

**UJI PENDAHULUAN ANTI KANKER DARI  
EKSTRAK ETANOL BIJI KEBIUL (*Caesalpinia bonduc*  
(L) Roxb) DENGAN METODE *BRINE SHRIMP*  
*LETHALITY TEST* (BSLT)**

**KARYA TULIS ILMIAH**

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat untuk  
mencapai gelar Ahli Madya Farmasi (A.Md.Farm)



**Disusun Oleh :**

**YESA CHRISTINE SANUKI**

**NIM 17101111**

**AKADEMI FARMASI AL-FATAH**

**YAYASAN AL-FATHAH**

**BENGKULU**

**2020**

## PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Yang bertanda tangan di bawah ini adalah :

Nama : Yesa Christine Sanuki  
Nim : 17101111  
Program Studi : DIII Farmasi  
Judul : Uji Pendahuluan Anti Kanker Dari Ekstrak Etanol Biji Kabiul (*Caesalpinia bonduc* (L) Roxb) Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test (Bslt)*

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis ilmiah ini merupakan hasil karya sendiri dan sepengetahuan penulis tidak berisikan materi yang dipublikasikan atau ditulis orang lain atau dipergunakan ntuk menyelesaikan studi di Peguruan Tinggi lain kecuali untuk bagian-bagian tertentu yang dipakai sebagai acuan.

Apabila terbukti sebagai pernyatann ini tidak benar, sepenuhnya menjadi tanggung jawab penulis.

Bengkulu, Agustus 2020  
Yang membuat pernyataan



Yesa Christine Sanuki

## LEMBAR PENGESAHAN

### KARYA TULIS ILMIAH DENGAN JUDUL

Uji Pendahuluan Anti Kanker Dari Ekstrak Etanol Biji Kebiul (*Caesalpinia Bonduc* (L) Roxb) Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (Bslt)

Oleh :

Yesa Christine S  
17101111

Karya Tulis Ilmiah Ini Telah Dipertahankan Di Hadapan Dewan Penguji  
Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Menepuh Ujian Diploma (DIII) Farmasi  
Di Akademi Farmasi Al-Fatah Bengkulu

Pada tanggal : 28 Juli 2020

Dewan Penguji :

Dosen Pembimbing I

Dosen Pembimbing II

Densi Selpia Sopiанти M.Farm., Apt  
NIDN 0214128501

Aina Fatkhil Haque M.Farm., Apt  
NIDN 0217118801

Penguji

Sari Yanti M.Farm., Apt  
NIDN

## MOTO DAN PERSEMBAHAN

### MOTTO :

Yeremia 29:11

*Sebab Aku ini mengetahui rancangan-rancangan apa yang ada pada-Ku mengenai kamu, demikianlah firman TUHAN, yaitu rancangan damai sejahtera dan bukan rancangan kecelakaan, untuk memberikan kepadamu hari depan yang penuh harapan.*

Yosua 1:9

*Bukankah telah Kuperintahkan kepadamu: kuatkan dan teguhkanlah hatimu? Janganlah kecut dan tawar hati, sebab TUHAN, Allahmu, menyertai engkau, ke mana pun engkau pergi.”*

*"Kamu lebih kuat dari yang kamu tahu. Lebih cakap dari yang pernah kamu impikan."*

### PERSEMBAHAN :

*Karya kecil ini kupersembahkan puji syukur ku kepada Tuhan Yesus Kristus, yang telah mengabdikan segala permohonan dan doa-doa ku selama menyusun karya tulis ilmiah. "Thnak's God". Karya tulis ini kupersembahkan untuk:*

- *kedua orang tuaku "MAK dan BAPAK" yang kucintai dan kukagumi yang selalu mendukung dan memberikan Doa serta semangat dalam mencapai keberhasilanku.*
- *Kedua adik-adikku yang kusayangi yang selama ini menjadi penyemangatku dan sepupu-sepupuku serta keluargaku yang lain, yang tidak bisa aku sebutkan satu persatu.*

- *Dosen-dosenku yang telah menjadi orang tua kedua ku, yang namanya tidak bisa ku sebutkan satu persatu yang selalu memberikan motivasi untukku, selalu peduli dan perhatian, ucapan terimakasih yang tak terbingga dari ku atas ilmu yang telah kalian berikan sangatlah bermanfaat untukku dan akan selalu ku pergunakan di jalan kebaikan seperti yang kalian inginkan.*
- *Dosen pembimbingku yang telah sabar revisi, memberikan masukan, memberikan semangat dan motivasi dari mulai pembuatan judul hingga terselesaikannya KTI ini (densi selpia sopianti M.Farm.,Apt, Aina Fathkil M.Farm.,Apt)*
- *Dosen penguji ku yang telah memberikan nilai terbaik untuk ku (Sari Yanti M.Farm.,Apt)*
- *Untuk teman-teman almamaterku dan teman-teman seperjuanganku di kampus yang tidak bisa untuk disebutkan satu persatu.*

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa karena berkat dan karunia-Nya penulisan dapat menyelesaikan karya tulis ilmiah dengan penelitian yang berjudul **“Uji Pendahuluan Anti Kanker Dari Ekstrak Etanol Biji Kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L) Roxb) Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (Bslt)**

Penyusunan karya tulis ilmiah ini masih perlu mendapatkan masukan dari berbagai pihak demi perbaikan karya tulis ilmiah ini tanpa mengurangi rasa hormat kepada pembimbing, ucapan terimakasih yang terbesar penulis persembahkan kepada orang tua, karena dengan doa dan kasih sayangnya telah mengiringi perjalanan penulisan dalam menyusun karya tulis ilmiah ini dan rasa terimakasih yang sedalam-dalamnya ucapkan kepada:

- a. Ibu Densi Selpia Sopiani, M.Farm., Apt selaku dosen pembimbing I dan sekaligus Direktur Akfar Al-Fatah Bengkulu
- b. Ibu Aina Fathkil M.Farm., Apt selaku dosen pembimbing II
- c. Ibu Sari Yanti M.Farm., Apt selaku penguji
- d. Drs. Djoko Triyono, Apt, MM. Selaku ketua yayasan Al-Fathah
- e. Kedua orang tua saya yang selalu mendukung dan memberikan doa terbaiknya
- f. Teman-teman satu angkatan yang selalu memberikan motivasi dan semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu yang telah memberikan bantuan secara langsung maupun tidak langsung.

Penulis menyadari, sebagai mahasiswa yang pengetahuannya belum seberapa dan masih perlu banyak belajar dalam penulisan karya tulis ilmiah, oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan adanya kritik dan saran yang positif untuk perbaikan karya tulis ilmiah ini. Semoga karya tulis ilmiah ini dapat bermanfaat dan dapat memberikan sumbangsih bagi kemajuan ilmu pengetahuan.

Bengkulu, Juli 2020

Penulis

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	<b>i</b>
<b>PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN</b> .....	<b>ii</b>
<b>PENGESAHAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>MOTTO DAN PERSEBAHAN</b> .....	<b>iv</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>vi</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>viii</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>x</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xi</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xii</b>
<b>INTISARI</b> .....	<b>xiii</b>
<b>BAB I : PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Batasan Masalah.....	3
1.3 Rumusan Masalah .....	3
1.4 Tujuan Penelitian .....	4
1.5 Manfaat Penelitian.....	4
1.5.1 Manfaat Bagi Akademik .....	4
1.5.2 Manfaat Bagi Peneliti Lanjutan .....	4
1.5.3 Manfaat Bagi Masyarakat .....	6
<b>BAB II : TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Kajian Teori .....	6
2.1.1 Tumbuhan Kebiul .....	6
2.1.2 Kadungan Biji Kebiul .....	8
2.1.3 Simplisia.....	12
2.1.4 Ekstraksi .....	14
2.1.5 Toksisitas .....	17
2.1.6 Metode Uji Toksisitas .....	20
2.1.7 <i>Artemia Salina</i> Leach .....	24
2.1.8 Kanker .....	25

2.2. Kerangka Konsep .....	29
<b>BAB III METODE PENELITIAN</b>	
3.1 Tempat Dan Waktu Penelitian .....	30
3.2 Alat dan Bahan .....	30
3.2.1 Alat .....	30
3.2.2 Bahan.....	30
3.3 Prosedur Kerja Penelitian .....	30
3.3.1 Pembuatan Simplisia .....	30
3.3.2 Ekstrak Biji Kebiul Dengan Metode Maserasi .....	31
3.4 Rancangan Uji Toksisitas .....	31
3.3.1 Pembuatan Air Laut Buatan .....	31
3.3.5 Penetasan Telur Artemia .....	31
3.3.6 Pembuatan Larutan Uji.....	32
3.3.7 Pengujian .....	33
3.5 Analisis Data.....	34
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1 Hasil.....	35
4.1.1 Ekstrak biji kebiul .....	35
4.1.2 Uji BSLT ( <i>brine shirmp lethalty test</i> ) .....	36
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
5.1 Kesimpulan .....	44
5.2 Saran .....	44
5.2.1 Bagi Akademik .....	44
5.2.2 Bagi Penelitian Lanjutan .....	44
5.2.3 Bagi Masyarakat .....	45
<b>DAFARAKA PUSTAKA</b>	
<b>LAMPIRAN</b>	

## DAFTAR TABEL

	<b>Halaman</b>
Tabel I : Kategori Nilai Toksik .....	22
Tabel II : Hasil Perhitungan Rendemen Ekstrak Biji Kebiul .....	27
Tabel III : Data Hasil Pengamatan Kematian Larva Udang <i>Artemia Salina Leach</i> .....	27
Tabel IV : Penetapan LC <sub>50</sub> .....	28
Tabel V : Nilai Persamaan Regresi Pada Excel.....	39

## DAFTAR GAMBAR

	<b>Halaman</b>
Gambar 1. Tanaman Biji Kebiul ( <i>Caesalpinia bonduc</i> (L) Roxb).....	5
Gambar 2. Struktur Tanin .....	7
Gambar 3. Struktur Flavonoid.....	9
Gambar 4. Struktur Alkoloid.....	9
Gambar 5. Struktur Steroid .....	10
Gambar 6. <i>Artemia Salina</i> Leach .....	23
Gambar 7. Kerangka Konsep .....	27
Gambar 8. Hubungan Antara Nilai Konsentrasi Dengan nilai % Kematian.....	37
Gambar 9. Skema Alur Penelitian .....	51
Gambar 10. Skema Kerja Pembuatan Ekstrak Biji Kebiul ( <i>Caesalpinia bonduc</i> (L) Roxb) .....	52
Gambar 11. Skema Kerja Pelaksanaan Uji BSLT Ekstrak Biji Kebiul ( <i>Caesalpinia bonduc</i> (L) Roxb) .....	53
Gambar 12. Pehitungan Pengenceran .....	54
Gambar 13. Perhitungan % Kematian Larva Udang ( <i>Artemia Salina Leach</i> ) ...	56
Gambar 14. Harga Probit Sesuai Presentasinya.....	57
Gambar 15. Pehitungan data Menggunakan Niai Probit dan Excel .....	57
Gambar 16. Perhitungan Dengan Menggunakan SPSS .....	57
Gambar 17. Alat Dan Bahan .....	58
Gambar 18. Proses Ekstraksi .....	59
Gambar 19. Proses Pembuatan Larva <i>Artemia Salina</i> .....	60
Gambar 20. Proses Uji BSLT.....	61

## DAFTAR LAMPIRAN

	<b>Halaman</b>
Lampiran 1 : Skema Alur Penelitian.....	51
Lampiran 2 : Skema Kerja Pembuatan Ekstrak Biji Kebiul ( <i>Caesalpinia bonduc</i> (L) Roxb).....	52
Lampiran 3 : Skema Kerja Pelaksanaan Uji BSLT Ekstrak Biji Kebiul ( <i>Caesalpinia bonduc</i> (L) Roxb).....	53
Lampiran 4 : Pehitungan Pengenceran .....	54
Lampiran 5 : Perhitungan % Kematian Larva Udang ( <i>Artemia Salina Leach</i> ) .	56
Lampiran 6 : Pehitungan data Menggunakan Niai Probit dan Excel .....	57
Lampiran 7 : Perhitungan Dengan Menggunakan SPSS .....	57
Lampiran 8 : Harga Probit Sesuai Presentasenya.....	57
Lampiran 9 : Alat Dan Bahan.....	58
Lampiran 10 : Proses Ekstraksi.....	59
Lampiran 11 : Proses Pembuatan <i>Larva Artemia Salina</i> .....	60
Lampiran 12 : Proses Uji BSLT .....	61

## INTISARI

Kebiul (*Caesalpinia bonduca* (L) Roxb) merupakan salah satu tanaman yang digunakan sebagai obat oleh masyarakat, Masyarakat Bengkulu menggunakan tumbuhan kebiul yaitu bagian bijinya sebagai pengobatan tradisional, salah satunya sebagai anti kanker.

Metode pembuatan ekstrak dengan maserasi dan diuapkan dengan rotari evaporator menggunakan etanol 96%. Metode yang digunakan adalah Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) dengan menggunakan larva *Artemia Salina* Leach. dibuat menjadi 6 konsentrasi , yaitu konsentrasi 1 ppm, 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm dengan ditambah kontrol negatif yang hanya berisi air laut dan larva udang.

Hasil dari analisis menggunakan tabel Probit menunjukkan nilai LC<sub>50</sub> dari ekstrak etanol biji kebiul adalah 3,183 ppm, dengan menggunakan SPSS data yang didapatkan signifikan >0,05. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji kebiul bersifat sangat toksik, hal ini ditandai dengan nilai LC<sub>50</sub> < 30 µg/mL,

**Kata kunci : Biji Kebiul, Kanker, BSLT, LC<sub>50</sub>**

**Daftar acuan : 30 (1984-2019)**

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Indonesia memiliki sekitar 30.000 spesies tanaman 940 di antaranya digunakan sebagai tanaman obat. Penggunaan tanaman obat sebagai pengobatan tradisional merupakan pilihan pengobatan yang kini makin diminati, terlebih lagi dengan kesadaran untuk kembali ke alam dan juga karena relatif aman dan murah, bahkan dengan perkembangan yang kini ada makin mendapat perhatian bagi alternatif pelayanan kesehatan. Dari berbagai penelitian, obat tradisional telah diakui keberadaannya oleh masyarakat, dengan demikian meningkatkan manfaat tanaman bagi kesehatan dan menciptakan kondisi yang mendorong pengembangan obat tradisional (Hendrawati, 2009).

Salah satunya adalah tanaman kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L) Roxb) yang bijinya digunakan sebagai obat oleh masyarakat. Tumbuhan kebiul tumbuh liar dan banyak ditemukan di perkebunan masyarakat yang bebatasan dengan hutan lindung. Tumbuhan kebiul juga banyak ditemukan di Pulau Sumatra khususnya di daerah Bengkulu. Masyarakat Bengkulu menggunakan tumbuhan kebiul sebagai obat yaitu bagian bijinya yang berkhasiat sebagai obat malaria, sakit perut, batu ginjal, kencing manis, dan hernia. Biji Kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L) Roxb) merupakan tanaman obat yang secara turun temurun atau secara empiris yang merupakan famili *Caesalpiniaceae* yang memiliki potensi besar untuk dimanfaatkan sebagai

menangkal radikal bebas atau sebagai antioksidan karena kandungan senyawa yang ada dalam biji kebiul seperti alkaloid, flavonoid, saponin, dan steroid (sopianti *dkk*, 2017).

Adapun beberapa tanaman yang memiliki potensi sebagai anti kanker yang telah diteliti yaitu teh hijau (*camellia sinensis* L.(kuntze). Senyawa polifenol, flavonoid dan tanin yang terdapat teh hijau merupakan konstituen aktif yang memberikan efek antikanker (Tabaga *dkk*,2015) dan analisis melaporkan flavonoid dari lengkuas (*alfnia galanga*) juga memiliki aktivitas antikanker (ImranM *dkk*,2007). Berdasarkan penelitian tanaman obat sebagai antikanker, ekstrak *brucea javanica* mempunyai senyawa alkaloid (brucamarine,yatanine) juga memiliki aktivitas antikanker payudara dengan mempunyai nilai  $LC50 = 2,69\mu/mL$  terhadap sel kanker payudara. Hasil penelitian (Ngama,2015) menunjukkan bahwa *S. delicatula* dan Genus *Pteris* positif mengandung alkaloid. Dari tumbuhan paku sudah diuji potensi anti kankernya antara lain *Drymoglossum piloselloides* (Sahid et al., 2013) untuk uji antikanker Menggunakan Teknologi yang disebut juga teknik *in vitro*. Teknik *in vitro* ini menggunakan sel *line* yang dapat diuji dengan uji MTT (*microculture tetrazolium technique*) (Pandiangan *ddk*,2013) dengan menggunakan parameter LC50 sehingga dapat diketahui adanya potensi tumbuhan sebagai antikanker (Winarno, 2011).

Pada pengujian ini menggunakan larva udang *Artemia salina*. Dengan metode *Brine ShrimpLethality Test* (BSLT). Metode ini digunakan sebagai skrining awal untuk tumbuhan yang mempunyai aktivitas antikanker.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi anti kanker melalui pengujian toksisitas Ekstrak Etanol Biji Kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L) Roxb). Pengukuran toksisitas dinyatakan dengan nilai LC50. Berdasarkan latar belakang di atas, maka peneliti tertarik melakukan penelitian berupa Uji Pendahuluan Anti Kanker Dari Ekstrak Etanol Biji Kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L) Roxb) Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

## 1.2 Batasan Masalah

Berdasarkan uraian diatas maka batasan masalah dalam penelitian ini yaitu:

- a. Sampel yang digunakan dalam penelitian pada Uji Pendahuluan ini menggunakan biji kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L) Roxb)
- b. Biji kebiul di ekstrak dengan metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96 %
- c. Metode pada Uji Pendahuluan Anti Kanker biji kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L) Roxb) ialah menggunakan metode *Brine Shrimp lethality Test* (BSLT) menggunakan larva udang *Artemia salina*.

## 1.3 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas maka memiliki rumusan masalah penelitian ini:

- a. Apakah ekstrak biji kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L) Roxb). Memiliki efek toksisitas terhadap larva *Artemia salina* Leach?
- b. Berapakah nilai LC50 ekstrak biji kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L) Roxb). Terhadap larva *Artemia salina* Leach?

#### **1.4 Tujuan Penelitian**

Adapun tujuan penelitian yang di miliki adalah sebagai berikut:

- a. Untuk mengetahui ada atau tidaknya efek toksik dari ekstrak (*Caesalpinia bonduc* (L) Roxb) terhadap larva *Artemia salina* Leach
- b. Untuk mengetahui nilai LC50 ekstrak biji kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L) Roxb). terhadap larva *Artemia salina* Leach

#### **1.5 Manfaat Penelitian**

Manfaat penelitian dilakukan diantaranya sebagai berikut:

##### **1.5.1 Manfaat Bagi Akademik**

Penelitian ini dapat dijadikan dokumentasi tertulis dan di harapkan dapat dimanfaatkan sebagai masukan yang membangun bagi perkembangan akademik dan menjadi referensi untuk kelanjutan penelitian bagi mahasiswa/i selanjutnya.

##### **1.5.2 Manfaat bagi peneliti lanjutan**

Penelitian ini dapat dimanfaatkan dan dijadikan referensi untuk penelitian selanjutnya dan juga untuk menambah wawasan pengetahuan tentang Uji Pendahuluan Anti Kanker Dari Ekstrak Etanol Biji Kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L) Roxb). Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test (Bslt)*.

### **1.5.3 Manfaat bagi masyarakat**

Penelitian ini dapat menjadi informasi secara ilmiah bagi masyarakat tentang aktivitas anti kanker dari biji kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L) Roxb) dan dapat memberikan pengetahuan bagi masyarakat dalam memilih alternatif obat dari bahan alam untuk mengurangi resiko efek samping yang ditimbulkan oleh obat kanker.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Kajian Teori

##### 2.1.1 Tumbuhan Kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L) Roxb)

Kebiul merupakan tumbuhan berbiji tunggal, batangnya memanjang dan seluruh permukaan batang berduri. Biji kebiul banyak digunakan oleh masyarakat Bengkulu Selatan sebagai obat untuk pengobatan berbagai penyakit seperti malaria, sakit kepala, kencing manis, batu ginjal dan batu empedu. Berdasarkan pengalaman masyarakat, pengobatan menggunakan biji (*Caesalpinia bonduc* (L) Roxb) ini mempunyai efek penyembuhan yang baik (Uyatmi, 2016).

##### a. Taksonomi Tumbuhan Kebiul



**Gambar 1. Tanaman biji kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L) Roxb)**

Klasifikasi dalam sistematika tumbuhan

Divisio	: <i>Magnoliophyta</i>
Subdivisio	: <i>Magnoliopsida</i>
Class	: <i>Angiospermae</i>
Ordo	: <i>Fabales</i>
Familia	: <i>Fabaceae</i>
Genus	: <i>Caesalpinia</i>
Spesies	: ( <i>Caesalpinia bonduc</i> L (Roxb)).

## b. Morfologi Tanaman Kebiul

### 1. Daun

Berbentuk oval, ujung tumpul pada tanaman muda dan ujung runcing pada tanaman tua, posisi daun sejajar, memiliki tangkai daun, pertulangan daun.

### 2. Batang

Batang menjalar, sepanjang batang dipenuhi dengan duri, warna kulit batang muda hijau sedang batang yang sudah tua berwarna coklat, merambat pada batang lain, panjangnya dapat mencapai puluhan meter.

### 3. Buah Kebiul

Buah muda berwarna hijau dan jika tua berwarna coklat tua, buah dipenuhi dengan duri yang tajam. Dalam tiap buah terdapat 4 sampai 6 biji. dan buahnya memiliki kulit yang dilengkapi dengan duri-duri yang kaku tergantung daerah tumbuhnya.

### 4. Daging Kebiul

Daging biji kebiul terasa pahit dan kelat, warna daging buah kebiul putih susu, dan kulitnya warna hijau.

### 5. Biji Kebiul

Biji berbentuk bulat Biji muda berwarna hijau dengan kulit biji yang lunak. Biji tua berwarna abu-abu dengan kulit biji yang sangat keras. Biji terbungkus dalam kelopak yang dipenuhi dengan duri. Biji kebiul yang sudah tua dapat disimpan hingga puluhan tahun tanpa

terjadi kerusakan, biji kebiul berbagai macam bentuk tergantung tempat tumbuh adang yang berbentuk lonjong, bulat dan ada yang berbentuk tidak beraturan kulit luar biji terdiri dari tiga lapisan inti biji mengandung dua kotiledon, berbentuk sirkuler atau oval, diameter 1,23 1,27 cm, rasanya sangat pahit, berbau tidak enak dan membuat mual.

#### 6. Habitat Alami Tanaman Kebiul

Tanaman kebiul hidup di hutan yang lembab dengan tanah basah, terlindung oleh tanaman besar sehingga sinar matahari agak terhalang. Tekstur tanah lembut seperti tanah liat, tanaman ini banyak ditemukan diperbatasan hutan lindung dengan hutan tanaman rakyat (daerah perkebunan tradisional penduduk di sekitar hutan (Kusrahman,2012)

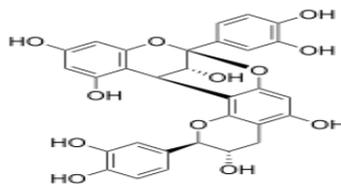
#### **2.1.2 Kandungan pada biji kebiul**

Biji Kebiul Memiliki Ekstrak Sebagai Berikut:

##### 1. Tanin

Tanin adalah senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada beberapa tanaman. Tanin mampu mengikat protein, sehingga protein pada tanaman dapat resisten terhadap degradasi oleh enzim protease di dalam silo ataupun rumen (Kondo *et al.*, 2004). Tanin selain mengikat protein juga bersifat melindungi protein dari degradasi enzim mikroba maupun enzim protease pada tanaman (Oliveira *et al.*, 2009), sehingga tanin sangat bermanfaat dalam menjaga kualitas silase. Tanin merupakan senyawa kimia yang tergolong dalam senyawa polifenol (Deaville *et al.*,

2010). Tanin mempunyai kemampuan mengendapkan protein, karena tanin mengandung sejumlah kelompok ikatan fungsional yang kuat dengan molekul protein yang selanjutnya akan menghasilkan ikatan silang yang besar dan kompleks yaitu protein tanin. Tanin mempunyai berat molekul 0,5-3 KD. Tanin alami larut dalam air dan memberikan warna pada air, warna larutan tanin bervariasi dari warna terang sampai warna merah gelap atau coklat, karena setiap tanin memiliki warna yang khas tergantung sumbernya (Ahadi, 2003). Tanin dibagi menjadi dua kelompok yaitu tanin yang terhidrolisis dan tanin yang terkondensasi. Tanin yang terhidrolisis merupakan polimer *gallic* atau *ellagic acid* berikatan dengan ester dan sebuah molekul gula, sedangkan tanin terkondensasi merupakan polimer senyawa flavonoid dengan ikatan karbon-karbon (Westendarp, 2006).

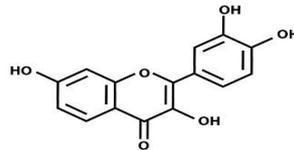


**Gambar 2. Struktur Tanin**

## 2. Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman (Rajalakshmi dan S. Narasimhan, 1985). Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa phenolik dengan struktur kimia C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>. Kerangka flavonoid terdiri atas satu cincin aromatik A, satu cincin aromatik B, dan cincin tengah berupa heterosiklik yang mengandung Oksigen dan bentuk

teroksidasi cincin ini dijadikan dasar pembagian flavonoid ke dalam sub-sub kelompoknya. Sistem penomoran digunakan untuk membedakan posisi karbon di sekitar molekulnya. Beberapa fungsi flavonoida adalah pengatur tumbuh, pengatur fotosintesis, kerja mikroba dan antivirus. Flavonoida dalam tubuh bertindak menghambat enzim lipooksigenase yang berperan dalam biosintesis prostaglandin. Hal ini disebabkan karena flavonoida merupakan senyawa pereduksi yang baik sehingga akan menghambat reaksi oksidasi (Robinson, 1995).

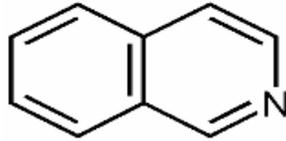


**Gambar 3. Struktur Flavonoid**

### 3. Alkaloid

Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Hampir seluruh senyawa alkaloid berasal dari tumbuh-tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan. Alkaloid merupakan senyawa yang bersifat basa yang memiliki satu atau lebih atom N dan berbentuk heterosiklik. Alkaloid sering kali bersifat racun bagi manusia dan banyak dari alkaloid yang memiliki aktivitas fisiologi yang menonjol sehingga banyak dimanfaatkan dalam bidang pengobatan. Umumnya alkaloid ini berbentuk kristal (Harbone, 1987). Semua alkaloid mengandung paling sedikit satu atom nitrogen, biasanya bersifat basa dan sebagian besar atom nitrogen ini merupakan bagian dari cincin heterosiklik. (Lenny. 2006). Ada tiga pereaksi yang sering digunakan dalam skrining fitokimia untuk mendeteksi alkaloida sebagai

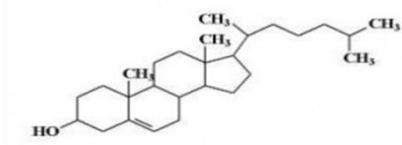
pereaksi pengendapan yaitu pereaksi *Mayer*, pereaksi *Bouchardat*, dan pereaksi *Dragendorff*. (Lenny. 2006).



**Gambar 4. Struktur alkaloid**

#### 4. Stereroid/Triterpenoida

Terpenoid (atau isoprenoid-nya), sebuah subclass dari prenylipids (terpene, prenylquinones, dan sterol), terpenoid mewakili kelompok tertua produk molekul kecil disintesis oleh tanaman dan merupakan produk alami yang paling banyak. Terpenoid merupakan hasil modifikasi dari terpen, dimana gugus-gugus metil diganti dengan atom oksigen atau dihilangkan. Beberapa ahli menggunakan istilah terpen yang mencakup pengertian lebih luas dari terpenoid. Senyawa terpen telah lama dikenal, berhubungan dengan minyak-minyak essential yang termasuk dalam minyak esensial, resin, steroid dan karet. Terpen adalah hidrokarbon yang biasanya mengandung satu atau lebih C=C ikatan rangkap, sedangkan terpenoid adalah turunan terpen yang mengandung oksigen. Pada umumnya, terpen banyak digunakan untuk berbagai kepentingan praktis, khususnya dalam industri aroma dan rasa, serta dalam industri farmasi dan kimia (Leray; 2011)



**Gambar 5. Struktur Steroid**

### 2.1.3 Simplisia

Menurut Farmakope Herbal Indonesia edisi pertama (2009), simplisia adalah bahan alam yang telah di keringkan yang di gunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan kecuali dinyatakan lain, suhu pengeringan simplisia tidak lebih dari 60<sup>0</sup> C.

a. Menurut Materi Medika Indonesia (1989), simplisia dapat digolongkan dalam tiga kategori yaitu:

#### 1. Simplisia Nabati

Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. eksudat adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau isi sel yang dengan cara tertentu di pisahkan dari tanamannya dan belum berupa zat kimia.

#### 2. Simplisia Hewani

Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa atau bagian hewan zat-zat yang di hasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni. Contoh : minyak ikan (*oleum jecorisasseli*) dan madu (*meldeparntum*).

#### 3. Simplisia Pelikan atau mineral

Simplisia pelikan adalah simplisia yang berupa bahan-bahan pelikan (mineral) yang belum di olah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia. Contoh : serbuk seng, dan serbuk tembaga (Agoes, 2007).

## b. Pengelolahan Simplisia

Pengumpulan Bahan Baku Kadar senyawa aktif dalam suatu simplisia berbeda-beda antara lain tergantung pada bagian tanaman yang digunakan, umur tanaman atau bagian tanaman pada saat panen, waktu panen, dan lingkungan tempat tumbuh. Waktu panen sangat erat hubungannya dengan pembentukan senyawa aktif di dalam bagian tanaman yang akan dipanen. Waktu panen yang tepat pada saat bagian tanaman tersebut mengandung senyawa aktif dalam jumlah terbesar (Soegihardjo, 2013).

### 1. Sortasi Basah

Sortasi basah adalah pemilihan hasil panen ketika tanaman masih segar. Sortasi dilakukan terhadap tanah dan kerikil, rumput-rumputan, dan tanaman lain atau bagian lain dari tanaman yang tidak digunakan serta bagian tanaman yang rusak (dimakan ulat atau sebagainya) (Soegihardjo, 2013).

### 2. Pencucian

Pencucian bertujuan untuk menghilangkan kotoran dan mengurangi mikroba-mikroba yang menempel pada bahan. Pencucian harus dilakukan dalam waktu yang sesingkat mungkin untuk menghindari larut dan terbuangnya zat yang terkandung dalam simplisia. Pencucian harus menggunakan air bersih, seperti air dari mata air, sumur atau PAM (Soegihardjo, 2013).

### 3. Perajangan

Perajangan dapat dilakukan dengan pisau, dengan alat peranjang khusus sehingga diperoleh rajangan tipis atau dengan potongan ukuran yang dikehendaki. Semakin tipis bahan yang dikeringkan semakin cepat penguapan air, sehingga mempercepat proses pengeringan simplisia (Soegihardjo, 2013).

### 4. Pengeringan

Tujuan pengeringan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lama. Dengan mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik akan dicegah penurunan atau kerusakan simplisia.

### 5. Sortasi Kering

Sortasi setelah pengeringan merupakan tahap akhir pembuatan simplisia. Tujuan sortasi kering untuk memisahkan benda-benda asing dan pengotor-pengotor lain yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering.

### 6. Pengepakan atau penyimpanan

Simplisia dapat rusak atau berubah mutunya karena berbagai faktor luar dan dalam antara lain, cahaya, oksigen, reaksi kimia, penyerapan air, pengotoran, serangga, dan kapang. Selama penyimpanan ada kemungkinan terjadi kerusakan pada simplisia. Penyimpanan bisa disimpan pada wadah tertutup baik, wadah tertutup rapat dan wadah tertutup kedap (Depkes, 1995).

#### 2.1.4 Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati dan hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlukan sedemikian sehingga memenuhi baku telah ditentukan (Depkes, 2000).

##### a. Proses Pembuatan Ekstrak

##### 1. Pembuatan Serbuk Simplisia

Proses awal pembuatan ekstrak adalah tahapan pembuatan serbuk simplisia kering. Dari simplisia dibuat serbuk simplisia dengan peralatan tertentu sampai derajat kehalusan tertentu. Semakin halus serbuk simplisia maka proses ekstraksi makin efektif dan efisien, akan tetapi semakin rumit untuk tahapan filtrasi (Depkes, 2000).

##### 2. Cairan Pelarut

Cairan pelarut dalam proses pembuatan ekstrak adalah pelarut yang optimal untuk senyawa kandungan aktif sehingga senyawa tersebut dapat dipisahkan dari bahan dan dari senyawa kandungan lainnya, serta ekstrak hanya mengandung sebagian besar senyawa kandungan yang diinginkan. Dalam hal ekstrak total, maka cairan pelarut dipilih yang melarutkan hampir semua metabolit sekunder yang terkandung. Faktor utama untuk pertimbangan pada pemilihan cairan penyari adalah selektivitas, kemudian bekerja dan proses dengan cairan tersebut,

ekonomi, ramah lingkungan dan keamanan. Terdapat tiga golongan pelarut yaitu :

a) Pelarut Polar

Pelarut polar adalah senyawa yang memiliki rumus umum R-OH dan menunjukkan adanya atom hidrogen yang menyerang atom elektronegatif (Oksigen). Pelarut dengan tingkat kepolaran tinggi merupakan pelarut yang cocok untuk semua jenis zat aktif karena di samping menarik senyawa-senyawa yang bersifat polar, pelarut ini juga tetap dapat menarik senyawa-senyawa dengan tingkat kepolaran lebih rendah. Contoh pelarut diantaranya : air, methanol, etanol, dan asam asetat (Marjoni, 2016).

b) Pelarut Semipolar

Pelarut semi polar adalah pelarut yang memiliki molekul yang tidak mengandung ikatan O-H. Pelarut semi polar memiliki tingkat kepolaran yang lebih rendah dibandingkan dengan pelarut polar. Pelarut ini baik digunakan untuk melarutkan senyawa-senyawa yang bersifat semipolar dari tumbuhan. Contoh : Aseton, etil asetat, diklorometon (Marjoni, 2016).

c) Pelarut Non Polar

Pelarut non polar merupakan senyawa yang memiliki konstan dielektrik yang rendah dan tidak larut dalam air. Pelarut ini baik digunakan untuk menarik senyawa-senyawa yang sama sekalitidak larut

dalam pelarut polar seperti minyak. Contoh : Heksana, Kloroform, dan Eter (Marjoni, 2016).

d) Separasi Dan Pemurnian

Tujuan dari tahap ini adalah menghilangkan atau memisahkan senyawa yang tidak dikehendaki, semaksimal mungkin tanpa berpengaruh pada senyawa kandungan yang dikehendaki sehingga diperoleh ekstrak yang lebih murni.

e) Pemekatan

Pemekatan berarti peningkatan jumlah *partikel solute* (senyawa terlarut serta penguapan pelarut tanpa sampai menjadi kondisi kering tetapi ekstrak hanya menjadi kental. (Marjoni, 2016)..

f) Pengeringan Ekstrak

Pengeringan berarti menghilangkan pelarut dari bahan sehingga menghasilkan serbuk. Masa kering-rapuh tergantung proses dan peralatan yang digunakan. Rendemen Rendemen adalah perbandingan antar ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal.

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{berat sampel yang digunakan}} \times 100\%$$

g) Tujuan dari Ekstrak

Tujuan dari ekstrak adalah untuk menarik semua zat dan komponen kimia yang terdapat dalam simplisia

### 2.1.5 Toksisitas

Toksisitas dapat diartikan suatu keadaan yang menandai adanya efek toksik atau racun yang terdapat pada suatu bahan sebagai sediaan dosis tunggal atau campuran. Untuk mengetahui tingkat toksistas terhadap organisme hidup dapat dilakukan cara uji hayati atau uji toksisitas. Uji hayati adalah percobaan yang menggunakan organisme hidup untuk mengetahui adanya pengaruh dari suatu senyawa. Uji toksisitas dapat memberi informasi tentang pengaruh senyawa kimia terhadap organisme yang diuji, seperti hambatan pada pertumbuhan, tingkat kematian, perubahan perilaku, abnormalitas fungsi organ tubuh dan gangguan-gangguan fisiologis lainnya (Ulfa,2017). Berdasarkan postulat Paracelcus, bahwa sifat toksik suatu tokson sangat ditentukan (oleh dosis (konsentrasi tokson pada reseptornya). Artinya kehadiran suatu zat yang berpotensi toksik di dalam suatu organisme belum tentu menghasilkan juga keracunan, misal insektisida rumah tangga (DDT) dalam dosis tertentu tidak akan menimbulkan efek yang berbahaya bagi manusia. Namun,pada dosis tersebut memberikan efek yang mematikan bagi serangga. Hal ini disebabkan karena konsentrasi tersebut berada jauh dibawah konsentrasi minimal efek pada manusia. Uji toksisitas toksisitas terbagi menjadi:

#### a. Toksisitas Akut

Uji toksisitas akut adalah salah satu uji praklinik. Uji ini dirancang untuk mengukur derajat efek toksik suatu senyawa yang terjadi dalam waktu singkat, yaitu 24 jam setelah pemberiannya dalam dosis tunggal.

Pengamatan dilakukan 24 jam pertama sejak diberikan perlakuan, dan 7–14 hari pada kasus tertentu. Uji toksisitas akut digunakan untuk menetapkan nilai LD<sub>50</sub> dari suatu zat toksik. Penentuan nilai LD<sub>50</sub> pada pengujian toksisitas akut merupakan tahap awal untuk mengetahui keamanan suatu zat yang akan digunakan manusia dosis secara tunggal. Nilai LD<sub>50</sub> digunakan dalam penilaian rasio manfaat dan daya racun yang dinyatakan sebagai indeks terapi obat sehingga semakin besar indeks terapi maka semakin aman obat tersebut digunakan (Ulfa,2017).

#### **b. Toksisitas Subkronis**

Uji toksisitas subkronis adalah uji untuk mengetahui toksisitas suatu senyawa yang dilakukan pada hewan coba dengan sedikitnya tiga tingkat dosis, umumnya dalam jangka waktu 90 hari. Toksisitas subkronik adalah efek yang ditimbulkan setelah penggunaan bahan-bahan yang bersifat toksik selama beberapa minggu atau bulan. Uji Toksisitas subkronik dilakukan dengan memberikan dosis berulang selama jangka waktu kurang lebih 10% dari masa hidup hewan. Uji subkronis juga digunakan untuk memberikan informasi mengenai target organ dan potensi terjadinya akumulasi senyawa kimia pada organisme (Ulfa,2017).

#### **c. Toksisitas Kronis**

Uji Toksisitas Kronis zat uji diberikan selama sebagian besar masa hidup hewan uji, dengan durasi 2-7 tahun bergantung pada umur spesies. Spesies dipilih dari hasil uji subkronis sebelumnya, studi

farmakodinamik atas beberapa spesies hewan dan mungkin dapat juga pada manusia dengan dosis tunggal yang memungkinkan sebagai uji coba. Pengujian minimum dilakukan pada dua peringkat dosis dengan jalur pemberian jalur penggunaan dimaksud pada penggunaan dari bahan uji tersebut. Evaluasi yang dilakukan meliputi seluruh hewan ditimbang seminggu sekali, pemeriksaan badan lengkap seminggu sekali, uji kimia darah, analisis air kencing, pemeriksaan sebagai obat berdasarkan besarnya dosis yang dapat menyebabkan kematian 50% pada hewan uji dengan satuan berat badan setelah pemberian hematologi dan uji fungsi atas seluruh hewan pada interval 3 sampai 6 bulan dan atas seluruh hewan yang sakit atau abnormal. Uji toksisitas kronik meliputi juga uji karsinogenitas dan uji toksisitas reproduksi (Siwiendrayanti, dkk., 2016). Setiap zat kimia baru harus terlebih dahulu dilakukan penelitian mengenai sifat-sifat ketoksikannya sebelum diperbolehkan digunakan secara luas. Oleh karena itu dalam proses pemanfaatan dan pengembangan obat tradisional bersumber hayati, harus dilakukan beberapa langkah pengujian sebelum digunakan dalam pelayanan kesehatan. Setelah diketahui obat alam tersebut berkhasiat secara empiris, maka dilakukan uji praklinik untuk menentukan keamanannya melalui uji toksisitas dan menentukan khasiat melalui uji farmakodinamik serta uji klinik pada orang sehat dan orang sakit. Setelah terbukti manfaat dan keamanannya, maka obat tradisional tersebut dapat digunakan dalam pelayanan kesehatan (Ulfa,2017).

### 2.1.6 Metode Uji Toksisitas (*Simple Bench Top Biassays*)

Uji toksisitas diperuntukkan dalam dua hal yaitu untuk evaluasi keamanan senyawa dan untuk mendeteksi aktivitas antikanker suatu senyawa. Ada beberapa metode untuk melakukan uji ini yang disebut *Simple Bench Top Bioassays*, yaitu sebagai berikut:

#### a. *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*

Berdasarkan pemikiran bahwa efek farmakologi adalah toksikologi sederhana pada dosis yang rendah dan sebagian besar senyawa antikanker adalah sitotoksik, maka *Brine Shrimp Lethality Test* dapat digunakan sebagai uji pendahuluan senyawa antikanker. Senyawa yang mempunyai kemampuan membunuh larva udang *Artemia salina* diperkirakan juga mempunyai kemampuan membunuh sel kanker dalam kultur sel. Hasil uji toksisitas dengan metode ini telah terbukti memiliki korelasi dengan daya sitotoksis senyawa anti kanker. Berdasarkan penelitian Meyer terhadap jenis *euphorbiaceae*, dari 24 jenis yang aktif (sel leukimia secara *in vitro*), 14 di antaranya toksik terhadap larva udang laut (*Artemia salina*). Pengujian ini adalah uji letalitas yang sederhana dan tidak spesifik untuk aktivitas antikanker, tetapi merupakan indikator toksisitas yang baik dan menunjukkan korelasi kuat dengan pengujian antikanker lainnya seperti uji sitotoksisitas dan uji leukimia tikus (Meyer, dkk., 1982).

Metode ini juga digunakan untuk mendeteksi keberadaan senyawa toksik dalam proses isolasi senyawa dari bahan alam yang berefek

sitotoksik dengan menentukan harga  $LC_{50}$  dari senyawa aktif. Apabila nilai  $LC_{50} < 1000$  mcg/ml, maka senyawa tersebut bersifat toksik dan memiliki potensi sitotoksik (Ulfa,2017).

**Tabel 1.** Kategori toksisitas berdasarkan nilai  $LC_{50}$

Kategori	Nilai $LC_{50}$ (ug/ml)
Sangat toksik	< 30
Toksik	30 – 1000
Tidak toksik	>1000

(Wagner *dkk* (1993))

Metode ini banyak digunakan dalam tahap *praskrining* misalnya pada: Enam jenis kultur sel *line* tumor pada manusia di laboratorium *Purdue Cancer Center*. Beberapa obat antikanker telah diuji dengan menggunakan metode BSLT, di antaranya Podofilotoksin dan Adriamisin. Podofilotoksin memberikan nilai  $LC_{50}$ , 4mcg/ml, sedangkan nilai  $LC_{50}$  Adriamisin sebesar 0,08 mcg/ml. Oleh karena itu pengujian ini merupakan tahap awal untuk mengetahui apakah senyawa tersebut berpotensi atau tidak sebagai antikanker yang selanjutnya dapat dilakukan uji sitotoksik menggunakan biakan sel kanker (Meyer, *dkk.*, 1982).

Beberapa kelebihan dari uji toksisitas dengan BSLT antara lain:

1. Merupakan metode penapisan farmakologi awal yang mudah, cepat, dan relative tidak mahal.
2. Metode yang telah teruji hasilnya dengan tingkat kepercayaan 95% untuk mengamati toksisitas suatu senyawa dalam ekstrak kasar tumbuhan.

3. Metode ini sering digunakan dalam tahap awal isolasi senyawa toksik yang terkandung dalam suatu ekstrak. Metode ini sering dihubungkan sebagai metode penapisan untuk mencari senyawa antikanker dari tumbuhan (Ulfa,2017).

**b. *Crown Gall Tumors on Potato Discs***

*Crown gall* merupakan penyakit *neoplastik* pada tanaman yang disebabkan oleh bakteri gram negatif bernama *Agrobacterium tumefaciens* yang mengandung plasmid penginduksi tumor. Tahun 1980, Galsky meneliti tentang penghambatan pertumbuhan tumor *crown gall* pada media kentang (*Solanum tuberosum*) menggunakan ekstrak etanol dan *n*-heksan dari 41 jenis spesies *euphorbiaceae*. Metode ini relatif cepat pengerjaannya, tidak mahal, aman dan menghemat penggunaan hewan uji, walaupun diperlukan teknik pengerjaan yang aseptis (Laughlin, dkk., 1998).

**c. *Fronnd Inhibition of Lemna***

*Lemna minor* (*duckweed*) adalah tanaman air bersifat monokotil yang tumbuh mengapung di permukaan air dan berukuran kecil. Uji menggunakan *Lemna minor* merupakan uji pendahuluan yang dilakukan terhadap bahan yang dapat menghambat dan meningkatkan pertumbuhan tanaman. Melalui pengujian ini diamati bahwa senyawa antitumor alami juga dapat menghambat pertumbuhan *lemna*, walaupun korelasinya dengan pengujian antitumor kurang baik. Oleh karena itu, pengujian ini

lebih diarahkan untuk pencarian herbisida dan *stimulant* pertumbuhan tanaman yang baru (Laughlin, dkk., 1998)

**d. Kultur Sel MTT (*Microculture Tetrazolium Salt*)**

MTT *assay* merupakan metode yang penggunaannya sudah banyak diaplikasikan dalam berbagai bidang. Metode ini dapat digunakan untuk mengukur *proliferasi* sel secara kolorimetri. Metode MTT relatif cepat, sensitif, akurat, digunakan untuk mengukur sampel dalam jumlah besar dan hasilnya bisa untuk memprediksi sifat sitotoksik suatu bahan. Metode didasarkan pada perubahan garam tetrazolium(3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazoliumbromida) (MTT) menjadi formazan dalam mitokondria yang aktif pada sel hidup. MTT diabsorpsi ke dalam sel hidup dan dipecah melalui reaksi reduksi oleh enzim reduktase dalam rantai respirasi mitokondria menjadi formazan yang terlarut dalam SDS 10% berwarna ungu. Konsentrasi formazan yang berwarna ungu dapat ditentukan secara spektrofotometri visibel dan berbanding lurus dengan jumlah sel hidup karena reduksi hanya terjadi ketika enzim reduktase yang terdapat dalam jalur respirasi sel pada mitokondria aktif. Semakin besar absorbansi menunjukkan semakin banyak jumlah sel yang hidup (Doyle dan Griffiths, 2000). *Brine Shrimp Lethality Test* merupakan metode yang paling disarankan oleh Meyer dalam uji toksisitas karena memiliki korelasi dengan tingkat kepercayaan 95% terhadap uji spesifik kanker. Walaupun MTT juga memberikan hasil yang sama dengan BSLT, namun

BSLT lebih mudah dikerjakan, sederhana, murah dan cepat (Meyer, dkk., 1982).

### **2.1.7 *Artemia Salina* Leach**

*Artemia* merupakan *zooplankton* dari anggota *crustacea* yang digunakan sebagai pakan alami lebih dari 85% jenis hewan budidaya. Hidup di danau-danau garam yang ada diseluruh dunia. *Artemia* toleran terhadap selang salinitas yang sangat luas, mulai dari nyaris tawar hingga jenuh garam. Secara alamiah, salinitas danau di mana *artemia* hidup sangat bervariasi, tergantung pada jumlah hujan dan penguapan yang terjadi. Apabila kadar garam kurang dari 6%, telur *artemia* akan tenggelam sehingga tidak bisa menetas. Apabila kadar garam lebih dari 25%, telur akan tetap berada dalam kondisi tersuspensi sehingga dapat menetas dengan normal. *Artemia* mempunyai nilai gizi tinggi, dapat menetas dengan cepat, ukurannya relatif kecil dan pergerakan lambat serta dapat hidup pada kepadatan tinggi. *Artemia* secara umum mempunyai dua tipe reproduksi yaitu *ovipar* dan *ovovivipar*. *Artemia* dewasa hanya akan memproduksi kista ketika keadaan lingkungan memburuk, misalkan kadar garam lebih dari 150 ppt dan kandungan oksigen rendah. Kista akan menetas menjadi larva jika lingkungan kembali membaik (Mudjiman, 1989).

Telur *Artemia* atau kista berbentuk bulat berlekuk dalam keadaan kering dan bulat penuh dalam keadaan basah. Warnanya coklat yang diselubungi oleh cangkang yang tebal dan kuat. Cangkang *Artemia* berguna untuk melindungi embrio terhadap pengaruh kekeringan, benturan keras,

sinar ultraviolet dan mempermudah pengapungan. Kista *Artemia* yang diletakkan pada salinitas 15-35 ppt akan menetas dalam waktu 24-36 jam, larva *Artemia* yang baru menetas disebut *nauplii* yang akan mengalami 15 kali perubahan bentuk selama pertumbuhannya (Mudjiman, 1989)



**Gambar 6.** *Artemia salina* Leach (Khumaidi, 2012)

**Klasifikasi ilmiah (Mudjiman, 1989)**

Kingdom	: Animalia
Filum	: Anthropoda
Kelas	: Crustace
Bangsa	: Anostraca
Suku	: Artemidae
Marga	: <i>Artemia</i>
Jenis	: <i>Artemia salina</i>

### 2.1.8 Kanker

#### a. Pengertian Kanker

Kanker merupakan suatu penyakit yang disebabkan pertumbuhan sel-sel jaringan tubuh tidak normal (tumbuh sangat cepat dan tidak terkendali), menekan jaringan tubuh sehingga mempengaruhi organ tubuh (Chotimah, 2014). Penyakit kanker menurut Sunaryati merupakan penyakit yang ditandai pembelahan sel tidak terkendali dan kemampuan sel-sel tersebut

menyerang jaringan biologis lainnya, baik dengan pertumbuhan langsung di jaringan yang bersebelahan (*invasi*) atau dengan migrasi sel ke tempat yang jauh (*metastasis*) (Chotimah, 2014).

b. Faktor Penyebab Penyakit Kanker

Penyebab kanker berupa gabungan dari sekumpulan faktor genetik dan lingkungan (Chotimah, 2014). menyebutkan bahwa, faktor penyebab tumbuhnya kanker bersifat internal dan eksternal. Faktor internal diantaranya yaitu faktor keturunan, baik dari pihak orang tua secara langsung maupun nenek moyang, daya tahan tubuh yang buruk Faktor eksternal seperti pola hidup tidak sehat di antaranya mengonsumsi makanan dengan bahan karsinogen, makanan berlemak, minuman beralkohol, kebiasaan merokok, diet salah dalam waktu lama; sinar ultraviolet dan radioaktif; infeksi menahun/ perangsangan/ iritasi; pencemaran lingkungan atau polusi udara; obat yang mempengaruhi hormon; berganti-ganti pasangan (Chotimah, 2014).

c. Gejala-Gejala Penyakit Kanker

Gejala kanker timbul dari organ tubuh yang diserang sesuai dengan jenis kanker, gejala kanker pada tahap awal berupa kelelahan secara terus menerus, demam akibat sel kanker mempengaruhi sistem pertahanan tubuh sebagai respon dari kerja sistem imun tubuh tidak sesuai (Chotimah, 2014). Gejala kanker tahap lanjut berbeda-beda. Perbedaan gejala tergantung lokasi dan keganasan sel kanker. Menurut Sunaryati gejala kanker yaitu penurunan berat badan tidak sengaja dan terlihat signifikan, pertumbuhan

rambut tidak normal, nyeri akibat kanker sudah menyebar (Chotimah, 2014).

d. Jenis-jenis Penyakit Kanker

Jenis-jenis kanker yaitu; *karsioma*, *limfoma*, *sarkoma*, *glioma*, *karsinoma in situ*.

1. *Karsinoma* merupakan jenis kanker berasal dari sel yang melapisi permukaan tubuh atau permukaan saluran tubuh, misalnya jaringan seperti sel kulit, testis, ovarium, kelenjar mucus, sel melanin, payudara, leher rahim, kolon, rektum, lambung, pankreas (Chotimah, 2014).
2. *Limfoma* termasuk jenis kanker berasal dari jaringan yang membentuk darah, misalnya sumsum tulang, lueukimia, limfoma merupakan jenis kanker yang tidak membentuk masa tumor, tetapi memenuhi pembuluh darah dan mengganggu fungsi sel darah normal (Chotimah, 2014).
3. *Sarkoma* adalah jenis kanker akibat kerusakan jaringan penunjang di permukaan tubuh seperti jaringan ikat, sel-sel otot dan tulang. *Glioma* adalah kanker susunan saraf, misalnya sel-sel *glia* (jaringan panjang) di susunan saraf pusat. *Karsinoma in situ* adalah istilah untuk menjelaskan sel epitel abnormal yang masih terbatas di daerah tertentu sehingga dianggap *lesi prainvasif* (kelainan/ luka yang belum menyebar (Chotimah, 2014).

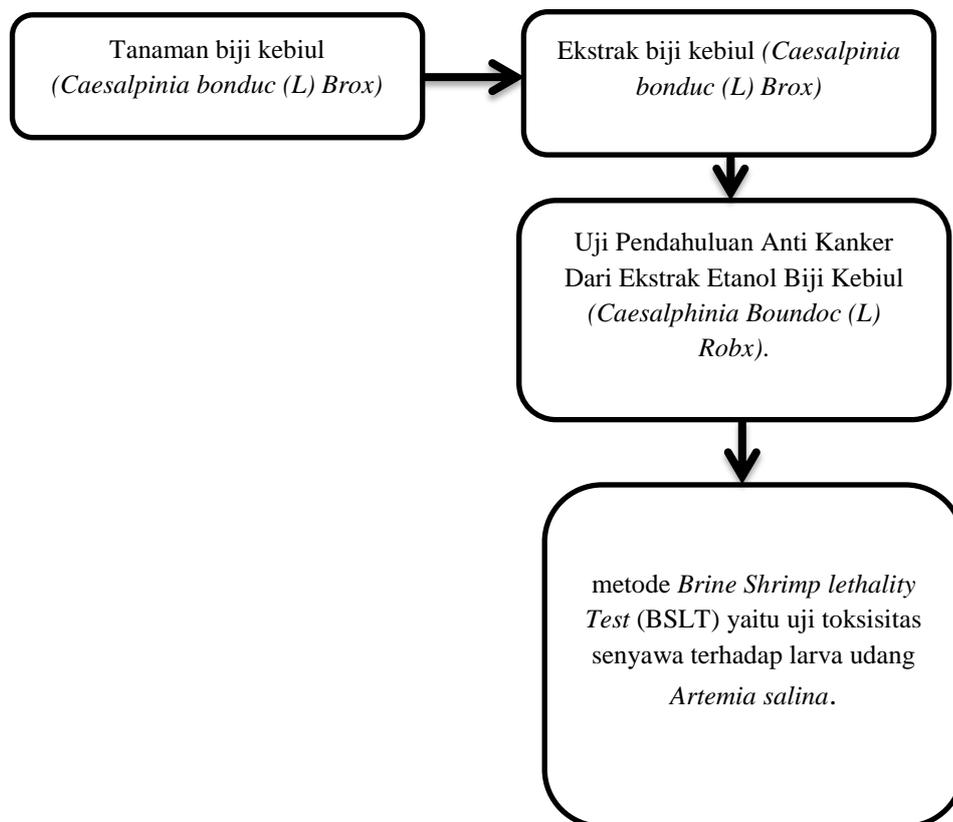
e. Terapi Penyakit Kanker

Terapi kanker dapat dilakukan dengan terapi medis dan non medis. Terapi medis dilakukan dengan pembedahan, radiasi radioterapi,

kemoterapi, imunoterapi, terapi gen (Chotimah, 2014). Terapi non medis dilakukan melalui terapi alternatif dan keagamaan. Terapi dilakukan dengan cara terapis membantu pasien menyadari adanya stres, mengelola stres, terapis memberikan dukungan moral pada pasien kanker, tetap aktif dan bergembira, berempati, memahami beban mental yang dialami penderita dalam pemulihan kanker, hal demikian dilakukan agar pasien lebih optimis dalam menjalankan hidup, membuang dendam dan kebencian (Chotimah, 2014)

## 2.2 Kerangka Konsep

Kerangka konsep dari penelitian ini dapat dilihat pada gambar di bawah ini:



**Gambar 7. Kerangka Konsep**

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Tempat dan Waktu penelitian**

Penelitian ini dilakukan dilaboratorium Farmakognosi dan kimia Akademi Farmasi Al-Fatah Bengkulu dengan waktu selama 4 bulan dari bulan Desember sampai dengan bulan Mei 2020

#### **3.2 Alat dan Bahan Penelitian**

##### **3.2.1 Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah blender (*sharp*), oven, alat-alat gelas seperti (cawan penguap, pipet volume(*tyrex*), gelas ukur, beker, corong), waterbath Sendok tandu, Timbangan digital mikropipet, aquarium, vial dan alumunium foil.

##### **3.2.2 Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak biji kebiul, etanol 96%, Aquadestilata, air laut, larva udang, dan ragi DMSO

#### **3.3 Prosedur Kerja Penelitian**

##### **3.3.1 Pembuatan Simplisia**

###### **a. Pengambilan Sampel**

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah biji kebiul (*Caesalpinia bonduc* L (Roxb)) yang diambil dari desa Bukit Harapan D4 kecamatan pinang raya, kabupaten bengkulu utara Pengelolaan Sampel

b. Pencucian

Dilakukan untuk menghilangkan tanah dan pengotor lainnya yang melekat pada buah. Pencucian dilakukan dengan air bersih, misalnya dari mata air, air sumur atau air PAM. Pencucian dilakukan sesingkat mungkin agar tidak menghilangkan zat berkhasiat dari buah tersebut.

c. Pengerinan

Pengerinan dilakukan dengan cara menjemur langsung ke sinar mata hari dengan dialasi kain hitam pada permukaannya.

d. Pemecahan

Pemecahan dilakukan untuk mempermudah proses pengerinan,. Sebelum dipecahkan biji kebiul di jemur dalam keadaan utuh, Pemecahan dapat dilakukan dengan menggunakan penokok (palu atau batu), atau dengan alat mesin pemecah khusus sehingga diperoleh biji yang utuh.

e. Sortasi Kering

Dilakukan untuk memisahkan benda-benda asing seperti bagian-bagian biji tanaman yang tidak diinginkan dan pengotoran-pengotoran lain yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering. Proses ini dilakukan secara manual.

### **3.3.2 Ekstrak Biji Kebiul dengan Metode Maserasi**

Pembuatan Ekstrak Biji Kebiul   Buatlah simplisia biji kebiul dengan cara menyiapkan kebiul lalu dihaluskan dengan menggunakan blender sampai berbentuk serbuk Kemudian timbang simplisia tersebut

sebanyak 650 gr dan siapkan etanol 96%. Masukkan sampel (serbuk biji kebiul) 650 gr dan etanol 96% sebanyak 3 liter ke dalam botol gelap selama 24 jam sesekali dilakukan pengocokan kemudian ekstrak disaring untuk mendapatkan ekstrak cair, kemudian dilakukan pengulangan sebanyak 3x remaserasi dengan pelarut yang sama, hingga didapatkan filtrat bening. Filtrat bening yang didapat diuapkan dengan cawan penguap sehingga didapatkan ekstrak kental.

### **3.4 Uji Toksisitas**

Beberapa hal yang perlu dipersiapkan untuk uji toksisitas dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) adalah sebagai berikut:

#### **3.4.2 Penyiapan Larva *Artemia Salina Leach***

Sebanyak 100 mg telur *Artemia Salina Leach*, direndam dalam wadah yang berisi 500 ml air laut.

#### **3.4.3 Penetasan Telur *Artemia***

Wadah penetasan disekat menjadi dua bagian, yaitu bagian yang besar dan bagian yang kecil, lalu diberi lubang pada sekatnya, setelah air laut dimasukkan ke dalam wadah, telur *Artemia salina* Leach ditaburkan ke dalam bagian yang kecil kemudian bagian atasnya ditutup dengan aluminium foil sedangkan bagian yang besar dibiarkan terbuka menghadap lampu (16 watt), setelah 2x24 jam telur artemia yang telah menetas akan berenang menuju tempat terang. Telur *Artemia* yang berumur 48 jam setelah menetas siap digunakan sebagai hewan uji (Laughlin, dkk., 1998)

### 3.4.4 Pembuatan Larutan Uji

Siapkan 21 vial untuk tiap kelompok (7 kelompok replikasi 3 kali ). Pada uji toksisitas ini dibuat larutan stock (induk) sebesar 100 mg sampel (ekstrak etanol) dilarutkan sampai 10 mL dengan DMSO. Pengujian dilakukan dengan menggunakan larutan uji 10 ml air laut di tambahkan 10 ekor larva *Artemia salina leach* dan 1 tetes ragi *DMSO* (0,6 mg/mL) sebagai makanannya. larutan uji di buat 1, 2, 4, 6, 8 dan 10 ppm dalam air laut, maka dari larutan stok tersebut dipipet ke dalam vial masing-masing menggunakan mikropipet.

a. pembuatan larutan 1000 ppm (larutan stok I) ekstrak biji kebiul (*Caesalpinia bonduc* L (Roxb)) ditimbang sebanyak 100 mg kemudian d larutkan dengan 100 ml air laut, kemudian pembuatan larutan 100 ppm (larutan stok II) dipipet 10 ml dari larutan stok I kemudian dicukupkan dengan air laut hingga 100 ml.

1. Untuk membuat konsentrasi 1 ppm, di pipet 0,1 ml larutan stock II lalu dicukupkan volumenya hingga 10 ml.
2. Untuk konsentrasi 2 ppm, di pipet 0,2 ml larutan stock II lalu dicukupkan volumenya hingga 10 ml.
3. Untuk konsentrasi 4 ppm, di pipet 0,4 ml larutan stock II lalu dicukupkan volumenya hingga 10 ml.
4. Untuk konsentrasi 6 ppm, di pipet 0,6 ml larutan stock II lalu dicukupkan volumenya hingga 10 ml.

5. Untuk konsentrasi 8 ppm, di pipet 0,8 ml larutan stock II lalu dicukupkan volumenya hingga 10 ml.
6. Untuk konsentrasi 10 ppm, di pipet 1 ml larutan stock II lalu dicukupkan volumenya hingga 10 ml.
7. Untuk kontrol negatif (-) di pipet 10 ml air laut tanpa ekstrak.

b. Pembuatan Larutan Ragi DMSO

Ditimbang ragi sebanyak 0,6 mg lalu dilarutkan dalam 10 ml air laut

### 3.4.5 Pelaksanaan Uji

Pengujian dilakukan dengan cara memasukkan masing-masing sampel ke dalam vial Selanjutnya vial diisi air laut 1 ml lalu dimasukkan 10 ekor *Artemia salina* Leach. Umur 48 jam yang sehat (bergerak aktif) dipilih secara acak lalu dimasukkan ke dalam vial yang berisi sampel yang bebas pelarut menggunakan pipet tetes kemudian dicukupkan air laut sampai 10 ml. Tambahkan Satu tetes suspensi ragi *MDSO* (0,6mg/10 ml air laut) ditambahkan ke dalamnya sebagai makanan *Artemia salina* Leach. Vial diletakkan dibawah lampu (16 watt) penerangan selama 24 jam. Setelah 24 jam jumlah larva yang mati dihitung dengan bantuan kaca pembesar.

### 3.5 Analisis Data

Data diperoleh dari pengamatan dengan menghitung persen (%) kematian *artemia* pada tiap konsentrasi. *Artemia* yang mati dibagi jumlah *artemia* total dikali 100% untuk tiap replikasi, kemudian dihitung nilai LC50. Perhitungan data kematian *artemia* menggunakan 3 cara yaitu Nilai Probit, Excel dan SPSS.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Hasil

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan tentang “Uji Pendahuluan Anti Kanker Dari Ekstrak Etanol Biji Kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L) Roxb).” yang telah dilaksanakan pada bulan Mei 2019 dilaboratorium Kimia akfar Al-Fatah Bengkulu, diperoleh hasil sebagai berikut:

##### 4.1.1 Hasil Dan Pembahasan

- a. Hasil Perhitungan Rendemen Ekstrak Biji Kebiul

**Tabel II. Hasil Perhitungan Rendemen Ekstrak Biji Kebiul**

Bahan	Berat simplisia kering yang diekstraksi	Pelarut	Berat ekstrak hasil maserasi	Hasil Rendemen
Biji kebiul	650 gram	4 liter	75,03 gram	11,54%

$$\begin{aligned} \text{Rendemen (100\%)} &= \frac{\text{Berat Ekstrak Yang didapatkan}}{\text{Berat simplisia}} \times 100\% \\ &= \frac{75,03 \text{ gr}}{650 \text{ gr}} \times 100\% = 11,54 \text{ \%} \end{aligned}$$

Menurut farmakope herbal Indonesia nilai suatu rendemen merupakan standar dalam penemuan obat baik dari bahan alam maupun sintetis. Secara kuantitas metabolit sekunder ada tiga golongan sala satunya yaitu ditemukan sebagai senyawa utama dalam prosentasi lebih besar dari 0,01% dari berat simplisia(>100mg/kg simplisia). Pada penelitian ini sebagai pembanding yaitu sebagai nilai rendemen perbandingan yaitu biji pinang (*Areca Cathecu L*), dikarenakan sampel yang digunakan sama-sama biji dengan hasil

rendemen 16,50% pada biji pinang sedangkan biji kebiul yang didapatkan 11,54%. Hal ini dapat disimpulkan bahwa nilai rendemen yang dihasilkan tidak begitu berjauhan dari nilai rendemen pembanding sehingga dapat dinyatakan bahwa ekstrak biji kebiul memenuhi kuantitas metabolit sekunder utama.

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

Skrining toksisitas ekstrak etanol biji kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L) Roxb). dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) menggunakan larva *Artemia salina* Leach berumur 48 jam, yang diberikan ekstrak dengan konsentrasi 1, 2, 4, 6, 8, 10 ppm. *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) adalah suatu metode *skrining* untuk menentukan toksisitas suatu senyawa atau ekstrak bahan-bahan alami yang bersifat sitotoksik dengan menggunakan hewan coba larva *Artemia salina* Leach. Penetasan telur larva *Artemia salina* Leach dapat dilakukan dalam aquarium yang berbentuk kotak dengan menggunakan NaCl atau air laut buatan namun berdasarkan penelitian (panggabean 1984) yang sudah melakukan pengujian lebih baik menggunakan air laut alami sebagai media perkembang biakannya. Proses penetasan, larva akan berpindah dari daerah gelap ke daerah yang terang melalui sekat yang berlubang. Pada bagian terang diberi penerangan cahaya lampu yang sesuai untuk penetasan, yaitu sebesar 16 watt dengan suhu berkisar 25-30<sup>0</sup>C. Setelah melalui proses penetasan selama 24 jam, telur menjadi larva atau dengan nama lain *nauplii*. Pada fase *nauplii* ini terjadi fase paling aktif dimana sel naupli membelah secara mitosis sehingga

identik dengan sel kanker. *Nauplii* yang berumur dibawah 48 jam mempunyai epitel saluran pencernaan yang belum dapat berkontak dengan medium eksternal dan *nauplii* ini hanya hidup dari kantung kuning telurnya. Sehingga fase ini cocok untuk diujidengan metode BSLT. Berikut ini hasil pengujian BSLT dari ekstrak etanol biji kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L) Roxb).

**Tabel III. Data Hasil Pengamatan Kematian Larva Udang *Artemia Salina Leach* Dengan Menggunakan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) Setelah 24 Jam Perlakuan**

Sampel Uji	Replikasi	Jumlah Larva Udang Yang Mati Tiap Konsentrasi ppm µg/ml (10 Ekor)						Kontrol (-)
		1 ppm	2 ppm	4 ppm	6ppm	8 ppm	10ppm	
Ekstrak Etanol	1	1	1	2	3	3	5	0
	2	0	1	1	3	4	5	0
	3	0	1	2	3	4	6	0
<b>Total Kematian</b>		<b>1</b>	<b>3</b>	<b>5</b>	<b>9</b>	<b>11</b>	<b>16</b>	<b>0</b>
<b>% Kematian</b>		<b>3,3%</b>	<b>10%</b>	<b>16,6%</b>	<b>30%</b>	<b>36,6%</b>	<b>53,3%</b>	<b>0</b>

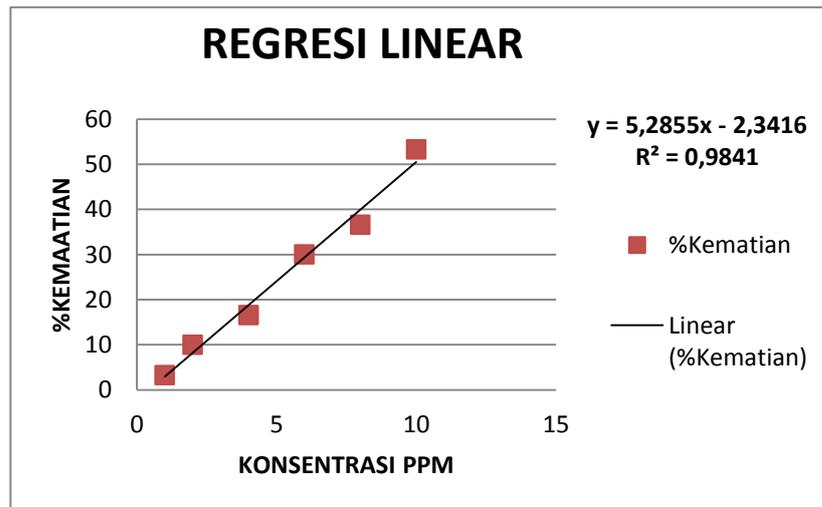
Total kematian dihitung dengan menjumlahkan larva yang mati pada setiap konsentrasi, perhitungan persentase kematian larva pada setiap konsentrasi diperoleh dari total kematian larva pada tiap konsentrasi dibagi dengan jumlah total larva awal pada tiap konsentrasi dikali 100%. Untuk menghitung  $LC_{50}$  dapat menggunakan tiga cara yaitu dengan manual menggunakan Tabel Probit, Excel dan SPSS

**a. Perhitungan Secara Manual Menggunakan Tabel Probit**

**Tabel IV. Penetapan  $LC_{50}$**

Konsentrasi	Log Konsentrasi	%Kematian	Probit
1	0	3,3	3,12
2	0,30	10	3,72
4	0,60	16,6	4,01
6	0,77	30	4,48
8	0,90	36,6	4,64
10	1,0	53,3	5,08

Untuk mempermudah pengamatan tentang pengaruh konsentrasi ekstrak etanol biji kebiul (*Caesalpinia bonduc (L) Roxb*) terhadap persentase kematian larva *artemia salina leach* dapat dilihat pada grafik hubungan antara konsentrasi ekstrak biji kebiul dengan persen kematian larva.



**Gambar 8. Hubungan Antara Nilai Konsentrasi Dengan Nilai % Kematian**

Didapatkan persamaan garis lurus hubungan antara Y (nilai probit dari persentase kematian) dengan X (log konsentrasi) adalah  $Y = ax + b$  perhitungan dapat dilihat dilampiran 7. Perhitungan dianalisis dengan menggunakan persamaan regresi linear dengan melakukan transformasi data konsentrasi ke bentuk logaritma serta mengubah nilai persen kematian larva kedalam satuan probit (Tabel IV). Nilai koefisien determinasi ( $R^2$ ) dari persamaan regresi yang dihasilkan adalah 0,984. Yang mana nilai ( $R$ ) yang terbaik itu mendekati angka satu (1) yang mana maknanya yaitu terbentuk garis lurus. Pengujian terhadap ekstrak etanol biji kebiul (*Caesalpinia bonduc (L) Roxb*) dilakukan dengan memasukkan Nilai log konsentrasi dan nilai

probit pada grafik linear sehingga diperoleh hasil pengolahan data persamaan regresi  $Y = 5,2855x + 2,3416$  dengan  $R^2 = 0,9841$ . Nilai Y tersebut digunakan untuk mencari nilai  $LC_{50}$ . Dengan memasukkan nilai  $Y = 5$ , maka akan diperoleh nilai  $X = 0,5029$  Untuk menghitung nilai  $LC_{50}$  yaitu didapatkan dari Antilog X. Hasil  $LC_{50}$  yang diperoleh yaitu sebesar 3,183 ppm

#### b. Perhitungan Data Menggunakan Exsel

**Tabel V. Nilai Persamaan Regresi Pada Excel**

Slop (a)	Intercept (b)	Significance F
1,874111608	3,047884312	0,006936642

Dari tabel diatas dimasukan ke persamaan regresi  $Y = ax + b$ , maka didapatkan nilai  $x = 1,041$   $LC_{50}$  antilog  $x = 1,041$  atau 10,99 ppm. Perhitungan data dapat dilihat pada lampiran 7. Menurut Doyle *et al.* (2000) suatu ekstrak dikatakan aktif jika  $LC_{50}$  kurang dari 1000  $\mu\text{g/mL}$ .  $LC_{50}$ . Penelitian Meyer *et al.* (1982) juga melaporkan bahwa suatu ekstrak menunjukkan aktivitas ketoksikan Sangat toksik <30, Toksik 30-1000, Tidak toksik >1000 dalam uji BSLT jika ekstrak dapat menyebabkan kematian 50% hewan uji pada konsentrasi kurang dari 1000 ppm.  $LC_{50}$  (*Lethal Concentration 50*) merupakan konsentrasi zat yang menyebabkan terjadinya kematian pada 50 % hewan percobaan yaitu larva *artemia salina leach*. Berdasarkan nilai  $LC_{50}$  yang diperoleh dapat dikatakan ekstrak etanol biji kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L) Roxb) pada percobaan ini bersifat sangat toksik karena hasil yang didapatkan kurang dari (<30) terhadap larva *artemia salina leach* sehingga memiliki potensi sebagai senyawa antikanker.

### c. Perhitungan Dengan Menggunakan SPSS

Tahapan uji menggunakan aplikasi SPSS pada anova satu arah, yaitu diawali dengan uji normalitas, pada uji normalitas menggunakan uji kolmogorov-smirnov dan shapiro-wilk didapatkan hasil signifikan  $P > 0,05$  hal ini berarti menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna pada tiap kelompok perlakuan.

#### 1. Uji Normalitas

Uji normal melihat nilai signifikan shapiro-wilk. Uji shapiro-wilk dapat digunakan jika sampel kita kurang dari 50. Hasil uji normalitas dengan metode shapiro-wilk cukup membaca pada nilai signifikan. Jika nilai signifikan  $P < 0,05$  maka data tidak terdistribusi normal, jika nilai signifikan  $P > 0,05$  maka data terdistribusi normal. Jadi dapat disimpulkan bahwa data pada setiap variabel berdistribusi normal dengan nilai signifikan  $P > 0,05$ . Sehingga uji dapat dilanjutkan ketahap selanjutnya, data dapat dilihat pada lampiran 8.

#### 2. Uji Homogenitas

Hasil uji homogenitas dapat dilihat dari nilai signifikan, dimana nilai signifikan  $0,074 > 0,05$  maka dapat disimpulkan data tersebut homogen, data dapat dilihat pada lampiran 8.

#### 3. Uji One Way Anova

Anova satu arah *Uji One Way Anova* digunakan apa bila data yang akan dianalisis terdiri dari satu variabel terikat dan satu variabel bebas. Anova bertujuan untuk melihat apakah ada perbedaan rata-rata dari

konsentrasi ppm data yang diperoleh melihat nilai signifikan. Dari hasil uji anova artinya ada perbedaan yang bermakna ditunjukkan nilai signifikansi  $0,023 < 0,05$  diantara perlakuan konsentrasi. Data dapat dilihat pada lampiran 8.

#### 4. Uji Duncan

Tahap terakhir yaitu uji Duncan uji ini dilakukan untuk melihat konsentrasi mana yang paling baik atau berkhasiat. Uji ini menunjukkan pada setiap perlakuan konsentrasi 10 ppm menyebabkan persen kematian larva tertinggi, sedangkan pada konsentrasi 1 ppm menyebabkan persen kematian larva terendah. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin tinggi juga jumlah kematian larva. Data dapat dilihat pada lampiran 8.

Pada penelitian ini didapatkan bahwa ekstrak biji kebiul (*Caesalpinia bonduc* L (Roxb)). mempunyai potensi toksisitas. Hal tersebut berkaitan dengan senyawa yang terdapat dalam biji kebiul yaitu fenolik, flavonoid dan tanin, di mana pada kadar tertentu memiliki potensi toksisitas serta dapat menyebabkan kematian larva. Mekanisme kematian larva berhubungan dengan fungsi senyawa fenolik, flavonoid dan tanin dalam biji kebiul yang dapat menghambat daya makan larva (antifedant). Menurut Cahyadi (2009) cara kerja senyawa-senyawa tersebut adalah dengan bertindak sebagai *stomach poisoning* atau racun perut. Oleh karena itu, bila senyawa-senyawa ini masuk ke dalam tubuh larva, alat pencernaannya akan terganggu. Selain itu, senyawa ini

menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva. Hal ini mengakibatkan larva gagal mendapatkan stimulus rasa sehingga tidak mampu mengenali makanannya sehingga larva mati kelaparan.

Senyawa flavonoid dan tanin mempunyai mekanisme efek antikanker masing-masing. Menurut Woo *et al.*, (2013), mekanisme flavonoid sebagai antikanker ada beberapa teori. 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. Efek lainnya adalah Flavonoid juga berfungsi untuk mengurangi resistensi tumor terhadap agen kemoterapi.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

1. Ekstrak etanol biji kebiul (*Caesalpinia bonduc L (Roxb)*) memiliki potensi toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality test* (BSLT) dan berpotensi sebagai antikanker.
2. Hasil perhitungan nilai  $LC_{50}$  dari ekstrak etanol biji kebiul (*Caesalpinia bonduc L (Roxb)*) dengan menggunakan *Microsoft Office Excel* adalah 10,99 ppm dengan menggunakan Nilai Probit sebesar 3,183 ppm sedangkan dengan menggunakan SPSS data yang didapatkan signifikan  $>0,05$  sehingga diklasifikasikan memiliki efek toksik.

#### **5.2 Saran**

##### **5.2.1 Bagi Akademik**

Pada penelitian ekstrak etanol biji kebiul (*caesalpinia bonduc (L) roxb*) perlu dilakukan pengembangan lanjutan karna biji kebiul yang mempunyai potensi sebagai antikanker.

##### **5.2.2 Bagi Peneliti Lain**

- a. Mampu melakukan pengujian dengan menggunakan metode lain.
- b. Mampu melakukan peningkatan konsentrasi agar dapat mengetahui apakah etanol biji kebiul (*Caesalpinia bonduc L (Roxb)*), memiliki senyawa antikanker

- c. Perlu membandingkan aktivitas antikanker ekstrak etanol biji kebiul (*Caesalpinia bonduc L (Roxb)*) dengan obat antikanker lain

### **5.2.3 Bagi Masyarakat**

Masyarakat bisa menggunakan biji kebiul sebagai obat kanker dalam jangka panjang untuk mengurangi efek samping yang ditimbulkan dari obat kanker secara kimia dengan menggunakan cara sederhana dirumah seperti direbus. Namun perlu diketahui karena ini untuk pemakaian sendiri maka perlu disesuaikan pada saat pembuatan.

## DAFTAR PUSTAKA

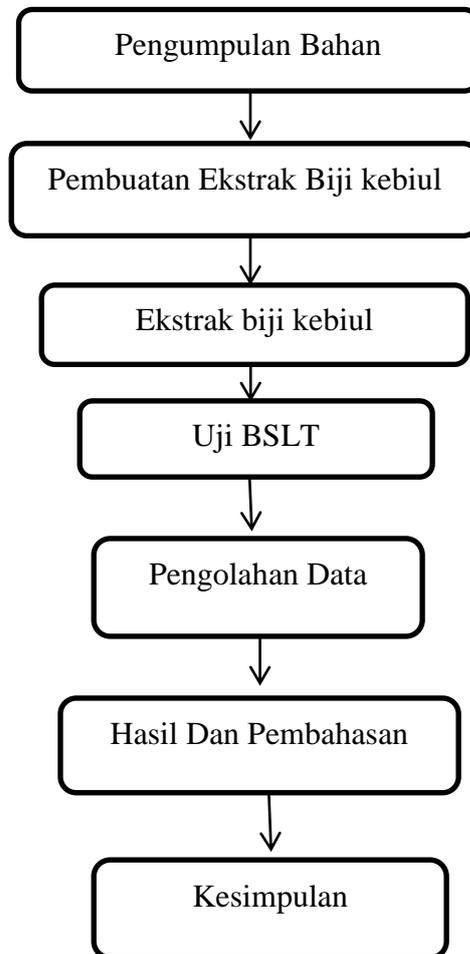
- Agoes, G. (2007). *Seri Farmasi Industri: Teknologi Bahan Alam. Bandung: Penerbit Institut Teknologi Bandung.*
- Ahadi, M. R. (2003). Kandungan tanin terkondensasi dan laju dekomposisi pada serasah daun *rhizospora mucronata* lamk pada ekosistem tambak tumpangsari, Purwakarta, Jawa Barat. *Skripsi. Institut Pertanian Bogor, Bogor.*
- Cailleaud, K., Budzinski, H., Lardy, S., Augagneur, S., Barka, S., Souissi, S., & Forget-Leray, J. (2011). Uptake and elimination, and effect of estrogen-like contaminants in estuarine copepods: an experimental study. *Environmental Science and Pollution Research*, 18(2), 226-236.
- Chotimah, B. K. (2014). *Bimbingan keagamaan Islami dalam mengatasi distress spiritual pasien kanker di RSUD & Holistik Sejahtera Bhakti Salatiga* (Doctoral dissertation, UIN Walisongo).
- Depkes RI. 1989. *Materi Medika Indonesia. Jilid V. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik*
- Depkes, R. I. (1995). *Farmakope Indonesia. Edisi IV, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 4(223), 1009.*
- Depkes, R. I. (2000). *Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 3-30.*
- Doyle, A., & Griffiths, J. B. (Eds.). (2000). *Cell and tissue culture for medical research.* Wiley.
- Ferreira, P. R. B., Mendes, C. S. O., Rodrigues, C. G., Rocha, J. C. M., Royo, V. D. A., Valério, H. M., & Oliveira, D. A. D. (2012). Antibacterial activity tannin-rich fraction from leaves of *Anacardium humile*. *Ciência Rural*, 42(10), 1861-1864.
- Harbone, J. B. (1987). *Metode Fitokimia: Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Ed, 2, 47-109.*
- Hendrawati, A. R. E. (2009). *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Kemangi (Ocimum sanctum Linn.) Terhadap Larva Artemia salina Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BST)* (Doctoral dissertation, Medical faculty)
- Hujjaj, M. B., Herlina, H., & Fitriya, F. (2018). *Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Biji Kebiul (Caesalpinia Bonduel (L.) Roxb.) Terhadap Tikus Putih Jantan*

- Galur Wistar Yang Diinduksi Dengan Karagenan* (Doctoral dissertation, Sriwijaya University). Indonesia.
- Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor:261/MENKES/SK/IV/2009 tentang Farmakope Herbal Indonesia. Jakarta: Menteri Kesehatan Republik Indonesia.
- Kondo, T., Setoguchi, T., & Taga, T. (2004). Persistence of a small subpopulation of cancer stem-like cells in the C6 glioma cell line. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(3), 781-786.
- Kusrahman, A., Zamzaili, Z., & Ruyani, A. (2012). *Isolasi, karakterisasi senyawa aktif dan uji farmaka ekstrak biji kebiul pada mencit (Mus musculus) serta penerapannya dalam pembelajaran kimia di SMAN 1 Bengkulu Selatan* (Doctoral dissertation, Universitas Bengkulu).
- Lenny, S. (2006). Senyawa Flavonoida, Fenil propanoida dan alkaloida.
- Marjoni, R. (2016). Dasar-dasar Fitokimia untuk diploma III Farmasi. *Jakarta: Cv. Trans Info Media*.
- Meyer, B. N. dkk., 1982, Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Planta Medica*, 45, 32-33.
- Mudjiman, A. (1989). Udang Renik Air Asin. *Bhatara. Jakarta*.
- Ngama, M. (2015). Uji Potensi Antikanker Leukemia Ekstrak Metanol Daun *Selaginella delicatula* dan *Pteris vittata*. *PHARMACON*, 4(4).
- Panggabean, M. G. L. (1984). Teknik penetasan dan pemanenan *Artemia salina*. *Oseana. Jakarta: IX (2)*, 1-4.
- Sahid, A., Pandiangan, D., Siahaan, P., & Rumondor, M. J. (2013). Uji sitotoksitas ekstrak metanol daun sisik naga (*Drymoglossum piloselloides* Presl.) terhadap sel leukemia P388. *Jurnal MIPA*, 2(2), 94-99.
- Soegihardjo, C. J. (2013). Farmakognosi.
- Tabaga, K. D., Durry, M. F., & Kairupan, C. (2015). Efek Seduhan Teh Hijau (*Camellia Sinensis*) Terhadap Gambaran Histopatologi Payudara Mencit Yang Diinduksi Benzo ( $\alpha$ ) pyrene. *eBiomedik*, 3(2).
- Ulfa, N. (2017). Uji Pendahuluan Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Buah Kundur (*Benincasa hispida* (Thunb) Cogn.) Terhadap Larva *Artemia Salina* Leach dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT).

- Uyatmi, Y., Inorlah, E., & Marwanto, M. (2016). Pematihan Dormansi Benih Kebiul (*Caesalpinia bonduc* L.) dengan Berbagai Metode. *Akta Agrosia*, 19(2), 147-156.
- Westendarp, H. (2006). Effects of tannins in animal nutrition. *DTW. Deutsche tierarztliche Wochenschrift*, 113(7), 264.
- Whitehead, T. P., Robinson, D., Allaway, S., Syms, J., & Hale, A. (1995). Effect of red wine ingestion on the antioxidant capacity of serum. *Clinical Chemistry*, 41(1), 32-35.
- Yanty, Y. N., Sopiati, D. S., & Veronica, C. (2019). Fraksinasi Dan Skrining Fraksi Biji Kebiul (*Caesalpinia Bonduc* (L) Roxb) Dengan Metode Klt (Kromatografi Lapis Tipis) Fraction And Screening Of Fresh Seed (*Caesalpinia Bonduc* (L) Roxb Seeds With Klt Method (Thin Lapis Chromatography). *Borneo Journal Of Pharmascientech*, 3(1).

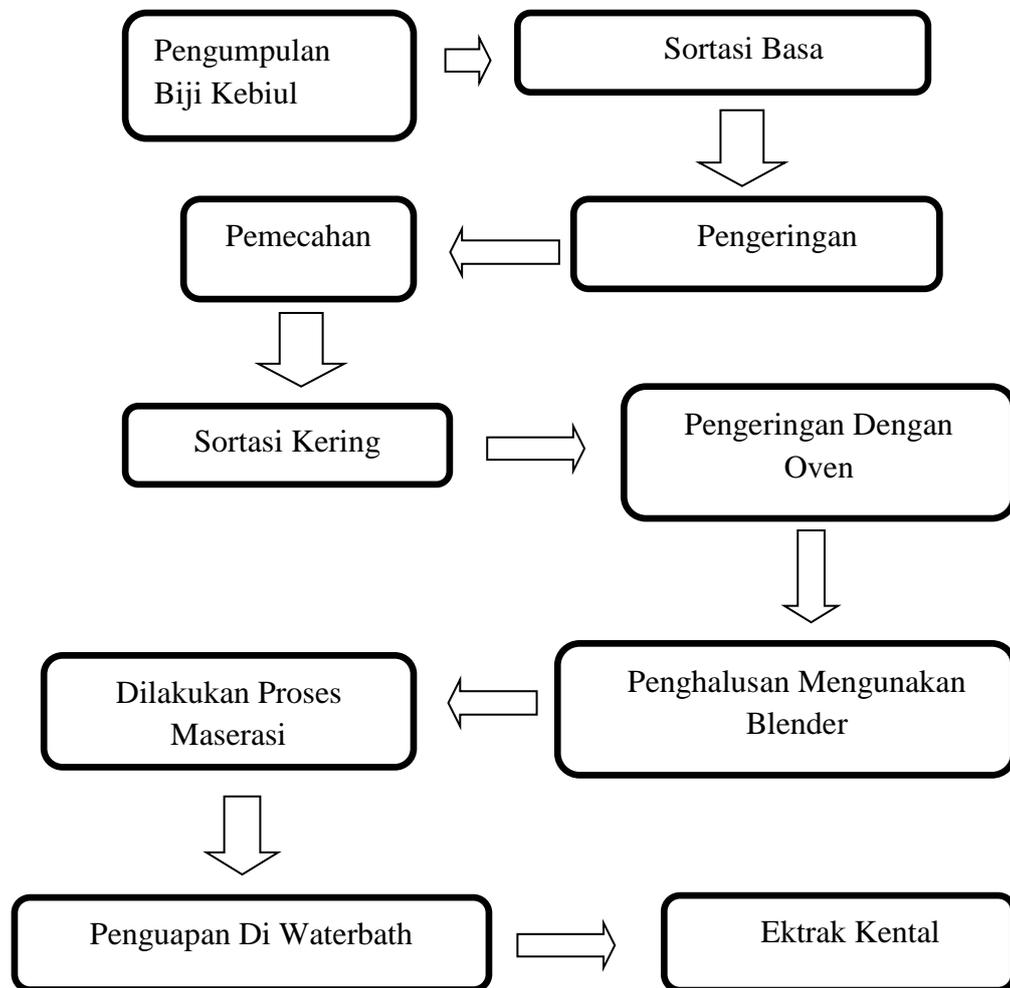
**L  
A  
M  
P  
I  
R  
A  
N**

*Lampiran 1. Skema Alur Penelitian*



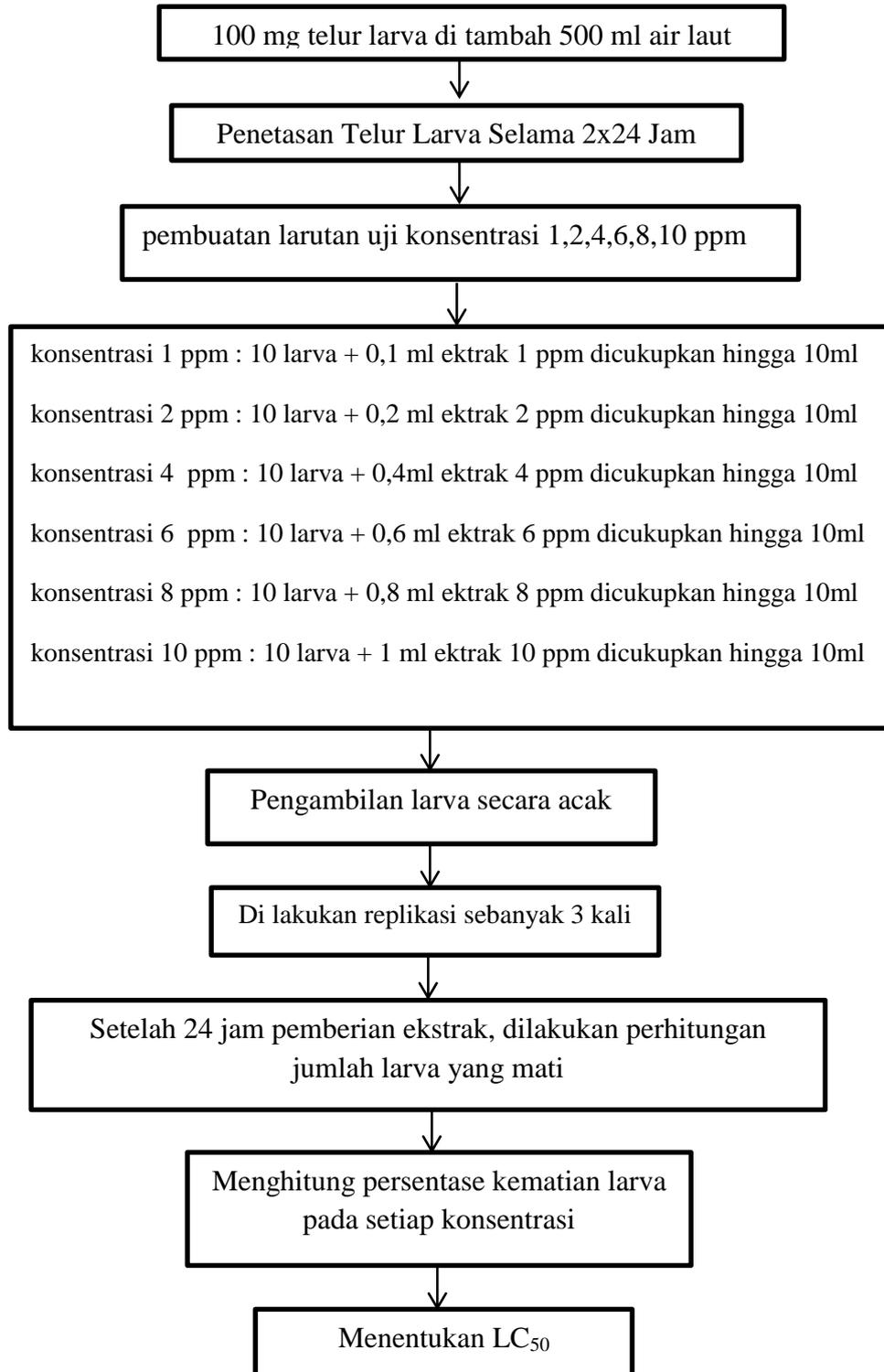
**Gambar 9. Skema Alur Penelitian**

Lampiran 2. Skema Kerja Pembuatan Ekstrak biji kebiul (*Caesalpinia bonduc L (Roxb)*)



Gambar 10. Skema Kerja Pembuatan Ekstrak biji kebiul (*Caesalpinia bonduc L (Roxb)*)

Lampiran 3. Skema Kerja pelaksanaan uji BSLT Ekstrak biji kebiul (*Caesalpinia bonduc L (Roxb)*)



Gambar 11. Skema Kerja pelaksanaan uji BSLT Ekstrak biji kebiul (*Caesalpinia bonduc L (Roxb)*)

*Lampiran 4. Pehitungan pengenceran*

- a. Pembuatan larutan stok (I) 100 mg ekstrak biji kebiul / 0,1 Liter air laut = 1000 ppm
- b. Pembuatan larutan stok (II) 10 ml / 0,1 L = 100 ppm

1) 1 PPM

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

$$V_1.100 \text{ ml (stok II)} = 10 \text{ ml} \cdot 1 \mu\text{g/ml}$$

$$V_1 = 0,1 \mu\text{l}$$

2) 2 PPM

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

$$V_1.100 \text{ ml (stok II)} = 10 \text{ ml} \cdot 2 \mu\text{g/ml}$$

$$V_1 = 0,2 \mu\text{l}$$

3) 4 PPM

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

$$V_1.100 \text{ ml (stok II)} = 10 \text{ ml} \cdot 4 \mu\text{g/ml}$$

$$V_1 = 0,4 \mu\text{l}$$

4) 6 PPM

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

$$V_1.100 \text{ ml (stok II)} = 10 \text{ ml} \cdot 6 \mu\text{g/ml}$$

$$V_1 = 0,6 \mu\text{l}$$

5) 8 PPM

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

$$V_1.100 \text{ ml (stok II)} = 10 \text{ ml} \cdot 8 \mu\text{g/ml}$$

$$V_1 = 0,8 \mu\text{l}$$

6) 10 PPM

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

$$V_1.100 \text{ ml (stok II)} = 10 \text{ ml} \cdot 10 \mu\text{g/ml}$$

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

**Gambar 12. Pehitungan Pengenceran**

*Lampiran 5. Perhitungan % Kematian larva udang (Artemia salina Leach)*

$$\text{Rata - Rata} = \frac{\text{jumlah total larva yang mati}}{\text{tiga kali replikasi}} = \frac{\text{Rata - Rata}}{\sum \text{larva/vial}} \times 100\%$$

Ekstrak Etanol biji kebiul (*Caesalpinia bonduc L Roxb*)

1. Konsentrasi 1 ppm :  $\frac{1}{30} \times 100\% = 3,3 \%$
2. Konsentrasi 2 ppm :  $\frac{3}{30} \times 100\% = 10 \%$
3. Konsentrasi 4 ppm :  $\frac{5}{30} \times 100\% = 16,6 \%$
4. Konsentrasi 6 ppm :  $\frac{9}{30} \times 100\% = 30 \%$
5. Konsentrasi 8 ppm :  $\frac{11}{30} \times 100\% = 36,6 \%$
6. Konsentrasi 10 ppm:  $\frac{16}{30} \times 100\% = 53,3 \%$

**Gambar 13. Perhitungan % Kematian larva udang (*Artemia salina Leach*)**

Lampiran 6. Harga probit sesuai presentasinya

Persentase	Probit									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2,67	2,95	3,12	3,25	3,36	3,45	3,52	3,59	3,66
10	3,72	3,77	3,82	3,87	3,92	3,96	4,01	4,05	4,08	4,12
20	4,16	4,19	4,23	4,26	4,29	4,33	4,36	4,39	4,442	4,45
30	4,48	4,5	4,53	4,56	4,59	4,61	4,64	4,67	4,69	4,72
40	4,75	4,77	4,8	4,82	4,85	4,87	4,9	4,92	4,95	4,97
50	5	5,03	5,05	5,08	5,1	5,13	5,15	5,18	5,2	5,23
60	5,25	5,28	5,31	5,33	5,36	5,39	5,41	5,44	5,47	5,5
70	5,52	5,55	5,58	5,61	5,64	5,67	5,71	5,74	5,77	5,81
80	5,84	5,88	5,92	5,95	5,99	6,04	6,08	6,13	6,18	6,23
90	6,28	6,34	6,41	6,48	6,55	6,64	6,75	6,88	7,05	7,33
99	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
	7,33	7,37	7,41	7,46	7,51	7,58	7,65	7,75	7,88	8,09

Sumber : Mursyidi, A. Statistik Farmasi Dan Biologi. Cetakan I. Jakarta: Ghalia Indonesia, 1984.

**Gambar 14. Harga Probit Sesuai Presentasinya**

*Lampiran 7 . Pehitungan data Menggunakan Niai Probit dan Excel.*

**a. Perhitungan Secara Manual Menggunakan Niai Probit**

$$Y = ax + b$$

$$Y = 5,2855 x + 2,3416$$

$$5 = 5,2855x + 2,3416$$

$$X = \frac{5-2,3416}{5,2855} = 0,5029$$

$$LC_{50} \text{ antilog } X = 0,5029 = 3,183 \text{ ppm}$$

**b. Perhitungan Data Menggunakan Excel**

ANOVA								
	df	SS	MS	F	Significance F			
Regression	1	1,06745649	1,06745649	44,19285601	0,006936642			
Residual	3	0,07246351	0,024154503					
Total	4	1,13992						

	Coefficients	Standard Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%	Lower 95,0%	Upper 95,0%
Intercept	3,047884312	0,212950022	14,31267435	0,000739143	2,370182302	3,725586321	2,370182302	3,725586321
0	1,874111608	0,2819158	6,647770755	0,006936642	0,976929713	2,771293503	0,976929713	2,771293503

$$Y = ax + b.$$

$$Y = 5$$

$$a = 1,8741$$

$$b = 3,0478$$

$$5 = 1,8741x + 3,0478$$

$$X = \frac{5-3,0478}{1,8741} = 1,041$$

$$LC_{50} \text{ Antilog } X = 1,041 = 10,99 \text{ ppm}$$

**Gambar 15. Pehitungan data Menggunakan Niai Probit dan Excel.**

Lampiran 8. Perhitungan Dengan Menggunakan SPSS

a. Uji Normalitas

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Konsentrasi	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kematian	1 ppm	.275	3	.	.060	3	.130
	2 ppm	.335	3	.	.050	3	.367
	4 ppm	.375	3	.	.150	3	.430
	6 ppm	.383	3	.	.250	3	.356
	8 ppm	.315	3	.	.450	3	.470
	10 ppm	.475	3	.	.470	3	.670

a. Lilliefors Significance Correction

b. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances				
Kematian				
	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
	.640	5	12	.074

c. Uji One Way Anova

ANOVA					
Kematian					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9.333	5	1.867	2.585	.023
Within Groups	8.667	12	.722		
Total	18.000	17			

Gambar 16. Perhitungan Dengan Menggunakan SPSS

*Lampiran 9. Alat Dan Bahan*



**Gambar 17. Alat dan Bahan**

Lampiran 10. Proses Ekstraksi

		
Penimbangan biji kebiul	Pemecahan	Sortasi kering
		
Pengeringan dengan oven	Penimbangan setelah di oven	Penghalusan dengan blender
		
pengayakan	Penimbangan setelah di haluskan	Biji kebiul di masukan dalam botol coklat
		
Penambahan etanol	perendaman selama 2x 24 jam	Hasil maserat
		
Penguapan di waterbath	Jumlah ekstrak biji kebiul	

Gambar 18. Proses Ekstraksi

*Lampiran 11. Proses Pembuatan Larva Artemia Salina*



Timbang Larva 120 Mg



Larut kn 500 ml Air Laut



Aquarium Bagian Gelap Dan Terang

**Gambar 19. Proses Pembuatan Larva Artemia Salina**

Lampiran 12. Proses uji bslt



Gambar 20. Proses Uji Bslt