UJI SITOTOKSIK MINYAK ATSIRI BATANG DAN BIJI TANAMAN SECANG (*Caesalpinia sappan*) DENGAN METODE BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)

SKRIPSI

UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

Disusun Oleh:

ALDA FAHRUNNISA

NIM: H01216003

PROGRAM STUDI BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL

SURABAYA

2021

PERNYATAAN KEASLIAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini,

Nama	: Alda Fahrunnisa
NIM	: H01216003
Program Studi	: Biologi
Angkatan	: 2016

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul: "UJI SITOTOKSIK MINYAK ATSIRI BATANG DAN BIJI TANAMAN SECANG (*Caesalpinia sappan*) DENGAN METODE BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)". Apabila suatu saat nanti terbukti saya melakukan tindakan plagiat, maka saya bersedia menerima sanksi yang telah di tetapkan.

Demikian pernyataan keaslian ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 29 Desember 2020

Yang menyatakan,

METERAI TEMPEL

6000

Alda Fahrunnisa

H01216003

LEMBAR PERSETUJUAN PEMBIMBING

Skripsi oleh:

NAMA : ALDA FAHRUNNISA

NIM : H01216003

JUDUL : UJI SITOTOKSIK MINYAK ATSIRI BATANG DAN BIJI TANAMAN SECANG (*Caesalpinia sappan*) DENGAN METODE BSLT (Brine Shrimp Lethality Test)

Telah diperiksa dan disetujui untuk diujikan.

Surabaya, 21 Desember 2020

Dosen Pembimbing I	Dosen pembimbing II
(Eva Agustina, M. Si)	(Esti Tyastirin, M. KM)
NIP. 198908302014032008	NIP. 198706242014032001

PENGESAHAN TIM PENGUJI SKRIPSI

Skripsi Alda Fahrunnisa ini telah dipertahankan
di depan tim penguji Skripsi
Surabaya, 31 Desember 2020

Mengesahkan,
Dewan Penguji

Penguji I

Eva Agustina. M.Si
NIP. 198908302014032008

Penguji II

Esti Tyastirin. M. KM
NIP. 198706242014032001

Penguji III

Hanik Faizah S. Si M. Si
NUP. 201409019

Penguji IV

Drs. Abdul Manan M. Pd. I
NIP. 197006101998031002

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Sunan Ampel Surabaya

Dr. Hj. Evi Fatimatur Rusydiyah. M. Ag.
NIP. 197312272005012003

KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL SURABAYA
PERPUSTAKAAN
Jl. Jend. A. Yani 117 Surabaya 60237 Telp. 031-8431972 Fax.031-8413300
E-Mail: perpus@uinsby.ac.id

LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademika UIN Sunan Ampel Surabaya, yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : Alda Fahrunnisa
NIM : H01216003
Fakultas/Jurusan : SAINS DAN TEKNOLOGI/ BIOLOGI
E-mail address : aldafhrnnisa99@gmail.com

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya, Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif atas karya ilmiah:
■ Skripsi ☐ Tesis ☐ Desertasi ☐ Lain-lain (.....)
yang berjudul :
UJI SITOTOKSIK MINYAK ATSIRI BATANG DAN BIJI TANAMAN SECANG (*Caesalpinia sappan*) DENGAN METODE BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)

beserta perangkat yang diperlukan (bila ada). Dengan Hak Bebas Royalti Non-Ekslusif ini Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya berhak menyimpan, mengalih-media/format-kan, mengelolanya dalam bentuk pangkalan data (database), mendistribusikannya, dan menampilkan/mempublikasikannya di Internet atau media lain secara ***fulltext*** untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta ijin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan atau penerbit yang bersangkutan.

Saya bersedia untuk menanggung secara pribadi, tanpa melibatkan pihak Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya, segala bentuk tuntutan hukum yang timbul atas pelanggaran Hak Cipta dalam karya ilmiah saya ini.

Demikian pernyataan ini yang saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 19 Januari 2021

Penulis

(Alda Fahrunnisa)

ABSTRAK

UJI SITOTOKSIK MINYAK ATSIRI BATANG DAN BIJI TANAMAN SECANG (*Caesalpinia sappan*) DENGAN METODE BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)

Indonesia merupakan negara yang dijuluki negara Megabiodiversitas karena memiliki keanekaragaman hayati yang sangat melimpah. Salah satu kelompok tanaman yang sangat beragam ialah kelompok tanaman obat yang memiliki berbagai manfaat. Pemanfaatan tanaman sangat diperlukan untuk menemukan terobosan terbaru pada pengembangan teknologi dalam bidang kesehatan maupun dalam bidang lainnya. Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman secang (*Caesalpinia sappan*), yaitu tanaman obat yang memiliki banyak manfaat, salah satunya adalah memiliki kemampuan sebagai sitotoksik. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui tingkat sitotoksik pada minyak atsiri batang dan biji tanaman secang (*Caesalpinia sappan*). Bagian dari tanaman secang yang digunakan adalah minyak atsiri batang dan bijinya yang diekstrak menggunakan metode soxhlet. Metode uji sitotoksik dalam penelitian ini adalah BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*), yang merupakan uji praskrining dalam pengujian sitotoksik. Konsentrasi yang digunakan pada uji BSLT yaitu 0 ppm, 10 ppm, 20 ppm, 100 ppm, 500 ppm, dan 1000 ppm. Dari data mortalitas yang didapatkan, kemudian dianalisis dengan menggunakan analisis probit untuk mendapatkan nilai LC50. Hasil LC50 yang didapatkan untuk minyak atsiri batang dan biji secang adalah 0,83 µg/ml dan 1,7 µg/ml. Kedua hasil LC50 minyak dan biji secang termasuk dalam kategori toksik tinggi karena memiliki nilai LC50 0-100 µg/ml.

Kata Kunci: Secang, *Caesalpinia sappan*, BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*), Uji Sitotoksik

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

ABSTRACT

CYTOTOXIC ACTIVITY OF ESSENTIAL OILS FROM THE STEM AND SEED OF SECANG (*Caesalpinia sappan*) USING BSLT (*BRINE SHRIMP LETHALITY TEST*) METHOD

Indonesia is a country dubbed a megabiodiversity country because it has very abundant biodiversity. One of the most diverse plant groups consists of groups of medicinal plants that have various benefits. Utilization of plants is needed to find the latest breakthroughs in technological development in the health sector and in other fields. The plant used in this study was the secang plant (Caesalpinia sappan), a medicinal plant that has many benefits, one of which is its ability as a cytotoxic. The study was conducted to see the cytotoxic level of the essential oil of the stems and seeds of the secang plant (Caesalpinia sappan). Part of the secang plant used is the essential oil of the stems and seeds, which are extracted using the Soxhlet method. The cytotoxic test method in this study is the BSLT (Brine Shrimp Lethality Test), which is a pre-screening test in cytotoxic testing. The concentrations used in the BSLT test are 0 ppm, 10 ppm, 20 ppm, 100 ppm, 500 ppm, and 1000 ppm. From the mortality data obtained, then analyzed using probit analysis to obtain the LC50 value. The LC50 results obtained for the stem and seed essential oils of secang were 0.83 µg/ml and 1.7 µg/ml. Both LC50 oil and secang seeds are in the high toxic category because they have an LC50 value of 0-100 µg/ml.

Keywords: Secang, *Caesalpinia sappan*, BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*), Cytotoxic.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

DAFTAR ISI

Halaman Sampul i
Persetujuan Pembimbing ii
Lembar Pengesahan iii
Pernyataan Keaslian iv
Halaman Peryataan Publikasi v
Halaman Persembahan vi
Kata Pengantar vii
Abstrak ix
Abstract x
Daftar Isi xi
Daftar Tabel xiii
Daftar Gambar xiv
Daftar Lampiran xvi

BAB I PENDAHULUAN 1

1.1 Latar Belakang 1
1.2 Rumusan Masalah 5
1.3 Tujuan Penelitian 5
1.4 Manfaat Penelitian 6
1.5 Batasan Masalah 6

BAB II TINJAUAN PUSTAKA 7

2.1 Secang (*Caesalpinia sappan*) 7
2.1.1 Klasifikasi Secang 7
2.1.2 Kandungan Kimia pada Secang 9
2.2 Minyak Atsiri 10
2.2.1 Kandungan Kimia Minyak Atsiri 11
a. *Terpenes* 11
b. Senyawa rantai lurus 14
c. Fenilpropen (turunan benzene) 15
d. Kelompok lain-lain (senyawa yang mengandung belerang dan nitrogen) 16
2.2.2 Pengolahan Minyak Atsiri 16
a. Penyulingan (*distillation*) 16
b. Pressing (*expression*) 16
c. Ekstraksi menggunakan pelarut (*solvent extraction*) 17
d. Adsorbsi oleh lemak padat (*enfluenrasi*) 17
2.2.3 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Minyak Atsiri 17
a. Bahan baku 18
b. Penanganan pasca panen 18
c. Proses produksi 18

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

d. Penyimpanan 18
2.3 *Artemia salina* 19
2.4 Uji Sitotoksik 21

BAB III METODE PENELITIAN 23

3.1 Rancangan Penelitian 23
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian 23
3.3 Alat dan Bahan Penelitian 24
3.4 Variabel Penelitian 24
3.5 Prosedur Penelitian 24
3.6 Analisis Data 27

BAB IV PEMBAHASAN 28

4.1 Karakteristik Minyak Atsiri Batang dan Biji Tanaman Secang (*Caesalpinia sappan*) 30
4.2 Uji Sitotoksik Batang dan Biji Secang pada *Artemia salina* 32

BAB V PENUTUP 44

5.1 Kesimpulan 44
5.2 Saran 44

DAFTAR PUSTAKA 45

LAMPIRAN

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Nilai Tingkat Ketoksikan LC50 22
Tabel 3.1 Jadwal Pelaksanaan Penelitian 23
Tabel 4.1 Karakteristik Minyak Atsiri Batang dan Biji Tanaman Secang 31
Tabel 4.2 Hasil Uji Sitotoksik Minyak Atsiri Batang Secang 33
Tabel 4.3 Hasil Uji Sitotoksik Minyak Atsiri Biji Secang 36

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman Secang (*Caesalpinia sappan*) 8
Gambar 2.2 Tanaman Secang (*Caesalpinia sappan*), (a) kulit kayu, (b) batang, (c) bunga, (d) buah, (e) biji 8
Gambar 2.3 Struktur senyawa dari (a) Brazilein (b) Brazilin 10
Gambar 2.4 Rantai Molekul Isoprene 12
Gambar 2.5 Struktur Kimia Senyawa Monoterpene Citronellal dan Linalool 12
Gambar 2.6 Struktur Kimia Senyawa Sesquiterpene Farnesene dan Nerolidol 13
Gambar 2.7 Contoh Senyawa Diterpene Camphorene dan Vitamin A...13
Gambar 2.8 Struktur Kimia Daun Alkohol 14
Gambar 2.9 Struktur Kimia Fenilpropen.....15
Gambar 2.10 Struktur Kimia dari senyawa sulfur- dan nitrogen 16
Gambar 2.11 Morfologi *Artemi salina* Leach 20
Gambar 4.1 (a) Tanaman Secang (*Caesalpinia sappan*), (b) Daun Secang 28
Gambar 4.2 (a) Kenampakan luar batang Secang, (b) Batang pohon secang yang telah dipotong, (c) Serutan kayu secang.....28
Gambar 4.3 Biji Secang 28
Gambar 4.4 Minyak Atsiri Batang dan Biji Secang (*Caesalpinia sappan*).....31
Gambar 4.5 Kurva Grafik Regresi Linear Log10 Konsentrasi Minyak Atsiri Biji Secang (*Caesalpinia sappan*) dengan Nilai Probit dari Mortalitas *Artemia salina*.....35
Gambar 4.6 Kurva Grafik Regresi Linear Log10 Konsentrasi Minyak Atsiri Biji Secang (*Caesalpinia sappan*) dengan Nilai Probit dari Mortalitas *Artemia salina*.....37

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Gambar 4.7 Mekanisme monoterpenoid dan sesquiterpenoid menginduksi apoptosis 41

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Dokumentasi Penelitian.....I-1
Lampiran 2 Penghitungan Konsentrasi Uji Sitotoksik.....IV-1
Lampiran 3 Analisis Probit dan Regresi Linear V-1

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

BAB I
PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara tropis dengan keanekaragaman hayati yang sangat melimpah di dunia dan dijuluki sebagai negara Megabiodiversitas (Sutarno, 2015). Indonesia diperkirakan memiliki 25.000 spesies tanaman atau lebih dari 10% flora yang ada di dunia. Beragam jenis tanaman mulai dari tanaman tingkat rendah sampai tingkat tinggi dimiliki oleh Indonesia. Salah satu kelompok tanaman di Indonesia yang sangat beragam adalah kelompok tanaman obat atau disebut dengan tanaman herbal. Sumber daya alam tanaman obat dan obat tradisional merupakan suatu aset yang perlu digali, diteliti, dan dikembangkan untuk mengetahui berbagai macam manfaat yang terkandung dalam tanaman tersebut (Depkes RI, 2007).

Terdapat banyak sekali tanaman obat yang dapat dimanfaatkan dan beberapa diantaranya mungkin belum ada yang dimanfaatkan. Pemanfaatan tanaman sangat diperlukan untuk menemukan terobosan terbaru pada pengembangan teknologi dalam bidang kesehatan maupun dalam bidang lainnya. Seperti yang dijelaskan pada Q.S. Al-An'am ayat 99 sebagai berikut:

وَهُوَ ٱلَّذِيٓ أَنزَلَ مِنَ ٱلسَّمَآءِ مَآءٗ فَأَخۡرَجۡنَا بِهِۦ نَبَاتَ كُلِّ شَيۡءٖ فَأَخۡرَجۡنَا مِنۡهُ خَضِرٗا نُّخۡرِجُ مِنۡهُ
حَبّٗا مُّتَرَاكِبٗا وَمِنَ ٱلنَّخۡلِ مِن طَلۡعِهَا قِنۡوَانٞ دَانِيَةٞ وَجَنَّٰتٖ مِّنۡ أَعۡنَابٖ وَٱلزَّيۡتُونَ وَٱلرُّمَّانَ مُشۡتَبِهٗا
وَغَيۡرَ مُتَشَٰبِهٍۗ ٱنظُرُوٓاْ إِلَىٰ ثَمَرِهِۦٓ إِذَآ أَثۡمَرَ وَيَنۡعِهِۦٓۚ إِنَّ فِي ذَٰلِكُمۡ لَأٓيَٰتٖ لِّقَوۡمٖ يُؤۡمِنُونَ

Artinya: *Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan maka Kami*

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang korma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (Kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman.

Menurut tafsir dari Al-Muyassar/Kementerian Agama Saudi Arabia dijelaskan bahwa Allah menurunkan air dalam bentuk hujan yang kemudian akan tumbuh berbagai macam tanaman yang memiliki banyak manfaat untuk umat manusia, dimana hal itu termasuk petunjuk nyata dari kekuasaan Allah SWT.

Salah satu tanaman obat yang dapat dimanfaatkan adalah tanaman secang (*Caesalpinia sappan*). Tanaman secang ditemukan pertama kali di Brazil oleh warga berkebangsaan Spanyol bernama Kimichi. Namun, terdapat beberapa orang yang mengatakan bahwa tanaman secang berasal dari India dan menyebar ke Thailand, Malaysia, Philipina, Srilanka, Hawaii, Taiwan hingga Indonesia. Tanaman secang tumbuh subur pada dataran Eropa, Amerika, dan Asia.

Kayu secang memiliki berbagai khasiat untuk tubuh, seperti dapat mengobati berbagai penyakit seperti sifilis, diare, malaria, dan tumor (Anariawati, 2009). Minyak atsiri pada tanaman secang memiliki manfaat sebagai antibakteri (Solichah, 2009). Selain itu, ekstrak kayu secang bermanfaat sebagai penawar racun, katarak, maag dan pengobatan sesudah persalinan (Rahmawati, 2011). Kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam kayu secang diantaranya adalah dari kelompok flavonoid, saponin, dan alkaloid. Flavonoid dan brazilin mempunyai peran sebagai antioksidan pada kayu

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

secang. Selain itu, daun dan batang dari secang memiliki kandungan saponin dan flavonoid. Pada daun secang mengandung polifenol dan minyak atsiri sebesar 0,16%-0,20%. Batang secang juga mengandung tanin, resin, brazilin, asam galat, dan minyak atsiri (Puspitasari, 2012).

Salah satu kandungan yang banyak terdapat dalam tanaman secang adalah minyak atsiri. Minyak atsiri adalah hasil dari sisa metabolisme pada tumbuhan, yang dibentuk oleh persenyawaan kimia dengan air. Karakterisasi minyak atsiri secara kimia adalah sebagai campuran kompleks dari senyawa dengan berat molekul rendah dan beberapa diantaranya sangat mudah menguap dan mampu menghasilkan rasa dan aroma (Trombetta, 2005). Minyak atsiri terbentuk oleh hidrokarbon terpenoid, terpene teroksigenasi dan seskuiterpen (Chamorro, 2012). Minyak atsiri dapat mengandung banyak bahan campuran yang mudah menguap (*volatile*) dan yang tidak mudah menguap (*non-volatile*), yang menyebabkan karakteristik rasa dan aromanya (Tavish dan Haris, 2002).

Indonesia merupakan Negara yang memiliki banyak tanaman penghasil minyak atsiri, seperti minyak cengkeh, minyak pala, minyak kayu manis, serta minyak lainnya. Minyak atsiri dapat dihasilkan dari berbagai bagian dari tumbuhan seperti batang, akar, bunga, buah, biji, dan kulit batang. Minyak atsiri juga memiliki peran sebagai antibakteri, penetralisir racun, anti-inflamasi, analgesik, antioksidan dan antitumor (Osei-safo, 2010). Minyak atsiri sangat penting untuk pencegahan penyakit, karena dapat menghambat dan menunda radikal bebas yang dihasilkan oleh oksidasi zat kimia (Viswanad, 2011).

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa minyak atsiri pada tanaman memiliki potensi sebagai sitotoksik. Uji sitotoksik ialah salah satu metode untuk mengetahui keberadaan senyawa toksik yang ada pada sel (Kurnijasantri, 2008). Senyawa toksik ialah senyawa yang memiliki sifat toksik dan dapat menghambat atau menghentikan pertumbuhan dari sel kanker. Salah satu metode dari uji sitotoksik adalah metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*), yaitu metode awal atau praskrining yang digunakan untuk mengidentifikasi senyawa yang diduga sebagai antikanker (Sukardiman, 2004).

BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) merupakan suatu metode penghitungan tingkat toksisitas untuk analisis senyawa bioaktif yang berasal dari ekstrak dan kemudian mengarah pada pengukuran LC50 untuk senyawa toksik pada tanaman. Uji ini dilakukan dengan menggunakan media air laut yang terdapat *Artemia salina* Leach. Untuk mengetahui tingkat toksik dari suatu ekstrak, dapat dilihat dari jumlah kematian larva *A. Salina* pada konsentrasi tertentu. Kematian dari larva *A. Salina* digunakan sebagai pedoman dalam menentukan dosis kematian pada sel kanker dalam tubuh. Suatu ekstrak dapat dikatakan toksik jika nilai LC50 kurang dari 1000 µl (Meyer, 1982).

Terdapat banyak penelitian yang membahas tentang uji sitotoksik pada minyak atsiri suatu tanaman, seperti pada penelitian Moshafi (2009), yang menyatakan bahwa minyak atsiri *Zingiber officinale* dan *Heracleum persicum* memiliki potensi sebagai antitoksik dengan tingkat sangat tinggi dengan nilai LC50 0,0381 µg/mL dan 0,0071 µg/mL. Begitu pula pada tanaman *Lagerstroemia speciosa* juga memiliki sifat sebagai antitoksik dengan nilai

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

LC50 1,701 µg/mL (Oloyede, 2010). Roberto (2009) dan Seol (2016), menyatakan bahwa *Tithonia diversifolia* memiliki potensi yang cukup tinggi sebagai antitoksik dengan nilai LC50 3.11µg/mL.

Sejauh yang telah diketahui belum terdapat penelitian mengenai uji sitotoksik minyak atsiri pada batang dan biji secang dengan menggunakan metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test). Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui tingkat toksik pada minyak atsiri batang dan biji tanaman secang dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*).

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah,

Bagaimana tingkat sitotoksik pada minyak atsiri batang dan biji tanaman secang (*Caesalpinia sappan*) dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah,

Mengetahui tingkat sitotoksik pada minyak atsiri batang dan biji tanaman secang (*Caesalpinia sappan*) dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*).

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini terbagi menjadi manfaat umum dan khusus,

1. Bagi Peneliti

   Dapat menambah wawasan dan pengetahuan peneliti mengenai uji sitotoksik minyak atsiri batang dan biji secang (*Caesalpinia sappan*) dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*).

2. Bagi Institusi

   Kontribusi penelitian sebagai dasar kebijakan tentang uji sitotoksik minyak atsiri batang dan biji secang (*Caesalpinia sappan*) dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*).

3. Bagi Masyarakat

   Memberikan informasi kepada masyarakat tentang manfaat minyak atsiri batang dan biji tanaman secang (*Caesalpinia sappan*) sebagai antitoksik.

1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah dari penelitian ini adalah,

1. Tanaman yang digunakan adalah batang dan biji tanaman secang (*Caesalpinia sappan*).
2. Minyak Atsiri didapatkan melalui metode soxhlet dengan pelarut N-Heksana.
3. Uji Sitotoksik menggunakan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*).

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Secang (*Caesalpinia sappan*)

Secang (*Caesalpinia sappan*) merupakan tanaman semak atau perdu dengan tinggi 5-10 m diatas permukaan laut. Secang merupakan tanaman yang hidup pada daerah tropis (Astina, 2010). Secang memiliki beberapa nama daerah di Indonesia, yaitu Seupang (Aceh), Sopang (Batak), Cacang (Minangkabau), Secang (Sunda), Kayu Cang (Madura), Cang (Bali), Sepang (Sasak), Sepe (Roti) (Direktorat Obat Asli Indonesia, 2008).

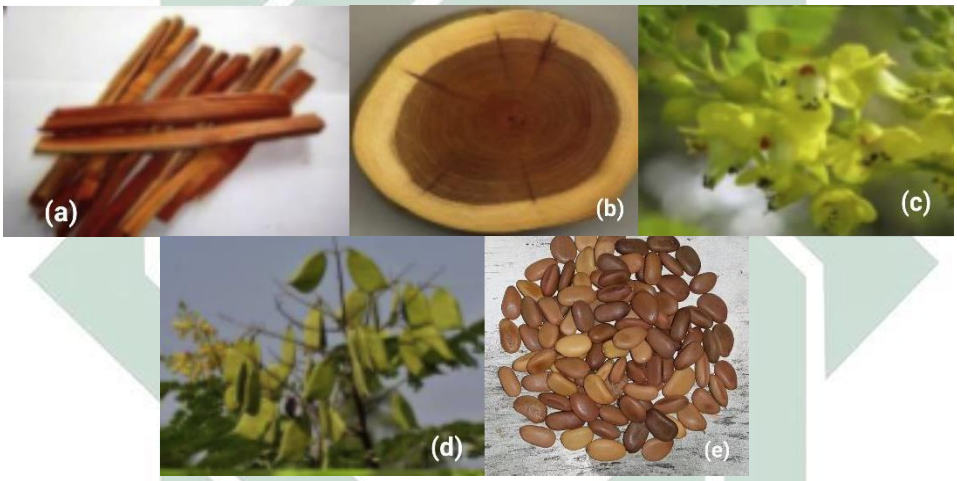
2.1.1 Klasifikasi Secang (*Caesalpinia sappan*)

Berikut adalah klasifikasi Tanaman Secang oleh Tjitrosoepomo (1994):

Kingdom	: Plantae
Division	: Spermatophyta
Sub Divition	: Angiospermae
Class	: Dicotyledoneae
Order	: Rosales
Family	: Caesalpiniaceae
Genus	: *Caesalpinia*
Species	: *Caesalpinia sappan* L.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Gambar 2.1 Tanaman Secang (*Caesalpinia sappan*)
Sumber: Xu (2018)



Gambar 2.2 Tanaman Secang (*Caesalpinia sappan*), (a) kulit kayu, (b) batang, (c) bunga, (d) buah, (e) biji
Sumber: Nirmal, dkk (2015)

Secang memiliki tinggi berkisar 5-10 m dengan batang berkayu dan berwarna hijau. Pada batang dan percabangannya terdapat duri-duri tempel dengan letaknya yang tersebar. Daunnya majemuk menyirip ganda dengan panjang berkisar 25-40 cm dan mempunyai 10-20 pasang anak daun dengan letaknya yang berhadapan. Akarnya tunggang dan berwarna kecokelatan. Secang memiliki bunga yang majemuk dan berbentuk malai, mahkotanya

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

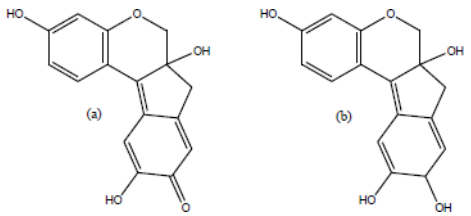
berbentuk seperti tabuh dan berwarna kuning. Buah secang berbentuk polong, memiliki panjang 8-10 cm dan lebar 3-4 cm. Ujung buahnya berbentuk paruh yang memiliki 3-4 biji. Apabila buah secang telah masak, buahnya akan berwarna kehitaman. Bijinya berbentuk bulat memanjang dengan warna kuning kecokelatan serta memiliki panjang 15-18 mm, lebar 8-11 mm dan tebal 5-7 mm (Hariana, 2006).

2.1.2 Kandungan Kimia pada Secang

Pada Sulawesi Selatan khususnya suku Bugis-Soppeng, air secang merupakan minuman favorit. Hal tersebut dikarenakan airnya akan tampak lebih segar ketika ditambahkan serpihan kayu ke dalam air yang mereka minum. Serpihan kayu secang yang dimasukkan dalam air akan merubah warna air menajdi kemerahan dan airnya akan terlihat jernih dan segar. Warna kemerahan pada kayu secang disebabkan oleh zat warna yang diberi nama Brazilin. Brazilin atau $C_{16}H_{14}O_5$ merupakan pigmen warna pada secang yang berbentuk kristal berwarna kuning. Brazilin yang teroksidasi akan menghasilkan senyawa brazilein warna merah kecokelatan (Indriana, 2003).

Brazilin yang terdapat pada tanaman secang dapat mengobati penyakit kanker, karena brazilin dapat menghambat protein inhibitor apoptosis survivin dan juga terlibat dalam proses aktivasi caspase 3 dan caspase 9 (Zhong et al., 2009). Struktur senyawa dari brazilein dan brazilin dapat dilihat pada gambar 2.7.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id



Gambar 2.3 Struktur senyawa dari (a) Brazilein (b) Brazilin
Sumber: Sari et. al. (2017)

Tanaman secang memiliki kandungan kimia seperti asam galat, tanin, resin, brazilin, dan minyak atsiri (Heyne, 1987). Pada uji fitokimia, di dalam secang terdapat kandungan senyawa kimia kelompok flavonoid, saponin, dan alkaloid. Menurut penelitian Shafwatunida (2009), senyawa kimia dari kelompok flavonoid dan brazilin berperan sebagai antioksidan pada secang. Aktivitas antioksidan pada ekstrak kayu secang juga cukup tinggi dikarenakan adanya kandungan terpenoid seperti monoterpen dan diterpen di dalamnya (Widowati, 2011). Ekstrak kayu secang juga memiliki kemampuan aktivitas sitotoksik karena adanya senyawa brazilin dan brazilein. Brazilin merupakan senyawa terbesar yang terdapat dalam secang (Haryanti, 2018).

2.2 Minyak Atsiri

Minyak atsiri adalah hasil sisa metabolisme yang dibentuk oleh reaksi berbagai senyawa dengan air. Minyak atsiri atau essential oil merupakan produk biokimia yang dihasilkan dalam cairan sitoplasma yang terletak di ruang antar sel (Naeem, 2018). Minyak atsiri memiliki sifat aromatik, mudah menguap pada suhu kamar, dan memiliki rasa pahit. Minyak atsiri mudah larut

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

dalam pelarut organik, seperti eter, alkohol, benzena, petroleum, dan tidak dapt larut dalam air. Minyak atsiri dapat diperoleh dari akar, batang, kulit kayu, daun, biji dan bunga tanaman (Lutony, 1994).

Kebanyakan minyak atsiri memiliki aroma yang khas, karena setiap jenis minyaknya memiliki komposisi kimiawi yang berbeda-beda. Komponen maupun kandungan kimia yang terdapat dalam minyak atsiri merupakan hal dasar yang penting digunakan untuk menentukan kegunaan dan mutu dari minyak atsiri (Agusta, 2002). Minyak atsiri mengandung komponen aktif terpenoid atau terpene. Zat inilah yang mampu memberikan aroma atau bau yang khas pada tanaman (Yuliani, 2012).

2.2.1 Kandungan Kimia Minyak Atsiri

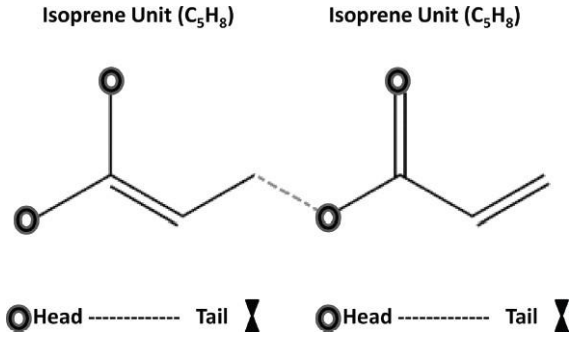
Menurut Morsy (2017), kandungan kimia pada minyak atsiri dapat dibagi menjadi 4 yaitu terpenes, senyawa rantai lurus, fenilpropen, dan senyawa yang mengandung sulfur dan nitrogen.

a. Terpenes

1. Terpenes hydrocarbon

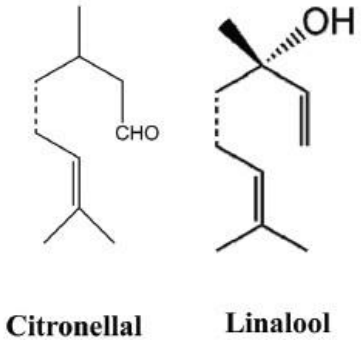
Terpen adalah golongan senyawa kimia yang paling umum ditemukan di dalam minyak atsiri. Terpen disintesis di dalam sitoplasma di dalam sel tanaman melalui jalur asam mevalonat. Terpen dianggap sebagai polimer isoprene (C_5H_8) seperti pada gambar di bawah ini:

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id



Gambar 2.4 Rantai Molekul Isoprene
Sumber: Morsy (2017)

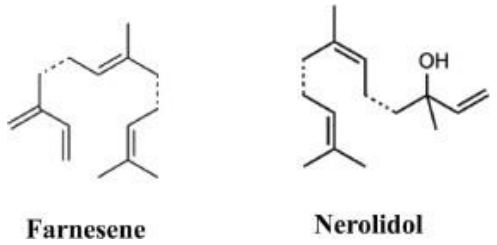
Terpen dapat diklasifikasikan menjadi hemiterpene, monoterpen, diterpen, sesquiterpen, sesterterpen, triterpen, dan polyterpen. Monoterpene dibentuk oleh dua unit isoprene dan senyawa ini mudah teroksidasi karena reaksi cepatnya terhadap sumber udara dan panas. Berikut adalah dua contoh dari monoterpene.



Gambar 2.5 Struktur Kimia Senyawa Monoterpene Citronellal dan Linalool
Sumber: Morsy (2017)

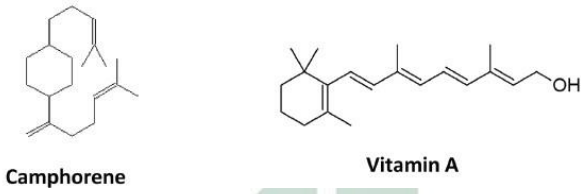
Sesquiterpene adalah monoterpene kedua yang dominan yang terbentuk dari kombinasi tiga unit isoprene. Sesquiterpene termasuk dalam senyawa tak jenuh. Berikut adalah contoh dari sesquiterpene.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id



Gambar 2.6 Struktur Kimia Senyawa Sesquiterpene Farnesene dan Nerolidol
Sumber: Morsy (2017)

Diterpene dibentuk oleh kombinasi head-to-tail dari empat unit isoprene dan diikuti oleh penataan ulang dan/atau substitusi. Berikut ini adalah contoh dari diterpene pada gambar 2.7.



Gambar 2.7 Contoh Senyawa Diterpene Camphorene dan Vitamin A
Sumber: Morsy (2017)

Senyawa ini merupakan komponen penting dari suatu resin tanaman. Diterpen, triterpen dan tetraterpen terdapat dalam konsentrasi yang rendah dalam minyak atsiri.

2. *Oxygenated compounds (terpenoid)*

Terpenoid adalah metabolit sekunder yang mudah menguap yang mudah memberikan aroma pada tanaman. Terpenoid dapat dibagi lagi menjadi aldehid, eter, alkohol,

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

ester, keton, fenol, dan epoksida. Contohnya adalah borneol yang ada dalam minyak kamper, rosemary, dan lavender, carvacol yang ditemukan dalam minyak oregano, carvone yang memiliki aroma herbal dapat ditemukan di dalam minyak jinten, dan cineole diperoleh dari isolasi minyak kayu putih.

b. Senyawa rantai lurus

Kelompok ini hanya mengandung hidrokarbon, non-terpenoid rantai lurus dan turunan oksigennya; alkohol, aldehid, keton, asam, eter, dan ester. Daun alkohol (3(Z)-hexen-1-ol) dan ester bertanggung jawab terhadap bau rerumputan dan aroma tersebut dikeluarkan melalui jalur octadecenoic. Berikut adalah struktur kimia dari daun alkohol.

$$CH_3\text{-}CH_2\text{-}CH{=}CH\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}OH$$

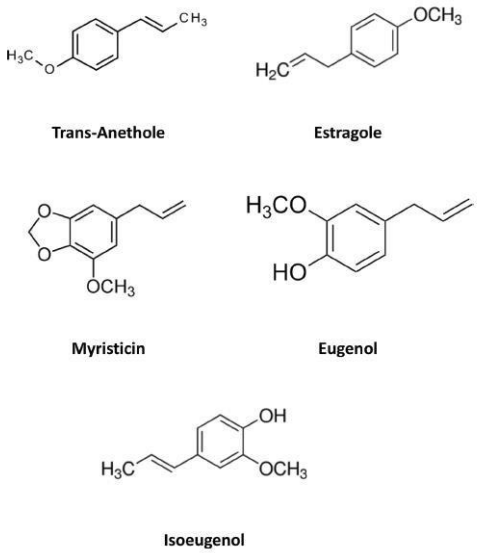
Gambar 2.8 Struktur Kimia Daun Alkohol
Sumber: Morsy (2017)

c. *Fenilpropen* (turunan benzene)

Senyawa aromatik ini merupakan salah satu kelompok penting yang memberikan aroma meskipun terdapat dalam jumlah yang kecil di dalam minyak atsiri. Gugus non-terpenoid ini terdiri dari konstituen yang berasal dari yang berasal dari n-propilbenzena. Fenilpropen merupakan subfamili dari fenilpropanoid yang disintesis dari asam amino fenilalanin dan L-tirosin melalui jalur asam shikimik. Contoh dari kelompok ini

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

adalah trans-anethole, metil chavicol, eugenol, isoeugenol, vanillin, safrol, myristi cin dan cinnamaldehyde.

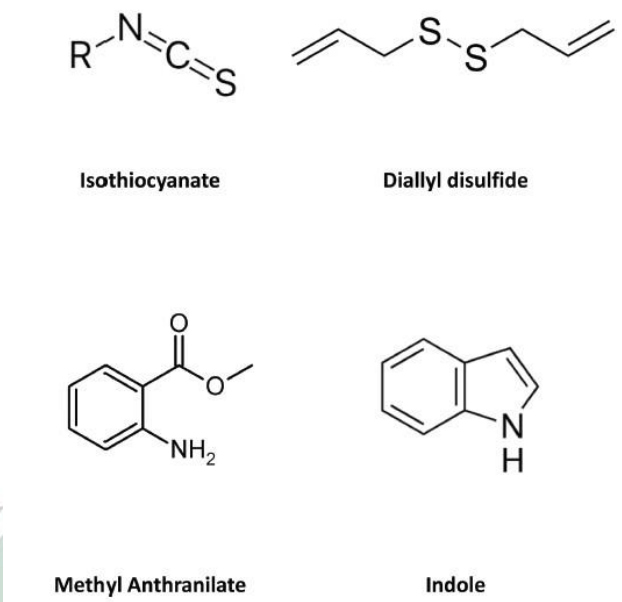


Gambar 2.9 Struktur Kimia Fenilpropen
Sumber: Morsy (2017)

d. Kelompok lain-lain (senyawa yang mengandung belerang dan nitrogen)

Senyawa-senyawa pada kelompok ini adalah senyawa yang tidak termasuk dalam tiga kelompok yang sudah disebutkan sebelumnya. Kelompok ini adalah produk degradasi yang berbeda yang berasal dari asam lemak tak jenuh, lakton, glikosida, dan sulfur.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id



Gambar 2.10 Struktur Kimia dari senyawa sulfur- dan nitrogen-
Sumber: Morsy (2017)

2.2.2 Pengolahan Minyak Atsiri

Menurut Widiastuti (2012), minyak atsiri pada tumbuhan dapat diperoleh dengan empat cara, yaitu:

a. Penyulingan (*distillation*)

Penyulingan merupakan suatu proses pemisahan secara fisik dua komponen yang memiliki titik didih yang berbeda. Proses dari penyulingan yaitu dengan terlebih dahulu mendidihkan senyawa yang mempunyai titik didih rendah. Metode ini cocok digunakan untuk menyuling minyak atsiri yang bersifat tahan terhadap panas, seperti diantaranya minyak cengkeh, pala, nilam, jahe dan akar wangi.

b. Pressing (*expression*)

Pressing atau pengepresan adalah suatu metode yang menggunakan tekanan untuk mengeluarkan minyak yang

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

terkandung di dalamnya. Alat yang digunakan untuk pressing disebut dengan gydraulic atau expeller pressing. Contoh minyak yang diperoleh dengan metode ini adalah minyak jeruk, dikarenakan minyak dalam jeruk terdapat dalam sel-sel daging buah yang kecil dan dangat mudah mengeluarkan minyak (Harris, 1987).

c. Ekstraksi menggunakan pelarut (*solvent extraction*)

Metode ekstrkasi dilakukan dengan menggunakan pelarut seperti kloroform, alkohol, aseton, eter, dan lemak. Ekstraksi dengan pelarut sesuai dilakukan untuk mendapatkan minyak bunga yang memiliki sifat yang kurang stabil dan jika terkena panas dapat rusak. Bahan tanaman diisikan pada serangkaian penampaan yang kemudian dialiri oleh bahan pelarut secara berkesinambungan, menggunakan teknik arus-lawan (*countercurrent technique*) sampai proses ekstraksi selesai (Harris, 1987).

d. Adsorbsi oleh lemak padat (*enfluenrasi*)

Metode ini khusus digunakan untuk memisahkan minyak dari bunga serta untuk mendapatkan kualitas dan rendeman minyak yang tinggi.

2.2.3 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Mutu Minyak Atsiri

Menurut Yuliani (2012), tingkat mutu pada minyak atsiri perlu diperhatikan agar kandungan yang terdapat pada minyak atsiri tetap terjaga. Terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

kandungan mutu minyak atsiri, berikut merupakan beberapa faktornya:

a. Bahan baku

Kondisi bahan baku yang baik mempengaruhi mutu dan kualitas dari minyak atsiri, seperti tingkat kematangan pada bahan baku, cara pemetikan, dan cara merawat bahan baku tersebut.

b. Penanganan pasca panen

Ketidakseragaman penanganan pascapanen pada minyak atsiri dapat mengurangi mutunya karena penanganan pada setiap bagiannya seperti batang, daun, bunga, biji dan kulit tidak sama.

c. Proses produksi

Proses produksi yang tidak sesuai dapat berdampak negatif. Kesalahan dalam proses produksi akan menurunkan rendemen dan kualitas minyak atsiri yang dihasilkan.

d. Penyimpanan

Penyimpanan untuk minyak atsiri juga perlu diperhatikan, ada baiknya bila menyimpan minyak atsiri dalam botol kaca berwarna gelap. Jika minyak atsiri disimpan dalam botol logam, warna minyak atsiri dapat berubah dari bening menjadi cokelat karena reaksi karat dari logam yang digunakan.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

2.3 Artemia salina

Artemia salina merupakan jenis udang-udangan Crustacea dari filum Arthropoda yang mengandung berbagai nutrisi terutama protein dan asam-asam amino. Menurut Linnaeus (1758), Artemia salina diklasifikasikan dalam:

Kingdom : Animalia

Filum : Arthropoda

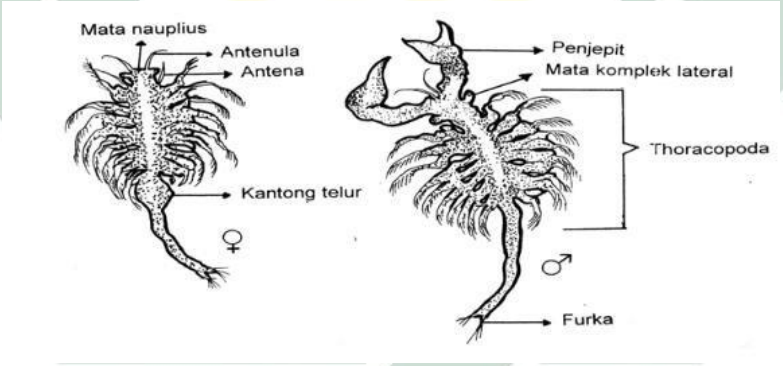
Kelas : Crustacea

Ordo : Anostraca

Famili : Artemiidae

Genus : *Artemia*

Spesies : *Artemia salina*



Gambar 2.11 Morfologi *Artemia salina* Leach
Sumber: Widyastuti (2008)

Artemia salina merupakan golongan dari zooplankton yang hidup melayang di air atau sebagai planktonik. Termasuk dalam krustasea, serta memiliki ukuran yang relatif kecil dan sistem osmoregulasi yang efisien, sehingga dapat beradaptasi dengan berbagai kisaran salinitas (Kholish, 2010). *Artemia salina* Leach hidup sebagai planktonik pada perairan yang memiliki kadar garam tinggi dengan suhu berkisar antara 25ºC-30ºC, oksigen terlarut sekitar 3 mg/L

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

dan pH antara 7-8. *Artemia salina* tidak dapat menghindar dari pemangsanya karena mereka tidak memiliki alat untuk membela diri. Salah satu cara mereka menghindari pemangsanya adalah dengan berpindah ke tempat yang memiliki kandungan garam yang tinggi, karena pemangsa biasanya tidak dapat bertahan dalam kondisi tersebut. Ganggang renik, cendawan, dan bakteri adalah makanan dari *Artemia salina* (Mudjiman, 1995).

Tubuh dari Artemia salina terbagi menjadi 3 bagian, yaitu kepala, dada, dan perut. Pada bagian kepala terdapat 2 antena, 2 antenula dan 2 mata. Dada Artemia salina terbagi menjadi 11 segmen dimana pada setiap segmen terdapat sepasan kaki renang. Sedangkan pada bagian perut terbagi menjadi 8 segmen. Reproduksi *Artemia salina* yaitu bertelur dan melahirkan. Kandungan klorofil dalam makanan dan faktor oksigen pada lingkungan memungkinkan terjadinya perubahan pada reproduksi *Artemia salina*. Apabila konsentrasi oksigen rendah dan klorofil tinggi dalam makananannya, maka Artemia salina akan bereproduksi dengan bertelur dan apabila sebaliknya, maka Artemia salina akan bereproduksi dengan melahirkan (Mudjiman, 1988).

Artemia salina dapat dimanfaatkan dalam penelitian, yaitu sebagai hewan coba dalam skrining untuk menentukan toksisitas suatu ekstrak tanaman. Sebelumnya, Artemia salina juga digunakan dalam berbagai uji seperti uji pestisida, anestesik, polutan, mikotoksin, komponen seperti morfin, dan toksikan dalam air laut. Menggunakan Artemia salina dalam penelitian memiliki berbagai keuntungan diantaranya adalah murah, cepat, mudah dan sederhana. Sebelum digunakan dalam penelitian, telur Artemia salina ditetaskan terlebih dahulu. Beberapa faktor yang perlu diperhatikan ialah

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

hidrasi dari kista, derajat keasaman, penyinaran dan kepadatan telur dalam media penetasan (Wibowo, 2013).

2.4 Uji Sititoksik

Uji sitotoksik merupakan metode awal yang dilakukan sebagai sebuah upaya untuk mendeteksi keberadaan senyawa antitumor pada obat-obatan dengan mekanisme sitotoksik. Metodenya meliputi uji kuantitatif yang mempertimbangkan jumlah kematian sel (Haryoto, 2013). Senyawa sitotoksik merupakan senyawa yang dapat merusak sel normal dan sel kanker serta dapat pula berperan dalam menghambat pertumbuhan sel tumor ganas. Untuk mengetahui bahwa suatu senyawa memiliki sifat antitumor dan antikanker, maka perlu dilakukan uji pendahuluan, salah satunya dengan metode BSLT. Metode BSLT merupakan salah satu metode yang digunakan untuk menemukan senyawa antikanker pada tanaman (Purwanto, 2015).

BSLT atau *Brine Shrimp Lethality Test* merupakan metode suatu bahan yang bersifat toksik dan digunakan sebagai bioassay untuk penelitian bahan alam dengan menggunakan *Artemia salina* Leach sebagai hewan uji. Jangka waktu yang dibutuhkan untuk mengetahui efek toksik pada senyawa adalah 24 jam setelah pemberian dosis uji. Kemudian menentukan nilai LC50 atau Lethal Concentration dari aktivitas senyawa toksik terhadap Artemia salina Leach (Carballo, 2002). Nilai LC50 adalah nilai yang menunjukkan bahwa konsentrasi bahan penyebab kematian sebesar 50% dari jumlah hewan coba. Adapun beberapa kelebihan dari metode BSLT, yaitu merupakan metode penapisan yang cepat, mudah dan tidak mahal, memiliki tingkat kepercayaan

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

uji sebesar 95%, metode awal untuk mengisolasi senywa toksik dalam tanaman, dan metode untuk mengetahui adanya senyawa antikanker pada tanaman (Wibowo, 2013). Suatu zat dapat dikatakan sebagai toksik atau aktif apabila ekstrak dari zat tersebut memiliki nilai LC50 < 1000 ppm (Meyer, 1982). Berikut adalah tabel tingkat ketoksikan menurut Silva (2015).

Tabel 2.1 Nilai Tingkat Ketoksikan LC50

Rentang LC50	Tingkatan Ketoksikan
>1000	Non-toksik
500-1000	Toksik rendah
0-100	Toksik tinggi

Sumber: Silva, 2015

Menurut Lu (1995), nilai LC50 digunakan untuk uji jangka pendek, karena LC50 tidak berfokus pada kerusakan pada suatu organ tertentu, namun berfokus pada jumlah kematian dari *Artemia salina* Leach. Hasil uji dikatakan efektif apabila menyebabkan 50% kematian apabila kurang dari 1000 ppm (Lisdawati, 2006). Jika suatu ekstrak tanaman memiliki sifat toksik yang memenuhi nilai LC50, maka menandakan bahwa tanaman tersebut memiliki kemampuan sebagai obat antikanker karena adanya hubungan antara sitotoksik dan metode BSLT terhadap tanaman yang diteliti (Carballo, 2002).

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

BAB III
METODE

3.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Eksperimental. Uji sitotoksik menggunakan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethal Test*) dengan 6 konsentrasi yang berbeda yaitu 0 ppm, 10 ppm, 20 ppm, 100 ppm, 500 ppm, dan 1000 ppm.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Pengerjaan Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Integrasi UIN Sunan Ampel Surabaya pada bulan Agustus 2019 hingga Desember 2020.

Tabel 3.1 Jadwal Pelaksanaan Penelitian

No.	Kegiatan	Bulan																
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
1	Persiapan																	
2	Pembuatan proposal skripsi																	
3	Seminar proposal																	
4	Pengamatan dan pelaksanaan penelitian di laboratorium																	
5	Analisis data penelitian																	
6	Pembuatan draft skripsi																	

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

No.	Kegiatan	Bulan																
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
7	Seminar hasil penelitian																	

3.3 Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang diperlukan pada penelitian ini yaitu satu set alat soxhlet, gelas beker, gelas ukur, Erlenmeyer, labu tentukur, oven, botol vial/botol urine, kertas saring, aluminium foil, aquarium kecil.

Bahan yang diperlukan pada penelitian ini adalah tanaman secang (*Caesalpinia sappan*), aquades, *Artemia salina* Leach, N-heksana, alcohol, air laut.

3.4 Variabel Penelitian

Variabel pada penelitian ini dibagi menjadi 3 yaitu variabel kontrol, terikat, dan bebas. Variabel kontrol dari penelitian ini adalah tanaman *Caesalpinia sappan* dan *Artemia salina* Leach. Lalu untuk variabel terikat dari penelitian ini adalah tingkat sitotoksik. Sedangkan untuk variabel bebasnya adalah minyak atsiri batang dan biji *Caesalpinia sappan*.

3.5 Prosedur Penelitian

A. Preparasi sampel

Batang dan Biji tanaman secang diambil di sekitar daerah Malang. Lalu batang dan biji dari tanaman secang dicuci hingga bersih. Kemudian batang dan biji tersebut dipotong hingga kecil untuk

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

dikeringkan menggunakan oven. Setelah pengeringan, sampel diblender agar menjadi halus. Untuk mendapatkan sampel yang lebih halus, sample diayak menggunakan ayakan dengan ukuran 70 mesh.

B. Ekstraksi Soxhlet

Sampel untuk batang ditimbang sebanyak 10 g dan untuk biji 30 g. Selanjutnya sampel dibungkus dengan kertas saring dan dimasukkan ke dalam wadah gelas yang ada pada alat soxhlet. Wadah gelas tersebut diletakkan di atas labu. Pelarut n-heksana diukur sebanyak 200 ml dan dimasukkan ke dalam labu soxhlet. Pelarut dalam labu dipanaskan dengan kompor dengan suhu 70°C sesuai dengan titik didih n-heksana. Pelarut dalam labu akan menguap menuju pendingin balik melalui pipa dan berkondensasi di dalamnya, kemudian pelarut akan menetes ke dalam wadah tempat sampel diletakkan, pelarut tersebut akan menarik sampel yang diekstrak. Pelarut yang bercampur dengan sampel akan memenuhi wadah gelas tersebut dan apabila sudah memenuhi wadah gelas maka pelarut beserta ekstrak didalamnya akan mengalir turun ke dalam labu (Voight, 1994). Proses ini berlangsung berulang kali hingga pelarut dalam wadah gelas menjadi jernih atau bening. Ekstrak yang telah didapatkan dari proses ekstraksi kemudian dimurnikan dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 50°C.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

C. Uji Sitotoksik BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)

1. Persiapan *Artemia salina* Leach

Langkah awal untuk menyiapkan larva *A. salina* adalah dengan merendam telur *A. salina* ke dalam wadah yang berisi aur laut atau air dengan campuran garam. Alat untuk menetaskan telur dilengkapi dengan aerator untuk suplai oksigen dan lampu sebagai sumber cahaya. Telur udang ditimbang sebanyak 5 gr/liter air dan dimasukkan ke dalam wadah dan dibiarkan menetas selama 24 jam. Setelah 24 jam telur menetas, larva dipindahkan ke dalam kotak aquarium kecil yang berisi 300 ml air laut atau air garam. Kotak tersebut terbagi menjadi dua bagian yang dihubungkan oleh lubang-lubang kecil. Salah satu bagian tempat penetasan diberi kondisi gelap dan bagian lain diberi kondisi yang terang dengan ditambahkan aerator. Larva yang baik akan berenang ke tempat yang terang karena bersifat fototropik. Larva udang yang digunakan adalah yang berumur 48 jam setelah dipindahkan ke dalam kotak aquarium.

2. Pembuatan Konsentrasi Sampel dan Kontrol

Minyak atsiri dari *Caesalpinia sappan* dipipet sebanyak 100 mg. Kemudian dilarutkan ke dalam air laut sebanyak 0,1 L sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm sebagai larutan stok. Dibuat beberapa konsentrasi yaitu 10 ppm, 20 ppm, 100 ppm,

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

500 ppm, dan 1000 ppm, dengan menambahkan larutan stok ke dalam vial masing-masing sebanyak 1 ml, 2 ml, 10 ml. 50 ml, dan 100 ml.

3. Pelaksanaan Uji

Vial yang berisi larutan stok dan air laut diberi 20 ekor *A. salina* Leach yang berumur 48 jam dengan menggunakan pipet tetes. Diberikan satu tetes suspense ragi *Saccharomyces* sebagai makanan bagi *A. salina* Leach. Diletakkan botol vial yang berisi *A. salina* dibawah lampu penerangan selama 24 jam. Jika sudah 24 jam, jumlah larva yang hidup dan mati dalam botol vial dihitung. Persen kematian larva dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\%Kematian\ Larva = \frac{\Sigma larva\ uji\ yang\ mati - \Sigma larva\ kontrol\ yang\ mati}{jumlah\ larva\ uji} x100\%$$

3.6 Analisis Data

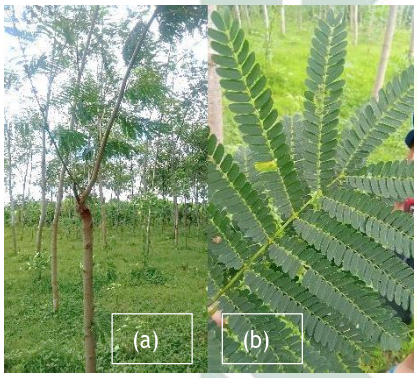
Data yang telah diperoleh dari uji sitiotoksik kemudian dihitung % kematian larva yang selanjutnya diolah untuk mendapatkan nilai LC50. Data persentase yang didapat kemudian digunakan untuk mengetahui analisis probit dengan membuat persamaan regresi linear y = a (x) + b menggunakan program Microsoft Excel, dengan y = probit dan x = konsentrasi.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman secang (*Caesalpinia sappan*) yang sudah memiliki biji dan berkayu karena bagian yang digunakan adalah batang dan biji dari Secang. Berikut adalah gambar dari tanaman secang beserta batang dan biji yang digunakan dalam penelitian ini (Gambar 4.1; Gambar 4.2; dan Gambar 4.3)



Gambar 4.1 (a) Tanaman Secang (*Caesalpinia sappan*), (b) Daun Secang
Sumber: Dokumentasi Pribadi, 2020

Gambar 4.2 (a) Kenampakan luar batang secang, (b) Batang pohon secang yang telah dipotong, (c) Serutan kayu secang
Sumber: Dokumentasi Pribadi, 2020

Gambar 4.3 Biji Secang
Sumber: Dokumentasi Pribadi, 2020

Batang dan biji secang didapatkan dari satu pohon secang yang memiliki ciri-ciri berwarna kecokelatan, memiliki tonjolan yang berbeda-beda dan berduri

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

pada batangnya. Buah secang berbentuk polong, ujungnya seperti paruh, tebal, lonjong, pipih dan memiliki 3-4 biji. Bijinya berbentuk bulat pipih memanjang dengan warna kecokelatan.

Batang dan biji Secang yang digunakan ditumbuk menjadi serbuk untuk mempermudah dalam proses ekstraksi karena luas permukaannya yang kecil sehingga senyawa aktif yang terdapat dalam secang dapat cepat larut. Batang dan biji secang yang telah menjadi serbuk kemudian diayak dan diperoleh hasilnya yaitu 43 g dan 90 g.

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode soxhlet, disebut juga dengan metode padat-cair yang berkesinambungan. Metode padat-cair karena substansi yang akan diekstrak terdapat dalam simplisia yang berbentuk padat dan disebut berkesinambungan karena pelarut yang sama digunakan berulang kali hingga proses ekstraksi selesai. Menurut Kadji et al (2013), ekstraksi soxhlet menghasilkan lebih banyak rendeman dibandingkan dengan ekstraksi dengan metode maserasi, karena adanya panas yang membuat pelarut dapat mengekstraksi senyawa yang tidak dapat larut ketika dalam suhu kamar serta karena adanya kontak yang tersirkulasi antara pelarut dan simplisia sehingga terjadi penarikan senyawa yang lebih maksimal dan memberikan rendeman yang lebih banyak dibandingkan dengan maserasi.

Metode ekstraksi soxhlet memiliki beberapa keuntungan dan kelemahan. Keuntungan dari metode ini adalah ekstrak yang didapatkan cukup besar, kemudahan dalam merangkai alat soxhlet, dan pelarut yang digunakan tidaklah banyak karena pelarut yang sama dapat digunakan berulang kali untuk proses

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

ekstraksi hingga selesai. Sedangkan kelemahan dari metode soxhlet adalah pelarut yang digunakan harus tahan panas sehingga menggunakan pelarut N-heksana dan senyawa yang diekstrak adalah minyak atsiri yang juga tahan terhadap panas. Selain itu, ekstrak yang sudah melalui proses ekstraksi selanjutnya dimasukkan ke dalam rotary evaporator yang bertujuan untuk menghilangkan pelarut yang terdapat dalam ekstrak sehingga hanya tersisa ekstraknya saja.

Pelarut yang digunakan dalam metode esktraksi ini adalah N-Heksana. N-Heksana adalah senyawa hidrokarbon alkana yang memiliki rumus kimia C_6H_{14}. Penggunaaan pelarut n-heksana dalam penelitian ini adalah karena n-heksana memiliki sifat yang stabil dan mudah penguap sehingga cocok untuk metode ekstraksi. N-heksana merupakan jenis pelarut non-polar, bersifat selektif dalam melarutkan zat, menghasilkan sedikit albumin, lilin dan zat warna tetapi mengekstrak zat pewangi dengan jumlah yang cukup besar.

4.1 Karakteristik Minyak Atsiri Batang dan Biji Tanaman Secang (*Caesalpinia sappan*)

Minyak atsiri batang dan biji tanaman secang memiliki penampilan fisik berwarna kuning hingga coklat tua, dimana minyak atsiri batang secang lebih terang dengan warna kuning kecoklatan dibandingkan dengan biji secang yang memiliki warna coklat tua (Gambar 4.1). Sedangkan untuk aroma, kedua minyak atsiri memiliki aroma yang khas dari tanaman secang (*Caesalpinia sappan*). Kedua minyak atsiri telah diuji kelarutannya dalam

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

alkohol dan air, hasilnya keduanya larut dalam alkohol dan tidak dapat larut dalam air.

Gambar 4.1 Minyak Atsiri Secang (*Caesalpinia sappan*), (a) minyak atsiri biji secang, (b) minyak atsiri batang secang
Sumber: Dokumentasi pribadi, 2020

Tabel 4.1 Karakteristik Minyak Atsiri Batang dan Biji Tanaman Secang

Parameter	Nilai Hasil Uji Minyak Atsiri		
	Batang	Biji	Sifat umum (Gomarjoyo, 2015)
Rendemen	10%	11,7%	-
Massa Jenis	1 gr/cm3	0,9 gr/cm3	0,698-1,188 gr/cm3
Warna	Kuning kecoklatan	Coklat tua	Hijau, coklat, kuning, merah
Aroma	Khas secang	Khas secang	Merangsang atau menyengat dan khas tiap jenis minyak atsiri

Sumber: Dokumentasi pribadi, 2020

Tabel 4.1 menunjukkan perbandingan sifat fisik mintyak atsiri batang dan biji secang pada penelitian ini dengan sifat fisik secara umum menurut penelitian dari Gomarjoyo (2015). Hasil rendemen dari batang dan

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

biji secang secara berurutan adalah 10% dan 11,7%. Massa jenis dari minyak atsiri batang secang adalah 1 gr/cm^3 dan untuk biji secang adalah 0,9 gr/cm^3.

Dari sebagian sifat fisik yang telah disebutkan, apabila dibandingkan dengan sifat umumnya, minyak atsiri pada penelitian ini sudah dapat dikatakan sebagai minyak atsiri. Menurut Sani (2011), sifat dari minyak atsiri bergantung pada komponen penyusunnya dan dapat berubah ketika masih dalam bentuk bahan, atau ketika proses ekstraksi, penyimpanan, dan pemanenan. Minyak atsiri memiliki sifat non-polar, begitu pula dengan N-heksana. Sesuai dengan teori like dissolve like yang berbunyi senyawa non-polar akan larut dalam senyawa non-polar. Maka dari itu, dalam penelitian ini digunakan n-heksana karena memiliki sifat kepolaran yang sama dengan minyak atsiri.

4.2 Uji Sitotoksik Batang dan Biji Secang pada *Artemia salina*

Pengujian sitotoksik pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan 6 konsentrasi yang berbeda, yaitu 10 ppm, 20 ppm, 100 ppm, 500 ppm dan 1000 ppm serta konsentrasi 0 ppm sebagai kontrol. Larva Artemia salina yang digunakan dalam uji BSLT adalah larva yang berumur 48 jam atau dalam fase naupli, karena pada fase tersebut larva *Artemia salina* aktif membelah secara mitosis sama seperti sel kanker yang juga berkembang secara mitosis (Ropiqa, 2009). Selain itu, larva *A. salina* yang berumur 48 jam juga masih memiliki banyak cadangan makanan, sehingga

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

larva *Artemia salina* tidak akan mati karena faktor kelaparan tetapi memang mati karena terkena sampel yang dipaparkan.

Data yang telah diperoleh kemudian dianalisis dengan analisis probit menggunakan Microsoft Excel untuk mendapatkan nilai LC50. Analisis probit ini digunakan untuk mendapatkan kurva garis lurus dengan variabel tetap atau nilai x-nya yaitu konsentrasi sampel yang ditransformasikan menjadi logaritma konsentrasi dan variabel tergantung atau nilai y adalah presentase kematian larva yang ditransformasikan menjadi nilai probit. Nilai x dan y yang telah didapatkan kemudian dianalisis dengan analisis regresi linear untuk mengetahui adanya pengaruh hubungan antara 2 variabel yaitu logaritma konsentrasi sampel dan nilai probit presentase kematian larva.

Hasil dari uji sitotoksik batang secang (*Caesalpinia sappan*) dengan menggunakan larva Artemia salina ditunjukkan pada tabel 4.2.

Tabel 4.2. Hasil Uji Sitotoksik Minyak Atsiri Batang Secang

Konsen Trasi	Log10 Konsen Trasi	Ulangan	Total Larva	Jumlah Larva Mati	%Morta Litas	Rt-rt %Morta litas	Nilai Probit	LC50
0	0	1	20	0	-	-	-	
		2	20	0	-	-	-	
		3	20	0	-	-	-	
10	1	1	20	16	80%	70	5,47	
		2	20	13	65%			
		3	20	12	60%			
20	1,301	1	20	17	85%	73,33	5,58	
		2	20	15	75%			
		3	20	12	60%			0,831

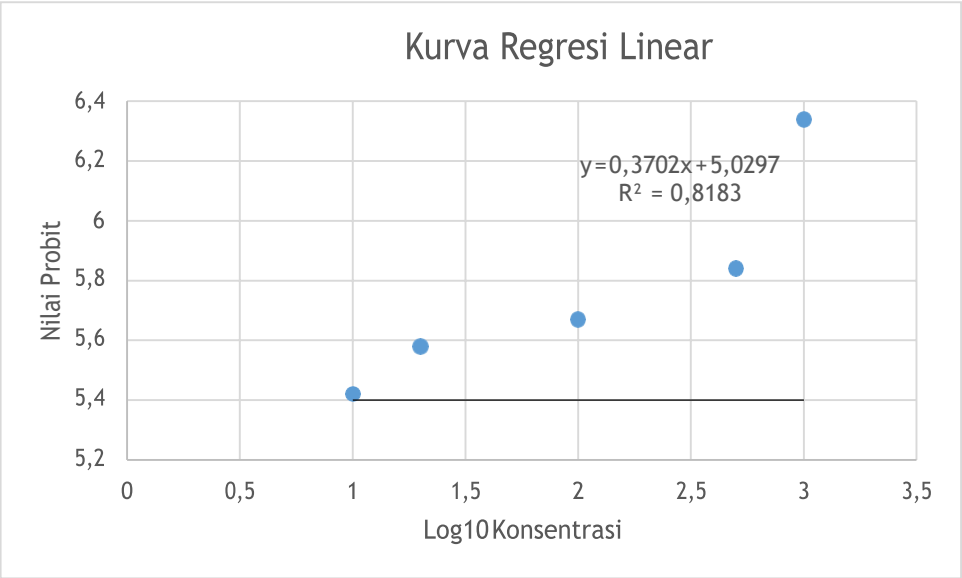
digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

100	2	1	20	13	65%	75	5,67	
		2	20	17	85%			
		3	20	15	75%			
500	2,698	1	20	15	75%	80	5,84	
		2	20	16	80%			
		3	20	17	85%			
1000	3	1	20	17	85%	91,66	6,34	
		2	20	19	95%			
		3	20	19	95%			

Sumber: Dokumentasi Pribadi, 2020

Berdasarkan tabel (Tabel 4.2) uji sitotoksik minyak atsiri batang secang (*Caesalpinia sappan*) diatas yang masing-masing konsnetrasi dilakukan 3 kali pengulangan, dapat diketahui bahwa konsentrasi terbesar terdapat pada konsentrasi 100 ppm dengan rata-rata mortalitasnya yaitu 91,66%. Sedangkan untuk konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 100 ppm, dan 500 ppm memiliki nilai rata-rata mortalitas 70%, 73,33%, 75%, dan 80%. Pada konsentrasi 0 ppm atau kontrol nilai rat-rata mortalitasnya adalah 0. Nilai probit dari masing-masing konsentrasi dari 10 ppm sampai 1000 ppm secara berturut-turut adalah 5,47; 5,58; 5,67; 5,84; dan 6,34.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id



Gambar 4.2 Kurva Grafik Regresi Linear Log10 Konsentrasi Minyak Atsiri Batang Secang (*Caesalpinia sappan*) dengan Nilai Probit dari Mortalitas *Artemia salina*
Sumber: Dokumentasi Pribadi, 2020

Dari gambar 4.2 yang menunjukkan kurva grafik regresi linear untuk minyak atsiri batang secang (*Caesalpinia sappan*), didapatkan persamaan garis lurusnya yaitu y = 0,3702x + 5,0297 dengan R^2 = 0,8183. Sumbu x pada grafik menunjukkan logaritma konsentrasi dan sumbu y menunjukkan nilai probit. Berdasarkan persamaan garis lurus tersebut didapatkan nilai LC50 untuk minyak atsiri batang secang (*Caesalpinia sappan*) yaitu sebesar 0,831 µg/ml dengan koefisian determinasi atau pengaruh sumbu x (logaritma konsentrasi) terhadap sumbu y (nilai probit) sebesar 81%.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Tabel 4.3. Hasil Uji Sitotoksik Minyak Atsiri Biji Secang

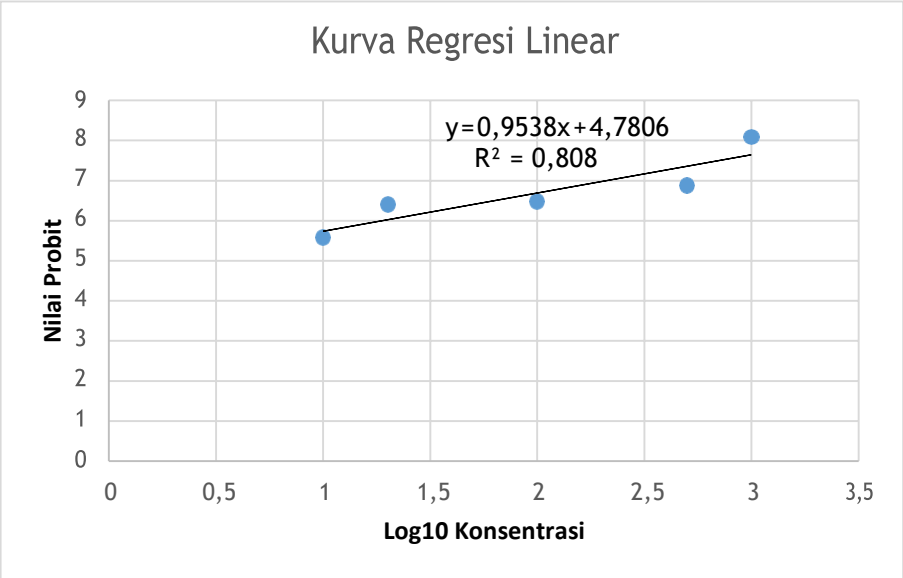
Konsen Trasi	Log10 Konsen Trasi	Ulangan	Total Larva	Jumlah Larva Mati	%Mortalitas	Rt-rt %Mortalitas	Nilai Probit	LC50
0 (Kontrol)	0	1	20	0	-	-	-	
		2	20	0	-	-	-	
		3	20	0	-	-	-	
10	1	1	20	17	85	71,66	5,58	
		2	20	14	70			
		3	20	12	60			
20	1,301	1	20	18	90	91,66	6,41	1,7
		2	20	18	90			
		3	20	19	95			
100	2	1	20	19	95	93,33	6,48	
		2	20	20	100			
		3	20	17	85			
500	2,698	1	20	20	100	96,66	6,88	
		2	20	19	95			
		3	20	19	95			
1000	3	1	20	20	100	100	8,09	
		2	20	20	100			
		3	20	20	100			

Sumber: Dokumentasi Pribadi, 2020

Dari tabel 4.3 dapat diketahui bahwa mortalitas terbesar terdapat pada konsentrasi 1000 ppm yaitu 100% pada 3 ulangan dengan rata-rata mortalitas terkoreksi adalah 100%. Sedangkan mortalitas terkecil yaitu pada konsentrasi 10 ppm dengan rata-rata mortalitas 71,66%. Pada ketiga konsentrasi lainnya yaitu konsentrasi 20 ppm, 100 ppm, dan 500 ppm memiliki rata-rata mortalitas secara berurutan 91,66%, 93,33%, dan 96,66%. Untuk konsentrasi kontrol sendiri memiliki rata-rata sebesar 0%.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Nilai probit dari masing-masing konsentrasi dari 10 ppm sampai 1000 ppm secara berturut-turut adalah 5,58; 6,41; 6,48; 6,88; dan 8,09.



Gambar 4.3. Kurva Grafik Regresi Linear Log10 Konsentrasi Minyak Atsiri Biji Secang (*Caesalpinia sappan*) dengan Nilai Probit dari Mortalitas *Artemia salina*
Sumber: Dokumentasi Pribadi, 2020

Dari kurva grafik regresi linear di atas pada gambar 4.3 didapatkan persamaan garis lurus y = 0,9538x + 4,7806 dengan R^2 = 0,808. Sumbu x pada grafik menunjukkan logaritma konsentrasi dan sumbu y menunjukkan nilai probit. Berdasarkan persamaan garis lurus tersebut didapatkan nilai LC50 untuk minyak atsiri biji secang yaitu sebesar 1,7 µg/ml dengan besarnya pengaruh antara sumbu x (logaritma konsentrasi) terhadap sumbu y (nilai probit) atau nilai koefisien determinasi sebesar 80%

Hasil uji sitotoksik dinyatakan dengan Lethal Concentration 50 (LC50), yaitu konsentrasi optimum ekstrak yang dapat membunuh 50% populasi larva *Artemia salina*. Pada kedua uji sitotoksik yang telah dilakukan diketahui bahwa nilai LC50 untuk biji dan batang secang adalah

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

1,7 µg/ml dan 0,83 µg/ml. Menurut Meyer (1982), suatu senyawa dapat dikatakan memiliki kandungan bioaktivitas apabila nilai LC50 <1000 µg/mL. Berdasarkan penelitian, kedua sampel batang dan biji tanaman secang (*Caesalpinia sappan*) memiliki kandungan bioaktivitas yang sesuai dengan pernyataan Meyer (1982). Maka, kedua senyawa dalam penelitian ini termasuk dalam kategori toksik tinggi karena memiliki nilai LC50 0,83 µg/ml dan 1,7 µg/ml. Dari kedua nilai LC50 pada minyak atsiri batang dan biji tanaman secang, diketahui pula bahwa nilai LC50 pada minyak atsiri batang secang lebih besar dibandingkan dengan nilai LC50 pada minyak atsiri biji secang. Hal tersebut menunjukkan bahwa minyak atsiri pada batang secang memiliki kemampuan sitotoksik lebih tinggi dibandingkan dengan minyak atsiri biji secang karena nilai LC50 minyak atsiri batang secang lebih tinggi daripada biji secang, sesuai dengan Meyer (1982) yang menyatakan bahwa semakin rendah nilai LC50 maka semakin toksik pula senyawa tersebut.

Minyak atsiri memiliki berbagai komponen senyawa, salah satunya yang terbesar adalah dari golongan terpenes, seperti pada penelitian Sholichah (2009), diketahui bahwa di dalam minyak atsiri daun secang (*Caesalpinia sappan*) terdapat dua golongan senyawa yaitu monoterpene dan sesquiterpene. Selain itu, ekstrak kayu secang juga memiliki senyawa terbesar yaitu brazilin yang memiliki kemampuan aktivitas sitotoksik (Harianti, 2018). Lalu, untuk kandungan senyawa pada minyak atsiri genus *Caesalpinia* lain yaitu *Caesalpinia pulcherrima* terdapat pada penelitian

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Azevedo (2018) yang menyatakan dalam penelitiannya bahwa kembang merak kuning mengandung senyawa oxigenated sesquiterpenes sebanyak 64,32%, kembang merak oranye mengandung monoterpenoid hydrocarbons sebanyak 33,82%, dan sesquiterpenoid hydrocarbons yang terkandung dalam kembang merak merah dan merah muda sebanyak 33,57% dan 64,08%. Maka dari itu, dengan adanya penelitian mengenai kandungan minyak atsiri daun secang yang terdiri dari golongan monoterpene dan sesquiterpene serta kandungan sesquiterpene dan monoterpenoid pada minyak atsiri 4 varietas kembang merak (*Caesalpinia pulcherrima*) yang memiliki genus sama dengan tanaman secang (*Caesalpinia sappan*), dapat diduga bahwa kandungan minyak atsiri pada batang dan biji tanaman secang juga memiliki kedua senyawa tersebut sehingga dapat menyebabkan kematian larva yang cukup tinggi dengan nilai LC50 minyak atsiri biji dan batang yaitu 1,7 µg/ml dan 0,83 µg/ml.

Kematian larva *Artemia salina* pada uji sitotoksik memiliki beberapa mekanisme. Mekanisme kematian larva dipengaruhi oleh kandungan yang terdapat dalam minyak atsiri sehingga menghambat daya makan dari larva *A. salina*. Senyawa-senyawa tersebut akan masuk ke dalam tubuh larva dan bertindak sebagai stomach poisoning (racun perut) yang selanjutnya mengganggu sistem pencernaan larva *A. salina*. Selain itu, senyawa-senyawa tersebut dapat mengganggu reseptor rasa yang ada di sekitar mulut larva dan menyebabkan larva tidak mampu mengenali makanannya sendiri dan akan mati kelaparan (Cahyadi, 2009). Menurut

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

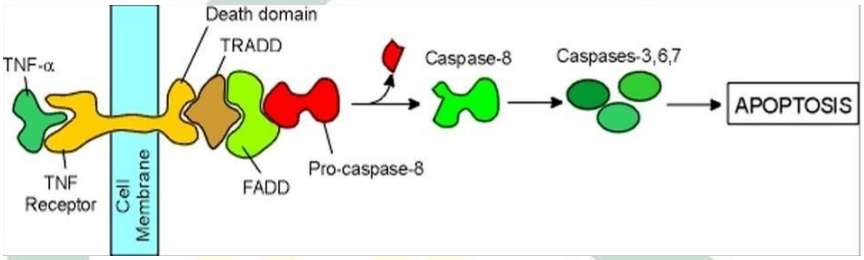
Solis (1993), Larva *Artemia salina* digunakan dalam uji antikanker dikarenakan memiliki tipe DNA-dependant RNA-polymerase yang sama dengan mamalia. Organisme ini juga memiliki senyawa ouabaine-sensitive Na^+ dan K^+ dependant ATPase. Apabila suatu senyawa ditemukan memiliki aktivitas disana, maka senyawa tersebut dapat segera terdeteksi dan jika suatu senyawa mengganggu kerja salah satu enzim tersebut dan menyebabkan larva *Artemia salina* mati, maka senyawa tersebut memiliki sifat toksik dan dapat mematikan sel.

Mekanisme kematian larva *Artemia salina* sebagai hewan uji adalah dengan mengibaratkan *Artemia salina* sebagai sebuah sel yang dilapisi membrane semipermeabel, kemudian molekul antitoksik akan masuk ke dalam tubuh *Artemia* melalui mekanisme difusi pasif. Dalam sel atau tubuh *Artemia salina*, molekul tersebut akan merusak enzim DNA-dependant RNA-polymerase atau Na^+ dan K^+ dependant ATPase dan menyebabkan kematian sel (Cahyani, 2007).

Pada penelitian sebelumnya telah disebutkan bahwa pada genus *Caesalpinia* terdapat beberapa senyawa seperti monoterpenoid, sesquiterpenoid dan flavonoid. Senyawa-senyawa tersebut memiliki potensi sebagai antikanker dengan berbagai mekanisme. Mekanisme sitotoksik dari senyawa tersebut adalah dengan menyebabkan terjadinya apoptosis yaitu kematian sel yang terprogram dan memiliki tujuan untuk menstabilkan populasi sel. Sel akan menerima signal yang diekeluarkan oleh protein sel yang kemudian mempengaruhi mitokondria untuk meningkatkan

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

permeabilitas membrannya, sehingga mengeluarkan faktor-faktor pemicu apoptosis seperti sitokrom C dan Apaf 1. Selanjutnya sitokrom C berikatan dengan Apaf 1 dan ATP. Setelah itu ikatan sitokrom C dengan Apaf dan ATP mengikat procaspase 9 membentuk kompleks apoptosome. Kompleks apoptosome ini kemudian akan memotong procaspase 9 dan mengubahnya menjadi caspase 9, lalu mengaktifkan caspase 3 dan terjadi apoptosis.



Gambar 4.4 Mekanisme monoterpenoid dan sesquiterpenoid menginduksi apoptosis
Sumber: Cahyani, 2007

Monoterponoid dan sesquiterpenoid menginduksi apoptosis melalui jalur ekstrinsik dengan jalur Fas/Fas ligand. Ketika menjalankan tugasnya, Fas reseptor harus berinteraksi dengan Fas ligand. Interaksi yang terjadi antara keduanya dinamakan dengan DISC atau death-induced signaling complex. DISC terdiri dari dari beberapa protein seperti FADD, caspase 8 dan 10. DISC merupakan protein sel yang memberikan sinyal untuk melakukan apoptosis. Peran monoterpenoid disini adalah untuk menggantikan FADD sehingga proses apoptosis tetap berlangsung serta sel dapat dimatikan (Cahyani, 2007).

Jauh sebelum berkembangnya ilmu pengetahuan dan teknologi modern, Allah SWT telah menerangkan dalam Al-Qur’an bahwa terdapat banyak tumbuhan dengan berbagai jenisnya dan memiliki manfaat yang

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

melimpah bagi kehidupan seluruh makhluk hidup (Qardhawi, 2002). Pemanfaatan tanaman obat sangat diperlukan untuk memperkaya jenis tanaman obat yang ada di Indonesia. Adapun seperti yang terdapat pada Q.S. Yasin 33-35 sebagai berikut:

وَءَايَةٌ لَّهُمُ ٱلْأَرْضُ ٱلْمَيْتَةُ أَحْيَيْنَٰهَا وَأَخْرَجْنَا مِنْهَا حَبًّا فَمِنْهُ يَأْكُلُونَ وَجَعَلْنَا
فِيهَا جَنَّٰتٍ مِّن نَّخِيلٍ وَأَعْنَٰبٍ وَفَجَّرْنَا فِيهَا مِنَ ٱلْعُيُونِ لِيَأْكُلُوا۟ مِن ثَمَرِهِۦ وَمَا
عَمِلَتْهُ أَيْدِيهِمْ ۖ أَفَلَا يَشْكُرُونَ

Artinya: *Dan suatu tanda (kebesaran dan kekuasaan Allah SWT) bagi mereka adalah bumi yang mati (kering dan tandus, lalu) Kami menghidupkannya (dengan air hujan) dan Kami keluarkan darinya biji-bijian, maka darinya mereka makan. Dan Kami (juga) telah menjadikan padanya kebun-kebun kurma dan anggur, dan Kami pancarkan padanya beberapa mata air. Supaya mereka dapat makan dari buahnya, dan dari apa yang diusahakan oleh tangan mereka. Maka tidakkah mereka bersyukur?*

Pada Q.S. Yasin 33-35 dijelaskan bahwa dari tanah yang gersang Allah telah menurunkan hujan dan menumbuhkan berbagai tumbuh-tumbuhan. Dari tumbuh-tumbuhan tersebut maka dapat dimanfaatkan sebagai makanan oleh manusia maupun ternak dengan atas izin dari Allah. Maka dari itu, hendaknya manusia dapat bersyukur dengan berbagai nikmat yang telah diberikan oleh Allah SWT.

Allah SWT menciptakan segala sesuatunya di bumi ini dengan fungsi dan manfaatnya masing-masing, begitu pula dengan tanaman yang memiliki berbagai manfaat bagi manusia selain sebagai makanan. Allah SWT berfirman dalam Q.S. Asy Syu'ara 7:

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

أَوَ لَمۡ يَرَوۡاْ إِلَى ٱلۡأَرۡضِ كَمۡ أَنۢبَتۡنَا فِيهَا مِن كُلِّ زَوۡجٖ كَرِيمٍ

Artinya: *Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?*

Menurut Tafsir Al-Mukhtashar, Q.S. Asy Syu'ara 7 menjelaskan agar manusia lebih memperhatikan tanaman di sekitarnya yang memiliki jenis beragam dan manfaat yang sangat melimpah, salah satunya yaitu sebagai tanaman obat. Tanaman secang (*Caesalpinia sappan*) hanyalah satu dari banyaknya tanaman obat yang belum banyak dimanfaatkan secara optimal, sedangkan Allah SWT telah menciptakan berbagai tanaman agar dapat dimanfaatkan oleh manusia menjadi bahan yang berguna bagi kehidupan manusia di masa kini maupun masa mendatang.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

BAB V
PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa minyak atsiri batang dan biji secang memiliki kemampuan sebagai bahan sitotoksik dengan kategori ketoksikan sangat toksik. Masing-masing batang dan biji secang memiliki nilai LC50 sebesar 0,83 µg/ml dan 1,7 µg/ml dengan koefisien determinasi sebesar 81% dan 80%.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji sitotoksik minyak atsiri tanaman secang (*Caesalpinia sappan*) dengan metode sitotoksik yang lebih akurat dengan langsung menggunakan sel kanker, serta diperlukan pengujian sitotoksik lain dengan memanfaatkan tanaman yang belum pernah diteliti atau dengan memanfaatkan bagian tanaman secang yang lain.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

DAFTAR PUSTAKA

Agusta. 2002. *Aromaterapi, Cara Sehat Dengan Wewangian Alami*. Penebar Swadaya, Jakarta.

Ahmedin J, Bray F, Center M, Ferlay J, Ward E, F. D. 2011. Global cancer statistics. CA Cancer J Clin. 2011. *Ca Cancer J Clin*, 61(1), pp. 69–90. doi: 10.3322/caac.20107.

Akhlagi, M., and Bandy, B. 2009. Review Article: Mechanism of Flavonoid Protection Against Myocardial Ischemiareperfusion Injury. *Journal Molecullar and Cellular Cardiology*. 46, 309-317.

Anariawati. 2009. Studi eksperimen pembuatan serbuk instan kayu secang (*caesalpinia sappan*) dengan menggunakan jumlah gula yang berbeda sebagai minuman berkhasiat.

Azevedo, Á. M. A. *et al.* 2018. Chemical Composition of Flowers Essential Oils of Four Varieties from Caesalpinia pulcherrima (L) W. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*. 21(4). pp. 987–993.

Cahyadi, Robby. 2009. Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia* L.) Terhadap Larva *Artemia salina* Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Skripsi*. Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro, Semarang.

Cahyani, Budi, M. R. I. B. 2007. Toksisitas Akut Ekstrak Dietil Dan Ekstrak Metanol Air Dari Herba Pegangan Embun (*Hydrocotyle sibthorpioides* Lmk.) Terhadap *Artemia salina* Leach. *Skripsi*. Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta.

Carballo, J.L., Hernández-Inda, Z.L., Pérez, P., & García-Grávalos, M.D. 2002. A comparison between two brine shrimp assays to detect in vitro cytotoxicity in marine natural products. *BMC Biotechnology.* 2, 17 - 17.

Chamorro, E. R., Zambon, S, N., Morales, W, G., Sequira, A, F., dan Velasco, G. A. 2012. Study of the chemical composition of Essential Oil by Gas Chromatography. National Technological University, Regional Faculty Resistance, UTN Quimobi Group, Argentina.

Direktorat Obat Asli Indonesia. 2008. *Caesalpinia sappan L*. Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.

Eltayeib, A.A. and Ishag, W. 2015. Phytocemical screening, antimicrobial, antioxidant and cytotoxicity activities of bark's crude extract of *Cordia sinensis*. *Adv. Med. Plant Res*. 2, 39-45

Gomarjoyo, H. *et al.* 2015. Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Rendeman Minyak Sereh Wangi. *Ekuilibrium*. 14(2). pp. 57–61.

Hariana. 2006. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Penebar Swadaya Wisma Hijau, Jakarta.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Harris, R. 1987. *Tanaman Minyak Atsiri*. Penebar Swadaya, Jakarta.

Hartono, H. S. O., Soetjipto, H., dan Kristijanto, A. I. 2017. Extraction and Chemical Compounds Identification of Red Rice Bran Oil Using Gas Chromatography – Mass Spectrometry (GC-MS) Method. *Eksakta: Jurnal Ilmu-ilmu MIPA*.

Haryanti, S., Rahmawati, N., dan Widiyastuti, Y. 2018. Cytotoxic and MMPs inhibitory activites of Sappan Wood (Caesalpinia sappan L.): various extracts on 4T1 breast cancer cell line. Health Science Journal of Indonesia. 9(1), 51-56.

Haryoto *et al.* 2013. Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol Tumbuhan Sala (*Cynometra ramiflora Linn*) Terhadap Sel HeLa, T47D dan WiDR. *Jurnal Penelitian Saintek*, 18(Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol Tumbuhan Sala Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol Tumbuhan Sala (*Cynometra ramiflora* Linn) Terhadap Sel HeLa, T47D dan WiDR), pp. 21–28.

Heyne, K. 1987. *Metode Fitokimia Penentuan Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. ITB, Bandung.

Kadji, M. H., Runtuwene, M. R. J. and Citraningtyas, G. 2013. Dari Ekstrak Etanol Daun Soyogik (*Saurauia bracteosa DC*). pp. 13–18.

Lee, Yongkyu. 2016. Cytotoxicity Evaluation of Essential Oil and its Componentfrom *Zingiber officinale* Roscoe. *Toxicological Research*. 32(3): 225-230.

Lisdawati, V., Wiryowidagdo, S. and Kardono, L. B. S. 2006. Bslt Dari Berbagai Fraksi Ekstrak Daging Buah Dan Kulit Biji Mahkota Dewa. *Kesehatan*, 34(3), pp. 111–118.

Lu, C.F. 1995. *Toksikologi Dasar*. Universitas Indonesia, Jakarta.

Lutony, T. L. dan Rahmayati, Y. 1994. *Produksi dan Perdagangan Minyak Atsiri*. Penerbit Penebar Swadaya, Jakarta.

Meyer, B. N., Ferrigni, N. R. and Putnam, J. E. 1982. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica*, 45(1), pp. 31–34. doi: 10.1055/s-2007-971236.

Miller, A. L. 2002. *Antioxidant Flavonoid Structure Function and Clinical Usage*.

Molyneux, P. 2003. The use of the stable free radikal diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal Science of Technology*. 26(2):211-219.

Morsy, N. F. S. 2017. Chemical Structure, Quality Indices and Bioactivity of Essential Oil Constituents. *Active Ingredients from Aromatic and Medicinal Plants*. doi: 10.5772/66231.

Moshafi, M. H., Sharififar, F., Dehghan, G., and Ameri, A. 2009. Bioassay Screening of the Essential Oil and Various Extracts of Fruits of *Heracleum persicum* Desf. and Rhizomes of *Zingiber officinale* Rosc. using Brine

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Shrimp Cytotoxicity Assay. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 8(1): 59-63.

Naeem, A., Abbas, T., Ali, M, T., and Hasnain, A. 2018. Essential Oils: Brief Background and Uses. *Ann Short Reports*. 1(1): 1006.

Nirmal, N. P. *et al.* 2015. Brazilin from Caesalpinia sappan heartwood and its pharmacological activities: A review. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. Elsevier (Singapore) Pte Ltd, 8(6), pp. 421–430. doi: 10.1016/j.apjtm.2015.05.014.

Osei-Safo, D. *et al.* 2010. A comparative study of the antimicrobial activity of the leaf essential oils of chemo-varieties of *Clausena anisata* (Willd.) Hook. f. ex Benth. *Industrial Crops and Products*. Elsevier B.V., 32(3), pp. 634–638. doi: 10.1016/j.indcrop.2010.07.016.

Purwanto, N., Rismawati, E. and Sadiyah, esti R. 2015. Uji Sitotoksik ekstrak biji salak (*Salacca zalacca* (Gaert) Voss dengan menggunakan metode Brine Shrimp lethality test (Bslt). *prosiding penelitian SPeSIA Unisiba prodi farmasi FMIPA*, pp. 616–622.

Puspitasari. 2012. Pengaruh Penambahan Ekstrak Secang (*Caesalpinia sappan L.*) Terhadap Kualitas Dodol Garut. *Skripsi*. Universitas, Surakarta.

Qardhawi, Y. 2002. *Islam Agama Ramah Lingkungan*. Gema Insanni Press, Jakarta.

Roberto, D. *et al.* 2010. Antioxidant activity of limonene on normal murine lymphocytes: Relation to H2O2 modulation and cell proliferation. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*, 106(1), pp. 38–44. doi: 10.1111/j.1742-7843.2009.00467.x.

Ropiqa, M. 2009. Uji Ketoksikan (LC_{50}) Ekstrak Etanol Daun Ekor Kucing (*Acalypa hispida* Burm.f) Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Jurnal*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Tanjungpura, Pontianak.

Rusdi, U. D., Widowati, W. and Marlina, E. T. 2002. Efek Ekstrak Kayu Secang , Vitamin E dan dan vitamin C terhadap Status Antioksidan Total (SAT) Pada Mencit yang terpapar Aflatoksin. *Media Kedokteran Hewan*, 21(2), pp. 66–68.

Sani. 2011. *Minyak dari Tumbuhan Akar Wangi*. Unesa University Press, Surabaya.

Sari, N., Rachma, R. and Santi, S. 2017. Potensi Zat Warna dari Ekstrak Etanol Kayu Sappang Sebagai Kalorimetri Anion *Al-Kimia*, 5(2), pp. 136–144. doi: 10.24252/al-kimia.v5i2.3540.

Seol, Geun Hye *et al.* 2016. Antioxidant activity of linalool in patients with carpal tunnel syndrome. *BMC Neurology*. BMC Neurology, 16(1), pp. 4–9. doi: 10.1186/s12883-016-0541-3.

Solichah, Maratus. 2009. Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri dari Daun Secang (*Caesalpinia sappan* (I)). *Skripsi*. Fakultas MIPA,

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Solis, P. N. *et al.* 1993. A microwell cytotoxicityassay using Artemia salina (brine shrimp). *Planta Medica.* 59(3). pp. 250–252.

Tavish, Mac Hazel and Harris, David. 2002. *An Economic Study of Essential Oil Production in The UK : A Case Study Comparing Non-UK Lavender/Lavandin Production and Peppermint/Spearmint Production With UK Production Technique and Cost*. ADAS Consulting Ltd.

Tjitrosoepomo, G. 1994. *Morfologi Tumbuhan*. UGM Press, Yogyakarta.

Trombetta, D. 2005. Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 49(6), pp. 2474–2478. doi: 10.1128/AAC.49.6.2474-2478.2005.

Utami, M. R., dan Ardiyanti, Y. 2019. Analisis Aktivitas Toksisitas Beberapa Minyak Atsiri Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test. *Journal of Holistic and Health Sciences*. 3(1).

Wibowo, S. 2013. *Artemia*. Penebar Swadaya, Jakarta.

Widiastuti, Ira. 2012. *Sukses Agribisnis Minyak Atsiri*. Pustaka Baru Press, Yogyakarta.

Widowati, W. 2011. Uji Fitokimia dan Potensi Antioksidan Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.) Phytochemical Assay and Antioxidant Potency of Sappan Wood Ethanolic Extract (*Caesalpinia sappan* L.). *JKM. Juli*, 11(1), pp. 23–31.

Xu, Yichun. 2018. 苏木 *Caesalpinia sappan*. Diakses pada 19 Desember 2019. < http://www.fpcn.net/a/qiaomu/20131006/Caesalpinia_sappan.html>

Yuliani, Sri., Satuhu, Suyanti. 2012. *Panduan Lengkap Minyak Atsiri*. Penebar Swadaya, Bogor.

Zhong, X., Wu, B., Pan, Y, J., and Zheng, S. 2009. Brazilein inhibits surviving protein and mrna expression and induces apoptosis in hepatocellular carcinoma HepG2 cells. *Neoplasma*. 56(5): 87-92

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id