

**TOKSISITAS EKSTRAK BUAH TAKOKAK (*Solanum torvum*) METODE
BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BSLT) DENGAN BEBERAPA
PELARUT EKSTRAKSI MASERASI BERTINGKAT**

SKRIPSI

Oleh :
BILLY ISKANDAR
066118241



PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS PAKUAN
BOGOR
2024

**TOKSISITAS EKSTRAK BUAH TAKOKAK (*Solanum torvum*) METODE
BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BSLT) DENGAN BEBERAPA
PELARUT EKSTRAKSI MASERASI BERTINGKAT**

SKRIPSI

**Skripsi Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Pada Program Studi Farmasi Fakultas
Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Pakuan**

**Oleh :
BILLY ISKANDAR
066118241**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS PAKUAN
BOGOR
2024**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Tugas Akhir : Toksisitas Ekstrak Buah Takokak (*Solanum torvum*)
Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) Dengan
Beberapa Pelarut Ekstraksi Maserasi Bertingkat

Nama : Billy Iskandar

NPM : 066118241

Program Studi : Farmasi

Skripsi ini telah disetujui dan disahkan

Bogor, 5 Januari 2024

Pembimbing I



apt. Dra. Ike Yulia W., M.Farm.

Pembimbing II



Nina Herlina, S.Farm., M.Si.

Mengetahui,

Ketua Program Studi Farmasi



apt. Dra. Ike Yulia W., M.Farm.

Dekan FMIPA-UNPAK



Asep Denih, S.Kom., M.Sc., Ph.D.

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Billy Iskandar

NPM : 066118241

Judul Skripsi : Toksisitas Ekstrak Buah Takokak (*Solanum torvum*) Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) Dengan Beberapa Pelarut Ekstraksi Maserasi Bertingkat.

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah karya tulis yang dikerjakan sendiri dan tidak pernah dipublikasikan atau digunakan untuk mendapatkan gelar sarjana di perguruan tinggi atau lembaga lain.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya. Apabila dikemudian hari terdapat gugatan, penulis bersedia dikenakan sanksi sesuai dengan peraturan yang berlaku.

Bogor, Januari 2024



Billy Iskandar

066118241

**SURAT PELIMPAHAN SKRIPSI, SUMBER INFORMASI, SERTA
KEKAYAAN INTELEKTUAL KEPADA UNIVERSITAS PAKUAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Billy Iskandar

NPM : 066118241

Judul Skripsi : Toksisitas Ekstrak Buah Takokak (*Solanum torvum*) Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) Dengan Beberapa Pelarut Ekstraksi Maserasi Bertingkat.

Dengan ini saya menyatakan bahwa Skripsi diatas adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun.

Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka dibagian akhir Skripsi ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Universitas Pakuan.

Bogor, Januari 2024



Billy Iskandar

066118241

HALAMAN PERSEMBAHAN

Puji dan syukur saya panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan berkat dan karunia-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini serta lulus pada waktunya.

Terima kasih kepada ibu apt. Dra. Ike Yulia W., M.Farm. dan ibu Nina Herlina, S.Farm., M.Si. yang telah membimbing saya serta memberikan dukungan baik dalam segala hal sehingga penulisan skripsi ini dapat berjalan dengan lancar dan dapat menghantarkan saya lulus meraih gelar sarjana Farmasi. Semoga Tuhan selalu melindungi dan memberikan kesehatan kepada ibu sekalian.

Kepada Mamah, Papah dan Adik saya persembahkan skripsi ini sebagai tanda terima kasih yang sebesar-besarnya karena telah memberikan dukungan moral, kasih sayang, motivasi, biaya dan dukungan lainnya yang tidak terbatas sehingga saya bisa melewati suka duka selama proses penulisan skripsi ini. Tidak lupa juga saya ucapkan terima kasih kepada keluarga besar saya yang senantiasa memberikan semangat serta support yang memicu saya dalam penulisan skripsi ini. Dengan adanya kalian saya merasa bersyukur sehingga saya merasakan kemudahan menjalankan skripsi ini.

Terima Kasih kepada teman-teman Boarhat yang telah bersedia menemani dan membantu dalam berbagai bentuk dan kondisi apapun dalam lika-liku sejak dari masa kuliah, penyusunan skripsi hingga saat ini.

DAFTAR RIWAYAT HIDUP



Billy Iskandar lahir di kota Bandung pada tanggal 29 Juli 2000, Penulis merupakan putra dari pasangan Teddy Iskandar dan Tina Mardiana serta anak pertama dari dua bersaudara. Penulis memulai pendidikan formalnya pada tahun 2006 di SD Tunas Pertiwi hingga lulus pada tahun 2012. Pada tahun yang sama penulis melanjutkan pendidikan sekolah menengah pertama di SMP Budi Mulia Bogor dan lulus pada tahun 2015. Setelah lulus penulis melanjutkan ke Sekolah Menengah Kejuruan (SMK) Kesehatan Dwi Putri Husada Bogor dengan jurusan Farmasi yang ditempuh hingga lulus pada tahun 2018. Dan pada tahun yang sama penulis diterima menjadi sebagai mahasiswa di Universitas Pakuan Bogor Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam dengan Jurusan Farmasi.

Selama duduk di bangku perguruan tinggi penulis mengikuti Uji Kompetensi Laboran K3 yang diselenggarakan oleh Badan Nasional Sertifikasi Profesi (BNSP) serta aktif mengikuti kegiatan seminar yang diadakan oleh universitas maupun nasional. Dengan ketekunan, motivasi tinggi untuk terus belajar dan berusaha. Penulis telah berhasil menyelesaikan pengerjaan tugas akhir skripsi ini. Semoga dengan penulisan tugas akhir skripsi ini mampu memberikan kontribusi positif bagi para pembaca.

KATA PENGANTAR

Puji dan Syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa, yang selalu memberikan karunia dan berkat-Nya sehingga penulis dengan dapat menyelesaikan penelitian serta skripsi dengan judul **“Toksitas Ekstrak Buah Takokak (*Solanum torvum*) Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) Dengan Beberapa Pelarut Ekstraksi Maserasi Bertingkat”**. Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat dalam memperoleh gelar Sarjana Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan.

Penulis sangat berterima kasih kepada berbagai pihak yang senantiasa membantu, mendukung serta mempermudah dalam proses penyusunan skripsi ini :

1. apt. Dra. Ike Yulia W., M.Farm sebagai pembimbing utama dan Nina Herlina, S.Farm., M.Si. sebagai pembimbing kedua.
2. Dekan dan Ketua Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pakuan.
3. Seluruh dosen dan staff di lingkungan Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan.
4. Ayah, ibu serta adik tercinta.
5. Rekan-rekan BoarHat
6. Rekan-rekan mahasiswa/mahasiswi Farmasi khususnya angkatan 2018.

Penulis juga menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna, oleh karena penulis juga menerima saran serta masukannya. Semoga skripsi ini dapat diterima manfaat baiknya.

Bogor, Januari 2024

Penulis

RINGKASAN

Billy Iskandar. 066118241. 2023. **Toksisitas Ekstrak Buah Takokak Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dengan Perbandingan Beberapa Pelarut Ekstraksi Maserasi Bertingkat.**

Pembimbing : Ike Yulia W dan Nina Herlina

Buah Takokak (*Solanum torvum*) biasa dikonsumsi dan digunakan dalam pengobatan tradisional di Asia Tenggara, termasuk Indonesia. Secara empiris buah takokak biasa digunakan untuk berbagai penyakit hingga dipercaya sebagai obat antikanker. Bagian buah dari takokak dipilih karena merupakan bagian yang paling sering dimanfaatkan secara umum serta mudah didapatkan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui nilai toksisitas simplisia buah takokak tiap ekstrak dari masing-masing pelarut serta membandingkan potensi masing-masing pelarut dalam mengekstraksi buah takokak dengan metode maserasi bertingkat.

Buah takokak dimaserasi secara bertingkat menggunakan pelarut etanol 70%, etil asetat dan n-heksan, maserat diuapkan hingga didapatkan ekstrak kental yang selanjutnya dibuat larutan konsentrasi dan diuji menggunakan BSLT. Metode BSLT memiliki prinsip pemaparan larva artemia dengan zat toksisitas pada larutan konsentrasi uji tertentu selama masa inkubasi 24 jam. Setelah periode paparan jumlah larva yang mati diamati dan hasilnya diukur sebagai LC50. Nilai LC50 digunakan untuk melihat rentang kategori toksisitas buah takokak apakah masuk ke dalam standar literatur

Nilai toksisitas LC50 yang dihasilkan yaitu ; ekstrak etanol takokak 188,180 ppm (toksik sedang), ekstrak pelarut etil asetat sebesar 392,196 ppm (toksik sedang), dan ekstrak pelarut n-heksan sebesar 689,911 ppm (toksik lemah). Hasil penelitian didapatkan bahwa ekstrak etanol buah takokak memiliki potensi sitotoksik paling baik bila dibandingkan dengan pelarut lain.

Kata kunci : Ekstrak Buah Takokak, Etanol, Kanker, Sitotoksik.

SUMMARY

Billy Iskandar. 066118241. 2023. **The Toxicity of Takokak Fruit Extract Using *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)* Method with Comparison of Several Solvents in Multi-Stage Maceration Extraction.**

Supervised by : Ike Yulia W and Nina Herlina

Takokak fruit (*Solanum torvum*) is commonly consumed and utilized in traditional medicine in Southeast Asia, including Indonesia. Empirically, takokak fruit is often used to address various ailments and is believed to have anti-cancer properties. The fruit part of takokak is chosen because it is the most commonly utilized and readily available. This research aims to determine the toxicity value of takokak fruit *simplicia* for each extract from various solvents and compare the potential of each solvent in extracting takokak fruit using the multilevel maceration method.

The takokak fruit is subjected to sequential maceration using 70% ethanol, ethyl acetate, and n-hexane as solvents. The macerate is evaporated to obtain a concentrated extract, which is then formulated into various concentration solutions and tested using BSLT. The BSLT method involves exposing artemia larvae to a toxic substance at a specific test concentration during a 24-hour incubation period. After the exposure period, the number of dead larvae is observed, and the results are measured as LC50. The LC50 value is utilized to determine the range of toxicity categories of takokak fruit and to assess whether it aligns with the standards outlined in the literature. This evaluation is expected to pave the way for further testing regarding its potential as an anti-cancer drug.

The LC50 toxicity values produced were as follows ; the ethanol extract of takokak fruit at 188.180 ppm (moderately toxic), the ethyl acetate extract at 392.196 ppm (moderately toxic), and the n-hexane extract at 689.911 ppm (weakly toxic). The research results showed that the ethanol extract of takokak exhibited the best cytotoxic potential when compared to other solvents.

Keywords: Takokak Fruit Extract, Ethanol, Cancer, Cytotoxic.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN	i
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS	ii
SURAT PELIMPAHAN SKRIPSI, SUMBER INFORMASI, SERTA KEKAYAAN INTELEKTUAL KEPADA UNIVERSITAS PAKUAN	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
DAFTAR RIWAYAT HIDUP	v
KATA PENGANTAR	vi
RINGKASAN	vii
SUMMARY	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	3
1.3 Hipotesis	3
TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tanaman Takokak	4
2.1.1 Deskripsi Tanaman Takokak	4
2.1.2 Kandungan Kimia Takokak	5
2.2 Metode Ekstraksi	10
2.2.1 Maserasi	10
2.2.2 Pelarut	11
2.3 Artemia salina	13
2.4 Uji Toksisitas <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT)	14
BAHAN DAN METODE PENELITIAN	16

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	16
3.2 Alat dan Bahan	16
3.2.1 Alat.....	16
3.2.2 Bahan.....	16
3.3 Metode Penelitian.....	16
3.3.1 Determinasi Tanaman	16
3.3.2 Pengumpulan dan Preparasi.....	16
3.3.3 Ekstraksi	17
3.3.4 Uji Kadar Air	17
3.3.5 Uji Kadar Abu.....	17
3.3.6 Uji Fitokimia.....	17
3.3.7 Kaji Etik Hewan Coba.....	20
3.3.8 Penyiapan Larva Artemia.....	20
3.3.9 Pembuatan Konsentrasi Ekstrak	21
3.3.10 Prosedur Uji Toksisitas Metode BSLT	22
3.3.11 Pengujian Nilai LC50.....	23
HASIL DAN PEMBAHASAN	24
4.1 Proses dan Hasil Ekstraksi Buah Takokak.....	24
4.2 Kandungan Metabolit Sekunder Buah Takokak	26
4.3 Uji Toksisitas BSLT Buah Takokak.....	27
4.4 Analisis dan Interpretasi Data	30
KESIMPULAN DAN SARAN	33
5.1 Kesimpulan	33
5.2 Saran	33
DAFTAR PUSTAKA	34
LAMPIRAN	39

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 1. Tanaman Takokak	4
Gambar 2. Struktur Kimia Alkaloid	6
Gambar 3. Struktur Kimia Flavonoid	6
Gambar 4. Struktur Kimia Saponin (Triterpenoid dan Steroid Saponin)	7
Gambar 5. Struktur Tanin Terhidrolisis	8
Gambar 6. Struktur Tanin Terkondensasi	9
Gambar 7. Struktur Kimia Glikosida	10
Gambar 8. Morfologi Artemia salina.....	13
Gambar 9. Morfologi Takokak.....	43
Gambar 10. Buah Takokak Matang	43
Gambar 11. Serbuk Simplisia Takokak	43
Gambar 12. Buah Takokak Kering	43
Gambar 13. Maserasi Simplsiai Takokak	43
Gambar 14. Alkoholmeter etanol 70%	43
Gambar 15. Maserat Buah Takokak	44
Gambar 16. Proses Penyaringan Ekstrak	44
Gambar 17. Ekstrak Kental Takokak.....	44
Gambar 18. Pembuatan Larutan Uji	44
Gambar 19. Penimbangan Kadar Abu	44
Gambar 20. Penimbangan Kadar Air.....	44
Gambar 21. Telur Artemia	45
Gambar 22. Proses Penetasan Artemia	45
Gambar 23. Vial Uji BSLT	45
Gambar 24. Larva Artemia dibawah Mikroskop.....	45
Gambar 25. Suspensi Ragi Kering.....	45
Gambar 26. pH air laut yang digunakan	46
Gambar 27. Uji Alkaloid Wagner.....	46

Gambar 28. Uji Alkaloid-Mayer	46
Gambar 29. Uji Flavonoid-FeCl ₃	47
Gambar 30. Uji Flavonoid-Reagen Alkali	47
Gambar 31. Uji Saponin.....	47
Gambar 32. Uji Terpenoid/Steroid-Pb Asetat	47
Gambar 33. Uji Tanin-Gelatin.....	48
Gambar 34. Kemasan Telur Artemia	48

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 1. Klasifikasi Pelarut Menurut Polaritasnya	11
Tabel 2. Klasifikasi Rentang Toksisitas.....	15
Tabel 3. Rendemen Simplisia dan Ekstrak Kental	24
Tabel 4. Kadar Air dan Kadar Abu Serbuk dan Ekstrak Buah Takokak	25
Tabel 5. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Kental Buah Takokak	26
Tabel 6. Data Perlakuan BSLT.....	29
Tabel 7. Jumlah Kematian terhadap Konsentrasi Perlakuan.....	30
Tabel 8. Hasil LC50 Ekstrak Buah Takokak.....	31

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Lampiran 1. Alur Penyiapan dan Pembuatan Ekstrak	39
Lampiran 2. Alur Uji Toksisitas BSLT.....	40
Lampiran 3. Surat Determinasi Buah Takokak	41
Lampiran 4. Surat Kaji Etik Hewan Uji.....	42
Lampiran 5. Perhitungan Hasil Uji Ekstrak Buah Takokak.....	49
Lampiran 6. Hasil Pengamatan Kematian Larva.....	58
Lampiran 7. Hasil Perhitungan SPSS Ekstrak Buah Takokak	60
Lampiran 8. Hasil Uji ANOVA SPSS	63
Lampiran 9. Hasil Uji Lanjut Duncan SPSS	63
Lampiran 10. Grafik % Kematian Larva Terhadap Konsentrasi Perlakuan	64
Lampiran 11. Tabel Konversi Nilai Probit.....	64

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Buah Takokak (*Solanum torvum*) atau yang biasa dikenal sebagai terung pipit, rimbang, *turkey berry* merupakan suatu tanaman yang termasuk kedalam keluarga terung (*Solanaceae*). Takokak biasanya tersebar pada daerah tropis seperti Afrika, Asia hingga Amerika Selatan. Buah takokak dapat dikonsumsi dan biasanya digunakan sebagai alternatif pengobatan karena banyaknya manfaat yang diturunkan secara empiris. Buah Takokak biasa dikonsumsi dan juga digunakan sebagai makanan diet, selain itu akarnya biasa digunakan sebagai pengobatan untuk gastralgia, bisul dan demam. Berbagai studi membuktikan bahwa berbagai bagian tanaman takokak memiliki berbagai manfaat seperti antioksidan, antimikroba, antiinflamasi, antivirus, diuretik dan aktivitas sitotoksik (Lu *et al*, 2009).

Ekstrak etanol buah Takokak yang telah dikeringkan di bawah sinar matahari diketahui memiliki kandungan metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, glikosida, serta beberapa kandungan bermanfaat lain seperti minyak, vitamin B, C dan E (Chah *et al*, 2000). Buah Takokak selain mengandung berbagai metabolit sekunder dan zat yang bermanfaat untuk pengobatan juga memiliki potensi lain yaitu sebagai zat sitotoksik yang sangat bermanfaat dalam melawan dan sel kanker dan berpotensi dalam pengembangan obat kanker lebih lanjut. Penelitian Widiyastuti (2019), menguji potensi kandungan sitotoksik buah takokak terhadap sel kanker payudara MCF-7, yang menghasilkan penghambatan pertumbuhan sel kanker.

Senyawa sitotoksik yang terdapat dalam takokak yaitu stero glikosida, glikoalkaloid (*Solasodine*, *Solamargine*) dan beberapa substrat lainnya. Beberapa senyawa bioaktif telah diisolasi dan diidentifikasi dari seluruh tanaman *Solanum nigrum* yang meliputi, 2 oligoglikosida steroid baru, yaitu nigrumnin I dan II dan 3 glikosida steroid yang diketahui, yaitu β -2- *solamargine*, *solamargine*, *tigogenin*, dan *degalactotigonin* (Rastogi, 2001). Ekstraksi buah takokak dari

berbagai penelitian serta jurnal referensi yang menguji toksisitas buah takokak biasanya diekstraksi secara sederhana yaitu dengan metode maserasi dan dengan pelarut polar, salah satunya dalam penelitian M. Alfarabi (2018), yang menggunakan pelarut *aqua destilata* steril dan metode maserasi. Metode maserasi sendiri merupakan metode ekstraksi yang paling mudah, aman, murah, serta cukup efektif dalam mengekstraksi senyawa bila dibandingkan dengan metode lainnya.

Senyawa bioaktif dalam takokak memiliki polaritas yang berbeda-beda maka dalam penelitian ini akan dilakukan metode yang berbeda dari metode maserasi biasa, yaitu dengan ekstraksi metode maserasi bertingkat. Maserasi bertingkat bertujuan untuk mengekstrak masing-masing senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya pada pelarut yang akan digunakan. Penelitian ini menggunakan 3 jenis pelarut yang berbeda kepolarannya yaitu pelarut polar (etanol), pelarut semi-polar (etil asetat) dan pelarut non-polar (n-heksan). Ekstrak kental buah takokak dari ketiga jenis pelarut yang berbeda tersebut akan dibandingkan potensi sitotoksiknya dengan nilai toksisitas (LC50) yang semakin kecil maka semakin toksik dan melihat adakah perbedaan yang signifikan antar pelarut untuk nantinya sebagai acuan penelitian lainnya. Terdapat berbagai macam pengujian toksisitas untuk suatu bahan secara klinis seperti uji toksisitas akut, subkronik dan kronik dan tentunya dengan berbagai macam jenis hewan uji. Pengujian toksisitas yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) yang merupakan jenis uji toksisitas akut dan jenis hewan uji berupa larva udang.

Uji BSLT telah banyak digunakan dan terbukti cukup efektif bila dibandingkan dengan menggunakan hewan uji lainnya sebab larva udang cukup sensitif dengan lingkungannya sehingga sangat cocok dalam uji toksisitas suatu bahan (Jelita dkk, 2020). Pertimbangan lainnya dari segi ketersediaannya yang banyak dan bibit yang seragam sehingga bisa direplikasi kapanpun dan dimanapun, tidak memerlukan peralatan khusus dan teknik aseptis, selain itu juga kuantitas yang digunakan per tes sangat kecil dan penyimpanan telur dapat disimpan selama bertahun-tahun dalam kondisi kering (Jooste C.S, 2012). Berdasarkan manfaat, serta pertimbangan di atas mengenai penggunaan buah takokak yang biasa dikonsumsi dan sebagai

pengobatan dan potensi sitotoksik nya maka penelitian ini bertujuan sebagai pengembangan sudut pandang dari penelitian yang sudah ada mengenai pengujian awal potensi sitotoksik dengan uji toksisitas *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) serta dengan melihat potensi sitotoksik dari masing-masing pelarut sehingga bisa diuji lebih lanjut sebagai obat antikanker.

1.2 Tujuan Penelitian

- 1) Menentukan nilai toksisitas (LC50) ekstrak kental buah takokak dari beberapa pelarut dengan pengujian menggunakan metode BSLT.
- 2) Membandingkan potensi toksisitas dari nilai toksisitas (LC50) masing-masing ekstrak kental buah takokak dari variasi pelarut yang berbeda (Polar, semi-polar, dan non-polar).

1.3 Hipotesis

- 1) Buah takokak memiliki potensi sebagai zat sitotoksik dengan rentang toksisitas LC50 kategori sedang hingga toksik (100-500 ppm)
- 2) Ekstrak kering buah takokak dari masing-masing pelarut memiliki potensi toksisitas yang berbeda dan pelarut etanol memiliki potensi yang paling besar dibanding pelarut lain dalam mengekstraksi buah takokak dan memiliki nilai LC50 yang paling tinggi

BAB II

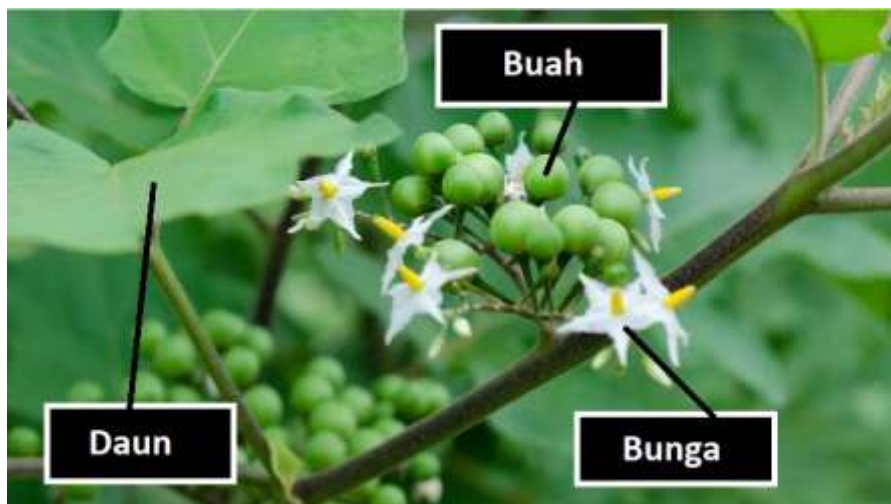
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Takokak

2.1.1 Deskripsi Tanaman Takokak

Takokak (*Solanum torvum*) atau yang dikenal sebagai cepoka, cokowana, pokak, terung pipit, rimbang diberbagai daerah Indonesia merupakan tanaman perdu yang dilapisi bulu berbentuk bintang berwarna putih dan kuning, dengan tinggi hingga mencapai 5 meter, memiliki duri dan buah yang berwarna kuning jingga. Distribusi tanaman ini biasa tumbuh di daerah Jawa dataran rendah hingga mencapai 1450 mdpl (Yayasan Peduli Konservasi Alam Indonesia, 2008).

Takokak biasa digunakan secara turun temurun dengan dikonsumsi sebagai sayur maupun sebagai obat, tanaman ini biasanya digunakan untuk sakit lambung, sakit gigi, obat batuk kronis, obat sakit pinggang, bisul, darah tinggi, penambah nafsu makan (Mangoting dkk, 2008).



Gambar 1. Tanaman Takokak
Sumber : Ansley Hill (2020)

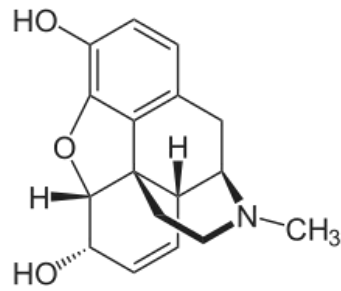
2.1.2 Kandungan Kimia Takokak

Solanum torvum diketahui berbagai kandungannya dari beberapa bagian yang telah diekstraksi (daun, buah, serta akar). Tanaman ini banyak mengandung sumber alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan glikosida (Chah *et al*, 2000). Berdasarkan hasil penelitian (Perez-Amador *et al*, 2007) komposisi yang terkandung juga antara lain alkaloid, glikoalkaloid, glikosilat dari solasodine yaitu solasonine dan solamargin. Penelitian lain juga menunjukkan adanya kandungan polifenol, flavonoid serta tanin (Kusirisin *et al*, 2009). Pada penelitian Balachandran *et al* (2015) ditemukan senyawa deriatif triacontana, chlorogenone dan neochlorogenone, isoflavonoid sulfat dan glikosida steroid, 22- β -o-spirostanoligoglikosida and 26- β -o-glukosidase, serta metil kafeat yang menunjukkan aktivitas penghambatan α -glukosidase, aktivitas penghambat stres oksidatif, aktivitas anti-platelet dan aktivitas anti-proliferasi.

1) Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa produk alam yang paling bervariasi, sehingga jumlah senyawa golongan ini memiliki jenis yang paling banyak jika dibandingkan dengan golongan lainnya. Variasi senyawa alkaloid disebabkan oleh rantai samping yang sangat beragam (Saidi N dkk, 2018).

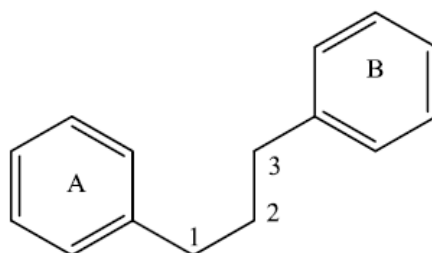
Alkaloid tidak dapat diidentifikasi atau dikuantifikasi dengan satu metode saja karena senyawa ini sangat heterogen secara kimia dan jumlahnya sangat banyak. Secara umum, sulit untuk mengidentifikasi alkaloid dari sumber tanaman baru tanpa mengetahui kira-kira jenis alkaloid apa yang mungkin ditemukan di sana. Selain itu juga, karena kelarutan yang luas dan sifat-sifat alkaloid lainnya, prosedur skiring umum untuk alkaloid pada tanaman juga ada kemungkinan gagal untuk mendeteksi senyawa tertentu (Makkar H *et al*, 2007).



Gambar 2. Struktur Kimia Alkaloid
Sumber : Bradley (2005)

2) Flavonoid

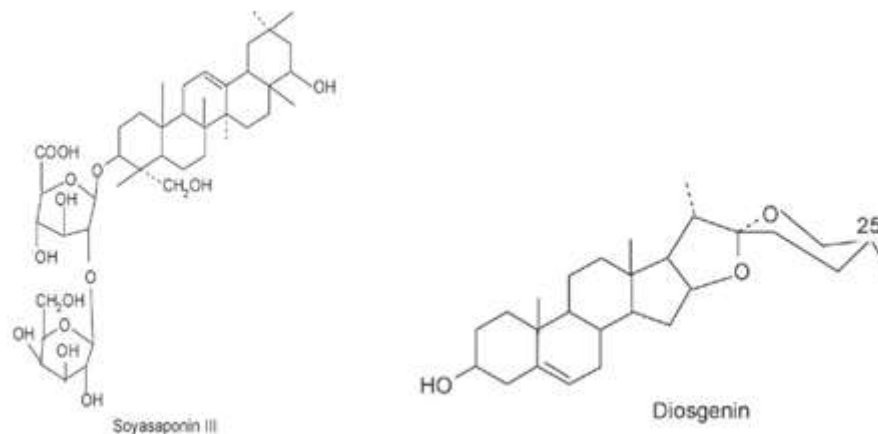
Flavonoid memiliki struktur kimia C₆-C₃-C₆ dengan dua cincin aromatik diikat melalui penghubung 3 rantai karbon. Secara kimia flavonoid terdiri atas 15 rangka karbon yang mengandung 2 cincin benzene (A dan B) yang dihubungkan oleh sebuah cincin pirin heterolik (C). Flavonoid sendiri dapat dibedakan menjadi beberapa kelas yaitu flavon (flavanon, apigenin dan luteolin), flavonol (kuarsetin, kaemperol dan fisetin), flavonon (hesperetin, dan naringenin), dsb. Pembagian kelas dari jenis flavonoid adalah berdasarkan tingkat oksidasi serta susunan substituen yang terikat pada cincin C. Flavonoid memiliki manfaat sebagai antioksidan, hepatoprotektif, antibakteri, antiinflamasi, antikanker serta sebagai antivirus (Anggraito Y.U dkk, 2018).



Gambar 3. Struktur Kimia Flavonoid
Sumber : Saidi N dkk (2018)

3) Saponin

Saponin terdiri dari keluarga besar senyawa yang terkait secara struktural yang mengandung steroid atau triterpenoid aglikon (sapogenin) yang terkait dengan satu atau lebih bagian oligosakarida melalui ikatan glikosidik (Gambar.4).



Gambar 4. Struktur Kimia Saponin (Triterpenoid dan Steroid Saponin)
Sumber : Makkar H *et al* (2007)

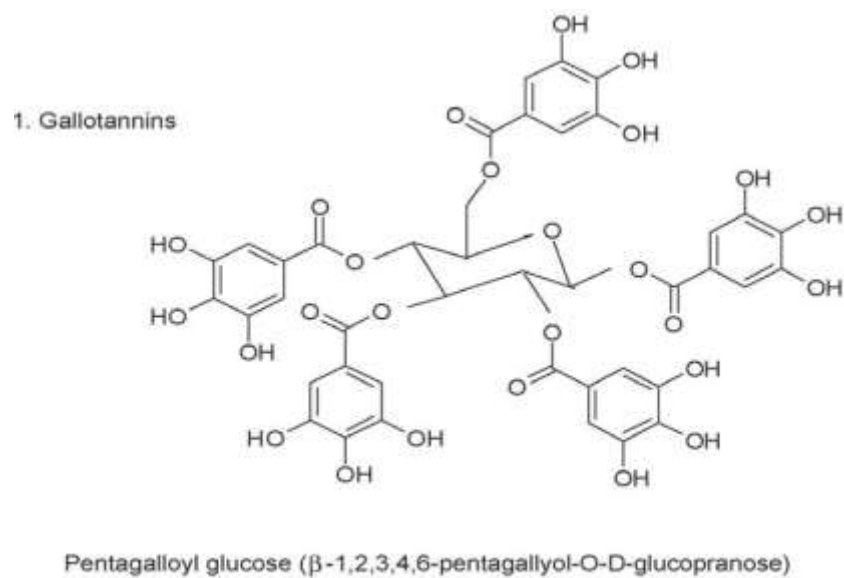
Bagian karbohidrat terdiri dari pentosa, heksosa, atau asam uronat. Kehadiran kelompok polar (gula) dan nonpolar (steroid atau triterpen) memberikan saponin sifat aktif permukaan yang kuat yang kemudian bertanggung jawab atas banyak efek yang merugikan dan menguntungkan. Efek biologis utama saponin adalah interaksi dengan komponen seluler dan membran. Misalnya, saponin menghemolisis sel darah merah melalui interaksi nonspesifik dengan protein membran, fosfolipid, dan kolesterol eritrosit.

Saponin juga dicirikan oleh aktivitas hemolitik dan sifat berbusa serta bertanggung jawab untuk memberikan rasa pahit dan sebagai astringen. Meskipun demikian, saponin juga diketahui mempengaruhi permeabilitas sel mukosa usus kecil dan dengan demikian memiliki efek pada transpor nutrisi aktif. Saponin juga telah terbukti menghambat berbagai enzim

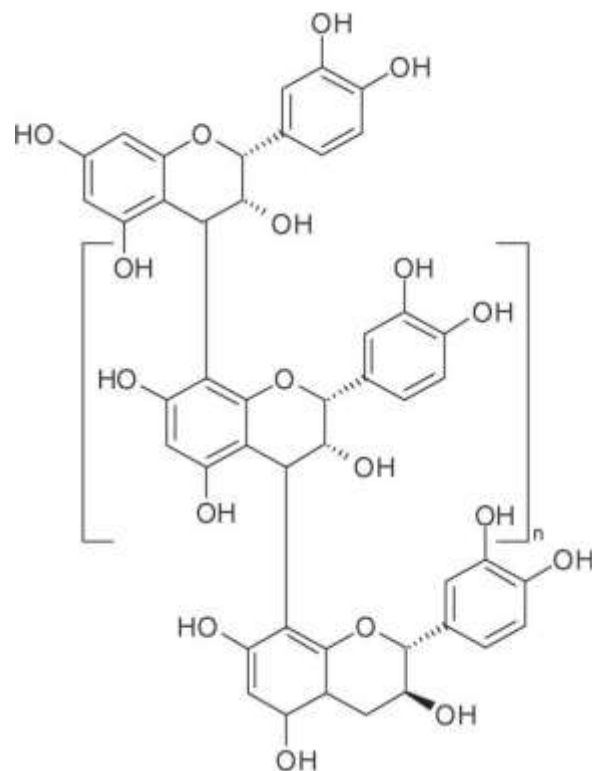
pencernaan, termasuk tripsin dan kimotripsin, dan juga diketahui menghambat degradasi protein dengan membentuk kompleks saponin-protein (Makkar H *et al*, 2007).

4) Tanin

Tanin adalah senyawa polifenol yang secara luas dikategorikan ke dalam dua kelompok besar: (1) tanin terhidrolisis, terdiri dari inti pusat karbohidrat yang asam karboksilat fenolik terikat oleh ikatan ester (Gambar 5);



Gambar 5. Struktur Tanin Terhidrolisis
Sumber : Makkar H *et al* (2007)



Sorghum procyanidin



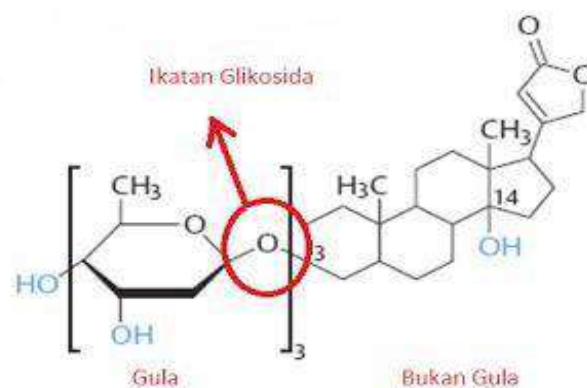
Gambar 6. Struktur Tanin Terkondensasi

Sumber : Makkar H *et al* (2007)

dan (2) tanin terkondensasi, atau proanthocyanidins, terdiri dari oligomer dari dua atau lebih flavan-3-ol, seperti catechin, epicatechin, atau gallic acid yang sesuai (Gambar 6.). Tanin memiliki afinitas yang sangat tinggi terhadap protein dan membentuk kompleks protein-tanin. Konsumsi tanaman yang mengandung tanin terkondensasi dapat menurunkan pemanfaatan nutrisi, protein yang terpengaruh untuk sebagian besar, dan mengurangi asupannya dalam tubuh. Di sisi lain, tanin terhidrolisis berpotensi beracun bagi hewan. Konsumsi pakan yang mengandung tanin terhidrolisis tingkat tinggi menyebabkan keracunan hati dan ginjal dan dapat menyebabkan kematian pada hewan (Makkar H *et al*, 2007).

5) Glikosida

Glikosida merupakan metabolit sekunder yang terdiri dari 2 bagian yaitu bagian glikon (gila) dan aglikon (bukan gula) dimana ikatan tersebut dapat terurai dengan pengaruh lain seperti hidrolisis dan enzim. Sifat dari glikosida sendiri yakni mudah terurai, mudah menguap, dan mudah larut dalam pelarut polar. Bagian glikon yang paling umum dijumpai adalah monosakarida glukosa (glukosida) (Bartnik and Facey, 2017).



Gambar 7. Struktur Kimia Glikosida
Sumber : Sumardjo (2006)

2.2 Metode Ekstraksi

2.2.1 Maserasi

Metode ekstraksi maserasi atau yang biasa dikenal dengan ekstraksi dingin merupakan teknik ekstraksi yang paling sederhana dan umum digunakan, menimbang biaya, tenaga serta teknik yang paling praktis digunakan dalam mengekstraksi suatu bahan terutama simplisia. Metode ini cocok untuk bahan tanaman yang termolabil, karena saat proses ekstraksi tidak dilakukan pemanasan (Majekodunmi, 2015).

Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk kasar dari berbagai bagian tanaman dalam sebuah wadah dengan pelarut hingga terendam sepenuhnya, lalu wadah tersebut ditutup dan disimpan selama setidaknya tiga hari. Isi dari wadah tersebut harus diaduk secara berkala untuk memastikan ekstraksi berjalan dengan sempurna. Misel (ekstrak) dipisahkan dari marc (ampas sisa) dengan penyaringan atau dekantasi dan dari menstruum (pelarut)

dengan cara diuapkan dalam oven atau di atas penangas air (Ingle K.P *et al*, 2017).

2.2.2 Pelarut

Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi tanaman obat atau yang dikenal sebagai *menstrum* didasarkan pada jenis dan bagian tanaman yang akan diekstraksi, sifat senyawa bioaktif dan ketersediaan pelarut itu sendiri. Secara umum, pelarut polar seperti air, metanol, etanol paling banyak digunakan untuk mengekstraksi senyawa polar, sedangkan pelarut non-polar seperti heksana dan diklorometana digunakan dalam ekstraksi senyawa non-polar (Altermimi *et al*, 2017).

Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi diklasifikasikan menurut polaritasnya mulai dari yang tidak polar (n-heksan) hingga paling polar (air).

Tabel 1. Klasifikasi Pelarut Menurut Polaritasnya
Sumber : Abubakar and Haque (2020)

Pelarut	Polaritas
n-Heksan	0.009
Petroleum eter	0.117
Dietil eter	0.117
Etil asetat	0.228
Kloroform	0.259
Diklorometana	0.309
Aseton	0.355
n-Butanol	0.586
Etanol	0.654
Metanol	0.762
Air	1.000

1) Air

Merupakan pelarut yang paling polar dan paling digunakan dalam ekstraksi umum dan berbagai senyawa polar. Kelebihan air sendiri adalah dapat melarutkan berbagai zat, murah, tidak beracun, tidak mudah terbakar, dan sangat polar. Untuk kekurangannya sendiri dapat menjadi media pertumbuhan bakteri dan jamur ; dapat menyebabkan hidrolisis, dan untuk memekatkan ekstrak perlu pemanasan dengan titik didih yang tinggi (Tiwari P *et al*, 2011).

2) Etanol

Bersifat polar dan juga dapat bercampur dengan air dan dapat mengekstrak metabolit sekunder bersifat polar dengan baik. Kelebihan etanol adalah pengawet alami pada konsentrasi diatas 20% sehingga tidak menjadi media dalam pertumbuhan bakteri dan jamur, tidak beracun pada konsentrasi rendah, dan untuk pemekatan ekstrak diperlukan titik didih yang rendah. Kekurangan etanol adalah tidak melarutkan lemak, gom, dan lilin, juga mudah menguap dan mudah terbakar (Tiwari P *et al*, 2011).

3) Kloroform

Merupakan pelarut non-polar yang berguna dalam ekstraksi senyawa terpenoid, flavonoid, lemak, dan minyak. Keuntungan kloroform sendiri tidak berwarna, berbau manis, dan larut dalam alkohol, juga dimetabolisme baik dalam tubuh. Kekurangannya mempunyai efek sedatif dan dapat bersifat karsinogenik (Pandey *and* Tripathi, 2014).

4) Etil asetat

Senyawa organik semi-polar yang memiliki ciri bau manis yang khas, biasa digunakan sebagai pelarut atau pengencer. Etil asetat memiliki beberapa kelebihan seperti toksisitasnya yang rendah, biaya rendah, dan bau yang menyenangkan (Wang *and* Lu, 2021).

5) Heksan

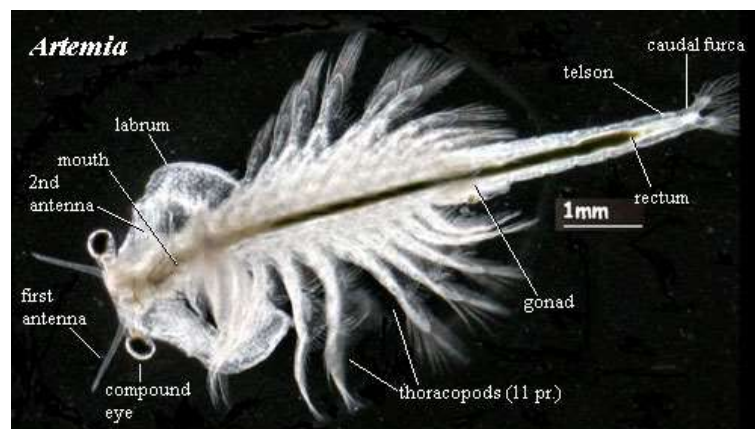
Merupakan pelarut non-polar dengan polaritas terendah, n-heksan banyak digunakan untuk ekstraksi minyak dan senyawa-senyawa non-polar lainnya karena mempunyai pelarutan yang baik dalam minyak dan titik didih yang

rendah (63–69 °C). Heksan memiliki beberapa kekurangan seperti beracun bila dihirup oleh manusia dan hewan, selain itu heksan juga merupakan polutan saat dilepas ke lingkungan yang membentuk ozon dan fotokimia (Liu *and* Mamidipally, 2005).

2.3 *Artemia salina*

Larva *Artemia salina* biasanya dijual dan digunakan sebagai makanan untuk ikan-ikan tropis, sehingga mudah didapatkan, sangat terjangkau, tahan lama, dan siap digunakan dalam keadaan kering dalam bentuk telurnya. Telur *Artemia salina* akan menetas dalam ± 48 jam pada kondisi menjadi larva (nauplii) dengan adanya larutan garam. Persentase larutan garam bervariasi (1-4%), hasil terbaik diperoleh dengan adanya garam laut daripada garam beryodium atau garam tingkat reagen. Air yang digunakan adalah air destilasi (*aqua destilata*), air keran yang tidak mengandung chlorine, atau air keran dapat didiamkan semalaman untuk menghilangkan kadar chlorinanya. pH optimal dalam proses penetasan adalah 8.0 ± 0.5 , untuk penyesuaian pH dapat digunakan Natrium hidroksida / Natrium karbonat (Sarah *et al*, 2017).

Larva berukuran sekitar 22 mm, dapat diamati tanpa perbesaran tinggi dan cukup kecil untuk dapat menetas dalam jumlah besar tanpa ruang kerja yang luas di laboratorium sehingga bisa digunakan untuk bermacam keperluan tes bioassay (Sarah *et al*, 2017).



Gambar 8. Morfologi *Artemia salina*
Sumber : Abatzopoulos *et al* (1996)

2.4 Uji Toksisitas *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) merupakan salah satu pengujian bioassay sederhana yang banyak digunakan karena pengujiannya yang cepat, murah, aman, tidak memerlukan banyak peralatan, serta tidak memerlukan teknik aseptis. Bioassay adalah pengukuran konsentrasi/potensi suatu zat atau senyawa baik yang diketahui maupun tidak diketahui pengaruhnya terhadap suatu jaringan, sel, ataupun media hidup (Meyer *et al*, 1982).

Saat penetasan diperlukan kondisi seperti habitat aslinya yaitu pergerakan air yang kontinu dan gelap / tanpa cahaya. Aerator membantu untuk membuat gelembung / udara dalam air sehingga pergerakan telur menjadi kontinu. Suhu inkubasi paling optimal adalah suhu ruang (28–30°C). Penetrasi garam ke dalam cangkang, suhu yang sesuai serta pergerakan konstan dari telur merangsang penetasan larva (Sarah *et al*, 2017).

Tes bioassay yang biasa dilakukan menggunakan metode BSLT ini yaitu tes mikotoksin, pestisida, limbah, polusi sungai, anestetik, toksin dan sebagainya (Hood *et al*, 1960).

Metode ini memiliki keuntungan untuk pengujian zat-zat fitokimia karena pengujian dapat lebih mudah dilakukan dan mengetahui apakah suatu zat toksik atau tidak yang nantinya akan dilihat melalui nilai LC50. LC50 adalah konsentrasi zat dalam hal ini toksik yang dapat membunuh 50% populasi hewan uji. Pengujian LC50 dilakukan dengan memaparkan zat yang diuji kepada hewan coba pada habitatnya, misalnya dalam hal ini larva udang yang diberi ekstrak tumbuhan yang berpotensi sitotoksik, yang nantinya akan diamati dan dihitung jumlah kematiannya.

Tabel 2. Klasifikasi Rentang Toksisitas
Sumber : McLaughlin (1991)

Rentang Toksisitas	Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)
Tidak toksik	>1000
Lemah	500-1000
Sedang	100-500
Toksik	0-100

Sedangkan berdasarkan *National Cancer Institute* (NCI) uji sitotoksik suatu senyawa menghasilkan nilai $\text{LC}_{50} \leq 20 \mu\text{g/ml}$, maka suatu senyawa tersebut dinyatakan memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai senyawa antikanker (Suffness *and* Pezuto, 1991 dalam Rahmawati dkk, 2008).

BAB III

BAHAN DAN METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Juli 2022 selama ± 3 bulan di Laboratorium Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pakuan Bogor.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : alat-alat gelas, grinder (ML500®), timbangan analitik (LabPro-DT224C®), mikropipet (Scilogex®), *vacuum rotary evaporator* (IKA RV-10 Digital®), oven (Memmert UN55®), tanur (Saftherm STM-18-12®), pengayak mesh 60 (ABM®), kaca pembesar, aerator (Amara AA-999®), saringan ikan, akuarium penetasan, wadah ekstraksi, sarung tangan, masker.

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : buah takokak matang (1 kg), telur artemia (Sanders®), garam ikan, pelarut etanol 70%, etil asetat, n-heksan, aqua destilata, pereaksi Pb asetat, pereaksi FeCl₃, larutan NaOH, reagen Mayer, reagen Wagner, gelatin.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan di Pusat Penelitian Biologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Cibinong, Bogor.

3.3.2 Pengumpulan dan Preparasi

Buah takokak yang akan digunakan dalam penelitian diambil dari Pasar Tradisional Anyar Bogor yang diambil dari kebun didaerah Dramaga, Bogor. Kriteria buah takokak yang dipilih yaitu buah takokak matang yaitu berwarna

hijau tua dan dipisahkan dari daun/batang yang masih menempel. Buah takokak dicuci dengan air mengalir hingga 3x bilasan sampai tidak ada lagi pengotor bawaan. Buah takokak disortasi basah dari pengotor yang masih terbawa sebelum dijemur, lalu buah takokak dikeringkan dibawah sinar matahari dengan menggunakan alas penutup kain selama kurang lebih 1-3 hari. Buah takokak kering kemudian dihaluskan dengan blender, lalu diayak dengan pengayak mesh 65 guna memperkecil ukuran partikel untuk mempermudah dalam proses ekstraksinya.

3.3.3 Ekstraksi

Serbuk kering buah takokak dimasukkan ke dalam masing-masing wadah ekstraksi dan tiap wadah dimasukkan pelarut yang diuji yaitu pelarut polar (etanol), pelarut semi-polar (etil asetat), pelarut non-polar (n-heksan) hingga terendam sepenuhnya lalu dikocok hingga tercampur merata. Ekstraksi dilakukan selama ± 3 hari dengan pengocokan setiap 8 jam. Ekstrak yang didapat dikumpulkan untuk selanjutnya dikeringkan dari pelarutnya menggunakan *vacuum rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak keringnya.

3.3.4 Uji Kadar Air

Timbang seksama lebih kurang 10 g sampel, masukan ke dalam wadah yang telah ditara. Keringkan pada suhu 105° selama 5 jam, dan timbang. Lanjutkan pengeringan dan timbang pada selang waktu 1 jam sampai perbedaan antara dua penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25%. (Depkes RI, 2017).

3.3.5 Uji Kadar Abu

Timbang seksama 2 sampai 3 g bahan uji yang telah dihaluskan dan masukan kedalam krus silikat yang telah dipijar dan ditara, pijarkan perlahan-lahan hingga arang habis, dinginkan dan timbang (Depkes RI, 2017)

3.3.6 Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan dengan metode skrining pada masing-masing ekstrak dengan pelarut yang berbeda untuk mengetahui keberadaan berbagai metabolit sekunder dalam ekstrak yang diuji.

1. Alkaloid

1) Uji Mayer

Uji dilakukan dengan menambahkan 1-2 tetes reagen Mayer pada sampel, perubahan warna menjadi putih atau kuning keruh menunjukkan adanya kandungan alkaloid pada sampel (Julianto T.S , 2019).

2) Uji Wagner

Reagen Wagner dibuat dengan cara menimbang 1,25 g iodine, I₂ dan 1 g kalium iodide, KI. Campuran bahan tersebut dilarutkan dalam 100 mL aquades dalam labu ukur (Saidi N,dkk 2018). Reagen Wagner ditambahkan melalui dinding tabung reaksi berisi sejumlah kecil filtrat ekstrak. Perubahan warna coklat kemerahan menunjukkan hasil positif adanya alkaloid (Julianto T.S , 2019).

3) Uji Hager

Reagen Hager dibuat dengan cara melarutkan 1 gram asam pikrat dalam 100 mL *aqua destilata*. Uji Hager dilakukan dengan menambahkan reagen Hager pada filtrat. Pembentukan warna kuning pada campuran tersebut menunjukkan positif alkaloid (Julianto T.S , 2019).

2. Flavonoid

1) Uji Reagen Alkali

Uji dilakukan dengan menambahkan beberapa tetes larutan Natrium hidroksida dan diamati perubahan warnanya. Perubahan warna menjadi kuning pekat menunjukkan adanya kandungan flavonoid (Julianto T.S, 2019).

2) Uji Gelatin

Uji dilakukan dengan menambahkan 50 mg ekstrak dan dilarutkan dalam 50 mL *aqua destilata*. Kemudian ditambahkan 2 ml larutan gelatin yang mengandung 10% NaCl. Campuran berwarna putih menandakan adanya senyawa fenolik (Julianto T.S, 2019).

3) Uji Pb Asetat

Uji dilakukan dengan menambahkan 50 mg ekstrak dan dilarutkan dalam aquades. Kemudian ditambahkan 3 ml Pb asetat 10%. Perubahan larutan menjadi putih keruh menandakan adanya fenol (Julianto T.S, 2019).

4) Uji Ferri klorida

Uji dilakukan dengan menambahkan 50 mg ekstrak dilarutkan dalam 5 mL aquades. Tambahkan beberapa tetes ferri klorida 5% netral. Warna hijau pekat menandakan adanya senyawa fenolik (Julianto T.S, 2019).

3. Uji Terpenoid dan Steroid

1) Uji Liebermann-Burchard

Reagen Liebermann-Burchard dapat dibuat dengan cara mencampurkan asam asetat anhidrat sebanyak 5 mL dengan asam sulfat pekat sebanyak 5 mL secara hati-hati, lalu ditambahkan 5 mL etanol absolut dan disimpan dalam lemari es. Bila reaksi menunjukkan warna ungu atau merah maka terdapat terpenoid sedangkan bila terbentuk warna hijau atau biru maka menunjukkan steroid (Saidi N dkk, 2018).

2) Uji Salkowski

Uji dilakukan dengan menambahkan ekstrak dan kloroform kemudian disaring. Filtrat dipisahkan dan ditambahkan beberapa tetes asam sulfat pekat pada filtrat tersebut. Filtrat dikocok dan dibiarkan pada posisi berdiri. Penampakan warna kuning emas mengindikasikan adanya triterpen (Julianto T.S, 2019).

3) Uji Pb Asetat

Uji dilakukan dengan melarutkan ekstrak dalam air. Ekstrak dtambahkan 3-4 tetes larutan tembaga asetat. Pembentukan warna hijau emerald mengindikasikan adanya diterpen (Julianto T.S, 2019).

4. Saponin

Pengujian identifikasi kandungan saponin dilakukan dengan menambahkan *aqua destilata* ke dalam tabung uji bersama dengan ekstrak simplisia kemudian dikocok kuat. Hasil positif saponin bila busa terbentuk stabil selama waktu yang cukup lama sekitar ± 30 menit (Saidi N dkk, 2018).

5. Tanin

Dilakukan dengan uji Feri klorida (FeCl_3) dimana sampel ditetaskan beberapa tetes larutan feri klorida dan diamati hasilnya. Positif bila menunjukkan endapan biru-hitam (Gallotanin dan ellagotanin) dan endapan hitam kehijauan menunjukkan tanin terkondensasi (Trease and Evan, 1996).

3.3.7 Kaji Etik Hewan Coba

Pemanfaatan mengenai hewan yang dilakukan terutama dalam penelitian harus seimbang dengan kemanfaatan dan nilai etika kesejahteraan hewan maka sebelum dilakukan pengujian / penelitian menggunakan hewan uji, maka perlu dilakukan kaji etik terhadap hewan terlebih dahulu. Kaji etik pada penelitian ini dilakukan pada komite etik hewan Universitas Pakuan.

Kaji etik pada hewan ini dilakukan sebagai bentuk menghormati hewan yang dimanfaatkan sebagai subjek penelitian (*respect*), menguntungkan atau bermanfaat untuk pengetahuan (*beneficiary*) dan harus bersikap adil (*justice*) dalam pemakaian hewan dalam arti tidak boleh digunakan secara terus menerus (Wahyuwardani dkk, 2020).

3.3.8 Penyiapan Larva Artemia

Proses penyiapan larva artemia dilakukan untuk menetasakan telur artemia dengan kondisi habitat aslinya, tahap penyiapan meliputi :

1. Penyiapan tempat penetasan dilakukan dengan mengukur 3 liter *aqua destilata* / air yang telah diendapkan semalaman lalu dimasukkan ke dalam wadah penetasan.

2. Untuk membuat kondisi / habitat asli *Artemia* yaitu air laut maka ditimbang ± 27 g garam ikan lalu dimasukkan ke dalam air pada tempat penetasan kemudian diaduk hingga tercampur seluruhnya.
3. Telur *Artemia salina* ditimbang ± 15 g lalu dimasukkan ke dalam air pada tempat penetasan kemudian diaduk.
4. Aerator sebagai tempat keluarnya gelembung udara, disiapkan dan dimasukkan ke dalam wadah penetasan dan dinyalakan / disesuaikan kekuatannya.
5. Tempat penetasan disimpan pada kondisi habitat aslinya yaitu pada suhu kamar ($28-30^{\circ}\text{C}$) dan dijauhkan dari sorotan cahaya langsung, bila perlu dicek pH sesekali untuk menjaga pH optimumnya ($8.0 \pm 0,5$).
6. Larva (*nauplii*) dapat diambil setelah 24-48 jam, larva yang diambil harus larva yang telah terpisah dari cangkang telurnya. Proses pemisahan telur dan cangkang dilakukan dengan mematikan gelembung udara dari aerator dan tunggu selama beberapa saat (± 15 menit). Cangkang telur yang kosong akan mengambang pada permukaan, sementara artemia akan berkumpul pada dasar wadah tempat penetasan.
7. Larva *Artemia salina* yang telah menetas biasanya akan berada dibawah permukaan wadah penetasan dan cangkang telur kosong akan berada diatas permukaan. Untuk mempermudah pengambilan larva, cangkang telur *Artemia salina* yang berada diatas permukaan disaring terlebih dahulu.

3.3.9 Pembuatan Konsentrasi Ekstrak

Ekstrak kering etanol, etil asetat, n-heksan yang akan diuji toksisitasnya dibuat ke dalam beberapa konsentrasi yaitu 10 ppm, 100 ppm dan 1000 ppm. Pengujian dilakukan triplo sehingga dibuat 3x sampel untuk masing-masing pelarut dan konsentrasi.

Ekstrak kering diencerkan ke dalam konsentrasi 10 ppm, 100 ppm dan 1000 ppm dengan cara membuat larutan induk awal yaitu dengan menimbang ekstrak kering sebanyak 100 mg lalu dicampurkan kedalam *aqua destilata* 100 mL sehingga akan didapatkan larutan induk dengan konsentrasi 10000 ppm.

Selanjutnya dari larutan induk tersebut dapat diencerkan ke konsentrasi yang diinginkan sesuai dengan prinsip rumus pengenceran.

$$V_1M_1=V_2M_2$$

Dimana M_1 merupakan konsentrasi awal dan M_2 adalah konsentrasi yang diinginkan, sedangkan V_2 adalah volume tabung pengenceran akhir sehingga akan didapatkan V_1 yang merupakan volume yang dibutuhkan dari larutan induk.

3.3.10 Prosedur Uji Toksikitas Metode BSLT

Larva artemia dan ekstrak kering yang sudah dipreparasi selanjutnya diuji toksisitasnya dengan metode BSLT dengan tahap sebagai berikut :

1. Setiap cawan diisi dengan 9 mL air laut buatan (air yang telah diberi garam khusus ikan) sebanyak 30 tabung ;
 - Ekstrak etanol konsentrasi 10, 100, 1000 ppm (9)
 - Ekstrak etil asetat 10, 100, 1000 ppm (9)
 - Ekstrak n-heksan 10, 100, 1000 ppm (9)
 - Kontrol negatif (3)
2. Kontrol negatif dibuat dengan memasukan air laut buatan dan larva.
3. Masing-masing cawan petri diberi suspensi ragi kering secukupnya sebagai cadangan makanan tambahan untuk larva.
4. Larva *Artemia salina* dimasukan ke dalam masing-masing cawan petri menggunakan pipet plastik dengan jumlah tiap cawan 10 ekor larva.
5. Ekstrak yang akan diuji dimasukan sebanyak 1 mL ke dalam tabung uji, lalu larva dalam tabung uji didiamkan selama 24 jam dibawah cahaya lampu.
6. Masing-masing ekstrak uji dilakukan sebanyak 3x ulangan.
7. Setelah 24 jam diamati dan dihitung jumlah kematian larva artemia bila perlu dengan bantuan kaca pembesar dan cahaya lampu dengan background hitam.

8. Kriteria kematian dinilai bila tidak ada pergerakan dari larva dalam waktu 10 detik dengan bantuan cahaya dan kaca pembesar.
9. Jumlah kematian selanjutnya dihitung untuk menentukan persentase kematian dan dianalisis lebih lanjut untuk menentukan nilai LC50.

3.3.11 Pengujian Nilai LC50

Data jumlah kematian larva masing-masing konsentrasi selanjutnya dihitung persentase kematiannya yaitu dengan menggunakan rumus :

$$\text{Persentase kematian} = \frac{\text{Jumlah larva mati}}{\text{Jumlah total larva awal}} \times 100\%$$

Nilai probit dari setiap kelompok ditentukan dengan melihat besaran masing-masing nilainya pada tabel probit. Persamaan regresi didapatkan dari nilai probit dan log konsentrasi dengan persamaan :

$$y = ax + b.$$

*Keterangan :

y = Nilai Probit

a = Slope

x = log Konsentrasi

b = Intercept

Nilai yang dihitung selanjutnya dibuat grafik regresi antara nilai probit dan log konsentrasi. Nilai LC50 dapat dihitung dengan regresi dengan memasukan nilai 5 (probit 50% kematian larva uji) sebagai y sehingga menghasilkan x sebagai nilai log konsentrasi. Antilog nilai x tersebut merupakan nilai LC50 (Asem A dkk, 2010 dalam Subekti , 2012).

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Proses dan Hasil Ekstraksi Buah Takokak

Penelitian ini menggunakan buah takokak matang dari daerah Dramaga Bogor, Jawa Barat. Buah yang telah masak memiliki ciri-ciri berwarna hijau hingga hijau tua dan tidak keras saat dipegang (Badan Litbang Kesehatan RI, 2011). Determinasi tanaman didapatkan tanaman takokak bagian buah dengan jenis *Solanum torvum* Sw. dan suku Solanaceae. Hasil determinasi dapat dilihat pada Lampiran 3. Buah takokak matang yang digunakan dalam penelitian sebanyak 1 kg dan akan dikeringkan menjadi simplisia serbuk. Jumlah rendemen serbuk yang digunakan digunakan dalam proses ekstraksi sebesar 200 gram.

Metode maserasi yang digunakan dalam penelitian adalah maserasi bertingkat yaitu maserasi yang dilakukan secara kontinu dari 1 ekstrak ke beberapa pelarut yang digunakan. Ekstraksi bertingkat menghasilkan senyawa spesifik yang terekstrak ke dalam tiap pelarut yang sesuai (Permadi, dkk 2015). Kelebihan maserasi bertingkat tidak memerlukan peralatan dan kondisi yang spesifik untuk memulai ekstraksi, sedangkan untuk kekurangannya yaitu borosnya bahan pelarut yang digunakan serta lamanya waktu ekstraksi yang diperlukan.

Pengeringan ekstrak/maserat dilakukan dengan bantuan alat *rotary evaporator* untuk memisahkan ekstrak dengan pelarutnya dengan prinsip penguapan panas sesuai titik didih pelarut. (Braun, 2017). Rendemen simplisia serbuk dan ekstrak kental buah takokak yang didapatkan dari masing-masing pelarut dapat dilihat pada Tabel 3 :

Tabel 3. Rendemen Simplisia dan Ekstrak Kental

Jenis	Berat
Simplisia Serbuk	772 g
Ekstrak Kental Etanol 70%	22,6 g
Ekstrak Kental Etil asetat	0,5 g
Ekstrak Kental n-heksan	2,4 g

Penelitian terkait dari Saputra (2021) yang mengekstraksi anggur laut (*Caulerpa lentillifera*) dengan menggunakan metode ekstraksi bertingkat dan pelarut etanol, etil asetat dan n-heksan. Rendemen ekstrak kental yang dihasilkan dari proses maserasi bertingkat yang telah dikeringkan menghasilkan berat secara berturut-turut sebesar 2,1663 g pelarut n-heksan, 1,7758 g pelarut etil asetat, dan 1,6127 g pelarut etanol.

Kadar air dan kadar abu ekstrak buah takokak telah diuji sesuai metode farmakope dan didapat hasil dalam Tabel 4 :

Tabel 4. Kadar Air dan Kadar Abu Serbuk dan Ekstrak Buah Takokak

Jenis	Uji	Hasil
Serbuk	Kadar Air	6,0705%
	Kadar Abu	4,1755%
Ekstrak Kental	Kadar Air	7,7266%
Etanol	Kadar Abu	4,7444%

Kadar air adalah salah satu parameter yang digunakan untuk melihat seberapa banyak residu air yang masih tersisa setelah proses pengeringan. Intensitas kadar air dalam ekstrak berpengaruh terhadap kemurnian ekstrak dan ketahanan ekstrak dari mikroba (Utami dkk, 2017). Hasil kadar air serbuk maupun ekstrak kental simplisia buah takokak memenuhi standar mutu yaitu $\leq 10\%$ (BPOM, 2014). Ekstrak kental memiliki kadar air antara 5-30% (Voight, 1994).

Kadar abu dilakukan untuk melihat seberapa banyak kandungan mineral internal dan eksternal yang terdapat dalam ekstrak dari awal pembuatan hingga terbentuk ekstrak kental (DepKes RI, 2000). Hasil kadar abu yang didapat dari serbuk dan ekstrak kental tidak terlalu tinggi yaitu $< 5\%$ hal ini menunjukkan bahwa tidak terlalu banyak mineral yang terdapat dalam ekstrak hingga tahapan pengeringan. Kadar abu yang tinggi menunjukkan kandungan mineral yang terdapat didalam ekstrak pun semakin tinggi. Kandungan mineral manusia antara lain seperti kalsium, magnesium, fosfor, natrium dan klorida dan zat besi (Bonato dkk, 1987). Mineral yang berbahaya yang dapat terakumulasi dalam jangka lama dalam tubuh manusia

seperti timbal, merkuri, tembaga, kadmium dan stronsium (Widaningrum dkk, 2007).

4.2 Kandungan Metabolit Sekunder Buah Takokak

Studi fitokimia dari ekstrak etanol buah takokak matang diketahui terdapat beberapa metabolit sekunder yaitu alkaloid, glikosida, tanin, flavonoid dan saponin (Koomson *et al*, 2018). Ekstrak buah takokak dalam penelitian ini diuji menggunakan metode pengujian kualitatif dengan menggunakan berbagai pereaksi. Masing-masing uji fitokimia dilihat dan dibandingkan dengan pembanding dan didapat hasil pada Tabel 5 :

Tabel 5. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Kental Buah Takokak

Uji Fitokimia	Hasil	Keterangan
Alkaloid		
a) Uji Mayer	Putih atau kuning keruh	+
b) Uji Wagner	Coklat kemerahan	+
Flavonoid		
a) Reagen Alkali	Kuning terang	+
b) Ferri Klorida	Hijau-biru pekat	+
Terpenoid/Steroid		
a) Pb Asetat	Hijau emerald	+
Saponin	Busa stabil selama ± 30 menit	+
Tanin		
a) Uji Gelatin	Endapan coklat keruh	+

*Keterangan :

(+) : Terkandung Senyawa

(-) : Tidak Terkandung Senyawa

Kandungan metabolit sekunder yang ada pada buah takokak seperti flavonoid, tanin, saponin berkhasiat sebagai antioksidan dan anti inflamasi (Mohan *et al*, 2010). Pada penelitian Balachandran *et al* (2015) ditemukan keberadaan senyawa

metil kafeat dalam buah takokak yang berfungsi sebagai antikanker dan ekstrak etil asetat menunjukkan sifat sitotoksik kuat terhadap sel MCF-7. Penelitian terkait dari Gandhi *et al* (2011) mengenai metil kafeat yang telah diproduksi dari buah takokak dan dibuat sediaan oral juga dapat berfungsi untuk mengobati diabetes mellitus yang diuji pada tikus yang terkena hiperglikemik.

4.3 Uji Toksisitas BSLT Buah Takokak

Ekstrak kental buah takokak telah melewati serangkaian proses ekstraksi dan pengujian untuk memastikan syaratnya terpenuhi untuk diuji toksisitasnya. Pengujian toksisitas dilakukan untuk melihat potensi suatu bahan atau tanaman yang diketahui memiliki toksisitas tertentu sebagai uji pendahuluan untuk dikembangkan lebih lanjut menjadi senyawa bioaktif anti-kanker (Jelita, 2020). Uji toksisitas yang digunakan dalam penelitian ini adalah pengujian toksisitas akut *Brine Shrimp Lethality Test* menggunakan larva udang *Artemia salina*. Metode BSLT dipakai karena dalam pengerjaannya tidak memerlukan teknik dan peralatan khusus, murah, serta mudah direplikasi (Jooste C.S, 2012).

Penetasan *Artemia salina* dilakukan dengan menggunakan akuarium dengan bantuan aerator sebagai sumber oksigen dan membantu pergerakan konstan telur supaya cepat menetas. Air yang digunakan merupakan air yang telah didestilasi, dan sebelum ditetaskan pH air dipastikan dalam rentang optimal yaitu 8.0 ± 0.5 untuk menghindari kematian larva dari perubahan pH air (Panggabean, 1984). Pada suhu ruang ($28-30^{\circ}\text{C}$) dan kondisi aerasi yang sesuai larva akan menetas dalam waktu 24-30 jam. Air laut untuk dibuat seragam dengan konsentrasi sekitar 0,9%.

Ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksan masing-masing dibuat larutan ujinya kedalam 3 konsentrasi awal yaitu 100 ppm, 1000 ppm, 10000 ppm yang nantinya akan didapatkan konsentrasi final 10 ppm, 100 ppm, 1000 ppm karena akan diencerkan ke dalam 10 mL larutan dalam vial. Penggunaan DMSO 2% digunakan untuk membantu kelarutan dari ekstrak etil asetat serta n-Heksan ke dalam air, DMSO 2% yang digunakan beberapa tetes sampai ± 1 mL hingga ekstrak dapat larut dengan air. DMSO bersifat toksik jika kadarnya melebihi 7.5% namun pada kadar

yang rendah dalam penelitian ini 2% termasuk kategori tidak toksik (Amalia dkk, 2012).

Kontrol negatif sebagai pembanding akan dibuat yang terdiri dari larva *Artemia*, air laut dan suspensi ragi. Kontrol negatif sebagai pembanding digunakan untuk melihat apakah terdapat faktor lain terutama dari air laut yang digunakan maupun dari pemberian suspensi ragi yang dapat mempengaruhi kematian larva. Suspensi ragi diberikan dengan tujuan sebagai makanan cadangan saat masa inkubasi 24 jam pada vial, namun larva dapat bertahan hidup hingga 48 jam dari cadangan makanan pada kantung kuning telur mereka (Michael *et al*, 1956). Suspensi ragi diberikan masing-masing 1 tetes setiap vial, banyak ragi yang digunakan mengacu kepada penelitian Kurniawan dan Meri (2021) yaitu sebanyak 0,6 mg/mL. Pengujian dari masing-masing konsentrasi ekstrak dibuat secara triplo sehingga total vial yang digunakan termasuk kontrol negatif adalah 30 vial dengan masing-masing vial berisi 10 ekor larva, 9 mL air laut dan 1 mL larutan konsentrasi uji.

Larva diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang dan pada tempat tertutup untuk menghindari pengotor dari luar. Setelah 24 jam larva dari masing-masing vial diamati secara seksama dengan menggunakan bantuan sinar karena larva cenderung menunjukkan pergerakan ke arah sinar (Pelka M *et al*, 2000). Kriteria pengamatan adalah dilihat selama ± 10 detik larva yang masih bergerak aktif dan bila larva tidak menunjukkan pergerakan maka dianggap mati. Hasil pengamatan dicatat untuk selanjutnya dihitung % kematiannya.

Persentase kematian menunjukkan perbandingan dari banyak larva yang mati terhadap larva yang diuji. Hasil pengujian didapatkan % kematian yang tinggi seiring dengan naiknya konsentrasi uji. Hal ini seiring dengan teori dan referensi yang berlaku dimana semakin tinggi konsentrasi maka semakin pekat zat yang terlarut sehingga dalam hal ini semakin toksik dan mematikan bagi hewan uji. Pelarut polar Etanol 70% memiliki nilai rata-rata %kematian yang relatif tinggi bila dibandingkan dengan pelarut semi-polar Etil asetat dan pelarut non-polar n-heksan. Data pengamatan dari seluruh perlakuan BSLT setelah masa inkubasi 24 jam dapat dilihat pada Tabel.6.

Tabel 6. Data Perlakuan BSLT

Pelarut	Konsentrasi (ppm)	Log konsentrasi (ppm)	%Kematian	Larva Mati	Total Larva
Etanol	10	1	30%	3	10
			70%	7	10
	100	2	60%	6	10
			50%	5	10
			80%	8	10
			70%	7	10
			90%	9	10
			100%	10	10
	1000	3	100%	10	10
	Etil asetat	10	1	30%	3
40%				4	10
20%				2	10
100		2	30%	3	10
			50%	5	10
			50%	5	10
			80%	8	10
1000		3	70%	7	10
			90%	9	10
			100%	10	10
n-heksan	10	1	10%	1	10
			20%	2	10
			20%	2	10
	100	2	40%	4	10
			40%	4	10
			20%	2	10
			50%	5	10
	1000	3	50%	5	10
			50%	5	10
			70%	7	10

LC50 atau konsentrasi letal median adalah suatu takaran konsentrasi yang dapat membunuh 50% populasi hewan uji. LC50 merupakan ukuran konsentrasi yang sering digunakan sebab hasilnya dapat dengan mudah dilihat dan mewakili 50% hewan yang diuji coba sehingga hasilnya akurat. LC50 dihitung berdasarkan regresi linear dengan memplot konsentrasi terhadap persentase kematian pada skala probit (Waghulde *et al*, 2019). Metode probit mencakup transformasi % kematian dengan transformasi probit serta transformasi konsentrasi toksik suatu bahan ke dalam

bentuk logaritma (Anggraini dkk, 2019). Analisis probit dibantu dengan menggunakan software *IBM SPSS Statistics 26* dengan rentang kepercayaan 95%.

4.4 Analisis dan Interpretasi Data

Data yang diinput terlebih dahulu diuji dengan uji ANOVA pada *SPSS* untuk menguji persebaran serta homogenitasnya dan didapat nilai p-value dari data 0,000 yang berarti kurang dari α ($\alpha=0,05$), maka H_0 (seluruh rata-rata populasi sama) ditolak sehingga dapat disimpulkan terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok. Hasil pengujian ANOVA dapat dilihat pada Lampiran 8. Perbedaan antar kelompok diuji dengan menggunakan Uji lanjut Duncan, hasil pengujian dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Jumlah Kematian terhadap Konsentrasi Perlakuan

Konsentrasi Perlakuan (ppm)	Kematian (ekor)	%Kematian		
		I	II	III
n-heksan 10	1,67 ^a	10%	20%	20%
Etil asetat 10	3,00 ^{a,b}	30%	40%	20%
n-heksan 100	3,33 ^{a,b,c}	40%	40%	20%
Etil asetat 100	4,33 ^{b,c,d}	30%	50%	50%
Etanol 10	5,33 ^{c,d,e}	60%	70%	30%
n-heksan 1000	5,67 ^{d,e}	50%	50%	70%
Etanol 100	6,67 ^{e,f}	70%	50%	80%
Etil asetat 1000	8,00 ^{f,g}	30%	50%	50%
Etanol 1000	9,00 ^g	100%	100%	90%

Uji lanjut Duncan mengelompokkan masing-masing konsentrasi perlakuan dengan jumlah rata-rata kematian dengan subset yang sesuai. Perbedaan huruf subset menunjukkan perbedaan tingkat antar perlakuan, sedangkan persamaan huruf subset menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan antar perlakuan. Hasil

Tabel 7 menunjukkan semakin tinggi huruf subset maka semakin tinggi nilai kematian dari perlakuannya.

Hasil perhitungan nilai LC50 ekstrak buah takokak dengan beberapa pelarut pada SPSS didapatkan pada Tabel 8 :

Tabel 8. Hasil LC50 Ekstrak Buah Takokak

Perlakuan	LC50 (ppm)	Kategori Toksik (McLaughlin,1991)
Etanol	188,180 (Lampiran 7 Hal.60)	Sedang (100-500)
Etil Asetat	392,196 (Lampiran 7 Hal.61)	Sedang (100-500)
n-Heksan	689,911 (Lampiran 7 Hal.62)	Lemah (500-1000)

Semakin kecil nilai LC50 maka suatu zat semakin toksik, dari Tabel 8 diatas menunjukkan bahwa ekstrak etanol memiliki nilai LC50 yang paling rendah sehingga ekstrak etanol dianggap memiliki toksisitas paling tinggi bila dibandingkan dengan ekstrak etil asetat disusul dengan ekstrak n-Heksan.

Ekstrak etanol dengan LC50 188,180 ppm termasuk ke dalam kategori toksik “sedang” bila mengacu kepada penelitian McLaughlin (1991) yang mengklasifikasi range toksisitas lemah 500-1000 ppm, sedang 100-500 ppm, hingga kuat 0-1000 ppm. LC50 ekstrak etanol belum memenuhi kriteria berdasarkan *National Cancer Institute (NCI)* yang menyatakan bila rentang toksisitas senyawa (LC50) ≤ 20 $\mu\text{g/ml}$, maka suatu senyawa tersebut dinyatakan memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai senyawa antikanker (Suffness dan Pezuto, 1991 dalam Rahmawati dkk, 2008).

Hasil penelitian dari M. Alfarabi (2017) menunjukkan aktivitas sitotoksik dari ekstrak buah takokak yang diekstraksi dengan menggunakan *aqua destilata* steril dengan nilai LC50 sebesar 248 ppm. Nilai tersebut lebih tinggi dibandingkan ekstrak etanol buah takokak pada penelitian ini sehingga dapat dikatakan etanol berpotensi lebih baik dibanding *aqua destilata* steril dalam mengekstraksi zat

sitotoksik dalam buah takokak untuk golongan pelarut yang sama yaitu pelarut polar terbukti dari nilai LC50 yang didapat lebih rendah.

Hasil pengujian fitokimia dari fraksi air, etanol, etil asetat dan n-heksan pada penelitian Susanti (2023) menunjukkan bahwa fraksi n-heksan tidak menunjukkan adanya kandungan flavonoid, saponin, tanin dan kalium. Fraksi etil asetat menunjukkan positif flavonoid serta kalium sementara fraksi air dan etanol positif untuk semua kandungannya. Hal tersebut dapat menjadi dasar atas penyebab nilai LC50 ekstrak n-heksan yang lemah karena tidak adanya kandungan metabolit sekunder terutama golongan flavonoid ataupun alkaloid yang menjadi salah satu faktor yang dalam kekuatan sitotoksiknya.

Sesuai hipotesis awal bahwa ekstrak etanol terbukti memiliki potensi paling besar bila dibandingkan dengan ekstrak pelarut etil asetat dan n-Heksan. Senyawa-senyawa dalam buah takokak dan seperti simplisia pada umumnya cenderung terdiri dari senyawa-senyawa polar. Hal lain yang mendukung adalah dari hasil uji fitokimia serta hasil rendemen yang didapat, ekstrak etanol memiliki jumlah rendemen yang paling banyak bila dibanding dari pelarut lainnya.

Optimalisasi ekstraksi terutama dalam hal lamanya waktu ekstraksi yang digunakan dapat dilakukan kedepannya untuk melihat apakah adanya perbedaan jumlah rendemen hingga aktivitas sitotoksik yang lebih kuat. Metil kafeat yang berpotensi sebagai senyawa sitotoksik dalam takokak termasuk ke dalam jenis ester fenilpropanoid sehingga lebih cenderung terlarut ke pelarut polar.

Aktivitas sitotoksik suatu senyawa dapat dilihat hasilnya dengan pengujian toksisitas terhadap hewan coba. Nilai toksisitas dapat dinyatakan dalam satuan konsentrasi (LC) ataupun dosis (LD). Korelasi pada penelitian ini adalah nilai LC50 tersebut yang digunakan untuk melihat rentang kategori toksisitas buah takokak apakah masuk ke dalam standar literatur, sehingga diharapkan bisa diuji lebih lanjut keberadaan senyawa sitotoksiknya secara spesifik hingga dibuat sediaan untuk obat anti-kanker.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Nilai toksisitas dalam LC50 ekstrak kental buah takokak didapatkan hasil sebagai berikut ; ekstrak etanol memiliki nilai toksisitas LC50 sebesar 188,180 ppm, ekstrak etil asetat sebesar 392,196 ppm, dan ekstrak n-heksan sebesar 689,911 ppm.
2. Ekstrak kental buah takokak dengan pelarut etanol memiliki potensi sitotoksik paling tinggi yang ditandai dengan nilai LC yang paling rendah bila dibandingkan dengan ekstrak etil asetat dan n-Heksan, sehingga diharapkan dapat diuji lebih lanjut dalam pengembangan obat anti-kanker.

5.2 Saran

1. Optimalisasi jenis ekstraksi, suhu serta jumlah pelarut maupun rendemen yang digunakan pada buah takokak dapat dilakukan untuk mendapatkan hasil rendemen ataupun nilai LC50 yang lebih maksimal.
2. Dapat dilakukan pengujian sitotoksik in-vitro lain menggunakan sel kanker, sel hewan, hingga media jamur bila aktivitas sitotoksik dapat dimanfaatkan sebagai antijamur. Selain itu dapat dilakukan pengujian sitotoksik secara in-vivo dengan menggunakan mencit, tikus, hamster hingga kelinci.
3. Ekstrak etanol dalam penelitian ini memiliki nilai toksisitas LC50 yang paling rendah atau paling toksik sehingga dapat uji serta dikembangkan lebih lanjut obat anti-kanker.

DAFTAR PUSTAKA

- Abubakar, A. R., & Haque, M. 2020. Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes. *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*, 12(1), 1–10. Doi :10.4103/jpbs.JPBS_175_19
- Alfarabi, M., & Gupita W., 2018. Uji Toksisitas dan Identifikasi Fitokimia Ekstrak Buah dan Batang Rimbang (*Solanum torvum* Swartz). *Al-Kauniyah : Journal of Biology*. 11(2) : 109-115.
- Altermimi, A., Lakhssassi, N., Baharlouei, A., Watson, D.G., Lightfoot, D. A., 2017. Phytochemicals: Extraction, Isolation, and Identification of Bioactive Compounds from Plant Extracts. *Plants*. 6(4), pp. 2-23.
- Amalia, F.R., Suyadi dan Achadiah, R. 2012. *Pengaruh Glutathione Terhadap Kualitas Semen Kambing Boer Post Thawing dalam Pengencer Yang Mengandung Dimethylsulfoxide (DMSO)*. Tesis Sarjana. Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya.
- Anggraini, D., Effendi, H., & Krisanti, M. 2019. Uji Toksisitas Akut (LC50) Limbah Pengeboran Minyak Bumi Terhadap *Daphnia magna*. *Jurnal Pengelolaan Lingkungan Berkelanjutan*. 3(1), 272-284.
- Anggraito, Y.U., Susanti, R., Iswari, R.S., Yuniastuti, A., Lisdiana, WH, Nugrahaningsih., Habibah, N.A., Bintari, S.H. 2018. *Metabolit Sekunder dari Tanaman: Aplikasi dan Produksi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.
- Asem, A., Pouyani R., Nasrullah, Escalante D.L.R., Patricio. 2010. The genus *Artemia* Leach, 1819 (Crustacea: Branchiopoda). I. True and false taxonomical descriptions. *Latin American Journal of Aquatic Research*. Num.3 Vol.38. 38. 10.3856/vol38-issue3-fulltext-14.
- Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2012. *Pedoman Teknologi Formulasi Sediaan Berbasis Ekstrak Volume I*. Jakarta, Indonesia.
- Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2014. *Persyaratan Mutu Obat Tradisional*, Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia, Indonesia, p. 1–25.
- Balachandran, C., Emi, N., Arun, Y., Yamamoto, Y., Ahilan, B., Sangeetha, B., Duraipandiyan, V., Inaguma, Y., Okamoto, A., Ignacimuthu, S., Al-Dhabi, N. A., & Perumal, P. T. 2015. In vitro anticancer activity of methyl caffeate isolated from *Solanum torvum* Swartz. fruit. *Chemico-biological interactions*, 242 : 81–90.
- Bartnik, M., & Facey, P. C. 2017. Chapter 8 - Glycosides. Dalam S. Badal & R. Delgoda (Eds.), *Pharmacognosy* (pp. 101–161). Academic Press. doi : 10.1016/B978-0-12-802104-0.00008-1

- Chah KF, Muko KN, Oboegbulem SI. 2000 Antimicrobial activity of methanolic extract of *Solanum torvum* fruit. *Fitoterapia*. 71(2):187-9. doi: 10.1016/s0367-326x(99)00139-2. PMID: 10727817.
- Darkwah, W.K., Koomson, D.A., Miwornunyuie, N., Nkoom, M., Pupilampu, J.B. 2020 Review: phytochemistry and medicinal properties of *Solanum torvum* fruits. *All Life*, 13(1), pp. 498–506. doi:10.1080/26895293.2020.1817799.
- Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta : Departemen Kesehatan Reublik Indonesia.
- Evans, W. C., dan Trease G.E. 1989. *Trease and Evans' pharmacognosy*. London: Baillière Tindall.
- Gandhi, G.R., Savarimuthu, I., Michael G.P., Ponnusamy, S. 2017. Antihyperglycemic activity and antidiabetic effect of methyl caffeate isolated from *Solanum torvum* Swartz. fruit in streptozotocin induced diabetic rats. *Eur J Pharmacol*. 670 (2-3) : 623-631.
- Herawati, Dian. 2012. *Cara Produksi Simplisia Yang Baik*. Bogor : Seafast Center.
- Hood, D.W., Duke, T.W., dan Stevenson, B. 1960. Measurement of toxicity and organic wastes to marine organisms. *J. Water Poll. Control Fed*. 32:982-993.
- Ingle K.P., Deshmukh A.G., Padole D.A., Dudhare M.S., Moharil M.P., Khelurkar V.C.. 2017. Phytochemicals: Extraction methods, identification, and detection of bioactive compounds from plant extracts. *J Pharmacogn Phytochem*. 6: 32-6.
- Jelita, S.F., Gita W.S., Michelle F., Ade Z dan Sandra M., 2020. Uji Toksisitas Infusa *Acalypha Siamensis* Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Farmaka*. 18 (1) : 14-22.
- Jooste, C.S., 2012. *Brine Shrimp Lethality Test and Acetylcholine esterase Inhibition Studies on Selected South African Medicinal Plants*.Thesis. University of the Western Cape.
- Julianto, T. S. 2019. *Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia*. Yogyakarta : Universitas Islam Indonesia.
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. 2017. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi II*. Jakarta, Indonesia.
- Koffuor GA, Amoateng P, Andey TA. 2011. Immunomodulatory and erythropoietic effects of aqueous extract of the fruits of *Solanum torvum* Swartz (*Solanaceae*). *Pharmacognosy Res*. 3(2):130-4. doi: 10.4103/0974-8490.81961. PMID: 21772757; PMCID: PMC3129022.
- Koomson, D., Benjamin, K.D., Williams, K.D., dan Bismark, O. 2018. Phytochemical Constituents, Total Saponins, Alkaloids, Flavonoids and Vitamin C Contents of Ethanol Extracts of five *Solanum torvum* Fruits. *Pharmacognosy Journal*. 10 (5) : 946-950.

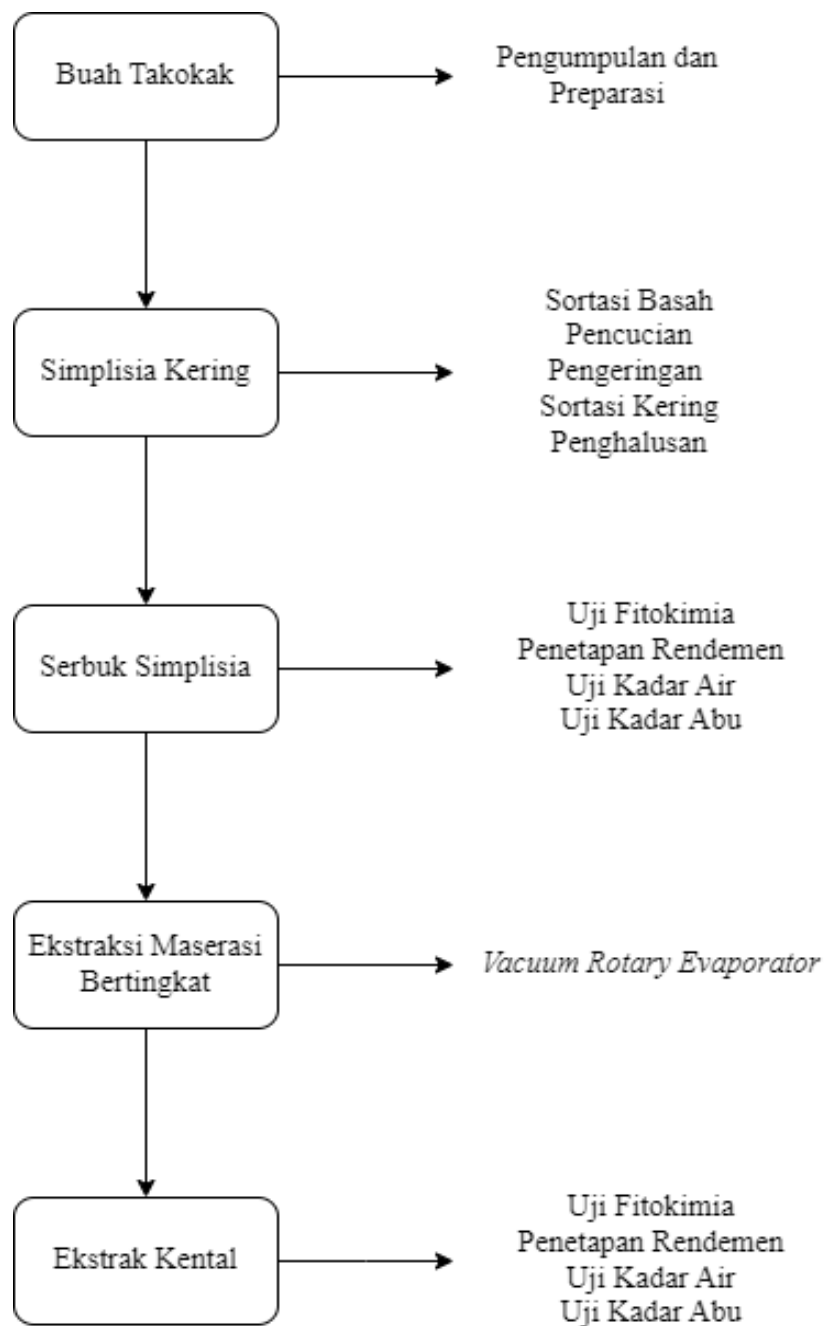
- Kurniawan, H dan Meri R. 2021 Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Ekor Kucing (*Acalypha hispida* Burm.f.) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*. 3 (2) : 52-62.
- Kusirisin W, Jaikang C, Chaiyasut C, Narongchai P. 2009. Effect of polyphenolic compounds from *Solanum torvum* on plasma lipid peroxidation, superoxide anion and cytochrome P450 2E1 in human liver microsomes. *Med Chem*. 5(6):583-8. doi: 10.2174/157340609790170443.
- Li J, Zhang L, Huang C, Guo F, Li Y. 2014. Five new cytotoxic steroidal glycosides from the fruits of *Solanum torvum*. *Fitoterapia*. 93:209-215.
- Liu S.X., dan Mamidipally P.K.. 2005. Quality comparison of rice bran oil extracted with d-limonene and hexane. *Cereal Chem*. 82:209–215
- Lu Y, Luo J, Huang X, Kong L. 2009. Four new steroidal glycoside from *Solanum torvum* and their cytotoxic activities. *Steroids*. 74(1):95-101
- Majekodunmi, S. O. 2015. Review of extraction of medicinal plants for pharmaceutical research. *Merit research journal of medicine and medical sciences*. 3(11):521-527.
- Makkar, H. P. S., Siddhuraju, P., & Becker, K. 2007. *Plant secondary metabolites*. Totowa, N.J : Humana Press.
- Mangoting, D., Said A., Imang I. 2006. *Tanaman Lalap Berkhasiat Obat*. Depok : Penebar Swadaya.
- McLaughlin J.L. 1991. Crown Gall Tumours on Potato Disks a Brine Shrimp Lethality, Two Simple Bioassays for Higher Plant Screening and Fractination. Dalam : K. Hostettman (ed), *Methods in Plant Biochemistry*, vol. 6, Assay for Bioactivity, Academic Press, 1991: 1-32.
- Meyer B.N., Ferrigni N.R., Putnam J.E., Jacobsen L.B., Nichols D.E., McLaughlin J.L. 1982. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Med*. 45(5):31-4. doi: 10.1055/s-2007-971236. PMID: 17396775.
- Michael, A.S., Thompson, C.G., Abramovitz, M. 1956. *Artemia salina* as a Test Organism for Bioassay. *Science*. 123 (3194) : 464.
- Ningsih, W.M., Zulharmita, Ridho, A., Boy, C. 2021. Review: The Chemical Compounds Of Turkey Berry (*Solanum torvum* Swartz) Plants That Are Efficacious As Medicine. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Medicine*. 6 (8) : 173-181.
- Pandey, A. and Tripathi, S.. 2014. Concept of Standardization, Extraction and Pre Phytochemical Screening Strategies for Herbal Drug. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2, 115-119.
- Panggabean, M.G.L. 1984. Teknik Penetasan dan Pemanenan *Artemia salina*. *OSEANA*, IX (2): 57-65. ISSN 0216-1877

- Panigrahi, S., Ravaichandran, N., Meenakshi, S.M., Pemaiah B. 2009. Eggplant Cepoka (*Solanum torvum*) Herbs that are efficacious as medicine. *Report on Research and Development of Industrial Plants*. 15(1):11-3
- Pelka M., Danzl, C., Distler, W., Petschelt. A. A. 2000. New Screening Test For Toxicity Testing of Dental Materials. *J Dent*. 28: 341-45.
- Pérez-Amadorl MC, Muñoz OV, García JM, Castañeda1 AR, González E. 2007. Alkaloids in *Solanum torvum* Sw (Solanaceae). *Phyton-International Journal of Experimental Botany*, 76(all), pp. 39–45. doi:10.32604/phyton.2007.76.039.
- Permadi, A., Sutanto, dan Sri, W. 2015. Perbandingan Metode Ekstraksi Bertingkat dan Tidak Bertingkat Terhadap Flavonoid Total Herba Ciplukan (*Physalis angulata* L.) Secara Kolorimetri. *Jurnal Online Mahasiswa Farmasi Universitas Pakuan*. 1 (1) : 1-10.
- Rahmawati, N., Katno, K., & Triyono, A. 2008. Efek Sitotoksik Ekstrak Etanolik Daun Bandotan (*Ageratum Conyxoides* L) Terhadap Sel Hela. *Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia*, 1(1), 42-51. doi:10.22435/jtoi.v1i1.1271.42-51
- Rastogi, R.P., Mehrota BN. 2001. *Compendium of Indian Medicinal Plants Vol. 3*. Central Drug Research Institute, Lucknow, National Institute of Science Communication, New Delhi, India. p. 596
- Saidi, N., Binawati, G., Murniana, Mustanir. 2018. *Analisis Metabolit Sekunder*. Banda Aceh : Syiah Kuala University Press.
- Sarah, Q.S, Anny, F.C., Misbahuddin, M. 2017. Brine shrimp lethality assay. *Bangladesh Journal of Pharmacology*. DOI: 10.3329/bjp.v12i2.32796
- Sirait N. 2009. Eggplant Cepoka (*Solanum torvum*) Herbs that are efficacious as medicine. *Report on Research and Development of Industrial Plants*. 15(1):11-3.
- Siregar, C.J.P., dan Amalia, L. 2004. *Farmasi Rumah Sakit : Teori dan Penerapan*. Jakarta : EGC.
- Subekti, N.K. 2014. *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Daun Laban Abang (Aglaia elliptica BLUME) Terhadap Larva udang (Artemia Salina LEACH) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*. Tesis Sarjana. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah.
- Suffness, M., dan Pezzuto, J.M. 1991. Assays Related to Cancer Drug Discovery. Dalam Hostettmann, K (Ed.), *Methods in Plant Biochemistry : Assays for Bioactivity*. Vol.6. Academic Press. London. pp 71-133.
- Susanti, A.D., dan Alip S.N. 2003. Kelarutan Kalsium Batu Ginjal Dalam Fraksi N-Heksana, Air, Dan Etil Asetat Dari Ekstrak Etanol Buah Takokak (*Solanum torvum swartz*). *Klinikal Sains : Jurnal Analisis Kesehatan*. 11 (1). 44-53.
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., Kaur, H.. 2011. Phytochemical Screening And Extraction: A Review, *Internationale Pharmaceutica Scientia*, Vol.1, Issue 1, 98-106. *torvum* and their cytotoxic activities. *Steroids*. 74:95–101.

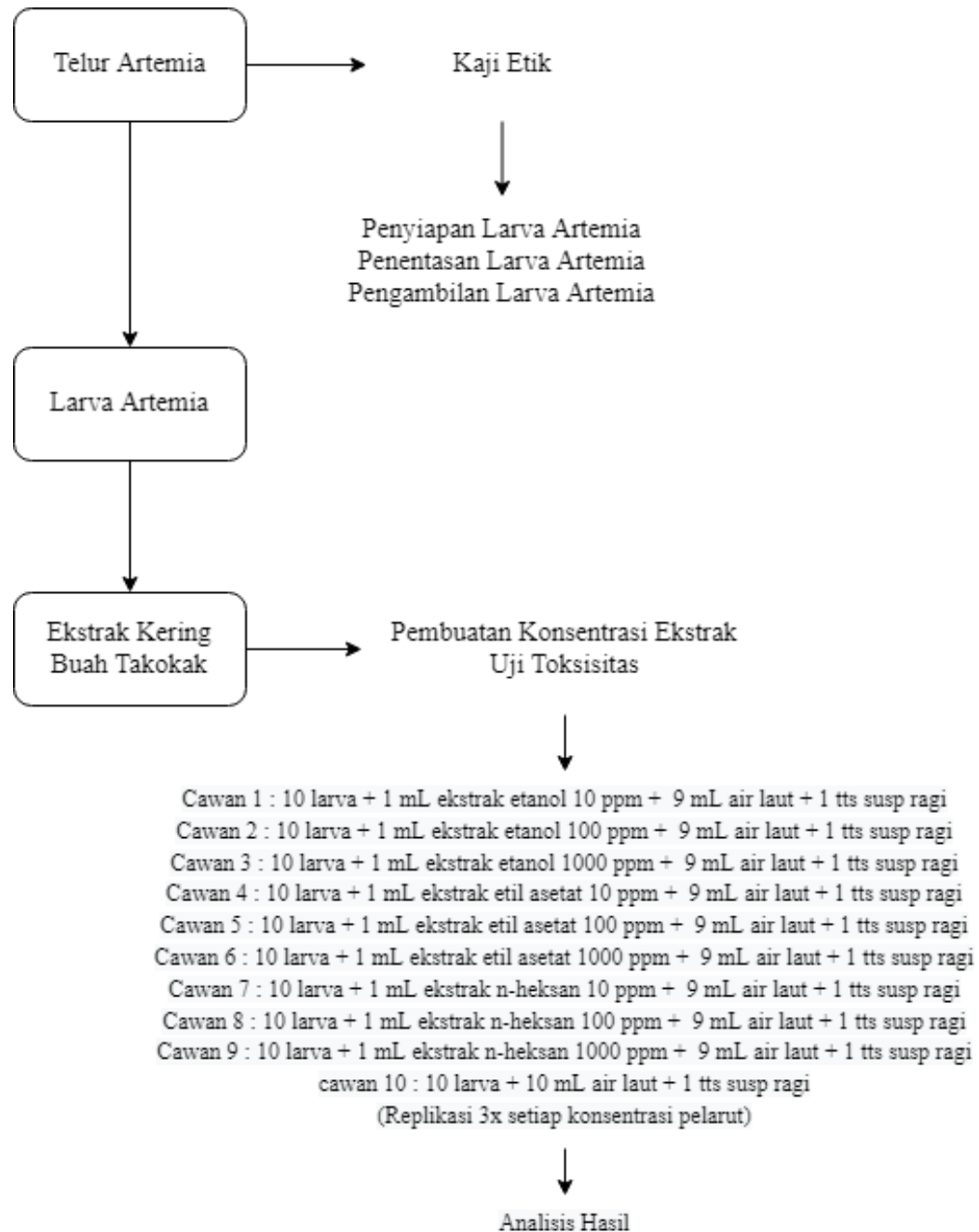
- Utami, Y.P., Abdul, H.U., Reny, S., Indah, Kadullah. 2017. Standarisasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Leilem (*Clerodeudrum minahassae* Teisjm. & Binn.). *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*. 2 (1) : 32-39.
- Voigt, R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Waghulde, S., Mohan, K. K., and Vijay, R. P. 2019. Brine Shrimp Lethality Assay of the Aqueous and Ethanolic Extracts of the Selected Species of Medicinal Plants. *Proceedings*. 41(1):47.
- Wahyuwardani S, SM Noor dan B.Bakrie. 2020. Etika Kesejahteraan Hewan dalam Penelitian dan Pengujian : Implementasi dan Kendalanya. *WARTAZOA*. 30(4). 211-220. DOI : 10.14334/wartazoa.v30i4.2529
- Wang, X., dan Lü, X. 2021. Chapter 3 - More than biofuels: use ethanol as chemical feedstock. Dalam X. Lü (Ed.), *Advances in 2nd Generation of Bioethanol Production* (pp. 31–51). Woodhead Publishing.
- Widaningrum, Miskiyah, dan Suismono. 2017. Bahaya Kontaminasi Logam Berat dalam Sayuran dan Alternatif Pencegahan Cemarannya. *Buletin Teknologi Pascapanen Pertanian*. 3 : 16-27
- Widiyastuti, Y., Sholikhah, I. & Haryanti, S. 2019. Efek Sitotoksik Formula Jamu Daun Sirsak, Buah Takokak, dan Umbi Bidara Upas terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. 140-149. doi: 10.22435/jki.v9i2.1049.
- Yayasan Peduli Konservasi Alam Indonesia. 2008. *Tumbuhan Obat Halimun*. Jakarta
- Yousaf, Zubaida & Wang, Y. & Baydoun, E .2013. Phytochemistry and pharmacological studies on *Solanum torvum* Swartz. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 3. 152-160. 10.7324/JAPS.2013.3428.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Alur Penyiapan dan Pembuatan Ekstrak



Lampiran 2. Alur Uji Toksisitas BSLT



Lampiran 3. Surat Determinasi Buah Takokak



DIREKTORAT PENGELOLAAN KOLEKSI ILMIAH
Gedung B.J. Habibie Jalan M.H. Thamrin Nomor 8,
Jakarta Pusat 10340
<https://www.brin.go.id>

Nomor : B-2737/II.6.2/DI.05.07/8/2022 16 Agustus 2022
Lampiran : -
Perihal : Hasil Identifikasi/Determinasi Tumbuhan

Yth.
Bpk./Ibu/Sdr(i). **Billy Iskandar**
Universitas Pakuan

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Direktorat Pengelolaan Koleksi Ilmiah BRIN Cibinong, adalah sebagai berikut :

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1.	Buah Takokak	<i>Solanum torvum</i> Sw.	Solanaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Pt. Direktorat Pengelolaan Koleksi Ilmiah
Badan Riset dan Inovasi Nasional

 TT ELEKTRONIK

Dr. Ir. Hendro Wicaksono, M.Sc., Eng



Dokumen ini ditandatangani secara elektronik menggunakan sertifikat dari BCR-E, silakan lakukan verifikasi pada dokumen elektronik yang dapat diunduh dengan melakukan scan QR Code

Lampiran 4. Surat Kaji Etik Hewan Uji

**KOMITE ETIK PENGGUNAAN HEWAN PERCOBAAN
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS PAKUAN
Jl. Pakuan PO BOX 452**

**SURAT KEPUTUSAN KOMITE ETIK
No. 041 /KEPHP-UNPAK/10-2022**

Komite Etik Penggunaan Hewan Percobaan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pakuan, dalam upaya melindungi hak dan kesejahteraan subjek hewan percobaan dalam penelitian dengan teliti telah mengkaji rancangan penelitian berjudul

**Uji Toksisitas Ekstrak Buah Takokak (*Solanum Torvum*) Metode BSLT Dengan
Beberapa Pelarut Ekstraksi Maserasi Bertingkat**

Peneliti Utama : Billy Iskandar
Institusi : Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pakuan Bogor

Dan MENERIMA rancangan penelitian tersebut.

Tanggal ditetapkan

Bogor, 7 Oktober 2022

Sekretaris Komite Etik



Nisa Najwa Rokhmah, M.Farm., Apt

Ketua Komite Etik



Drh. Min Rahmawati, PhD

Gambar 9. Morfologi Takokak



Gambar 10. Buah Takokak Matang



Gambar 12. Buah Takokak Kering



Gambar 11. Serbuk Simplisia Takokak



Gambar 14. Alkoholmeter etanol 70%



Gambar 13. Maserasi Simplisia Takokak



Gambar 15. Maserat Buah Takokak



Gambar 16. Proses Penyaringan Ekstrak



Gambar 17. Ekstrak Kental Takokak



Gambar 18. Pembuatan Larutan Uji



Gambar 20. Penimbangan Kadar Air



Gambar 19. Penimbangan Kadar Abu



Gambar 22. Proses Penetasan Artemia



Gambar 21. Telur Artemia



Gambar 23. Vial Uji BSLT

Gambar 24. Larva Artemia
dibawah MikroskopGambar 25. Suspensi
Ragi Kering

Gambar 26. pH air laut yang digunakan



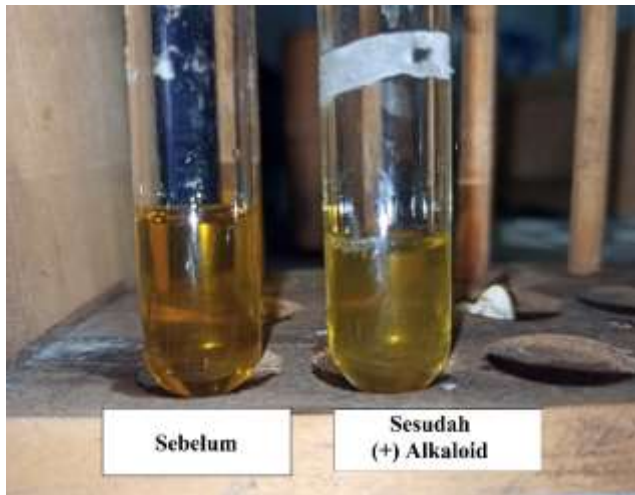
Gambar 28. Uji Alkaloid-Mayer



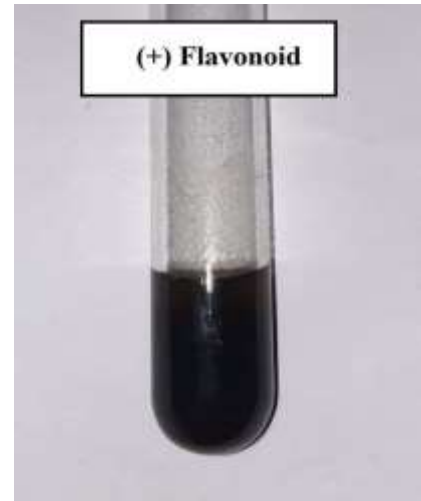
Gambar 27. Uji Alkaloid Wagner



Gambar 30. Uji Flavonoid-Reagen Alkali



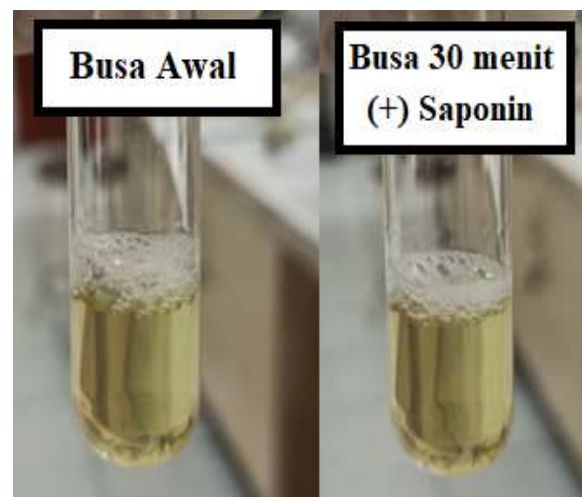
Gambar 29. Uji Flavonoid-FeCl₃



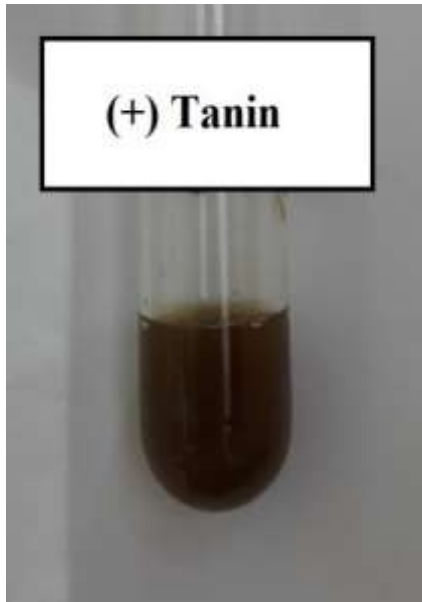
Gambar 32. Uji Terpenoid/Steroid-Pb Asetat



Gambar 31. Uji Saponin



Gambar 33. Uji Tanin-
Gelatin



Gambar 34. Kemasan Telur
Artemia



Lampiran 5. Perhitungan Hasil Uji Ekstrak Buah Takokak

Perhitungan Hasil Rendemen Serbuk Simplisia

Bobot buah takokak awal : 1000 g

Bobot simplisia buah takokak : 808 g

Serbuk simplisia buah takokak : 772 g

$$\% \text{ Rendemen Serbuk} : \frac{\text{Bobot serbuk simplisia takokak}}{\text{Bobot simplisia takokak}} \times 100\%$$

$$: \frac{772 \text{ g}}{808 \text{ g}} \times 100\%$$

$$: 95,54 \%$$

Perhitungan Hasil Rendemen Ekstrak Kental

1. Ekstrak Etanol

a) Filtrat : 900 mL

Ekstrak : 7,5 g

$$\% \text{ Rendemen ekstrak} : \frac{7,5 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 100\%$$

$$: 7,5 \%$$

b) Filtrat : 900 mL

Ekstrak : 15,1 g

$$\% \text{ Rendemen ekstrak} : \frac{15,1 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 100\%$$

$$: 15,1 \%$$

Rendemen Total Ekstrak Etanol : 22,6 g

2. Ekstrak Etil Asetat

a) Filtrat : 700 mL

Ekstrak : 0,1 g

$$\% \text{ Rendemen ekstrak} : \frac{0,1 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 100\%$$

$$: 0,1 \%$$

b) Filtrat : 700 mL

Ekstrak : 0,4 g

$$\begin{aligned} \text{\% Rendemen ekstrak} &: \frac{0,4 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 100\% \\ &: 0,4 \text{ \%} \end{aligned}$$

Rendemen Total Ekstrak Etil asetat : 0,5 g

3. Ekstrak n-Heksan

a) Filtrat : 700 mL

Ekstrak : 0,7 g

$$\begin{aligned} \text{\% Rendemen ekstrak} &: \frac{0,7 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 100\% \\ &: 0,7 \text{ \%} \end{aligned}$$

b) Filtrat : 700 mL

Ekstrak : 1,7 g

$$\begin{aligned} \text{\% Rendemen ekstrak} &: \frac{1,7 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 100\% \\ &: 1,7 \text{ \%} \end{aligned}$$

Rendemen Total Ekstrak n-heksan : 2,4 g

Perhitungan Kadar Air dan Kadar Abu Serbuk Simplisia Buah Takokak

1. Perhitungan Kadar Air Serbuk Simplisia Buah Takokak

$$\text{\%Kadar Air} = \frac{\text{Berat Isi} - \text{Berat Sesudah}}{\text{Berat Sediaan}} \times 100\%$$

% Kadar Air Pemanasan Kedua

a) Berat Kosong : 63,5320 g

Berat Isi : 65,5089 g

Berat Sediaan : 2,0097 g

Berat Sesudah : 65,3869 g

$$\begin{aligned} \% \text{Kadar Air} &= \frac{65,5089 \text{ g} - 65,3869 \text{ g}}{2,0097 \text{ g}} \times 100\% \\ &= \mathbf{6,0705 \%} \end{aligned}$$

Penimbangan Kadar Air Konstan

- b) Pemanasan Pertama : 65,3887 g
 Pemanasan Kedua : 65,3869 g

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= 65,3887 \text{ g} - 65,3869 \text{ g} \\ &= \mathbf{0,0018 \text{ g}} \end{aligned}$$

2. Perhitungan Kadar Abu Serbuk Simplisia Buah Takokak

$$\% \text{Kadar Abu} = \frac{\text{Berat Sesudah} - \text{Berat Kosong}}{\text{Berat Sediaan}} \times 100\%$$

% Kadar Abu Pemanasan Kedua

- a) Berat Kosong : 37,2840 g
 Berat Isi : 39,2845 g
 Berat Sediaan : 2,0015 g
 Berat Sesudah : 37,2552 g

$$\begin{aligned} \text{Kadar Abu} &= \frac{37,3552 \text{ g} - 37,2840 \text{ g}}{2,0015 \text{ g}} \times 100\% \\ &= \mathbf{3,5573 \%} \end{aligned}$$

Penimbangan Kadar Abu Konstan

- b) Pemanasan Pertama : 37,2566 g
 Pemanasan Kedua : 37,2552 g

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= 37,2566 \text{ g} - 37,2552 \text{ g} \\ &= \mathbf{0,0014 \text{ g}} \end{aligned}$$

Perhitungan Kadar Air dan Kadar Abu Ekstrak Kental Etanol Buah Takokak

1. Perhitungan Kadar Air Ekstrak Kental Etanol Buah Takokak

$$\% \text{Kadar air} = \frac{\text{Berat Isi} - \text{Berat Sesudah}}{\text{Berat Sediaan}} \times 100\%$$

%Kadar Air Pemanasan Kedua

- a) Berat Kosong : 56,3776 g
 Berat Isi : 58,3912 g
 Berat Sediaan : 2,0138 g
 Berat Sesudah : 58,2356 g

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{58,3912 \text{ g} - 58,2356 \text{ g}}{2,0138 \text{ g}} \times 100\% \\ &= \mathbf{7,7266 \%} \end{aligned}$$

Penimbangan Kadar Air Konstan

- b) Pemanasan Pertama : 58,2376 g
 Pemanasan Kedua : 58,2356 g

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= 53,2376 \text{ g} - 58,2356 \text{ g} \\ &= \mathbf{0,0020 \text{ g}} \end{aligned}$$

2. Perhitungan Kadar Abu Ekstrak Etanol Buah Takokak

$$\% \text{Kadar Abu} = \frac{\text{Berat Sesudah} - \text{Berat Kosong}}{\text{Berat Sediaan}} \times 100\%$$

%Kadar Abu Pemanasan Pertama

- a) Berat Kosong : 34,2848 g
 Berat Isi : 36,3039 g
 Berat Sediaan : 2,0191 g
 Berat Sesudah : 34,3796 g

$$\begin{aligned} \%Kadar Abu &= \frac{34,3796 \text{ g} - 34,2848 \text{ g}}{2,0191 \text{ g}} \times 100\% \\ &= \mathbf{4,6952 \%} \end{aligned}$$

Penimbangan Kadar Abu Konstan

- b) Pemanasan Pertama : 34,3819 g
 Pemanasan Kedua : 34,3796 g

$$\begin{aligned} Kadar air &= 34,3819 \text{ g} - 34,3796 \text{ g} \\ &= \mathbf{0,0023 \text{ g}} \end{aligned}$$

Perhitungan Larutan Uji

- Larutan Induk : 100, 1000, 10000 ppm
- Konsentrasi Final Vial : 10, 100, 1000 ppm

1. Larutan Induk 10000 ppm Etanol

$$\begin{aligned} \text{Massa} &= \text{ppm} \times \text{Volume} \\ &= 10000 \text{ mg/L} \times 0,1 \text{ L} \\ &= 1000 \text{ mg} \\ &= 1 \text{ g} \rightarrow 100 \text{ mL} \end{aligned}$$

Diambil 1 g ekstrak etanol dan dilarutkan ad 100 mL air (10000 ppm)

2. Larutan Induk 1000 ppm Etanol

$$V_1, N_1 = V_2, N_2$$

$$10000 \text{ ppm} \times X = 10 \text{ mL} \times 1000 \text{ ppm}$$

$$X = \frac{10000}{10000}$$

$$X = 1 \text{ mL}$$

Diambil 1 mL larutan 10000 ppm dan di ad 10 mL air (1000 ppm)

3. Larutan Induk 100 ppm Etanol

$$V_1, N_1 = V_2, N_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times X = 10 \text{ mL} \times 100 \text{ ppm}$$

$$X = \frac{1000}{1000}$$

$$X = 1 \text{ mL}$$

Diambil 1 mL larutan 1000 ppm dan di ad 10 mL air (100 ppm)

Larutan Induk Etil Asetat

1. Larutan Induk 10000 ppm Etil Asetat

$$\text{Volume} = \text{massa} / \text{ppm}$$

$$= 100 \text{ mg} / 10,000 \text{ mg/L}$$

$$= 0,01 \text{ L (40 mL)}$$

$$= 0,1 \text{ g} \rightarrow 10 \text{ mL}$$

Diambil 0,1 g ekstrak etil asetat dan dilarutkan ad 10 mL air (10000 ppm)

2. Larutan Induk 1000 ppm Etil Asetat

$$V_1, N_1 = V_2, N_2$$

$$10000 \text{ ppm} \times X = 10 \text{ mL} \times 1000 \text{ ppm}$$

$$X = \frac{10000}{10000}$$

$$X = 1 \text{ mL}$$

Diambil 1 mL larutan 10000 ppm dan di ad 10 mL air (1000 ppm)

3. Larutan Induk 100 ppm Etil Asetat

$$V_1, N_1 = V_2, N_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times X = 10 \text{ mL} \times 100 \text{ ppm}$$

$$X = \frac{1000}{1000}$$

$$X = 1 \text{ mL}$$

Diambil 1 mL larutan 1000 ppm dan di ad 10 mL air (100 ppm)

Larutan Induk n-heksan

1. Larutan Induk 10000 ppm n-heksan

$$\text{Massa} = \text{ppm} \times \text{Volume}$$

$$= 700 \text{ mg/L} \times 0,1 \text{ L}$$

$$= 1000 \text{ mg}$$

$$= 1 \text{ g} \rightarrow 100 \text{ mL}$$

Diambil 1 g ekstrak n-heksan dan dilarutkan ad 100 mL air (10000 ppm)

2. Larutan Induk 1000 ppm n-heksan

$$V_1, N_1 = V_2, N_2$$

$$10000 \text{ ppm} \times X = 10 \text{ mL} \times 1000 \text{ ppm}$$

$$X = \frac{10000}{10000}$$

$$X = 1 \text{ mL}$$

Diambil 1 mL larutan 10000 ppm dan di ad 10 mL air (1000 ppm)

3. Larutan Induk 100 ppm n-heksan

$$V_1, N_1 = V_2, N_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times X = 10 \text{ mL} \times 100 \text{ ppm}$$

$$X = \frac{1000}{1000}$$

$$X = 1 \text{ mL}$$

Diambil 1 mL larutan 1000 ppm dan di ad 10 mL air (100 ppm)

Perhitungan Kadar DMSO

Kadar DMSO 2% pada larutan induk 10000 ppm

$$= \frac{2 \text{ mL DMSO } 2\%}{100 \text{ mL aq,dest}} \times 100\%$$

$$= 2\%$$

Perhitungan Penggunaan Suspensi Ragi

$$= 60 \text{ mg}/100 \text{ mL aq,dest}$$

$$1 \text{ mL} = 0,6 \text{ mg ragi}$$

$$1 \text{ mL} = 20 \text{ tetes}$$

$$= \pm 0,03 \text{ mg ragi/tetes}$$

Konsentrasi Final Ekstrak dalam Vial

1. Konsentrasi 1000 ppm

Untuk membuat konsentrasi 1000 ppm dalam vial, maka diambil 1 mL dari larutan konsentrasi 10000 ppm kemudian dimasukan ke dalam vial yang telah dikalibrasi serta diisi 9 mL air laut dan 10 ekor larva udang sehingga konsentrasi final ekstrak akan menjadi 1000 ppm.

$$V_1 \times 10000 \text{ ppm} = 10 \text{ mL} \times 1000 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{10000}{10000}$$

$$\mathbf{V_1 = 1 \text{ mL}}$$

2. Konsentrasi 100 ppm

Untuk membuat konsentrasi 100 ppm dalam vial, maka diambil 1 mL dari larutan konsentrasi 1000 ppm kemudian dimasukkan ke dalam vial yang telah dikalibrasi serta diisi 9 mL air laut dan 10 ekor larva udang sehingga konsentrasi final ekstrak akan menjadi 100 ppm.

$$V_1 \times 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ mL} \times 100 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{1000}{1000}$$

$$\mathbf{V_1 = 1 \text{ mL}}$$

3. Konsentrasi 10 ppm

Untuk membuat konsentrasi 10 ppm dalam vial, maka diambil 1 mL dari larutan konsentrasi 100 ppm kemudian dimasukkan ke dalam vial yang telah dikalibrasi serta diisi 9 mL air laut dan 10 ekor larva udang sehingga konsentrasi final ekstrak akan menjadi 10 ppm.

$$V_1 \times 100 \text{ ppm} = 10 \text{ mL} \times 10 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{100}{100}$$

$$\mathbf{V_1 = 1 \text{ mL}}$$

Lampiran 6. Hasil Pengamatan Kematian Larva

Pelarut	Konsentrasi (ppm)	%Kematian	Larva Mati	Total Larva
Etanol	10	60%	6	10
		70%	7	10
		30%	3	10
	100	70%	7	10
		50%	5	10
		80%	8	10
	1000	100%	10	10
		100%	10	10
		90%	9	10
Estimated LC50 : 188,180 ppm				

Pelarut	Konsentrasi (ppm)	%Kematian	Larva Mati	Total Larva
Etil asetat	10	30%	3	10
		40%	4	10
		20%	2	10
	100	30%	3	10
		50%	5	10
		50%	5	10
	1000	80%	8	10
		70%	7	10
		90%	9	10
Estimated LC50 : 392,196 ppm				

Pelarut	Konsentrasi (ppm)	%Kematian	Larva Mati	Total Larva
n- Heksan	10	10%	1	10
		20%	2	10
		20%	2	10
	100	40%	4	10
		40%	4	10
		20%	2	10
	1000	50%	5	10
		50%	5	10
		70%	7	10
Estimated LC50 : 689,911 ppm				

Lampiran 7. Hasil Perhitungan SPSS Ekstrak Buah Takokak

SPSS Probit Ekstrak Etanol Buah Takokak

Parameter Estimates

Parameter	Estimate	Std. Error	Z	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a Konsentrasi	2.023	.834	2.425	.015	.388	3.659
Intercept	-4.602	2.271	-2.026	.043	-6.874	-2.331

a. PROBIT model: $\text{PROBIT}(p) = \text{Intercept} + \text{BX}$ (Covariates X are transformed using the base 10.000 logarithm.)

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for Konsentrasi			95% Confidence Limits for log(Konsentrasi) ^a		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT .010	13.331	.000	77.392	1.125	-5.457	1.889
.020	18.179	.000	93.331	1.260	-4.762	1.970
.030	22.134	.000	105.273	1.345	-4.322	2.022
.040	25.666	.000	115.368	1.409	-3.991	2.062
.050	28.951	.000	124.379	1.462	-3.722	2.095
.060	32.076	.000	132.678	1.506	-3.493	2.123
.070	35.092	.001	140.478	1.545	-3.293	2.148
.080	38.033	.001	147.913	1.580	-3.114	2.170
.090	40.921	.001	155.075	1.612	-2.951	2.191
.100	43.773	.002	162.030	1.641	-2.802	2.210
.150	57.856	.007	195.122	1.762	-2.184	2.290
.200	72.215	.020	227.569	1.859	-1.696	2.357
.250	87.343	.053	261.198	1.941	-1.280	2.417
.300	103.611	.123	297.423	2.015	-.908	2.473
.350	121.378	.271	337.732	2.084	-.567	2.529
.400	141.047	.566	384.020	2.149	-.247	2.584
.450	163.106	1.144	438.990	2.212	.058	2.642
.500	188.180	2.260	506.833	2.275	.354	2.705
.550	217.109	4.393	594.533	2.337	.643	2.774
.600	251.063	8.445	714.664	2.400	.927	2.854
.650	291.747	16.083	891.922	2.465	1.206	2.950

SPSS Probit Ekstrak Etil Asetat Buah Takokak

Parameter Estimates

	Parameter	Estimate	Std. Error	Z	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a	Konsentrasi	1.417	.681	2.080	.038	.082	2.752
	Intercept	-3.675	1.997	-1.840	.066	-5.673	-1.678

a. PROBIT model: $\text{PROBIT}(p) = \text{Intercept} + \text{BX}$ (Covariates X are transformed using the base 10.000 logarithm.)

Confidence Limits

	Probability	95% Confidence Limits for Konsentrasi			95% Confidence Limits for log(Konsentrasi) ^a		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	.010	8.950	.000	88.217	.952	-30.865	1.946
	.020	13.938	.000	112.234	1.144	-27.535	2.050
	.030	18.461	.000	130.963	1.266	-25.423	2.117
	.040	22.808	.000	147.231	1.358	-23.834	2.168
	.050	27.087	.000	162.067	1.433	-22.542	2.210
	.060	31.357	.000	175.976	1.496	-21.443	2.245
	.070	35.651	.000	189.252	1.552	-20.479	2.277
	.080	39.992	.000	202.084	1.602	-19.617	2.306
	.090	44.398	.000	214.604	1.647	-18.832	2.332
	.100	48.881	.000	226.906	1.689	-18.111	2.356
	.150	72.797	.000	287.321	1.862	-15.125	2.458
	.200	99.905	.000	349.531	2.000	-12.755	2.543
	.250	131.078	.000	417.300	2.118	-10.726	2.620
	.300	167.280	.000	494.608	2.223	-8.908	2.694
	.350	209.696	.000	587.128	2.322	-7.230	2.769
	.400	259.849	.000	704.516	2.415	-5.647	2.848
	.450	319.761	.000	865.798	2.505	-4.127	2.937
.500	392.196	.002	1115.241	2.594	-2.654	3.047	
.550	481.038	.060	1582.143	2.682	-1.222	3.199	
.600	591.950	1.376	2801.382	2.772	.139	3.447	
.650	733.526	20.514	8646.752	2.865	1.312	3.937	

SPSS Probit Ekstrak n-Heksan Buah Takokak

Parameter Estimates

	Parameter	Estimate	Std. Error	Z	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a	Konsentrasi	.644	.721	.893	.372	-.770	2.058
	Intercept	-1.829	2.554	-.716	.474	-4.384	.725

a. PROBIT model: $\text{PROBIT}(p) = \text{Intercept} + \text{BX}$ (Covariates X are transformed using the base 10.000 logarithm.)

Confidence Limits

	Probability	95% Confidence Limits for Konsentrasi			95% Confidence Limits for log(Konsentrasi) ^a		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	.010	.169	.	.	-.771	.	.
	.020	.449	.	.	-.348	.	.
	.030	.832	.	.	-.080	.	.
	.040	1.325	.	.	.122	.	.
	.050	1.933	.	.	.286	.	.
	.060	2.668	.	.	.426	.	.
	.070	3.537	.	.	.549	.	.
	.080	4.554	.	.	.658	.	.
	.090	5.731	.	.	.758	.	.
	.100	7.081	.	.	.850	.	.
	.150	17.001	.	.	1.230	.	.
	.200	34.102	.	.	1.533	.	.
	.250	61.962	.	.	1.792	.	.
	.300	105.934	.	.	2.025	.	.
	.350	174.123	.	.	2.241	.	.
	.400	279.031	.	.	2.446	.	.
	.450	440.345	.	.	2.644	.	.
	.500	689.911	.	.	2.839	.	.
	.550	1080.918	.	.	3.034	.	.
	.600	1705.823	.	.	3.232	.	.
	.650	2733.561	.	.	3.437	.	.

Lampiran 8. Hasil Uji ANOVA SPSS

ANOVA

Kematian

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	154.963	8	19.370	13.075	.000
Within Groups	26.667	18	1.481		
Total	181.630	26			

Lampiran 9. Hasil Uji Lanjut Duncan SPSS

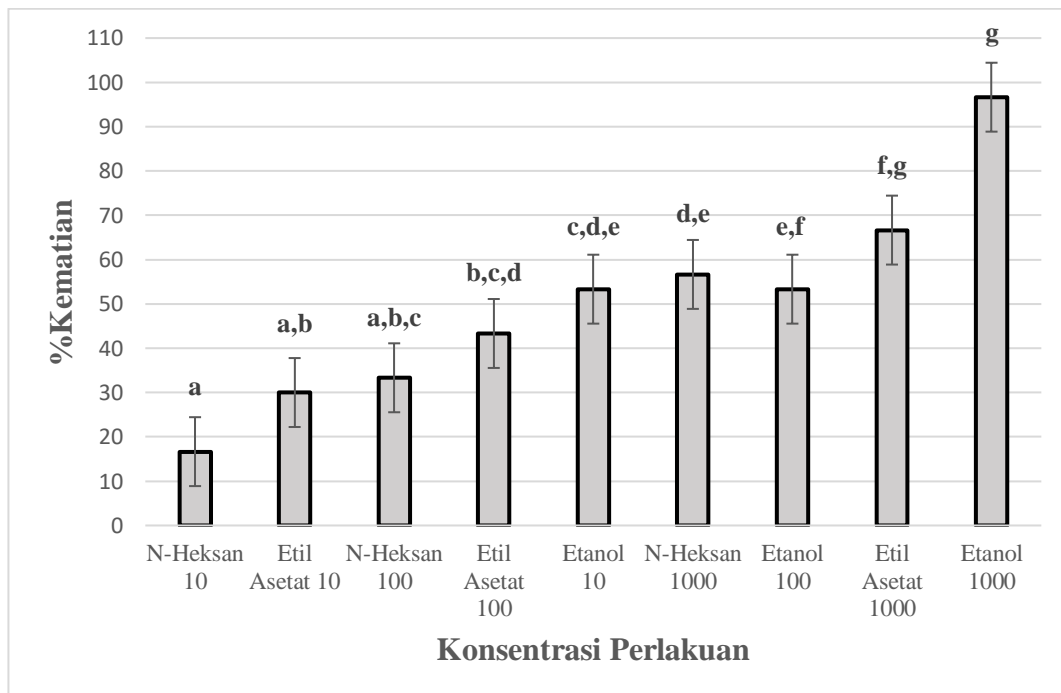
Kematian

		Subset for alpha = 0.05							
	Ekstrak (ppm)	N	a	b	c	d	e	f	g
Duncan ^a	N-Heksan 10	3	1.67						
	Etil Asetat 10	3	3.00	3.00					
	N-Hekan 100	3	3.33	3.33	3.33				
	Etil Asetat 100	3		4.33	4.33	4.33			
	Etanol 10	3			5.33	5.33	5.33		
	N-Heksan 1000	3				5.67	5.67		
	Etanol 100	3					6.67	6.67	
	Etil Asetat 1000	3						8.00	8.00
	Etanol 1000	3							9.67
	Sig.			.129	.220	.071	.220	.220	.196

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Lampiran 10. Grafik %Kematian Larva Terhadap Konsentrasi Perlakuan



Lampiran 11. Tabel Konversi Nilai 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	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.36	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
---	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
99	7.33	7.37	7.41	7.46	7.51	7.58	7.65	7.75	7.88	8.09