

**POTENSI EKSTRAK DAUN PAGODA (*Clerodendrum japonicum*[Tunb.]
Sweet) SEBAGAI ANTIKANKER DENGAN METODE *Brine Srimp Lethality*
Test (BSLT)**

KARYA TULIS ILMIAH

OLEH

RIZKY FATMA SOFYANI

NIM 14164



AKADEMI FARMASI PUTRA INDONESIA MALANG

JULI 2017

**POTENSI EKSTRAK DAUN PAGODA (*Clerodendrum japonicum*[Tunb.]
Sweet) SEBAGAI ANTIKANKER DENGAN METODE *Brine Srimp Lethality*
Test (BSLT)**

KARYA TULIS ILMIAH

Diajukan Kepada
Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang
untuk memenuhi salah satu persyaratan
dalam menyelesaikan program D-3
bidang Farmasi

OLEH
RIZKY FATMA SOFYANI
NIM 14164

AKADEMI FARMASI PUTRA INDONESIA MALANG
JULI 2017

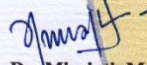
KARYA TULIS ILMIAH

POTENSI EKSTRAK DAUN PAGODA (*Clerodendrum japonicum* [Tunb.]
Sweet) SEBAGAI ANTIKANKER DENGAN METODE *Brine Srimp*
Lethality Test (BSLT)

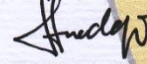
RIZKY FATMA SOFYANI
NIM 14.164

Dipertahankan di depan penguji
Pada Tanggal 30 Mei 2017
dan dinyatakan memenuhi persyaratan

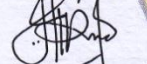
Dewan Penguji,



Dr. Misgiati, M.Pd.



Tri Danang Kurniawan, S.Si., Apt.



Dr. Erna Susanti, M.Biomed, Apt.

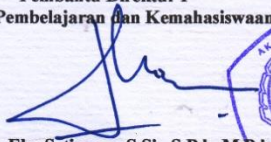
Penguji I


Penguji II

Penguji III

Mengetahui,
Pembantu Direktur I
Bidang Pembelajaran dan Kemahasiswaan

Mengesahkan,
Direktur


Nur Candra Eka Setiawan, S.Si., S.Pd., M.Pd.
NIDN. 0721058503


Ernani Dyan Wijayanti, S.Si., M.P.
NIDN. 0725118404

**PERNYATAAN KEASLIAN
KARYA TULIS ILMIAH (KTI)**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Rizky Fatma Sofyani

Nim : 14164

Menyatakan bahwa Karya Tulis Ilmiah (KTI) dengan judul **POTENSI EKSTRAK DAUN PAGODA (*Clerodendrum japonicum* Thumb) SEBAGAI ANTIKANKER DENGAN METODE BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BSLT)** benar – benar merupakan hasil karya pribadi dan seluruh sumber yang dikutip dan dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Apabila ternyata di dalam naskah KTI ini dapat dibuktikan terdapat unsur – unsur **PLAGIASI**, saya bersedia KTI ini digugurkan dan gelar akademik yang telah saya peroleh (A.Md. Farm.) dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang – undangan yang berlaku.

(Undang – undang No.20 Tahun 2003, Pasal 25 ayat 2 dan pasal 70).

Malang, 30 Mei 2017
Mahasiswa,



(Rizky Fatma Sofyani)
14146

HALAMAN PERSEMBAHAN

Assalamualaikum wr wb....

Allah SWT, terimakasih atas semua ini.... tiada kalimat lagi yang bisa menggambarkan kebahagiaan seorang **Rizky Fatma** bisa menyelesaikan semua tahapan Karya Tulis Ilmiah ini. Seperti dijelaskan salah satu kutipan ayat **Allah SWT** yaitu "**MAN JADDA WA JADDA**" dimana ada usaha disitu pasti ada jalan.

Terima kasih untuk kedua orangtuaku yaitu **Suparman** dan **Trismiarsih S.Pd.I** yang selalu menjadi kebanggaanku selama ini dan yang memberikanku semangat selama ini.. walau mulai sekarang aku tidak bisa melihat wajah ceriamu ayah.. tapi aku yakin ayah disana pasti bangga melihatku.. Terima kasih untuk kakakku **Rachma Safitri** dan adekku **Ryza Maula** yang sudah mau mendukung proses pengerjaan KTI ini.. dan tak lupa untuk **kekasih** yang mau mengantar kemanapun disaat aku butuh.. Terimakasih juga untuk Dosen pembimbingku ibu **Misgiati** yang sudah membimbing proses KTI ini..

Tak luput juga untuk soulmateku.. para Huru Hara **Sarewok**, **Cindel**, **Gito** yang sudah mau menerima kebingunganku, kegalauanku dan mau menemani disaat praktek hingga larut malam.. Dimsum yang pernah mengedit naskahku.. dan semua keluarga besar **Akfar C** yang telah mengisi album kenangan selama 3 tahun ini hingga terisi senang, sedih, keseruan, hingga ricuh selama kita bersama..

ABSTRAK

Sofyani, Rizky Fatma, 2017. *Potensi ekstrak daun pagoda (Clerodendrum japonicum [Tunb.] Sweet) sebagai antikanker dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*. Karya Tulis Ilmiah. Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang, Pembimbing Dr. Misgiati, A.Md.,M.Pd.

Kata kunci : daun pagoda (*Clerodendrum japonicum* [Tunb.] *Sweet*), Uji Toksisitas akut, *Artemia salina* Leach, LC_{50}

Daun pagoda (*Clerodendrum japonicum* [Tunb.] *Sweet*) merupakan tumbuhan dari family *Verbenaceae*. Tanaman ini mengandung beberapa senyawa aktif sehingga memiliki potensi sebagai antikanker. Tujuan penelitian ini ialah untuk mengetahui potensi toksisitas akut ekstrak etanol daun pagoda terhadap larva *Artemia salina* Leach yang akan ditunjukkan oleh nilai LC_{50} dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Uji ini menggunakan 5 konsentrasi ekstrak yaitu 40 ppm, 52 ppm, 68 ppm, 88 ppm, 114 ppm serta kontrol negatif dengan menggunakan air laut. Tiap konsentrasi berisi 10 ekor larva. Dilakukan dengan 3 kali pengulangan. Kematian larva diamati setelah 24 jam pemberian ekstrak. nilai LC_{50} dari ekstrak etanol daun pagoda adalah 77.62 ppm. Hasil $LC_{50} < 1000$ ppm menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun pagoda bersifat sangat toksik dan memiliki potensi sebagai antikanker.

ABSTRACT

Sofyani, Rizky Fatma, 2017. *The potency of pagoda (Clerodendrum japonicum [Thunb] Sweet) leaf extract as anticancer with BSLT method Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*

Key words: *Clerodendrum japonicum [Thunb] Sweet*, Acute Toxicity Test, *Artemia salina* Leach, LC_{50}

Pagoda leaf (Clerodendrum japonicum [Thunb] Sweet) is a plant from Verbenaceae family. This plant contain some active chemical compounds that have potency as anticancer. The aim of this study is to investigate acute toxicity potency of ethanol extract of pagoda leaf on artemia salina Leach Larva shown by LC_{50} using Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) Method. Five concentrations of extract used in this test: 40 pp, 52 ppm, 68 ppm, 88 ppm, 114 ppm and negative control using sea water. Each concentration contain ten larvae and performed three replications. Death of larva observed 24 hours after giving the extract. LC_{50} of ethanol pagoda leaf is on 77.62 ppm. $LC_{50} < 1000$ ppm showed that ethanol extract of pagoda leaf is very toxic and have potency as anticancer.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah yang berjudul “*Potensi ekstrak daun pagoda (Clerodendrum japonicum [Tunb.] Sweet) sebagai antikanker dengan metode BSLT.*” ini tepat pada waktunya. Adapun tujuan penulisan karya tulis ilmiah ini adalah sebagai persyaratan untuk menyelesaikan program D III di Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang.

Sehubungan dengan terselesainya penulisan karya tulis ilmiah ini, saya mengucapkan terima kasih kepada pihak-pihak, yaitu :

1. Ernanin Dyah Wijayanti.S.Si.,M.P., selaku Direktur Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang
2. Ibu Dr. Misgiati, A.Md.,M.Pd.. selaku dosen pembimbing
3. Ibu Dr. Erna Susanti, M.biomed,Apt dan Bapak Dr. Tri Danang K,S.Si.,Apt selaku dosen penguji
4. Kedua orang tua beserta keluarga yang selalu memberikan doa dan motivasi

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa Karya Tulis Ilmiah ini masih mempunyai beberapa kekurangan. Oleh karena itu, kritik dan saran akan sangat diharapkan. Semoga karya tulis ilmiah ini dapat berguna dan bermanfaat.

Malang, Mei2017

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL LUAR	
HALAMAN JUDUL DALAM	
HALAMAN PENGESAHAN	
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS ILMIAH	
ABSTRAK	i
ABSTRACT	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI.....	iv
DAFTAR TABEL.....	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN.....	viii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian.....	6
1.4 Ruang Lingkup dan keterbatasan Penelitian.....	6
1.5 Definisi Istilah	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	9
2.1 Daun Pagoda (<i>Clerodendrum Japonicum</i> [Thunb.] Sweet).....	9
2.2 Ekstraksi	14
2.3 Kanker	16
2.4 Metode <i>Brine Shrimp Lethality Test</i>	18
2.5 Larva Udang <i>Artemia salina</i> Leach.....	21
2.6 Kerangka Teori.....	28

2.7 Kerangka konsep	31
2.8 Hipotesis Penelitian	32
BAB III METODE PENELITIAN.....	33
3.1 Rancangan penelitian.....	33
3.2 Populasi dan Sampel.....	33
3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian	34
3.4 Definisi Operasional Variabel.....	34
3.5 Alat dan Bahan.....	36
3.6 Prosedur Penelitian.....	37
3.7 Analisis Data	44
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	46
4.1 Hasil Determinasi Tumbuhan	46
4.2 Hasil Pengumpulan dan Pengeringan Bahan	46
4.3 Hasil Maserasi Daun Pagoda	48
4.4 Hasil Skrining Fitokimia.....	49
4.5 Hasil uji KLT ekstrak etanol daun pagoda	53
4.6 Hasil Penetasan Larva Udang	55
4.7 Hasil uji potensi Antikanker dengan Metode BSLT	57
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	64
5.1 Kesimpulan	64
5.2 Saran.....	64
DAFTAR RUJUKAN	66

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kategori Toksisitas	19
Tabel 3.1 Definisi Operasional	35
Tabel 3.2 Tabel Data Hasil Pengamatan	44
Tabel 4.1 Hasil Pengumpulan Daun Pagoda	47
Tabel 4.2 Hasil Uji Skrining Fitokimia.....	50
Tabel 4.3 Hasil Uji KLT Ekstrak Etanol Daun Pagoda	53
Tabel 4.4 Hasil Uji Kematian Larva <i>Artemia salina Leach</i>	57
Tabel 4.5 Hasil Penetapan LC50	58
Tabel 4.6 Hasil Presentasi Kematian Larva Udang	58

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman Pagoda.....	9
Gambar 2.2 Struktur Kimia Senyawa Steroid	12
Gambar 2.3 Struktur Kimia Senyawa Flavonoid.....	13
Gambar 2.4 Morfologi <i>Artemia salina</i> Leach	23
Gambar 2.5 Siklus Hidup <i>Artemia salina</i> Leach	26
Gambar 3.1 Uji Sitotoksik dengan Metode BSLT.....	43
Gambar 4.1 Grafik Hubungan Nilai Probit dengan Log Konsentrasi.....	59

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Surat Keterangan Praktikum.....	67
Lampiran 2 Surat Keterangan Determinasi	68
Lampiran 3 Foto Tumbuhan Pagoda.....	69
Lampiran 4 Proses Pengeringan dan Pengekstrakan Daun Pagoda.....	70
Lampiran 5 Foto skrining fitokimia dari ekstrak etanol daun pagoda	71
Lampiran 6 Foto KLT dari ekstrak etanol daun pagoda	73
Lampiran 7 Foto akuarium untuk uji BSLT	74
Lampiran 8 Perhitungan pembuatan larutan	75
Lampiran 9 Foto proses penetasan larva udang.....	76
Lampiran 10 Foto pengujian antikanker dari ekstrak etanol daun pagoda	77

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Masyarakat pada umumnya sering mengonsumsi makanan instan karena tidak perlu mengolah makanan dengan proses panjang. Makanan instan memiliki efek samping yaitu munculnya penyakit akibat pola makan yang salah. Beragam penyakit yang timbul ada yang ringan maupun yang mematikan mulai dari diabetes, hipertensi, demam berdarah hingga kanker. Salah satu penyakit yang mematikan adalah kanker. Berdasarkan data GLOBOCAN, *International Agency for Research on Cancer (IARC)* diketahui bahwa pada tahun 2012 terdapat 14.067.894 kasus baru kanker dan 8.201.575 kematian akibat kanker di seluruh dunia.

Kanker merupakan suatu penyakit yang disebabkan oleh pertumbuhan sel-sel jaringan tubuh yang tidak normal dan tak terkontrol. Sel-sel tersebut terbentuk karena terjadinya mutasi gen sehingga mengalami perubahan baik bentuk, ukuran, maupun fungsi dari sel tubuh yang asli. Mutasi gen adalah suatu keadaan ketika sel mengalami perubahan sebagai akibat adanya paparan sinar *ultraviolet*, bahan kimia ataupun bahan-bahan yang berasal dari alam (Sukardja, 2000). Sel kanker akan tumbuh menyusup ke jaringan sekitarnya, dan tersebar ke tempat yang lebih jauh melalui pembuluh darah getah bening. Pada akhirnya menyebabkan kematian penderitanya (Sumarno, 2008 ; Herba, 2003). Penyebab penyakit kanker sulit mengetahui secara pasti karena merupakan gabungan dari sekumpulan faktor

genetik dan lingkungan. Namun, menurut Novri Drigantara, (2016) salah satu faktor resiko terjadinya kanker yaitu faktor keturunan, faktor kejiwaan dan emosional, faktor perilaku, faktor makanan yang mengandung bahan kimia. Adanya faktor penyebab munculnya kanker membuat masyarakat takut akan hal tersebut. Namun faktor-faktor tersebut dapat diobati dengan beberapa pengobatan.

Macam-macam pengobatan terhadap kanker telah dilakukan secara intensif, yaitu dengan pembedahan, kemoterapi dan radioterapi. Pembedahan atau operasi adalah tindak pengobatan yang menggunakan cara invasive dengan membuka atau menampilkan bagian tubuh yang akan ditangani. Pembukaan bagian tubuh ini umumnya dilakukan dengan membuka sayatan. Setelah bagian yang ditangani ditampilkan, dilakukan tindak perbaikan yang diakhiri dengan penutupan dan penjahitan luka. Perawatan selanjutnya akan termasuk dalam perawatan pasca bedah (Sjamsuhidajat dan Jong, 2005). Kemoterapi adalah cara pengobatan dengan menggunakan senyawa kimia yang bekerja langsung pada sel kanker. Sistem pengobatan dengan cara ini dapat menimbulkan efek samping pada penderita seperti rambut rontok, kulit kering, dan terbakar, penurunan berat badan, rasa lelah dan sakit pada mulut dan tenggorokan (Junaidi, 2007). Radioterapi adalah terapi dengan menggunakan radiasi. Prinsip dasar yang digunakan dalam radioterapi pada kasus keganasan adalah kemampuannya menimbulkan kerusakan pada setiap molekul yang dilewati. Sel-sel pada materi hidup yang terionisasi akan memancarkan elektron pada struktur ikatan kimia dan mengakibatkan pecahnya molekul-molekul sel sehingga terjadi kerusakan sel (Muhamad TsalisF, 2012). Pengobatan pada penyakit kanker

sebagian besar memberikan efek samping pada penderita yang mengalaminya, oleh karena itu perlu adanya alternatif pengobatan yang efektif dan meminimalkan efek samping, salah satunya menggunakan tumbuhan (Hernani, dan Nurdjanah 2009).

Banyak penelitian-penelitian tentang obat tradisional yang mampu terbukti sebagai pengobatan. Obat tradisional pada umumnya menggunakan tumbuhan sebagai pengobatan berbagai penyakit. Menurut Immy (2015) senyawa metabolit sekunder flavonoid, steroid, alkaloid, tannin, saponin, antrakuinon dan terpenoid memiliki sifat antibakteri, pendenaturasi protein serta mencegah proses pencernaan bakteri, serta sebagai antimikroba dan antivirus.

Senyawa polifenol merupakan senyawa turunan fenol yang terdiri dari asam fenolat dan flavonoid. Senyawa ini mempunyai aktifitas biologis sebagai penangkap radikal bebas sehingga dapat dimanfaatkan sebagai obat melawan penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas seperti penyakit kanker. Senyawa polifenol banyak ditemukan dalam buah, sayuran, kacang-kacangan, sereal, teh, dan anggur (Hernani dan Raharjo, 2004). Bioflavonoid terdiri dari kumpulan senyawa polifenol dengan aktifitas antioksidan cukup tinggi. Dengan kata lain, senyawa flavonoid mempunyai ikatan gula yang disebut glikosida. Flavonoid merupakan antioksidan yang potensial untuk mencegah pembentukan radikal bebas (Hernani dan Raharjo, 2004). Senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tumbuhan memiliki fungsi masing-masing sebagai pengobatan terhadap berbagai penyakit salah satunya sebagai antikanker. Kebanyakan sumber antikanker alami adalah tumbuhan misalnya rempah-rempah, teh, dedaunan, dan sayur-sayuran yang umumnya mengandung senyawa terpenoid,

steroid, serta fenolik yang tersebar di seluruh bagian tumbuhan (Nurhidayah, dkk., 2013).

Tumbuhan obat adalah tumbuhan yang salah satu atau seluruh bagian pada tumbuhan tersebut mengandung zat aktif yang berkhasiat bagi kesehatan yang dapat dimanfaatkan sebagai penyembuh penyakit (Wijayakusuma, 2008). Bagian tanaman yang dimaksud adalah daun, buah, bunga, akar, rimpang, batang (kulit) dan getah (resin). Dalam hal ini peneliti ingin meneliti daun tanaman bunga pagoda (*Clerodendrum Squamatum*) yang dapat digunakan sebagai antikanker karena pada daun bunga pagoda menurut Musa (2010) dengan hasil positif terhadap uji steroid, terpenoid, flavonoid. Pada penelitian lain menyebutkan pada daun pagoda digunakan sebagai induksi ketahanan sistemik tanaman cabai merah terhadap Cucumber Mosaic CMV (Weny,2010) dan dapat sebagai molaritas larva nyamuk *Aedes aegypti* (Nangune,Lasmini.,2013). Namun pada penelitian Indrayani (2006) dengan menggunakan daun pecut kuda dapat digunakan sebagai antikanker karena kandungan senyawa triterpen, flavonoid, tannin, saponin.

Pada penelitian ini menggunakan pelarut etanol 70% sebagai pelarut ekstrak dengan metode maserasi. Pada simplisia daun pagoda dapat dijadikan ekstrak dengan menggunakan cairan pelarut berupa etanol 70%. Cairan pelarut dalam pembuatan ekstrak adalah pelarut yang baik (optimal) untuk kandungan senyawa tersebut agar dapat terpisahkan dari bahan dan kandungan senyawa lainnya, sehingga hanya menggunakan senyawa yang diinginkan. Pelarut etanol bisa digunakan untuk menyari zat yang kepolaran relative tinggi sampai relative rendah, karena etanol merupakan

pelarut universal. Etanol mempunyai kelebihan yaitu lebih selektif, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% keatas, tidak beracun, netral, absorpsinya baik, etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit (Wulandari, Intan, 2011). Pelarut etanol 70% merupakan pelarut polar, sehingga tepat digunakan untuk mengekstrak senyawa fenolik. Pemilihan ekstraksi dengan metode maserasi dikarenakan metode ini adalah metode yang cara penyariannya sederhana (Indraswari, 2008).

Pengujian awal antikanker dapat diuji dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) yaitu menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach sebagai hewan uji. *Artemia salina* Leach merupakan organisme sederhana, mudah berkembang biak dan menetas dalam kondisi normal. Metode *Brine shrimp Lethality Test* (BSLT) merupakan salah satu metode uji yang sederhana dan cepat pada pengujian *biological* dan *toxicological* untuk semua penelitian, khususnya yang berkaitan dengan skrining senyawa aktif ekstrak tanaman (Kanwar, 2007 dalam Nurhidayah 2014).

Uji potensi antikanker dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach atau *Brine Shrimp Lethality* (BSLT) dapat digunakan sebagai uji pendahuluan pada penelitian yang mengarah pada uji sitotoksik. Pada penelitian ini, peneliti menggunakan konsentrasi 40 µg/mL, 52 µg/mL, 68 µg/mL, 88 µg/mL, 114 µg/mL pada ekstrak etanol daun pagoda. Konsentrasi ini didapat dari penelitian sebelumnya yang menggunakan daun tembelean (*Lantana camara* L) dengan family yang sama yaitu Verbeceae. Kaitan antara uji toksisitas akut ini dengan uji sitotoksik adalah jika harga $LC_{50} < 1000$ µg/mL. parameter yang ditunjukkan untuk menunjukkan adanya

aktivitas biologi pada suatu senyawa pada *Artemia salina* Leach adalah kematiannya (Meyer *et a*, 1982 dalam Anisah., 2012).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan pendahuluan diatas, maka rumusan msalah dalam penelitian ini:

- 1.2.1 Apakah dalam ekstrak daun bunga pagoda (*Clerodendrum japonicum*) mempunyai potensi aktivitas sebagai antikanker dengan metode *Brine shrimp Lethality Test* (BSLT)?
- 1.2.2 Berapakah nilai LC₅₀ pada ekstrak daun pagoda (*Clerodendrum japonicum*) yang mempunyai aktivitas antikanker?

1.3 Tujuan Penelitian

- 1.3.1 Mengetahui potensi aktivitas sebagai antikanker dalam ekstrak daun bunga pagoda (*Clerodendrum japonicum*) dengan metode *Brine shrimp Lethality Test* (BSLT).
- 1.3.2 Mengetahui nilai LC₅₀ pada kestrak daun pagoda (*Clerodendrum japonicum*) yang mempunyai aktivitas antikanker.

1.4 Ruang Lingkup dan Keterbatasan penelitian

1.4.1 Ruang lingkup

Ruang lingkup dalam penelitian ini yaitu pengumpulan daun pagoda (*Clerodendrum japonicum*) pada pekarangan rumah di Arjosari Malang.

Senyawa kimia yang terkandung diperoleh dengan ekstraksi dari daun pagoda (*Clerodendrum japonicum*) menggunakan metode maserasi dengan cairan pelarut etanol 70%. Potensi antikanker dari ekstrak daun pagoda menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)* dengan mengamati kematian larva *Artemia salina* Leach dengan pemberian konsentrasi 40 µg/mL, 52 µg/mL, 68 µg/mL, 88 µg/mL, 114 µg/mL, kemudian menghitung nilai LC₅₀

1.4.2 Keterbatasan penelitian

Keterbatasan dalam penelitian ini adalah sampel daun pagoda yang hanya diambil didaerah Arjosari Malang dengan pengambilan yang tidak melihat umur daun. Disamping itu tidak melakukan replikasi ekstrak 3 kali.

1.5 Definisi Istilah

1. Potensi

Potensi adalah sesuatu hal yang dapat dijadikan sebagai bahan atau sumber yang akan dikelola baik melalui usaha yang dilakukan manusia maupun yang dilakukan melalui tenaga mesin dalam pengerjaannya potensi dapat juga diartikan sebagai sumber daya yang ada disekitar kita.

2. Ekstrak Daun Pagoda

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstrak zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk

yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan.

3. Antikanker

Antikanker merupakan senyawa atau zat yang dapat digunakan sebagai penghambat maupun sebagai membunuh sel kanker.

4. Metode *Brine Shrimp Lethality Test*

Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) adalah salah satu metode awal penemuan senyawa antikanker dengan cara pemberian ekstrak terhadap larva udang *Artemia salina* Leach kemudian diamati jumlah kematiannya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Daun Bunga Pagoda (*Clerodendrum Japonicum* [Thunb.] Sweet)

Tanaman daun bunga pagoda umumnya merupakan salah satu tanaman hias yang biasa ditanam dipekarangan rumah. Tanaman ini merupakan tanaman perdu meranggas, tinggi 1-3 m, batangnya dipenuhi rambut halus. Daun tunggal, bertangkai, dan letaknya berhadapan. Helaian daun berbentuk bulat telur melebar, pangkal daun berbentuk jantung, daun tua bercangap menjari, panjangnya dapat mencapai 30 cm, bunganya majemuk berwarna merah, terdiri dari bunga-bunga kecil yang berkumpul membentuk piramida dan keluar dari ujung tangkai, buahnya berbentuk bulat. Bunga pagoda dapat diperbanyak dengan biji. Bunga pagoda ini merupakan tanaman obat yang berkhasiat untuk berbagai macam penyakit pada manusia. Rasa daunnya manis, asam, agak kelat, dan bersifat netral (Kurnianingsih, 2010).



Gambar 2.1 Tanaman pagoda (*Clerodendrum Japonicum* [Thunb.] Sweet)

2.1.1 Morfologi

Clerodendrum japonicum umumnya ditanam di taman, pekarangan rumah, atau di tepi jalan daerah luar kota sebagai tanaman hias. Tanaman ini merupakan tanaman perdu meranggas, tinggi 1-3 m, batangnya dipenuhi rambut halus. Daun tunggal, bertangkai, dan letaknya berhadapan. Helaian daun berbentuk bulat telur melebar, pangkal daun berbentuk jantung, daun tua bercangap menjari, panjangnya dapat mencapai 30 cm, bunganya majemuk berwarna merah, terdiri dari bunga-bunga kecil yang berkumpul membentuk piramida dan keluar dari ujung tangkai, buahnya berbentuk bulat. Bunga pagoda dapat diperbanyak dengan biji. Bunga pagoda ini merupakan tanaman obat yang berkhasiat untuk berbagai macam penyakit pada manusia. Daun rasanya manis, asam, agak kelat, dan bersifat netral. Kandungan yang terdapat pada daun bunga pagoda yaitu steroid, flavonoid, alkaloid, polifenol (Musa, 2010).

2.1.2 Taksonomi

Clerodendrum adalah salah satu genus dari tanaman pagoda yang merupakan family dari verbenaceae. Klasifikasi (*Clerodendrum japonicum* [Thunb.]Sweet) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)

Sub Kingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)

Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)

- Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
- Kelas : Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
- Sub Kelas : Asteridae
- Ordo : Lamiales
- Family : Verbenaceae
- Genus : Clerodendron
- Spesies : *Clerodendrum japonicum* [Thunb.] Sweet
- Nama Umum : Bunga pagoda (Indonesia), Bunga panggil, bunga pluin (Melayu),
Bunga pagoda (Jawa), Senggugu, Tumbak raja (Bali).

Clerodendrum merupakan spesies tanaman yang berasal dari family Verbeceae. Bunga pagoda ini mempunyai naman lain sesuai dengan daerahnya. Di Bali bunga pagoda ini disebut dengan senggugu atau tumbak raja. Nama simplisianya *clerodendri japonica* Radix (akar bunga pagoda) dan *Clerodendri japonica* Flos (bunga pagoda). Sebenarnya nama Latin dari bunga pagoda ini yaitu *Clerodendrum japonicum* [Thunb.] Sweet. Spesies ini juga sinonim dengan *C. kaempferi* (Jacq.) Sleb., *C. paniculatum* L., dan *Volkameria japonica* Thunb. (Lulu Kurniangsih, 2010).

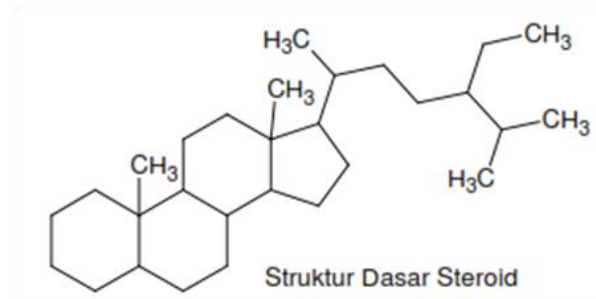
2.1.3 Kandungan senyawa

Pada setiap bagian tumbuhan pasti mempunyai kandungan senyawa yang mempunyai khasiat atau manfaat sehingga dapat digunakan sebagai obat. pada daun

bunga pagoda juga memiliki kandungan senyawa antara lain senyawa alkaloid, saponin, polifenol, flavonoid. Adapun penjabaran dari senyawa tersebut yaitu

a. Senyawa steroid

Steroid merupakan salah satu golongan senyawa etabolit sekunder yang cukup penting dalam bidang medis. Beberapa jenis senyawa steroid yang digunakan dalam dunia obat-obatan antara lain esterogen. Esterogen merupakan jenis steroid hormon seks yang digunakan untuk kontrasepsi sebagai penghambat ovulasi, progestin yang merupakan steroid sintetik digunakan untuk mencegah keguguran dan uji kehamilan, glukokortikoid sebagai anti inflamasi, alergi, demam, leukemia (Praman dan Saleh, 2013).

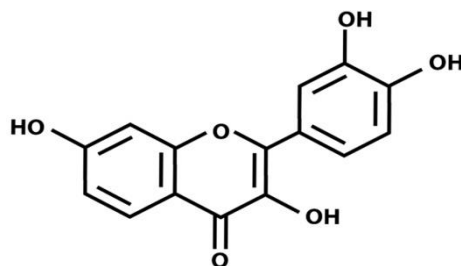


Gambar 1. Skruktur kimia steroid (sumber: Robinson, 1995)

b. Senyawa flavonoid

Senyawa flavonoid adalah senyawa polifenol yang mempunyai 15 atom karbon yang tersusun dalam konfigurasi C₆-C₃-C₆, yaitu dua cincin aromatic yang dihubungkan oleh 3 atom karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga. Tumbuhan yang mengandung flavonoid banyak

dipakai dalam pengobatan tradisional. Hal tersebut disebabkan flavonoid mempunyai berbagai macam aktivitas terhadap macam-macam organisme (Robinson, 1995). Mekanisme flavonoid sebagai antikanker ada beberapa teori. Pertama, flavonoid sebagai antioksidan yaitu melalui mekanisme pengaktifan jalur apoptosis sel kanker. Mekanisme apoptosis sel pada teori ini akibat fragmentasi DNA. Fragmentasi ini diawali dengan dilepasnya rantai proksimal DNA oleh senyawa oksigen reaktif seperti radikal hidroksil. Kedua, flavonoid sebagai antioksidan. Ketiga, flavonoid sebagai penghambat proliferasi tumor/kanker yang salah satunya dengan menghibisi aktifitas protein kinase sehingga menghambat jalur transduksi sinyal dari membrane ke sel inti. Keempat, dengan menghambat aktivitas reseptor tirosin kinase. Karena aktivitas reseptor tirosin kinase yang meningkat berperan dalam pertumbuhan keganasan. Kelima, flavonoid berfungsi juga untuk mengurangi resistensi tumor terhadap agen kemoterapi (Rolliana, 2010).



Gambar 2. Struktur kimia senyawa flavonoid (Redha, 2010)

c. Senyawa Polifenol

Senyawa polifenol adalah kelompok zat kimia yang ditemukan pada tumbuhan. Zat ini memiliki tanda khas yakni memiliki banyak gugus fenol

dalam molekulnya. Polifenol merupakan senyawa fenolik sehingga semua menunjukkan serapan kuat di daerah spektrum ultraviolet. Selain itu, secara khas senyawa fenol menunjukkan geseran beraturan pada spektrumnya bila ditambahkan basa.

Polifenol memiliki sifat antioksidan lebih baik dibandingkan vitamin-vitamin. Antioksidan adalah zat yang mudah bereaksi dengan radikal bebas, sehingga oksidasi terhadap zat yang dilindunginya tidak terjadi. Sebagai antioksidan, polifenol bekerja dengan tiga cara, yaitu: (1) polifenol mencegah radikal bebas merusak DNA dan menghentikan perkembangan sel-sel yang liar menjadi kanker sejak dini; (2) polifenol mampu mengontrol pertumbuhan sel-sel yang tak terkendali dan menghambat perkembangan kanker; dan (3) polifenol tertentu dapat menghancurkan kanker tanpa merusak kanker tanpa merusak sel-sel di sekitarnya (Anonim, 2010).

2.2 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan zat aktif yang dapat larut dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Hasil dari ekstraksi adalah ekstrak yang merupakan berwujud seperti pasta kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani setelah pelarutnya diuapkan. (Arry. Dkk., 2011).

Syarat utama penggunaan pelarut untuk ekstraksi senyawa organik yaitu nontoksik dan tidak mudah terbakar (*nonflammable*) walaupun persyaratan ini sangat sulit untuk dilaksanakan. Pelarut untuk ekstraksi senyawa organik terbagi menjadi golongan pelarut yang memiliki densitas lebih rendah dari pada air dan pelarut yang memiliki densitas lebih tinggi daripada air. Kebanyakan pelarut senyawa organik termasuk dalam pelarut golongan pertama, seperti, misalnya dietil eter, etil asetat, dan hidrokarbon (*light petroleum*, heksan dan toluen). Pelarut yang mengandung senyawa klorin seperti diklorometan adalah pelarut yang termasuk dalam golongan pelarut kedua. Pelarut ini memiliki toksisitas yang rendah tetapi mudah membentuk emulsi. Beberapa pelarut yang biasa digunakan untuk ekstraksi diantaranya adalah metanol, etanol, etil asetat, aseton dan asetonitril dengan air dan atau HCL. (Arry. Dkk., 2011).

2.2.1 Maserasi

Maserasi dipilih sebagai metode ekstraksi pada penelitian ini. Maserasi merupakan cara penyarian sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari . cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat akan didesak ke luar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Anonim. 1986 dalam Sugianti, 2007).

Maserasi pada umumnya dilakukan dengan memasukkan 10 bagian simplisia dengan derajat halus yang cocok ke dalam bejana kemudian dituangi 75 bagian cairan

penyari, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari terlindungi dari cahaya, sambil berulang-ulang diaduk. Setelah 5 hari sari dikerai, sehingga diperoleh seluruh sari sebanyak 100 bagian. Bejana ditutup, dibiarkan di tempat sejuk, terlindung dari cahaya selama 2 hari, kemudian endapan dipisahkan. Penggunaan mesin pengaduk yang berputar terus menerus dapat mempersingkat waktu maserasi menjadi 6-24 jam. (Anonim, 1986 dalam Sugianti, 2007).

2.3 Kanker

kanker adalah sekelompok penyakit yang ditandai dengan pertumbuhan tidak terkendali sel tubuh tertentu yang berakibat merusak sel dan jaringan tubuh lain, bahkan sering berakhir dengan kematian. Karena sifatnya demikian “ganas” (tumbuh tak terkendali dan berakibat kematian), maka kanker juga disebut sebagai penyakit keganasan, dan sel kanker disebut juga sel ganas. Semua sel tubuh dapat terkena kanker, kecuali rambut, gigi dan kuku (Hendry,dkk 2007).

Kanker merupakan penyakit atau kelainan pada tubuh sebagai akibat dari sel-sel tubuh yang tumbuh dan berkembang abnormal, diluar batas kewajaran dan sangat liar. Keadaan kanker terjadi jika sel-sel normal berubah dengan pertumbuhan yang sangat cepat, sehingga tidak dapat dikendalikan oleh tubuh dan tidak berbentuk. Kanker dapat terjadi disetiap bagian tubuh. Bila kanker terjadi di bagian permukaan tubuh, akan mudah diketahui dan diobati. Namun bila terjadi di dalam tubuh, kanker

itu akan sulit diketahui dan kadang-kadang tidak memiliki gejala. Kalupun timbul gejala, biasanya sudah stadium lanjut sehingga sulit diobati (Iskankdar, 2007).

2.3.1 Pengobatan Kanker

Pengobatan kanker dapat dilakukan secara medis maupun secara tradisional. Pengobatan secara medis misalnya dengan pembedahan, radioterapi dan kemoterapi.

a. Pembedahan

Pembedahan atau operasi adalah tindak pengobatan yang menggunakan cara invasif dengan membuka atau menampilkan bagian tubuh yang akan ditangani. Pembukaan bagian tubuh ini umumnya dilakukan dengan membuka sayatan. Setelah bagian yang ditangani ditampilkan, dilakukan tindak perbaikan yang diakhiri dengan penutupan dan penjahitan luka. Perawatan selanjutnya akan termasuk dalam perawatan pascabedah (Sjamsuhidayat & Jong, 2005).

b. Radioterapi

Salah satu penggunaan sinar X dalam bidang kedokteran adalah sebagai alat bantu diagnostik dan terapi. Terapi dengan menggunakan radiasi disebut radioterapi yang juga merupakan salah satu cara dalam usaha menanggulangi kanker.(M.Tsalis, 2012).

c. Kemoterapi

Kemoterapi adalah cara pengobatan tumor dengan memberikan obat pembasmi sel kanker (disebut sitostatika) yang diminum ataupun yang diinfuskan ke pembuluh darah. Jadi, obat kemoterapi menyebar ke seluruh

jaringan tubuh, dapat membasmi sel-sel kanker yang sudah menyebar luas di seluruh tubuh. Karena penyebaran obat kemoterapi luas, maka daya bunuhnya luas, efek sampingnya biasanya lebih berat dibandingkan dua modalitas pengobatan terdahulu (Hendry,dkk 2007).

d. Bahan Alam

Pengobatan selain dengan bahan kimia dapat juga dengan menggunakan bahan alam sebagai pengobatan penyakit kanker. Di berbagai belahan dunia tumbuhan obat telah banyak digunakan untuk pengobatan kanker, baik sebagai pencegahan maupun pengobatan. Tanaman yang digunakan adalah yang mengandung senyawa atau substansi seperti karotenoid, vitamin C, selenium, serat dan komponen-komponennya, dithiolthiones, isotiosianat, indol, fenol, inhibitor protease, senyawa aliin, fitosterol, fitoestrogen dan limonene (Mat'at, 2003).

2.4 Metode *Brine Shrimp Lethality Test*

Brine Shrimp Lethality Test merupakan salah satu metode pengujian awal aktifitas antikanker suatu senyawa dengan menggunakan hewan uji *Artemia salina* L. selama 24 jam. Pengujian dengan hewan uji artemia ini dapat digunakan sebagai uji pendahuluan pada penelitian yang mengarahkan pada uji sitotoksik karena ada kaitan uji toksisitas akut dengan uji sitotoksik jika harga LC_{50} dari uji toksisitas akut lebih kecil dari $1000\mu\text{g/ml}$. parameter yang digunakan untuk menunjukkan adanya aktivitas biologis suatu senyawa pada artemia adalah kematian (Sugianti, 2007).

Tingkat toksisitas dari ekstrak dapat ditentukan dengan melihat harga LC_{50} . Nilai LC_{50} dihitung dengan analisis probit. Dari presentase data kematian larva artemia dikonversikan ke nilai probit untuk menghitung harga LC_{50} . Apabila harga $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/ml}$ maka senyawa dapat dikatakan toksik. Apabila pengujian dengan larva artemia menghasilkan harga $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/ml}$ maka dapat dilanjutkan dengan pengujian antikanker menggunakan biakan sel kanker. Cara ini akan menghemat waktu dan biaya penelitian (Meyer *et al.*, 1982). Metode ini juga masih sering digunakan pada tahun-tahun terakhir di berbagai negara. (Sugianti, 2007).

Senyawa kimia memiliki potensi bioaktif jika mempunyai nilai LC_{50} kurang dari $1.000 \mu\text{g/ml}$ (Meyer *et al.* 1982).

Tabel 2.1 : Kategori Toksisitas

Nilai LC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	Tingkat Toksisitas
0 – 250	Sangat toksik
250 – 500	Toksik
500 – 750	Sedang
750 – 1000	Tidak toksik

Sumber : Aderson, 1991 dalam Tri Reskiyanti Aras, 2013

Uji BSLT dengan menggunakan larva udang *A. salina* dilakukan dengan menetasakan telur-telur tersebut dalam air laut yang dibantu dengan aerasi. Telur *A. salina* akan menetas sempurna menjadi larva dalam waktu 24 jam. Larva *A. salina*

yang baik digunakan untuk uji BSLT adalah yang berumur 48 jam sebab jika lebih dari 48 jam dikhawatirkan kematian *A. salina* bukan disebabkan toksisitas ekstrak melainkan oleh terbatasnya persediaan makanan (Meyer *et al.*, 1982). Kista ini berbentuk bulatan-bulatan kecil berwarna kelabu kecoklatan dengan diameter berkisar 200-300 μm . kista berkualitas baik, apabila diinkubasi dalam air berkadar garam 5-7 permil akan menetas sekitar 18-24 jam. *A. salina* yang baru menetas disebut nauplius, berwarna orange, berbentuk bulat lonjong dengan panjang sekitar 400 mikron, lebar 170 mikron dan berat 0,002 mg. Nauplius berangsur-angsur mengalami perkembangan dan perubahan morfologis dengan 15 kali pergantian kulit hingga menjadi dewasa. Pada setiap pergantian kulit disebut instar (Mudjiman 1995 dalam Nurhidayah 2014).

Keunggulan penggunaan larva udang *A. salina* untuk uji BSLT ini ialah sifatnya yang peka terhadap bahan uji, waktu siklus hidup yang lebih cepat, mudah dibiakkan dan harganya yang murah. Sifat peka *A. salina* kemungkinan disebabkan oleh keadaan membran kulitnya yang sangat tipis sehingga memungkinkan terjadinya difusi zat dari lingkungan yang mempengaruhi metabolisme dalam tubuhnya. *A. salina* ditemukan hampir pada seluruh permukaan perairan di bumi yang memiliki kisaran salinitas 10-20g/l, hal inilah yang menyebabkannya mudah dibiakkan. Larva yang baru saja menetas berbentuk bulat lonjong dan berwarna kemerah-merahan dengan panjang 400 μm dengan berat 15 μg . anggota badannya terdiri dari sepasang sungut kecil (anteluena atau antenna I) dan sepasang sungut besar (antenna atau antenna II). Di bagian depan ini antara kedua sungut kecil tersebut terdapat bintik

merah yang berfungsi sebagai mata (oselus). Di belakang sungut besarnya terdapat sepasang mandibula (rahang) yang kecil, sedangkan di bagian perut (*ventral*) sebelah depan terdapat labrum (Mudjiman 1988 dalam Arifuddin 2013).

2.5 Larva udang *Artemia salina* Leach

Artemia termasuk dalam family Artemidae. *Artemia* merupakan udang-udangan tingkat rendah yang hidup sebagai zooplankton, yang menghuni perairan-perairan yang berkadar garam tinggi (*salina*). Baik keadaan tubuh maupun tingkah lakunya menunjukkan bahwa *artemia* tidak mempunyai alat atau cara untuk mempertahankan diri terhadap serangan musuh-musuhnya. Penyesuaian hidupnya di perairan berkadar garam tinggi merupakan suatu perlindungan alam sehingga mereka bebas dari pemangsanya. Karena di perairan yang demikian, para pemangsanya (ikan, udang, serangga, dan lainnya) sudah tidak dapat hidup lagi (Mudjiman, 1989 dalam Sugianti, 2007).

Secara lengkap sistematika *Artemia* dapat dijelaskan sebagai berikut:

Kingdom : Animalia
Filum : Arthropoda
Subfilum : Crustacea
Kelas : Branchiopoda
Subkelas : Sarsostraca

Ordo : Anostraca
Famili : Artemiaadae
Genus : Artemia
Spesies : *Artemia salina* Leach, (Reskianingsih, 2014)

2.5.1 Morfologi Artemia

Artemia salina Leach adalah hewan uji yang sering digunakan yang biasa disebut *brine shrimp Artemia*. Hewan ini adalah sejenis udang-udangan primitive. Udang ini pertama kali ditemukan oleh seorang Geografer dari Iran pada tahun 982 di Danau Urnia, lalu oleh Schlosser pada tahun 1976. Kemudian pada tahun 1758 diberi nama *Cancer salinus* oleh Linnaeus, dan yang terakhir 61 tahun berikutnya nama udang tersebut diganti menjadi *Artemia salina* oleh Leach pada tahun 1819. *Artemia salina* Leach hidup sebagai plankton di perairan dengan kadar garam yang tinggi sekitar 15-300 per mil. Suhu sekitar 25-30⁰C, lalu kadar oksigen sekitar 3 mg/L dan hidup pada daerah dengan pH 7,3-8,4. Untuk mekanisme pertahanan hidupnya *Artemia salina* Leach hanya mengandalkan lingkungan sekitar, dimana hewan ini dapat hidup pada kondisi air dengan kadar garam yang tinggi sehingga pemangsanya tidak dapat bertahan hidup pada kondisi tersebut (Reskianingsih, 2014).

Artemia salina Leach dewasa memiliki panjang tubuh umumnya sekitar 8-10 mm bahkan mencapai 15 mm tergantung lingkungan. Tubuhnya memanjang terdiri sedikitnya 20 segmen dan dilengkapi kira-kira 10 pasang *phyllopodia* pipih, yaitu bagian tubuh yang menyerupai daun yang bergerak dengan ritme teratur. *Artemia*

salina Leach dewasa berwarna putih pucat, merah muda, hijau, atau transparan dan biasanya hanya hidup beberapa bulan. Memiliki mulut dan sepasang mata pada antenanya (Esmilie, 2003). Telur *Artemia salina* Leach berbentuk bulat berlekuk dalam keadaan kering dan bulat penuh dalam keadaan basah. Warnanya coklat dan diselubungi oleh cangkang yang tebal dan kuat. Cangkang ini berfungsi untuk melindungi embrio terhadap pengaruh kekeringan, benturan keras, sinar ultraviolet dan mempermudah pengapungan (Opinion, 2008 dalam Nisfi, 2010).

Artemia salina Leach merupakan salah satu komponen penyusun ekosistem laut yang keberadaannya sangat penting untuk perputaran energy dalam rantai makanan.



Gambar 2.2 Morfologi *Artemia salina* Leach (Reskianingsih, 2014)

2.5.2 Lingkungan Hidup *Artemia salina* Laech

Artemia tidak dapat bertahan hidup pada suhu kurang dari 6⁰ C atau lebih dari 35⁰ C, tetapi hal ini sangat tergantung pada ras dan kebiasaan tempat hidup mereka. Pertumbuhan artemia yang baik berkisar pada suhu antara 25⁰C-30⁰C. daya tahan artemia terhadap perubahan kandungan ion-ion natrium dibandingkan dengan ion kalium di dalam air laut alami adalah 28, maka artemia masih dapat bertahan pada perbandingan antara 8-173 (Mudjiman, 1989 dalam Sugianti, 2007).

Pada perkembangan artemia yang baik, mereka membutuhkan kadar garam air yang tinggi sebab pada kadar garam yang tinggi itu musuh-musuhnya sudah tidak dapat hidup lagi, sehingga mereka akan dapat hidup lebih aman tanpa gangguan. Pada pertumbuhan telur, ternyata dibutuhkan air yang kadar garamnya lebih rendah dari pada suatu batas tertentu. Batas ini berlainan untuk setiap jenis artemia. Secara umum, apabila kadar garam air lebih tinggi dari 85 permil, maka telur tidak akan dapat menetas karena tekanan osmosis di luar telur lebih tinggi sehingga telur tidak dapat menyerap air yang cukup untuk proses metabolismenya yang semula berada dalam keadaan *diapauze*. (Mudjiman, 1989 dalam Sugianti, 2007).

Artemia dapat hidup dan menyesuaikan diri pada tempat yang kadar oksigennya rendah atau mengalami kejenuhan oksigen. Pengaruh pH terhadap kehidupan artemia muda dan dewasa belum jelas namun berpengaruh terhadap penetasan *siste*. Apabila pH untuk penetasan kurang dari 8, maka efisiensi penetasan akan menurun. *Siste* banyak yang tidak menetas atau waktu penetasan lebih panjang (Mudjiman, 1989 dalam Sugianti, 2007).

Pada lingkungan hidup dari *Artemia salina* Leach harus sesuai dengan: (Reskianingsih, 2014)

- a. Suhu yang tidak kurang dari 6⁰C dan lebih dari 35⁰C karena spesies ini tidak bisa hidup pada suhu tersebut. Suhu terbaik 25-30⁰C.
- b. Kadar garam yang tinggi adalah salah satu pertahanan diri untuk larva. Air dengan kadar garam yang bisa menjadi tempat artemia berkisar 2,9-3,5% (*seawater*) sampai 25-35% (*the great salt lake*) bahkan masih ada yang

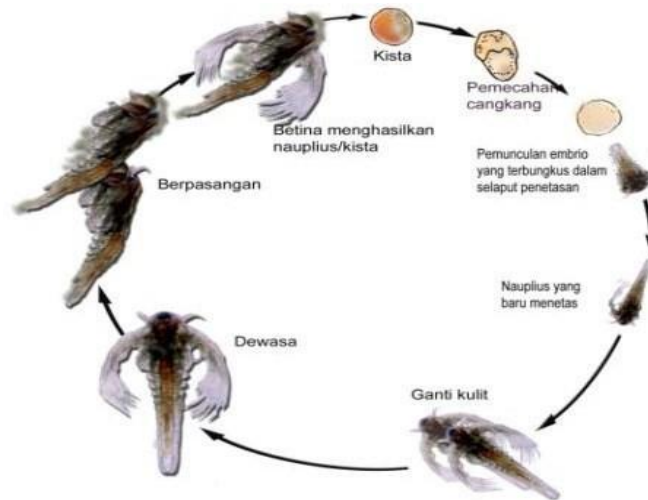
bisa hidup pada kadar garam 50%. Kadar garam pada air yang digunakan untuk hidrasi kista yaitu sekitar 5%-70%.

- c. Oksigen dibutuhkan kista agar perkembangan embrio menjadi baik. Kadar oksigen minimal adalah 3 ppm. Baik untuk hidrasi kista maupun perawatan kista hingga menjadi artemia dewasa.
- d. Saat penetasan dilakukan maka dibutuhkan pula penyinaran pada wadah penetasan. Hal ini dilakukan dengan alasan bahwa cahaya juga dapat merangsang pengaktifan dari perkembangan embrio dalam kista. Selain itu, pada dasarnya perilaku dari udang artemia ini yaitu bersifat fototaksis yang berarti menyukai cahaya. Hal ini yang menyebabkan ketika siang hari udang-udang ini akan terlihat pada permukaan air atau mendekati ke arah cahaya
- e. selain hal di atas, perlu diperhatikan juga pH pada air laut yang digunakan. Hal ini berguna pada enzim-enzim yang bekerja pada metamorphosis dari artemia. Dimana enzim-enzim yang bekerja secara optimum pada pH 8,0-9,0

2.5.3 Siklu hidup artemia

Menurut Reskianingsih.,2014 *Artemia salina Leach* secara umum memiliki 3 fase yaitu fase telur, larva (*nauplii*) dan artemia dewasa. Telur *Artemia salina Leach* atau biasa disebut kista memiliki bentuk bulat dengan ukuran 0,2-0,3 mm. kemudian akan berubah menjadi larva. Telur yang memiliki kualitas yang baik akan menetas

setelah dimasukkan ke dalam air laut atau air dengan kadar garam yang tinggi selama 18-24 jam.



Gambar 2.3 siklus hidup *Artemia salina* Leach

Pada tahapan penetasan *Artemia* yang terjadi adalah hidrasi sehingga akan menjadi bulat dan embrio yang di dalamnya akan menjadi aktif sehingga sekitar 24 jam kemudian cangkang kista akan pecah dan munculah embrio yang masih dibungkus dengan selaput dan disebut nauplii. Nauplii tingkat I disebut Instar I. Instar I yang baru menetas berbentuk bulat lonjong dengan ukuran panjang 400 mikron dan lebar 170 mikron serta beratnya 0,002 mg. pada awalnya nauplii akan berwarna orange kecoklatan karena masih mengandung kuning telur. Selain itu, pada fase ini nauplii tidak akan makan, karena mulut dan anusnya belum terbentuk dengan sempurna. Lalu kemudian setelah 12-24 jam menetas, para nauplii ini akan melakukan pembelahan menjadi tahap instar II dan akhirnya memulai makan (Reskianingsih, 2014). Kemudian selanjutnya akan terus bermetamorfosis menjadi

nauplii ke tingkat lebih tinggi. Pada tahap instar III akan terbentuk sepasang mata majemuk dan akan berangsur-angsur tumbuh tunas-tunas kakinya. Setelah menjadi instar III, instar IV, instar V hingga sampai instar XV dan kemudian menjadi dewasa. Biasanya waktu yang dibutuhkan menjadi larva dewasa adalah 2 minggu.

Pada saat dewasa, memiliki panjang tubuh umumnya sekitar 8-10 mm, tapi ada juga yang mencapai 15 mm. terdiri dari 20 segmen dan 10 pasang *phyllopodia* pipih yang merupakan alat gerak menyerupai daun dan bergerak dengan ritme yang teratur. Pada saat dewasa *Artemia salina Leach* berwarna putih pucat, merah muda, hijau atau transparan dan hanya dapat bertahan hidup dalam hitungan bulan.

Selain itu, *Artemia* yang telah dewasa memiliki morfologi yang lebih sempurna dan lebih mirip dengan udang kecil, panjang badannya sekitar 1 cm dengan kaki yang dilengkapi dengan 10 pasang *torakopoda* yang merupakan alat gerak dari *Artemia*. *Artemia* dewasa baik jantan maupun betina memiliki sepasang antena, dimana antena I berfungsi sebagai alat peraba dan antena II untuk jantan berfungsi sebagai alat bantu dalam perkawinan dengan *artemia* betina sedangkan antena II untuk betina tetap berfungsi sebagai alat peraba juga. Pada daerah belakang kaki *torakopoda*, *artemia* jantan memiliki penis sedangkan pada betina memiliki sepasang ovarium yang masing-masing letaknya disebelah kanan dan kiri saluran pencernaanya.

2.5.4 Penggunaan larva udang pada Metode BSLT

Suatu metode uji hayati yang tepat dan murah untuk skrining dalam menentukan toksisitas suatu ekstrak tanaman aktif dengan menggunakan hewan uji *Artemia salina* Leach. *Artemia* sebelumnya telah digunakan dalam bermacam-macam uji hayati seperti uji pestisida, polutan, mikotoksin, anestetik, komponen seperti morfin, kekarsinogenikan dan toksikan dalam air laut. Uji dengan organisme ini sesuai untuk aktifitas farmakologi dalam ekstrak tanaman yang bersifat toksik. Penelitian menggunakan *Artemia salina* memiliki beberapa keuntungan antara lain cepat, mudah, murah dan sederhana. Selain itu, *Artemia* telah digunakan oleh Pusat Kanker Purdue, Universitas Purdue di Lafayette untuk senyawa aktif tanaman seara umum dan tidak spesifik untuk zat antikanker. Namun demikian hubungan yang signifikan dari sampel yang bersifat toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach ternyata juga mempunyai aktifitas sitotoksik. Berdasarkan hal tersebut maka larva *Artemia salina* Leach dapat digunakan untuk uji toksisitas (Baraja, 2008).

2.6 Kerangka Teori

Penyakit yang timbul pada masyarakat mulai dari penyakit yang sedang hingga berat. Penyakit berat ini seperti penyakit jantung, diabetes militus, demam berdarah hingga penyakit kanker. Kanker merupakan suatu penyakit yang disebabkan oleh pertumbuhan sel-sel jaringan tubuh yang tidak normal dan tak terkontrol. Sel kanker akan tumbuh menyusup ke jaringan sekitarnya dan tersebar lebih jauh melalui

pembuluh darah getah bening hingga mengakibatkan kematian pada penderitanya (Sumarno, 2008 : Herba, 2003). Penyakit kanker ini dapat diobati dengan berbagai macam yaitu dengan cara pembedahan, kemoterapi, radioterapi, dan bahan alam. Bahan alam yang digunakan pada penelitian ini yaitu daun pagoda (*Clerodendrum Japonicum*).

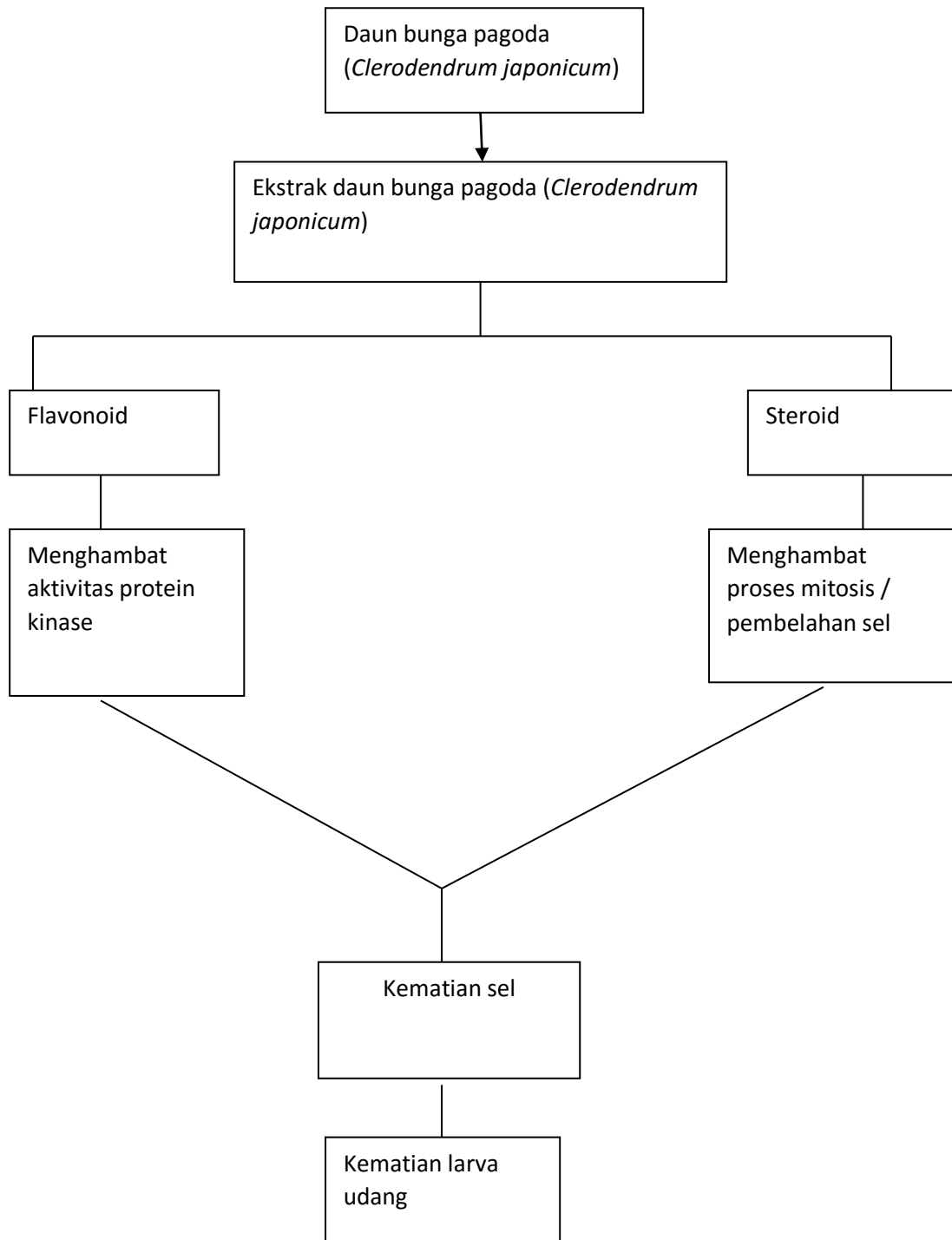
Tanaman pagoda (*Clerodendrum Japonicum*) merupakan salah satu tanaman hias yang biasa ditanam di pekarangan rumah dan di pinggir jalan. Selain digunakan sebagai tanaman hias, tanaman ini juga mempunyai banyak manfaat sehingga digunakan sebagai obat tradisional mulai pemanfaatan akar, daun, hingga bunganya yang mempunyai manfaat tersendiri bagi kesehatan tubuh. Khasiat pada daun pagoda ini dapat dijadikan obat penyakit anemia, keputihan, dan dapat dijadikan sebagai obat antikanker. Hal ini dikarenakan pada daun bunga pagoda terdapat senyawa steroid, terpenoid, dan flavonoid yang dapat di uji potensi antikankernya

Kandungan pada daun bunga pagoda *Clerodendrum Japonicum* menurut Musa (2010) yaitu steroid, terpenoid, dan flavonoid. Senyawa flavonoid ini dapat sebagai antikanker karena menurut Robinson (1995) flavonoid mempunyai berbagai macam aktivitas terhadap macam-macam organisme. Mekanisme kerja flavonoid sebagai penghambat proliferasi tumor/kanker yang salah satunya dengan menghibisi aktifitas protein kinase sehingga menghambat jalur transduksi sinyal dari membrane ke sel inti. Selain senyawa flavonoid, terpenoid juga dapat digunakan sebagai antikanker. Hal ini karena senyawa terpenoid dapat memblok siklus sel pada fase G2/m dengan menstabilkan benang-benang *spindle* pada fase mitosis sehingga

menyebabkan proses mitosis terhambat. Selain itu, menurut Setiawati.,dkk (2007) bahwa terpenoid dapat menghambat enzim di dalam inti sel yang mampu memodifikasi topologi DNA. Pada senyawa steroid dapat menghambat pertumbuhan enzim di dalam inti sel pada DNA.

Hasil ekstrak daun bunga pagoda (*Clerodendrum Japonicum*) ini didapat dari proses maserasi daun dengan menggunakan etanol 70% yang kemudian dikentalkan menggunakan evaporator agar dapat memisahkan pelarut pada ekstrak tersebut. Setelah itu ekstrak kental yang didapat di uji antikanker dengan konsentrasi 40 $\mu\text{g/mL}$, 52 $\mu\text{g/mL}$, 68 $\mu\text{g/mL}$, 88 $\mu\text{g/mL}$, 114 $\mu\text{g/mL}$. Pengujian potensi antikanker ini menggunakan hewan uji larva udang *Artemia salina* Leach dengan metode BSLT. Larva udang yang digunakan melalui tahap penetasan hingga pemeliharaan larva pada umur 48 jam.

2.7 kerangka Konsep



2.8 Hipotesis Penelitian

Ekstrak daun pagoda (*Clerodendrum japonicum* [Tunb.] Sweet) mempunyai potensi aktivitas sebagai antikanker dengan metode BSLT.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian yang dilakukan untuk menguji potensi ekstrak daun pagoda sebagai antikanker dengan metode BSLT merupakan penelitian eksperimental.

Penelitian ini meliputi tiga tahap kerja. Pertama, tahap persiapan meliputi determinasi daun pagoda, persiapan daun pagoda, pembuatan ekstrak daun pagoda dengan metode maserasi, telur larva udang *Artemia salina* Leach, penetasan dan pemeliharaan hewan uji larva udang *Artemia salina* Leach hingga berumur empat puluh delapan jam. Kedua, tahap uji aktivitas sitotoksik ekstrak dari daun pagoda (*Clerodendrum Japonicum* [Tunb.] Sweet) sebagai antikanker terhadap hewan uji larva udang *Artemia salina* Leach, beberapa konsentrasi 40 µg/mL, 52 µg/mL, 68 µg/mL, 88 µg/mL, 114 µg/mL. Ketiga, tahap pengumpulan data, menganalisa data (menghitung larva udang yang mati) dan membuat kesimpulan dari data yang diperoleh.

3.2 Populasi dan Sampel

3.2.1 Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak daun pagoda (*Clerodendrum Japonicum* [Tunb.] Sweet) yang berasal dari daerah Arjosari, Malang Provinsi Jawa Timur

3.2.2 Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bagian dari ekstrak dari daun pagoda (*Clerodendrum Japonicum* [Tunb.] Sweet).

3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

Uji sitotoksik ekstrak dari daun pagoda (*Clerodendrum Japonicum* [Tunb.] Sweet) terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) ini dilakukan dilaboatorium Farmakognosi dan Laboratorium Mikrobiologi Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang. Waktu penelitian ini dilaksanakan mulai penyusunan proposal sampai terselesaikannya karya tulis ilmiah ini.

3.4 Definisi Operasional Variabel

Definisi operasional dalam penelitian ini dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

3.5 Alat dan Bahan

Adapun alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain

1. Oven
2. Blender
3. bejana maserasi
4. seperangkat aquarium
5. lapu 40 watt
6. glassware
7. corong bouncer
8. pipet volume
9. bola hisap
10. labu ukur
11. rotary evaporator.

Adapun bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah

1. daun pagoda (*Clrerodendrum Japonicum*)
2. telur larva udang *Artemia salina* Leach
3. etanol 70%
4. aquadest.

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Determinasi Tanaman

Dilakukan determinasi tanaman pagoda (*Clrerodendrum Japonicum*) di
Materia Medika Batu

3.6.2 Persiapan Bahan

1. Daun Pagoda diperoleh dari daerah Arjosari, Malang, Jawa Timur.
2. Daun tumbuhan pagoda yang sudah diambil sebanyak 100 gram dicuci dengan air yang mengalir, lalu dianginkan dibawah sinar matahari.
3. Daun yang sudah kering kemudian diblender dan diayak menggunakan pengayak dengan no mesh 11. Daun diasumsikan kering apabila daun diremas sudah dapat hancur.

3.6.3 Pengekstrakan dengan Metode Maserasi

1. Serbuk daun tumbuhan pagoda ditimbang sebanyak 30 gram
2. Dimasukkan kedalam botol coklat dengan ditambah 90 ml etanol 70%
3. Ditungkup dengan alumunium foil, lalu didiamkan selama 3 hari dengan sesekali diaduk. Kemudian disaring menggunakan kertas saring.
4. Maserat ditampung dan disimpan pada suhu kamar, sedangkan ampasnya dimaserasi lagi dengan etanol 70% sebanyak 90 ml selama 3 hari dengan sesekali diaduk.

5. Disaring dan maserat ditampung dan disimpan pada suhu kamar dengan mencampurkan pada hasil maserasi pertama, sedangkan ampasnya dimaserasi lagi dengan etanol 90 ml selama 3 hari dengan sesekali diaduk.
6. Kemudian hasil ekstraksi digabungkan dengan hasil maserasi pertama dan kedua. Maserasi ini dilakukan sebanyak 5 kali atau sampai warna filtrat jernih.
7. Hasil penyaringan dipekatkan lagi dengan *vaccum rotary evaporator* hingga kental (volume kira-kira 1/3 nya).
8. Setelah itu dengan menggunakan cawan porselen yang sudah ditimbang terlebih dahulu, ekstrak diuapkan di atas *water bath* dengan suhu 50⁰C dan dengan kipas angin sampai didapatkan ekstrak kering.
9. Diperoleh hasil ekstrak daun tumbuhan pagoda.

3.6.4 Penentuan Rendemen

Berat rendemen ekstrak daun pagoda yang diperoleh dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak yang dihasilkan (g)}}{\text{simplicia (g)}} \times 100\%$$

3.6.5 Penetasan larva udang *Artemia salina* Leach

1. penetasan larva udang yang harus disiapkan terlebih dahulu adalah menyiapkan wadah penetasan (aquarium) dilengkapi aerator.

2. Setelah itu menyiapkan media penetasan telur menggunakan air laut.
3. Aquarium dibagi menjadi dua bagian terang dan gelap oleh sekat berlubang dan diberi penerangan dengan cahaya lampu pijar 40-60 watt.
4. Kemudian dibiarkan larva selama 24-36 jam hingga menetas menjadi naupli.
5. Setelah itu dibiarkan hingga naupli berumur 48 jam sebelum diberi perlakuan.

3.6.6 Perhitungan Konsentrasi Ekstrak Daun Pagoda

Perhitungan larutan induk sampel : Lampiran

3.6.7 Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Pagoda

Ekstrak sampel yang telah dimaserasi kemudian diidentifikasi komponen senyawa yang ada dalam sampel dengan metode pereaksi warna. Skrining fitokimia ini dilakukan terhadap golongan senyawa flavonoid, terpenoid dan steroid dengan prosedur berikut:

- a. Pemeriksaan flavonoid
 1. Diambil 1 ml ekstrak ditambahkan 1 gram serbuk Mg dan 190 ml HCL pekat.
 2. Timbulnya warna kuning menunjukkan adanya flavonoid.
- b. Pemeriksaan terpenoid
 1. Larutan uji sebanyak 2 ml diuapkan dalam cawan penguap.

2. Residu dilarutkan dengan 0,5 ml kloroform dan ditambahkan 0,5 ml asam asetat, dan 2 ml asam sulfat pekat melalui dinding tabung.
3. Terbentuknya cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan larutan menunjukkan adanya triterpenoid.

c. Pemeriksaan steroid

1. Larutan uji sebanyak 2 ml diuapkan dalam cawan penguap.
2. Residu dilarutkan dengan 0,5 ml kloroform dan ditambahkan 0,5 ml asam asetat, dan 2 ml asam sulfat pekat melalui dinding tabung.
3. Terbentuknya cincin hijau kebiruan menunjukkan adanya steroid.

3.6.8 Uji KLT ekstrak etanol daun pagoda

Analisis golongan senyawa flavonoid, terpenoid, dan steroid dapat menggunakan metode KLT sebagai berikut:

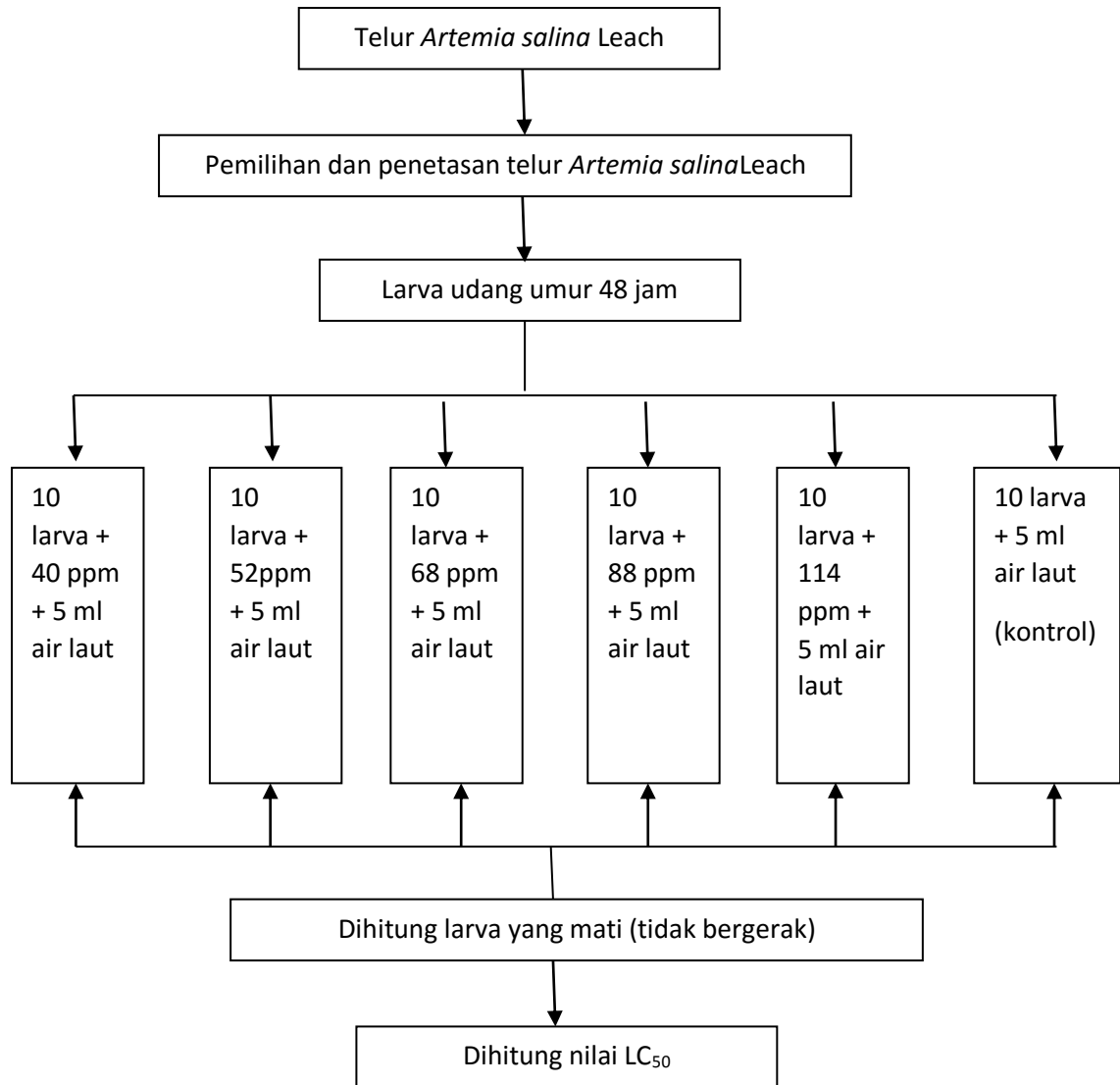
1. Siapkan alat dan bahan.
2. Buatlah plat silica gel dengan ukuran 8x1 cm.
3. Larutan uji daun pagoda ditotolkan pada plat silica gel, pada titik yang telah ditentukan.
4. Siapkan bejana yang berisi cairan eluen butanol, asam asetat, air (3:1:1).
5. Masukkan plat silica gel ke chamber KLT yang telah jenuh dengan uap eluen.
6. Dielusi hingga batas elusi 0,5 cm dari tepi atas (jarak elusi 6,5 cm).
7. Keluarkan plat dari chamber dan amati nodanya pada cahaya tampak sinar UV254 dan 366 nm dan dengan uap ammonia.

3.6.9 Prosedur pembuatan konsentrasi ekstrak etanol daun pagoda

1. Siapkan alat dan bahan
2. Buatlah larutan induk dengan konsentrasi 10.000 $\mu\text{g}/\text{mL}$. konsentrasi tersebut diambil dengan cara menimbang ekstrak sebanyak 100 mg kemudian dilarutkan dengan air laut ad 10 mL.
3. Buatlah larutan induk dengan konsentrasi 2.000 $\mu\text{g}/\text{mL}$. konsentrasi tersebut diambil dengan cara mengambil larutan induk pada konsentrasi 10.000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ sebanyak 2 mL dan ditambahkan air laut ad 10 mL.
4. Pada konsentrasi 2.000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ini kemudian diambil sebanyak 0.57 mL yang kemudian dilarutkan dengan air laut ad 10mL untuk mendapatkan konsentrasi 114 $\mu\text{g}/\text{mL}$.
5. Pada konsentrasi 114 $\mu\text{g}/\text{mL}$ kemudian diambil sebanyak 0.44 mL yang kemudian dilarutkan dengan air laut ad 10 mL untuk mendapatkan konsentrasi 88 $\mu\text{g}/\text{mL}$.
6. Pada konsentrasi 88 $\mu\text{g}/\text{mL}$ kemudian diambil sebanyak 0.34 $\mu\text{g}/\text{mL}$ yang kemudian dilarutkan dengan air laut ad 10 mL untuk mendapatkan konsentrasi 68 $\mu\text{g}/\text{mL}$.
7. Pada konsentrasi 68 $\mu\text{g}/\text{mL}$ kemudian diambil sebanyak 0.26 mL yang kemudian dilarutkan dengan air laut ad 10 mL untuk mendapatkan konsentrasi 52 $\mu\text{g}/\text{mL}$.
8. Pada konsentrasi 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ kemudian diambil sebanyak 0.2 mL yang kemudian dilarutkan dengan air laut ad 10 mL untuk mendapatkan konsentrasi 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

3.6.10 Prosedur kerja *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

1. Siapkan alat dan bahan
2. Konsentrasi larutan yang telah disiapkan yaitu dengan konsentrasi 40, 52, 68, 88 dan 114 $\mu\text{g/mL}$ maka dimasukkan pada masing-masing tabung vial yang telah disiapkan.
3. Kemudian ditambahkan air laut sebanyak 5 mL dengan penambahan 10 ekor larva udang *Artemia salina Leach* pada tiap konsentrasi dan ditunggu selama 24 jam.
4. Setelah 24 jam, maka diamati larva yang sudah mati yaitu dengan cara mengamati pergerakan larva. Jika larva tidak bergerak maka larva dapat dikatakan mati.
5. Kemudian catat jumlah larva yang mati dan hitung nilai LC_{50} .



Gambar 3.1 uji sitotoksik dengan Metode BSLT

Keterangan:

Larutan A = konsentrasi 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$

Larutan B = konsentrasi 52 $\mu\text{g}/\text{mL}$

Larutan C = konsentrasi 68 $\mu\text{g}/\text{mL}$

Larutan D = konsentrasi 88 $\mu\text{g}/\text{mL}$

Larutan E = konsentrasi 114 $\mu\text{g}/\text{mL}$

Perhitungan Nilai LC_{50} Menggunakan Analisis Probit

3.7 Analisis Data

Tabel 3.2 Tabel Data Hasil Pengamatan

Konsentrasi ekstrak ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Jumlah larva yang mati			Rata-rata kematian larva (ekor)	% Kematian
	I	II	III		
40 $\mu\text{g}/\text{mL}$,					
52 $\mu\text{g}/\text{mL}$,					
68 $\mu\text{g}/\text{mL}$,					
88 $\mu\text{g}/\text{mL}$					
114 $\mu\text{g}/\text{mL}$					
Kontrol					

Keterangan :

Jumlah larva yang digunakan pada setiap tabung sebanyak 10 ekor.

Harga LC_{50} dari ekstrak daun pagoda

Perhitungan presentase kematian :

$$Y = a + bx$$

Dimana :

$Y = 5$ = nilai probit dari 50% kematian hewan coba

X = nilai LC_{50} ketika diubah menjadi antilog X

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Determinasi Tumbuhan

Determinasi pertama-tama dilakukan dengan melihat ciri-ciri morfologi tumbuhan secara keseluruhan yaitu daun, bunga, batang yang kemudian dicicikkan dengan menggunakan kunci determinasi. Determinasi ini dilakukan untuk memastikan kebenaran tumbuhan yang akan digunakan dalam penelitian. Hasil determinasi yang dilakukan pada daun pagoda mendapatkan kunci determinasi 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9a-41b-42b-43a-44b-45b-48b-49a.

Berdasarkan determinasi yang telah dilakukan, diperoleh kesimpulan bahwa tumbuhan yang digunakan adalah benar-benar tumbuhan pagoda (*Clerodendrum japonicum* [Thunb.] Sweet).

4.2 Hasil Pengumpulan dan Pengeringan Bahan

Daun pagoda diperoleh dari tumbuhan pagoda yang diambil di daerah Arjosari, Malang. Lokasi tumbuhan diusahakan sama untuk menghindari variasi kandungan kimia yang terlalu besar karena perbedaan kondisi lingkungan. Daun yang diambil sebagai penelitian kali ini tidak melihat umur daun, namun yang diambil sebagai penelitian kali ini adalah daun yang bewarna hijau tua dan segar.

4.1 Tabel Hasil pengumpulan daun pagoda

No	Berat Simplisia Basah	Berat Simplisia Kering	Berat Serbuk yang digunakan
1.	100 gram	55 gram	30 gram

Daun pagoda yang telah dikumpulkan sebanyak 100 gram lalu dibersihkan dan dicuci dengan air mengalir. Pencucian dengan air mengalir ini bertujuan agar tanah dan pengotor lainnya yang melekat pada daun dapat terlepas serta tidak menempel lagi. Daun yang sudah dicuci kemudian diangin-anginkan dan dikeringkan dibawah sinar matahari. Pengeringan dengan cara ini bertujuan untuk mempermudah pembuatan serbuk, menurunkan kadar air sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Pengeringan dengan cara ini dapat dihentikan salah satunya dengan meremas daun sampai dapat hancur. Jika kadar air dalam daun masih tinggi, maka daun tersebut masih lembab dan jika diremas tidak hancur. Pengeringan daun dilakukan selama 2 sampai 3 hari.

Simplisia yang telah kering kemudian diserbuk menggunakan blender kemudian diayak menggunakan ayakan no mesh 11 yang artinya dalam 1 inci terdapat 11 lubang. Pembuatan serbuk ini bertujuan untuk memperluas permukaan yang kontak dengan cairan penyari sehingga kandungan kimia yang terlarut dalam proses penyarian lebih banyak dan penyarian dapat berlangsung lebih sempurna (Sugianti Natalia, 2007).

4.3 Hasil Maserasi Daun Pagoda

Penyarian merupakan peristiwa perpindahan massa zat aktif yang semula berada di dalam sel ditarik oleh cairan penyari sehingga di dalam cairan penyari terdapat zat aktif. Maserasi merupakan cara penyarian yang dilakukan dengan merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Penyarian dengan cara maserasi perlu dilakukan pengadukan untuk meratakan konsentrasi larutan (Sugianti Natalia, 2007).

Maserasi ini dilakukan dengan cara memasukkan 30 gram daun pagoda dan 90 ml etanol 70% yang dimasukkan dalam botol gelap dengan ditutup menggunakan aluminium foil. Hal ini bertujuan agar larutan penyari (etanol 70%) tidak menguap sehingga penyarian dapat maksimal. Proses perendaman ini dilakukan selama 3 hari dengan sesekali pengadukan. Setelah 3 hari maka dilakukan penyaringan menggunakan corong Buchner sehingga maserat terpisah dengan ampasnya. Ampas yang diperoleh dimaserasi kembali menggunakan etanol 70% sebanyak 90 ml selama 3 hari dengan sesekali diaduk. Proses ini dilakukan re-maserasi sebanyak 5 kali karena pada proses re-maserasi yang kelima mendapatkan maserat yang sudah jernih.

Pada penelitian ini didapatkan maserat sebanyak 450 ml yang kemudian diuapkan menggunakan rotary evaporator hingga kental, kemudian dipekatkan menggunakan *waterbath* dengan suhu 60⁰ C menggunakan cawan poselen yang sudah ditara. Penggunaan suhu 60⁰ c ini merupakan suhu optimal untuk penguapan di atas *waterbath*, karena jika suhu terlalu tinggi maka dapat menyebabkan senyawa aktif

yang terdapat didalamnya rusak (Sugianti, 2007). Penyarian yang dihasilkan mendapatkan ekstrak kering 7,5 gram dengan rendemen sebesar 7.6%

4.4 Hasil Skrining Fitokimia

Hasil identifikasi golongan metabolit sekunder pada ekstrak daun pagoda dapat dilihat pada tabel 4.2

Tabel 4.2 Hasil Uji Skrining Fitokimia

No	Senyawa	Pereaksi	Teori	Hasil	Kesimpulan
	metabolit sekunder			pengamatan	
1	Flavonoid	Serbuk Mg, HCl (p) 5 tetes	Berwarna kuning, jingga, merah	Jingga	+
2	Alkaloid	3 tetes HCl 2N	Blanko	Warna tetap	+
		3 tetes dragendorf	Berwarna merah	Jingga merah	+
		3 tetes mayer	Berwarna kekuningan	Putih kekuningan	+
		3 tetes wagner	Berwarna coklat	Coklat	+
3	Polifenol	FeCl ₃ 10%	↓Biru tua atau hitam kehijauan	Hitam kehijauan	+
4	Saponin	Air hangat (kocok)+ HCl	Busa selama 10 menit	Busa menghilang	-

5	Steroid	Asam asetat, kloroform, asam sulfat (p)	Timbul kecoklatan	cincin	Timbul cincin kecoklatan	+
---	---------	--	----------------------	--------	--------------------------------	---

Pada pengujian skrining fitokimia dari ekstrak etanol daun pagoda positif terhadap golongan senyawa flavonoid, alkaloid, steroid, polifenol, dan alkaloid. Hal ini dapat dilihat pada tabel 4.2. Proses skrining fitokimia untuk senyawa golongan flavonoid dengan cara 3 mL larutan uji ditambahkan serbuk Mg kemudian ditambahkan HCl (p) sebanyak 5 tetes, sehingga warna yang timbul adalah jingga yang berartikan bahwa ekstrak etanol daun pagoda positif terhadap senyawa golongan flavonoid.

Proses skrining fitokimia pada senyawa alkaloid dapat diujikan dengan cara pembuatan larutan uji yang kemudian dibagi menjadi 4 tabung. Tabung pertama digunakan sebagai blanko, hal ini dimaksudkan agar menjadi pembanding. Tabung kedua, larutan uji ditambahkan pereaksi dragendrof sebanyak 3 tetes sehingga menimbulkan warna jingga merah. Tabung ketiga, larutan uji ditambahkan pereaksi mayer 3 tetes sehingga menimbulkan warna putih kekuningan. Kemudian tabung keempat, larutan uji ditambahkan pereaksi wagner 3 tetes sehingga menimbulkan warna coklat. Pada uji skrining fitokimia golongan alkaloid, dari ketiga tabung positif saat penambahan pereaksi.

Pada skrining fitokimia senyawa golongan polifenol, langkah pertama yaitu menyiapkan 2 tabung yang berisi larutan uji. Tabung pertama digunakan sebagai blanko, yaitu sebagai pembanding. Tabung kedua ditambahkan pereaksi FeCl_3 10%, warna yang timbul adalah hitam kehijauan. Hal ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun pagoda positif terhadap senyawa polifenol.

Pada uji skrining fitokimia terhadap senyawa golongan steroid, yaitu dengan cara larutan uji sebanyak 3 mL diuapkan terlebih dahulu pada cawan penguap hingga terbentuk filtrat. Kemudian filtrat ditambahkan kloroform 2 mL. setelah terlarut maka dipindahkan pada tabung reaksi yang kemudian ditambahkan asam asetat 1 mL dan asam sulfat _(p) sebanyak 10 tetes sampai terbentuk cincin. Cincin yang dihasilkan pada uji skrining ini timbul cincin berwarna kecoklatan. Hal ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun pagoda positif terhadap senyawa steroid.

Sedangkan untuk senyawa saponin yang diuji dari ekstrak etanol daun pagoda dilakukan dengan cara ekstrak dilarutkan dengan air hangat yang kemudian dilakukan pengocokkan secara horizontal hingga menimbulkan busa. Setelah menimbulkan busa maka ditambahkan HCl satu pipet, jika busa yang dihasilkan tetap stabil maka dapat disimpulkan positif. Namun, jika setelah penambahan HCl satu pipet busa yang dihasilkan menghilang maka dapat disimpulkan bahwa negatif mengandung saponin. Pada uji skrining fitokimia terhadap senyawa saponin busa yang dihasilkan setelah penambahan HCl menghilang, hal ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun pagoda negatif terhadap senyawa saponin.

4.5 Hasil uji KLT ekstrak daun pagoda

Hasil identifikasi senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak daun pagoda dapat dilihat pada tabel KLT

4.3 Tabel Uji KLT Ekstrak Daun Pagoda

No	Senyawa Metabolit Sekunder	Eluen	Hasil pengamatan		Kesimpulan
			sebelum sinar UV	sesudah sinar UV	
1	Flavonoid	Butanol asam asetat air (3:1:1)	: Timbul bercak kuning kemerahan	Timbul wana jingga	+
2	steroid	n-heksan etil asetat (4:1)	: Timbul bercak kuning kehijauan kemudian samar-samar warna merah muda	Timbul warna coklat kemudian warna merah muda	+

Perhitungan Rf pada uji KLT senyawa flavonoid

$$\begin{aligned} R_f &= \frac{\text{jarak yang ditempuh oleh senyawa}}{\text{jarak yang ditempuh oleh pelarut}} \\ &= \frac{1.5}{7.5} \\ &= 0.2 \end{aligned}$$

Perhitungan Rf pada uji KLT senyawa steroid

$$\begin{aligned} R_f &= \frac{\text{jarak yang ditempuh oleh senyawa}}{\text{jarak yang ditempuh oleh pelarut}} \\ &= \frac{1.5}{6.5} \\ &= 0.23 \end{aligned}$$

Pemeriksaan kandungan senyawa kimia dengan metode KLT ini dilakukan untuk melihat apakah terdapat senyawa flavonoid, alkaloid, steroid, polifenol dalam ekstrak etanol daun pagoda. Kromatografi Lapis Tipis yang dilakukan dalam penelitian ini merupakan KLT semikuantitatif yaitu dengan mengetahui jumlah larutan yang ditotolkan.

Plat silica gel yang digunakan diukur 8cm x 1cm. setelah dibagi maka dilakukan penotolan pada lempeng KLT kemudian dielusi dalam bejana yang penuh dengan uap dari fase gerak (bejana yang sudah jenuh). Eluen yang sudah jenuh dapat diketahui melalui kertas saring setinggi bejana yang dimasukkan dalam bejana. Bejana dikatakan jenuh jika kertas saring sudah terbasahai dengan sempurna. Penjenuhan ini bertujuan agar perambatan cepat dan optimal. Setelah rambat elusi

sampai pada batas maka lempeng diangkat dan dibiarkan kering untuk selanjutnya dideteksi menggunakan sinar ultraviolet dan pereaksi semprot yang spesifik, yang dapat menunjukkan dengan lebih jelas senyawa yang diidentifikasi.

Eluaen yang digunakan pada uji KLT senyawa flavonod yaitu butanol, asam asetat, dan air. Setelah eluen jenuh, maka plat silica yang telah ditiotolkan kestrak daun pagoda dimasukkan pada bejana dan ditunggu sampai rambatan pada plat merambat hingga batas. Pada uji KLT ini timbul bercak warna kuning kemerahan yang dapat dikatakan positif terhadap senyawa flavonoid. Sedangkan untuk uji KLT pada senyawa steroid menggunakan eluen n-heksan, etilasetat.

Daun pagoda mengandung senyawa flavonoid, steroid dikarenakan warna bercak yang timbul pada lempeng KLT sesuai dengan teori dan diduga memberikan efek antikanker. Hal ini dijadikan dasar dalam penelusuran senyawa yang terdapat dalam ekstrak etanol daun pagoda.

Perhitungan Rendemen ekstrak etanol daun pagoda sebagai berikut:

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak yang dihasilkan (g)}}{\text{simplisia (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{2.29 \text{ (g)}}{30 \text{ (g)}} \times 100\% \\ &= 7.6 \% \end{aligned}$$

4.6 Hasil Penetasan Larva Udang

Penetasan larva udang (*Artemia Salina Leach*) menggunakan air laut. Akuarium yang digunakan diberi sekat berlubang yang terdiri dari dua bagian yaitu

bagian gelap dan terang. Setelah bagian tengah akuarium diberi sekat berlubang, maka air laut dituangkan pada bagian akuarium yang gelap hingga melewati bagian atas lubang dengan pemberian aerator guna memberikan oksigen pada artemia. Penuangan air laut sampai melewati lubang agar telur artemia tidak menyebar kebagian yang terang, sedangkan telur artemia disebarkan lewat bagian yang gelap. Telur larva dimasukkan ke akuarium pada bagian yang gelap, larva akan menetas setelah 24 jam. Hal ini dikarenakan telur larva membutuhkan proses penyerapan air laut sehingga telur larva dapat terisi 65%, disamping itu dikarenakan telur larva membutuhkan oksigen yang cukup dan pergerakan dari aerator sendiri sehingga telur dapat pecah atau mempermudah penetasan.

Penetasan telur artemia didapatkan setelah 24 jam penyebaran telur pada akuarium. Larva udang yang baru menetas berwarna kemerah-merahan kemudian diberi makanan berupa ragi yang sudah dilarutkan. Suspense ragi diberikan sebagai makanan pada larva dengan cara ragi yang sudah dihaluskan kemudian dilarutkan pada 50 ml aquadest.

Larva yang digunakan untuk perlakuan adalah larva yang berumur 48 jam karena larva berada dalam keadaan paling peka pada saat berumur 48 jam. Hal ini disebabkan karena pada umur 48 jam organ-organ pada artemia sudah terbentuk lengkap seperti adanya mulut, sehingga artemia dapat meminum air laut yang sudah diberi ekstrak etanol daun pagoda dengan berbagai konsentrasi sehingga kematian artemia benar-benar disebabkan dari ekstrak etanol daun pagoda dengan berbagai konsentrasi

4.7 Hasil Uji Potensi Antikanker dengan Metode BSLT

Brine Shrimp Lethality Test merupakan salah satu metode skrining bioaktivitas suatu ekstrak atau senyawa dengan hewan uji larva udang (*artemia*). Pada pengujian kali ini menggunakan konsentrasi 40, 52, 68, 88, dan 114 µg/ml.

Tabel 4.4 Hasil Uji kematian larva *Artemia salina* each

Nomor	Angka kematian larva <i>artemia salina</i> leach dari 10 larva					Kontrol negative
	Konsentrasi ekstrak (ppm)					
	114	88	68	52	40	
1	7	4	5	2	2	0
2	7	5	3	3	2	0
3	8	5	5	4	2	0
Total	22	14	13	8	6	0
Rata-rata kematian	7.3	4.6	4.3	2.6	2	0
Standart deviasi	0.57	0.57	1.15	1	0	0
% kematian	73.3%	46.6%	43.3%	30%	20%	0

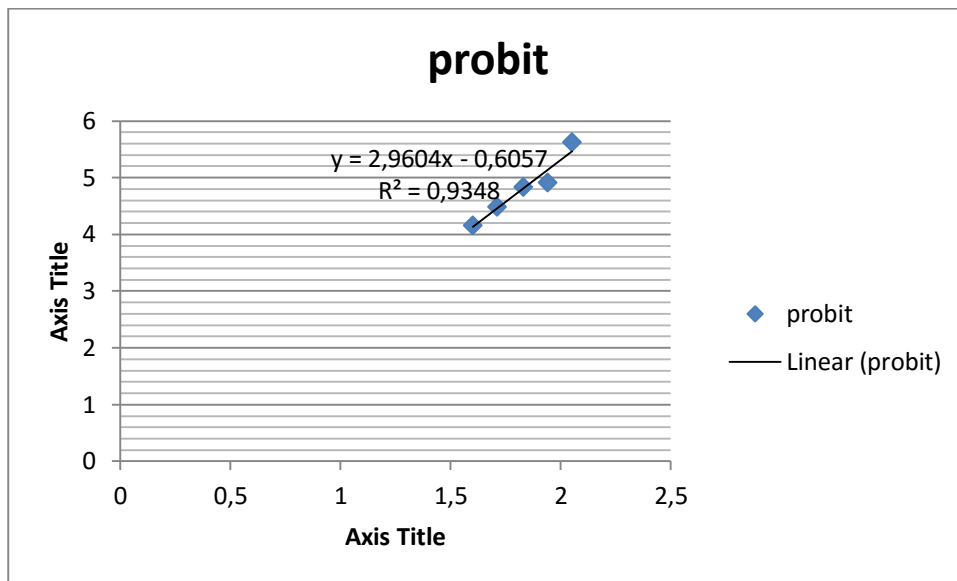
Tabel 4.5 Hasil Penetapan LC50

Konsentrasi	Log konsentrasi (X)	Presentasi kematian	Probit (Y)
40	1,60	20	4,16
52	1,71	30	4,48
68	1,83	43.3	4,83
88	1.94	46.6	4.91
114	2.05	73.3	5,62
Jumlah	9,13	213.2	25,49

Tabel 4.6 Hasil Presentasi Kematian Larva Udang

Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Pagoda	Log Konsentrasi	Presentasi kematian	Probit
40 µg/ml	1.6	20	4.16
52 µg/ml	1.71	30	4.48
68 µg/ml	1.83	43.3	4.83
88 µg/ml	1.94	46.6	4.91
114 µg/ml	2.05	73.3	5.62

4.1 Gravitik Hubungan Nilai Probit dengan Log Konsentrasi



$$Y = a + bx$$

Dimana :

$Y = 5$ = nilai probit dari 50% kematian hewan coba

X = nilai LC_{50} ketika diubah menjadi antilog X

$$Y = a + bx$$

$$5 = -0,605 + 2.960x$$

$$5 + 0.605 = 2.960x$$

$$1.89 = x$$

Nilai probit didapatkan dari hasil rumus pada grafik hubungan antara nilai probit dengan log konsentrasi sehingga dapat diketahui nilai probit yang kemudian dirubah menjadi antilog. *Artemia* dapat digunakan sebagai hewan uji karena memiliki kesamaan tanggapan dengan mamalia. Pada penelitian kali ini dibuat konsentrasi 40, 52, 68, 88, 114 $\mu\text{g/mL}$ ekstrak etanol daun pagoda dengan tiap konsentrasi dibuat 3 replikasi kemudian ditambahkan 10 larva udang *artemia* dengan penambahan air laut sampai 5 ml. Setelah pengujian, maka didapatkan larva yang mati dan dilakukan perhitungan presentase kematian larva. Pada nilai probit yang dihasilkan dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun pagoda dapat memberikan potensi antikanker dengan nilai LC_{50} sebesar 77.62 $\mu\text{g/ml}$. Hal ini didapat dari perhitungan LC_{50}

Sebelum melakukan pengujian, semua tabung ampul dicuci bersih menggunakan sabun, hal ini diharapkan semua kotoran yang ada pada tabung ampul sudah hilang. Setelah dicuci, semua tabung ampul dibilas menggunakan air mengalir hingga sisa busa pada tabung hilang. Setelah dibilas, tabung ampul yang telah dicuci kemudian diangin-anginkan sampai tabung ampul kering, hal ini dapat dilihat dari dinding tabung yang sudah tidak ada air yang menempel.

Larutan uji berupa ekstrak etanol daun pagoda dimasukkan pada tabung ampul yang sudah kering dan bersih sesuai dengan konsentrasinya, kemudian ditambahkan 10 larva *artemia* yang sudah berumur 48 jam dalam 5 ml air laut. Air laut yang dimasukkan pada tabung ampul diaerasi terlebih dahulu selama beberapa menit agar kematian larva yang didapat bukan disebabkan kurangnya oksigen namun dikarenakan larutan ekstrak etanol daun pagoda. Pengujian ini dilakukan replikasi 3 kali

dengan konsentrasi larutan uji yang sama agar dapat memberikan hasil yang konstan, hal ini juga dilakukan pada kelompok kontrol. Setelah persiapan perlakuan sudah selesai, maka perlakuan didiamkan selama 24 jam untuk mendapatkan hasil.

Setelah 24 jam perlakuan, maka dihitung larva yang hidup. Dikatakan hidup apabila terjadi pergerakan kecil pada larva, karena larva tidak akan diam sebab selain berfungsi sebagai alat gerak, antenna II pada larva juga berfungsi sebagai alat pernafasan (Sugianti, 2007). Setelah larva yang hidup telah dihitung, maka dapat diperoleh jumlah larva yang mati dengan cara pengurangan jumlah larva sebelum diberi perlakuan, kemudian dihitung sampai mendapat persen kematian pada masing-masing konsentrasi beserta kontrol. Kontrol ini dilakukan agar mengetahui kematian larva yang bukan dipengaruhi dari ekstrak etanol daun pagoda.

Pada penelitian ini digunakan analisis probit agar didapatkan kurva yang berbentuk garis lurus sehingga penentuan nilai LC_{50} lebih tepat. Dalam analisis probit didapatkan kurva yang berbentuk garis lurus karena konsentrasi sampel ditransformasikan menjadi logaritma konsentrasi sebagai variable tetap (nilai x) dan presentase kematian larva ditransformasikan menjadi nilai probit sebagai variable tergantung (nilai y). setelah dianalisis dengan analisis probit persamaan garis linier yaitu $y = - 0,605 + 2.960x$ diperoleh 1.89 maka diperoleh pula suatu tabel yang mencantumkan nilai LC_{50} yang dihasilkan yaitu sebesar 77.62 $\mu\text{g/ml}$.

Pada hasil tersebut di atas menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun pagoda mempunyai potensi toksisitas akut. Hal tersebut berkaitan dengan senyawa yang

terdapat dalam daun pagoda yaitu flavonoid, steroid yang memiliki potensi antikanker serta dapat menyebabkan kematian larva *Artemia salina* Leach.

Mekanisme kedua senyawa yang terdapat dalam daun pagoda tersebut dalam membunuh sel kanker belum diketahui secara rinci dan mendetail. Namun telah diketahui bahwa pentasiklik steroid dapat menghambat enzim topoisomerase I dan II (Lee *et al.*, 1991 dalam Sugianti 2007). Menurut Sugianti (2007), topoisomerase merupakan enzim yang mengandung peranan penting dalam transkripsi dan replikasi DNA. Beberapa fungsi enzim ini adalah untuk menguraikan untaian DNA untuk memasangkan DNA dengan pasangannya selama replikasi. Mekanisme pentasiklik steroid dalam menghambat replikasi DNA belum dapat dijelaskan secara lebih terperinci dan pasti, namun setidaknya dapat melalui dua cara yaitu berikatan dengan DNA menggantikan kedudukan enzim topoisomerase, sehingga DNA tidak dapat bereplikasi atau dapat juga dengan berikatan dengan topoisomerase tidak dapat berikatan dengan DNA dan DNA tidak dapat bereplikasi. Jika DNA tidak terbentuk maka sel-sel kanker tersebut akan mati.

BSLT adalah salah satu metode uji toksisitas yang banyak digunakan dalam penelusuran senyawa bioaktif yang bersifat toksik dari bahan alam (Meyer, *et al.*, 1982). Metode ini dapat digunakan sebagai *bioassay-guided fractionation* dari bahan alam, karena mudah, cepat, murah dan dapat dipercaya untuk uji toksisitas suatu ekstrak atau senyawa (Hendrawati, 2009). Menurut Asri, Maria (2012) penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ada hubungan yang konsisten antara toksisitas dan letalitas *Brine shrimp* pada ekstrak tanaman yang dikemukakan oleh (Carballo, *et al.*,

2002). Beberapa senyawa bioaktif yang telah berhasil diisolasi dan dimonitor aktifitasnya dengan BSLT menunjukkan adanya kolerasi terhadap suatu uji spesifik antikanker (Mayer, *et al.*, 1982 dalam Asri Maria, 2012).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

5.1.1 Ekstrak etanol daun pagoda (*Clerodendrum japonicum*) dapat berpotensi sebagai antikanker terhadap larva artemia dengan metode *Brine shrimp Lethality Test* (BSLT) yang ditunjukkan dengan nilai $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$

5.1.2 Ekstrak etanol daun pagoda (*Clerodendrum japonicum*) dapat berpotensi sebagai antikanker dengan metode *Brine shrimp Lethality Test* (BSLT) dengan nilai LC_{50} sebesar $77.62 \mu\text{g/ml}$ dan dapat dikatakan bersifat sangat toksik.

5.2 Saran

5.2.1. Perlu dilakukan replikasi ekstrak etanol daun pagoda agar dapat memberikan perbandingan hasil terhadap potensi antikanker dengan hasil yang konstan.

5.2.2. Perlu dilakukan pengujian ulang KLT terhadap senyawa golongan alkaloid, polifenol dan eluen yang digunakan pada pengujian.

5.2.3. Perlu dilakukan pengujian antikanker pada ekstrak etanol daun pagoda menggunakan biakan sel kanker dan sel normal.

DAFTAR RUJUKAN

- Asri, Maria Evarista. 2012. *Uji Toksisitas Ekstrak Buah Tomat (Solanum lycopersicon L) Terhadap Larva Artemia salina Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BST)*. Malang. Akademi Analis Farmasi Dan Makanan Putra Indonesia.
- Baraja, Muna. 2008. *Optimias Pembuatan Ekstrak Daun Dewandaru (Eugenia uniflora L) Menggunakan Metode Maserasi Dengan Parameter Kadar Total Senyawa Fenolik Dan Flavonoid*. Surakarta. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia Direktorat jendral pengawasan Obat dan Makanan. 200. *Parameter Standart Umum Esktrak tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan.
- Dinas Kesehatan Propinsi Jawa Timur. 2011. *UPT Materia Medica*. Batu : Dinas Kesehatan.
- Fihrony, Muhamad Tsalis. 2012. *Pengaruh Radioterapi Area Kepala Dan Leher Terhadap Curah Saliva*. Diponegoro. Universitas Diponegoro.
- Lasmani, Naqngune. 2013. Gorontalo. *Pengaruh Filtrat Daun Tanaman bunga Pagoda (Clerodendrum squamatum Vahl) Terhadap Mortalitas Larva Nyamuk Aedes aegypti*. Universitas Negeri Gorontalo.
- Nurhidayah. 2014. *Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Fukoidan Dari Rumpu Laut Coklat (Sargasum vulgare C.Agardh) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test*

(BSLT). Malang. Akademi Analis Farmasi Dan Makanan Putra Indonesia Malang.

Puspitasari, Rista Dwi. 2015. *Toksisitas Akut Kombinasi Ekstrak Herba Seledri (Apium graveolens L) Dan Buah Asam Jawa (Tamarindus indica L) Pada Mencit Jantan Putih BALB/C*

Ramadhani, Ahmad Nur. 2010. *Uji Toksisitas Akut ekstrak Etanol Daun Sukun (Ortocarpus artilis) terhadap larva artemia Salinia Leach dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BST)*. (online), (<http://eprints.undip.ac.id.pdf>, diakses 12 Desember 2011)

Ramdhani, Rizky Nisfi. 2010. *Uji Toksisitas Terhadap Artemia salina Leach dan Toksisitas Akut Komponen Bioaktif Pandanus conoideus var. conoides Lam. Sebagai Kandidat Antikanker*. Surakarta. Universitas Sebelas Maret.

Sugianti, Natalia. 2007. *Brine Shrim Lethality Test Esktrak Eatnol Daun Tumbuhan Temeblekan (Lantana camara L.) Beserta Profil Kromatografi Lapis Tipisnya*. Yogyakarta. Universitas Sanata Dharma.

Wulandari, Intan. 2011. *Teknologi Ekstraksi Dengan Metode Maserasi Dalam Etanol 70% Pada Daun Kumis Kucing (Orthosiphon stamineus Benth) Di Balai Besar Penelitian Dan Pengembangan Tanman Obat Dan Obat Tradisional (B2P2TO-OT) Tawamangmangu*. Surakarta. Universitas Sebelas Maret.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat keterangan praktikum

UNIT PELAKSANA TEKNIS (UPT)
 LABORATORIUM PUTRA INDONESIA
 Barito No. 5 Telp. (0341) 491132 ext. 109 | e-mail: uptlabpim57@gmail.com

SURAT KETERANGAN
 Nomor : 104/ UPT-LAB.PIM / V/ 2015

Yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Meiria Istiana Sari, A.Md, S.Pd
 Jabatan : Ka. UPT Laboratorium PIM

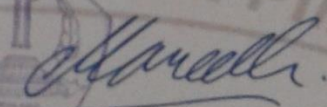
Menyatakan dengan ini bahwa mahasiswa Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang :

Nama : RIZKY FATMA SOFYANI
 NIM : 14164
 Judul KTI : *POTENSI EKSTRAK DAUN PAGODA (Clerodendrum japonicum) SEBAGI ANTIKANKER DENGAN METODE BSLT*

Telah melakukan penelitian dan pengambilan data di Laboratorium Farmakognosi, Farmasetika Putra Indonesia Malang pada tanggal 11 April – 09 Mei 2017

Demikian surat keterangan ini kami buat untuk di pergunakan sebagaimana mestinya.

Malang, 13 Mei 2017
 Kepala UPT Laboratorium PIM


 MEIRIA ISTIANA SARI, A.Md, S.Pd *CS*

Lampiran 2. Surat keterangan determinasi tanaman pagoda



DINAS KESEHATAN
UPT MATERIA MEDICA BATU

Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396
KOTA BATU 65313

Nomor : 074/ 120/ 102.7/ 2017
Sifat : Biasa
Perihal : **Determinasi Tanaman Bunga Pagoda**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : RIZKY FATMA SOFYANI
NIM : AKF14164
Instansi : AKADEMI FARMASI PUTRA INDONESIA MALANG

1. Perihal determinasi tanaman bunga pagoda
 - Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
 - Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
 - Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)
 - Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
 - Kelas : Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
 - Sub Kelas : Asteridae
 - Ordo : Lamiales
 - Famili : Verbenaceae
 - Genus : Clerodendron
 - Spesies : *Clerodendrum japonicum* [Thunb.] Sweet
 - Nama Umum : Bunga pagoda (Indonesia), Bunga panggilan, Bunga pluin (Melayu), Bunga pagoda (Jawa), Senggugu, Tumbak raja (Bali).
 - Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9a-41b-42b-43a-44b-45b-48b-49a: 109..
2. Deskripsi : Habitus: Semak, tahunan, tinggi 1-2 m. Batang: Tegak, bulat, sedikit bercabang, putih kehitanan. Daun: Tunggalberseling, bentuk jantung, tepi berbinggit, ujung runcing, pangkal bertoreh dalam, panjang 15-30 cm, lebar 10-25 cm, pertulangan melengkung, permukaan kasar, hijau. Bunga: Majemuk, bentuk payung, di ujung batang atau cabang, tangkai silindris, kelopak bentuk corong bercangap, lima helai, benang sari dan putik memanjang keluar dari tabung mahkota, mahkota bentuk tabung, ujung bercangap lima, panjang 5-10 mm, jingga. Buah: Kotak, beruang tiga atau empat, diameter ± 1 cm, ungu. Biji: Bulat telur, permukaan beralur jala, putih. Akar: Tunggang, putih kotor.
3. Nama Simplisia : Clerodendri japonici Radix / Akar bunga pagoda.
4. Kandungan : Daun, bunga dan batang mengandung saponin dan polifenol, di samping itu daun dan batangnya mengandung alkaloida dan flavonoida.
5. Penggunaan : Penelitian.
6. Daftar Pustaka
 - Anonim. <http://www.plantamor.com/index.php?plant=930>, diakses tanggal 17 Desember 2010.
 - Anonim. <http://www.theplantlist.org/tpl/record/kew-2406218>, diakses tanggal 21 Desember 2010.
 - Anonim. <http://www.warintek.ristek.go.id/bunga%opagoda.pdf>, diakses tanggal 30 Oktober 2010.
 - Van Steenis, CGGJ. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 06 April 2017

Kepala UPT Materia Medica Batu

Dr. Husin R. M., Drs., Apt., M.Kes.
 NIP. 06110011991031003

Lampiran 3. Foto tumbuhan pagoda



Lampiran 4. Proses pengeringan dan pengekstrakan daun pagoda



Tanaman daun pagoda



Pengumpulan daun pagoda yang berwarna hijau tua dan segar



Setelah pengeringan dibawah sinar matahari



Proses evaporator daun pagoda



Proses maserasi simplisia daun pagoda



Serbuk simplisia setelah diblender dan diayak



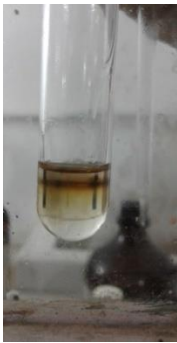
Ekstrak kental daun pagoda

Lampiran 5. Foto skrining fitokimia dari ekstrak etanol daun pagoda

1. Foto skrining fitokimia dari ekstrak etanol daun pagoda terhadap senyawa flavonoid



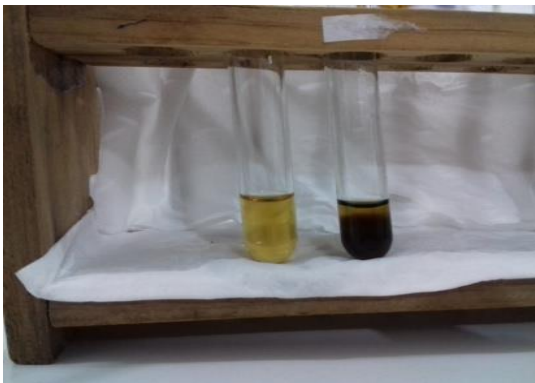
2. Foto skrining fitokimia dari ekstrak etanol daun pagoda terhadap senyawa steroid



3. Foto skrining fitokimia dari ekstrak etanol daun pagoda terhadap senyawa alkaloid



4. Foto skrining fitokimia dari ekstrak etanol daun pagoda terhadap senyawa polifenol

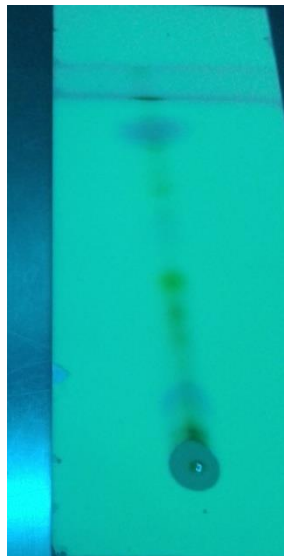


5. Foto skrining fitokimia dari ekstrak etanol daun pagoda terhadap senyawa saponin

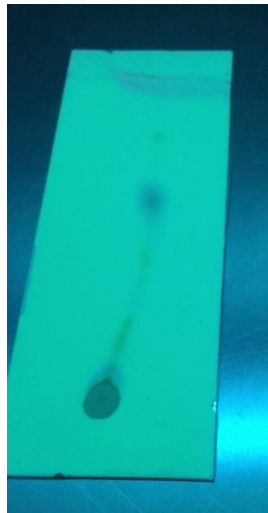


Lampiran 6. Foto KLT dari ekstrak etanol daun pagoda

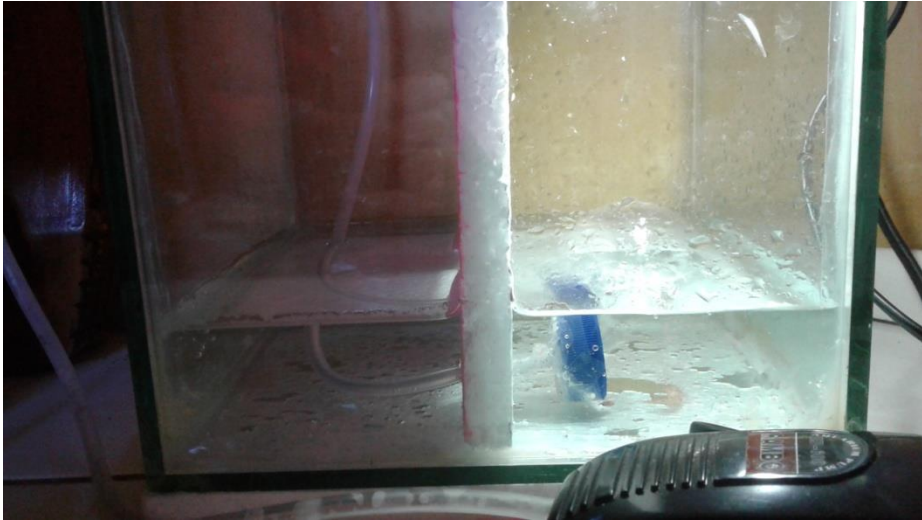
1. Foto KLT dari ekstrak etanol daun pagoda pada senyawa steroid



2. Foto KLT dari ekstrak etanol daun pagoda pada senyawa flavonoid



Lampiran 7. Foto akuarium untuk penetasan larva udang



Lampiran 8. Perhitungan pembuatan larutan dengan konsentrasi 40, 52, 68, 88, 114 $\mu\text{g/mL}$

1. Pembuatan larutan induk 10.000 $\mu\text{g/mL}$

$$= \frac{100 \text{ mg} \cdot 10 \text{ mL}}{10} = \frac{100 \text{ mg}}{0,01 \text{ L}} = 10.000 \mu\text{g/mL}$$

2. Pembuatan larutan induk 2000 $\mu\text{g/mL}$

$$= \frac{2 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 10.000 = 2000 \mu\text{g/mL}$$

3. Pembuatan larutan baku kerja

a. $\frac{0,2 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 2000 = 40 \mu\text{g/mL}$

b. $\frac{0,26 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 2000 = 52 \mu\text{g/mL}$

c. $\frac{0,34 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 2000 = 68 \mu\text{g/mL}$

d. $\frac{0,44 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 2000 = 88 \mu\text{g/mL}$

e. $\frac{0,57 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 2000 = 114 \mu\text{g/mL}$

Lampiran 9. Foto proses penetasan larva udang *Artemia Salina Leach*

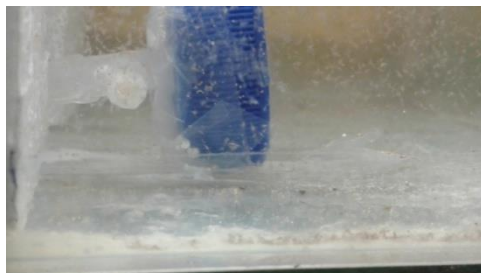
Akuarium penetasan dibagi 2 bagian, gelap dan terang



Telur larva udang artemia



Larva udang setelah menetas



Larva udang 48 jam setelah menetas



Penetasan telur dengan air laut

Lampiran 10. Foto pengujian BSLT *Brine Shrimp Lethality Test* dari ekstrak etanol daun pagoda

