



## THE CYTOTOXIC ACTIVITY OF N-HEXANE EXTRACT OF KERSEN(*muntingia calabura* linn.) LEAVES USING THE BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BSLT) METHOD\*

Irma Sari, Titania Miranda, Sadli\*

Jurusan Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Syiah Kuala  
Darussalam – Banda Aceh, 23111  
E-mail: sadli\_zhafara@unsyiah.ac.id

**Abstract.** The cytotoxic activity experiment of n-hexane extract of kersen (*Muntingia calabura* Linn.) leaves has been carried out using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method. The purpose of this research is to identify the secondary metabolites, extract characterize, and determine the  $LC_{50}$  value of the extract against larvae shrimp *Artemia salina* Leach. Screening result showed that n-hexane extract of kersen leaves contain triterpenoid. Extract characterization showed the results water content of  $2.59 \pm 0.18$  %w/w, water soluble extractive content of  $1.9\% \pm 0.19$  %w/w, the ethanol soluble extractive content of  $17.41 \pm 1.87$  %w/w and total ash value 0.25% w/w. Extract showed  $LC_{50}$  value is 278,72 ppm were calculated by probit analysis. The  $LC_{50}$  value indicated that the n-hexane extract of kersen leaves potentially has cytotoxic activity.

**Keywords:** Cytotoxic, n-hexane extract, *Muntingia calabura*, BSLT

### I. PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang memiliki kekayaan keanekaragaman hayati. Terdapat lebih kurang 30.000 jenis tumbuh-tumbuhan dan 7.500 jenis diantaranya termasuk tumbuhan obat. Keanekaragaman hayati ini merupakan aset nasional yang bernilai tinggi untuk pengembangan industri obat-obatan di dunia [1]. Oleh karena itu, upaya pencarian dan pengembangan obat dari bahan alam sampai saat ini masih terus dilakukan. Salah satu bahan alam yang terus dilakukan pencariannya adalah bahan alam untuk pengobatan penyakit kanker. Kanker adalah suatu penyakit yang ditandai dengan pergeseran mekanisme kontrol sel yang mengatur proliferasi dan diferensiasi sehingga mengakibatkan pertumbuhan sel menjadi abnormal [2]. Menurut laporan *World Health Organization* [3], setiap tahunnya diperkirakan ada sekitar 466.000 kasus kanker dan 231.000 orang meninggal di seluruh dunia. Sedangkan di Indonesia, berdasarkan data Riset Kesehatan Dasar [4], prevalensi tumor/kanker di Indonesia adalah 1,4% atau per 1000 penduduk. Pengobatan kanker dapat dilakukan dengan pembedahan, kemoterapi, maupun

dengan radiasi. Namun pembedahan tidak efektif untuk kanker yang telah bermetastasis. Pengobatan dengan metode kemoterapi dan radiasi seringkali kurang selektif, dan memiliki efek samping toksik pada jaringan normal dan menyebabkan resistensi pada sel kanker [5]. Ketiga metode tersebut juga membutuhkan biaya yang cukup mahal. Oleh karena itu, perlu dilakukan pencarian obat antikanker yang lebih selektif, aman, dan ekonomis. Ada beberapa metode uji pendahuluan pencarian obat antikanker, seperti *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), *Lemma assay*, *Potato disc*, hingga kultur sel (*Microculture Tetrazolium Salt/MTT*). Diantara keempat metode tersebut, BSLT merupakan metode yang sangat disarankan dalam uji toksisitas karena memiliki korelasi hingga tingkat kepercayaan 95% terhadap uji spesifik antikanker. Metode BSLT juga lebih sederhana, cepat, murah, dapat dipercaya, dan hasilnya representatif [6]. Kersen merupakan bagian dari famili *Elaeocarpaceae*, dan satu-satunya spesies dalam genus *Muntingia* [7]. Kersen berasal dari Amerika tropis, sehingga menjadi salah satu tumbuhan yang paling banyak dijumpai di daerah tropis seperti Indonesia [8]. Tumbuhan

kersen dapat dengan mudah ditemukan tumbuh secara liar maupun dibudidayakan. Umumnya tumbuhan kersen digunakan sebagai peneduh, dan bagian-bagian pohon seperti daun dan buah juga digunakan sebagai obat tradisional. Beberapa penelitian menunjukkan ekstrak metanol daun kersen sebagai antioksidan [9], antinositif [10], dan antitumor [11]. Penelitian lainnya juga menunjukkan daun kersen dari fraksi eter, kloroform, metanol sebagai antidiabetes [12], serta ekstrak *aqueous* daun kersen sebagai antibakteri [13]. Penelitian ini menggunakan ekstrak *n*-heksana pada daun kersen. Pelarut *n*-heksana diharapkan menarik senyawa golongan nonpolar seperti triterpenoid. Skrining fitokimia daun kersen menunjukkan adanya senyawa triterpenoid, flavonoid, saponin, tanin, steroid, namun tidak mengandung alkaloid [12]. Penelitian lain juga telah ditunjukkan bahwa skrining fitokimia daun kersen memberikan adanya senyawa alkaloid, flavonoid, steroid, dan antrakuinon [14]. Oleh karena itu, terhadap ekstrak *n*-heksana daun kersen dilakukan skrining fitokimia kembali untuk menentukan kandungan fitokimia dan dilakukan karakterisasi ekstrak untuk menentukan karakter atau sifat ekstrak.

## II. METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari 2015 sampai Mei 2015. Pengujian fitokimia dan karakterisasi ekstrak dilakukan di Laboratorium Hayati Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Syiah Kuala. Pengujian sitotoksik ekstrak *n*-heksana daun kersen (*Muntingia calabura* L.) pada larva udang (*Artemia salina* Leach) dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Syiah Kuala. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah blender merk National Viva<sup>®</sup>, timbangan analitik, oven, tanur, bejana maserasi, *rotary evaporator*, *aluminium foil*, penangas air, tabung reaksi dan rak, timbangan analitik, gelas ukur, gelas kimia, corong, kertas saring, spatula, wadah kaca gelap, krus porselin, cawan penguap, wadah pembiakan larva, lampu pijar Philips<sup>®</sup> 40 watt, aerator, pipet mikro, pipet tetes dan vial yang telah dikalibrasi. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian adalah daun kersen, pelarut *n*-heksana yang telah didestilasi, plat KLT GF<sub>254</sub> 0,25 mm, etanol 95%, metanol p.a, asam sulfat pekat, etil asetat, Meyer LP, Dragendorf LP, Bouchardat LP, Lieberman-Bouchardat LP, asam klorida pekat, asam klorida 1 N, asam klorida 2 N, besi (III) klorida, kloroform, ammonia, asam asetat

glasial, serbuk magnesium, natrium klorida, ragi roti, larva *Artemia salina* Leach, tween 80 dan aquades.

Pengumpulan bahan untuk penelitian adalah daun kersen (*Muntingia calabura*), yang diperoleh di daerah Lamgugob, Kota Banda Aceh, Aceh, Indonesia. Pembuatan simplisia dilakukan dengan prosedur sebagai berikut: daun segar sebanyak 2 kg dikumpulkan lalu dibersihkan dari pengotor (sortasi basah) dan dilakukan pencucian dengan air yang mengalir. Dikeringkan selama 1 bulan untuk menurunkan kadar air dan kelembabannya. Dilakukan sortasi kering untuk memisahkan benda asing, dan pengotor-pengotor lain yang tertinggal. Simplisia yang sudah kering kemudian diblender hingga halus menjadi serbuk. Didapatkan sebanyak 440 g serbuk simplisia, kemudian disimpan di tempat yang kering, tidak lembab, dan terhindar dari sinar matahari langsung. Karakterisasi simplisia dilakukan dengan cara pengamatan organoleptis simplisia yaitu bentuk, warna, dan bau, serta pengamatan secara mikroskopis dibawah mikroskop.

Ekstraksi daun kersen dengan *n*-heksana dilakukan dengan prosedur sebagai berikut: Simplisia sebanyak 400 g diekstraksi dengan metode maserasi. Simplisia dimaserasi dengan *n*-heksana dengan perbandingan 400g:3L selama lima hari dengan sesekali diaduk, selanjutnya disaring sehingga dihasilkan ampas dan ekstrak. Ampas yang dihasilkan kembali direndam dengan 1 L *n*-heksana selama 2 hari dengan sesekali diaduk, kemudian disaring. Hasil ekstrak digabungkan untuk kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* sehingga dihasilkan ekstrak kental. Untuk pengujian golongan alkaloida maka disiapkan sebanyak 500 mg ekstrak ditambahkan 1 mL asam klorida 2 N dan 9 mL air, dipanaskan diatas penangas air selama dua menit, didinginkan dan disaring. Filtrat dipindahkan masing-masing tiga tetes kedalam tiga buah tabung reaksi, lalu ditambahkan dua tetes Meyer LP, Bouchardat LP dan Dragendorf kepada masing-masing tabung reaksi. Alkaloid dinyatakan positif jika terjadi endapan atau kekeruhan, yaitu terbentuk endapan menggumpal putih atau kuning dengan Meyer LP, terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam dengan Bouchardat LP dan terbentuk endapan kuning jingga dengan Dragendorf LP. Ekstrak dikatakan mengandung alkaloid apabila dua dari tiga reaksi memberikan reaksi positif.

Pengujian golongan flavonoid dipersiapkan dengan cara sebagai berikut: Ekstrak sebanyak 500 mg ditimbang, kemudian

direndam dengan metanol dan dipekatan. Selanjutnya, ekstrak pekat metanol direndam menggunakan pelarut *n*-heksana. Residu direndam kembali dengan 10 mL etanol 80% dan ditambahkan 0,5 g serbuk magnesium serta asam klorida 0,5 M. Jika timbul warna merah muda/ungu, maka menunjukkan positif adanya flavonoid. Untuk pengujian golongan saponin dilakukan dengan cara: sebanyak 500 mg ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi ditambahkan 10 mL air panas, lalu didinginkan. Lalu ekstrak tersebut dikocok kuat-kuat selama 10 menit. Jika terbentuk buih yang mantap setinggi 1-10 cm selama tidak kurang dari 10 menit dengan penambahan 1 tetes HCl 2 N, maka hal tersebut menunjukkan adanya saponin. Pengujian golongan tannin dilakukan dengan cara sebanyak 500 mg ekstrak diencerkan dengan aquades sampai hampir tidak berwarna. Filtrat diambil 2 mL lalu ditambahkan dua tetes larutan besi (III) klorida 10%, lalu diperhatikan warna yang terjadi, warna biru atau hijau menunjukkan adanya tanin. Warna biru menunjukkan adanya tiga buah gugusan hidroksil pada inti aromatis tanin. Warna hijau menunjukkan adanya dua buah gugusan hidroksil pada inti aromatis tanin.

Pengujian golongan steroid/triterpenoid dilakukan dengan cara: ditimbang 1 g ekstrak, ditambahkan eter lalu didiamkan selama 2 jam, disaring, filtrat diuapkan dalam cawan penguap. Sisa filtrat kemudian ditambahkan lima tetes pereaksi Lieberman-Bourchardat. Timbulnya warna ungu dan merah kemudian berubah menjadi hijau biru menunjukkan adanya triterpenoid/steroid. Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dilakukan untuk mendapatkan hasil yang lebih nyata terhadap keberadaan triterpenoid/steroid. Uji dilakukan pada plat KLT GF<sub>254</sub> 0.25 mm dengan fase gerak etil asetat dan *n*-heksana dengan perbandingan 2:8. Reagen penyemprot yang digunakan adalah asam sulfat 50% dalam metanol. Timbulnya warna biru menunjukkan adanya triterpenoid, sedangkan timbulnya warna ungu menunjukkan adanya steroid. Penetapan organoleptik ekstrak meliputi bentuk, warna, dan bau dari ekstrak serta penetapan kadar senyawa terlarut dalam pelarut tertentu [15].

Uji kadar sari yang larut dalam air dilakukan dengan cara : ekstrak ditimbang sebanyak 2 g, dimasukkan dalam wadah kaca gelap, didiamkan dengan 100 mL air jenuh kloroform, dikocok sesekali selama enam jam pertama, lalu dibiarkan selama 18 jam, kemudian disaring. Diambil 20 mL filtrat lalu diuapkan

hingga kering dalam cawan penguap pada suhu 105°C dan ditimbang sampai bobot tetap. Bobot tetap didapatkan dengan cara pemanasan dan penimbangan cawan penguap yang perbedaan beratnya tidak lebih dari 0,5 mg pada dua kali penimbangan berturut-turut. Untuk kadar sari yang larut dalam etanol dilakukan dengan prosedur sebagai berikut: ekstrak ditimbang sebanyak 5 g, dimasukkan dalam wadah kaca gelap, dan ditambahkan 100 mL etanol 95%, dikocok sesekali selama 6 jam pertama, lalu dibiarkan selama 18 jam, kemudian disaring. Diambil 20 mL filtrat lalu diuapkan hingga kering dalam cawan penguap pada suhu 105°C dan ditimbang sampai bobot tetap. Bobot tetap didapatkan dengan cara pemanasan dan penimbangan cawan penguap yang perbedaan beratnya tidak lebih dari 0,5 mg pada dua kali penimbangan berturut-turut.

Penetapan kadar air dilakukan dengan cara: ekstrak ditimbang sebanyak 2 g dan dimasukkan ke dalam cawan penguap yang telah diketahui beratnya. Dimasukkan cawan penguap yang telah berisi ekstrak ke dalam oven dan dikeringkan pada suhu 105°C selama tiga jam. Cawan kemudian didinginkan di dalam desikator lalu ditimbang dan dihitung kadar air. Penetapan kadar abu total dilakukan dengan cara: sebanyak 2 g ekstrak dimasukkan dalam krus porselin yang telah dipijar dan ditimbang. Krus dipijar perlahan-lahan sampai arang habis, pijaran dilakukan pada suhu 600°C selama tiga jam kemudian didinginkan dan ditimbang sampai bobot tetap. Bobot tetap didapatkan dengan cara pemanasan dan penimbangan cawan penguap yang perbedaan beratnya tidak lebih dari 0,5 mg pada dua kali penimbangan berturut-turut. Prosedur uji BSLT dilakukan dengan menggunakan metode Meyer *et al* [16]

Penetasan Telur *Artemia salina* Leach dilakukan dengan prosedur sebagai berikut: ditetaskan telur di dalam wadah dangkal berbentuk persegi panjang yang telah terisi dengan air laut. Wadah penetasan dibagi menjadi dua bagian, yaitu bagian terang dan gelap yang dibatasi oleh suatu sekat plastik. Sekat plastik diberi beberapa lubang sebesar 2 mm. Bagian gelap ditutupi dengan *aluminium foil* dan digunakan untuk meletakkan telur yang akan ditetaskan. Selama penetasan, tempat penetasan diberi penerangan dengan cahaya lampu pijar 40 watt agar suhu penetasan 25-30°C tetap terjaga. Kadar oksigen juga dijaga dengan adanya gelembung air dengan pemasangan aerator. Setelah 48 jam, telur-telur sudah menetas menjadi *nauplii* dan berenang

ke arah bagian terang. *Nauplii* aktif digunakan sebagai hewan uji.

Larutan induk dibuat dalam labu ukur dengan konsentrasi 10.000 ppm. Ditimbang 100 mg sampel ekstrak yang dilarutkan dalam 10 mL akuades dan ditambahkan tween 80 sebanyak 50 µl untuk mempermudah melarutkan ekstrak. Kemudian dibuat larutan uji dengan lima konsentrasi berbeda yaitu 1000, 500, 200, 100, dan 10 ppm dengan pengenceran bertingkat. Untuk membuat larutan 1000 ppm dipipet 1 mL dari 10.000 ppm (larutan induk), 500 ppm dipipet 5 mL dari 1000 ppm, 200 ppm dipipet 4 mL dari 500 ppm, 100 ppm dipipet 5 mL dari 200 ppm, 10 ppm dipipet 1 mL dari 100 ppm dan masing-masing dilarutkan di dalam labu ukur hingga 10 ml dengan akuades. Perlakuan sama seperti larutan uji diberikan untuk kontrol negatif (blanko), yang hanya diberi aquades dalam jumlah yang sama dengan sampel. Masing-masing larutan uji dengan berbagai konsentrasi dimasukkan sebanyak 1 mL ke dalam vial, dan dilakukan tiga kali pengulangan untuk setiap konsentrasi. Uji sitotoksik dilakukan dengan cara diambil 10 *nauplii* dan dimasukkan ke dalam vial yang telah berisi larutan uji dengan berbagai konsentrasi, ditambahkan air laut sampai 5 mL. Satu tetes ragi roti (0,6 mg/mL) dimasukkan ke dalam setiap vial sebagai makanan *Artemia salina*. Larutan diaduk sampai homogen. Semua vial diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam di bawah penerangan lampu pijar 40 watt. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam dan dihitung % jumlah larva mati seperti pada persamaan (1).

$$\% \text{ kematian} = \frac{\text{kematian-kematian kontrol}}{\text{jumlah larva awal}} \times 100\% \quad (1)$$

Analisa data dilakukan setelah 24 jam pengujian ekstrak terhadap larva uji *Artemia salina*. Larva yang mati, dihitung, ditabulasi dan dianalisis dengan analisis probit untuk menentukan nilai LC<sub>50</sub>. Setelah nilai probit didapat maka selanjutnya ditentukan nilai LC<sub>50</sub> dengan memplotkan log konsentrasi dan nilai probit dari larva uji. Dari plot ini akan didapat persamaan regresi atau garis linier. Nilai LC<sub>50</sub> didapatkan setelah nilai x di antilogaritma.

### III. HASIL DAN PEMBAHASAN

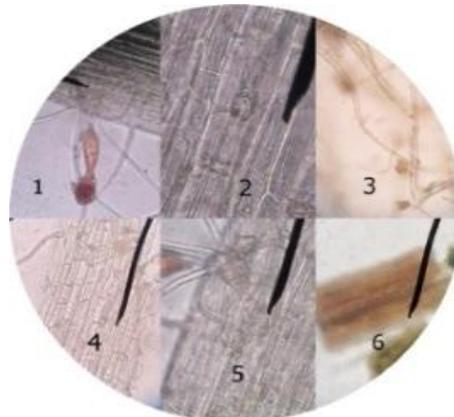
Daun yang dipilih untuk pembuatan simplisia yaitu daun kersen tua segar dengan warna hijau pekat dan ukuran bervariasi. Hal ini sesuai dengan penelitian yang menyatakan aktivitas antioksidan daun kersen tua lebih kuat karena

memiliki jumlah trikoma glanduler lebih banyak yang berfungsi sebagai penyimpan senyawa metabolit sekunder [9]. Berat serbuk simplisia yang didapatkan adalah 440 g. Gambar 1 menunjukkan simplisia dari daun kersen yang didapat pada penelitian ini.



Gambar 1 Simplisia daun kersen

Karakterisasi simplisia meliputi uji makroskopik dan uji mikroskopik. Uji makroskopik simplisia menunjukkan bahwa daun berwarna hijau kecoklatan, berujung runcing, memiliki tulang dan daun menyirip dan tidak berbau. Gambar 2 menunjukkan hasil dari uji mikroskopik pada daun kersen..



Gambar 2 Hasil uji mikroskopik simplisia daun kersen (perbesaran 10x40). dimana, 1) Resin 2) Stomata dan sel tetangga 3) rambut penutup 4) sel epidermis 5) trikoma glanduler 6) trakea

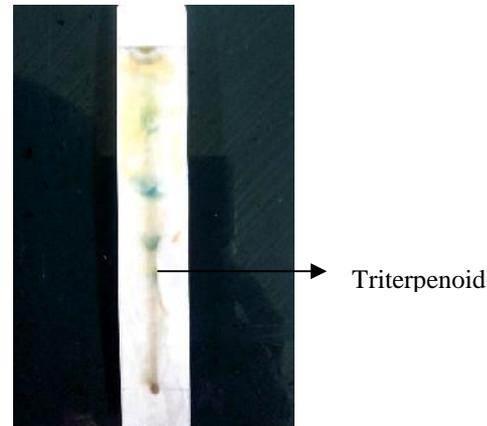
Ekstraksi simplisia dilakukan dengan prosedur maserasi. Metode ini dipilih karena maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi di dalam dan di luar sel. Hal ini menyebabkan larutan yang terpekat keluar sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di dalam dengan di luar sel [17]. Simplisia dalam penelitian ini dimaserasi menggunakan pelarut *n*-heksana. Pelarut ini digunakan sebagai cairan penyari karena senyawa ini bersifat non polar, sehingga diharapkan senyawa yang terekstraksi merupakan senyawa non polar. Ekstrak yang didapatkan dari proses maserasi, kemudian dipekatkan menggunakan alat *rotary evaporator*. Pemekatan bertujuan untuk mengetahui persen rendemen, mencegah kemungkinan terjadinya kerusakan komponen yang terkandung dalam ekstrak, dan mempermudah penyimpanannya bila dibandingkan dengan keadaan ekstrak yang masih mengandung pelarut [18]. Ekstrak *n*-heksana daun kersen yang dihasilkan sebanyak 24,68 g dengan rendemen 6,17%. Selanjutnya, ekstrak *n*-heksana daun kersen dilakukan skrining fitokimia dan karakterisasi. Skrining fitokimia dilakukan untuk menentukan ciri komponen bioaktif suatu ekstrak kasar yang mempunyai efek racun atau efek farmakologis lain yang bermanfaat bila diujikan dengan sistem biologi atau *bioassay* [19]. Berdasarkan hasil skrining yang telah dilakukan pada kelima metabolit sekunder (Tabel 1), hanya metabolit sekunder triterpenoid yang menunjukkan hasil positif. Triterpenoid positif jika menimbulkan warna hijau-biru [19].

Tabel 1 Hasil skrining fitokimia

Metabolit sekunder	Pereaksi	Hasil
Alkaloid	Meyer	Negatif
	Bouchardat	Negatif
	Dragendorf	Negatif
Flavonoid	Serbuk Mg dan HCl	Negatif
Saponin	Air dan HCl	Negatif
Tanin	FeCl <sub>3</sub>	Negatif
Triterpenoid	Lieberman-Bouchardat	Positif
	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 50% dalam metanol (KLT)	Positif

Skrining awal menggunakan Lieberman-Bouchardat LP menunjukkan hasil positif berwarna biru yang tidak konsisten. Sehingga, dilakukan pula pendeteksian triterpenoid menggunakan uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Hasil yang didapatkan dari uji KLT adalah terbentuk noda biru yang menunjukkan adanya kandungan metabolit sekunder

triterpenoid dalam ekstrak *n*-heksana daun kersen (Gambar 3). Triterpenoid bersifat nonpolar sehingga akan terekstraksi dalam pelarut *n*-heksana yang juga bersifat nonpolar dimana digunakan sebagai fase diam silika gel GF 254 dan fase gerak *n*-heksana:etil asetat (8:2).



Gambar 3 Hasil KLT triterpenoid

Karakterisasi ekstrak dimulai dari pemeriksaan terhadap organoleptis ekstrak. Ekstrak *n*-heksana daun kersen berbentuk kental, berwarna hijau agak kehitaman, dan berbau khas. Penentuan parameter organoleptik ekstrak bertujuan memberikan pengenalan awal ekstrak secara objektif berupa bentuk, warna, dan bau. Penentuan kadar air berguna untuk menyatakan kandungan zat dalam tumbuhan sebagai persen bahan kering [20]. Penentuan kadar air dalam penelitian ini menggunakan metode gravimetri. Prinsipnya adalah pengukuran kehilangan air dengan menimbang sampel sebelum dan sesudah dikeringkan [21]. Besarnya kadar air ekstrak *n*-heksana daun kersen dapat dilihat pada Tabel 2. Syarat persentase kadar air dalam ekstrak adalah 10 % [17]. Kadar air yang tinggi dalam suatu bahan dapat mendorong enzim melakukan aktivitasnya untuk mengubah kandungan kimia yang ada dalam bahan menjadi produk lain yang mungkin tidak lagi memiliki efek farmakologi seperti senyawa aslinya [18].

Tabel 2 Hasil karakterisasi ekstrak

Parameter	Hasil penetapan (%)
Kadar air	2,59±0,18
Kadar sari :	
Larut air	1,90±0,19
Larut etanol	17,41±1,87
Kadar abu total	0,25

Kadar air yang rendah membuat suatu bahan dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama

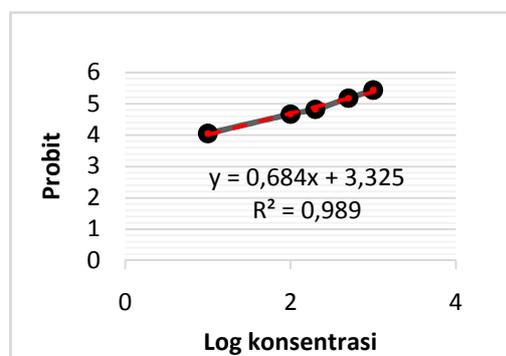
sehingga kemungkinan rusak karena jamur sangat kecil. Sehingga, kadar air ekstrak *n*-heksana daun kersen tergolong memenuhi syarat. Parameter senyawa terlarut dalam pelarut tertentu bertujuan memberikan gambaran awal jumlah kandungan senyawa yang dapat diekstraksi. Penentuan parameter ini dilakukan secara gravimetri menggunakan dua pelarut, yaitu pelarut air dan etanol. Kedua pelarut ini dan campuran keduanya merupakan cairan pelarut yang diperbolehkan dan memenuhi syarat kefarmasian (*pharmaceutical grade*) [17]. Besarnya kadar sari larut dalam air dan kadar sari larut dalam etanol pada ekstrak *n*-heksana daun kersen dapat dilihat pada Tabel 2. Berdasarkan hasil yang diperoleh, dapat diketahui bahwa ekstrak *n*-heksana daun kersen lebih larut di dalam etanol daripada di dalam air, dimana pelarut air melarutkan senyawa polar dan pelarut etanol melarutkan senyawa kurang polar. Hal ini mengindikasikan bahwa ekstrak *n*-heksana daun kersen lebih banyak mengandung senyawa kurang polar yang disebabkan oleh penggunaan *n*-heksana yang bersifat nonpolar sebagai pelarut saat pembuatan ekstrak. Abu adalah zat anorganik sisa hasil pembakaran suatu bahan organik. Penentuan kadar abu bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal. Ekstrak dipanaskan pada suhu tinggi hingga senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap hingga tersisa unsur mineral dan unsur anorganik saja [22]. Mineral yang terdapat dalam suatu bahan dapat merupakan dua macam garam yaitu garam-garam organik seperti garam dari asam malat, oksalat, asetat, pektat, dan garam-garam anorganik, seperti fosfat, karbonat, klorida, sulfat nitrat dan logam alkali [17]. Sedangkan kandungan bahan yang anorganik yang terdapat dalam suatu bahan diantaranya kalsium, fosfor, besi, magnesium, dan lainnya [23]. Data kadar abu total ekstrak *n*-heksana daun kersen dapat dilihat pada Tabel 2. Besarnya kadar abu total mengindikasikan bahwa ekstrak mengandung mineral dan unsur anorganik. Daun kersen mengandung kalsium, fosfor, dan besi [23]. Berdasarkan hasil yang diperoleh, kadar abu total ekstrak *n*-heksana daun kersen hanya mengandung sedikit mineral dan unsur anorganik yaitu 0,25%.

BSLT adalah suatu metode pengujian yang dapat digunakan sebagai *bioassay* yang sederhana untuk meneliti tingkat sitotoksik suatu senyawa, dengan cara menentukan nilai  $LC_{50}$  yang dinyatakan dari komponen aktif suatu simplisia maupun bentuk sediaan ekstrak dari suatu tumbuhan. Pengujian dilakukan dengan menggunakan hewan uji *Artemia salina*

yang berada pada tahap *nauplii* atau tahap larva [16]. Metode BSLT akan menghasilkan nilai  $LC_{50}$  untuk setiap zat yang diuji.  $LC_{50}$  (*Lethal Concentration 50*) merupakan konsentrasi zat yang menyebabkan terjadinya kematian pada 50% hewan uji. Parameter yang ditunjukkan untuk mengetahui adanya aktivitas biologi pada suatu zat terhadap hewan uji adalah dengan menghitung jumlah larva yang mati karena pengaruh pemberian zat dengan dosis atau konsentrasi yang telah ditentukan. Prinsip pengujian dengan metode BSLT adalah menjadikan ekstrak uji sebagai makanan untuk hewan uji. Dilakukan pengujian pada saat 24 jam setelah *Artemia salina* menetas. Cadangan makanan pada saat tersebut telah habis, sehingga *Artemia salina* akan mengkonsumsi ekstrak yang telah divariasikan [24]. Suatu zat dikatakan memiliki potensi toksisitas akut bila nilai  $LC_{50} < 1000$  ppm untuk ekstrak dan  $< 30$  ppm untuk suatu senyawa (Juniarti *et al.*, 2009).

Tabel 3 Hasil uji BSLT

Kons (ppm)	Log Kons	Kematian larva (%)	Konversi Probit	$LC_{50}$ (ppm)
Kontrol	-	-	-	
10	1	17	4,05	278,72
100	2	37	4,67	
200	2,3	43	4,82	
500	2,7	57	5,18	
1000	3	67	5,44	



Gambar 4 Grafik perbandingan konsentrasi dan nilai probit pada uji BSLT

Pengujian ekstrak *n*-heksana daun kersen terhadap larva *Artemia salina* pada penelitian ini menghasilkan nilai  $LC_{50}$  sebesar 278,72 ppm. Sehingga dapat dikatakan ekstrak *n*-heksana daun kersen pada percobaan ini memiliki potensi toksisitas akut. Data uji BSLT ekstrak *n*-heksana daun kersen dan grafik perbandingan antara % kematian larva yang telah dikonversikan dalam probit dengan log konsentrasi (Gambar 4). Nilai  $LC_{50}$  sesuai dengan tingkat ketoksikannya, yaitu kategori sangat tinggi/*highly toxic* dengan konsentrasi 1–10 ppm, sedang/*medium toxic* pada

konsentrasi 10–100 ppm, dan rendah/low toxic pada konsentrasi 100–1000 ppm. Maka, ekstrak n-heksana daun kersen dalam penelitian ini termasuk dalam kategori rendah/low toxic dengan LC<sub>50</sub> 278,72 ppm. Tingkat ketoksikan yang rendah disebabkan karena zat yang diuji masih berupa ekstrak kasar (*crude extract*) [16] (Tabel 3). Berdasarkan hasil uji fitokimia yang telah dilakukan, ekstrak n-heksana daun kersen mengandung metabolit sekunder triterpenoid. Senyawa ini diduga berperan aktif menghasilkan aktivitas sitotoksik dari ekstrak n-heksana daun kersen yang diuji dengan metode BSLT ini. Namun metode BSLT yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode yang tidak spesifik pada sel kanker. Oleh karena itu diperlukan pengujian lebih lanjut untuk menentukan keefektifan ekstrak n-heksana daun kersen terhadap sel kanker menggunakan metode uji aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker yaitu MTT Assay.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak n-heksana daun kersen mengandung metabolit sekunder berupa triterpenoid, memiliki kadar air sebesar 2,59±0,18 %b/b, kadar sari larut air 1,9±0,19 %b/b, kadar sari larut etanol 17,41±1,87 %b/b, kadar abu total sebesar 0,25% b/b dan memiliki aktivitas sitotoksik dengan nilai LC<sub>50</sub> 278,72 ppm.

## REFERENSI

1. Handayani, D., Mun'im, A., dan Ranti, A. S. 2013. Optimasi Ekstraksi Ampas Teh Hijau (*Camellia sinensis*) Menggunakan Metode Microwave Assisted Extraction Untuk Menghasilkan Ekstrak Teh Hijau. *Traditional Medicine Journal*. 19 (1) : 29-34.
2. Katzung, B. G. 2010. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. EGC. Jakarta.
3. World Health Organization. 2012. *Cancer*. WHO. Switzerland.
4. Riset Kesehatan Dasar. 2013. *Kanker*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
5. Davis, J.M., Navolanic, P.M., Weinstein-Oppenheimer, C.R., Steelman, L.S., Wei H. 2003. Raf-1 and Bcl-2 Induce Distinct and Common Pathways That Contribute to Breast Cancer Drug Resistance. *Clinical Cancer Research*. 9: 1161-1170.
6. Meyer, B.N., Ferrigni, N.R., Putman, J.E., Jacobsen, L.B., Nicols, D.E., dan McLaughlin, J.L. 1982. Brine Shrimp : A Convenient General Bioassay For Active Plant Constituent. *Plant Medica* 45: 31-34.
7. Sani, M. H., Zakaria Z. A., Balan, T., Teh, L. K. dan Salleh M. Z. 2012. *Antinociceptive Activity of Methanol Extract of Muntingia calabura Leaves and the Mechanisms of Action Involved. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. Hindawi Publishing Corporation.
8. Lim, T.K., 2012, *Edible Medicinal And Non-Medicinal Plants: Volume 2, Fruits*. Springer. New York.
9. Kuntorini, E., M., Fitriana, S., dan Astuti, M., D. 2013. Struktur Anatomi Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kersen (*Muntingia calabura*). *Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung*. Lampung.
10. Zakaria, Z. A. A. Mohamed, M. N. Jamil, S., M. 2011. *In vitro* Antiproliferative And Antioxidant Activities Of The Extracts Of *Muntingia Calabura* Leaves. *American Journal of Chinese Medicine*. 39(1) : 183-20
11. Sindhe A. M., Yadav D. B., Chandrashekar A. 2013. Antioxidant And In Vivo Anti-Hyperglycemic Activity Of *Muntingia Calabura* Leaves Extracts. *Der Pharmacia Lettre*. 5 (3) : 427-435.
12. Prawira, M., Y., Sarwiyono, dan Surjowardojo, P. 2007. *Daya Hambat Dekok Daun Kersen (Muntingia calabura L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus Penyebab Penyakit Mastitis pada Sapi Perah*. Universitas Brawijaya. Malang.
13. Krishnaveni M., and Dhanalakshmi R. 2014. Qualitative And Quantitative Study Of Phytochemicals In *Muntingia Calabura* L. Leaf And Fruit. *World Journal of Pharmaceutical Research*. 3 (6) :1687-1696.
14. Ditjen POM. 2000. *Farmakope Herbal*. Departemen Kesehatan RI. Jakarta.
15. Pine, A.T.D., Alam, G. & Attamin., F., 2011, *Standardisasi Mutu Ekstrak Daun Gedi (Abelmoschus manihot (L.) dan Uji Efek Antioksidan dengan Metode DPPH*. Universitas Hasanuddin. Makassar.
16. Wijaya, M. 2011. Ekstraksi Annonaceous Acetogenin Dari Daun Sirsak (*Annona muricata*) Sebagai Senyawa Bioaktif Kanker. *Skripsi*. Universitas Indonesia. Jakarta.
17. Harborne, J.B 1987. *Phytochemical Method (Metode Fitokimia)*. Terjemahan oleh Kosasih Patmawinata dan Iwang Soediro. ITB. Bandung.

18. Kumalaningsih. 2006. *Antioksidan alami Terong Belanda*. Trubus Agrisarana. Jakarta.
19. Abdurrahman, A., Haryati, U., Juarsah, I. 2013. *Penetapan Kadar Air Tanah dengan Metode Gravimetri*. Litbang Pertanian.
20. Anam, S., Yusran, M., Trisakti, A. Ibrahim, N., Khumaidi, A., Ramadanil, Zubair, M.S. 2013. Standarisasi Ekstrak Etil Asetat Kayu Sanrego (*Lunasia amara* Blanco), Natural Science 2 (3).
21. Kurniawan, I., Sarwiyono, Surjowardojo P., 2014. Pengaruh *teat dipping* menggunakan dekok daun kersen (*Muntingia calabura L.*) terhadap tingkat kejadian mastitis. Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan, Universitas Brawijaya.
22. Saputra, I. 2013. Uji Aktivitas Sitotoksik Kulit Batang Biduri (*Calotropis gigantea*). *Skripsi*. Universitas Syiah Kuala. Banda Aceh.