

**TOKSISITAS EKSTRAK POLAR DARI TANAMAN
KITOLOD (*Hippobroma longiflora* (L.) G. Don)
MENGGUNAKAN METODE BSLT (Brine Shrimp
Lethality Test).**

SKRIPSI



Disusun Oleh

Nama : SYARIF HIDAYATULLAH

NIM : 1808036023

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO SEMARANG
2025**

HALAMAN PENGESAHAN

HALAMAN PENGESAHAN

Naskah skripsi berikut ini :

Judul : Toksisitas Ekstrak Polar Dari Tanaman Kitolod (*Hippobroma Longiflora (L) G. Don*) Menggunakan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*).

Nama : Syaariif Hidayatullah

NIM : 1808036023

Jurusan : Kimia

Telah diujikan dalam sidang munaqosah oleh dewan pengaji Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo dan dapat diterima sebagai salah satu syarat memperoleh gelar sarjana sains dalam ilmu kimia.

Semarang, 26 Juni 2025

DEWAN PENGUJI

Ketua Sidang



Ana Mardliyah, M. Si

NIP. 198905252019032019

Sekertaris Sidang



Sri Rahmania, M. Pd

NIP. 199301162019032017

Pengaji I



Mutista Hafshah, M. Si

NIP. 199401022019032015

Pengaji II

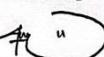


As Nur Lathifah, M.Si

NIP. 199203042019032019



Pembimbing



Ana Mardliyah, M. Si

NIP. 198905252019032019

PERNYATAAN KEASLIAN

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertandatangan dibawah ini :

Nama : Syarif Hidayatullah

NIM : 1808036026

Jurusan : Kimia

Menyatakan bahwa skripsi yang berjudul :

**"TOKSISITAS EKSTRAK POLAR DARI TANAMAN KITOLOD
(*Hippobroma Longiflora (L) G. Don*) MENGGUNAKAN METODE
BSLT (Brine Shrimp Lethality Test)"**

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

Semarang, 26 Juni 2025

Pembuat pernyataan



Syarif Hidayatullah

NOTA DINAS

Semarang, 23 Juni 205

Yth. Ketua Program Studi KIMIA
Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Walisongo Semarang
Assalamualikum. Wr. Wb

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

Judul : TOKSISITAS EKSTRAK POLAR DARI TANAMAN KITOLOD (*Hippobroma longiflora* (L.) G. Don) MENGGUNAKAN METODE BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*).
Nama : SYARIF HIDAYATULLAH
NIM : 1808036023
Jurusan : KIMIA

Saya memandang bahwa naskah proposal skripsi tersebut sudah dapat diajukan kepada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang untuk diujikan dalam Sidang Munaqosah.

Wassalamualikum. Wr. Wb

Pembimbing

A handwritten signature in blue ink, enclosed in a blue oval. The signature consists of stylized letters, with a vertical line to the left and a double vertical line to the right.

Ana Mardliyah, M.Si

NIP. 19890525 201903 2 019

ABSTRAK

Judul : **TOKSISITAS EKSTRAK POLAR DARI TANAMAN KITOLOD (*Hippobroma Longiflora (L.) G. Don*) MENGGUNAKAN METODE BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*).**

Penulis: Syariif Hidayatullah
NIM : 1808036023

Tanaman kitolod (*Hippobroma longiflora (L.) G. Don*) diketahui mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin yang berpotensi sebagai agen antikanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas toksisitas ekstrak polar daun kitolod menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) sebagai uji awal potensi sitotoksik. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol dan metanol. Uji fitokimia menunjukkan adanya kandungan alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin pada kedua jenis ekstrak. Uji toksisitas dilakukan terhadap larva *Artemia salina* pada berbagai konsentrasi (10, 50, 100, 250, dan 500 ppm). Hasil menunjukkan bahwa ekstrak etanol memiliki nilai LC₅₀ sebesar 219.5 ppm, sedangkan ekstrak etanol sebesar 280.2 ppm, yang keduanya berada dalam kategori cukup toksik berdasarkan kriteria Meyer. Temuan ini menunjukkan bahwa ekstrak polar daun kitolod memiliki aktivitas sitotoksik sedang dan berpotensi dikembangkan sebagai agen k-kemoterapi dalam pengobatan kanker berbasis herbal.

Kata kunci: Kitolod, *Hippobroma longiflora*, BSLT, *Artemia salina*, sitotoksik, LC₅₀.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Shalawat dan salam senantiasa tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW yang telah menjadi pelopor peradaban Islam yang Kaffah serta salam untuk keluarga dan para sahabat-sahabat Rasulullah SAW.

Skripsi yang berjudul "TOKSISITAS EKSTRAK POLAR DARI TANAMAN KITOLOD (*Hippobroma longiflora* (L.) G. Don) MENGGUNAKAN METODE BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)."*"* ini dapat diselesaikan dan disusun guna memenuhi salah satu syarat dalam memperoleh gelar sarjana Dalam Ilmu Kimia Terapan (S.Si.) Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang.

Proses penyusunan skripsi ini tidak lepas dari doa, bantuan, bimbingan, motivasi dan peran dari banyak pihak. Sehingga penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Prof. KH. Dr. Nizar, M. Ag selaku Rektor UIN Walisongo Semarang.
2. Prof. Dr. H. Musahadi, M.Ag selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Walisongo.
3. Mulyatun, M. Si selaku Ketua Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Walisongo.

4. Ana Mardiyah, M.Si selaku Dosen Pembimbing yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga dan pemikirannya dalam membantu penulis menyelesaikan skripsi.
5. Bapak/Ibu Dosen Jurusan KIMIA Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang yang telah sabar dan ikhlas memberi ilmu yang disampaikan kepada penulis.
6. Kedua orang tua dan saudara yang telah memberikan do'a secara moral dan material, dukungan, motivasi dan nasihatnya.
7. Semua Pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah memberikan kontribusi hingga selesaiya skripsi ini.

Semoga kebaikan semuanya menjadi amal ibadah yang diterima dan mendapat pahala yang berlimpah dari Allah SWT. Aamiin. Atas segala kekurangan dan kelemahan dalam skripsi ini penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun. Semoga karya tulis yang sederhana ini dapat menjadi bacaan yang bermanfaat dan dapat dikembangkan bagi peneliti-peneliti selanjutnya.

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN	i
PERNYATAAN KEASLIAN	ii
NOTA DINAS	iii
ABSTRAK	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	x
Daftar Lampiran	xi
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	6
C. Tujuan Penelitian	6
D. Manfaat Penelitian	7
BAB II LANDASAN PUSTAKA	9
A. Kajian Pustaka	9
B. Kajian Terdahulu	23
C. Hipotesis	24
BAB III METODE PENELITIAN	26
A. Tempat dan Waktu Penelitian	26
B. Alat dan Bahan	26
C. Teknik Analisis Data	32
BAB IV Hasil Dan Pembahasan	36
A. Preparasi dan Ekstraksi Daun Kitolod	36

B. Uji Fitokimia Ekstrak Daun Kitolod	38
a. Identifikasi Senyawa Alkaloid	39
b. Identifikasi Senyawa Flavonoid.....	41
c. Identifikasi Senyawa Tanin	43
d. Identifikasi Senyawa Saponin	45
C. Uji Toksisitas Daun Kitolod.....	48
BAB V KESIMPULAN	49
A. Kesimpulan	49
B. Saran.....	49
DAFTAR PUSTAKA	49
DAFTAR LAMPIRAN	60
RIWAYAT HIDUP.....	75

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Tanaman Kitolod.....	11
Gambar 2. 3 Kerangka Kimia Alkaloid	14
Gambar 2. 4 Struktur Kimia Flavonoid (Kumar & Pandey, 2013)...	15
Gambar 2. 5 Struktur Kimia Saponin (National Center for Biotechnology Information, 2024).....	16
Gambar 2. 6 Struktur Kimia Tanin. A) Gallotanin; B) Ellagitanin; C) Tanin terkondensasi; D) Trimer Tanin terkondensasi (Adamczyk et al., 2017).....	17
Gambar 4. 1 Identifikasi senyawa alkaloid (a) ekstrak etanol (b) ekstrak metanol.....	40
Gambar 4. 2 Reaksi gugus alkoloid dengan pereaksi Meyer (Soerya, 2005)	41
Gambar 4. 3 Identifikasi senyawa flavonoid (a) ekstrak etanol (b) ekstrak metanol	41
Gambar 4. 4 Reaksi pembentukan garam flavilium (Eko Sri Sulasmri, 2018).....	42
Gambar 4. 5 Identifikasi senyawa tanin saponin (a) ekstrak etanol (b) ekstrak metanol.....	44
Gambar 4. 6 Reaksi senyawa tanin dengan pereaksi $FeCl_3$ (Eko Sri, 2018).....	45
Gambar 4. 7 Identifikasi senyawa saponin (a) ekstrak etanol (b) ekstrak metanol	46
Gambar 4. 8 Reaksi pembentukan busa pada uji saponin (Eko Sri, 2018).....	46
Gambar 4. 9 Analisa LC_{50} ekstrak etanol.....	50
Gambar 4. 10 Analisa LC_{50} ekstrak metanol	52

DAFTAR TABEL

Tabel 3. 1 Tabel Probabilitas (Salsabila, 2021)	34
Tabel 3. 2 Tingkat nilai uji toksisitas LC50. (Salsabila, 2021)	35
Tabel 4. 1 Uji fitokimia ekstrak daun kitolod.....	39
Tabel 4. 2 Hasil Uji Toksisitas ekstrak etanol Daun kitolod.....	49
Tabel 4. 3 Hasil Uji Toksisitas ekstrak metanol Daun kitolod.....	51

Daftar Lampiran

Lampiran 1 Langkah Kerja Penelitian	60
Lampiran 2 Perhitungan Rendamen Ekstrak Daun Kitolod.....	63
Lampiran 3 Penapisan Fitokimia Ekstrak Daun Kitolod	63
Lampiran 4 pengenceran konsentrasi 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	64
Lampiran 5 Uji Toksisitas Daun Kitolod.....	67
Lampiran 6 Analisa Probit dan Perhitungan LC50	69
Lampiran 7 Dokumentasi penelitian	72

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kanker adalah penyakit yang ditunjukkan oleh perkembangan sel tidak terkontrol dan abnormal di dalam tubuh (Puteri, 2020). Sel-sel kanker ini memiliki kemampuan menyerang dan merusak struktur seluler tubuh di sekitarnya. Proses ini bisa terjadi di paru-paru, payudara, dan usus besar, dan masih banyak lagi. Kanker disebabkan oleh beberapa, mulai dari faktor genetik, paparan zat kimia berbahaya, radiasi, hingga gaya hidup yang tidak sehat (Hananta dan Freitag, 2011).

Kanker merupakan salah satu penyebab utama kematian di seluruh dunia dan termasuk dalam kategori penyakit kronis yang paling mengkhawatirkan. Berdasarkan data terbaru, jumlah kasus kanker global terus meningkat dengan estimasi mencapai 19,3 juta kasus baru dan sekitar 10 juta kematian akibat kanker pada tahun 2022. Informasi ini diperoleh dari *International Agency for Research on Cancer* (IARC), yaitu lembaga internasional yang fokus pada penelitian dan pengawasan terhadap perkembangan kanker secara global. IARC berada di bawah naungan *World Health Organization* (WHO) dan berperan penting dalam menyediakan data ilmiah sebagai dasar kebijakan pencegahan dan penanggulangan kanker di berbagai negara (Halida, 2014). Di seluruh dunia, terdapat 19,3 juta kasus kanker, dengan kanker payudara dengan presentase 11,7%, kanker

paru-paru sebesar 11%, kanker perut 5,6%, kanker hati 4,7%, kanker rahim 3,1% dan kanker lainnya 6% (Dewi, 2017).

Kasus kanker di Indonesia mengalami lonjakan yakni pada tahun 2018 1,79% per 1000 penduduk dari yang semula hanya 1,4% pada tahun 2013. Pada provinsi Yogyakarta berada ditingkatkan kasus kanker tertinggi yaitu 4,86% per 1000 penduduk, Sumatera Barat 2,47% per 1000 penduduk, dan Gorontalo 2,44% per 1000 penduduk (Kurniasari dan Mardiana, 2021).

Gejala kanker sangat bervariasi tergantung pada jenis dan tempat kankernya. Pada gejala umum sering dikaitkan dengan kanker meliputi, benjolan yang tidak biasa, penurunan berat badan secara drastis, kelelahan yang berkepanjangan, demam, dan perubahan yang signifikan pada kulit (Chudri, 2020).

Salah satunya kanker serviks atau *karsinoma serviks* merupakan jenis kanker kedua terbanyak pada wanita di seluruh dunia setelah kanker payudara. Penyebab kanker servik yang umum diketahui disebabkan oleh *Human Papiloma Virus* (HPV). Pengobatan kanker (khususnya kanker serviks) secara medis yang biasa dilakukan selama ini adalah dengan terapi pembedahan penyinaran dan terapi kimia menggunakan sitostatik (Rina A., 2016).

Kanker telah memiliki beberapa pengobatan seperti operasi, terapi atau readiasi. Beberapa pengobatan tersebut terkadang memiliki pengaruh atau memberikan efek samping. Pasca operasi biasanya memberikan efek samping berupa halusinasi dan rambut rontok. Terapi memiliki beberapa jenis seperti kemoterapi, terapi

target, imunoterapi dan terapi hormon dengan efek samping rambut rontok, mual, iritasi saluran dalam tubuh, muntah dan lain sebagainya. Pasca radiasi juga memberikan efek samping berupa kerusakan sel normal yang lain(Wijaya, Aprillianie & Cimdi, 2017). Hal ini mejadikan beberapa peneliti memiliki inovasi alternatif pada pengobatan kanker dengan bahan-bahan alami yang aman.

Data yang dipublikasi oleh Riskesdas tahun 2013 menunjukkan bahwa pasien kanker yang ingin menggunakan pengobatan tradisional sebesar 30,4%. sementara penggunaan metode pengobatan tradisional di provinsi Jawa Barat memiliki presentase sebanyak 23,7% (Shabrina dan Iskandarsyah, 2019). Terdapat beberapa peneliti yang melakukan penelitian terhadap pengembangan obat kanker dengan obat alami dari bahan yang mudah didapatkan. Bahan alami yang mudah didapatkan diantaranya adalah tumbuhan yang dapat digali dengan senyawa-senyawa didalamnya. Seperti yang diteliti oleh Haryanti dan Widiyastuti, (2017) terkait uji sitotoksik pada 20 tumbuhan yang dapat digunakan sebagai terapi tradisional kanker. Hasil penelitian tersebut menunjukkan pada 19 tanaman memiliki aktivitas sitotoksik dan satu tumbuhan lain yaitu umbi akar batu tidak memengaruhi profil siklus sel MFC-7 namun meningkatkan populasi sel G1 yang dapat dikembangkan sebagai agen kemopreventif.

Pengujian aktivitas antikanker melalui tanaman yang biasanya belum banyak diketahui kegunaanya oleh masyarakat, seperti tanaman kitolod. Sebagai salah satu tanaman obat tradisional,

Kitolod (*Hippobroma longiflora* (L.) G. Don) berasal dari famili Campanulaceae dan dikenal sebagai tanaman gulma yang memiliki getah. Pada umumnya dikalangan masyarakat Daun kitolod biasanya digunakan untuk menyembuhkan katarak dan rabun mata dengan merebusnya (Winneta & Kristiani, 2021). Tumbuhan kitolod berasal dari Hindia Barat. Di Indonesia tepatnya dataran rendah hingga ketinggian 1100 mdpl (Lestari et al., 2024). Tumbuhan kitolod juga memiliki efek antibakteri yang menyebabkan konjungtivitis, efek antifungsi terhadap *Candida albicans* penyebab kandidiasis, efek antiglaukoma, penyebab akries gigi terjadi pada antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* dan *Enterococcus faecallis*, dan memiliki efek antituberkulosis (Nur'aeni, et al., 2022). Hal ini menjadikan kitolod memiliki kekurangan dalam pengetahuan untuk menyembuhkan berbagai penyakit walaupun masyarakat tahu daun kitolod ini bisa menyembuhkan katarak dan rabun mata saja, akan tetapi dalam kitolod kaya dalam mengandung metabolit sekunder yang menjadikan kitolod ini mempunyai potensi berbagai penyakit salah satunya antikanker.(Hapsari, 2016)

Tanaman kitolod (*Hippobroma longiflora* (L.) G. Don) dengan berbagai kegunaan diduga memiliki kandungan senyawa potensial dari golongan alkaloid yang membuktikan bahwa kitolod memiliki kandungan anti-oksidan yang dapat mencegah kerusakan jaringan dengan menghentikan reaksi berantai radikal bebas. Dugaan dari potensi yang dimiliki daun kitolod pada penelitian Permana et al., (2021).

Daun kitolod memiliki kandungan senyawa alkaloid, saponin, flavonoida, dan polifenol. Berdasarkan hasil uji fitokimia ekstrak etanol daun dan bunga kitolod positif mengandung alkaloid, saponin, flavonoida, dan tanin. Flavonoid merupakan senyawa bahan alam yang diketahui memiliki khasiat sebagai antikanker. Senyawa turunan flavonoid menunjukkan aktivitas antitumor dan juga merupakan kandidat *multidrug resistance-reversing agent* dalam kemoterapi kanker(Hapsari,2016). Sehingga tumbuhan kitolod yang mengandung senyawa ini sangat penting untuk dikembangkan menjadi obat-obatan. Konsentrasi flavonoid pada setiap bagian tanaman berbeda-beda yang salah satunya dipengaruhi oleh faktor lingkungan (Lestari, 2024).

Toksisitas merupakan kemampuan suatu zat atau senyawa kimia untuk menimbulkan efek merugikan atau menyebabkan kematian pada organisme hidup. Dalam penelitian farmasi dan biologi, uji toksisitas sangat penting dilakukan untuk mengetahui batas aman penggunaan suatu bahan, terutama bahan alam seperti ekstrak tanaman. Salah satu metode sederhana dan cepat yang umum digunakan untuk menguji toksisitas adalah *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Metode ini menggunakan larva *Artemia salina Leach* sebagai organisme uji untuk menilai tingkat toksisitas dari suatu ekstrak atau senyawa. Metode ini hasilnya sering berkorelasi dengan aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker. (Jazilah,2014)

Dalam penelitian ini daun kitolod akan dilihat tingkatan toksik dalam uji toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), ini memberikan ketertarikan lebih lanjut oleh peneliti.

Maka dari itu peneliti melakukan penelitian yang berjudul “**TOKSISITAS EKSTRAK POLAR DARI TANAMAN KITOLOD (*Hippobroma longiflora (L.) G. Don*) MENGGUNAKAN METODE BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)**”.

B. Rumusan Masalah

Setelah memperhatikan latar belakang yang telah diuraikan, maka perlu dirumuskan permasalahan yang menjadi fokus utama dalam penelitian ini. Adapun rumusan masalah yang menjadi dasar dalam studi ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana hasil fitokimia dari ekstrak etanol dan metanol dari tumbuhan kitolod (*Hippobroma longiflora (L.) G. Don*)?
2. Bagaimana potensi pada toksisitas ekstrak polar dari tumbuhan kitolod (*Hippobroma longiflora (L.) G. Don*) menggunakan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)?

C. Tujuan Penelitian

Sebagai tindak lanjut dari perumusan masalah, penelitian ini menetapkan tujuan yang ingin dicapai secara jelas. Tujuan tersebut menjadi panduan dalam merancang metode, menganalisis data, serta menarik kesimpulan secara objektif dan terarah. Berikut tujuan penelitian yang hendak dicapai:

1. Mengetahui hasil fitokimia dari ekstrak etanol dan metanol dari tumbuhan kitolod (*Hippobroma longiflora (L.) G. Don*).

2. Mengetahui potensi toksisitas ekstrak polar dari tumbuhan kitolod (*Hippobroma longiflora (L.) G. Don*) menggunakan metode BLST (*Brine Shrimp Lethality Test*).

D. Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah

a. Bagi Peneliti

1. Pengembangan Kompetensi Ilmiah & mendapatkan pengalaman berharga dalam melakukan penelitian ilmiah yang mendalam, khususnya di bidang fitokimia dan farmakologi.
2. Penelitian ini dapat berfungsi sebagai landasan untuk penelitian lebih lanjut yang dapat dikembangkan oleh peneliti di masa depan, baik dalam konteks akademis maupun penerapan praktis.

b. Bagi Universitas

1. Penelitian ini memperkaya khazanah ilmu pengetahuan di bidang kimia, khususnya mengenai kekayaan alam Indonesia dan potensi antikanker dari ekstrak polar tumbuhan kitolod (*Hippobroma longiflora (L.) G. Don*)
2. Dapat dijadikan referensi untuk dalam mengembangkan ilmu pengetahuan di bidang kimia.

c. Bagi Masyarakat

1. Masyarakat memperoleh pengetahuan tentang senyawa dalam tanaman kitolod yang berpotensi digunakan sebagai pengobatan herbal, termasuk dalam penanganan kanker.

2. Penelitian ini memberikan dasar bagi pemanfaatan tanaman kitolod sebagai agen ko-kemoterapi, sehingga masyarakat dapat memanfaatkan pengobatan yang lebih alami dan potensial dalam menangani kanker.

BAB II

LANDASAN PUSTAKA

A. Kajian Pustaka

1. Kanker: Penyebab dan Pengobatan

Kanker adalah suatu kondisi medis yang ditandai oleh perkembangan sel-sel tubuh yang tidak terkontrol dan bersifat merusak jaringan di sekitarnya. Sel-sel abnormal ini dapat berkembang secara cepat, menyebar ke bagian tubuh lain melewati getah bening, dan membentuk jaringan baru yang dikenal sebagai tumor ganas. Penyebab kanker sangat kompleks dan bervariasi, meliputi faktor genetik, lingkungan, gaya hidup, dan paparan terhadap zat-zat kimia berbahaya serta radiasi (Hananta & Freitag, 2011). Meskipun berbagai metode pengobatan seperti operasi, kemoterapi, dan radioterapi telah digunakan secara luas, pengobatan-pengobatan ini sering kali disertai dengan efek samping yang signifikan (Wijaya, Aprillianie & Cimdi, 2017).

2. Potensi Tumbuhan sebagai Agen Antikanker

Penggunaan bahan alami sebagai alternatif pengobatan telah menjadi topik penelitian yang penting. Beberapa tumbuhan telah dikenal memiliki senyawa bioaktif berpotensi menjadi agen antikanker. Penelitian oleh Haryanti dan Widiyastuti (2017) menunjukkan bahwa sejumlah tumbuhan di Indonesia memiliki aktivitas sitotoksik yang dapat dikembangkan sebagai pengobatan kanker. Senyawa bioaktif seperti alkaloid, flavonoid, dan polifenol

telah ditemukan dalam berbagai tumbuhan dan berperan dalam menghambat pertumbuhan sel kanker (Syafirah Rahmadani et al., 2024).

Dua puluh lima persen obat modern di indonesia maupun dunia berasal dan berkembang dari senyawa aktif bahan alami. Sampai saat ini senyawa aktif dari tumbuhan alami terus dikembangkan karena sifatnya yang dapat diperbarui seiring dengan penelitian-penelitian yang ada. Senyawa bioaktif yang berasal dari bahan alami lebih mudah terurai dan dapat dikeluarkan dari tubuh daripada senyawa bioaktif yang berasal dari bahan sintetis akan membahayakan tubuh seseorang. Hal ini mengakibatkan peneliti-peneliti mengembangkan senyawa yang memiliki potensi antikanker sebagai strategi pengembangan kemoterapi yang aman (Najmi, 2022).

3. Tanaman Kitolod (*Hippobroma longiflora (L.) G. Don*)

Kitolod merupakan tumbuhan berbunga yang tumbuh liar di berbagai wilayah tropis, termasuk Indonesia. Tanaman ini mudah ditemukan di tepi selokan, ladang, maupun area lembap lainnya, karena mampu tumbuh tanpa perawatan khusus. Kitolod memiliki ciri khas berupa daun berwarna hijau dengan tepi bergerigi, serta bunga berbentuk bintang berwarna putih yang tumbuh di ujung tangkai. Selain itu, tanaman ini mengandung getah putih yang keluar saat batang atau daun dipatahkan. Meskipun sering dianggap sebagai gulma, Kitolod sebenarnya memiliki nilai penting dalam pengobatan tradisional karena berbagai senyawa aktif yang dikandungnya, seperti flavonoid, saponin, dan alkaloid. Karena potensi manfaatnya,

Kitolod kini semakin banyak diteliti sebagai sumber bahan alami untuk pengobatan alternatif (Permana et al., 2022). Adapun kingdom dari tanaman kitolod menurut hasil uji determinan di UNNES, yaitu sebagai berikut.

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Sub Devisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledoneae
Sub Kelas : Symetabel
Ordo : Asterales
Famili : Camanulaceae
Genus : Isotoma
Spesies : Hippobroma longiflora (L.) G. Don



Gambar 2. 1 Tanaman Kitolod

Di beberapa wilayah berbahasa Inggris, Kitolod disebut sebagai "star of Bethlehem" atau "madam fate," mengacu pada bentuk bunganya yang menyerupai bintang. Di Filipina, tanaman ini dikenal dengan nama "tulisan," sementara di beberapa negara di Amerika Latin sering disebut "hipobroma." Meskipun dikenal dengan beragam

nama, ciri khas morfologis tanaman ini tetap sama, yaitu bunga putih berbentuk bintang dan daun bergerigi. Di Indonesia, sebutan "Kitolod" berasal dari bahasa daerah dan telah digunakan secara turun-temurun, terutama dalam konteks pengobatan tradisional karena khasiat tanaman ini yang dipercaya dapat membantu meredakan gangguan mata dan penyakit lainnya (Ali, 2003). Bagian daun, bunga, batang, dan hampir seluruh tanaman adalah bagian tanaman kitolod yang sering digunakan sebagai obat (Dalimarta, 2008).

Tanaman kitolod mengandung metabolit sekunder seperti alkoloid, flavonoid, tanin, dan saponin (Fazil et al., 2017; Hafsari et al., 2016). Saponin adalah senyawa penghasil busa dan merupakan senyawa polar larut dalam air. Flavonoid adalah senyawa umum sekali terkandung beberapa tumbuhan yang dapat larut dalam air. Alkaloid adalah senyawa organik basa yang mempunyai banyak nitrogen yang berfungsi sebagai penyumbat tumor. Tanin, senyawa aktif yang ditemukan dalam tumbuhan, berfungsi sebagai penyumbat tumor.

4. Senyawa Fitokimia pada Tanaman Kitolod

Senyawa tanaman non-nutrisi dengan kualitas pencegahan atau perlindungan penyakit disebut fitokimia (Rahman, 2019). Komposisi senyawa fitokimia tanaman kitolod diperoleh dari beberapa penelitian. Meskipun demikian, sejumlah penelitian telah menunjukkan bahwa keberadaan zat fitokimia tertentu bergantung pada jenis pelarut, fitur proses ekstraksi, dan iklim lokal tempat

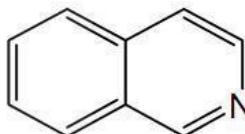
sampel kitolod dikumpulkan (Herdianto et al, 2017). Alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, terpenoid, dan steroid adalah beberapa metabolit sekunder yang ditemukan di kitolod, menurut penelitian yang dilakukan dengan memanfaatkan ekstrak kitolod dalam pelarut metanol 1:1 (Fazil et al, 2017; Hafsari et al, 2016). Kitolod mengandung metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, terpenoid, dan steroid, menurut hasil banyak penelitian. Manfaat farmakologis dari metabolit sekunder ini meliputi sifat antiinflamasi, antijamur, antibakteri, antioksidan, dan antikanker. Selain itu, glaukoma dan hiperlipidemia dapat diobati dengan efek farmakologis (Fazil M. et al, 2017).

5. Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa yang diantaranya memiliki lebih dari satu atom nitrogen sebagai bagian senyawa siklik. Alkaloid mempunyai sifat optis aktif, memiliki banyak bentuk (kristal atau cairan pada suhu kamar) dan tidak berwarna. Senyawa alkaloid membentuk cincin heterosiklik dengan setidaknya satu atom nitrogen yang bersifat basa. Alkaloid merupakan macam-macam senyawa yang banyak dijumpai pada tumbuhan. Tumbuhan tersebut ada di biji, rantang, kulit kayu, dan buah tumbuhan. Kandungan alkaloid dalam tumbuhan didapatkan sampai 10-15%. Alkaloid dapat berupa racun namun dapat juga berguna karena dapat dijadikan sebagai obat beberapa penyakit.

Alkaloid dengan aktivitas antikanker juga menghadang esterase DNA dan RNA *polymerase*. Alkaloid mengandung unsur kimia

yaitu antrakuinon, glikosida dan resin dapat melewati dinding sel jamur/bakteri, sehingga pertumbuhan sel terhambat karena gangguan metabolisme sel jamur dapat menyebabkan kematian.



Gambar 2. 2 Kerangka Kimia Alkaloid

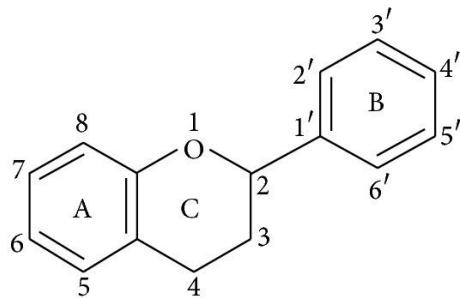
Alkaloid telah dikenal berbagai aktivitas farmakologis, termasuk sebagai agen antikanker. Alkaloid fenantroindolisidin, yang terdapat dalam tanaman kitolod, menunjukkan potensi besar dalam menghentikan pertumbuhan sel kanker dengan memicu kematian sel terprogram atau apoptosis (Syafirah Rahmadani et al., 2024).

6. Flavonoid

Flavonoid merupakan kelompok senyawa alami yang termasuk dalam golongan polifenol dan banyak dijumpai pada beragam jenis tumbuhan, terutama buah, sayur, daun, dan tanaman obat. Senyawa ini memiliki fungsi signifikan sebagai antioksidan yang dapat mencegah efek buruk radikal bebas di dalam tubuh. Selain itu, flavonoid juga dikenal memiliki sifat antiinflamasi, antikanker, serta mampu meningkatkan daya tahan tubuh. Dalam bidang kesehatan, flavonoid sering diteliti karena potensinya dalam mencegah berbagai penyakit degeneratif, seperti kanker, diabetes, dan gangguan kardiovaskular. Mekanisme kerja flavonoid dalam tubuh berkaitan erat dengan kemampuannya menjadi pelindung sel dari kerusakan oksidatif serta mencegah pertumbuhan sel abnormal. Karena

manfaatnya yang luas, flavonoid menjadi salah satu komponen penting dalam pengembangan obat berbasis bahan alami (Hanani, 2014).

Flavonoid membuktikan dapat menghentikan perkembangan beberapa jenis sel kanker yang tidak berbahaya atau bahkan tidak berbahaya bagi sel normal (Mardianingsih & Nur, 2014). Sebelum pewarna sintetik ditemukan, flavonoid banyak digunakan sebagai pewarna karena banyaknya flavonoid dengan warna kuning di alam (Supriyatna dkk., 2014). Selain itu, senyawa yang termasuk dalam kelompok flavonoid memiliki kemampuan untuk menghentikan karsinogenesis baik secara *in vitro* maupun *in vivo*. (Ren dkk., 2003). Oksidasi DNA bisa mengakibatkan mutasi oleh senyawa karsinogen biasanya merupakan awal fase kanker (Kakizoe, 2003).

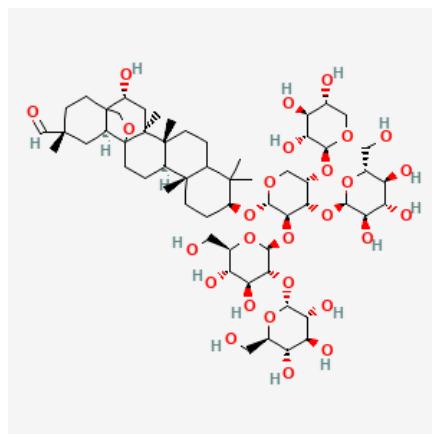


Gambar 2. 3 Struktur Kimia Flavonoid (Kumar & Pandey, 2013).

7. Saponin

Saponin adalah senyawa aktif yang secara alami terdapat dalam berbagai jenis tumbuhan, terutama pada akar, daun, dan biji. Senyawa ini dikenal karena kemampuannya menghasilkan busa

ketika dikocok dengan air, yang menjadi ciri khas utama dari golongan saponin. Dalam bidang kesehatan, saponin memiliki berbagai manfaat, seperti sifat antioksidan, antimikroba, antiinflamasi, dan imunostimulan (Riswan, 2018). Salah satu fungsi penting saponin adalah kemampuannya merendahkan kadar kolesterol dalam darah dengan cara mencegah pembakaran lemak di usus. Selain itu, saponin juga berpotensi dalam mendukung sistem kekebalan tubuh dan mencegah perkembangan sel kanker (Khosideh, 2017).

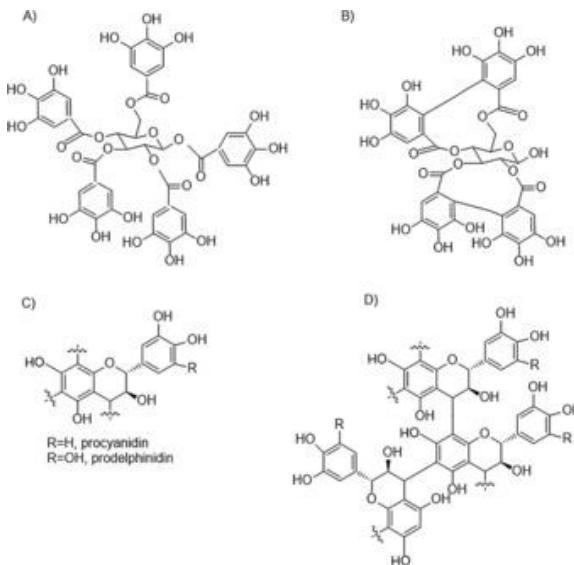


Gambar 2. 4 Struktur Kimia Saponin (National Center for Biotechnology Information, 2024).

8. Tanin

Tanin adalah makromolekul yang terdiri dari kelompok polifenol dengan banyak hidroksil. Tanin membentuk kompleks dengan protein dengan gugus hidroksil dan gugus lain seperti karboksil dan makromolekul lain, sehingga meningkatkan berat molekul (Rachman, 2022). Tanin juga dikenal sebagai agen antikanker karena memblokir fase S.. Proses replikasi kromosom

terjadi selama fase sintesis DNA (Mustafida dkk., 2014; Albert dkk., 2008)



Gambar 2. 5 Struktur Kimia Tanin. A) Gallotanin; B) Ellagitanin; C) Tanin terkondensasi; D) Trimer Tanin terkondensasi (Adamczyk et al., 2017).

9. Ekstraksi Kitolod sebagai Agen Antikanker

Ekstraksi adalah suatu langkah di mana pelarut digunakan untuk membedakan suatu zat dari campuran. Zat yang diinginkan akan dilarutkan oleh pelarut yang digunakan dan memisahkannya dari komponen lain dari campuran tersebut. Prinsip dasar ekstraksi terletak pada tertentu, zat yang memiliki kelarutan lebih tinggi akan lebih perbedaan kelarutan suatu zat dalam pelarut yang berbeda. Dalam pelarut mudah terekstrak ke dalam pelarut tersebut. Proses

ekstraksi ini banyak dimanfaatkan pada beragam industri, seperti farmasi, makanan, dan kimia.

Secara umum, ekstraksi terbagi menjadi dua kategori diantaranya ekstraksi padat-cair dan cair-cair. Ekstraksi padat-cair melibatkan separasi senyawa dari bahan padat menggunakan pelarut cair. Contohnya adalah ekstraksi kafein dari biji kopi. Sementara itu, ekstraksi cair-cair melibatkan pemisahan senyawa dari satu larutan ke larutan lain yang tidak saling campur. Contohnya adalah ekstraksi yodium dari larutan air menggunakan pelarut organik seperti kloroform. Pemilihan metode ekstraksi yang tepat akan bergantung pada sifat fisik dan kimia dari zat yang ingin dipisahkan, serta sifat dari matriks sampel.

Berdasarkan fase zat, Proses ekstraksi dibagi menjadi dua bagian yaitu:

- a. Ekstraksi Padat-Cair
- 1) Maserasi

Proses perendaman bahan padat dalam pelarut selama beberapa waktu dengan pengocokan berkala pada suhu kamar yaitu 20-25°C. Metode maserasi sering digunakan karena alat yang dibutuhkan sederhana dan cara kerjanya mudah.

- 2) Perkolasi

Proses ekstraksi secara terus menerus dengan pelarut segar yang secara perlahan mengalir melalui bahan padat dalam kolom. Caranya adalah Menggabungkan sepuluh bagian simplisia dengan lima bagian larutan segar. Sehabis itu, dapat dimasukkan ke dalam

perkalator dan ditutup selama 24 jam untuk membuatnya menetes secara bertahap.

3) Soxhletasi

Metode ekstraksi menggunakan pelarut selalu baru, umumnya digunakan untuk bahan padat berlemak. Metode ini menggunakan alat yang disebut soxhlet.

4) Refluks

Proses pemanasan campuran pelarut dan bahan padat dengan kondensor untuk mencegah penguapan pelarut

b. Ekstraksi Cair-Cair

1) Ekstraksi Bertingkat

Proses di mana pelarut organik yang tidak saling campur digunakan untuk memisahkan komponen dalam suatu larutan.

2) Ekstraksi Kontinyu

Proses ekstraksi dengan aliran pelarut yang terus-menerus untuk memaksimalkan pemisahan. Berikut adalah faktor yang memengaruhi pemilihan penggunaan ekstraksi diantaranya:

- a. Sifat fisik dan kimia zat yang akan diekstrak seperti kelarutan, polaritas, stabilitas terhadap panas.
- b. Sifat matriks sampel seperti kekerasan, ukuran partikel, kandungan air.
- c. Tujuan ekstraksi contohnya adalah mendapatkan senyawa murni atau ekstrak kasar.
- d. Skala produksi misalnya untuk laboratorium atau industri.

Faktor-faktor yang harus dipertimbangkan saat memilih pelarut diantaranya:

- a. Pelarut yang dipilih harus dapat melarutkan senyawa yang diinginkan, tidak bereaksi dengan senyawa lain, dan mudah dipisahkan dari ekstraksi.
- b. Waktu ekstraksi yang sangat singkat bisa mengakibatkan ekstraksi tidak sempurna, sedangkan waktu yang sangat lama bisa mengakibatkan degradasi senyawa. Suhu ekstraksi: Suhu ekstraksi yang sangat tinggi bisa mengakibatkan penurunan senyawa termolabil.

10. Metode Ekstraksi Maserasi

Teknik maserasi melibatkan perendaman sampel pada suhu ruangan dalam pelarut organik. Teknik ekstraksi dingin yang paling populer adalah ekstraksi maserasi. Pelarut dan jaringan yang akan diekstraksi memiliki cukup waktu untuk bersentuhan untuk maserasi. Metode ini sangat membantu dalam memisahkan bahan-bahan alami karena sampel tanaman akan mengalami disintegrasi dinding dan membran sel. Metabolit sekunder dalam sitoplasma larut dalam pelarut akibat pecahnya dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan di dalam dan luar sel. Untuk proses maserasi yang efektif, pelarut yang tepat harus dipilih dengan mempertimbangkan kelarutan bahan alam dalam pelarut tersebut (Guenther, 2006).

Setelah proses maserasi selesai, proses penguapan dilaksanakan untuk mengeluarkan pelarut dari bahan. Dalam proses penguapan, alat yang umum digunakan adalah evaporator vakum tipe

rotari yang bekerja pada tekanan rendah. Metode ini memanfaatkan suhu dan kecepatan rotasi tinggi untuk mempercepat penguapan pada titik didih larutan. Zat cair organik yang mempunyai titik didih dan tegangan permukaan rendah akan lebih mudah menguap dalam kondisi ini. Selama proses berlangsung, labu kaca yang berisi larutan dipanaskan di atas waterbath pada suhu tertentu sambil terus diputar, sehingga terjadi pencampuran merata dan efisiensi penguapan meningkat. Uap yang terbentuk kemudian dialirkan menuju sistem kondensasi, di mana uap tersebut berubah kembali menjadi cairan dan ditampung dalam labu penampung melalui jalur pendingin (Vogel, 1978).

11. Metode *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*

Metode *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)* merupakan metode pengujian toksitas yang sederhana, cepat, dan murah, serta sering digunakan dalam penapisan awal berfungsi mendeteksi senyawa bioaktif dalam tumbuhan (Meyer et al., 1982). Metode ini melibatkan penggunaan larva *Artemia salina leach* sebagai uji organisme untuk mengukur toksitas ekstrak tumbuhan. Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa hasil uji BSLT dapat berkorelasi dengan potensi sitotoksik terhadap sel kanker, menjadikannya metode yang efektif dalam penelitian awal antikanker.

Artemia Salina Leach atau biasa disebut dengan *Brine Shrimp* merupakan salah satu jenis udang kuno yang pertama kali ditemukan oleh Linnaeus pada tahun 1778. Dia diberi nama *Cancer Salinus* oleh

Linnaeus, tetapi pada tahun 1819, Leach mengubahnya menjadi *Artemia salina Leach*. Teknisi pembenihan sangat menyukai jenis udang ini karena mudah dalam menyesuaikan diri dan bisa dimanfaatkan untuk pakan ikan (Sukandar et al., 2008).

Metode BSLT merupakan salah satu uji bioaktivitas yang sederhana, cepat, dan ekonomis untuk menilai potensi toksisitas awal dari senyawa atau ekstrak bahan alam. Uji ini memanfaatkan larva udang air asin (*Artemia salina*) sebagai organisme uji, karena sensitivitasnya yang tinggi terhadap senyawa toksik. Dalam prosedurnya, telur *Artemia salina* ditetaskan terlebih dahulu dalam media air laut buatan hingga menjadi larva (nauplius). Setelah itu, larva yang telah menetas dimasukkan ke dalam larutan uji dengan berbagai konsentrasi ekstrak, lalu diamati selama 24 jam. Banyaknya larva yang mati pada setiap konsentrasi dihitung untuk menghitung nilai LC₅₀, yaitu konsentrasi yang menyebabkan kematian 50% populasi uji. Semakin kecil nilai LC₅₀, maka semakin tinggi tingkat toksisitas dari sampel tersebut. Metode BSLT banyak digunakan sebagai skrining awal dalam penelitian fitokimia dan pengembangan obat berbasis tanaman (Nurhayati et al., 2006).

Jumlah kematian pada larva udang digunakan untuk menentukan tingkat mortalitas ekstrak yang diuji. Setelah mengetahui nilai mortalitasnya, konsentrasi LC₅₀ ekstrak sampel dihitung. LC₅₀ adalah konsentrasi ekstrak uji yang mampu membunuh 50% larva udang setelah 24 jam uji, digunakan sebagai data untuk analisis probit untuk menghitung nilai LC₅₀. Senyawa

dengan nilai LC50 di bawah 1000 ppm dianggap mempunyai kemampuan bioaktivitas sebagai obat anti kanker (Meyer et al., 1982). Penelitian ini menggunakan proses maserasi untuk memisahkan bagian-bagian dari sampel uji berdasarkan sifat kepolarannya.

B. Kajian Terdahulu

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengeksplorasi potensi antikanker dari berbagai tumbuhan. Sebagai contoh, kajian yang dilakukan oleh Permana et al., (2022) telah menjelaskan mengenai fitokimia dan farmakologi dari tumbuhan kitolod. Dari hasil kajian tersebut, didapat ekstrak tanaman kitolod berpotensi untuk dikembangkan zat antikanker.

Penelitian oleh Oratmangun dkk., (2014) juga telah melakukan uji toksitas ekstrak tanaman patah tulang (*Euphorbia tirucalli L.*) dengan metode BSLT sebagai penelitian awal potensi antikanker. Temuan penelitian ini menyimpulkan yaitu ekstrak metanol tanaman mempunyai LC50 sebesar 332,2489 $\mu\text{g/mL}$., yang menunjukkan bahwa itu bersifat toksik.

Penelitian dari Slamet dkk., (2020) melakukan uji toksitas fraksi n-heksan dan etanol ekstrak daun benalu jeruk (*Dendrophthoe glabrescens*) sebagai skrining awal antikanker dengan metode BSLT. Penelitian tersebut berhasil menunjukkan bahwa nilai LC50 ekstrak etanol sebanyak 31,67 $\mu\text{g/mL}$, fraksi n-heksan sebanyak 6,19 $\mu\text{g/mL}$, dan fraksi etanol sebanyak 9,93 $\mu\text{g/mL}$. Ketiga penelitian tersebut berhasil membuktikan efek toksik dari ekstrak yang digunakan

dengan memanfaatkan metode BSLT dengan nilai LC50 dibawah 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Penelitian dari Ibrahim dkk, (2025) melakukan uji sitotoksitas ekstrak daun kitolod dilaksanakan dengan uji BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) membuktikan efek dari sifat toksik dengan metode *Reed and Muench*. Hasil uji bioaktivitas ekstrak etanol memiliki nilai LC50 sebesar 592,93 ppm, fraksi n-heksana 582,77 ppm, fraksi etil asetat 531,37 ppm, dan fraksi n-butanol 119,48 ppm. Hasil ini menjelaskan bahwa fraksi n-butanol daun kitolod memiliki aktivitas sitotoksik lebih kuat.

Penelitian dari Kadek Ayu, (2021) juga melakukan skrining fitokimia dan uji toksitas ekstrak bunga kitolod (*Hippobroma longiflora*) dibuktikan nilai LC50 dari ekstrak etanol sebesar 57,05 $\mu\text{g}/\text{mL}$, fraksi n-heksana sebesar 251,28 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dan fraksi kloroform sebesar 120,42 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Penelitian-penelitian tersebut menjadi landasan bagi penelitian lebih lanjut untuk mengevaluasi efektivitas spesifik dari ekstrak polar tanaman kitolod dengan metode BSLT.

C. Hipotesis

Ekstrak polar tanaman kitolod diduga memiliki aktivitas antikanker yang signifikan, yang dapat diamati melalui uji toksitas memanfaatkan metode BSLT. Ekstrak ini diperkirakan menunjukkan efek sitotoksik yang nyata terhadap larva *Artemia salina*, yang mencerminkan potensi awal sebagai agen antikanker. Berdasarkan

hasil uji sitotoksitas tersebut, ekstrak polar kitolod berpotensi dikembangkan sebagai agen *ko-kemoterapi* yang mendukung efektivitas pengobatan kanker.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan Maret – Mei 2025 yang mencakup pengumpulan sampel, proses ekstraksi, penetasan Larva *Artemia Salina*, dan uji toksisitas di Laboratorium Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo.

B. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-Alat diantaranya *Hotplate*, Gelas Beaker, Pipet, Aquarium, Aerator, Kaca Lup, Tabung Reaksi, Timbangan Analitik, *Rotary Evaporator*, Kertas Saring, Corong pisah, dan Spatula.

2. Bahan

Daun Tumbuhan Kitolod Pelarut Polar Etanol dan metanol untuk mengekstraksi senyawa-senyawa polar dari tumbuhan Kitolod. Telur *Artemia salina Leach* ditetaskan untuk digunakan pengujian toksisitas. Air Laut Buatan atau Air Garam Natrium Klorida (NaCl) Digunakan untuk membuat air garam bagi udang *Artemia* jika tidak menggunakan air laut. Akuades digunakan untuk berbagai keperluan seperti melarutkan bahan-bahan tertentu

1. Pengambilan dan Persiapan Sampel

Sampel yang digunakan merupakan tumbuhan kitolod (*Hippobroma longiflora (L.) G. Don*) diambil di tempat budidaya tanaman kitolod Kabupaten Banyumas. Sampel kemudian

dibersihkan, dikeringkan, dan dianginkan hingga kering. Setelah kering, sampel dihaluskan menjadi halus dan disaring menggunakan ayakan (Ali I. 2003)

2. Pembuatan Ekstrak Pelarut Polar

Proses pembuatan ekstrak daun kitolod dilaksanakan dengan memanfaatkan pelarut polar, yaitu etanol dan metanol, yang dikenal efektif dalam menarik senyawa-senyawa aktif seperti flavonoid, saponin, dan alkaloid. Sebanyak 250 gram serbuk kering daun kitolod yang sudah dilembutkan dimaserasi dalam pelarut etanol 96% dan metanol 96% secara terpisah, masing-masing dengan perbandingan pelarut 1:10 (b/v), yakni 250 gr serbuk dalam 2500 mL pelarut. Proses maserasi dilakukan selama 7×24 jam dalam wadah tertutup pada suhu ruang, dengan pengadukan sesekali untuk memaksimalkan proses perendaman dan pelarutan senyawa aktif. Setelah itu, campuran disaring untuk memisahkan ampas dari cairan ekstrak. Filtrat yang diperoleh selanjutnya dididihkan memanfaatkan *rotary evaporator* pada suhu rendah ($\pm 40\text{--}50^\circ\text{C}$) untuk menghilangkan sisa pelarut hingga didapatkan ekstrak kental. Ekstrak yang dihasilkan disimpan dalam wadah tertutup rapat dan dijauhkan dari cahaya langsung agar kandungan senyawa bioaktif tetap stabil hingga digunakan dalam tahap pengujian berikutnya (Haryanti, T., & Widiyastuti, N. (2017).

3. Uji Fitokimia (Harborne, 1987)

Uji fitokimia dilakukan dengan melarutkan reagen ekstrak pekat metanol tanaman kitolod dengan sedikit pelarut masing-

masing. Selanjutnya dilaksanakan uji fitokimia, yang mencakup alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan steroid (Sandriani A. Oratmangun, 2014).

4. Uji Alkaloid

Uji alkaloid pada ekstrak metanol daun kitolod dilakukan untuk mendeteksi keberadaan senyawa alkaloid secara kualitatif. Sebanyak 2 mL ekstrak pekat dilarutkan ke dalam tabung reaksi, selanjutnya ditambahkan 1 mL kloroform dan 5 mL larutan amonia 10%. Campuran tersebut dikocok perlahan untuk memastikan terjadinya reaksi antara ekstrak dan reagen, kemudian ditambahkan sekitar 10 tetes larutan asam sulfat 2 M. Penambahan asam ini berfungsi untuk memisahkan larutan menjadi dua fase, yakni fase air dan fase organik, yang memudahkan dalam mengamati indikasi keberadaan alkaloid. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya endapan atau perubahan warna pada salah satu fase, yang menunjukkan reaksi antara asam sulfat dengan senyawa alkaloid. Uji ini penting sebagai langkah awal untuk mengetahui potensi farmakologis ekstrak daun kitolod yang berkaitan dengan aktivitas biologis alkaloid, seperti efek analgesik, antimikroba, atau sitotoksik (Sandriani A. Oratmangun, 2014).

5. Uji Flavonoid

Uji flavonoid dilaksanakan untuk mengetahui adanya senyawa flavonoid dalam ekstrak metanol daun kitolod secara kualitatif. Sebanyak 2 mL ekstrak diletakkan ke dalam tabung reaksi, selanjutnya ditambah serbuk magnesium secukupnya. Setelah itu,

diteteskan sekitar 10 tetes larutan asam klorida (HCl) 5 M ke dalam campuran tersebut. Reaksi antara flavonoid, magnesium, dan asam akan menghasilkan perubahan warna jika senyawa flavonoid benar-benar ada dalam sampel. Indikasi positif uji ini ditandai dengan adanya warna merah muda, merah keunguan, atau jingga pada larutan. Perubahan warna ini menunjukkan terbentuknya kompleks flavilium sebagai hasil dari reaksi reduksi oleh magnesium dalam suasana asam (Sandriani A. Oratmangun, tahun 2014).

6. Uji Tanin

Uji tanin dilaksanakan untuk mendeteksi keadaan senyawa tanin dalam ekstrak metanol daun kitolod secara kualitatif. Prosedur dimulai dengan mengambil sebanyak 2 mL ekstrak dan mencampurkannya dengan 10 mL air panas di dalam tabung reaksi. Campuran selanjutnya diaduk perlahan agar larutan tercampur merata. Setelah itu, ditambahkan beberapa tetes larutan besi (III) klorida ($FeCl_3$) sebagai pereagen penguji. Kehadiran tanin dalam larutan ditandai dengan adanya warna biru kehitaman atau hijau tua, tergantung jenis tanin yang terkandung dalam ekstrak. Reaksi ini terjadi karena terbentuknya kompleks antara ion besi (III) dan gugus fenolik dari senyawa tanin (Sandriani A. Oratmangun ,2014).

7. Uji Saponin

Untuk mengidentifikasi keberadaan senyawa saponin dalam ekstrak daun kitolod, dilakukan pengujian sederhana dengan metode uji busa. Sebanyak 2 mL ekstrak dicampurkan ke dalam 10 mL akuades dalam tabung reaksi, lalu dikocok kuat selama kurang lebih

satu menit guna memastikan pencampuran sempurna. Setelah itu, larutan dibiarkan dalam keadaan diam selama sekitar 10 menit untuk mengamati terbentuknya buih. Adanya busa yang stabil dengan ketinggian sekitar 3 cm dan tidak menghilang dalam waktu tersebut menjadi indikator positif bahwa ekstrak mengandung senyawa saponin. Ciri khas ini menunjukkan kemampuan saponin untuk membentuk larutan koloid yang stabil akibat sifat surfaktan alaminya (Sandriani A. Oratmangun ,2014)

8. Pemilihan telur *Artemia salina Leach*

Untuk mengambil telur udang, telur tersebut direndam dalam waktu satu jam dalam air suling. Telur yang busuk akan mengapung, sedangkan telur yang baik akan tenggelam (Ali I. 2003)

9. Penyiapan Larva *Artemia salina Leach*

Penyiapan larva *Artemia salina Leach* dilaksanakan sebagai tahap awal dalam uji toksisitas metode BSLT. Telur *Artemia salina* ditaburkan ke dalam wadah berisi air laut buatan yang telah disiapkan sebelumnya. Air laut buatan di buat dengan cara melarutkan 35 gram dalam 1 liter Aquades, air laut digunakan sebagai media karena sesuai dengan habitat alami larva ini. Untuk menunjang proses penetasan dan pertumbuhan larva, media juga ditambahkan *Saccharomyces cerevisiae* dalam jumlah secukupnya sebagai sumber nutrisi utama. Larva *Artemia Salina* pada fase awal sangat membutuhkan nutrien lengkap karena sistem pencernaannya belum sempurna, ragi mudah dicerna karena struktur selulernya relatif lunak. Wadah inkubasi diletakkan di tempat yang terang dan didiamkan selama 48 jam agar

telur-telur tersebut menetas sempurna menjadi larva atau nauplius. Selama proses penetasan, aerasi ringan dapat diberikan untuk menjaga sirkulasi dan kadar oksigen dalam media. Setelah 2 hari, larva yang telah menetas dikumpulkan dan dipilih yang aktif bergerak untuk digunakan sebagai organisme uji dalam proses pengujian toksisitas ekstrak daun kitolod (Meyer et al., 1982).

10. Pembuatan Konsentrasi sampel uji

Pembuatan konsentrasi sampel uji pada riset ini merujuk pada metode yang digunakan oleh McLaughlin et al. (1991), yang dimanfaatkan pada uji toksisitas BSLT. Untuk memulai, Pembuatan larutan stok dibuat komponen sebanyak 20 mg ekstrak kental etanol dan metanol daun kitolod ditimbang dengan tepat, selanjutnya dilarutkan dalam 20 mL air laut buatan untuk mendapatkan larutan stok dengan konsentrasi 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Larutan stok ini selanjutnya diencerkan secara bertahap guna mendapatkan variasi konsentrasi uji, yaitu 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$, dan 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Selain itu, satu kelompok uji tanpa penambahan ekstrak (0 $\mu\text{g}/\text{mL}$) disiapkan sebagai kontrol negatif untuk memastikan bahwa kematian larva tidak disebabkan oleh media atau perlakuan lain. Variasi konsentrasi ini digunakan untuk mengetahui respon larva *Artemia salina* terhadap tingkat toksisitas ekstrak, serta sebagai dasar perhitungan nilai LC_{50} yang menggambarkan konsentrasi letal dari ekstrak terhadap organisme uji (Sandriani A. Oratmangun ,2014).

11. Pelaksanaan Uji Toksisitas

Uji toksisitas dilakukan untuk mengetahui sejauh mana ekstrak metanol daun kitolod memberikan efek toksik terhadap larva *Artemia salina*. Pada tahap ini, masing-masing konsentrasi ekstrak yang telah disiapkan sebelumnya ditempatkan ke dalam empat wadah uji, yaitu tiga pengulangan sebagai replikasi perlakuan disetiap wadah dan satu wadah sebagai kontrol negatif. Setiap wadah dimasukkan 10 ekor larva *Artemia salina* yang telah berusia sekitar 48 jam dan dipilih secara acak berdasarkan gerakan aktifnya. Larva-larva tersebut kemudian diamati selama 24 jam untuk melihat jumlah yang hidup dan mati. Jumlah kematian larva pada masing-masing konsentrasi menjadi dasar dalam menentukan tingkat toksisitas ekstrak (Sandriani A. Oratmangun ,2014).

C. Teknik Analisis Data

1. Pengumpulan Data

Data yang didapatkan pada uji toksisitas memanfaatkan metode BSLT adalah jumlah mortalitas larva *Artemia salina* setelah 24 jam paparan pada beragam konsentrasi ekstrak polar Kitolod. Data ini akan diolah untuk mencari nilai LC₅₀ yaitu konsentrasi ekstrak yang mengakibatkan kematian 50% dari total larva yang diuji.

2. Langkah-Langkah Analisis Data

a. Penghitungan Mortalitas

1. Jumlah larva *Artemia* yang mati dihitung pada masing-masing variasi konsentrasi ekstrak (misalnya 10 $\mu\text{g/mL}$,

100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$) dan kontrol negatif.

2. Persentase mortalitas larva pada tiap konsentrasi dihitung memanfaatkan rumus:

$$\% \text{ Mortalitas} = \left(\frac{\text{Total Larva Mati}}{\text{Total Total Larva}} \right) \times 100\% \quad (3.1)$$

Persamaan ini digunakan untuk menghitung persen kematian larva dalam kontrol:

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

Setelah memperoleh persen mortalitas larva *Artemia salina*, tabel probabilitas 3.1 digunakan untuk mendapatkan nilai probabilitas, yang kemudian diregresikan secara linier memanfaatkan persamaan 3.3:

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

Keterangan :

Y = Nilai Peluang

a = Konstanta regresi

b = Kemiringan regresi

x = Logaritma konsentrasi uji

Tabel 3. 1 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

b. Penentuan LC50

Data persentase mortalitas yang telah dihitung dari berbagai konsentrasi ekstrak digunakan untuk menghitung LC50. Nilai LC50 dihitung dengan menggunakan analisis probit atau regresi linear dari hubungan antara logaritma konsentrasi ekstrak dan probit mortalitas (skala probit adalah cara standar untuk mengubah persentase ke dalam bentuk distribusi normal untuk analisis dosis-respons). Untuk analisis regresi linear, hubungan logaritma dengan konsentrasi (X) dan probit dari persentase kematian (Y) biasanya diekspresikan dalam bentuk persamaan regresi linear sederhana:

$$Y=a+bX$$

Di mana:

- Y adalah nilai probit (dihitung dari persentase mortalitas)

- X adalah logaritma dari konsentrasi
- a dan b adalah konstanta regresi yang diperoleh dari analisis data

LC50 dihitung dengan cara menginterpolasi nilai logaritma konsentrasi yang sesuai dengan nilai probit 5 karena probit 5 merepresentasikan 50% mortalitas Tabel 3. 2 tingkat nilai uji toksisitas LC50. (Salsabila, 2021, Meyer et al., 1982)

Tingkat Toksik	Nilai LC50 (ppm)
Sangat Toksik	1-10
Cukup Toksik	10-100
Kurang Toksik	100-1000
Tidak Toksik	>1000

Jika nilai LC50 senyawa kurang dari 1000 ppm setelah pengujian dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT), senyawa tersebut dapat dianggap toksik (Meyer et al., 1982). Ghazian Salsabila (2021) melakukan penelitian tentang ekstrak etanol dari daun jambu air semarang (*Syzygium samarangense*) (Mer et al. Perry).

BAB IV

Hasil Dan Pembahasan

A. Preparasi dan Ekstraksi Daun Kitolod

Proses preparasi dan ekstraksi daun kitolod diawali dengan pengeringan daun secara alami, kemudian digiling hingga menjadi serbuk halus. Proses maserasi dipilih pelarut polar yaitu etanol dan metanol dikarenakan kedua pelarut ini sangat dekat secara karakteristik. Keduanya memiliki sifat fisik yang hampir serupa dalam struktur kimia, menunjukkan reaktivitas kimia yang mirip, dan merupakan alhokol primer (Asrori, 2020). Sebanyak 500 gr serbuk daun kitolod kemudian dibagi menjadi dua bagian yang masing-masing diekstraksi menggunakan pelarut etanol 96% dan metanol 90%. Metode ekstraksi yang dimanfaatkan yaitu maserasi yang dilakukan dengan merendam serbuk dalam pelarut selama beberapa hari pada suhu ruang, sambil sesekali diaduk agar senyawa aktif dapat larut secara optimal. Etanol dipilih sebagai salah satu pelarut karena sifatnya yang bersifat polar, mudah diperoleh, serta memiliki kemampuan ekstraksi yang baik terhadap berbagai jenis senyawa, baik polar, semi-polar, maupun non-polar (Trifani, 2012). Selain itu, etanol bersifat selektif, tidak toksik, dan memiliki daya serap yang tinggi, sehingga mampu mengekstrak senyawa

bioaktif secara lebih efisien. Dengan demikian, penggunaan dua jenis pelarut polar dalam proses ini bertujuan untuk memperoleh ekstrak yang mengandung berbagai komponen fitokimia yang bermanfaat.

Metanol digunakan sebagai pelarut karena sifatnya yang polar, mudah menguap, dan efektif melarutkan berbagai jenis senyawa. Metanol memiliki kemampuan melarutkan senyawa polar dan semi-polar dengan baik. Selain itu, metanol juga sering digunakan karena mudah diperoleh, relatif murah, dan memiliki viskositas rendah, yang mendukung proses ekstraksi atau pemisahan senyawa. Meskipun bersifat toksik, metanol tetap banyak digunakan dalam laboratorium dan industri karena efisiensinya dalam mengekstraksi berbagai senyawa kimia (Trifani, 2012). Setiap 24 jam, pelarut diganti dengan yang baru, proses ini dilakukan tujuh kali. Merendam sampel dalam pelarut organik pada suhu kamar disebut maserasi. Perendaman sampel tanaman sangat bermanfaat untuk pemisahan zat alami karena mendorong pecahnya dinding dan membran sel karena perbedaan tekanan antara bagian dalam dan luar sel. Ini memungkinkan metabolit sekunder yang terkandung dalam sel larut dalam pelarut organik, dan waktu perendaman sampel dapat diubah untuk memastikan ekstraksi senyawa lengkap.

Setelah melalui proses maserasi, larutan ekstrak daun kitolod selanjutnya dievaporasi untuk memperoleh ekstrak

kental dari pelarut etanol dan metanol. Proses evaporasi dilakukan menggunakan *rotary evaporator* yang bekerja pada sistem tekanan rendah dan pemanasan terkendali. Untuk menjaga kestabilan senyawa bioaktif, suhu evaporasi diatur tidak melebihi titik didih pelarut, yaitu 78,4 °C untuk etanol dan 64,7 °C untuk metanol. Pada penelitian ini, suhu alat dijaga pada 50 °C agar pelarut dapat menguap secara optimal tanpa merusak komponen aktif dalam ekstrak. Hasil evaporasi berupa ekstrak kental berwarna hijau kehitaman, dengan berat akhir masing-masing 24,2 gram untuk pelarut etanol dan 21,5 gram untuk pelarut metanol. Prinsip kerja *rotary evaporator* adalah memisahkan pelarut dari senyawa aktif melalui kombinasi pemanasan dan pengurangan tekanan, sehingga pelarut dapat menguap pada suhu di bawah titik didih normalnya.

B. Uji Fitokimia Ekstrak Daun Kitolod

Ekstrak yang dihasilkan dalam maserasi kemudian digunakan untuk uji fitokimia guna mengidentifikasi kandungan senyawa aktif yang terdapat dalam daun kitolod. Uji fitokimia dilakukan dengan melarutkan reagen ekstrak pekat metanol tanaman kitolod dengan sedikit pelarut masing-masing. Selanjutnya dilaksanakan uji fitokimia, yang mencakup alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan steroid (Sandriani A. Oratmangun, 2014).

Tabel 4.1 menunjukkan hasil pemeriksaan metabolit sekunder ekstrak etanol dan metanol daun kitolod.

Tabel 4. 1 Uji fitokimia fraksi daun kitolod

Fitokimia	Etanol	Metanol	Identifikasi	Sumber
Alkaloid	+	+	Endapan putih	Sandriani, 2014
Flavonoid	+	+	Lar. hitam kemerahan	Sandriani, 2014
Tanin	+	+	Lar. hijau kehitaman	Sandriani, 2014
Saponin	+	+	Busa / buih stabil	Sandriani, 2014

Keterangan :(+) “Mengandung senyawa yang teridentifikasi”

(-) “Tidak mengandung senyawa yang teridentifikasi”

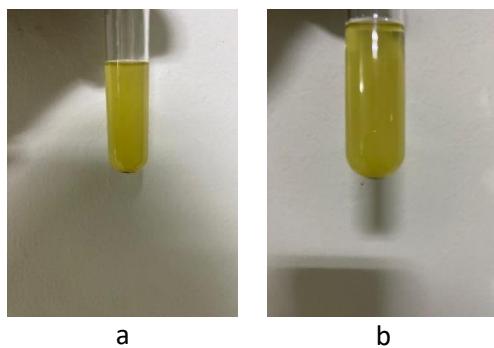
Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa senyawa dalam sampel dalam ekstrak etanol dan metanol menunjukkan alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin yang positif.

a. Identifikasi Senyawa Alkaloid

Daun kitolod mengandung alkaloid terbentuknya endapan putih, seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.1, menunjukkan bahwa ekstrak etanol menunjukkan hasil yang baik, kemudian dalam ekstrak metanol memberikan hasil positif (Sandriani A. Oratmangun, 2014).

Alkaloid merupakan senyawa organik yang bersifat basa. Karena ada atom N (Nitrogen) pada molekulnya senyawa

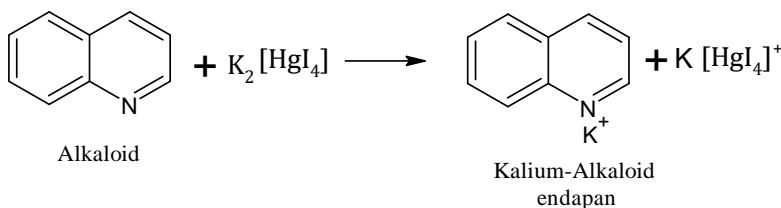
tersebut dalam cincin heterosiklik atau aromatis (Hadrami dkk., 2011).



Gambar 4. 1 Identifikasi senyawa alkaloid (a) ekstrak etanol (b) ekstrak methanol

Uji keberadaan alkaloid dalam tumbuhan dapat dilakukan dengan berbagai metode, seperti uji menggunakan pereaksi Mayer dan Dragendorff. Reaksi pengendapan yang dihasilkan oleh pertukaran ligan adalah dasar dari teknik uji alkaloid ini (Agustina dkk., 2016). Mengandung Hg^{2+} dan KI, reaksi Mayer menunjukkan endapan putih. Hasil analisis yang positif juga menunjukkan hal ini ($\text{R}_3\text{N} \cdot \text{K}_2\text{H}_3\text{I}_4(\text{s})$)

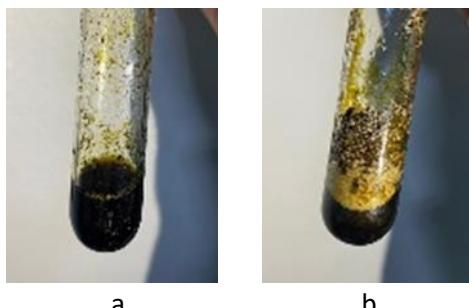
Gambar 4.2 menunjukkan reaksi antara gugus alkaloid dan pereaksi Mayer, berdasarkan penelitian yang dipublikasikan oleh Harborne (1987).



Gambar 4. 2 Reaksi gugus alkoloid dengan pereaksi Meyer (Soerya, 2005)

b. Identifikasi Senyawa Flavonoid

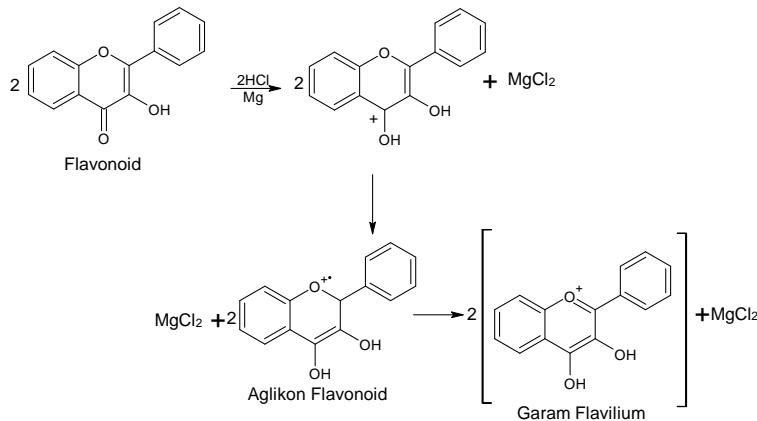
Karena menghasilkan warna hitam pada sampel uji dalam pelarut etanol dan metanol, sampel uji daun kitolod tidak mengandung flavonoid, sebagaimana disajikan pada gambar 4.3 (Sandriani A. Oratmangun ,2014).



Gambar 4. 3 Identifikasi senyawa flavonoid (a) ekstrak etanol (b) ekstrak metanol

Hasil ini selaras pada penelitian yang diteliti (Sandriani A. Oratmangun,2014) yang menyatakan ekstrak etanol dan metanol mengandung flavonoid, ketika berwarna hitam kemerahan.

Perubahan warna yang muncul pada uji flavonoid terhadap ekstrak daun kitolod merupakan hasil dari terbentuknya senyawa kompleks yang dikenal sebagai garam flavilium. Reaksi ini terjadi setelah penambahan serbuk magnesium dan larutan asam klorida pekat ke dalam larutan ekstrak. Magnesium berperan sebagai agen reduktor, sementara asam klorida menciptakan kondisi asam yang diperlukan untuk memicu reaksi. Kombinasi keduanya menyebabkan reduksi pada gugus benzopiron yang ada dalam struktur flavonoid, sehingga menghasilkan perubahan warna yang khas sebagai indikator positif keberadaan senyawa flavonoid dalam ekstrak tanaman kitolod (Tiwari et al., 2011). Reaksi dapat dilihat pada gambar 4.4



Gambar 4. 4 Reaksi pembentukan garam flavilium (Eko Sri Sulasmi, 2018).

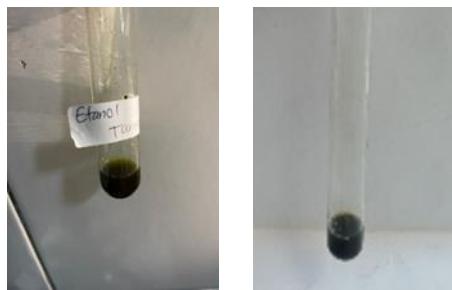
Menggabungkan serbuk Mg dan larutan HCl digunakan untuk menguji flavonoid. Pada saat pereagen ditambahkan ke dalam larutan ekstrak di dalam tabung reaksi, terjadi reaksi kimia yang bersifat eksotermis. Reaksi ini ditandai dengan timbulnya pelepasan energi dalam bentuk panas, yang dapat dirasakan melalui peningkatan suhu di sekitar permukaan tabung. Selain itu, proses ini juga disertai dengan munculnya gelembung-gelembung gas dan kadang disertai suara desis halus, yang menunjukkan adanya pembentukan gas sebagai hasil samping reaksi. Gejala-gejala tersebut mengindikasikan bahwa senyawa dalam larutan bereaksi aktif dengan pereagen yang diberikan, melepaskan energi ke lingkungan sekitarnya. Gas H₂ adalah bahan dasar gelembung dan pelepasan kalor. Hasilnya adalah sebagai berikut:



Senyawa yang dihasilkan pada reaksi tersebut adalah MgCl₂ dan H₂.

c. Identifikasi Senyawa Tanin

Dikarenakan mengubah sampel uji menjadi hijau kehitaman, ekstrak etanol dan metanol positif mengandung tanin (Sandriani A. Oratmangun ,2014) seperti gambar 4.5.

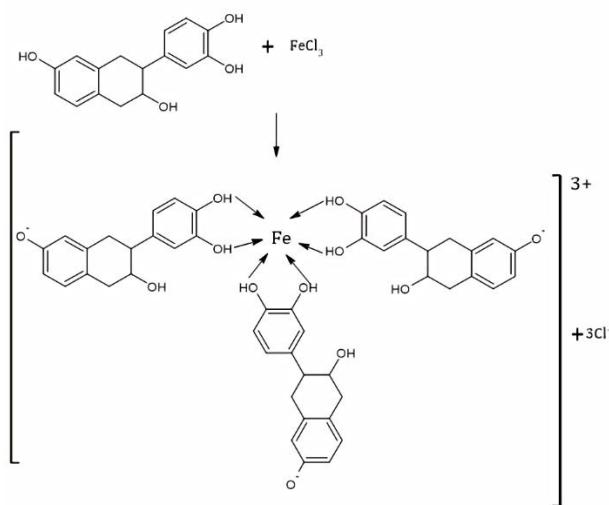


a

b

Gambar 4. 5 Identifikasi senyawa tanin saponin (a) ekstrak etanol (b) ekstrak metanol

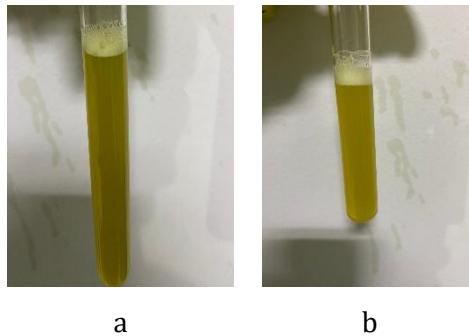
Pengujian senyawa tanin dalam ekstrak daun kitolod dilakukan menggunakan pereagen ferriklorida ($FeCl_3$) 1%, yang berfungsi untuk membentuk kompleks dengan senyawa fenolik. Dalam reaksi ini, ion Fe^{3+} bertindak sebagai pusat koordinasi, sementara gugus fenolik dari tanin berperan sebagai ligan yang akan berikatan dengannya. Interaksi antara keduanya menghasilkan senyawa kompleks yang stabil, yang ditandai dengan perubahan warna larutan. Pada pengujian ini, larutan menunjukkan warna hijau kehitaman, yang merupakan indikator positif adanya kandungan tanin dalam sampel. Mekanisme pembentukan kompleks ini sejalan dengan prinsip dasar kimia koordinasi sebagaimana dijelaskan dalam literatur fitokimia klasik.. Gambar 4.6 menunjukkan reaksi yang terjadi.



Gambar 4. 6 Reaksi senyawa tanin dengan pereaksi FeCl_3 (Eko Sri, 2018).

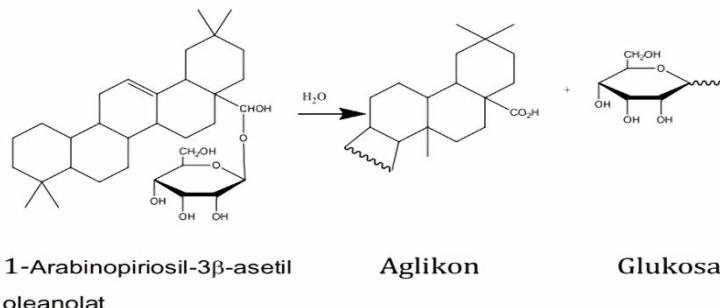
d. Identifikasi Senyawa Saponin

Seperti yang ditunjukkan pada gambar 4.7, busa permanen terdapat pada sampel uji, yang menunjukkan bahwa ekstrak daun kitolod sampel mengandung saponin dalam ekstrak etanol dan methanol.



Gambar 4. 7 Identifikasi senyawa saponin (a) ekstrak etanol (b) ekstrak metanol

Penelitian (Sandriani A. Oratmangun,2014) menghasilkan hasil yang sama, yaitu ekstrak daun kitolod positif mengandung saponin pada ekstrak etanol dan metanol. Adanya glikosida di dalam air, yang bisa menjadikan buih, menunjukkan busa tersebut (Fatihah et al., 2015). Gambar 4.8 menunjukkan reaksi pembentukan saponin.



Gambar 4. 8 Reaksi pembentukan busa pada uji saponin (Eko Sri, 2018).

Saponin, glikosida (gula tumbuhan), memiliki gugus hidroksil pada molekulnya dengan rumus $C_{32}H_{18}O_7$. Steroid dan terpenoid memiliki gugus nonpolar, sedangkan glikosida memiliki gugus polar. Ketika larutan yang mengandung saponin dikocok, senyawa ini akan membentuk struktur misel akibat sifat kimianya yang memiliki dua gugus berbeda, yaitu gugus polar (hidrofilik) dan non-polar (hidrofobik). Gugus hidrofilik memiliki afinitas terhadap air dan cenderung berinteraksi dengannya, sementara gugus hidrofobik akan menjauh dari air dan membentuk inti misel. Interaksi kedua gugus ini menciptakan agregat molekul yang stabil dalam larutan, serupa dengan terbentuknya busa atau gelembung. Struktur misel inilah yang menyebabkan larutan saponin dapat menghasilkan busa yang bertahan lama setelah proses pengocokan dilakukan (Agustina et al., 2016).

Setelah pengocokan secara vertikal, busa yang stabil terbentuk karena saponin, yang merupakan hasil dari uji penapisan fitokimia untuk saponin. Saponin adalah salah satu jenis senyawa metabolit sekunder yang memiliki sifat menyerupai sabun karena strukturnya terdiri dari dua bagian utama, yaitu gugus hidrofilik yang larut dalam air dan gugus hidrofobik yang menolak air. Kombinasi struktur ini membuat saponin mampu bertindak sebagai agen aktif permukaan. Dalam larutan, kemampuan ini memungkinkan saponin menurunkan tegangan permukaan dan membentuk busa

ketika dikocok atau diguncang. Sifat amfipatiknya menjadikan saponin sangat efektif dalam membentuk larutan koloid dan menghasilkan busa yang stabil, sehingga sering dijadikan indikator kehadirannya melalui uji busa (Harborne, 1987).

C. Uji Toksisitas Daun Kitolod

Dalam penelitian ini, kelebihan metode ini ialah tidak membutuhkan spesialisasi tertentu dalam pelaksanaannya dan memiliki hasil dengan tingkat kepercayaan tinggi (95%) untuk mengamati aktivitas toksik dari suatu senyawa di dalam ekstrak tanaman. Aktivitas toksik diketahui dari jumlah kematian larva *Artemia salina* Leach karena pengaruh ekstrak atau senyawa bahan alam pada konsentrasi yang diberikan (Silva et al, 2007). Metode BSLT dimanfaatkan untuk mengevaluasi tingkat toksisitas dari ekstrak etanol dan metanol daun kitolod. Proses pengujian diawali dengan pembuatan larutan stok ekstrak pada konsentrasi 1000 ppm, yang kemudian diencerkan secara bertahap untuk menghasilkan larutan uji dengan variasi konsentrasi 10, 50, 100, 250, dan 500 ppm. Untuk kontrol negatif, digunakan larutan air laut buatan tanpa penambahan ekstrak. Penggunaan kontrol ini bertujuan untuk memastikan bahwa kematian larva *Artemia salina* Leach bukan disebabkan oleh media atau komponen di luar ekstrak, melainkan benar-benar akibat dari paparan senyawa aktif dalam sampel yang diuji.

Langkah ini penting untuk memperoleh hasil uji toksisitas yang valid dan objektif.

Pengujian toksisitas ekstrak daun kitolod dilakukan dengan metode BSLT memanfaatkan larva *Artemia salina Leach* sebagai organisme uji. Dalam tahap ini, larutan ekstrak dengan berbagai konsentrasi serta kontrol negatif dicampurkan ke dalam botol vial berkapasitas 10 mL. Masing-masing vial kemudian diisi dengan sepuluh ekor larva *Artemia salina* yang telah menetas dan aktif, lalu dicampurkan air laut hingga mencapai volume total 10 mL. Tiap konsentrasi diuji dalam tiga replikasi untuk menjaga validitas hasil. Selanjutnya, vial-vial tersebut diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang di bawah pencahayaan lampu sebagai sumber energi tambahan. Setelah inkubasi, jumlah larva yang hidup dan mati diamati. Larva yang tidak menunjukkan gerakan atau respons dianggap telah mati. Data kematian ini digunakan untuk menghitung tingkat toksisitas ekstrak pada masing-masing konsentrasi yang diuji. Tabel 4.2, memaparkan banyaknya kematian larva dalam ekstrak etanol.

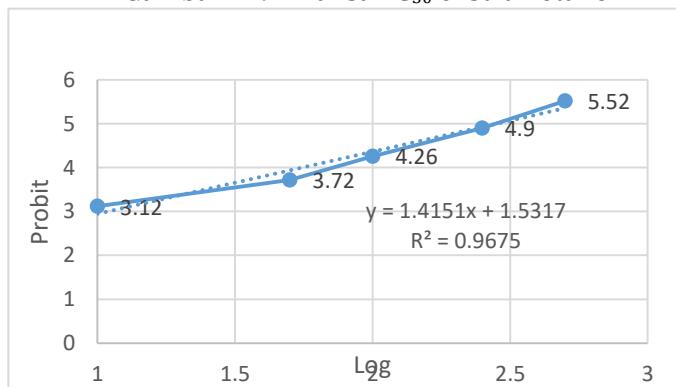
Tabel 4.2 Hasil Uji Toksisitas ekstrak etanol Daun kitolod

Konsentrasi (ppm)	Banyaknya larva yang mati (ekor)	Nilai Probit
10	$0,33 \pm 0,58$	3,12
50	$1,00 \pm 1,00$	3,72
100	$2,33 \pm 0,58$	4,26
250	$4,67 \pm 0,58$	4,90
500	$7,00 \pm 0,00$	5,52

Tingkat kematian tertinggi dicatat pada konsentrasi 500 ppm dan tingkat kematian terendah yaitu 10 ppm untuk masing-masing konsentrasi yang mengandung sepuluh larva udang, seperti yang ditunjukkan dalam tabel 4.3 di atas. Hal tersebut menjelaskan bahwa konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi mengakibatkan tingkat kematian larva yang lebih tinggi.

Hasil analisis probit diperoleh dengan menggunakan Microsoft Excel. Plot konsentrasi dan nilai probit menghasilkan persamaan garis lurus $y = 1.415x + 1.531$; kemudian, nilai Y dimasukkan angka 5 sehingga nilai LC₅₀ ekstrak etanol adalah 219,5 ppm. Dalam penelitian terkait yang dilaksanakan oleh Meyer et al. (1982) ditemukan bahwa tingkat konsentrasi LC₅₀ di bawah 1000 ppm mempunyai kemungkinan bioaktivitas berfungsi sebagai obat anti kanker. Gambar 4.9 menunjukkan regresi linier analisis LC₅₀ ekstrak etanol.

Gambar 4. 9 Analisa LC₅₀ ekstrak etanol



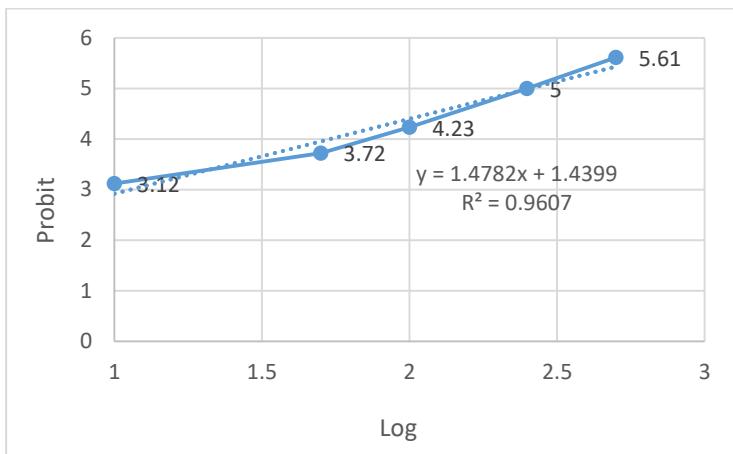
Pengujian ekstrak metanol dari daun kitolod memanfaatkan metode BSLT dengan larva *Artemia salina* Leach telah dilakukan pada berbagai tingkat konsentrasi larutan uji. Melalui proses pengamatan terhadap respons larva setelah terpapar ekstrak selama waktu tertentu, diperoleh data mengenai tingkat kematian larva pada masing-masing konsentrasi. Hasil ini menjadi dasar dalam mengevaluasi potensi toksisitas ekstrak terhadap organisme uji, serta memberikan gambaran awal mengenai aktivitas biologis senyawa yang terkandung dalam daun kitolod. Tabel 4, 3 menunjukkan hasil uji toksisitas ekstrak metanol daun kitolod.

Konsentrasi (ppm)	Banyaknya larva yang mati (ekor)	Nilai Probit
10	0,33 ± 0,58	3,12
50	1,00 ± 1,00	3,72
100	2,33 ± 0,58	4,26
250	5,00 ± 0,00	5,00
500	7,33 ± 0,58	5,61

Tabel 4. 3 Hasil Uji Toksisitas ekstrak metanol Daun kitolod

Ekstrak metanol memberikan tingkat kematian larva tertinggi pada konsentrasi larutan 500 ppm dan tingkat kematian terendah pada 10 ppm. Hasil dari analisis probit dan konsentrasi dikumpulkan melalui persamaan regresi linier dengan nilai $y = 1,478x+1,439$. Dengan demikian, nilai LC50 ekstrak metanol adalah 280,2 ppm dan termasuk dalam

kategori yang tidak berbahaya. Gambar 4.10 menunjukkan nilai regresi linier ekstrak metanol.



Gambar 4. 10 Analisa LC₅₀ ekstrak metanol

Menurut Setyowati & Cahyanto, (2016), Efek toksik yang ditunjukkan oleh ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura*) diduga berasal dari keberadaan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, steroid, dan saponin. Keempat kelompok senyawa ini diketahui memiliki berbagai aktivitas biologis yang signifikan, termasuk sifat sitotoksik terhadap sel. Di antara senyawa-senyawa tersebut, alkaloid diperkirakan memberikan kontribusi paling besar terhadap aktivitas toksiknya. Pada konsentrasi tertentu, alkaloid mampu memicu mekanisme kematian sel terprogram (apoptosis) pada sel kanker, sehingga menunjukkan potensi sebagai agen antikanker. Aktivitas ini menjadikan ekstrak

daun kersen sebagai salah satu kandidat sumber bahan alami yang memiliki nilai terapeutik tinggi dalam pengembangan obat berbasis herbal. Penelitian dari Ibrahim dkk, (2025) melakukan uji sitotoksitas ekstrak daun kitolod menunjukan Hasil uji bioaktivitas ekstrak etanol memiliki nilai LC₅₀ sebesar 592,93 ppm, fraksi n-heksana 582,77 ppm, fraksi etil asetat 531,37 ppm, dan fraksi n-butanol 119,48 ppm.

Hasil dari penelitian ini dalam uji fitokimia dan uji toksitas dengan ekstrak kental etanol dan metanol memiliki polaritas yang mirip tapi tidak identik. Perbedaan ini mempengaruhi jenis dan metabolit sekunder yang berhasil di ekstraksi dari daun kitolod. Kecenderungan menarik analit-analit polar dan nonpolar disebabkan oleh gugus hidroksil dan metil pada metanol. Sedangkan analit polar hanya ditarik oleh etanol (Astarina et al., 2013).

BAB V

KESIMPULAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil analisis dan pembahasan yang telah dilakukan pada penelitian ini, maka dapat ditarik beberapa poin penting yang menjadi kesimpulan utama dari keseluruhan rangkaian kegiatan penelitian:

1. Hasil uji fitokimia yang terkandung dalam ekstrak etanol dan metanol daun kitolod (*Hippobroma longiflora* (L.) G. Don) mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin.
2. Mengetahui potensi toksitas polar dari tumbuhan kitolod (*Hippobroma longiflora* (L.) G. Don) menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan ekstrak metanol daun kitolod termasuk dalam kategori *low toxic* (100 - 1000 ppm). Dikarenakan nilai LC₅₀ ekstrak etanol dan ekstrak metanol daun kitolod (*Hippobroma longiflora* (L.) G. Don) secara berturut-turut adalah 219,5 ppm dan 280,2 ppm.

B. Saran

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

DAFTAR PUSTAKA

- Adamczyk, B., Simon, J., Kitunen, V., Adamczyk, S., & Smolander, A. (2017). Tannins and Their Complex Interaction with Different Organic Nitrogen Compounds and Enzymes: Old Paradigms versus Recent Advances. *ChemistryOpen*, 6(5), 610-612
- Ali I. (2003). *Khasiat dan Manfaat Kitolod Penakluk Gangguan Pada Mata*. Jakarta: Agro Media Pustaka.
- Agustina, S., Wiraningtyas, A., & Bima, K. (2016). Skrining Fitokimia Tanaman Obat Di Kabupaten Bima. *Cakra Kimia*, 4(1), 71–76.
- Albert, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Robert, K., and Walter, P. 2008. *Molecular Biology of the Cell Fifth Edition* Chapter 17 The Cell Cycle. Garland Science: New York.
- Asrori, Roy. 2020. Metanol dan Etanol: Produksi, Karakterisasi, Eksplorasi, dan Pemberdayaan Sumber Daya Alamnya. *Prosiding ResearchGate*, 179-192.
- Chudri, J. (2020). Kanker lambung: kenali penyebab sampai pencegahannya. *Jurnal Biomedika dan Kesehatan*, 3(3), 144-152.
- Dewi, L. (2017). *Statistik Kasus Kanker di Dunia Tahun 2022*. Surabaya: Universitas Airlangga.

- Dalimarta S. (2008). *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia. Jilid 5.'* Jakarta: Pustaka Bunda.
- Dewi, M. (2017). Sebaran Kanker di Indonesia, Riset Kesehatan Dasar 2007. *Indonesian Journal of Cancer*, 11(1), 1-8
- Fazil M, Suci R. N., Allfiah F., Alam D.U., Angelia G., dan Situmeang B. (2017). Analisis senyawa alkoloid dan flavonoid dari ekstrak kitolid (*Isotoma longiflora*) dan uji aktivitas terhadap bakteri penyebab karies. *Jurnal Itekimia*. 2(1), 73-79
- Fatihah Olpah Siara, Arsyik Ibrahim, Hanggara Aridian, R. R. (2015). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Batang Kersen (*Muntingia Calabura L.*). *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 112–119.
- Guenther, E. 2006. *Minyak Atsiri Jilid I. Terjemahan Ketaren S.* Jakarta:Universitas Jakarta
- Hadrami, A. El, Daayf, F., & Hadrami, I. El. (2011). Secondary Metabolites of Date Palm. In Date Palm Biotechnology. *Springer Nature*. 653–674.
- Halida (2014).Upaya WHO (*World Health Organization*) dalam Menanggulangi Kanker di Korea Selatan melalui *Cancer Control Programme*. *Journal FISIK*, 1(2), 1-17.
- Hanani, E. 2014. *Analisis Fitokimia*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.

- Hananta, B. & Freitag, H. (2011). *Faktor Penyebab Kanker: Perspektif Genetik dan Lingkungan*. Bandung: Penerbit Biomedis.
- Hapsari A., Asti D., Hidayati R., Kumalla N. and Suhendi A. (2016). The Potency of Kitolod (Isotoma longiflora (L) Presl.) Herb Extract as a Cure for Cervical Cancer: an in Vitro Study of Hella Cells, (L). *Jurnal Iseth*, 109-114.
- Hapsari, A. (2016). Uji Aktifitas Sitotoksik Ekstrak Etanol, Fraksi Polar, Semipolar, dan Nonpolar Herba Kitolod (Isotoma longiflora (L.) C. Presl.) terhadap Sel MCF-7. (*Doctoral dissertation, Universitas Muhammadiyah Surakarta*). 1-13.
- Harborne, J. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: Penerbit ITB Bandung
- Haryanti, T., & Widiyastuti, N. (2017). *Penelitian Sitotoksik pada Tumbuhan Indonesia sebagai Agen Antikanker*. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Haryanti, S. and Widiyastuti, Y. (2017). Aktivitas Sitotoksik pada Sel MCF-7 dari Tumbuhan Indonesia untuk Pengobatan Tradisional Kanker Payudara. *Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan*, 27(4), 247-254.

- Ibrahim, Arsyik. et al. (2025). Metabolit Sekunder dan Sitotoksitas Ekstrak Daun Kitolod (*Hippo broma longiflora L.*) terhadap Larva Udang (*Artemia salina Leach*). *Jurnal Riset Naturafarm*. 2(1), 33-42
- Jazilah, N. (2014). *Uji toksitas ekstrak daun Binahong (anredera cordifolia (Ten.) steenis) terhadap larva udang artemia salina leach dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)* (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim).
- Kadek, A. 2021. Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Bunga Kitolod (*Hippobroma Longiflora*). *Undiksha Repository*
- Kakizoe, T. 2003. Chemoprevention of Cancer Focusing on Clinical Trial. *National Cancer Center*. 33(9): 421-442.
- Kholqi Qolbi. Z. A. H. R. O. I. N. I. 2022. Uji Laju Mortalitas Kutu Putih Tanaman Kakao (*Planococcus Minor*) Yang Diberikan Ekstrak Batang Kitolod (*Hippobroma Longiflora (L.)G. Don*). Skripsi
- Khosideh. 2017. Uji Aktivitas Antikanker Ekstrak dan Fraksi Biji Koro Benguk (*Mucuna Pruriens (L.) DC*) *Var Pruriens* terhadap *Hela Cell Line* Kanker Serviks. (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim)

- Kumar, S., & Pandey, A. K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The Scientific World Journal*. 2013(1), 162750.
- Kurniasari, S., & Mardiana, E. (2021). *Epidemiologi Kanker di Indonesia: Data dari Riskestas 2018*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Kurniasari and Mardiana (2021). Hubungan Pengetahuan Pemeriksaan Payudara Sendiri (SADARI) dengan Kejadian Kanker Payudara di Kalimantan Timur. *Borneo Student Research*, 2(2), 1052-1059.
- Lestari, Sri. et al. (2024). Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Kitolod (*Hippobroma longiflora L.*) pada Ketinggian Tempat Tumbuh Berbeda. *LenteraBio*, 13(2), 212-218
- Mardianingsih, Ana dan Nurismiyati. (2014). "Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanolik Daun Alpukat (*Persea americana Mill.*) pada Sel Kanker Leher Rahim Hela". *Traditional Medicine*. 19(1), 24-28.
- 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(05), 31-34.
- 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.
- Nur'aeni, Fitri. et al. (2022). Regenerasi Tanaman Kitolod (*Hippobroma longiflora (L.) G. Don*) pada Kultur In Vitro. *Jurnal Sumberdaya HAYATI*, 8(1), pp. 14-19.
- Oratmangun, Sandriani A., Fatimawali., Bodhi, Widdhi., 2014. Uji Toksisitas Ekstrak Tanaman Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli L.*) terhadap *Artemia salina* dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) sebagai Studi Pendahuluan Potensi Antikanker. *Pharmacon*. Vol. 3 No. 3
- Puteri, S. (2020). *Kanker: Definisi dan Penyebab*. Jakarta: Penerbit Medika.
- Permana, Andi. et al. (2022). Artikel Review: Fitokimia dan Farmakologi Tumbuhan Kitolod (*Isotoma longiflora Presi*). *Jurnal Buana Farma*, Vol. 2, No. 3.
- Puteri, F. D. (2020). Efek Kurkumin Pada Kunyit (*Curcuma longa*) Sebagai Pengobatan Kanker Lambung. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, 12(2), pp. 860–864.
- Rina, Apriliata. 2016. Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol 50% Daun Kitolod (*Isotoma longiflora (L.) Presi*) Terhadap Sel Kanker Serviks Secara In-Vitro. *Jurnal Farmasains*.3(1), 8-12.

- Ren, W., Qiao, Z., Wang, H., Zhu, L., Zhang, L., 2003. Flavonoids: Promising Anticancer Agents. *Medicinal Research Review*, 23(4): 519-534.
- Riswan, Andi. 2018. Identifikasi Metabolit Sekunder Ekstrak n-Heksana dari Kalus Daun Alpukat (*Persea americana Mill.*) dan Uji Toksisitas terhadap *Artemia salina Leach*. Universitas Islam Negeri Alauddin Makasar.
- Rachman. 2022. Uji Toksisitas Fraksi n-Heksana, Etil Asetat, dan Etanol-Air Daun Kersen (*Muntingia calabura*) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Repository Universitas Islam Negeri Walisongo*.
- Shabrina, A. and Iskandarsyah, A. (2019). Pengambilan Keputusan mengenai Pengobatan pada Pasien Kanker Payudara yang Menjalani Pengobatan Tradisional. *Jurnal Psikologi*. 46(1), 72-84.
- Silva, T. M., Nascimento, R. J., Batista, M. B., Agra, M. F., dan Camara, C. A. 2007. Bhrine shrimp bioassay of some species of solanum from northeastern brazil. *Revista Brasileirade Farmacognosia*. 17(1) :35-38
- Slamet, Slamet., Laula., Khanifah, Milatun., 2020. Uji Toksisitas Fraksi N-Heksan dan Etanol, Ekstrak Daun *Dendrophthoe glabrescen* (Benalu Jeruk) sebagai Skrining Awal Anti-Kanker dengan Metode *Brine*

Shrimp Lethality Test (BSLT). Prosiding University Research Colloquium, 52-57.

Surbakti, Putri Ayu Andany., De Queljoe, Edwin., Boddhi, Widdhi., 2018. Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Andredere cordifolia (Ten.) Steenis*) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi*. 7(3), 22-31

SYAH, A. A. (2022). Uji Toksisitas Ekstrak Metanol Daun Kitolod (*Hippobroma longiflora (L.) G. Don*) Terhadap Laju Mortalitas Hama Kutu Putih Tanaman Kakao (*Planococcus minor* Maskell., Hemiptera: *Pseudococcidae*). *Skripsi FMIPA UNILA*.

Salsabila, G. (2021). Uji Potensi Tabir Surya Dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Jambu Air Semarang (*Syzygium samarangense (bl.) Merr et. Perry*). *Skripsi*, 6.

Sari, C. R. (2023). Uji Toksisitas Nanoemulsi Minyak Sawit Merah (Red Palm Oil/RPO) Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Dengan Metode *BSLT (Brine Shrimp Lethality Test)* (Doctoral dissertation, Universitas Jambi).

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).*
- Shabrina, A. & Iskandarsyah, Y. 2019. *Penggunaan Pengobatan Tradisional di Jawa Barat untuk Penanganan Kanker*. Bandung: Universitas Padjadjaran
- Supriyatna, dkk. 2014. *Prinsip Obat Herbal*. Yogyakarta: Deepublish.
- Tjitarsoepomo.(2006).*Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta)*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. pp. 19.
- Tiwari, P., Kumar, B., Mandeep, K., Kaur, G., & Kaur, H. (2011). Phytochemical screening and Extraction: A Review. *Internationale Pharmaceutica Sciencia*, 1(1), 98–106.
- Trifani. (2012). *Ekstraksi Pelarut Cair-cair*. Universitas Indonesia
- Vogel. 1978. *Text Book Of Practical Organic Chemistry 4th Edition*. London:Longman Group Limited
- Wijaya, Aprillianie and Cimdi (2017). Pengobatan Kanker Melalui Metode Gen Terapi. *Jurnal Universitas Padjadjaran*, 15(1), pp. 53–68.
- Wijaya, K., Aprillianie, W., & Cimdi, R. (2017). *Efek Samping Pengobatan Kanker: Kemoterapi dan Radioterapi*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Winneta & Kristiani. (2021). Kandungan Senyawa Antioksidan Pada Daun, Bunga, Serta Buah Tumbuhan Kitolod

(*Isotoma Longiflora*). Prosiding Seminar Nasional Sains.
Vol. 2, No. 1

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Langkah Kerja Penelitian

1. Preparasi Daun Kitolod

Preparasi sampel

- Sampel dikeringkan dalam udara terbuka selama 7 hari hingga kering
- Daun dipotong, dan dihaluskan menggunakan blender

Daun Kitolod kering

2. Ekstraksi Maserasi Daun Kitolod

Maserasi etanol Daun Kitolod

- 250 g daun kitolod kering dimasukan kedalam wadah
- Ditambahkan 450 mL Etanol p.a
- Direndam selama 24 jam
- Ulangi proses diatas sebanyak 7 x untuk mendapatkan banyak filtrat (hingga remaserasi berwarna hijau bening)
- Filtrat daun Kitolod diuapkan menggunakan Evaporator

Ekstrak Etanol Daun Kitolod

3. Ekstraksi Maserasi Daun Kitolod

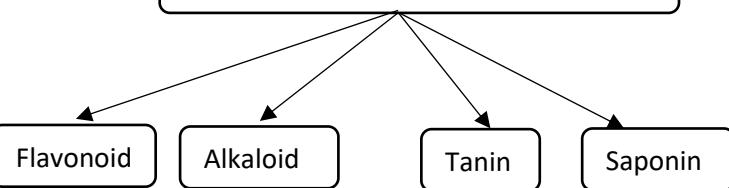
Maserasi Metanol Daun Kitolod

- 250 g daun kitolod kering dimasukan kedalam wadah
- Ditambahkan 450 mL Metanol p.a
- Direndam selama 24 jam
- Ulangi proses diatas sebanyak 7 x untuk mendapatkan banyak filtrat (hingga remaserasi berwarna hijau bening)
- Filtrat daun Kitolod diuapkan menggunakan Evaporator

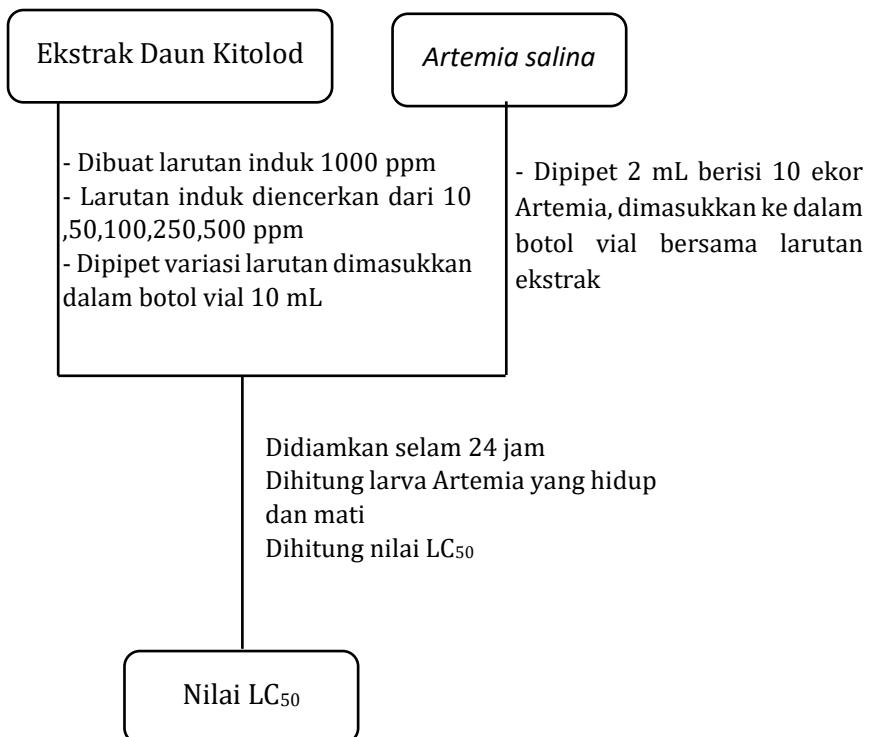
Ekstrak Metanol Daun Kitolod

4. Uji Fitokimia

Maserasi Etanol dan Metanol



5. Uji Toksisitas Daun Kitolod



Lampiran 2 Perhitungan Rendamen Ekstrak Daun Kitolod

1. Nilai rendamen ekstrak maserasi etanol daun kitolod

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

$$\text{Rendamen} = \frac{24,21 \text{ g}}{250 \text{ g}} \times 100\%$$

$$\text{Rendamen} = 9,68 \%$$

2. Nilai rendamen ekstrak maserasi metanol daun kitolod

$$\text{Rendamen} = \frac{21,56 \text{ g}}{250 \text{ g}} \times 100\%$$

$$\text{Rendamen} = 8,62 \%$$

Lampiran 3 Penapisan Fitokimia Ekstrak Daun Kitolod

No	Fitokimia	Merasasi Etanol	Merasasi Metanol
1	Alkaloid		

positif

positif

2 Flavonoid



Negatif



Negatif

3 Tanin



Positif



Positif

4 Saponin



Negatif



Positif

Lampiran 4 pengenceran konsentrasi $500 \mu\text{g}/\text{ml}$, $250 \mu\text{g}/\text{ml}$, $100 \mu\text{g}/\text{ml}$, $50 \mu\text{g}/\text{ml}$, $10 \mu\text{g}/\text{ml}$

1. Konsentrasi $500 \mu\text{g}/\text{ml}$

Diketahui

Larutan stok : $1000 \mu\text{g}/\text{ml}$ -> M1

Larutan dengan konsentrasi : 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ -> M₂

Volume : 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$

Rumus pengenceran : V₁.M₂ = V₂.M₂

V₁. 1000 = 10 . 500

$$V_1 = \left(\frac{10 \cdot 500}{1000} \right) = 5 \text{ mL}$$

2. Konsentrasi 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$

Diketahui

Larutan stok : 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ -> M₁

Larutan dengan konsentrasi : 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$ -> M₂

Volume : 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$

Rumus pengenceran : V₁.M₂ = V₂.M₂

V₁. 1000 = 10 . 250

$$V_1 = \left(\frac{10 \cdot 250}{1000} \right) = 2,5 \text{ mL}$$

3. Konsentrasi 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$

Diketahui

Larutan stok : 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ -> M₁

Larutan dengan konsentrasi : 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ -> M₂

Volume : 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$

Rumus pengenceran : V₁.M₂ = V₂.M₂

$$V_1 \cdot 1000 = 10 \cdot 100$$

$$V_1 = \left(\frac{10 \cdot 100}{1000} \right) = 1 \text{ mL}$$

4. Konsentrasi 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$

Diketahui

Larutan stok : 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ -> M₁

Larutan dengan konsentrasi : 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ -> M₂

Volume : 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$

Rumus pengenceran : V₁.M₂ = V₂.M₂

$$V_1 \cdot 1000 = 10 \cdot 50$$

$$V_1 = \left(\frac{10 \cdot 50}{1000} \right) = 0,5 \text{ mL}$$

5. Konsentrasi 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$

Diketahui

Larutan stok : 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ -> M₁

Larutan dengan konsentrasi : 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ -> M₂

Volume : 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$

Rumus pengenceran : V₁.M₂ = V₂.M₂

$$V_1 \cdot 1000 = 10 \cdot 10$$

$$V_1 = \left(\frac{10 \cdot 10}{1000} \right) = 0,1 \text{ mL}$$

Lampiran 5 Uji Toksisitas Daun Kitolod

Pengujian	Kontrol	Presentasi Kematian Maserasi Etanol				
		10 ppm	50 ppm	100 ppm	250 ppm	500 ppm
1	0	0	0	2	4	7
2	0	0	1	2	5	7
3	0	1	2	3	5	7
Total kematian	0	1	3	7	14	21
% Mortalitas	0%	3%	10%	23%	47%	70%

		Presentasi Kematian Maserasi Metanol					
Pengujian	Kontrol	10	50	100	250	500	
		ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	
1	0	0	0	2	5	7	
2	0	0	1	2	5	7	
3	0	1	2	3	5	8	
Total kematian	0	1	3	7	15	22	
% Mortalitas	0%	3%	10%	23%	50%	73%	

Lampiran 6 Analisa Probit dan Perhitungan LC50

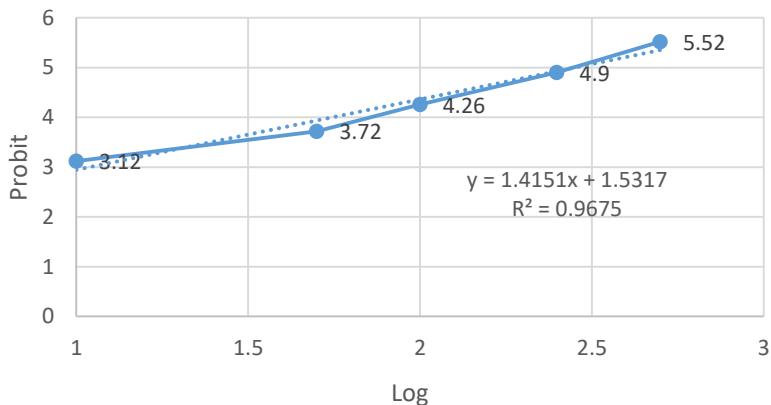
Analisa Probit Maserasi Etanol

Konsentrasi	ppm (x)	Probit (y)	% Kematian	Mortalitas	Total
0,001	10	3,12	3%	1	30
0,005	50	3,72	10%	3	30
0,01	100	4,26	23%	7	30
0,025	250	4,90	47%	14	30
0,05	500	5,52	70%	21	30

Analisa Probit Maserasi Metanol

Konsentrasi	ppm (x)	Probit (y)	% Kematian	Mortalitas	Total
0,001	10	3,12	3%	1	30
0,005	50	3,72	10%	3	30
0,01	100	4,26	23%	7	30
0,025	250	5,00	50%	15	30
0,05	500	5,61	73%	22	30

Analisa LC₅₀ Maserasi Etanol



Perhitungan LC₅₀ Maserasi Etanol

$$y = ax + b$$

$$y = 1,415x + 1,531$$

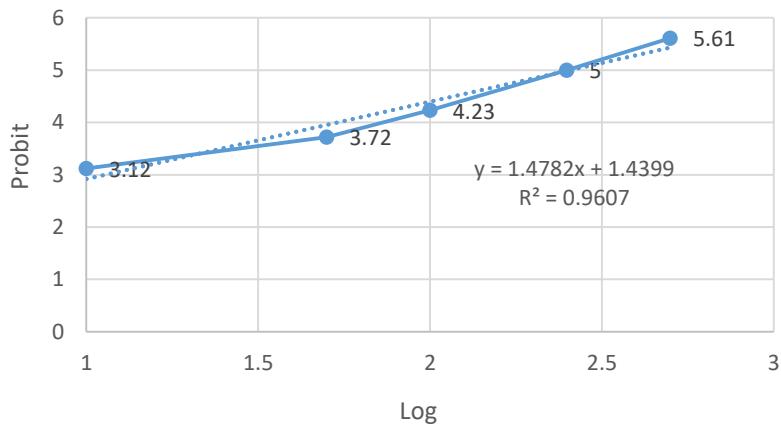
$$5 = 1,415x + 1,531$$

$$x = \frac{(5 - 1,531)}{1,415}$$

$$x = 219,58$$

Maka nilai LC₅₀ Maserasi Etanol adalah 219,58ppm

Analisa LC₅₀ Maserasi Metanol



Perhitungan LC₅₀ Maserasi Metanol

$$y = ax + b$$

$$y = 1,478x + 1,439$$

$$5 = 1,478x + 1,439$$

$$x = \frac{(5 - 1,439)}{1,478}$$

$$x = 280,24 \text{ ppm}$$

Maka nilai LC₅₀ Maserasi Metanol adalah 280,24 ppm

Lampiran 7 Dokumentasi penelitian



Ekstraksi Maserasi



Uji Fitokimia



Uji BSLT



SERTIFIKAT HASIL PENGUJIAN
Nomor: 224 /UN.37/SHP/Lab. Taksonomi Tumbuhan/V/2025

Nama Pelanggan : Syaifi Hidayatullah – NIM: 1808036023
Puji Lestari – NIM: 1908036023
Alamat Pelanggan : Prodi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo
Semarang.
E-mail : fst@walisongo.ac.id
No. Surat Pelanggan : B.9773/Un.10.8/K/SP.01.08/12/2024
Personil Penghubung : Muh. Kharis, SH, M.H.
(Kabag TU Kakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo)
Identifikasi sampel : Kitolod
Tanggal diterima sampel : 29 April 2025
Tanggal pengujian sampel : 30 April 2025
Pengambilan hasil uji : 05 Mei 2025
Informasi Hasil Pengujian : Hasil identifikasi adalah sebagai berikut.

Divisio	: Magnoliophyta
Classis	: Magnoliopsida
Super Ordo	: Asteraeae
Ordo	: Asterales
Familia	: Campanulaceae
Genus	: Hippobroma
Species	: <i>Hippobroma longiflora</i> (L.) G.Don.
Synonym	: <i>Isotoma longiflora</i> (L.) C. Presl
Vern. name	: Kitolod, sangkobak/ madamfat

Catatan: 1. Hasil yang ditampilkan hanya berhubungan dengan contoh yang diuji
2. Laporan hasil pengujian tidak boleh digandakan kecuali atas persetujuan tertulis dari laboratorium

Kepala Laboratorium Terpadu FMIPA



Dr. Sigit Priatmoko, M.Si.
NIP: 196504291991031001

Semarang, 05 Mei 2025
Koordinator Laboratorium Biologi

Dr. Andin Irsadi, S.Pd., M.Si.
NIP: 197403102000031001

RIWAYAT HIDUP



a. Identitas Diri

- A. Nama Lengkap : Syariif Hidayatullah
- B. Tempat, Tanggal Lahir : Jakarta, 14 Juni 2000
- C. Alamat : Griya Kota Bekasi 1 Blok C1 No.9 RT 011 / RW 04, Kel. Teluk Pucung, Kec. Bekasi Utara, Kota Bekasi 17121
- D. No. HP : 085802785176
- E. E-mail : syariifhi06@gmail.com

b. Riwayat Pendidikan Pendidikan Formal:

- A. SDN Teluk Pucung XI 2006-2012
- B. MTsN Kota Bekasi 2013-2015
- C. MAN 1 Kota Bekasi 2016-2018