

UJI FITOKIMIA DAN TOKSISITAS DARI EKSTRAK DAUN BINTARO
Cerbera odollam Gaerthn Terhadap *Artemia salina* Leach

YENNI ANGRAINI

H411 13 026



DEPARTEMEN BIOLOGI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2017

UJI FITOKIMIA DAN TOKSISITAS DARI EKSTRAK DAUN BINTARO
Cerbera odollam Gaerthn Terhadap Artemia salina Leach

Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana

Biologi pada Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Hasanuddin

YENNI ANGRAINI

H411 13 026

DEPARTEMEN BIOLOGI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2017

HALAMAN PENGESAHAN

UJI FITOKIMIA DAN TOKSISITAS DARI EKSTRAK DAUN BINTARO
Cerbera odollam Gaerthn Terhadap Artemia salina Leach

Disusun dan diajukan oleh :

YENNI ANGRAINI

H411 13 026

Disetujui oleh:

Pembimbing Utama



Dr. Eva Johannes, M.Si
NIP. 196102171 986012001

Pembimbing Pertama



Dr. Hj. Sri Suhadivah, M.Agr
NIP. 195404031988102001

KATA PENGANTAR

puji syukur kehadiran Allah SWT dimana berkat rahmat dan hidayah-NYA, tak lupa pula Sholawat serta salam tetap tercurahkan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW berkat kegigihan beliau kita bisa menghirup udara segar dalam kebenaran dan menunjukkan kita jalan yang lurus yaitu Dinul Islam, serta menghindarkan kita dari kakafiran dan kemunafikan. Sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir skripsi dengan judul “Uji Fitokimia Dan Toksisitas Dari Ekstrak Daun Bintaro *Cerbera odollam* Gaerthn Terhadap *Artemia salina* Leach.” yang merupakan salah satu syarat menyelesaikan studi Strata Satu (S1) Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin. Penulis juga sangat bersyukur selama menjangkan studi di Jurusan Biologi FMIPA Unhas bisa dilalui dengan baik dan maksimal. Tentunya capaian ini terlepas dari dukungan dari bapak/ibu dosen, keluarga, serta teman-teman penulis.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa penulisan karya ilmiah seperti skripsi ini tidaklah mudah, oleh karena itu tidak tertutup kemungkinan dalam penyusunan skripsi ini terdapat kekurangan, sehingga penulis sangat mengharapkan masukan, saran dan kritikan yang bersifat membangun guna kesempurnaan skripsi ini. Proses penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari berbagai rintangan, mulai dari pengumpulan literatur, pelaksanaan penelitian, pengolahan data maupun dalam tahap penulisan. Namun berkat doa, dukungan dan bantuan dari berbagai pihak, akhirnya penulis dapat melewati kendala-kendala tersebut. Oleh karena itu penulis dengan tulus menghaturkan banyak

terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada kedua orang tuaku tercinta Ayahanda H. Maddini dan Ibunda Hj. Nurmiah yang selalu mengingatkan dan menyemangati saat penelitian hingga penyusunan laporan ini selesai. Kepada saudara penulis, Ardian Adhiwijaya, Chandra Arysandi. Dan Eghi Algi Fari, terima kasih untuk kehadiranmu, dukungan dan doa yang selalu ada untuk penulis.

Begitu banyak sukacita yang penulis rasakan selama menyusun skripsi selain keluarga penulis juga mendapat dukungan dari begitu banyak orang, melalui tulisan ini penulis ingin menyampaikan banyak terima kasih dan penghargaan yang tulus kepada:

- Ibu Prof. Dr. Dwia Aries Tina Pulubuhu, MA, selaku rektor Universitas Hasanuddin beserta seluruh staf.
- Bapak Dr. Eng. Amiruddin, selaku Dekan FMIPA Unhas.
- Ibu Dr. Hj. Zohra Hasyim, M.Si selaku Ketua Jurusan Biologi FMIPA Unhas.
- Ibu Dr. Eva Johannes, M.Si selaku Pembimbing Utama yang telah membantu dan mengarahkan penulis hingga penyelesaian skripsi ini.
- Ibu Dr. Hj. Sri Suhadiyah, M.Agr selaku Pembimbing Pertama yang telah membantu dan mengarahkan penulis hingga penyelesaian skripsi ini.
- Bapak/Ibu Dosen dan pegawai Jurusan Biologi yang senantiasa membantu penulis sehingga dapat mencapai gelar sarjana.
- Dr. Sjaranaen, M.Si selaku penasihat akademik dan ketua penguji yang dengan kesungguhan hati memberikan bimbingan dan arahan kepada penulis dari awal hingga akhir studi di Jurusan Biologi.

- Tim Penguji skripsi ibu Magdalena Litaay, M, Sc, Dr. Masniawati, M.Si, Dr. Fahrudin, M.Si dan Dr. Hj. Zohra Hasyim, M.Si yang telah membantu penulis dalam menyempurnakan skripsi melalui kritik dan sarannya.
- Sahabat seperjuangan menyusun skripsi Nursaidah yang walaupun tidak panel, tetapi tetap sama-sama berbagi dan merasakan lika - liku asistensi penelitian hingga kita selesai.
- Sahabat yang kuanggap sebagai saudara sendiri yang senantiasa menemani, mendukung dan meyemangati saya Nurul Khaeriah, Yuliana Sari, S.Si. Terima kasih telah berbagi suka duka selama di kampus.
- Sahabat yang telah mendoakan dan membantu penelitian saya, Supriadi, Tri Sutrisna, dan kanda Amira Mutmainnah yang telah membantu penelitian di laboratorium,
- Kepada teman-teman KKN UNHAS GEL.93 Kec. Pitumpanua Kelurahan Tobarakka, terima kasih telah hadir memberikan cerita dalam canda tawa di kehidupan penulis.
- Kepada MIPA 2013, dan BIO13RIOFIT, terima kasih atas kebersamaan, pengalaman dan semua cerita luar biasa yang telah kita lalui bersama dan menjadi kenangan yang dapat bermanfaat dimasa depan.
- Kepada teman-teman seperjuangan BIOLOGI 13 UNHAS terima kasih untuk kebersamaan dan perjuangannya dari memasuki gerbang perkuliahan sampai menyusun tugas askhir.
- Akhirnya kepada semua pihak yang tak dapat penulis sebutkan namanya satu per satu tak lupa penulis mengucapkan terima kasih atas saran, motivasi dan doanya dalam penyelesaian skripsi ini.

Karya ini penulis persembahkan terkhusus kepada orang tuaku dan keluarga tercinta karena penulis tidak akan sampai pada titik ini tanpa dukungan, doa, kasih sayang, dan perhatian yang selalu tercurah selama penyusunan karya ini.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan demi kesempurnaan penulisan mendatang. Penulis berharap skripsi ini dapat berguna bagi kita semua, bagi perkembangan dunia sains dan teknologi. Sekian dan terima kasih.

Makassar, Juni 2017

Penulis

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian dengan judul uji fitokimia dan toksisitas dari ekstrak daun bintaro *Cerbera odollam* Gaerthn terhadap *Artemia salina* Leach. Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2016 - Maret 2017. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa kimia dari ekstrak daun bintaro *Cerbera odollam* Gaerthn dan toksisitas terhadap *Artemia salina* Leach. Proses ekstraksi dan uji kandungan senyawa kimia bertempat di Laboratorium Fitokimia, Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin, dan uji toksisitas terhadap *Artemia salina* Leach. bertempat di Laboratorium Biokimia Dasar, Departemen Kimia, fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin. Ekstrak daun bintaro diperoleh menggunakan metode maserasi dengan pelarut metanol. Uji fitokimia dilakukan dengan KLT menggunakan gerak toluene-etil asetat (85:15) dan diamati bercak lalu dihitung nilai Rf-nya. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak daun bintaro *Cerbera odollam* Gaerthn mengandung senyawa tanin, flavonoid, alkaloid dan cardenoloid dan hasil uji toksisitas ekstrak daun bintaro *Cerbera odollam* Gaerthn terhadap *Artemia salina* Leach dengan metode Brime Shrimp Lethality Test (BSLT) memiliki nilai LC₅₀ sebesar 12,823 ppm. Dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun bintaro *Cerbera odollam* Gaerthn memiliki bioaktivitas yang tinggi.

Kata kunci: *Cerbera odollam* Gaerthn, KLT, BSLT, *Artemia salina* Leach.

ABSTRACT

The research was conducted with the title ‘The Test of Phytochemistry and Toxicity of Leaf Extract of *Cerbera odollam* Gaerthn toward *Artemia salina* Leach’. This research was conducted on December 2016 – March 2017. This research aims to know the concentration of chemistry compound from the leaf extract of *Cerbera odollam* Gaerthn and toxicity toward *Artemia salina* Leach. The extraction process and the test of chemistry compound’s concentration located at laboratory of phytochemistry, faculty of pharmacy, Hasanuddin university, and the toxicity test toward *Artemia salina* Leach located at laboratory of basic biochemistry, chemistry department, mathematics and natural sciences faculty, Hasanuddin university. Leaf extract of *Cerbera odollam* Gaerthn was obtained with maceration method by using methanol solution, phytochemistry test was conducted with Thin Layer Chromatography (TLC) by using the movement of toluene-ethyl acetate (85:15) and the spotted was observed and its Rf score was counted. The result of phytochemistry test shows that the leaf extract of *Cerbera odollam* Gaerthn contains the compound of tanin, flavonoide, alkaloid and cardenoloide. And the result of toxicity test from leaf extract of *Cerbera odollam* Gaerthn toward *Artemia salina* Leach by using the Brime Shrimp Lethality Test (BSLT) method has LC₅₀ score around 12,823 ppm. It can be concluded that the extract of *Cerbera odollam* Gaerthn has the high bioactivity.

Key words: *Cerbera odollam* Gaerthn, TLC, BSLT, *Artemia salina* Leach.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Tujuan Penelitian	3
I.3 Manfaat Penelitian	3
I.4 Waktu dan Tempat Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1 Bintaro <i>Cerbera odollam</i> Gaerhtn	4
II.1.1 Deskripsi Bintaro <i>Cerbera odollam</i> Gaerhtn	4
II.1.2 Klasifikasi Bintaro <i>Cerbera odollam</i> Gaerhtn	7
II.1.3 Manfaat dan kandungan Bintaro <i>Cerbera odollam</i> Gaerhtn	7
II.2 Maserasi	11
II.3 Fitokimia	12
II.4 Toksisitas dengan Menggunakan Metode Brine Shrimp Letality Test	17
II.5 Penentuan Lethal Concentration (LC ₅₀).....	19
II.6 <i>Artemia salina</i> Leach.	20
II.6.1 Klasifikasi <i>Artemia salina</i> Leach	20
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	24
III.1 Alat	24

III.2 Bahan..	24
III.3 Prosedur Penelitian.....	24
III.3.1 Pengambilan dan Pengolahan Sampel	24
III.3.2 Sterilisasi Alat	25
III.3.3 Ekstraksi Sampel.....	25
III.4 Uji Kandungan Senyawa Bioaktif Daun Bintaro <i>Cerbera Odollam</i> Gaerhtn Dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis	25
III.5 Uji Toksisitas Terhadap <i>Artemia salina</i> Leach dengan Metode BSLT	26
III.5.1 Pembuatan Konsentrasi Ekstrak yang Akan Diuji.....	26
III.5.2 Penetasan Larva <i>Artemia salina</i> Leach.....	26
III.5.3 Procedur Uji Toksistas	27
III.6 Analisis Data	27
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	28
IV.1 Uji Fitokimia dengan Metode KLT	28
IV.2 Uji Toksisitas Terhadap <i>Artemia salina</i> Leach dengan Metode BSLT.....	30
Bab V PENUTUP.....	36
V.1 Kesimpulan.....	36
V.2 Saran	36
DAFTAR PUSTAKA.....	37
LAMPIRAN-LAMPIRAN.....	42

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Tingkat Nilai Toksisitas	20
2. Data Nilai Rf Hasil KLT dengan Peraksi Semprot.	29
3. Hasil Uji Hasil Uji Toksisitas Ekstrak Daun Bintaro <i>Cerbera odollam</i> Gaerthn. dengan Metode BSLT	31

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Bintaro <i>Cerbera odollam</i> Gaerthn.	5
2. Daun (a), Bunga (b).....	6
3. Bagian-bagian Daun Bintaro, (a) Helaian Daun (<i>lamina</i>), (b) Tangkai Daun (<i>petiolus</i>).....	7
4. Struktur Kardenolida.Struktur <i>Deacetyltanghinin</i> (A); Struktur <i>Neriifolin</i> (B) 10	
5. Contoh Struktur Senyawa Flavonoid	14
6. Contoh Struktur Senyawa Alkaloid	15
7. Contoh Struktur Senyawa Tanin	16
8. Struktur Kimia Dua Macam Golongan Saponin	17
9. <i>Artemia salina</i> Leach	20
10. Tahap penetasan telur <i>Artemia</i>	22
11. Morfologi Nauplius <i>Artemia salina</i> Leach	22
12. Hasil KLT Ekstrak Daun Bintaro.....	28
13. Grafik Persentase Mortalitas Larva <i>Artemia salina</i> Leach Pada Uji Toksisitas Ekstrak Daun Bintaro <i>Cerbera odollam</i> Gaerhtn.....	32
14. Grafik Hubungan Nilai Probit Dengan Log Konsentrasi Ekstrak Daun Bintaro <i>Cerbera odollam</i> Gaerthn.....	33

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alur Penelitian	42
2. Skema Kerja Ekstraksi Daun Bintaro <i>Cerbera odollam</i> Gaerthn	43
3. Skema Kerja Uji Toksisitas.....	44
4. Tabel Hasil Pengamatan Uji Toksisitas	45
5. Tabel Probabilitas	46
6. Proses Ekstraksi Daun Bintaro <i>Cerbera odollam</i> Gaerthn	47
7. Uji Toksisitas Ekstrak Daun Bintaro <i>Cerbera odollam</i> Gaerthn Terhadap <i>Artemia salina</i> Leach.....	49

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Pengetahuan tentang khasiat dan keamanan tanaman obat di Indonesia selama ini berdasarkan pengalaman empiris yang diwariskan secara turun temurun dan masih banyak yang belum teruji secara ilmiah, sehingga perlu diteliti lebih lanjut agar dapat digunakan dengan aman dan efektif. Beberapa jenis tanaman mengandung bahan-bahan yang berkhasiat obat, tetapi juga mengandung racun (Kardinan dan Taryono, 2004). Hingga kini pemanfaatan tanaman yang mengandung racun dan obat belum ada batasan yang jelas, sehingga pemanfaatan tanaman obat perlu ekstra hati-hati agar tidak berakibat fatal bagi yang menggunakan.

Tumbuhan bintaro *Cerbera Odollam* Gaerthn. termasuk kedalam ordo Apocynales, familia Apocynaceae. Tanaman ini dikenal sebagai salah satu tanaman tahunan yang banyak digunakan untuk penghijauan, penghias kota, tanaman obat, pestisida nabati, dan sekaligus sebagai bahan baku kerajinan bunga kering. (Rohimatun dan Suriati, 2011).

Bintaro *Cerbera Odollam* Gaerthn memiliki aktivitas biologi, yaitu sitotoksik, antibakteri dan antikonvulsan. Selain itu tanaman ini bersifat sebagai anti-malaria dan digunakan dalam bidang kesehatan seperti minyak biji sebagai obat rematik, sakit kepala, migrain, obat kulit, dan obat sakit mata akibat kontak langsung dengan sinar matahari, sedangkan Di Samoa dan Fiji bintaro digunakan untuk menyembuhkan influenza dan kanker (WHO, 1998).

Menurut (Syarifah et al., 2011) 17 β H- neriifolin diisolasi dari daun *Cerbera odollam* Gaerthn. sebagai agen anti kanker payudara dan ovarium yang potensial, ini menunjukkan aktivitas anti kanker dengan nilai LC_{50} dari 17, 21, 28, 32 dan 24 Nm terhadap MCF7, T47D, SKOV3, CaOV3. Secara tradisional Bintaro digunakan di Malaysia dan Filipina sebagai obat rematik dengan dicampurkan minyak dari buah-buahan. Di Indonesia, minyak yang diperoleh dari biji digunakan sebagai obat pilek, kudis, dan rematik, sedangkan di Burma bintaro digunakan sebagai insektisida atau obat nyamuk bila dicampur dengan minyak lainnya. Kulit, lateks, dan akar digunakan sebagai pencahar dan obat muntah di India (Ling, 2009).

Pada penggunaan bahan baku obat baik terbuat secara alami maupun sintetis, bahan baku obat tersebut dapat dilakukan uji toksistas terlebih dahulu, untuk mengetahui tingkat bioaktivitasnya. Bioaktivitas yang dapat dideteksi dari uji toksistas menggunakan *Artemia salina* Leach diantaranya adalah antikanker, antitumor, anti malaria, anti mikroba, immunosuppressive, dan antifeedant (Colegate dan Molyneux, 2007). Berdasarkan studi yang dilakukan oleh Meyer (1982), senyawa kimia yang mempunyai nilai LC_{50} kurang dari 1000 ppm dikatakan memiliki potensi toksik (Dewi, 2011). Artinya dengan tingkat bioaktivitas yang tinggi perlu dilakukan uji fitokimia untuk mengetahui kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam ekstrak daun bintaro *Cerbera odollam* Gaerthn.

Berdasarkan uraian di atas maka perlu dilakukan penelitian ini sehingga diharapkan dapat diperoleh senyawa kimia dari ekstrak daun bintaro *Cerbera odollam* Gaerthn dan uji toksistas terhadap *Artemia salina* Leach.

I.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa kimia dari ekstrak daun bintaro *Cerbera odollam* Gaerthn dan toksisitas terhadap *Artemia salina* Leach.

I.3 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi informasi ilmiah mengenai manfaat kandungan senyawa kimia dari ekstrak daun bintaro *Cerbera odollam* Gaerthn. yang memiliki bioaktivitas.

I.4 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2016 – Maret 2017, proses ekstraksi dan uji kandungan senyawa kimia bertempat di Laboratorium Fitokimia, Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin, dan uji toksisitas terhadap *Artemia salina* Leach. bertempat di Laboratorium Biokimia Dasar, Departemen Kimia, fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1. Bintaro *Cerbera odollam* Gaerthn.

II.1.1 Deskripsi Bintaro *Cerbera odollam* Gaerthn.

Cerbera Odollam Gaerthn. termasuk kedalam ordo Apocynales, familia Apocynaceae. Di indonesia *Cerbera Odollam* Gaerthn biasanya dinamakan pohon bintaro dan disebut juga kayu susu atau pong-pong. *Cerbera Odollam* Gaerthn berasal dari daerah tropis di Asia, Australia, Madagaskar, dan kepulauan di Samudera Pasifik bagian barat, India Selatan, Srilangka dan Polinesia (Fuji) (Rohimatun dan Suriati, 2011).

Tanaman bintaro *Cerbera odollam* Gaerthn. Merupakan salah satu tanaman mangrove yang dapat tumbuh di tanah yang kurang nutrisi dan tersebar hampir di seluruh wilayah Indonesia. Tanaman bintaro dapat tumbuh hingga 12 meter dengan buah bulat lonjong berwarna hijau yang berdiameter 5–10 cm. (Top Tropicals, 2010). Nama lokal dari Bintaro, antara lain : Buta Badak, Manga Laut, Kayu Gurita, Kanyeri Putih (Bali), Bilutasi (NTT), Wabo (Ambon), Goro-Goro Guwae (Ternate), Madangkapo (minangkabau), Bintan (melayu), Lambuto (Makassar), Goro-goro (Manado) (Rismawati, 2011).

Pohon bintaro memiliki tinggi 4 sampai 20 meter. Tanaman ini banyak tumbuh di dataran rendah sampai tepi pantai dan sangat cocok untuk daerah berpasir. Di beberapa tempat bintaro mampu tumbuh dengan baik pada ketinggian 450 m diatas permukaan laut seperti di areal Agro Widya Wisata Ilmiah Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Aneka Tanaman Industri Parung-kuda – Sukabumi.



Gambar 1. Bintaro *Cerbera odollam* Gaerthn. (Dokumentasi Pribadi, 2017)

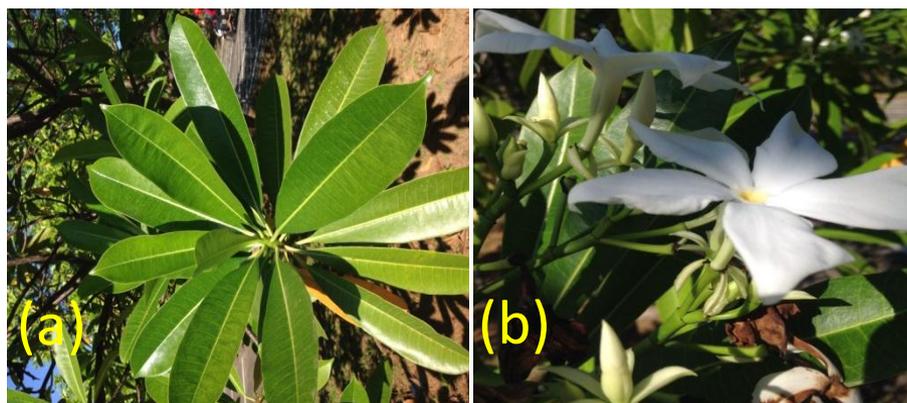
Tanaman Bintaro merupakan tumbuhan berkayu dengan ketinggian 4-6 meter dan banyak percabangan. Batang tegak berkayu dan memiliki akar tunggang. Daun berwarna hijau tua, memanjang, simetris, dan tumpul pada bagian ujung dengan ukuran bervariasi, rata-rata memiliki panjang 25 cm dan lebar 3-5 cm tersusun secara spiral pada ranting dan terkadang daun terkumpul pada ujung ranting sehingga membentuk roset. Bunga berbentuk bulat, berwarna putih. Buah berbentuk bulat, berwarna hijau ketika muda dan berwarna merah ketika masak, lalu akan berwarna kehitaman setelah tua (Pranowo D. 2010).

Daun bintaro berbentuk bulat telur memanjang, simetris, dan menumpul pada bagian ujungnya, berwarna hijau tua mengkilap dengan ukuran panjang bervariasi rata-rata 27 cm dengan susunan daun spiral dan terkumpul pada bagian ujung rosetnya. Bunga banci, aktinomorfi, berbilangan lima, mahkota berlekatan membentuk buluh yang relatif panjang dengan di atas tajuk-tajuk yang dalam kuncup terpuntir ke suatu arah. Mahkota bunga berbentuk terompet/tabung berwarna kuning pada bagian tengahnya dan padat bagian pangkalnya

berwarna merah muda. Buahnya berbentuk bulat telur dengan panjang 5 – 10 cm, buah mudanya berwarna hijau pucat dan setelah tua berwarna merah cerah (Pranowo D. 2010).

Batang bintaro tegak berkayu, bulat dan berbintik-bintik hitam. Kulit kayu halus, berwarna abu-abu dan berlentisel memanjang. Daunnya berbentuk spiral, pangkal daun meruncing, daun kering berwarna hitam, agak berdaging, gundul, panjang, lebar, tulang daun sekunder sebanyak 15-25 pasang, tegak lurus pada ibu tulang daun (Kebler dan Sidiyasa, 2005).

Buah Bintaro terdiri atas tiga lapisan, yaitu lapisan kulit terluar (*epikarp*), lapisan serat seperti sabut kelapa (*mesokarp*), dan bagian biji yang dilapisi oleh kulit biji atau tista (*endokarp*). Bagian *mesokarp* dapat diperas sebagai bahan biopestisida, sedangkan bijinya disamping untuk bahan biopestisida juga dapat diperas untuk menghasilkan minyak nabati sebagai bahan baku pembuatan biodiesel (Pranowo D., 2010).



Gambar 2. Daun (a), Bunga (b),
Sumber :(Dokumentasi Pribadi, 2017).



Gambar 3. Bagian-bagian Daun Bintaro,
(a) Helaian daun (*lamina*), (b) Tangkai daun (*petiolus*)
Sumber : (Dokumentasi Pribadi, 2017).

II.1.2 Klasifikasi Bintaro *Cerbera odollam* Gaerthn

Klasifikasi Tanaman Bintaro *Cerbera odollam* Gaerthn. Sebagai berikut :

Regnum	:Plantae
Divisio	:Spermatophyta
Subdivisio	:Angiospermae
Classis	:Dicotyledoneae
Subclassis	:Sympetalae
Ordo	:Apocynales
Familia	:Apocynaceae
Genus	: <i>Cerbera</i>
Species	: <i>Cerbera odollam</i> Gaerthn.
Sumber	:Gembong Tjitrosoepomo, Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta) 2004

II.1.3 Manfaat dan Kandungan Bintaro *Cerbera odollam* Gaerthn.

Tanaman Bintaro dimanfaatkan sebagai tanaman penghijauan dan kerajinan bunga kering karena Bintaro dikenal mempunyai racun seluruh bagian tanamannya sehingga tidak banyak dimanfaatkan masyarakat dan nilai ekonomisnya masih rendah (Rohimatun dan Suriati, 2011).

Selain bermanfaat dalam penghijauan kota dan penghias taman kota, secara tradisional getahnya sejak dulu dipakai sebagai racun panah/tulup untuk berburu, begitupun buahnya digunakan untuk meracuni ikan, tikus, babi dan anti nyamuk. Sifat beracun dari pohon Bintaro dapat dimanfaatkan sebagai pestisida nabati. Penduduk di Kecamatan Wakarumba, Kabupaten Muna, Sulawesi Tenggara biasa memanfaatkan daun bintaro sebagai obat luka, terbukti beberapa penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun bintaro mempunyai aktivitas anti mikroba. Begitupun daun muda, akar, dan kulit batang bintaro berkhasiat sebagai pencahar. Bijinya mengandung minyak dapat digunakan untuk membuat lilin. Dengan kandungan minyak yang cukup tinggi tersebut, biji bintaro berpotensi untuk dikembangkan sebagai sumber energi alternatif BBM pengganti BBM fosil (Rohimatun dan Suriati, 2011). Seluruh bagian dari pohon binaro memiliki kegunaan dan masih terus dikembangkan hingga saat ini berbagai manfaatnya. Berikut adalah beberapa dari manfaat pohon bintaro (Yoga EP., 2014):

a. Akar

Salah satu manfaat dari bagian akar adalah untuk melancarkan buang air besar atau sebagai obat pencahar.

b. Batang

Selain akar, kulit batang pohon Bintaro bermanfaat juga sebagai obat pencahar. Kulit batang ini juga mengandung zat kimia yaitu flavonoid dan steroid.

c. Daun

Ekstrak daun bintaro memiliki kandungan kimia yang dapat berguna sebagai antikanker payudara dan ovarium berupa 17 β H- neriifolin. Selain itu, bermanfaat juga sebagai obat pencahar. Kandungan lain yang terdapat dalam daun ini yaitu saponin, steroid, dan flavonoid.

d. Buah

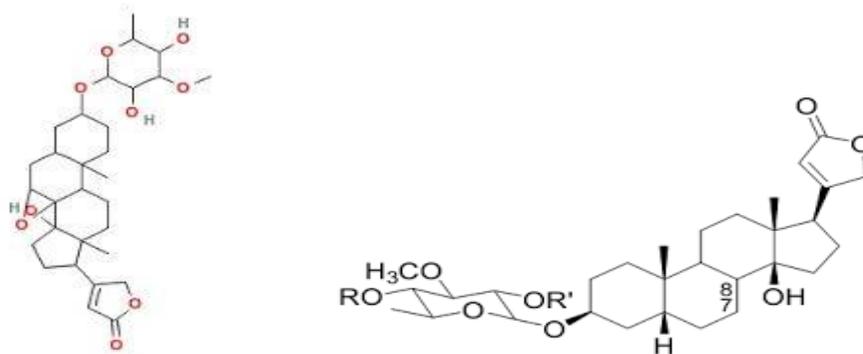
Buah Bintaro memiliki kandungan steroid. Steroid pada tumbuhan memiliki fungsi protektif, misalnya fitoekdison yang memiliki struktur mirip dengan hormon molting serangga. Kandungan steroid dapat menghambat proses molting larva.

Cerbera odollam memiliki senyawa metabolit sekunder, seperti saponin, polifenol, dan alkaloid, serta terpenoid. Senyawa metabolit sekunder yang mengandung N (seperti alkaloid dan saponin) serta senyawa golongan fenol (seperti flavonoid dan tanin) bersifat polar sehingga dapat larut dalam pelarut polar atau semipolar, seperti pelarut methanol. Masing – masing senyawa metabolit sekunder mempunyai daya kerja yang berbeda sebagai insektisida dengan berbagai mekanisme. Tanaman bintaro tersebut dapat dimanfaatkan sebagai alternatif insektisida nabati untuk mengurangi kerugian produk pertanian akibat serangan hama sangat besar terutama pada tanaman pangan dan hortikultura (Sa'diyah, 2013).

Senyawa kimia yang terdapat di dalam ekstrak bintaro mengandung senyawa-senyawa yang mempunyai efek penghambat perkembangan hama tikus. Pada daun, buah, dan kulit batang tanaman bintaro mengandung Saponin, daun dan buahnya mengandung polifenol yang dikenal sangat toksik terhadap serangga

dan bisa menghambat aktifitas makan hama, dan kulit batangnya mengandung Tanin (Salleh, 1997).

Spesies *Cerbera* diketahui mengandung serangkaian glikosida jantung dari jenis *cardenolide*. Biji berisi *cardenolide* berasal dari *tanghinigeninaglycones* dan *digitoxigenin*, seperti *cerberin*, *neriifolin*, dan *thetevin B*. *Cardenolide* utama yang terkandung dalam kulit kayu dan akar adalah *gentiobiosyl-thetevoside* dan *thetevosideglucosyl*. *Cardenolide* di daun adalah *neriifolin* dan *deacetyltanghinin* (Kuddus, 2001). Selain glikosida jantung, pada daun, buah dan kulit batang mengandung saponin. Daun dan buahnya juga mengandung polifenol, disamping itu kulit batangnya mengandung tanin (Salleh, 1997; Tarmadi *et al.*, 2007). Akar bintaro mengandung saponin, tanin, steroid, dan flavonoid (Rahman *et al.*, 2011). *Tanghinigenin* adalah suatu glikosida jantung yang terisolasi dari biji *Cerbera manghas*. Ekstrak metanol daun bintaro mengandung alkaloid, tanin, dan saponin (Ahmad *et al.*, 2008).



A **B**
Gambar 4. Struktur Kardenolida
Struktur *Deacetyltanghinin* (A); Struktur *Neriifolin* (B)
Sumber : Wulandary, 2014.

II.2 Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Maserasi bertujuan untuk menarik zat-zat berkhasiat yang tahan pemanasan maupun yang tidak tahan pemanasan. Secara teknologi maserasi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada kesinambungan. Maserasi dilakukan dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan atau kamar (Depkes RI, 2000).

Maserasi berasal dari bahasa latin *Maceraceae* berarti mengairi dan melunakkan. Maserasi merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana. Dasar dari maserasi adalah melarutkan bahan kandungan simplisia dari sel yang rusak, yang terbentuk pada saat penghalusan, ekstraksi (difusi) bahan kandungan dari sel yang masih utuh. Setelah selesai waktu maserasi, artinya keseimbangan antara bahan yang diekstraksi pada bagian dalam sel dengan masuk kedalam cairan, telah tercapai maka proses difusi segera berakhir. Selama maserasi atau proses perendaman dilakukan pengocokan berulang-ulang. Upaya ini menjamin keseimbangan konsentrasi bahan ekstraksi yang lebih cepat dalam cairan. Sedangkan keadaan diam selama maserasi menyebabkan turunnya perpindahan aktif. Secara teoretis pada suatu maserasi tidak memungkinkan terjadinya ekstraksi absolut. Semakin besar perbandingan simplisia terhadap cairan pengekstraksi, akan semakin banyak hasil yang diperoleh (Istiqomah, 2013).

Kerugiannya adalah pengerjaannya lama dan penyaringan kurang sempurna. Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengulangan

penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya (Depkes RI, 2000).

Maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi sederhana yang paling banyak digunakan khususnya untuk mengekstrak senyawa yang lebih polar. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif dan zat akan larut. Simplisia yang akan diekstraksi ditempatkan pada wadah atau bejana yang bermulut lebar bersama larutan penyari yang telah ditetapkan, bejana ditutup rapat kemudian dikocok berulang-ulang sehingga memungkinkan pelarut masuk ke seluruh permukaan simplisia. Rendaman tersebut disimpan terlindung dari cahaya langsung untuk mencegah reaksi yang dikatalis oleh cahaya atau perubahan warna. Waktu maserasi bervariasi antara 15-30 menit tetapi kadang-kadang bisa sampai 24 jam. Jumlah pelarut yang diperlukan juga cukup besar, berkisar antara 10-20 kali jumlah sampel (Krisdayanti dkk., 2008).

II.3 Fitokimia

Fitokimia merupakan ilmu pengetahuan yang menguraikan aspek kimia suatu tanaman. Kajian fitokimia meliputi uraian yang mencakup aneka ragam senyawa organik yang dibentuk dan disimpan oleh organisme, yaitu struktur kimianya, biosintesisnya, perubahan serta metabolismenya, penyebarannya secara alamiah dan fungsi biologisnya, isolasi dan perbandingan komposisi senyawa kimia dari bermacam-macam jenis tanaman (Harborne, 1987; Sirait, 2007).

Dalam perkembangannya senyawa metabolit sekunder tersebut dipelajari dalam disiplin ilmu tersendiri yaitu kimia bahan alam (*natural product chemistry*).

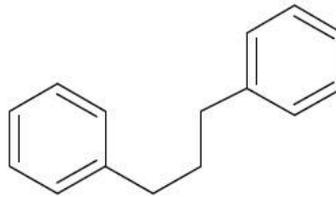
Contoh metabolit sekunder adalah antibiotik, pigmen, toksik, efektor kompetisi ekologi dan simbiosis, feromon, inhibitor enzim, agen immunomodulasi, reseptor antagonis dan agonis, pestisida, agen antitumor, dan promotor pertumbuhan binatang dan tumbuhan. Identifikasi kandungan metabolit sekunder merupakan langkah awal yang penting dalam penelitian pencarian senyawa bioaktif baru dari bahan alam yang dapat menjadi prekursor bagi sintesis obat baru atau prototipe obat beraktivitas tertentu. Identifikasi ini merupakan uji fitokimia. Uji yang dilakukan antara lain uji flavonoid, senyawa fenolik, alkaloid, saponin, tanin dan terpenoid (Harbone, 1987).

a. Flavonoid

Flavonoid merupakan golongan fenol terbesar yang senyawa yang terdiri dari C₆-C₃-C₆ dan sering ditemukan diberbagai macam tumbuhan dalam bentuk glikosida atau gugusan gula bersenyawa pada satu atau lebih grup hidroksil fenolik (Sirait, 2007; Bhat et al., 2009). Flavonoid merupakan golongan metabolit sekunder yang disintesis dari asam piruvat melalui metabolisme asam amino (Bhat et al., 2009). Flavonoid adalah senyawa fenol, sehingga warnanya berubah bila ditambah basa atau amoniak. Terdapat sekitar 10 jenis flavonoid yaitu antosianin, proantosianidin, flavonol, flavon, glikoflavon, biflavonil, khalkon, auron, flavanon, dan isoflavon (Harborne, 1987).

Flavonoid adalah golongan pigmen organik yang tidak mengandung molekul nitrogen. Kombinasi dari berbagai macam pigmen ini membentuk pigmentasi pada daun, bunga, buah dan biji tanaman. Pigmen ini merupakan antraktan bagi serangga dan merupakan agen polinasi. Pigmen juga bermanfaat bagi manusia dan salah satu manfaat yang penting adalah sebagai antioksidan

(Bhat et al., 2009). Bagi manusia, flavon dalam dosis kecil bekerja sebagai stimulan pada jantung dan pembuluh darah kapiler, sebagai diuretic dan antioksidan pada lemak (Sirait, 2007).

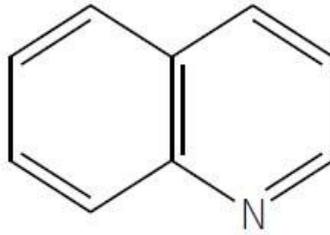


Gambar 5. Contoh Struktur Senyawa Flavonoid (Robinson, 1995)

b. Alkaloid

Alkaloid merupakan golongan zat tumbuhan sekunder yang terbesar. Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme yang diduga adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Robinson, 1995).

Alkaloid merupakan metabolit sekunder terbesar yang banyak ditemukan pada tumbuhan tingkat tinggi dan mempunyai susunan basa nitrogen, yaitu satu atau 2 atom nitrogen (Harborne, 1987; Bhat et al., 2009). Alkaloid sering beracun bagi manusia dan mempunyai efek fisiologis yang menonjol, sehingga sering digunakan untuk pengobatan (Harborne, 1987). Fungsi alkaloid pada tumbuhan yakni sebagai zat beracun untuk melawan serangga atau hewan pemakan tumbuhan, faktor pengatur tubuh, substansi cadangan untuk memenuhi kebutuhan nitrogen dan elemen-elemen lainnya yang penting bagi tumbuhan. Sedangkan dalam pengobatan, alkaloid memberikan efek fisiologis pada susunan syaraf pusat (obat anti rasa sakit dan obat tidur) (Sumiwi, 1992).



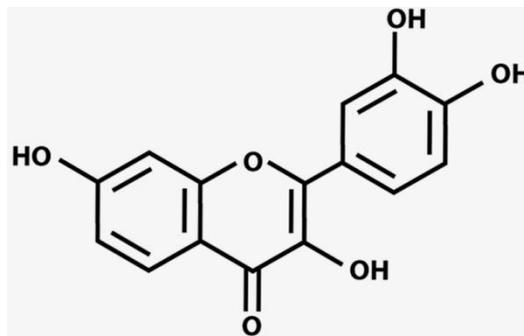
Gambar 6. Contoh Struktur Senyawa Alkaloid (Robinson, 1995)

c. Tanin

Tanin merupakan senyawa umum yang terdapat dalam tumbuhan berpembuluh, memiliki gugus fenol, memiliki rasa sepat dan mampu menyamak kulit karena kemampuannya menyambung silang protein. Jika bereaksi dengan protein membentuk kopolimer mantap yang tidak larut dalam air. Tanin secara kimia dikelompokkan menjadi dua golongan yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis. Tanin terkondensasi atau flavolan secara biosintesis dapat dianggap terbentuk dengan cara kondensasi katekin tunggal yang membentuk senyawa dimer dan kemudian oligamer yang lebih tinggi. Tanin terhidrolisis mengandung ikatan ester yang dapat terhidrolisis jika dididihkan dalam asam klorida encer. (Harborne, 1987).

Nama lainnya adalah proantosianidin karena bila direaksikan dengan asam panas, beberapa ikatan karbon-karbon penghubung satuan terputus dan dibebaskanlah monomer antosianidin. Kebanyakan proantosianidin adalah prosianidin karena bila direaksikan dengan asam akan menghasilkan sianidin. Proantosianidin dapat dideteksi langsung dengan mencelupkan jaringan tumbuhan ke dalam HCl 2M mendidih selama setengah jam yang akan menghasilkan warna merah yang dapat diekstraksi dengan amil atau butil alkohol. Bila digunakan jaringan kering, hasil tanin agak berkurang karena terjadinya

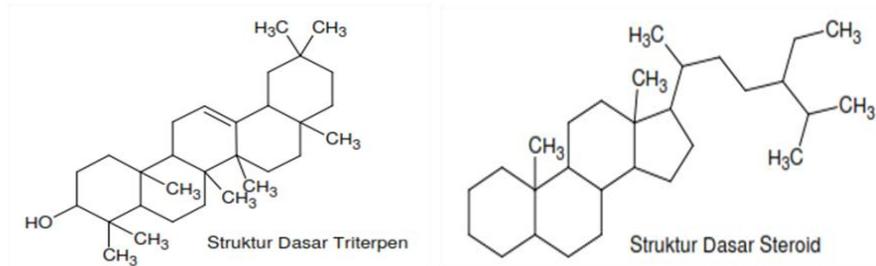
pelekatan tanin pada tempatnya didalam sel. Terbatas pada tumbuhan berkeping dua. Terutama terdiri atas dua kelas, yang paling sederhana adalah depsida galoiglukosa. Pada senyawa ini glukosa dikelilingi oleh lima gugus ester galoil atau lebih. Jenis kedua, inti molekul berupa senyawa dimer asam galat, yaitu asam heksahidroksidifenat yang berikatan dengan glukosa. Bila dihidrolisis menghasilkan asam angelat. Cara deteksi tanin terhidrolisis adalah dengan mengidentifikasi asam galat/asam elagat dalam ekstrak eter atau etil asetat yang dipekatkan (Harborne, 1987).



Gambar 7. Contoh Struktur Senyawa Tanin (Hagerman, 2002).

d. Saponin

Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat yang menimbulkan busa jika dikocok dengan air dan pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah. Dalam larutan yang sangat encer saponin sangat beracun untuk ikan, dan tumbuhan yang mengandung saponin telah digunakan sebagai racun ikan selama beratus-ratus tahun. Beberapa saponin telah bekerja sebagai antimikroba (Robinson, 1995).



Gambar 8. Struktur Kimia Dua Macam Golongan Saponin (Robinson, 1995).

II.4 Toksisitas dengan Menggunakan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

Uji toksisitas merupakan salah satu uji aktivitas biologi terhadap ekstrak atau fraksi isolat tanaman dengan mengamati respon kematian pada hewan percobaan. Hewan percobaan untuk uji toksisitas biasanya menggunakan ikan, larva nyamuk dan larva udang. Kematian dari hewan percobaan dianggap sebagai respon terhadap pengaruh senyawa tertentu (Dewi, 2011).

Metode pengujian BSLT dengan menggunakan *Artemia salina* adalah pengujian hewan secara umum yang dapat mendeteksi beberapa bioaktivitas dalam suatu ekstrak. Pengujian ini memiliki korelasi dengan daya sitotoksik senyawa-senyawa antikanker, sehingga sering dilakukan untuk skrining awal pencarian senyawa antikanker. Metode ini dikenal sebagai metode yang cepat, mudah, murah, dan hasilnya dapat dipertanggungjawabkan. Sifat sitotoksik dapat diketahui berdasarkan jumlah kematian larva pada konsentrasi tertentu. Suatu ekstrak dikatakan toksik jika memiliki nilai LC₅₀ (Konsentrasi yang mampu membunuh 50% larva udang) kurang dari 1000 µg/ml setelah waktu kontak 24 jam (Meyer, dkk., 1982)

Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) merupakan pengujian hewan secara umum yang dapat mendeteksi beberapa bioaktivitas dalam suatu ekstrak. Bioaktivitas yang dapat dideteksi dari skrining awal dengan metode BSLT diantaranya adalah antikanker, antitumor, anti malaria, anti mikroba, immunosuppressive, antifeedant dan residu pestisida (Colegate dan Molyneux, 2007). Metode pengujian BSLT menggunakan *Artemia salina* L. Dianggap dapat memprediksikan adanya daya sitotoksik senyawa-senyawa antikanker sehingga sering digunakan untuk skrining awal pencarian senyawa antikanker (Suryanti, 2015).

Uji toksisitas dapat dilakukan dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) terhadap *Artemia salina* Leach. (Tampungan, dkk., 2011). Uji ini menggunakan media air laut (*Brine = Saline*) (Harmita dan Maksam, 2008). *Artemia salina* Leach. Digunakan sebagai hewan uji toksisitas karena telur *Artemia salina* Leach. Dapat bertahan lama dalam kondisi kering dan dapat disimpan cukup lama.

Pengujian toksisitas senyawa dalam farmakologi membutuhkan waktu yang cukup lama untuk mengetahui efeknya terhadap manusia. Uji toksisitas tahap awal dilakukan untuk mengetahui dosis atau konsentrasi (LD_{50} dan LC_{50}) yang biasanya diujikan terhadap organisme akuatik. Parameter yang digunakan dalam uji adalah efek toksikan (respon) terhadap hewan uji yang dapat dilihat hanya berupa immobilisasi yang dianggap sebagai kematian untuk hewan uji seperti *Artemia salina* Leach. Uji toksisitas pada hewan uji dimaksudkan untuk ekstrapolasi hasil terhadap manusia untuk mencari dosis yang aman (Soemirat, 2005).

II. 5 Penentuan Lethal Concentration (LC₅₀)

Kadar racun suatu kimia dapat dinyatakan dengan istilah LC₅₀. Penentuan LC₅₀ merupakan tahap awal untuk mengetahui keamanan bahan yang akan digunakan manusia dengan menentukan besarnya konsentrasi yang menyebabkan mortalitas 50% pada larva uji setelah pemberian konsentrasi tunggal (Soemardji, dkk., 2002). Suatu senyawa akan menunjukkan aktivitas ketoksikan dalam BLST jika ekstrak tersebut dapat menyebabkan kematian 50% hewan uji pada konsentrasi kurang dari 1000 ppm (Jayanti, dkk., 2009).

Tingkat toksisitas suatu ekstrak antara lain $LC_{50} \leq 30$ ppm dikatakan sangat toksik, $31 \text{ ppm} \leq LC_{50} \leq 1000$ ppm dikatakan toksik, dan $LC_{50} > 1000$ ppm dikatakan tidak toksik. Senyawa bioaktif hampir selalu toksik pada dosis tinggi (Lenny, 2006). Sebagaimana hasil penelitian Nurhayati, dkk., (2006) melakukan uji toksisitas ekstrak *Euchema alvarezii* terhadap *Artemia salina* Leach. Sebagai study pendahuluan potensi antikanker menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi yang digunakan semakin tinggi persentase kematiannya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi yang digunakan semakin tinggi persentase kematiannya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada konsentrasi 0 ppm persentase kematian sebesar 10%, 1 ppm persentase kematian sebesar 24 %, 10 ppm persentase kematian sebesar 48%, 100 ppm persentase kematian sebesar 58%, 1000 ppm persentase kematian sebesar 60 %.

Tabel 1. Tingkat Nilai Toksisitas (Anderson, 1991).

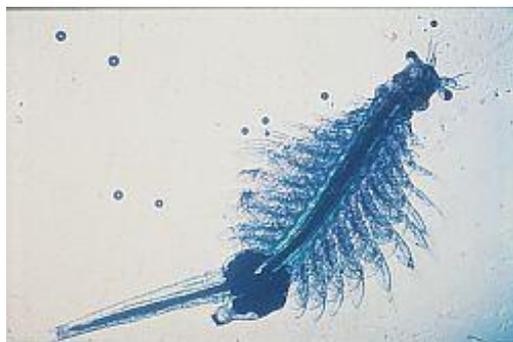
No.	Nilai LC ₅₀ (µg/mL)	Tingkat Toksisitas
1	0-250	Sangat Toksik
2	250-500	Toksik
3	500-750	Sedang
4	750-1000	Tidak Toksik

II. 6 *Artemia salina* Leach.

II.6 .1 Klasifikasi *Artemia salina* Leach.

Klasifikasi *Artemia salina* Leach. (Asem A, dkk., 2010) :

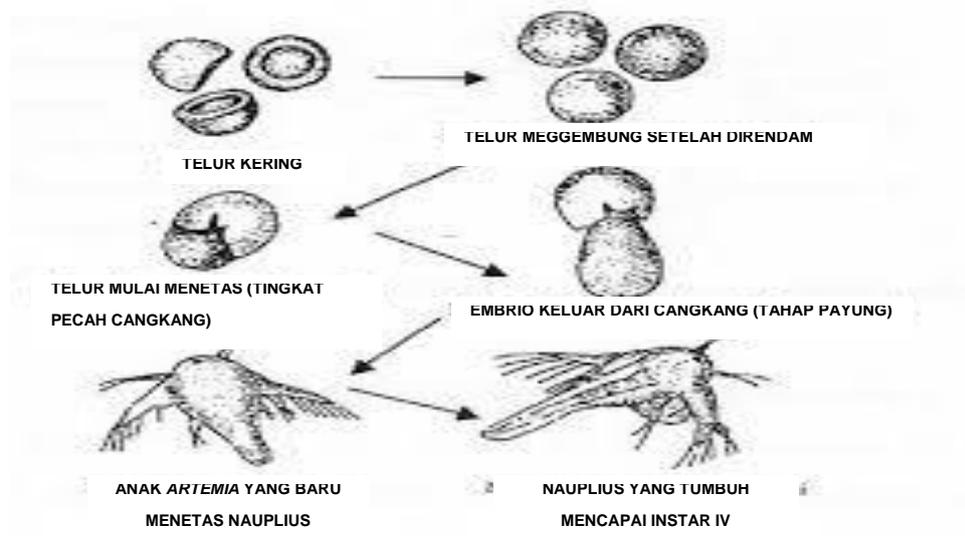
Kingdom :Animalia
Phylum : Arthropoda
Class : Crustacea
Subclass : Branchiopoda
Ordo : Anostraca
Family : Artemiidae
Genus : *Artemia*
Spesies : *Artemia salina* Leach.



Gambar 9. *A. salina* Leach. (Abatzopoulos *et al.*, 1996)

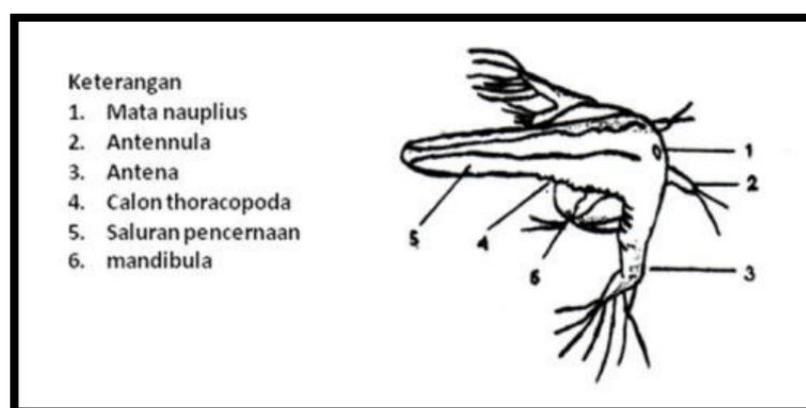
Artemia salina Leach. dewasa memiliki panjang tubuh umumnya sekitar 8-10 mm bahkan mencapai 15 mm tergantung lingkungan. Tubuhnya memanjang terdiri sedikitnya 20 segmen dan dilengkapi kira-kira 10 pasang *phyllopodia* pipih, yaitu bagian tubuh yang menyerupai daun yang bergerak dengan ritme teratur *Artemia salina* Leach. dewasa berwarna putih pucat, merah muda, hijau, atau transparan dan biasanya hanya hidup beberapa bulan. Memiliki mulut dan sepasang mata pada antenanya (Emslie, 2003). Telur *A. salina* Leach. berbentuk bulat berlekuk dalam keadaan kering dan bulat penuh dalam keadaan basah. Warnanya coklat dan diselubungi oleh cangkang yang tebal dan kuat. Cangkang ini berfungsi untuk melindungi embrio terhadap pengaruh kekeringan, benturan keras, sinar ultraviolet dan mempermudah pengapungan (Opinion, 2008).

Secara umum memiliki 3 fase yaitu fase telur, larva (naupli) dan artemia dewasa. Telur *Artemia salina* Leach. Atau biasa disebut kista memiliki bentuk bulat dengan ukuran 0,2-0,3 mm. Kemudian akan berubah menjadi larva. Telur yang memiliki kualitas yang baik akan menetas setelah dimasukkan ke dalam air laut atau air dengan kadar garam yang tinggi selama 18-24 jam (Reskianingsih, 2014).



Gambar 10. Tahap penetasan telur Artemia (Reskianingsih, 2014).

Artemia yang baru menetas disebut nauplius, berwarna orange kecoklatan karena mengandung kuning telur, berbentuk bulat lonjong dengan panjang sekitar 400 mikron, lebar 170 mikron, dan berat 0,002 mg, pada fase ini nauplius tidak makan, karena mulut dan anusnya belum terbentuk dengan sempurna. Nauplius berangsur-angsur mengalami perkembangan dan perubahan morfologis dengan 15 kali pergantian kulit hingga menjadi dewasa. Pada saat pergantian kulit disebut dengan *instar*. Lalu kemudian setelah 12-24 jam menetas, para naupli ini akan melakukan pembelahan menjadi tahap instar II dan memulai makan.



Gambar 11 .Morfologi Nauplius *Artemia salina* Leach. (Fathiyawati, 2008).

Artemia salina Leach. memiliki resistensi luar biasa pada perubahan dan mampu hidup pada variasi salinitas air yang luas dari *seawater* (2.9-3.5%) sampai *the great salt lake* (25-35%), dan masih dapat bertoleransi pada kadar garam 50% (jenuh). Beberapa ditemukan di rawa asin hanya pada pedalaman bukit pasir pantai, dan tidak pernah ditemui di lautan itu sendiri karena di lautan terlalu banyak predator. *Artemia salina* Leach. juga mendiami kolom-kolom evaporasi buatan manusia yang biasa digunakan untuk mendapatkan garam dari lautan. Insang membantunya agar cocok dengan kadar garam tinggi dengan absorpsi dan ekskresi ion-ion yang dibutuhkan dan menghasilkan urin pekat dari *glandula maxillaris*. Hidup pada variasi temperatur air yang tinggi pula, dari 6-37°C dengan temperatur optimal untuk reproduksi pada 25°C (suhu kamar). Keberhasilan hidup pada lokasi berkadar garam tinggi adalah sedikitnya predator namun sumber makanannya sedikit (Artemia Reference Center, 2007).

BAB III

METODE PENELITIAN

III.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: toples kaca, batang pengaduk, spatula, *drying oven*, gelas ukur, evaporator, corong, lup, aerator air pump, *rotary vacuum evaporator*, timbangan, neraca analitik, pipa kapiler, chamber, micropipet, disposable tips, labu ukur, gelas kimia, tabung reaksi, rak tabung, erlenmeyer, pisau, gunting, dan lampu.

III.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian yaitu : Daun Bintaro *Cerbera odollam* Gaerthn, kertas saring, aluminium foil, kertas saring, air laut, metanol, aquadest, DMSO(Dimetil Sulfoksida), NaOCl 12%, FeCl₃, sitroborat, Dragendorff, SbCl₃, toluene, etil asetat, lempeng KLT, aquades, telur *Artemia salina* Leach, air laut, dan ragi sebagai pakan larva udang.

III.3 Prosedur Penelitian

III.3.1 Pengambilan dan pengolahan sampel

Bahan Daun Bintaro *Cerbera odollam* Gaerthn. di peroleh dari kompleks perumahan tanjung bunga, Makassar, Sulawesi Selatan. Setelah itu daun Bintaro *Cerbera odollam* Gaerthn. dipotong-potong kecil lalu dikeringkan dengan cara dikering anginkan sampai beberapa hari.

III.3.2 Sterilisasi Alat

Untuk sterilisasi alat digunakan *drying oven* dengan suhu 170⁰-180⁰ selama 2 jam. Hal ini bertujuan agar alat-alat yang digunakan bebas dari mikroorganisme.

III.3.3 Ekstraksi sampel

a. Metode Ekstrak Maserasi

Metode yang digunakan adalah metode eksperimental dengan memasukkan 500 gram serbuk daun Bintaro *Cerbera odollam* Gaerthn kedalam wadah yang tertutup, tambahkan 500 mL larutan metanol yang sebelumnya telah di destilasi (1:3) dan direndam selama 1x24 jam. Kemudian didiamkan dan disaring menggunakan kertas saring. Ampas yang di dapat kemudian di maserasi kembali dan diulang sebanyak 3 kali pengulangan.

b. Metode Penguapan dengan Proses rotary evaporator

Pelarut diuapkan dari ekstrak kental dengan menggunakan alat *Rotary Vacuum Evaporator* hingga diperoleh ekstrak metanol dengan berbentuk pasta.

III.4. Uji kandungan senyawa bioaktif Daun Bintaro *Cerbera odollam* Gaerthn. Dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

a. Persiapan Lempeng KLT dan sampel

Aktifkan lempeng KLT pada di oven suhu 105-110⁰C selama 1 jam
Gunting lempeng dengan ukuran 1 x 7 cm lalu Tandai batas bawah lempeng dengan pensil pada jarak 1 cm dan 0,5 cm pada batas atas. Larutkan sampel dengan pelarut metanol sampai diperoleh kepekatan yang sesuai Masukkan fase gerak/eluen toluene:etil asetat (85:15 kedalam chamber sampai kira-kira ketinggian kurang dari 1 cm.

b. Identifikasi KLT

Totolkan ekstrak sampel pada batas bawah lempeng dengan menggunakan pipa kapiler. Masukkan ke dalam chamber yang telah dijenuhkan dengan eluen. Biarkan lempeng terelusi sampai batas atas, kemudian angkat dan keringkan. Amati noda yang muncul dengan menggunakan penampak noda lampu UV 254/366 nm. Catat warna noda yang muncul dan hitung nilai Rf-nya

III.5 Uji toksisitas terhadap *Artemia salina* Leach. dengan metode BSLT

III.5.1 Pembuatan Konsentrasi Ekstrak yang Akan Diuji

Ekstrak kental daun bintaro *Cerbera odollam* Gaerthn. ditimbang dengan menggunakan neraca analitik hingga mencapai berat 500 gram. Larutan induk dibuat dengan melarutkan ekstrak dengan DMSO sebanyak 10 ml.

Kemudian dibuat larutan uji dengan konsentrasi 1000 ppm, 100 ppm, 10 ppm dengan cara pengenceran. Untuk konsentrasi 1000 ppm, larutan induk dipipet sebanyak 1 mL ke dalam vial uji dan ditambahkan air laut sebanyak 4 mL. Konsentrasi 100, ppm larutan induk dipipet sebanyak 0,1 mL ke dalam vial uji dan ditambahkan air laut sebanyak 4,9 mL. Konsentrasi 10 ppm, laruta induk dipiet sebanyak 0,01 mL ke dalam vial dan ditambahka air laut sebanyak 4,99 mL. Serta kontrol DMSO dibuat dengan konsentrasi yang sama.

III.5.2 Penetasan Larva *Artemia salina* Leach.

Sebanyak 20 mg telur *Artemia salina* Leach dilarutkan kedalam NaOCl kemudian diaduk lalu disaring menggunakan kertas saring. Telur *Artemia salina* Leach dimasukkan ke dalam wadah berisi air laut di bawah cahaya lampu dan dilengkapi dengan aerator. Telur *Artemia salina* Leach akan menetas dan menjadi

larva setelah 48 jam. Larva yang digunakan pada penelitian ini adalah larva yang masih aktif bergerak dan berusia 48 jam.

III.5.3 Procedur Uji Toksistas

10 ekor larva udang di masukkan kedalam masing-masing vial yang berisi sampel dengan berbagai konsentrasi. Dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali untuk masing-masing perlakuan dan kontrol. Selanjutnya semua vial didiamkan di bawah lampu selama 24 jam. Jumlah *Artemia salina* Leach yang mati pada vial dihitung untuk menentukan persentase kematiannya.

III.6 Analisis Data

Pengujian efek toksik dihitung dengan menggunakan nilai LC_{50} . Nilai LC_{50} diperoleh dengan terlebih dahulu menghitung persentase mortalitas hewan uji setelah 24 jam dengan cara :

$$\%Larva = \frac{\text{Jumlah larva yang mati}}{\text{Jumlah larva uji}} \times 100\%$$

Selanjutnya dicari angka probit melalui tabel probit dan dibuat grafik dengan log konsentrasi sebagai sumbu x terhadap persentase mortalitas dalam satuan probit sebagai sumbu y. Nilai LC_{50} merupakan konsentrasi dimana suatu zat menyebabkan kematian 50 % hewan uji yang di peroleh dengan menggunakan persamaan linear $y = mx + b$. Suatu zat dikatakan aktif atau toksik bila nanti LC_{50} kurang dari 1000 ppm.

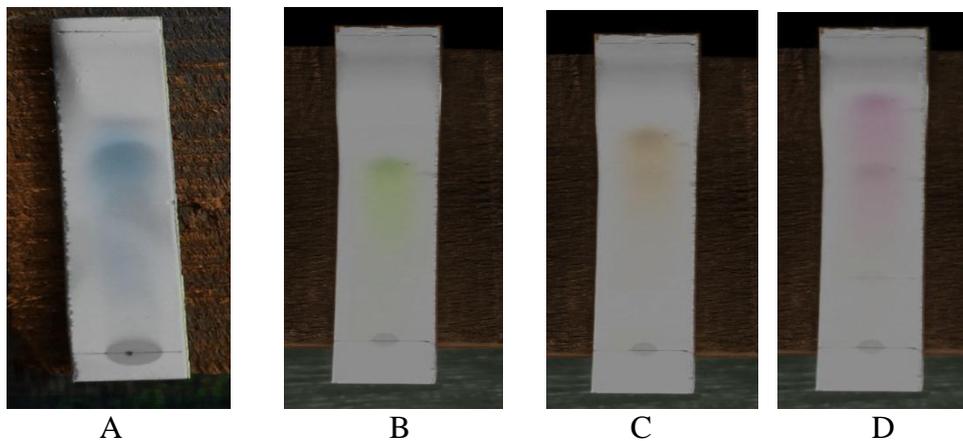
BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

V.1 Uji Fitokimia Dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Uji fitokimia menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yang dilakukan merupakan langkah untuk mengetahui senyawa apa saja yang terdapat di dalam ekstrak daun bintaro. Uji didahului dengan pemilihan fase gerak yang cocok untuk mendapatkan hasil pemisahan yang baik. Hasil pemisahan terbaik terdapat pada fase gerak toluen:etil asetat (85:15) dengan fase diam silica gel dan jarak pengembangannya 6 cm yang sebelumnya diaktifkan dulu dalam oven selama 1 jam pada suhu 110°C.

Plat Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yang sudah aktif ditotol dengan sampel ekstrak daun bintaro dan dielusi kemudian disemprot menggunakan pereaksi semprot untuk mendeteksi jenis senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak daun bintaro. Pereaksi semprot yang digunakan adalah sitroborat, Dragendorff, dan SbCl₃. Hasil deteksi bercak dengan reagent semprot tersebut dapat diamati pada gambar di bawah ini:



Gambar 12 . Hasil KLT Ekstrak Daun Bintaro, A: uji tanin, B: uji flavonoid, C: uji alkaloid, D: uji cardenoloid

Tabel 2. Data Nilai Rf Hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan pereaksi semprot

Deteksi Pereaksi Semprot						
No	Rf	FeCl₃	Sitroborat	Dragendorff	SbCl₃	Senyawa
1	0,52	Biru	-	-	-	Tanin
2	0,48	-	Hijau kekuningan	-	-	Flavonoid
3	0,54	-	-	Kuning kecoklatan	-	Alkaloid
4	0,50	-	-	-	Ungu muda	cardenoloid

Pereaksi semprot yang digunakan dalam penelitian ini adalah FeCl₃ untuk deteksi senyawa tanin, sitoborat untuk deteksi flavonoid. dragendorff untuk identifikasi golongan alkaloid. Tanin ditunjukkan dengan bercak berwarna biru , pada Rf: 0,52. Flavonoid ditunjukkan dengan bercak hijau kekuningan pada Rf: 0,48. Alkaloid ditunjukkan dengan bercak kuning kecoklatan pada Rf: 0,54. Cardenolid ditunjukkan dengan bercak Ungu muda pada Rf: 0,50. pereaksi semprot SbCl₃ menghasilkan warna ungu menunjukkan adanya senyawa cardenolid (Wagner *et al.*, 1984), cardenolid merupakan senyawa toksik yang terletak pada tanaman bintaro (Kuddus *et al.*, 2011).

Hasil uji skrining fitokimia menggunakan metode KLT yang dilakukan terhadap ekstrak daun bintaro positif mengandung flavonoid, alkaloid, tanin dan cardenolid. Daun bintaro memiliki potensi sebagai antioksidan karena mengandung senyawa flavonoid. Senyawa flavonoid tersebut bertindak sebagai penangkal

radikal bebas karena gugus hidroksil yang di kandunginya mendonorkan hidrogen kepada radikal bebas. Senyawa tersebut mampu menetralsir radikal bebas dengan memberikan elektron kepadanya sehingga atom dengan elektron yang tidak berpasangan mendapat pasangan elektron dan tidak lagi menjadi radikal bebas (Silalahi, 2006).

V. 2 Uji toksisitas terhadap *Artemia salina* Leach. dengan metode BSLT

Uji toksisitas dengan metode BSLT merupakan uji toksisitas akut diman efek toksik dari suatu senyawa ditentukan dalam waktu singkat, yaitu rentang waktu selama 24 jam setelah pemberian perlakuan (Meyer, 1983). Metode BSLT dipilih karena merupakan salah satu metode bioaktivitas dengan perlakuan yang mudah, cepat, murah dan akurat. Metode ini sering dimanfaatkan untuk skrining senyawa antikanker karena adanya korelasi positif antara metode BSLT dengan uji sitotoksik menggunakan kultur sel kanker (carballo, et al., 2002)

Uji toksisitas BSLT dilakukan dengan menentukan nilai LC_{50} dari aktivitas komponen aktif tanaman terhadap larva *Artemia salina* Leach. Suatu ekstrak dikatakan toksik berdasarkan metode BSLT jika ekstrak dapat menyebabkan kematian 50 % hewan uji pada konsentrasi kurang dari 1000 ppm (meyer, 1982).

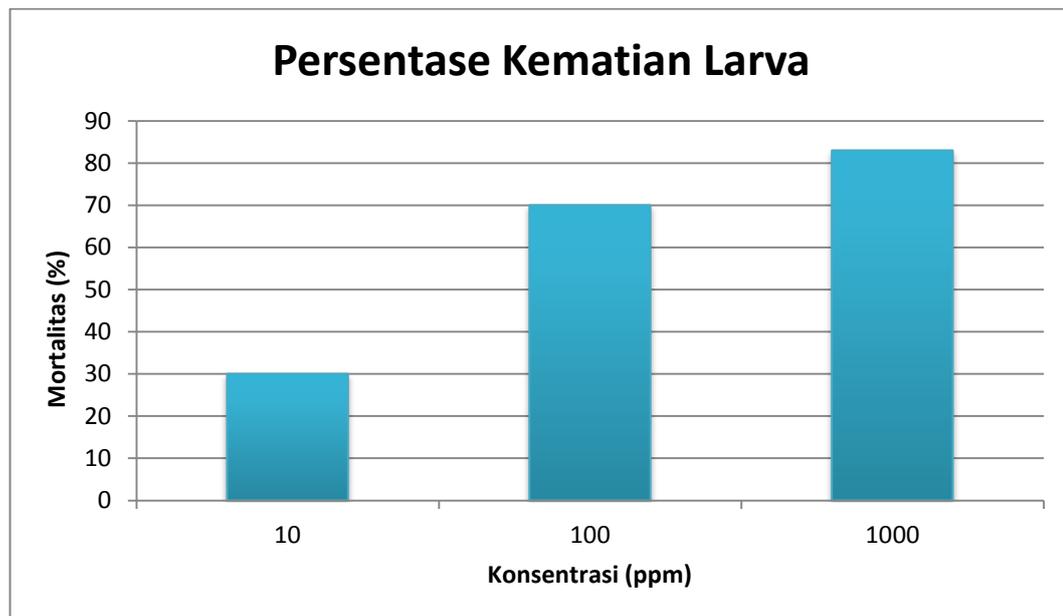
Pengujian toksisitas terhadap ekstrak daun bintaro *Cerbera odollam* Gaerthn. dilakukan sebanyak 3 kali (triplo). Data mortalitas larva yang diperoleh diolah dengan analisi probit untuk menentukan nilai LC_{50} pada derajat kepercayaan hingga 95 %. Hasil uji toksisitas ekstrak daun bintaro *Cerbera odollam* Gaerthn. dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 3. Hasil Uji Toksisitas Ekstrak Daun Bintaro *Cerbera odollam* Gaerthn. dengan Metode BSLT

Kode Sampel	Replikasi	Jumlah Larva Mati Tiap Konsentrasi			Pecentase kematian Larva (%)		
		10 ppm	100 ppm	1000 ppm	10 ppm	100 ppm	1000 ppm
Ekstrak Daun Bintaro	1	3	8	7			
	2	3	6	9	30	70	83
	3	3	7	9			
Kontrol DMSO	1	0	0	0			
	2	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0			

Berdasarkan tabel 3. Dapat dilihat bahwa jumlah kematian larva *Artemia salina* Leach. pada konsentrasi 10 ppm larva yang mati berjumlah 9 ekor, konsentrasi 100 ppm larva mati berjumlah 21 ekor, dan konsentrasi 1000 ppm larva mati berjumlah 25 ekor, kemudian dilakukan uji pada kontrol DMSO sebagai pelarut sampel dalam pengujian ini, hasil dari kontrol DMSO yaitu, tidak ada larva yang mati, sehingga dapat dikatakan bahwa pelarut yang digunakan tidak mempengaruhi pengujian.

Total larva yang digunakan pada percobaan ini dengan 3 kali replikasi sebanyak 30 ekor. Sehingga total larva yang digunakan pada seluruh percobaan adalah 180 ekor. Persentase kematian larva diperoleh dengan membagi total kematian larva pada tiap konsentrasi dengan jumlah total larva awal pada replikasi yang dilakukan yaitu sebanyak 30 ekor larva.

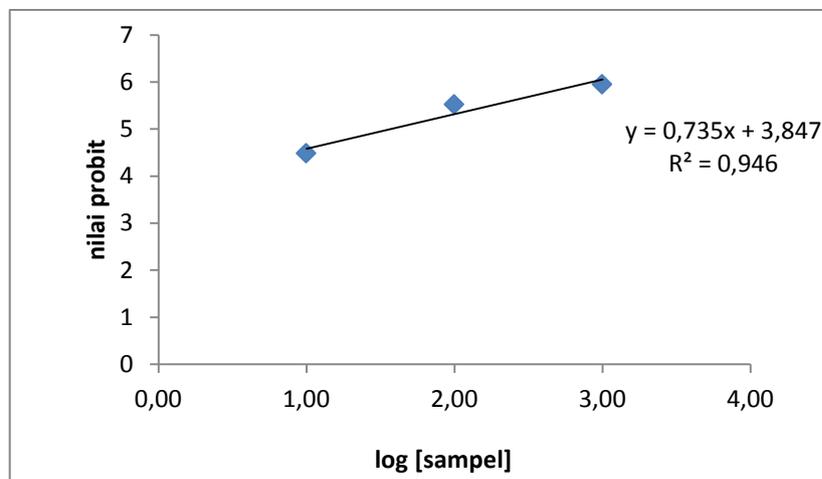


Gambar 13. Grafik Persentase Mortalitas Larva *Artemia salina* Leach pada uji toksisitas ekstrak daun bintaro *Cerbera odollam* Gaerhtn.

Berdasarkan grafik di atas menunjukkan bahwa persentase kematian larva pada konsentrasi 10 ppm adalah 30 %, sedangkan pada konsentrasi 100 ppm sebanyak 70 %. Kemudian pada konsentrasi 1000 ppm, persentase kematian larva sebesar 83%, jadi dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu ekstrak maka semakin tinggi pula persentase kematian larva.

Data yang di peroleh kemudian dianalisis dengan analisis probit untuk mendapat nilai LC_{50} . Pada penelitian ini digunakan analisi probit agar didapatkan

kurva berbentuk garis lurus sehingga penentuan nilai LC_{50} lebih tepat. Jika hanya memplotkan persentase kematian larva (nilai y) dengan logaritma konsentrasi (nilai x) maka akan didapatkan kurva berbentuk sigmoid sehingga dalam penentuan nilai LC_{50} kurang tepat. Dalam analisis probit didapatkan kurva berbentuk garis lurus karena konsentrasi sampel ditransformasikan menjadi logaritma konsentrasi sebagai variabel tetap (nilai x) dan persentase kematian larva ditransformasikan menjadi nilai probit sebagai variabel tergantung (nilai y).



Gambar 14. Grafik hubungan nilai probit dengan log konsentrasi ekstrak daun bintaro *Cerbera odollam* Gaerthn.

Dari grafik di atas didapatkan nilai R^2 yang merupakan koefisien korelasi dalam hubungan dua variabel X dan Y yang mengukur kuatnya hubungan antara X dan Y. Dari analisis, didapatkan nilai R^2 sebesar 0,946 yang berarti bahwa sebesar 94,6 % perubahan nilai probit dipengaruhi oleh konsentrasi ekstrak daun bintaro. Hal ini menunjukkan meningkatnya konsentrasi ekstrak diikuti dengan meningkatnya nilai probit (respon kematian larva).

Berdasarkan grafik regresi linear di atas, dapat ditarik garis lurus melalui persamaan $Y = mx + b$, dimana Y bernilai 5. Adapun perhitungan LC_{50} sebagai berikut :

$$Y = 0,735X + 3,847$$

$$\frac{Y - 0,735}{3,847} = X$$

$$\frac{5 - 0,735}{3,847} = 1,108$$

$$\text{Log } x = 1,108$$

$$x = \text{antilog } 1,108$$

$$= 12,823 \text{ ppm}$$

Hasil Penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun bintaro *Cerbera Odollam* Gaerthn. mempunyai nilai $LC_{50} < 100 \mu\text{g/mL}$ yaitu sebesar 12,823 ppm yang berarti menurut tabel 1 bersifat sangat toksik dan berpotensi sebagai obat anti kanker.

Kematian larva *Artemia Salina* Leach disebabkan oleh kandungan senyawa bioaktif yang terdapat dalam sampel yang diujikan. Adanya yaitu flavonoid, saponin, tanin dan glikosida. Pada kadar tertentu memiliki kemampuan yang dapat menyebabkan kematian larva *Artemia salina* Leach. Mekanisme kematian larva berhubungan dengan fungsi senyawa dalam buah bintaro yang dapat menghambat daya makan larva (antifedant). Cara kerja senyawa-senyawa tersebut adalah dengan bertindak sebagai stomach poisoning atau racun perut. Oleh karena itu, bila senyawa-senyawa ini masuk ke dalam tubuh larva, alat pencernaannya akan terganggu. Selain itu, senyawa ini menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva. Hal ini mengakibatkan larva gagal mendapatkan

stimulus rasa sehingga tidak mampu mengenali makanannya sehingga larva mati kelaparan (Rita, 2008. Nguyen HH, dkk., 1999).

Larva yang 60% tersusun atas protein mati dikarenakan senyawa metabolit sekunder yang dimiliki ekstrak tersebut yaitu flavonoid, dengan struktur fenol dari flavonoid mampu menghambat aktivitas protein kinase sehingga menghambat jalur transduksi sinyal dari membran sel ke inti sel, dan mengganggu proses pencernaan serta pertumbuhan larva sehingga lama - kelamaan larva mati. Hal ini dianggap bahwa senyawa flavonoid dapat bersifat toksik karena menimbulkan kematian pada larva *Artemia Salina* Leach (Bratisca, 2016).

BAB V

PENUTUP

V.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa :

1. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak daun bintaro *Cerbera odollam* Gaerthn. mengandung senyawa kimia flavonoid, alkaloid, tanin dan cardenoloid.
2. Uji toksisitas ekstrak daun bintaro *Cerbera odollam* Gaerthn. dengan metode Brime Shrimp Lethality Test (BSLT) memiliki nilai $LC_{50} \leq 1000$ ppm yaitu sebesar 12,823 ppm. Ini menunjukkan bahwa ekstrak daun bintaro *Cerbera odollam* Gaerthn memiliki bioaktivitas yang tinggi.

V.2 Saran

Saran yang dapat diberikan yaitu:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji bioaktivitas ekstrak daun bintaro *Cerbera odollam* Gaerthn terhadap bakteri dan jamur, serta penelitian lainnya sebagai bahan obat anti kanker di masa yang akan datang.

DAFTAR PUSTAKA

- Abatzopoulos, Th. J., Beardmore, J. A., Clegg, J.S., dan Sorgeloos, P. 1996. **Biology of Aquatic Organism: Artemia-Basic and Applied Biology**. <http://www.captain.at/artemia/>. Diakses pada tanggal 10 September 2016.
- Ahmed, F., Amin, R., Shahid, IZ., & Sobhani, MME., 2008. **Antibacterial, cytotoxic and neuropharmacological activities of Cerbera odollam seeds**. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*. 8 (4). 323-328.
- Anderson, J. E., Goetz C.M., Mc Laughlin J. L. 1991. **A Blind Comparison of Simple Bench-top Bioassay and Human Tumor Cell Cytotoxicities as Antitumor Prescreens**. *Natural Product Chemistry*. Elseiver. Amsterdam.
- Artemia Reference Center. 2007. **Artemia salina - Brine Shrimp – Ses Monkeys**. <http://www.aquaculture.ugent.be/coursmat/artbiol/arc.htm>. Diakses pada tanggal 10 September 2016.
- Asem A, Pouyani NR dan ESCALANTE PD LR. 2010. **The Genus Artemia salina Leach (Crustaceae: Branchiopoda). True and False Taxonomical Descriptions**. *Iran. Lat. Am. J Aquat Res Vol 38*. 501-506.
- Bhat, S. V., B. A. Nagasampagi and S. Meenakshi. 2009. **Natural Products : Chemistry and Application**. Narosa Publishing House, New Delhi. India.
- Bratisca, S.C., 2016. **Uji Toksisitas Ekstrak Benalu Kopi Lotanthus ferrugineus Roxb. Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)**. Skripsi. Fakultas Mipa. Universitas Sumatra Utara. Medan.
- Carballo *et al.* 2002. **A Comparison Between Two Brine Shrimp Assaya to Detect in Vitro Toxicity in Marine Natural Products**. *BMC Biotechnolog*. 2 : 17.
- Colengate, S.M dan Molyneux RJ.2007. **Bioactive Natural Product: Determination, Isolation And Structural Determination Second Edition**. Crc Press. Prancis
- Departemen Kesehatan RI. 2000. **Acuan Sediaan Herbal**. Diktorat Jendral POM-Depkes RI. Jakarta.
- Dewi, N.A. 2011. **Potensi Ekstrak Daun Rambutan (Naphelium lappaceum L.) sebagai pembasmi larva nyamuk Culex pipiens**. Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman. Samarinda.
- Emslie, S. 2003. **Artemia salina Leach.-Brine Shrimp-Ses Monkeys**. http://www.animaldiversity.ummz.umich.edu/site/accounts/information/Artemia_salina.html. Diakses pada tanggal 11 September 2016.

- Fathiyawati, 2008. **Uji Toksisitas Ekstrak Daun *Ficus racemosa L* Terhadap *Artemia salina* Leach Dan Profil Kromatografi Lapis Tipis**. Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.
- Hagerman AE, 2002, **Tannin Chemistry, Department of Chemistry and Biochemistry**, Miami University, Oxford, USA.
- Harborne, J. B. 1987. **Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan**. Penerjemah : Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Edisi Ketiga. Bandung : ITB Press.
- Harmita dan Maksum R. 2008. **Buku Ajar Analisis Hayati ED 3**. EGC. Jakarta,
- Istiqomah, 2013. **Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi Terhadap Kadar Piperin Buah Cabe Jawa *Piperis retrofracti fructus***. Skripsi. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Jayanti, Delvi O., dan Yuhermita. 2009. **Kandungan Senyawa Kimia, Uji Toksisitas (*Brine Shrimp Lethality Test*) Dan Antioksidan (*1,1-ddiphenyl-2-pikrilhydrazyl*) Dari Ekstrak Daun Saga *Abrus precatorius L***. Makara, Sains, 13(1):50-54.
- Kardinan, A., dan Taryono. 2004. **Tanaman Obat Penggempur Kanker**. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Kebler, P.J.A. dan K. Sidiyasa. 2005. **Pohon-pohon Hutan Kalimantan Timur**. Tropenbos- Kalimantan Series 2. Kalimantan.
- Krisdayanti, AN., N.S Aminah, M Tanjung dan B Kurniadi. 2008. **Fitokimia**. Airlangga University Press. Surabaya.
- Kuddus, M.R., Rumi, F., & Masud, M.M., 2011, **Phytochemical Screening and Antioxidant Activity Studies of *Cerbera odollam* Gaertn**. **International Journal of Pharma and Bio Sciences**, 2(1), 413-418
- Lenny, S.2006. **Uji Bioaktivitas Kandungan Kimia Utama Puding Merah dengan Metode Brine Shrimp**. Universitas Sumatra Utara. Medan.
- Ling KH., Chua Tung Kian dan Tan Chay Hoon.2009. **A Guide to Medicinal Plants: An Illustrated, Scientific and Medicinal Approach**. World Scientific Publishing.Co.Pte.Ltd. Singapore
- Meyer BN, Ferigni NR, Putnam JE, Ja Cobsen LB, Nichols DE, dan McLaughlin JL, 1982. **Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituent**. Departement of Medical Chemistry and Pharmacology, School of Pharmacy and pharmacal science and cell culture laboratory. Purdue Cancer Centre, USA.

- Nguyen HH, Widodo S. 1999. *Momordica* L. In: **Medicinal and Poisonous Plant Research of South-East Asia** 12. De Padua L. S. N. Bunyapraphatsana and R. H. M. J. Lemmens (eds.). Pudoc Scientific Publisher. Wageningen, the Netherland; p.353-359.
- Nurhayati, A.P.D., Nurlita A., Rachmat F. 2006. **Uji Toksisitas Ekstrak *Eucheuma Alvarezii* Terhadap *Artemia salina* Leach sebagai Studi Pendahuluan Potensi Antikanker.** Akta Kimia Indonesia, 2(1):41-46.
- Opinion. 2008. **Artemia, Pakan Alami Berkualitas untuk Ikan dan Udang.** <http://www.opinion.com/MembangunIndonesia.htm> Diakses pada tanggal 17 September 2016.
- Pranowo D., 1999. **Pengolahan Buah bintaro Sebagai Bahan baku Pembuatan Biodiesel.** Universitas Indonesia. Jakarta.
- Rahman, M.D.A., Paul, P., & Rahman, A.A., 2011. **Antinociceptive, Antibacterial & Diuretic Activities of *Cerbera odollam* Gaertn Roots.** Research Journal of Pharmaceutical. Biological and Chemical Sciences. 2 (3). 16-23.
- Reskianingsih, Ayu. 2014. **Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Buah *Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl Terhadap Larva *Artemia salina* Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT).** Skripsi. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Rismawati, 2011. **Informasi Singkat Benih *Cerbera odollam* Gaerthn.** Balai Perbenihan Tanaman Hutan Sulawesi.
- Rita WS, Suirta IW, Sabikin A. 2008. **Isolasi&Identifikasi Senyawa Yang Berpotensi Sebagai Antitumor Pada Daging Buah Pare (*Momordica charantia* L.).** Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran. Jurnal Kimia Vol.2; ISSN 1907-9850.
- Robinson, T. 1995. **Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi.** Penerjemah Padmawinata, K. ITB. Bandung.
- Rohimatun dan suriati, 2011. **Bintaro (*Cerbera manghas*) Sebagai Pestisida Nabati.** Warta pertanian. ISBN 979-499-193-7. Liberty Yogyakarta. Yogyakarta.
- Sa'diyah nur alindatus, Kristanti indah purwnani, lucky wijayanti, 2013. **Pengaruh ekstrak daun bintaro (*Cerbera odollam*) terhadap perkembangan ulat Grayak (*Spodoptera litura* F.)** Jurnal Sains dan seni pomits. Vol 2 (2). 1:5
- Salleh, 1997. **Ethno botany, Ethno Pharmacognasy and Documentation of Malaysia Medicinal and Aromatic Plants.** UKM. Malaysia.

- Silalahi, J. 2006. **Makanan Fungsional**. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. Hal 40, 47-48.
- Sirait, M. 2007. **Penuntun Fitokimia dalam Farmasi**. Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Soemardji, AA., Kumolosari, E., Aisyah, C., 2002. **Toksikologi Akut dan Penentuan LC₅₀ Ekstrak Air Daun Gandarusa *Gandarusa justicia* Burn. F. Pada Mencit Swiss Webster**. Jurnal matematika dan sains, 7 (2):57-62.
- Soemirat, J. 2005. **Toksikologi Lingkungan**. UGM Press. Yogyakarta.
- Sumiwi, AA.N. 1992. **Kromatografi Lapis Tipis Alkaloid dari Daun Kelor *Moringa oliefera* Lamrk**. Universitas Padjajaran. Bogor.
- Suryanti, Emy. 2015. **Uji Ekstrak Ramuan “Kandungan Subur” Kunyit *Curcuma domestika* Val, Kencur *Kaempferia galanga* L., Adas *Foeniculum vulgare* Mill. Dan Pegagan *Centella asiatica* pada Berbagai Pelarut Terhadap Toksisitas Larva *Artemia salina* Leach**. Skripsi. Fakultas Sains Dan Teknologi. Universitas Islam Negeri (Uin) Maulana Malik Ibrahim. Malang..
- Syarifah Siti MM, Nurhanan MY, Muhd Haffiz J, Mohd Ilham A, Getha K, Asiah O, Norhayati saya, Lili Sahira H & Anee Suryani S. 2011. **Potensi senyawa antikanker dari *Cerbera odollam***. Journal of Tropical Forest Science 23 (1). 89-96.
- Tampungan, Wndy AH, Simbala IE., Queljoe ED., Wultur S. 2011. **Uji Toksisitas Ekstrak Batang Pinang Yaki *Arenga vestiara* Pada *Artemia salina* Leach**. Jurnal Bioslogos, 1(1):9-12.
- Tarmadi, D., Prianto, A.H. Guswenrivo, I.,Kartika, T., & Yusuf, S., 2007. **Pengaruh Ekstrak Bintaro (*Carbera odollam* Gaertn) dan Kecubung (*Brugmansia candida* Pers) terhadap Rayap Tanah *Coptotermes* sp. J. Tropical Wood Science and Technology. 5 (1). 38-42.**
- Tjitrosoepomo, Gembong. 2004. **Taksonomi TumbuhanSpermatophyta**. Gajah Mada University Press. Yogyakarta
- Top Tropical, 2010. ***Cerbera odollam***. <http://www.toptropicals.com>. Diakses pada tanggal 27 Agustus 2016.
- Wagner, H., Bladt, S., & Zgainski, E.M., 1984, **Plant Drug Analisis: A Thin Layer Chomatography Atlas**, Springer-Verlag, Berlin.
- Wulandari, Mira Ajeng. 2014. **Potensi Antibakteri Dan Bioautografi Ekstrak Etanol Daun Bintaro (*Carbera odollam* Gaertn.) Terhadap *Salmonella***

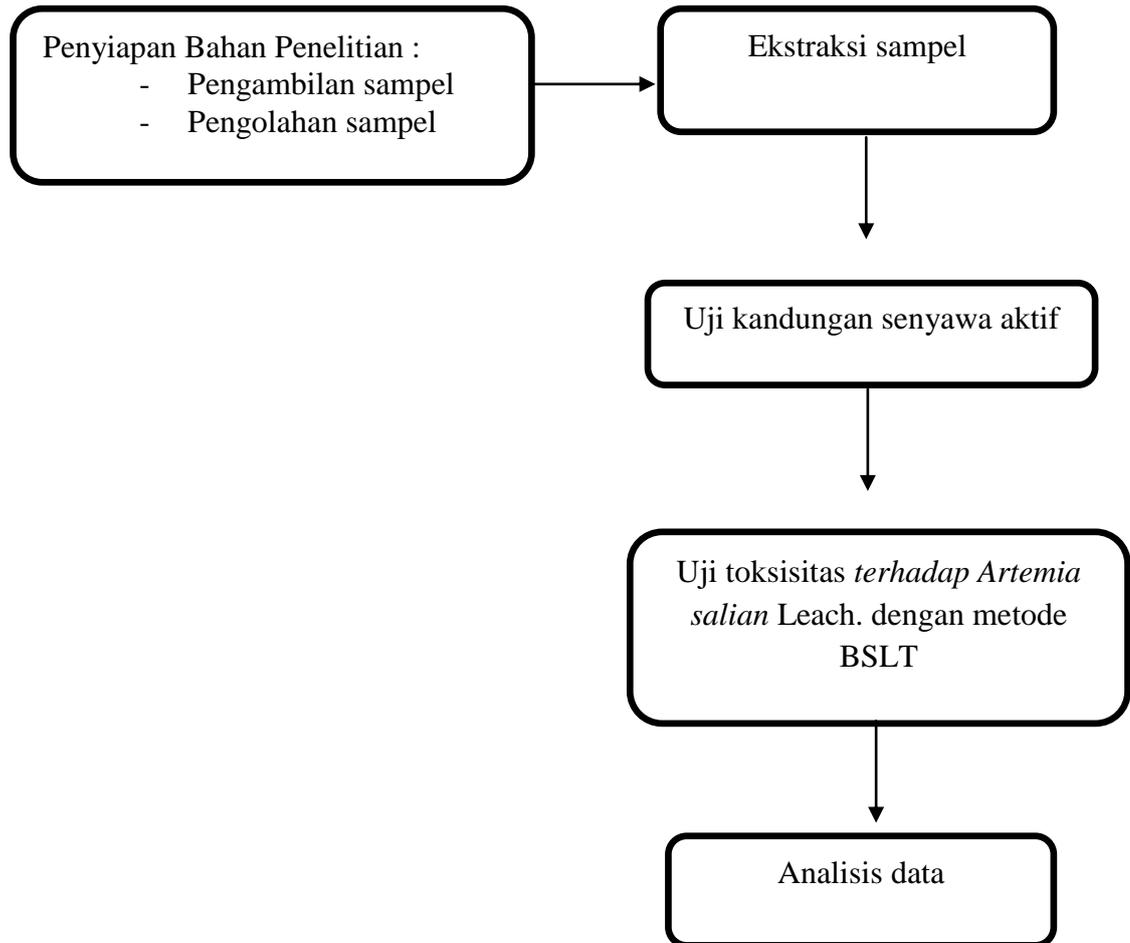
typhi dan *Staphylococcus aureus*. Skripsi. Fakultas farmasi. Univesitaa Muhammadiyah Surakarta.Surakarta.

WHO., 1998. **Medicinal Plants in the South Pacific**. World Health Organization, Regional Office for the Western Pacific in Manila, the Philippines.

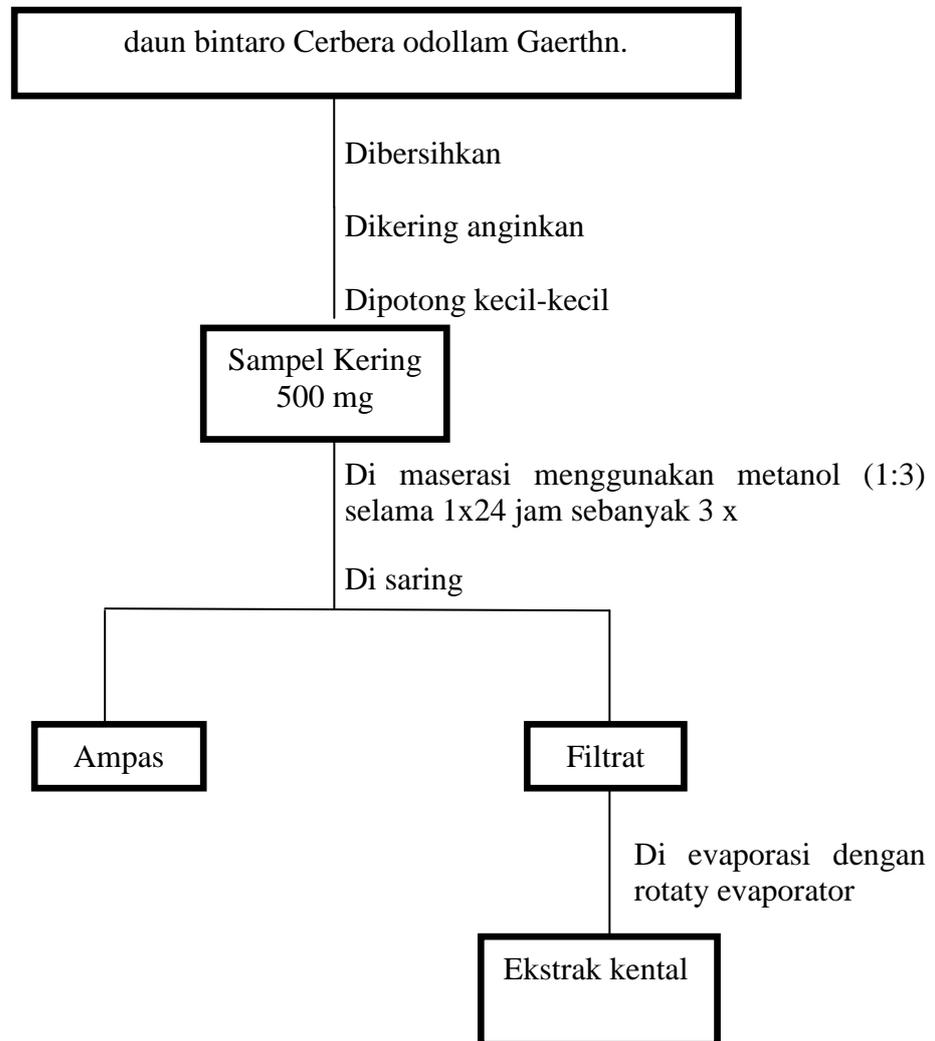
Yoga EP., 2014. **Efikasi Ekstrak Biji Bintaro Cerbere manghas Sebagai Larvasida pada larva Aedes aegypty L.Instar III/IV**. Skripsi. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Uin Syarif Hidayatullah. Jakarta.

LAMPIRAN

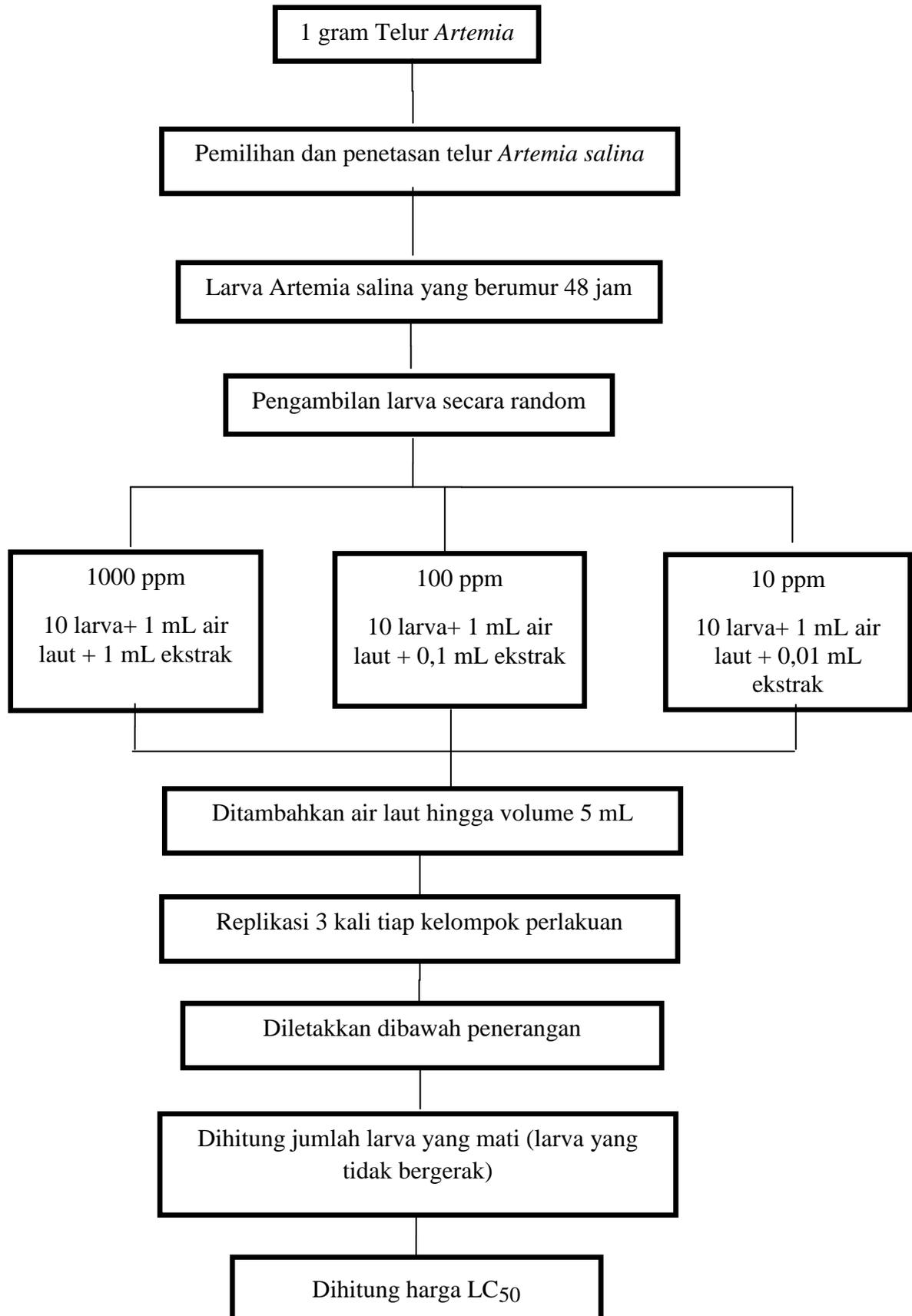
LAMPIRAN 1 Alur penelitian



Lampiran 2 .Skema Kerja Ekstraksi Daun Bintaro *Cerbera odollam* Gaerthn.



Lampiran 3. Skema Kerja Uji Toksisitas



Lampiran 4. Tabel Hasl Pengamatan Uji toksisitas

No	Konsentrasi (ppm)	Replikasi	Sampel	Vol. Air laut	Larva	+ air laut hingga volume 5 mL	Jumlah Larva Mati
1	1000	1	1 mL	1 mL	0,3 mL	2,7 mL	7
		2	1 mL	1 mL	0,3 mL	2,7 mL	9
		3	1 mL	1 mL	0,4 mL	2,6 mL	9
2	100	1	0,1 mL	1 mL	0,3 mL	3,6 mL	8
		2	0,1 mL	1 mL	0,2 mL	3,7 mL	6
		3	0,1 mL	1 mL	0,2 mL	3,7 mL	7
3	10	1	0,01 mL	1 mL	0,3 mL	3,69 mL	3
		2	0,01 mL	1 mL	0,2 mL	3,79 mL	3
		3	0,01 mL	1 mL	0,4 mL	3,59 mL	3

No.	Konsentrasi (ppm)	Replikasi	Sampel	Vol. Air laut	Larva	+ air laut hingga volume 5 mL	Jumlah Larva Mati
1	1000	1	1mL	1mL	0,3mL	2,7mL	0
		2	1mL	1mL	0,2mL	2,8mL	0
		3	1mL	1mL	0,3mL	2,7mL	0
2	100	1	0,1mL	1mL	0,3mL	3,6mL	0
		2	0,1mL	1mL	0,3mL	3,6mL	0
		3	0,1mL	1mL	0,3mL	3,6mL	0
3	10	1	0,01mL	1mL	0,2mL	3,79mL	0
		2	0,01mL	1mL	0,2mL	3,79mL	0
		3	0,01mL	1mL	0,2mL	3,79mL	0

Lampiran 5. Tabel probabilitas

Persentase	Probit									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2,67	2,95	3,12	3,25	3,36	3,45	3,52	3,59	3,66
10	3,72	3,77	3,82	3,87	3,93	3,95	4,01	4,05	4,08	4,12
20	4,17	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
99	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
	7,33	7,37	7,41	7,46	7,51	5,50	7,66	7,75	7,88	8,09

LAMPIRAN 6. Proses Ekstraksi daun bintaro *Cerbera odollam* Gaerhtn.



Daun bintaro yang telah dibersihkan



Daun bintaro yang telah di gunting-gunting



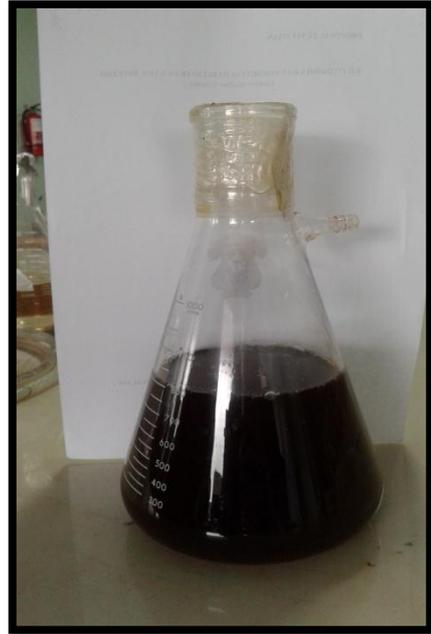
Daun bintaro yang telah dikeringan



Proses maserasi menggunakan metanol



Proses penyaringan



**Hasil maserasi ekstrak
daun bintaro**



**Proses rotary evaporator
ekstrak daun bintaro**

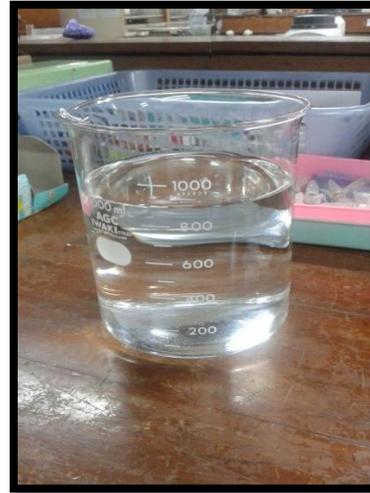


Ekstrak kental daun

LAMPIRAN 7 Uji toksisitas ekstrak daun bintaro *Cerbera odollam* Gaerhtn terhadap *Artemia salina* Leach.



Proses penyaringan air laut menggunakan kertas saring



Hasil penyaringan air



Proses aerasi pada air laut



Penambahan NaOCl pada telur *Artemia salina* Leach.



**Proses penetasan telur
Artemia salina Leach di bawah lampu**



**Penimbangan ekstrak
daun bintaro**



**Pelarutan sampel
dengan DMSO**



Proses uji toksisitas

