

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

Lampiran 5 Uji Toksisitas Daun Kesen

Pengujian	Kontrol	Presentasi Kematian Fraksi Etanol-Air								
		100 ppm	200 ppm	300 ppm	400 ppm	500 ppm	600 ppm	700 ppm	800 ppm	900 ppm
1	0	2	3	4	4	7	8	9	9	10
2	0	2	3	4	5	6	7	8	9	10
3	0	3	3	4	5	6	8	7	10	9
Total kematian	0	7	9	12	14	19	23	24	28	29
% Mortalitas	0%	23%	30%	40%	47%	63%	77%	80%	93%	97%

Pengujian	Kontrol	Presentasi Kematian Fraksi Etil Asetat								
		100 ppm	200 ppm	300 ppm	400 ppm	500 ppm	600 ppm	700 ppm	800 ppm	900 ppm
1	0	2	3	3	4	6	7	8	9	10
2	0	2	3	4	5	5	7	9	9	9
3	0	2	2	3	5	7	8	8	9	9
Total kematian	0	6	8	10	14	18	22	25	27	28
% Mortalitas	0%	20%	27%	33%	47%	60%	73%	83%	90%	93%

Pengujian	Kontrol	Presentasi Kematian Fraksi n-Heksana								
		100 ppm	200 ppm	300 ppm	400 ppm	500 ppm	600 ppm	700 ppm	800 ppm	900 ppm
1	0	1	2	4	5	6	6	7	9	9
2	0	2	3	4	4	6	7	8	8	9
3	0	2	3	4	5	6	7	7	8	9
Total kematian	0	5	8	12	14	18	20	22	25	27
% Mortalitas	0%	17%	27%	40%	47%	60%	67%	73%	83%	90%

Lampiran 6 Analisa Probit dan Perhitungan LC<sub>50</sub>

## Analisa Probit Fraksi Etanol-Air

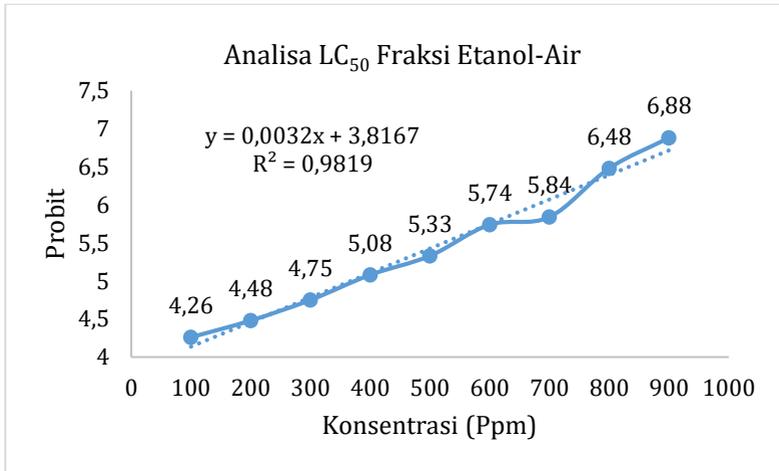
Konsentrasi	ppm (x)	Probit (y)	% Kematian	Mortalitas	Total
0,01	100	4,26	23%	7	30
0,02	200	4,48	30%	9	30
0,03	300	4,75	40%	12	30
0,04	400	4,92	47%	14	30
0,05	500	5,33	63%	19	30
0,06	600	5,74	77%	23	30
0,07	700	5,84	80%	24	30
0,08	800	6,48	93%	28	30
0,09	900	6,88	97%	29	30

## Analisa Probit Fraksi Etil Asetat

Konsentrasi	ppm (x)	Probit (y)	% Kematian	Mortalitas	Total
0,01	100	4,16	20%	6	30
0,02	200	4,39	27%	8	30
0,03	300	4,56	33%	10	30
0,04	400	4,92	47%	14	30
0,05	500	5,25	60%	18	30
0,06	600	5,61	73%	22	30
0,07	700	5,95	83%	25	30
0,08	800	6,28	90%	27	30
0,09	900	6,48	93%	28	30

## Analisa Probit Fraksi n-Heksana

Konsentrasi	ppm (x)	Probit (y)	% Kematian	Mortalitas	Total
0,01	100	4,05	17%	5	30
0,02	200	4,39	27%	8	30
0,03	300	4,75	40%	12	30
0,04	400	4,92	47%	14	30
0,05	500	5,25	60%	18	30
0,06	600	5,44	67%	20	30
0,07	700	5,61	73%	22	30
0,08	800	5,95	83%	25	30
0,09	900	6,28	90%	27	30



Perhitungan LC<sub>50</sub> Fraksi Etanol-Air

$$y = ax + b$$

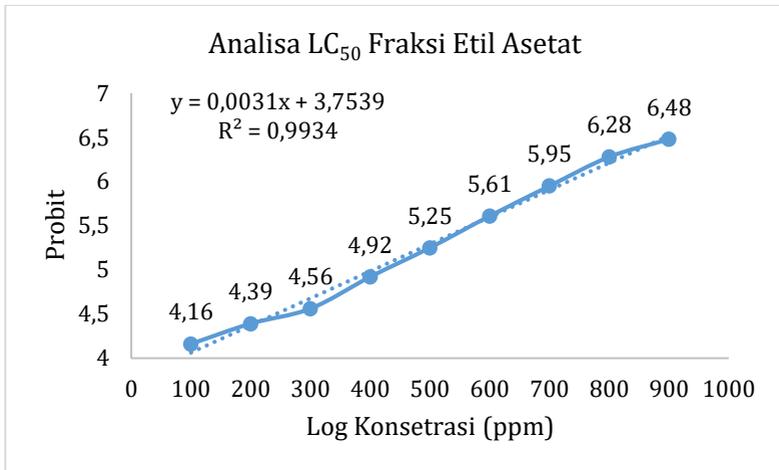
$$y = 0,0032x + 3,8167$$

$$5 = 0,0032x + 3,8167$$

$$x = \frac{(5 - 3,8167)}{0,0032}$$

$$x = 369,78$$

Maka nilai LC<sub>50</sub> Fraksi Etanol-Air adalah 369,78 ppm



Perhitungan LC<sub>50</sub> Fraksi Etil Asetat

$$y = ax + b$$

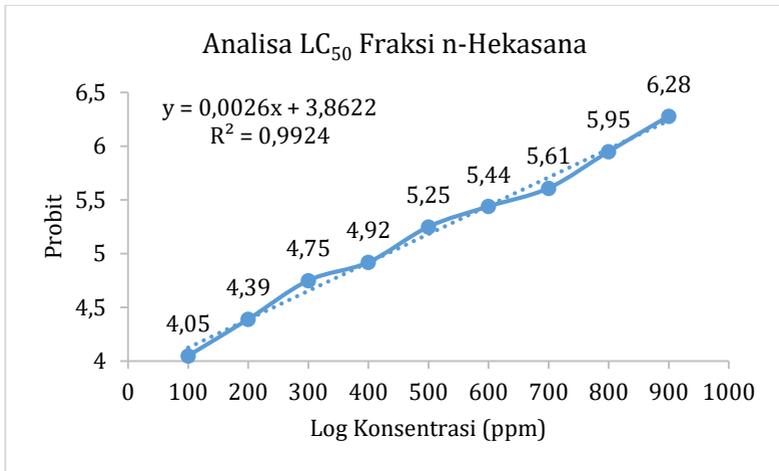
$$y = 0,0031x + 3,7539$$

$$5 = 0,0031x + 3,7539$$

$$x = \frac{(5 - 3,7539)}{0,0031}$$

$$x = 401,9 \text{ ppm}$$

Maka nilai LC<sub>50</sub> Fraksi Etil Asetat adalah 401,9 ppm



Perhitungan LC<sub>50</sub> Fraksi n-Heksana

$$y = ax + b$$

$$y = 0,0026x + 3,8622$$

$$5 = 0,0026x + 3,8622$$

$$x = \frac{(5 - 3,8622)}{0,0026}$$

$$x = 437,6 \text{ ppm}$$

Maka nilai LC<sub>50</sub> Fraksi Etil Asetat adalah 437,6 ppm

## DAFTAR RIWAYAT HIDUP



### A. Identitas Diri

Nama : Elfanny Aulia Rachman  
Tempat, Tgl Lahir : Tegal, 19 Juni 1998  
Alamat Rumah : Desa Pecabean rt 2 rw 3 Kecamatan  
Pangkah Kabupaten Tegal  
Email : Elfanny.a.r09@gmail.com

### B. Riwayat Pendidikan

#### Pendidikan Formal

1. SD : SD Negeri 02 Jatirawa
2. SMP : SMP Negeri 1 Adiwerna
3. SMA : SMA Al-Hikmah 2 Benda

#### Pendidikan Non Formal

1. Pondok Pesantren Al-Hikmah Benda – Sirampog – Brebes
2. Pondok Pesantren Roudlotut Tholibin Tugurejo - Tugu - Semarang