

**UJI TOKSISITAS EKSTRAK ETIL-ASETAT DAUN BENALU JATI
(*Dendrothoe pentandra* (L.) Miq.) SEBAGAI KANDIDAT ANTIKANKER
MENGUNAKAN METODE BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)**

**NURUL FATIMAH
H041201047**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2024

**UJI TOKSISITAS EKSTRAK ETIL-ASETAT DAUN BENALU JATI
(*Dendrothoe pentandra* (L.) Miq.) SEBAGAI KANDIDAT ANTIKANKER
MENGUNAKAN METODE BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)**

**NURUL FATIMAH
H041201047**

Skripsi,

sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana

Program Studi Biologi

pada



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
DEPERTEMEN BIOLOGI
AS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

SKRIPSI

UJI TOKSISITAS EKSTRAK ETIL-ASETAT DAUN BENALU JATI (*Dendrothoe pentandra* (L.) Miq.) SEBAGAI KANDIDAT ANTIKANKER MENGUNAKAN METODE BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)

NURUL FATIMAH
H041201047


Skripsi,

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Sarjana Biologi pada 24 Juni 2024 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan pada

Program Studi Biologi
Departemen Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Hasanuddin
Makassar


Mengesahkan:
Pembimbing tugas akhir,




arenan, M. Si.
61987032001

Optimization Software:
www.balesio.com

Mengetahui:
Ketua Program Studi,


Dr. Magdalena Litaay, M. Sc.
NIP. 196409291989032002

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, skripsi berjudul "Uji Toksisitas Ekstrak Etil-Asetat Daun Benalu Jati (*Dendrophoe pentandra* (L.) Miq.) Sebagai Kandidat Antikanker Menggunakan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)" adalah benar karya saya dengan arahan dari pembimbing (Prof. Dr. Sjafarenan, M. Si.). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks yang dicantumkan dalam Daftar Pustaka skripsi ini. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa skripsi ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 19 Juni 2024



Nurul Fatimah
H041201047



Optimization Software:
www.balesio.com

UCAPAN TERIMA KASIH

Bismillahirrahmanirrahim

Segala puji dan syukur kehadirat Allah SWT. atas limpahan rahmat, taufiq, dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "Uji Toksisitas Ekstrak Etil-Asetat Daun Benalu Jati (*Dendrothoe pentandra* (L.) Miq.) Sebagai Kandidat Antikanker Menggunakan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)". Penulisan skripsi ini merupakan salah satu syarat yang wajib ditempuh untuk mendapatkan gelar Sarjana Sains Jurusan Biologi pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.

Skripsi ini penulis persembahkan untuk kedua orangtua penulis, Ibunda tercinta Harlina dan Ayahanda terkasih Rajamuddin atas limpahan cinta, kasih sayang, perhatian, dan doa yang tulus yang telah beliau berikan kepada penulis. Kepada saudariku Indah Suci dan Asyhifa Khairunnisa terima kasih telah memberikan dukungan dan semangat bagi penulis. Selanjutnya, di dalam penyusunan skripsi ini, penulis telah mendapatkan baik secara moril dan materil, bimbingan, masukan, kritik serta saran dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada:

1. Bapak Dr. Eng. Amiruddin, S. Si., M. Si. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.
2. Ibu Dr. Magdalena Litaay, M. Sc. selaku Ketua Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.
3. Ibu Prof. Dr. Sjafarenan, M. Si. dan Ibu Dr. Eva Johannes, M. Si. selaku pembimbing yang telah memberikan arahan, saran, dan masukan yang sangat bermanfaat dalam penyusunan skripsi ini.
4. Ibu Dr. Syahribulan, M. Si. selaku penguji seminar hasil dan siding tutup yang telah banyak memberikan kritik dan saran yang membangun.
5. Sahabat baik penulis Khairun Niza yang telah banyak membantu, memotivasi, berjuang bersama, dan telah menemani dari awal hingga akhir.
6. Terakhir, kepada diri saya sendiri Nurul Fatimah, terima kasih telah berjuang dan bertahan sampai sejauh ini, terima kasih tetap memilih berusaha dan merayakan diri sendiri sampai di titik ini.

Akhir kata, penulis berharap semoga Allah SWT dapat membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis, pembaca, dan semua pihak.

Makassar, 19 Juni 2024

Nurul Fatimah
H041201047



ABSTRAK

NURUL FATIMAH. Uji toksisitas ekstrak etil-asetat daun benalu jati (*Dendrothoe pentandra* (L.) Miq.) sebagai kandidat antikanker menggunakan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) (dibimbing oleh Prof. Dr. Sjafarenan, M. Si.)

Pengobatan tradisional merupakan pengobatan alternatif yang banyak diminati masyarakat dan biasanya menggunakan tanaman obat yang tumbuh secara liar di alam. Salah satu tanaman liar yang dapat digunakan sebagai tanaman obat adalah benalu jati (*Dendrothoe pentandra* (L.) Miq.). Benalu banyak dimanfaatkan oleh masyarakat untuk mengobati penyakit kanker secara empiris. Oleh karena itu banyak dikembangkan penelitian untuk mencari senyawa antikanker dari ekstrak tanaman. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis senyawa bioaktif pada daun benalu jati yang bermanfaat sebagai antikanker dan mengetahui efek sitotoksik ekstrak etil-asetat daun benalu jati. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental. Daun benalu jati diekstraksi menggunakan etil-asetat 96% dan dievaporasi hingga diperoleh ekstrak kental. Skrining fitokimia dilakukan dengan menggunakan metode KLT dan analisis FT-IR. Uji toksisitas dilakukan secara *in vitro* dengan metode BSLT. Berdasarkan hasil pengujian diperoleh kandungan bioaktif dalam ekstrak daun benalu jati yaitu steroid, terpenoid, kuersetin, kuinon dan naftokuinon. Diperoleh pula nilai LC_{50} ekstrak daun benalu jati terhadap hewan uji yaitu 59,19 ppm. Ekstrak daun benalu jati tergolong toksik dalam menghambat pertumbuhan sel kanker dalam hal ini diwakili oleh kematian hewan uji.

Kata kunci: daun benalu jati, antikanker, fitokimia, FT-IR, BSLT



ABSTRACT

NURUL FATIMAH: Toxicity testing of the ethyl-acetate extract from teak mistletoe leaves (*Dendrophoe pentandra* (L.) Miq.) as a potential anticancer agent using the BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) method (supervised by Prof. Dr. Sajafarenan, M. Si.)

The use of traditional medicine, which involves medicinal plants found in nature, has garnered significant interest. One such plant is the teak mistletoe, known for its historical use in cancer treatment. This has led to extensive research aimed at identifying anticancer compounds in plant extracts. In this study, our goal was to analyze the bioactive compounds present in teak mistletoe leaves and to assess the cytotoxic effect of the ethyl-acetate extract. The leaves were extracted using 96% ethyl acetate, and the resulting thick extract underwent phytochemical screening using KLT and FT-IR analysis. In vitro toxicity tests were performed using the BSLT method. The mistletoe teak leaf extract contains bioactive compounds such as steroids, terpenoids, quercetin, quinones, and naphthoquinones. The LC50 value of the extract is 59.19 ppm. Mistletoe teak leaf extract demonstrates its toxicity by inhibiting the growth of cancer cells, leading to the death of test animals.

Keywords: mistletoe teak leaves, anticancer, phytochemicals, FT-IR, and BSLT



DAFTAR ISI

Halaman

SAMPUL
HALAMAN PENGANTAR.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN	iv
UCAPAN TERIMA KASIH.....	v
ABSTRAK	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Teori.....	2
1.2.1 Klasifikasi benalu jati (<i>Dendriphoe pentandra</i> (L.) Miq.).....	2
1.2.2 Morfologi tanaman	2
1.2.3 Manfaat dan kandungan kimia.....	2
1.2.4 Ekstraksi maserasi.....	3
1.2.5 Uji fitokimia.....	4
1.2.6 Kanker.....	4
1.2.7 Mekanisme apoptosis	6
1.2.8 Metode BSLT (<i>Brine Shrimp Lethality Test</i>).....	7
1.2.9 Metode uji.....	8
1.2.10 Metode uji.....	8



1.5 Waktu dan Tempat Penelitian	8
BAB II METODE PENELITIAN	
2.1 Alat	9
2.2 bahan	9
2.3 prosedur Kerja	9
2.3.1 Determinasi tanaman.....	9
2.3.2 Persiapan sampel	9
2.3.3 Ekstraksi.....	9
2.3.4 Evaporasi	9
2.3.5 Uji fitokimia.....	10
2.3.6 Analisis FT-IR (<i>Fourier Transform Infra Red</i>)	10
2.3.7 Uji toksisitas terhadap <i>Artemia salina</i> L.	10
BAB III HASIL DAN PEMBAHASAN	
3.1 Uji Fitokimia.....	11
3.2 Analisis FT-IR (<i>Fourier Transform Infra Red</i>)	12
3.3 Uji toksisitas terhadap <i>Artemia salina</i> L.	13
BAB IV KESIMPULAN DAN SARAN	
4.1 Kesimpulan	17
4.2 Saran.....	17
DAFTAR PUSTAKA.....	18
LAMPIRAN.....	21



DAFTAR GAMBAR

Nomor urut	Halaman
1. Daun, bonggol dan batang, bunga benalu jati <i>Dendrophoe pentandra</i> L.	2
2. Proses perkembangan kanker/karsinogenesis	5
3. Tahapan respon sel terhadap stimulus	6
4. Gambaran sel yang mengalami nekrosis dan apoptosis	7
5. Hasil uji fitokimia dengan metode KLT	11
6. Pola kromatogram gugus fungsi ekstrak etil-asetat daun benalu jati <i>Dendrophoe pentandra</i> L.	12
7. Kurva analisis regresi pengaruh konsentrasi senyawa uji terhadap kematian <i>Artemia salina</i> L.	15



DAFTAR TABEL

Nomor urut	Halaman
1. Klasifikasi nilai toksisitas LC ₅₀	10
2. Data hasil pengamatan kematian larva <i>Artemia salina</i> Leach. setelah 24 jam perlakuan dengan 3 kali pengulangan	14
3. Hasil pengolahan data pengaruh konsentrasi senyawa uji terhadap kematian <i>Artemia salina</i> L.....	14



DAFTAR LAMPIRAN

Nomor urut	Halaman
1. Daftar istilah.....	21
2. Daftar singkatan dan lambang	22
3. Analisis dan olah data	23
4. Dokumentasi penelitian	25



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pengobatan tradisional merupakan pengobatan alternatif yang banyak diminati masyarakat dan biasanya menggunakan tanaman obat yang tumbuh secara liar di alam. Beberapa kelebihan yang dimiliki dibandingkan dengan pengobatan medis adalah efek samping yang relatif kecil, mudah untuk diperoleh, lebih aman dan efektif, serta ekonomis (Mindiharto dkk., 2020). Tanaman obat biasanya dapat ditemukan tumbuh secara liar di alam dan dapat pula diperoleh dari hasil budidaya.

Salah satu tanaman liar yang dapat digunakan sebagai tanaman obat adalah benalu jati (*Dendrothoe pentandra* (L.) Miq.). Benalu jati merupakan jenis tanaman parasit. Tanaman ini memiliki potensi dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Benalu banyak dimanfaatkan oleh masyarakat untuk mengobati penyakit kanker. Masyarakat suku Kajang yang berada di Kabupaten Bulukumba menggunakan daun benalu jati (*Dendrothoe pentandra* (L.) Miq.) secara empiris untuk pengobatan kanker dalam bentuk ramuan. Menurut Ayun dkk. (2021), dalam pemanfaatan secara tradisional benalu yang telah dikeringkan direbus kemudian diminum air rebusannya.

Kandungan bioaktif dari tanaman benalu berbeda-beda bergantung pada jenis tanaman inangnya. Beberapa jenis tanaman benalu, seperti benalu mangga, benalu teh, dan benalu apel mengandung komponen bioaktif yang berperan sebagai antikanker seperti flavonoid. Kandungan flavonoid salah satunya berupa kuersetin dan kuinon, memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan menjaga keseimbangan oksidatif di dalam sel. Apabila terdapat oksigen-oksigen reaktif dan senyawa radikal hidroksil lainnya di dalam tubuh, maka akan terjadi oksidasi sel-sel tubuh sehingga pertumbuhan sel akan terganggu. Pada benalu tanaman langsung juga banyak mengandung senyawa kimia yang berperan sebagai antioksidan dan antikanker seperti flavonoid, alkaloid, triterpenoid dan saponin dengan cara menghambat mekanisme pembelahan serta pengaktifan jalur apoptosis sel kanker. (Sermoati dan Inmas, 2021; Ayun dkk., 2021; Gusungi dkk., 2020). Selain itu, menurut Widyanto dkk., (2020), tanaman yang mengandung antioksidan biasanya juga berperan sebagai antikanker dengan menghambat proliferasi sel kanker dengan cara menangkap radikal bebas.

Kanker merupakan penyakit tidak menular yang terjadi karena adanya pertumbuhan dan perkembangan sel dan jaringan yang tidak terkontrol. Akibatnya, terjadi gangguan proses metabolisme tubuh dan akan menyebar di seluruh sel dan jaringan tubuh. Sel kanker muncul karena adanya mutasi genetik yang disebabkan oleh kerusakan DNA pada sel normal (Azmi dkk., 2020; Ketut dan Sari, 2022). Terdapat beberapa faktor yang memicu pembelahan sel kanker sehingga terjadi perubahan sel yang mengakibatkan pada timbulnya gangguan proliferasi yang tidak terkontrol, yang dapat menyebar ke jaringan dan organ lain (Widyanto dkk., 2020).

Untuk penelitian tersebut, dilakukan penelitian “Uji Toksisitas Ekstrak Etil-asetat Benalu Jati (*Dendrothoe pentandra* (L.) Miq.) Sebagai Kandidat Tanaman Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)”.



1.2 Teori

1.2.1 Klasifikasi benalu jati (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.) (Global Biodiversity Information Facility, 2023):

Regnum	: Plantae
Divisi	: Tracheophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Santales
Famili	: Loranthaceae
Genus	: <i>Dendrophthoe</i>
Spesies	: <i>Dendrophthoe pentandra</i> (L.) Miq.

1.2.2 Morfologi tanaman



Gambar 1. (a) Daun, (b) Bonggol dan batang, (c) Bunga
Sumber: Dokumentasi Pribadi, 2024

Benalu jati *Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq. merupakan salah satu jenis tanaman yang bersifat hemiparasit dan termasuk dalam famili Loranthaceae (Octifani, 2020). Tanaman ini memiliki perawakan tumbuhan perdu, bercabang banyak, agak tegak dengan tinggi 0,5-1,5 m. Daun menjorong dan tersebar, dengan panjang 6-13 cm dan lebar 1,5-8 cm, pangkal membaji-menirus, ujung meruncing, serta panjang tangkai daun 5-20 mm. Bunga dengan 1 braktea di pangkal, biseksual, mahkota bunga terdiri atas 5, panjang 13-26 mm, menyempit membentuk leher, bagian ujung mengganda, mula-mula hijau kemudian hijau kekuningan sampai kuning orange atau merah orange, benang sari 5, kepala sari tumpul serta melekat pada pangkal putik dengan kepala putik membintul. Buah membentuk bulat telur, panjang, berwarna kuning jingga. Berbiji 1 dengan biji ditutupi lapisan lengket (Irfan, 2022).

1.2.3 Manfaat dan kandungan kimia



Optimization Software:
www.balesio.com

Dendrophthoe pentandra (L.) Miq. secara umum mengandung kimia di antaranya flavonoid, terpenoid, dan steroid (Hardiyanti dkk., 2022). Tanaman ini juga mengandung asam amino, tanin, alkaloid, karbohidrat, dan lemak. Senyawa kimia yang terkandung dalam tanaman benalu juga berbeda-beda tergantung inangnya. Pada penelitian ekstrak etanol benalu jati (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.) dengan inang pohon mangga mengandung senyawa kimia di antaranya flavonoid, steroid, terpenoid, dan kuinon. Pada inang pohon duku dan

belimbing wulu memiliki kandungan flavonoid jenis kuarsetin dan kuarsitrin. Pada inang pohon jeruk memiliki kandungan senyawa jenis steroid progesteron, medroxy progesteron asetat, magesterol asetat, didrogesteron, dan senyawa stigmasterol. Sedangkan pada inang pohon duku memiliki kandungan asam dekanat, asam palmitat, asam linolenat, dan beta sitosterol (Irfan, 2022).

Benalu jati *Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq. banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional untuk mengobati beberapa jenis penyakit, seperti diabetes, hipertensi, kanker, diuretik, cacar, maag, infeksi kulit, dan setelah melahirkan. Selain itu, tanaman ini juga mempunyai potensi sebagai antioksidan dan antibakteri. Adanya kandungan flavonoid juga menunjukkan adanya aktivitas biologis dan farmakologis, yaitu sebagai antikanker, antifirus, antiinflamasi, antialergi, dan antitumor (Hardiyanti dkk., 2019).

Sebagai antikanker, kandungan flavonoid, tanin, dan triterpenoid pada *Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq. telah diuji mampu menghambat 50% pertumbuhan sel kanker T47D dengan IC50 sebesar 41,75 µg/ml. Sedangkan, sebagai antidiabetes *Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq. mampu menghambat enzim α -glukosidase yang kemudian akan menurunkan kadar glukosa darah postprandial. Sebagai antimikroba, adanya kandungan quarcitrin yang diisolasi dari *Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq. inang pohon duku dapat menghambat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi 1000 ppm (Irfan, 2022).

1.2.4 Ekstraksi maserasi

Senyawa aktif yang terdapat pada tanaman dapat diperoleh melalui beberapa metode, salah satunya adalah ekstraksi. Ekstraksi merupakan suatu metode pemisahan senyawa bioaktif yang terdapat pada suatu tanaman dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Hasil ekstraksi sangat dipengaruhi oleh lamanya waktu ekstraksi, hal ini karena terlalu lama atau terlalu singkat waktu ekstraksi dapat mempengaruhi komponen bahan yang diekstrak. Waktu ekstraksi yang terlalu singkat menyebabkan tidak terekstraknya semua senyawa aktif yang terdapat pada bahan. Sedangkan, waktu ekstraksi yang terlalu lama menyebabkan teroksidasinya senyawa bioaktif tersebut. Menurut Abdullahi dan Mainul (2020), terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi kualitas senyawa bioaktif, yaitu jenis pelarut, metode ekstraksi, lama ekstraksi, prosedur penyaringan fitokimia, dan teknik identifikasi.

Maserasi merupakan suatu metode pemisahan senyawa kimia yang dilakukan secara dingin atau dalam suhu ruang tanpa adanya peningkatan suhu atau pemanasan. Menurut Abdullahi dan Mainul (2020), metode ekstraksi maserasi sangat cocok digunakan untuk mengekstrak bahan tanaman yang sifatnya termolabil. Untuk mempercepat proses mengekstraksi sampel oleh pelarut maka diperlukan pengocokan dan pengadukan secara berulang. Hal tersebut dimanfaatkan bagi simplisia atau bahan alam yang tidak tahan panas untuk menghindari rusak atau terurainya beberapa



Proses ekstraksi maserasi sangat bergantung pada jenis pelarut. Pemilihan pelarut berdasarkan kelarutan dan polaritasnya. Bahan komponen senyawa aktif dalam sampel. Dimana polaritas sifat semipolar dapat melarutkan berbagai komponen kimia dalam polar maupun non-polar dalam jumlah yang maksimum. Prinsip didasarkan distribusi zat terlarut dalam senyawa aktif dengan dingin dua pelarut yang tidak saling bercampur atau sifat

polaritasnya yang berbeda (Handoyo, 2020). Terdapat beberapa jenis pelarut yang umum digunakan dalam ekstraksi tanaman obat, antara lain pelarut polar misalnya aquades dan alkohol, pelarut semi-polar misalnya aseton dan diklorometana, serta pelarut non-polar misalnya n-heksana, eter, dan kloroform (Abdullahi dan Mainul, 2020).

1.2.5 Uji fitokimia

Fitokimia merupakan suatu bahan-bahan atau senyawa kimia yang dihasilkan oleh tumbuhan yang biasa juga disebut dengan metabolit sekunder. Fitokimia merupakan senyawa kimia bukan nutrisi yang dihasilkan oleh sel tumbuhan. Senyawa metabolit sekunder dapat berbentuk ekstrak medisinal ataupun simplisia. Metabolit sekunder pada tanaman berperan sebagai komponen pendukung berupa pertahanan diri dari musuh dan sebagai hormon, bukan sebagai komponen utama yang digunakan untuk pertumbuhan ataupun reproduksi (Puspitasari, 2018).

Uji fitokimia merupakan suatu proses pengujian yang bertujuan untuk memberikan gambaran tentang kandungan senyawa yang terdapat pada sampel tanaman uji. Prosedur ini merupakan uji pendahuluan yang dilakukan untuk mendeteksi keberadaan metabolit sekunder ataupun primer dalam suatu ekstrak. Uji fitokimia dilakukan dengan melihat perubahan warna dan bentuk suatu cairan yang diujikan melalui penambahan suatu pereaksi untuk masing-masing senyawa yang akan diuji. Proses ini telah digunakan untuk mendeteksi keberadaan alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, flavon, sterol, terpen, glikosida, karbohidrat, protein, dan lemak (Kumalasari dan Funsu, 2020; Abdullahi dan Mainul, 2020).

Metode yang biasa digunakan adalah teknik kromatografi. Pemisahan senyawa dari suatu campuran menggunakan teknik kromatografi didasarkan pada ukuran, bentuk, dan muatan dari suatu senyawa. Konsep kromatografi melibatkan penggunaan fasa gerak dan fasa diam. Terdapat beberapa teknik kromatografi, yaitu adsorpsi, partisi, afinitas, pertukaran ion, KLT, kromatografi kolom (CC), kromatografi cair (LC), GC, dan HPLC (Abdullahi dan Mainul, 2020).

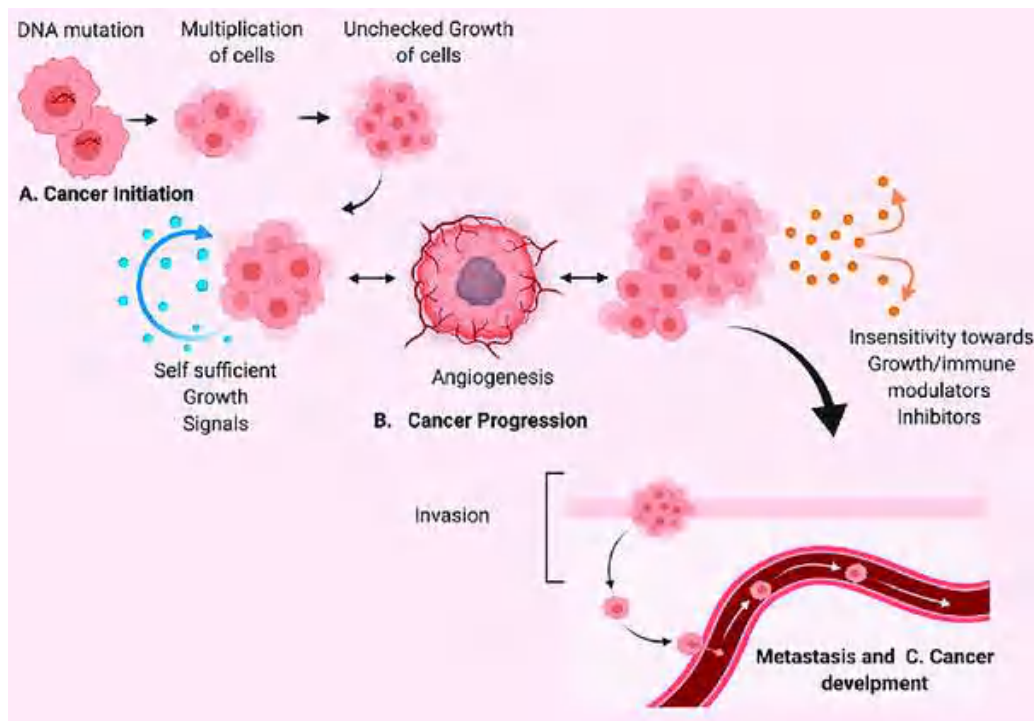
Teknik kromatografi yang paling sering digunakan adalah teknik kromatografi lapis tipis (KLT). Metode ini mampu memisahkan komponen-komponen berdasarkan perbedaan tingkat interaksi dalam dua fasa material pemisah. Prinsip kerja KLT antara lain adalah adsorpsi, desorpsi, dan elusi. Adsorpsi terjadi ketika larutan sampel ditotolkan ke fasa diam (plat KLT) menggunakan pipa kapiler, komponen-komponen dalam sampel akan teradsorpsi di dalam fasa diam. Desorpsi adalah peristiwa ketika komponen yang teradsorpsi di fasa diam didesak oleh fasa gerak (eluen), terjadi persaingan antara eluen dan komponen untuk berikatan dengan fasa diam. Elusi adalah peristiwa ketika komponen ikut terbawa oleh eluen (Kamar dkk., 2021).

1.2.6 Kanker

Kanker merupakan penyakit tidak menular yang terjadi karena adanya perkembangan sel dan jaringan yang tidak terkendali. Akibatnya, proses metabolisme tubuh dan akan menyebar di seluruh sel dan jaringan (Kamar dkk., 2020). Kanker merupakan suatu penyakit yang bersifat ganas. Sel kanker bersifat agresif dan memiliki kemampuan invasif. Kemampuan invasif merupakan suatu kemampuan sel kanker untuk menembus jaringan di sekitarnya. Metastasis merupakan suatu keadaan



dimana sel kanker dapat menyebar ke jaringan lainnya melalui sistem pembuluh darah dan limpa (Widiyastuti dkk., 2019).



Gambar 2. Proses perkembangan kanker/karsinogenesis

Sumber: Frontiers in Pharmacology, 2022 <https://www.researchgate.net/publication>

Kanker diawali dengan terjadinya proses karsinogenesis. Karsinogenesis dibagi ke dalam beberapa fase yaitu inisiasi, promosi, konversi dan progresi. Fase inisiasi, promosi dan konversi terjadi dari sel normal dan kemudian menjadi sel kanker. Sedangkan, fase progresi terjadi setelah sel kanker terbentuk. Fase inisiasi merupakan tahapan awal karsinogenesis dimana akan terjadi inisiasi senyawa karsinogenik baik intra maupun ekstra seluler pada sel dengan adanya agen pemacu pertumbuhan (promoter). Adanya inisiasi senyawa karsinogenik akan membentuk massa tumor yang disebut dengan fase promosi. Apabila pada fase promosi terjadi perubahan genetik yang berlangsung secara terus menerus maka akan terjadi pertumbuhan sel yang semakin tidak terkontrol, proses ini disebut dengan fase progresi (Widiyastuti dkk., 2019).

Sel kanker mengekspresikan berbagai jenis antigen tumor. Secara umum, antigen tumor ini diklasifikasikan sebagai berikut (Husna, 2023):



Optimization Software:
www.balesio.com

berbagai gen yang bermutasi

diri yang bermutasi atau disebut "mutasi penumpang" (*passenger*) yang dapat merangsang respon imun adaptif terhadap tumor, misalnya yang disebabkan oleh karsinogen atau radiasi.

Onkogen yang bermutasi atau gen penekan tumor

produk onkogen atau gen penekan tumor dapat mengkode protein yang bertindak sebagai antigen tumor. Produk onkogen meliputi Ras,

protein fusi, Bcr, dan Abl. Sementara, prodek dari gen penekan tumor adalah P53 yang mengalami mutasi.

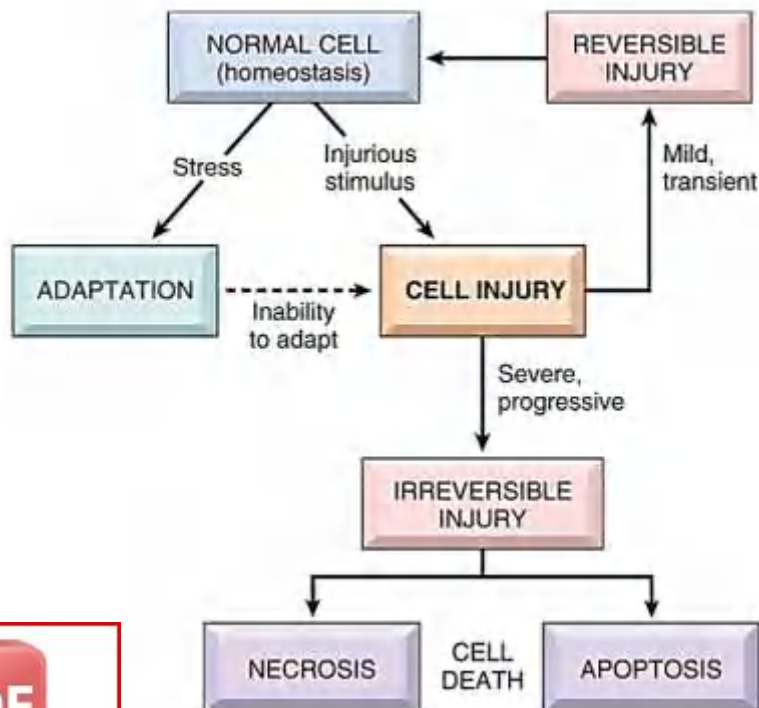
3. Protein diekspresikan secara tidak normal
4. Antigen virus

Antigen tumor dapat berupa produk virus misalnya protein E6 pada virus papilloma.

1.2.7 Mekanisme apoptosis

Sel normal memiliki kemampuan mempertahankan fungsi dan strukturnya untuk tetap dalam kondisi homeostasis. Apabila mengalami sters akibat rangsangan fisiologis atau patologis, maka akan terjadi perubahan pada kondisi homeostasisnya. Sel akan berusaha mempertahankan hidupnya dengan proses adaptasi (Husna, 2023).

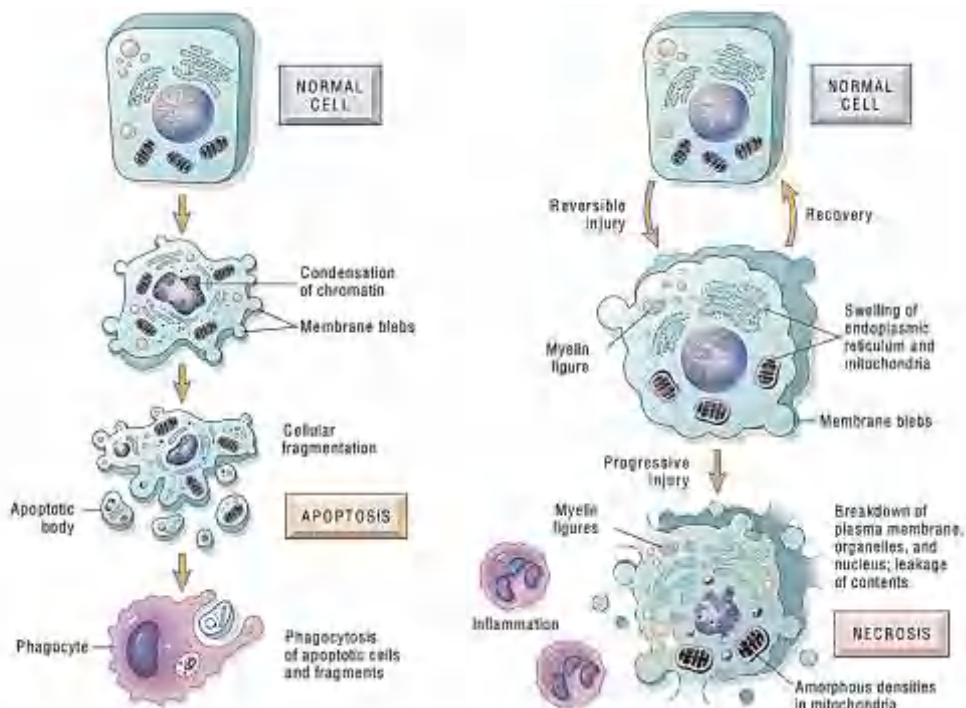
Adaptasi sel terhadap sel melalui dua cara, yaitu fisiologis dan patologis. Adaptasi fisiologis adalah respon sel terhadap rangsangan normal baik oleh hormon ataupun mediator kimia endogen. Adaptasi patologis adalah respon terhadap stres yang memungkinkan sel mempertahankan hidupnya agar terhindar dari jejas. Kapasitas adaptif yang berlebihan menyebabkan terjadinya jejas sel. Jejas sel mempunyai dua sifat yakni reversibel dan ireversibel. Jejas reversibel memungkinkan sel dapat kembali normal, bila perubahan selulernya segera teratasi. Jejas ireversibel terjadi ketika stressor melampaui *point of no return* untuk beradaptasi dan mengalami perubahan patologis permanen yang menyebabkan kematian sel (Husna, 2023).



Ambar 3. Tahapan respon sel terhadap stimulus
 Sumber: Indonesian Web Nurses, 2012 <https://idw.nurse.wordpress.com/>



Proses terjadinya kematian sel dapat melalui nekrosis dan apoptosis. Menurut Husna (2023), nekrosis adalah kematian sel yang berhubungan dengan hilangnya integritas membran dan kebocoran isi sel yang mengakibatkan sel rusak, terutama akibat pengaruh enzim yang merusak sehingga sel mengalami jejas. Kebocoran isi sel tersebut memicu peradangan sehingga dapat menghilangkan sel-sel mati dan memicu perbaikan. Apoptosis merupakan jalur kematian sel terprogram untuk mengeliminasi sel yang berpotensi berbahaya dan selesai masa fungsinya dengan mengaktifkan enzim untuk merusak DNA dan protein inti sel, serta sitoplasma sel itu sendiri.



Gambar 4. Gambaran sel yang mengalami apoptosis dan nekrosis

Sumber: Andreas Astier, 2024 <https://www.andreasastier.com>

1.2.8 Uji Sitotoksik Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)

Uji sitotoksik merupakan uji aktivitas biologis untuk mendeteksi potensi antitumor atau antikanker dari suatu bahan alam. Uji sitotoksik metode BSLT merupakan metode yang digunakan sebagai uji pendahuluan dalam penapisan bahan-bahan kimia dan aktivitas farmakologis suatu bahan alam yang diduga berpotensi sebagai antitumor atau antikanker sebelum dilanjutkan pada tahap pengujian *in vitro* menggunakan sel lestari tumor. Metode ini menggunakan larva udang *Artemia salina* L. sebagai hewan uji



Optimization Software:
www.balesio.com

bertujuan untuk mendapatkan data kemampuan aktivitas suatu
tumbuh sel pada dosis yang kecil sehingga diperoleh data letal
al dosis. Pengujian ini dapat digunakan untuk mengetahui pada
suatu senyawa atau zat dapat menyebabkan kematian sel yang
tal konsentrasi (LC₅₀). Nilai LC₅₀ menyatakan nilai konsentrasi yang
proliferasi sel sebesar 50% dan memberikan gambaran toksisitas

suatu senyawa terhadap sel tertentu. Semakin tinggi LC_{50} , semakin rendah efek sitotoksiknya terhadap sel tertentu atau tidak toksik sama sekali. Kriteria tingkat toksisitas suatu senyawa sebagai berikut (Husna, 2023):

Sangat aktif	: $LC_{50} \leq 20 \mu\text{g/mL}$.
Aktif	: $20 \mu\text{g/mL} < LC_{50} < 100 \mu\text{g/mL}$.
Sedang	: $100 \mu\text{g/mL} < LC_{50} < 500 \mu\text{g/mL}$.
Lemah	: $LC_{50} \geq 500 \mu\text{g/mL}$.

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dilakukannya penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Untuk menganalisis senyawa bioaktif pada daun benalu jati yang bermanfaat sebagai antikanker.
2. Untuk mengetahui efek sitotoksik ekstrak etil-asetat daun benalu jati.

1.4 Manfaat Penelitian

Berdasarkan penelitian ini dapat diketahui pengaruh daun benalu jati terhadap larva *Artemia salina* L. yang nantinya dapat digunakan sebagai dasar untuk pengujian pada sel lestari kanker.

1.5 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret sampai dengan April 2024 di Laboratorium Genetika, Laboratorium Botani Departemen Biologi FMIPA, Laboratorium Kimia Organik, Laboratorium Biokimia Departemen Kimia FMIPA, dan Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin (UNHAS).



BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari evaporator (*Heidolph*[®]), FTIR tipe IRPrestige-21 (*Shimadzu*[®]), timbangan analitik (*ONC*[®]), mikroskop, oven (*Memmert*[®]), *waterbath* (*Memmert WNB 14*[®]), alat-alat gelas (*Iwaki*[®]), desikator, tabung pipa kapiler (*Benemed*[®]), cawan porselen, plat KLT, lampu pijar 40 watt (*Phillips*[®]), aerator, aluminium foil, kertas saring, dan toples.

2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun benalu jati *Dendrothoe pentandra* L., telur *Artemia salina* Leach, air laut steril, pelarut etil-asetat 96%, dan bubuk KBr *spectroscopy*.

2.3 Prosedur Kerja

2.3.1 Determinasi tanaman

Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Botani Departemen Biologi Universitas Hasanuddin dengan cara mencocokkan ciri-ciri morfologi dari daun, batang, dan bunga benalu jati. Langkah ini dilakukan untuk memastikan kebenaran jenis/spesies benalu jati.

2.3.2 Persiapan sampel

Daun benalu jati diperoleh dari Kabupaten Bulukumba, Kecamatan Kajang, Desa Lembanna, Dusun Sumalaya. Daun benalu jati selanjutnya dicuci hingga bersih untuk menghilangkan pengotor yang masih menempel pada sampel lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan, jangan sampai terpapar sinar matahari secara langsung. Sampel yang telah kering kemudian diremas jangan sampai terlalu halus.

2.3.3 Ekstraksi

Sampel yang telah dipreparasi kemudian dilakukan tahap ekstraksi maserasi dengan perbandingan sampel dan pelarut yaitu 1 : 7. Sebelumnya dilakukan terlebih dahulu destilasi pelarut etil-asetat, karena pelarut yang digunakan berupa pelarut teknis maka dilakukan proses destilasi untuk memurnikan pelarut. Selanjutnya, ditimbang daun benalu jati sebanyak 200 gram (1), lalu dimaserasi menggunakan 1400 mL (7) pelarut etil-asetat selama 24 jam. Kemudian, disaring dan ampas yang diperoleh dimaserasi kembali dengan pelarut yang sama dan dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Hasil filtrat kemudian digabung menjadi satu.

2.3.4 Evaporasi



selanjutnya dipekatan menggunakan *rotary evaporator vaccum* dan dihentikan ketika ekstrak cukup kental yang ditandai dengan pelarut pada labu alas bulat. Selanjutnya, ekstrak yang diperoleh dalam cawan porselen lalu ditutup dengan aluminium foil yang telah menggunakan jarum. Kemudian, diletakkan di atas *waterbath* pada suhu 60°C.

2.3.5 Uji fitokimia

Uji fitokimia dilakukan dengan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Ekstrak pekat yang diperoleh ditotolkan pada lempeng KLT menggunakan pipa kapiler kemudian dilusi dengan cairan pengelusi (etil-asetat dan n-heksan dengan perbandingan 1 : 1) di dalam *chamber*. Lempeng dikeluarkan dari *chamber* dan diangin-anginkan hingga cairan pengelusnya menguap. Selanjutnya, kromatogram yang dihasilkan diamati nodanya di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 μm dan 366 μm .

2.3.6 Analisis FT-IR (*Fourier Transform Infra Red*)

Sampel yang sebelumnya berbentuk pasta kental terlebih dahulu dikeringkan hingga berubah bentuk menjadi bubuk. Selanjutnya, dilakukan analisis FT-IR dengan cara sebanyak 0,4 gram sampel dan 10 gram bubuk KBr dihaluskan hingga homogen dan dicetak membentuk plat tipis (transparan) kemudian dimasukkan ke dalam pan sampel pada alat. Sampel akan dibaca oleh spektrofotometer FT-IR dengan rentang frekuensi 400 sampai 4000 cm^{-1} dan diinterpretasi dalam bentuk kromatogram yang terdiri dari bilangan gelombang dan persen transmisinya sehingga dapat ditentukan gugus fungsi yang terdapat pada sampel. Kromatogram yang dihasilkan kemudian dibandingkan dengan tabel IR.

2.3.7 Uji toksisitas terhadap *Artemia Salina* Leach.

Uji toksisitas dilakukan dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) yang telah dimodifikasi. Larutan uji dibuat dalam konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$, 10 $\mu\text{g/mL}$, dan 1 $\mu\text{g/mL}$ lalu ditempatkan dalam tabung yang berbeda. Air laut steril yang mengandung 10 larva udang ditambahkan hingga volume air sebanyak 5 mL dan disimpan di bawah pencahayaan selama 48 jam. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3x. Selanjutnya jumlah larva yang mati dan yang hidup dihitung dengan bantuan kaca pembesar serta ditentukan nilai LC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) dengan program *Bliss method*. Jumlah larva yang mati pada larutan uji dihitung kemudian ditentukan % kematiannya menggunakan persamaan berikut.

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

Data yang diperoleh kemudian dihitung menggunakan analisis probit untuk mendapatkan nilai LC_{50} ($\mu\text{g/mL}$). Nilai LC_{50} tersebut kemudian diklasifikasikan sesuai dengan klasifikasi toksisitas pada tabel berikut.

Tabel 1. Klasifikasi nilai toksisitas LC_{50}

Nilai LC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	Toksistas
< 20	Sangat toksik
20 -100	Toksik
100 -500	Sedang
500 – 1000	Lemah
> 1000	Tidak toksik

