



## THE CYTOTOXIC ACTIVITY OF ETHYLACETATE FRACTION OF KERSEN (*Muntingia Calabura*) LEAVES AGAINST LARVAE SHRIMP *ARTEMIA SALINA* LEACH

Sadli, Nurul Wahyu Utami dan Irma Sari\*

Jurusan Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Syiah Kuala  
Darussalam – Banda Aceh, 23111

\*E-mail: imazolin@gmail.com

**Abstract.** The cytotoxic activity experiment of ethylacetate fraction of kersen (*Muntingia calabura*) leaves has been carried out using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method with five concentration variables; they are 10 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 500 ppm, and 1000 ppm. The research aims to determine the secondary metabolite; the extract characterization and determine cytotoxic activity of the ethyl acetate fraction of kersen (*Muntingia calabura* L.) leaves. Extraction was done with maceration method using ethyl acetate solvent to the kersen dried leaves dregs of n-hexane extract and the value of  $LC_{50}$  was determined by using probit analysis. The results of phytochemical screening showed that ethyl acetate fraction of kersen (*Muntingia calabura*) leaves contained three secondary metabolites, namely tannin, saponin and flavonoid with extract characterization results are the water content of  $3.85\% \pm 0.35\%$ , the water soluble extractive of  $17.65\% \pm 0.27\%$ , ethanol soluble extractive of  $62.24\% \pm 0.07\%$ , the total ash value of  $0.89\% \pm 0.005\%$ , and acid insoluble ash value of  $0.69\% \pm 0.004\%$ . The  $LC_{50}$  value of ethyl acetate fraction of kersen (*Muntingia calabura*) 84.92 ppm showed that the extract has cytotoxic activity as medium toxic.

**Keywords:** Ethyl Acetate fraction, Kersen, BSLT,  $LC_{50}$

### I PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara tropis yang terkenal dengan keanekaragaman hayati yang tersebar di seluruh wilayah Indonesia. Hal tersebut tentunya menjadi potensi besar untuk pengembangan industri agromedisin di dunia dan merupakan aset nasional bernilai tinggi. WHO merekomendasikan penggunaan obat herbal untuk pemeliharaan kesehatan masyarakat, serta untuk pencegahan dan pengobatan berbagai penyakit, terutama untuk penyakit kronis, penyakit degeneratif dan kanker. Menurut National Cancer Institute kanker adalah suatu istilah untuk penyakit di mana sel-sel membelah secara abnormal tanpa kontrol dan dapat menyerang jaringan di sekitarnya [1]. Berdasarkan data dari WHO diperkirakan 14,1 juta kasus kanker terjadi pada tahun 2012, dimana 40% diantaranya adalah kanker paru-paru, kanker payudara, kanker usus, dan kanker perut [2]. Kanker merupakan penyebab utama kematian di

seluruh dunia, dengan 8,2 juta kematian pada tahun 2012. Pengobatan kanker dapat dilakukan dengan pembedahan, kemoterapi, ataupun radiasi. Namun pengobatan dengan cara tersebut dapat menimbulkan beberapa efek yang tidak diinginkan. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian tentang pengobatan kanker yang efektif dan aman. Salah satunya dengan pengembangan agen kemopreventif dari bahan alam yang dapat menghambat pertumbuhan sel kanker. Kersen (*Muntingia calabura* L.) merupakan salah satu dari sekian banyak tumbuhan yang berkhasiat sebagai obat. *Muntingia calabura* L. atau disebut juga dengan Jamaican ceri tersebar diseluruh Asia Tenggara termasuk Indonesia, serta merupakan satu-satunya spesies dari genus *Muntingia* dan dapat tumbuh di sepanjang musim. Di Indonesia daun kersen digunakan untuk beberapa indikasi, misalnya untuk mengobati asam urat, antipiretik, antidiabetes, antioksidan, dan beberapa penyakit lainnya. Daun kersen diketahui mengandung senyawa metabolit

sekunder alkaloid (dari ekstrak air daun kersen) [3] flavonoid, triterpenoid, tanin, saponin, dan steroid, serta memiliki aktivitas sitotoksik terhadap kultur sel P-388 (dari ekstrak dietil eter akar kersen) [4, 5, 6].

## II METODOLOGI

Alat yang digunakan adalah bejana maserasi, *blender* (National®), timbangan analitik, mikroskop, kaca preparat, kaca penutup, alat vakum, aluminium foil, *rotary evaporator*, *hot plate*, pipet mikro, corong, cawan porselen, kertas saring, spatula, wadah pembiakan larva, tabung reaksi, labu ukur, oven, tanur, krus silika, batang pengaduk, gelas kimia, gelas ukur, pipet tetes, erlenmeyer, rak tabung, dan vial yang telah dikalibrasi. Bahan yang digunakan adalah daun kersen, pelarut etil asetat, larutan asam sulfat pekat, asam asetat, kertas saring, etanol 95%, kloralhidrat LP, Meyer LP, Dragendorff LP, bouchardat LP, liberman LP, kloroform, ammonia, asam klorida pekat, asam klorida 2N, Besi(III) klorida 1%, n-heksana, serbuk Magnesium, asam asetat anhidrida, aquades, tween 80, ragi 1%, natrium klorida. Penelitian dilakukan pada bulan November 2014 sampai dengan Juni 2015. Penelitian dilakukan di Laboratorium Hayati dan Laboratorium Penelitian Farmasi di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Syiah Kuala.

Pengujian makroskopik dengan menaburkan serbuk simplisia di atas kaca objek yang telah ditetesi pelarut kloralhidrat LP, ditutup dengan kaca penutup, diamati di bawah mikroskop [7]. Pengujian mikroskopik serbuk simplisia diamati organoleptiknya. Penetapan organoleptik simplisia meliputi bentuk, warna, rasa, dan bau [8]. Ekstraksi sampel dilakukan secara maserasi menggunakan etil asetat sebagai larutan penyari. 375 g residu ekstrak n-heksana daun kersen direndam dalam 2,8 L etil asetat selama 5 hari, terlindung dari cahaya, sambil diaduk berulang-ulang. Setelah 5 hari diserkai, ampas diperas. Pada ampas ditambah etil asetat 1 L, diaduk dan diserkai sehingga diperoleh seluruh sari sebanyak 100 bagian. Wadah ditutup dan dibiarkan ditempat sejuk, terlindung dari cahaya, selama 2 hari, kemudian ampas diperas kembali. Pengujian Alkaloid dilakukan dengan cara: sebanyak 0,5 g ekstrak ditimbang, ditambahkan 1 mL HCl 2 N dan 9 ml air, dipanaskan diatas penangas air selama 2 menit, didinginkan dan disaring. Filtrat dipindahkan kedalam 3 tabung reaksi masing-masing 3 tetes, kemudian ditambahkan kedalam masing-masing tabung reaksi 2 tetes larutan pereaksi (LP) Meyer,

Bouchardat dan Dragendorff. Jika terdapat alkaloid maka dengan Meyer LP terbentuk endapan menggumpal putih atau kuning, dengan Bouchardat LP terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam, dengan Dragendorff LP terbentuk endapan kuning jingga. Serbuk dikatakan mengandung alkaloid apabila 2 dari 3 reaksi diatas memberikan reaksi positif. Pengujian Tanin dilakukan dengan cara: sebanyak 0,5 g ekstrak ditimbang, selanjutnya dimaserasi dengan aquades 10 mL selama 15 menit, disaring, filtrat diencerkan dengan aquades sampai hampir tidak berwarna. Diambil 2 mL filtrat, ditambahkan 2 tetes larutan FeCl<sub>3</sub> 10%, diperhatikan warna yang terjadi, warna biru atau hijau menunjukkan adanya tanin. Pengujian Flavonoid dilakukan melalui prosedur sebagai berikut: sebanyak 0,5 g ekstrak ditimbang, di ekstraksi dengan n-heksana, disaring, residu yang terbentuk diekstraksi dengan 10 mL metanol. Selanjutnya ditambahkan 0,5 mg serbuk Mg dan HCl 0,5 M, adanya warna jingga/merah/kuning menunjukkan adanya flavonoid. Untuk uji Saponin dilakukan dengan cara: ditimbang 0,5g ekstrak, dimasukkan kedalam tabung reaksi. Ditambahkan 10 mL air panas, didinginkan dan dikocok kuat-kuat selama 10 detik, terbentuk buih yang mantap tidak lebih 10 menit, setinggi 1 cm sampai 10 cm. Pada penambahan 1 tetes HCl 2 N, buih tidak hilang. Untuk pengujian Steroid/Triterpenoid dilakukan dengan cara: ditimbang 1 g ekstrak, ditambahkan n-heksana lalu didiamkan selama 2 jam, disaring, diuapkan filtrat dalam cawan penguap, ditambahkan asam asetat anhidrida pada sisa filtrat, kemudian tetesi dengan asam sulfat pekat (Pereaksi Liebermann-Burchart). Timbulnya warna ungu dan merah kemudian berubah menjadi hijau biru menunjukkan adanya triterpen/steroida

### Karakterisasi ekstrak

#### a) Penetapan kadar air

Ditimbang 2-5 g ekstrak dalam cawan porselen yang telah diketahui beratnya. Dikeringkan cawan porselen dan ekstrak dalam oven pada suhu 105°C selama 3 jam. Cawan dan ekstrak didinginkan di dalam desikator lalu ditimbang dan dihitung kadar air. Kadar air dihitung berdasarkan persamaan (1) [11].

$$\text{Kadar air} = \frac{\text{Berat sampel} - \text{Berat sampel kering}}{\text{Berat sampel}} \times 100\% \quad (1)$$

#### b) Penetapan kadar sari larut dalam Etanol

Ditimbang 5 g ekstrak, dilakukan maserasi dengan 100 mL etanol 95% P selama 24 jam (dikocok berkali-kali selama 6 jam pertama,

selanjutnya dibiarkan selama 18 jam), disaring cepat untuk menghindari penguapan etanol, diuapkan 20 mL filtrat hingga kering dalam cawan dangkal beralas datar yang telah dipanaskan pada suhu 105°C dan ditara. Dihitung kadar dalam persen sari larut etanol [11].

$$\text{Kadar sari larut etanol} = \frac{\text{berat sari} \times 100}{\text{berat sampel} \times 20} \times 100\% \quad (2)$$

#### (c) Penetapan kadar abu total

Ditempatkan sekitar 2 g ekstrak dalam krus silikat yang telah dipanaskan dan ditimbang sebelumnya. Dipanaskan dengan cara meningkatkan panas secara bertahap hingga sampel menjadi putih, pemanasan dilakukan pada suhu 600°C selama 3 jam hingga bobot tetap. Didinginkan abu dalam desikator selama 30 menit, kemudian abu langsung ditimbang. Kadar abu total dihitung terhadap berat bahan uji [11].

$$\text{Kadar abu} = \frac{\text{berat abu}}{\text{berat sampel}} \times 100\% \quad (3)$$

#### (d) Penetapan kadar abu tak larut asam

Padawadahnya yang berisi abu total, ditambahkan 25 mL HCl encer, ditutup dengan kaca arloji dan dididihkan dengan api kecil selama 5 menit, dikumpulkan bagian yang tidak larut dalam asam, disaring menggunakan kertas saring bebas abu dan dicuci kertas saring dengan air panassampai didapatkan filtrat netral. Dipijarkan dalam krus hingga didapatkan berat konstan, didinginkan residu dan langsung ditimbang. Kadar abu total dihitung terhadap berat bahan uji [11].

$$\text{Kadar abu tak larut asam} = \frac{\text{berat abu}}{\text{berat sampel}} \times 100\% \quad (4)$$

### Uji BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)

#### a) Penyiapan Larva

Telur *Artemia salina* L. ditetaskan dalam wadah yang telah terisi dengan air laut. Sebuah plastik pembatas dengan beberapa lubang sebesar 2 mm diletakkan pada wadah untuk membuat 2 kompartemen yang tidak sama besar. Telur ditaburi ke dalam kompartemen yang lebih besar dan dibuat tanpa penerangan/gelap, sedangkan kompartemen kecil dibuat lebih terang. Setelah 48 jam nauplii (sebutan untuk larva udang) yang telah terpisah dari cangkang terdapat pada kompartemen yang terang dan dapat dikumpulkan menggunakan pipet.

#### (b) Pembuatan konsentrasi larutan

Fraksi etil asetat ditimbang sebanyak 100 mg kemudian dilarutkan dalam 10 mL aquades dan

ditambahkan tween secukupnya (2-3 tetes) maka didapat larutan induk dengan konsentrasi 10.000 µg/mL. Pengujian aktivitas dilakukan dengan 5 variasi konsentrasi yaitu 1.000; 500; 200; 100 dan 10 ppm dengan 3 kali pengulangan masing-masing konsentrasi, larutan diaduk sampai homogen.

#### (c) Uji Sitotoksik

Larutan sampel yang akan diuji masing-masing sebanyak 1 mL dimasukkan pada masing-masing vial dengan konsentrasi 1.000; 500; 200; 100 dan 10 ppm. Kemudian ditambahkan air laut hingga batas kalibrasi (5 mL). Dipipet larva *Artemia salina* L sebanyak 10 ekor dan dimasukkan hati-hati kedalam masing-masing vial. Sebanyak 1 tetes ragi (0,6 mg/mL) dimasukkan kedalam vial sebagai makanan *Artemia salina* L. Larutan diaduk sampai homogen. Untuk kontrol dilakukan tanpa penambahan ekstrak. Selanjutnya dihitung jumlah larva yang mati dan masih hidup dari tiap vial setelah dibiarkan selama 24 jam. [12] [13]

$$\% \text{ kematian} = \frac{\text{kematian} - \text{kematian kontrol}}{\text{jumlah larva awal}} \times 100\% \quad (5)$$

### III HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji makroskopik berupa uji organoleptik meliputi struktur, bau atau rasa, serta warna dari suatu simplisia. Simplisia dari daun *Muntingia calabura* memiliki struktur berupa daun lonjong dengan ujung meruncing; pinggir daun bergerigi; bentuk tulang daun menyirip; berwarna hijau gelap; dan tidak berbau. Sedangkan serbuk simplisia memiliki struktur berupa serbuk kasar berbulu, warna hijau gelap, dan tidak berbau. Uji mikroskopik dilakukan untuk mengetahui lebih rinci karakter dari suatu simplisia. Berdasarkan uji mikroskopik pada serbuk simplisia daun kersen (*Muntingia calabura* L.) didapatkan trikoma granduler, rambut penutup, resin, trakea, stomata, sel tetangga dan sel epidermis. Sedangkan pada daun kersen segar didapatkan trikoma granduler, epidermis, rambut penutup, resin, stomata, sel tetangga, dan sel gabus. Ekstraksi merupakan proses penarikan atau pemisahan komponen atau zat aktif suatu simplisia dengan menggunakan pelarut tertentu. Pada penelitian ini ekstraksi simplisia dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etil asetat. Maserasi merupakan proses ekstraksi simplisia menggunakan pelarut tertentu dengan pengadukan berulang pada temperatur ruang. Secara teknologi maserasi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi

pada keseimbangan [14]. Awalnya serbuk simplisia diekstrak terlebih dahulu menggunakan pelarut n-heksana sebelum diekstraksi menggunakan pelarut etil asetat (ekstraksi bertingkat). Berat residu serbuk simplisia yang di ekstrak menggunakan pelarut etil asetat adalah 375 g dari berat serbuk simpisia awal yaitu 400 g. Hasil ekstrak kental yang diperoleh setelah di evaporasi yaitu 13,3 g dengan persentase rendemen yang didapat yaitu sebesar 3,54%.

Tabel 1 Hasil skrining fitokimia

| Golongan Senyawa     | Hasil Skrining |
|----------------------|----------------|
| Alkaloid             | -              |
| Tannin               | +              |
| Flavonoid            | +              |
| Saponin              | +              |
| Steroid/Triterpenoid | -              |

Tabel 2 Karakterisasi ekstrak

| Parameter Uji                 | Persentase rata-rata |
|-------------------------------|----------------------|
| Kadar air                     | 3,85 ± 0,35          |
| Kadar sari larut dalam air    | 17,645 ± 0,265       |
| Kadar sari larut dalam etanol | 62,24 ± 0,07         |
| Kadar abu total               | 0,895 ± 0,005        |
| Kadar abu tak Larut Asam      | 0,695 ± 0,004        |

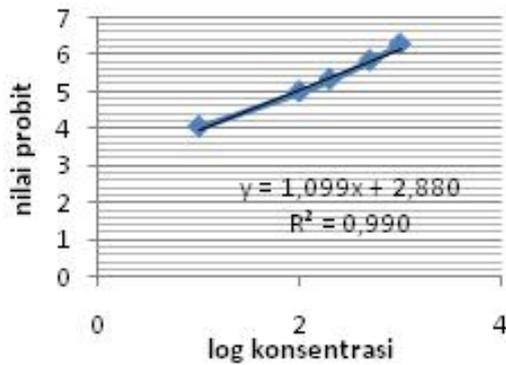
Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa fraksi etil asetat daun kersen mengandung tiga metabolit sekunder yaitu tanin, flavonoid dan saponin. Adanya ketiga metabolit tersebut diidentifikasi dengan menggunakan larutan pereaksi tertentu pada masing-masing uji yaitu uji tannin menggunakan pereaksi FeCl<sub>3</sub> 10% menghasilkan warna biru gelap yang disebabkan karena terjadinya reaksi antara FeCl<sub>3</sub> dengan salah satu gugus hidroksil pada tannin [15]. Uji flavonoid dengan penambahan serbuk Mg dan HCl menghasilkan warna jingga yang disebabkan karena tereduksinya senyawa flavonoid pada sampel oleh serbuk Mg dan HCl [15], warna jingga yang terbentuk pada uji flavonoid juga disebabkan terbentuknya garam flavilium [16]. Uji saponin menggunakan air dan di kocok kuat selama 10 detik menghasilkan busa stabil dan busa tidak hilang setelah penambahan HCl 2N, busa dihasilkan karena adanya glikosida yang membentuk buih dalam air dan terhidrolisis menjadi senyawa glikon (gula) dan aglikon (non-gula) [16]. Adapun uji alkaloid menggunakan pereaksi Meyer, Dragendrof dan Bouchardat pada sampel tidak menghasilkan endapan sedangkan uji steroid/triterpen dengan penambahan pereaksi Liberman-Bouchardat tidak menghasilkan warna ungu dan atau merah, menunjukkan bahwa sampel tidak mengandung alkaloid dan steroid/triterpen.

Penetapan kadar air bertujuan menentukan batasan minimal atau rentang tentang besarnya kandungan air dalam bahan, dimana nilai maksimal atau rentang yang diperbolehkan terkait dengan kemurniaan dan kontaminasi [14]. Uji ini dilakukan menggunakan metode gravimetri, dengan prinsipnya yaitu menguapkan air yang ada pada sampel/ekstrak dengan pemanasan pada suhu 105°C dan selanjutnya menimbang sampel hingga berat konstan [17]. Pada penelitian ini, persentase rata-rata kadar air dari fraksi etil asetat daun kersen (*Muntingia calabura* L.) adalah sebesar 3,85% ± 0,35%. Berdasarkan literatur persentase kadar air dalam suatu ekstrak tidak boleh lebih dari 10% yang bertujuan untuk menghindari mudahnya pertumbuhan jamur pada ekstrak [17] serta menghindari adanya aktivitas enzim untuk mengurai senyawa awal pada ekstrak menjadi senyawa yang tidak diinginkan (senyawa artefak). Jadi berdasarkan hasil yang diperoleh dapat diketahui bahwa kadar air pada sampel yang digunakan telah memenuhi syarat.

Penetapan kadar sari larut air dan etanol dilakukan untuk menentukan jumlah kandungan senyawa dalam simplisia yang dapat tersari dalam kedua pelarut tersebut. Air dimaksudkan untuk melarutkan senyawa polar sedangkan etanol melarutkan senyawa kurang polar yang terdapat dalam ekstrak. Kedua pelarut tersebut digunakan untuk uji ini karena keduanya merupakan pelarut yang diperbolehkan dan memenuhi syarat kefarmasian (Pharmaceutical grade) [17]. Berdasarkan data yang diperoleh (Tabel 2) besar rata-rata kadar sari larut air adalah 17,65% ± 0,27%, sedangkan besar rata-rata kadar sari larut etanol adalah 62,24% ± 0,07%. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi etil asetat daun kersen (*Muntingia calabura* L.) mengandung lebih banyak senyawa yang kurang polar dibandingkan senyawa polar (berdasarkan kelarutannya dalam air dan etanol).

Penetapan kadar abu pada sampel dilakukan dengan metode uji kadar abu total dan uji kadar abu tidak larut asam. Penetapan kadar abu bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal hingga terbentuknya ekstrak, adapun prinsip dari uji ini adalah pemanasan sampel pada temperatur dimana senyawa organik dan turunannya terdestruksi (650°C) sehingga menyisakan unsur mineral dan senyawa anorganik. Persentase rata-rata kadar abu total fraksi etil asetat daun kersen (*Muntingia calabura* L.) adalah

0,89%±0,005%, sedangkan persentase rata-rata dari kadar abu tak larut asam adalah 0,69%±0,004%. Persentase kadar abu tak larut asam menunjukkan cemaran berupa pasir dan tanah yang mengandung silika dan biasanya menjadi pengotor pada sampel, jadi berdasarkan hasil uji dapat diketahui bahwa hanya sedikit pengotor / cemaran yang terdapat pada ekstrak.



Gambar 1 Uji sitotoksi Metode BSLT fraksi etil asetat daun kersen

BSLT merupakan salah satu metode untuk uji sitotoksik sebagai uji awal terhadap aktivitas biologis suatu tumbuhan sebagai anti kanker, uji ini menggunakan larva *Artemia salina* sebagai hewan uji. Metode ini dipilih karena memiliki keuntungan dimana hasil yang diperoleh lebih cepat (24 jam), tidak mahal, serta mudah pengerjaannya. Pada penelitian sebelumnya ditemukan bahwa toksisitas terhadap larva *Artemia salina* memiliki korelasi yang positif dengan toksisitas terhadap sel 9 KB (*human nasopharyngeal carcinoma*), sel P388 (*murine lymphocytic leukemia*) dan beberapa sel tumor lain. Suatu ekstrak dikatakan toksik jika  $LC_{50} < 1.000 \mu\text{g/mL}$ .  $LC_{50}$  merupakan konsentrasi suatu zat yang dapat menyebabkan 50% kematian pada hewan uji. Semakin kecil  $LC_{50}$  maka semakin toksik suatu senyawa sehingga potensi senyawa tersebut sebagai antikanker semakin besar [18].

Pada penelitian ini ekstrak kental dari fraksi etil asetat daun kersen (*Muntingia calabura* L.) diencerkan menjadi 10.000 ppm sebagai larutan induk menggunakan akuades sebagai pelarut dan dua tetes tween 80 untuk menghomogenkan larutan. Uji BSLT dilakukan menggunakan larutan uji dengan lima variasi konsentrasi yaitu 10 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 500 ppm dan 1.000 ppm serta air laut tanpa ekstrak sebagai kontrol. Pengujian dilakukan dengan tiga kali replikasi pada masing-masing konsentrasi, pada setiap vial sebagai wadah uji masing-masing terdapat 10 larva udang

*Artemia salina* yang sebelumnya telah dimasukkan ekstrak (kecuali kontrol), air laut dan 2 tetes ragi 1%. Penggunaan air laut dan ragi dapat menghindari bias kematian larva yang disebabkan oleh faktor selain aktivitas dari larutan uji, karena air laut merupakan habitat alami *Artemia salina*, sedangkan ragi merupakan makanan bagi *Artemia salina* yang dapat menghindari kematian larva *Artemia salina* karena makanan yang tidak cukup.

Tabel 3 Pengamatan % kematian larva

| Kons (ppm) | Log kons | % kematian | probit | $LC_{50}$ (ppm) |
|------------|----------|------------|--------|-----------------|
| Kontrol    | -        | 0          | -      | 84.92           |
| 10         | 1        | 16.6       | 4.05   |                 |
| 100        | 2        | 50         | 5      |                 |
| 200        | 2.3      | 63.3       | 5.33   |                 |
| 500        | 2.7      | 80         | 5.84   |                 |
| 1000       | 3        | 90         | 6.28   |                 |

Berdasarkan Tabel 3. dapat diketahui bahwa fraksi etil asetat daun kersen (*Muntingia calabura* L.) memiliki aktivitas sitotoksik dengan nilai  $LC_{50}$  sebesar 84,92 ppm. Menurut Meyer *et al.* [18]. Pada tiga kategori tingkat toksisitas suatu senyawa yaitu, sangat tinggi/*highly toxic* apabila mampu membunuh 50% larva pada konsentrasi 1-10  $\mu\text{g/mL}$ , sedang/*medium toxic* pada konsentrasi 10-100  $\mu\text{g/mL}$ , dan rendah/*low toxic* pada konsentrasi 100-1.000  $\mu\text{g/mL}$ , jadi berdasarkan kategori tersebut dapat diketahui bahwa fraksi etil asetat daun kersen (*Muntingia calabura* L.) memiliki aktivitas sitotoksik dengan kekuatan sedang/*medium toxic*.

Aktivitas sitotoksik pada fraksi etil asetat diduga karena adanya tiga metabolit sekunder yang positif terkandung dalam fraksi etil asetat daun kersen (*Muntingia calabura* L.) yaitu tannin, saponin, dan flavonoid. Berdasarkan penelitian sebelumnya tannin dalam pengobatan herbal khususnya asia digunakan sebagai obat tumor perut dan usus besar [19]. Adapun saponin ditemukan memiliki aktivitas sebagai antikanker dimana hampir semua jenis saponin menginduksi apoptosis pada sel tumor, saponin sangat baik digunakan dalam pengobatan kanker karena aktivitas apoptosis terhadap sel kanker dapat menghindari efek samping nekrosis pada pasien, dan yang paling penting adalah saponin berpotensi untuk mencegah pertumbuhan sel tumor dan memungkinkan untuk mencegah resistensi obat [20]. Flavonoid telah ditemukan memiliki efek

penting sebagai kemopreventif dan kemoterapi pada kanker.

Berdasarkan penelitian sebelumnya ditemukan bahwa isolasi flavonoid dari daun kersen memiliki aktivitas sitotoksik (nilai  $LC_{50} < 4 \mu\text{g/mL}$ ) terhadap sel P-388 dan sel HT-29 dengan pengujian in-vitro menggunakan ekstrak metanol daun kersen (*Muntingia calabura* L.) [21]. Sedangkan pada pengujian menggunakan ekstrak etil asetat daun kersen ditemukan flavonoid memiliki aktivitas sitotoksik yang sangat kuat (nilai  $LC_{50} = 3.43 \text{ mg/mL}$  dan  $3.34 \text{ mg/mL}$ ) terhadap sel HL60 (*human acute lymphoblastic leukemia*) [22] Uji sitotoksik pada penelitian ini hanya dilakukan menggunakan ekstrak kasar, sehingga perlu dilakukan isolasi senyawa metabolit sekunder untuk menentukan zat bioaktif spesifik pada kersen yang memiliki aktivitas sitotoksik atau sebagai senyawa antikanker.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan maka dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat daun kersen (*Muntingia calabura* L.) memiliki aktivitas sitotoksik dengan nilai  $LC_{50}$  sebesar 84.92 ppm dengan tiga metabolit sekunder yang positif terkandung dalam fraksi etil asetat daun kersen (*Muntingia calabura* L.) yaitu tannin, saponin, dan flavonoid. Hasil uji karakterisasi fraksi etil asetat daun kersen (*Muntingia calabura* L.) yaitu kadar air  $3,85\% \pm 0,35\%$ ; kadar sari larut dalam air  $17,65\% \pm 0,27\%$ ; kadar sari larut dalam etanol  $62,24\% \pm 0,07\%$ ; kadar abu total  $0,89\% \pm 0,005\%$ ; dan kadar abu tak larut asam  $0,69\% \pm 0,004\%$ .

## REFERENSI

1. National Cancer Institute. 2009. *Breast Cancer*. <http://cancerweb.ncl.ac.uk/cancernet/100013.html>. Tanggal Akses 2 November 2014.
2. World Health Organization. 2012. *Cancer*. Switzerland.
3. Krishnaveni, Marimuthu and Dhanalakshmi, Ravi. Qualitative And Quantitative Study of Phytochemicals In *Muntingia calabura* L. Leaf And Fruit. *World Journal of Pharmaceutical Research*. Volume 3, Issue 6, 1687-1696.
4. Zakaria Z.A., C.A. Fatimah., A.M Mat., H. Zaiton., E.F.P. Henie., M.R. Sulaiman., M.N. Somchit., M. Thenamutha., and D. Kasthuri., 2006. The In Vitro Antibacterial Activity of *Muntingia calabura* Extract. *International Journal of Pharmacology*, 2(4):439-442
5. Zakaria Z. A., Mustapha S., Sulaiman M. R., Jais A. M. M., Somchit M. N., Abdullah F. C. 2007. The Antinociceptive Action of Aqueous Extract From *Muntingia calabura* Leaves: The Role of Opioid Receptors. *Med Princ Pracyt*. 16:130–136
6. Zakaria Z. A., Sufian A. S., Ramasamy K., Ahmat N., Sulaiman M. R., Arifah A.K., Zuraini A., and Somchit N.M. 2010. In Vitro Antimicrobial Activity of *Muntingia calabura* Extracts and Fractions. *African Journal of Microbiology Research* Vol. 4 (4), pp. 304-308
7. Ditjen POM. 2009. *Farmakope Herbal*. Departemen Kesehatan RI. Jakarta.
8. World Health Organization. 1998. *Quality Control Methods for Medicinal Plant Materials*. Switzerland.
9. Ditjen POM. 2010. *Acuan Sediaan Herbal*. Volume kelima. Departemen Kesehatan RI, Jakarta.
10. Ditjen POM. 1995. *Materia Medika Indonesia*. Jilid VI. Departemen Kesehatan RI, Jakarta.
11. Krishnaraju, A.V, Rao, T.V.N, Sundararaju, D, Vanisree, M, Tsay, H.S, Subbaraju, G.V, 2005, "Assesment of Bioactivity of Indian Medicinal Plant Using Brine Shrimp (*Artemiasalina*) Lethality Assay", *International Journal of Applied Science and Engineering*, 3(2), 125-134.
12. Meyer, B, Ferrigni, N. R, Putnam L. J. E, Jacobsen, B, Nicholas, D, E and, Laughin J. L. Mc, 1982, "Brine Shrimp: A convenient General Bioassay For Active Plant Constituens", *J. of Medical Plant Medica*, 45, 31-34.
13. Mc. Laughli, J. L., Chang, C. J., and Smith, D. L. 1991. Bench-Top, Bioassay for The Discovery of Bioactive Naturals Products, An Update, *Natural Product Chemistry*, Elseiveir, Amsterdam.
14. Ditjen POM. 2000. *Farmakope Indonesia*. Edisi IV. Departemen Kesehatan RI, Jakarta.
15. Sangi, Meiske S., Lidya I. Momuat, Maureen Kumaunang. 2012. Uji Toksisitas dan Skrining Fitokimia Tepung Gaba Pelepah Aren (*Arenga pinnata*) *Jurnal Ilmiah Sains*. Vol. 12 No. 2 : 127-134
16. Pardede, A., Yunazar M., Mai Efdi. 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol dari Kulit Batang Manggis (*Garcinia cymosa*). *Media Sains*, Vol. 6 No. 2 : 60-66

17. Pine, A.T.D., Alam, G., dan Attamin., F., 2011, *Standardisasi Mutu Ekstrak Daun Gedi (Abelmoschus manihot (L.) dan Uji Efek Antioksidan dengan Metode DPPH*. Universitas Hasanuddin. Makassar.
18. Saxena Mamta, Jyoti Saxena, Rajeev Nema, Dharmendra Singh, and Abhishek Gupta. 2013. Phytochemistry of Medicinal Plants. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. Vol. 1, No. 6, 168-182
19. Man Shuli, Wenyuan Gao, Yanjun Zhang, Luqi Huang and Changxiao Liu. 2010. Chemical study and medical application of saponins as anti-cancer agents. *Fitoterapia* 81,703–714.
20. Chen, J.J., Lee, H.H., Duh, C.Y., Chen, I.S., 2005. Cytotoxic chalcones and flavanoids from the leaves of *Muntingia calabura*. *Planta Medica*, 71, 970–973.
21. Zakaria Z. A., Adila S., Sufian, Kalavathy Ramasamy, Norizan Ahmat, M. Izwan, M. Yusof. 2013. Isolation and identification of antibacterial and cytotoxic compounds from the leaves of *Muntingia calabura* L. *Journal of Ethnopharmacology* 146 : 198–20
22. Mahyuddin, Kholis. 2010. *Panduan Lengkap: Agribisnis Patin*. Penebar Swadaya, Jakarta.