

SKRIPSI

RICE DISI OKTARINA

**UJI PRASKRINING AKTIVITAS ANTIKANKER
EKSTRAK ETER DAN EKSTRAK METANOL
Marchantia cataractarum Schiffn DENGAN METODE
*BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BST)***



**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
BAGIAN ILMU BAHAN ALAM
SURABAYA
2004**

KATA PENGANTAR

BISMILLAHIRRAHMANIRRAHIM

Alhamdulillahirrobbil'alamin, segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah Subhanahu Wa Ta'ala atas segala limpahan rahmat, nikmat dan pertolonganNya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **UJI PRASKRINING AKTIVITAS ANTIKANKER EKSTRAK ETHER DAN EKSTRAK METANOL *Marchantia cataractarum* Schiffn DENGAN METODE *BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BST)*** yang diajukan untuk memperoleh gelar sarjana farmasi pada Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.

Penulisan skripsi ini dapat diselesaikan dengan adanya bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu dengan hati yang tulus perkenankan penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Prof. Dr. H. Noor Cholies Zaini selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.
2. Drs. Sukardiman, MS. selaku dosen pembimbing utama yang senantiasa membimbing dan banyak memberikan semangat serta bantuan baik material maupun spiritual dan kepada Drs. Abdul Rahman, MSi. selaku dosen pembimbing serta yang sabar dalam memberikan bimbingan, saran dan kritik kepada penulis.
3. Drs. Achmad Fuad H., MS dan Dr. Bambang Prajogo EW., MS selaku dosen penguji yang telah banyak memberikan kritik dan saran kepada penulis.
4. Keluarga tercinta yang telah banyak memberikan dukungan, kasih sayang dan do'anya. Semoga Allah Subhanahu Wa Ta'ala selalu melindungi kita.
5. Saudari-saudariku fillah, jazakillah atas indahnya ukhuwah di antara kita.
6. Teman-teman seperjuangan, khususnya anak-anak lumutpepaya 2000.
7. Para analis dan laboran Bagian Ilmu Bahan Alam, Multipurpose Laboratory I dan II terima kasih atas segala bantuannya
8. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu, yang telah banyak membantu dan memberikan dukungan kepada penulis

Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia. Sesungguhnya kebenaran itu hanyalah milik Allah Subhanahu Wa Ta'ala.

Penulis mohon maaf bila ada kekhilafan dalam penyusunan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat, khususnya bagi kalangan ilmiah dan masyarakat pada umumnya.

Surabaya, Agustus 2004

Penulis

RINGKASAN

Sampai saat ini penyakit kanker masih menjadi salah satu penyakit yang paling ditakuti masyarakat. Berbagai usaha telah dilakukan untuk menanggulangi penyakit ini seperti pembedahan, terapi radiasi, kemoterapi dan sebagainya. Namun hingga kini masih belum ditemukan cara yang dapat mengatasi penyakit tersebut secara memuaskan. Cara lain yang dipilih sebagian penderita penyakit ini adalah dengan memanfaatkan bahan alam yaitu dengan menggunakan tanaman obat. Karena itu masih dicari obat yang efektif untuk mengobati kanker, termasuk obat tradisional.

Dalam suatu penelitian yang dilakukan di Jepang terhadap lumut hati dari spesies *Marchantia polymorpha* L. ternyata diperoleh senyawa bioaktif yang menunjukkan aktivitas sitotoksik (antikanker). Pada mulanya tumbuhan lumut sempat diabaikan karena mempunyai kandungan racun dan aroma yang tidak sedap sewaktu diremas. Namun setelah diadakan penelitian lebih lanjut, ternyata tumbuhan lumut mempunyai kandungan bioaktif yang dapat digunakan untuk antialergi, antimikroba, diuretik dan antikanker (Asakawa, 1984).

Berdasarkan studi kemotaksonomi maka tanaman yang memiliki kekerabatan cukup dekat kemungkinan memiliki kandungan senyawa yang hampir sama. Mengacu pada penelitian tersebut maka dilakukan penelitian terhadap spesies lain dari famili Marchantiaceae yang tumbuh di Indonesia yaitu *Marchantia cataractarum* Schiffn.

Salah satu metode untuk menguji bahan-bahan yang bersifat sitotoksik adalah dengan uji toksisitas terhadap larva udang dari *Artemia Salina* Leach (*Brine Shrimp Lethality Test*). Hasil uji toksisitas ini dapat diketahui dari jumlah kematian anak udang *Artemia salina* Leach. Metode ini dilakukan dengan menentukan besarnya LC_{50} selama 24 jam dengan menggunakan *Probit Analysis*. Bila masing-masing ekstrak yang diuji kurang dari 1000 $\mu\text{g/ml}$ maka dianggap menunjukkan aktivitas biologik.

Dari ekstrak yang diuji yaitu ekstrak metanol dan ekstrak eter keduanya mempunyai harga $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/ml}$, masing-masing $782,20 \pm 14,20 \mu\text{g/ml}$ dan $157,56 \pm 7,70 \mu\text{g/ml}$. Hal ini menunjukkan bahwa kedua-duanya baik ekstrak metanol maupun ekstrak eter mempunyai aktivitas biologik antikanker menurut metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST). Dan dari hasil skrining diketahui bahwa dalam ekstrak metanol terkandung senyawa golongan steroid/triterpenoid.

Penelitian ini masih merupakan penelitian pendahuluan yang perlu dilanjutkan dengan uji aktivitas antikanker secara *in vitro* maupun *in vivo*. Dan untuk mengetahui senyawa yang mempunyai aktivitas biologik diperlukan penelitian lanjutan untuk mengisolasi zat aktif tunggal dan mengidentifikasinya.

ABSTRACT

Bryophytes have been used as medicinal plants to cure burns, bruises and external wound. Some bryophytes show antimicrobial, antipyretic, diuretic and anticancer. *Marchantia sp.* is an example of a bryophytes that having high toxicity.

The aim of this research was to examine the toxicity of methanol and diethyl ether extracts of *Marchantia cataractarum* Schiffn against *Artemia salina* Leach by *Brine Shrimp Lethality Test* (BST) method. The extracts effect on *Artemia salina* Leach. was examined in 24 hours to find out the death percentage of *Artemia salina* Leach. caused by each extract concentration. The data were analyzed statistically to find out the LC_{50} using probit analysis. And then the most toxic extract (methanol extract) was identified for substances contained.

The result showed that both extracts were toxic against *Artemia salina* Leach. LC_{50} of methanol and diethyl ether extracts were $782,20 \pm 14,20 \mu\text{g/ml}$ and $157,56 \pm 7,70 \mu\text{g/ml}$. respectively. The substances contained in methanol extract were steroid/triterpenoid. Further characterization and isolation are still needed for development in the future.

Keywords : *Marchantia cataractarum* Schiffn, Toxicity, *Brine Shrimp Lethality Test* (BST)

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	v
RINGKASAN	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Hipotesis Penelitian	5
1.5 Manfaat Penelitian	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tinjauan Tentang Tanaman	6
2.1.1 Klasifikasi Tanaman	6
2.1.2 Nama Daerah	6
2.1.3 Morfologi Tanaman	6
2.1.4 Penyebaran Tanaman	8
2.1.5 Khasiat Tanaman	8
2.1.6 Kandungan Tanaman	8
2.2 Tinjauan Tentang Kanker	8
2.2.1 Definisi Kanker	8
2.2.2 Sifat Kanker	10
2.2.3 Perbedaan Sel Kanker dengan Sel Normal	10
2.3 Tinjauan Tentang Brine Shrimp Lethality Test	10
2.4 Tinjauan Tentang Antikanker	14
BAB III. KERANGKA KONSEPTUAL	18

BAB IV. METODE PENELITIAN	
4.1 Bahan Penelitian	20
4.1.1 Bahan Tanaman	20
4.1.2 Bahan Kimia dan Bahan Lain	20
4.2 Alat-Alat Penelitian	21
4.3 Rancangan Penelitian	22
4.3.1 Penyiapan Bahan	22
4.3.2 Prskrining Aktivitas Antikanker	22
4.3.2.1 Pembuatan Ekstrak Bahan	22
4.3.2.2 Uji Prskrining Aktivitas Antikanker dengan Metode BST	22
4.3.3 Skrining Zat Kandungan dalam Ekstrak yang Aktif	24
4.3.4 Analisis Data	28
BAB V. HASIL PENELITIAN	
5.1 Hasil Pembuatan Ekstrak Bahan	32
5.2 Pembuatan Larutan Uji	32
5.3 Hasil Pengamatan Kematian Larva Udang (BST)	33
5.4 Penentuan Harga LC ₅₀ Ekstrak Eter dan Ekstrak Metanol <i>Marchantia cataractarum</i> Schiffn	38
5.5 Skrining Zat Kandungan dalam Ekstrak Aktif	36
5.6 Hasil KLT Triterpenoid / Steroid Ekstrak Metanol <i>Marchantia cataractarum</i> Schiffn	38
5.7 Profil KLT-Densitometri Triterpenoid/Steroid Preparasi Non Hidrolisa dan Hidrolisa Ekstrak Metanol <i>Marchantia cataractarum</i> Schiffn	39
BAB VI. PEMBAHASAN	42
BAB VII. KESIMPULAN DAN SARAN	46
DAFTAR PUSTAKA	47
LAMPIRAN	49

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
IV.1 Data yang diperlukan untuk mencari harga LC_{50} masing-masing bahan yang diuji menggunakan <i>Probit Analysis</i>	26
V.1 Hasil pembuatan ekstrak eter dan ekstrak metanol <i>Marchantia cataractarum</i> Schiffn	32
V.2 Pembuatan larutan uji ekstrak eter dan ekstrak metanol <i>Marchantia cataractarum</i> Schiffn	33
V.3 Hasil pengamatan uji kematian larva udang (BST) ekstrak eter dan ekstrak metanol <i>Marchantia</i> <i>cataractarum</i> Schiffn	34
V.4 Hasil penentuan harga LC_{50} ekstrak eter dan ekstrak metanol <i>Marchantia cataractarum</i> Schiffn	36
V.5 Hasil skrining kandungan kimia ekstrak metanol <i>Marchantia cataractarum</i> Schiffn	37

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Lumut hati, <i>Marchantia cataractarum</i> Schiffn	7
2.2 Larva udang <i>Artemia salina</i> Leach. yang berumur 2 hari	17
3.1 Skema kerangka konseptual	19
4.1 Skema proses ekstraksi	29
4.2 Skema rancangan penelitian	30
4.3 Skema uji <i>Brine Shrimp Lethality Test</i>	31
5.1 Hasil KLT triterpenoid/steroid ekstrak metanol <i>Marchantia cataractarum</i> Schiffn	38
5.2 Profil KLT-densitometri triterpenoid/steroid non hidrolisa ekstrak metanol <i>Marchantia cataractarum</i> Schiffn (λ 521 nm)	39
5.3 Profil KLT-densitometri triterpenoid/steroid hidrolisa ekstrak metanol <i>Marchantia cataractarum</i> Schiffn (λ 521 nm)	40
5.4 Profil KLT-Densitometri Triterpenoid/steroid Standart Sterol (Isolat <i>Marchantia geminata</i>) (λ 521 nm)	41

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Hasil identifikasi/determinasi tanaman	49
2. Rumus kimia dan struktur kimia	50
3. Penentuan harga LC ₅₀ ekstrak eter <i>Marchantia cataractarum</i> Schiffn Replikasi I	51
4. Penentuan harga LC ₅₀ ekstrak eter <i>Marchantia cataractarum</i> Schiffn Replikasi II	54
5. Penentuan harga LC ₅₀ ekstrak eter <i>Marchantia cataractarum</i> Schiffn Replikasi III	56
6. Penentuan harga LC ₅₀ ekstrak metanol <i>Marchantia cataractarum</i> Schiffn Replikasi I	59
7. Penentuan harga LC ₅₀ ekstrak metanol <i>Marchantia cataractarum</i> Schiffn Replikasi II	62
8. Penentuan harga LC ₅₀ ekstrak metanol <i>Marchantia cataractarum</i> Schiffn Replikasi III	65
9. Hasil KLT ekstrak eter dan ekstrak metanol <i>Marchantia</i> <i>cataractarum</i> Schiffn	68
10. Profil kandungan kimia ekstrak metanol <i>Marchantia cataractarum</i> Schiffn dengan KLT-densitometri pada λ 521 nm	69
11. Profil kandungan kimia ekstrak eter <i>Marchantia cataractarum</i> Schiffn dengan KLT-densitometri pada λ 521 nm	70
12. Profil kandungan kimia standar sterol (isolat <i>Marchantia geminata</i>) dengan KLT-densitometri pada λ 521 nm	71
13. Profil kandungan kimia ekstrak metanol <i>Marchantia cataractarum</i> Schiffn dengan KLT-densitometri pada λ 254 nm	72
14. Profil kandungan kimia ekstrak eter <i>Marchantia cataractarum</i> Schiffn dengan KLT-densitometri pada λ 254 nm	73
15. Profil kandungan kimia standar sterol (isolat <i>Marchantia geminata</i>) dengan KLT-densitometri pada λ 254 nm	74

16. Profil kandungan kimia non hidrolisa ekstrak metanol <i>Marchantia</i> <i>cataractarum</i> Schiffn dengan KLT-densitometri pada λ 254 nm	75
17. Profil kandungan kimia hidrolisa ekstrak metanol <i>Marchantia</i> <i>cataractarum</i> Schiffn dengan KLT-densitometri pada λ 254 nm	76
18. Profil kandungan kimia standar sterol (isolat <i>Marchantia</i> <i>geminata</i>) dengan KLT-densitometri pada λ 254 nm	77

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Sampai saat ini kanker masih menjadi salah satu penyakit yang paling ditakuti oleh masyarakat. Berdasarkan data terbaru dari “*Annual Report to the Nation on the Status of Cancer, 1975 – 2000*”, tingkat kematian akibat kanker (dari semua jenis kanker) meningkat pada pertengahan 1970 – 1992, menurun dari tahun 1992 – 1995 kemudian stabil dari tahun 1995 – 2000 (ada sedikit peningkatan namun secara statistik tidak bermakna).

Di negara-negara maju, kanker masih merupakan penyebab penyakit terbesar kedua setelah kardiovaskular (Nafrialdi dan Ganiswara, 1995). Selain karena sangat mematikan, sampai sekarang masih sedikit sekali obat kanker yang bekerja secara selektif untuk pengobatan jenis kanker tertentu (Siswandono dan Soekardjo, 2000).

Kanker terjadi karena adanya pertumbuhan yang tidak normal dari masa atau jaringan yang tidak membahayakan kehidupan (Siswandono dan Soekardjo, 2000). Kelompok utama bahan penyebab kanker (karsinogenik) dilihat dari asalnya dibagi menjadi dua, yaitu karsinogen yang berasal dari luar tubuh (eksogen) dan yang berasal dari dalam tubuh (endogen).

Usaha pencegahan dan pengobatan penyakit kanker ditujukan untuk merusak secara selektif sel tumor yang berbahaya tanpa mengganggu sel normal. Tujuan ini sering mengalami kegagalan yang disebabkan antara lain oleh perbedaan morfologi dan biokimia sel normal dengan sel kanker kecil sekali sehingga obat kanker tidak ada yang selektif terhadap sel tumor tertentu. Kegagalan ini disebabkan pula karena banyak sel kanker bukan sesuatu yang asing bagi tuan rumah (host), sehingga tidak menimbulkan respon imunologis. Hal ini berbeda pada infeksi mikroba dimana pertumbuhan imunologis host berperan penting dalam membantu kerja obat kemoterapi (Siswandono dan Soekardjo, 2000).

Pengobatan kanker dapat dilakukan dengan berbagai cara, yaitu pembedahan, terutama untuk tumor padat yang terlokalisasi; radiasi, sebagai

pengobatan penunjang sesudah pembedahan; kemoterapi, terutama untuk pengobatan tumor yang tidak terlokalisasi; endokrinoterapi, yang menggunakan hormon tertentu untuk pengobatan tumor dan imunoterapi, yang berperan penting dalam pencegahan mikrometastasis (Siswandono dan Soekardjo, 2000).

Selain cara-cara di atas, sebagian penderita lebih memilih terapi alternatif. Salah satu pengobatan alternatif dalam mengobati penyakit kanker adalah dengan memanfaatkan bahan alam.

Seperti kita ketahui bersama, Indonesia termasuk negara yang kaya akan bahan alam, bahkan termasuk salah satu negara yang memiliki keanekaragaman flora terbesar di dunia. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian-penelitian yang berguna bagi pengembangan dalam pemanfaatan flora yang ada di bumi pusaka ini secara optimal.

Salah satu pemanfaatan flora adalah sebagai alternatif untuk pengobatan kanker. Penelitian intensif terhadap bahan bioaktif tumbuhan tinggi yang mempunyai aktivitas antikanker telah dilakukan oleh National Cancer Institute (NCI) AS. Lebih kurang 1.220.000 ekstrak yang berasal dari lebih 35.000 spesies telah diskriminasi (Farnsworth, 1996).

Pada saat ini telah dilakukan beberapa penelitian yang menghasilkan senyawa-senyawa berpotensi sebagai antikanker, contohnya alkaloid vinca, seperti vinblastin atau vinkristin yang diisolasi dari tanaman *Vinca rosea* Linn, podophyllotoksin, seperti etoposida (venesid), yang berasal dari tanaman *Podophyllum peltatum* dan paklitaksel (taxol) yang berasal dari kulit kayu tanaman *Taxus brevifolia* (Siswandono dan Soekardjo, 2000).

Tanaman lain yang digunakan sebagai antikanker adalah *Allamanda cathartica*, *Elephantopus scaber*, *Helenium autumnale*, *Jacarana caucana*, *Brucea antidysenterica* dan masih banyak yang lainnya (Dewick, 1989).

Selain penelitian-penelitian tersebut diatas, beberapa tahun sebelumnya telah dilakukan penelitian terhadap Bryophyta. Hingga beberapa tahun belakangan ini, Bryophyta dianggap sebagai kelompok tanaman tingkat rendah yang hampir tidak ada gunanya bagi kehidupan manusia. Namun dari penelitian yang dilakukan menunjukkan bahwa Bryophyta memiliki aktivitas biologis antara lain

sebagai antikanker, antialergi, antimikroorganisme, pengusir serangga dan regulator pertumbuhan tanaman (Asakawa, 1984).

Bryophyta terbagi dalam tiga kelas, yaitu Musci (1400 jenis), Hepaticae (6000 jenis), dan Anthocerotae (300 jenis).

Penelitian selanjutnya dilakukan terhadap Hepaticae yang memiliki jenis terbanyak. Hasil penelitian menunjukkan bahwa Hepaticae ternyata memiliki aktivitas yang sama pula sebagai antikanker, antialergi, antimikroorganisme, pengusir serangga dan regulator pertumbuhan tanaman. Dari penelitian terbaru, dilaporkan bahwa aktivitas ini disebabkan oleh senyawa terpenoid atau lipofilik aromatik yang terkandung di dalamnya (Asakawa, 1984).

Sebagai bagian penelitian sistematik terhadap komponen aktif dari Hepaticae, terutama senyawa antikanker, dilakukan penelitian lanjutan terhadap suku Marchantiaceae, antara lain *M. polymorpha* L., *M. paleaceae* Bertol. var. *diptera* (Mont.) Hatt., dan *M. tosana* Steph., yang mengandung derivat bis (bibenzil) yang menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap KB cell. Penelitian lebih intensif dilakukan pada *M. polymorpha* yang tersebar luas di seluruh dunia.

Marchantia polymorpha, di Indonesia lebih dikenal dengan sebutan lumut hati. Ekstrak kental *M. polymorpha* menunjukkan aktivitas sitotoksik dan antijamur. Dengan kromatografi dihasilkan isolasi 3 senyawa baru bis (bibenzil) siklik, dinamakan Marchantin A, Marchantin B, dan Marchantin C, dengan komponen utama (*major component*) adalah Marchantin A. Marchantin A menunjukkan aktivitas sitotoksik (ED₅₀ 8,39 µg/ml) terhadap KB cell (Asakawa, 1984).

Penelitian terbaru dilakukan pada *Marchantia geminata*, yang merupakan salah satu jenis tanaman lumut hati yang tumbuh di Indonesia. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *M. geminata* memiliki aktivitas sitotoksik (Hernawan, 2002).

Dengan pendekatan kemotaksonomi, diharapkan jenis lain tanaman lumut hati yang tumbuh di Indonesia, yaitu *Marchantia cataractarum* Schiffn, juga memiliki aktivitas yang sama sebagai antikanker.

Untuk membuktikan aktivitas tanaman yang digunakan sebagai obat alternatif, perlu dilakukan penelitian ilmiah lebih lanjut. Hal ini diperlukan agar

didapat kesimpulan yang memuaskan tentang aktivitas dan kemungkinan toksisitas tanaman tersebut sehingga dapat digunakan dengan aman dan efektif.

Dalam membuktikan apakah suatu tanaman mengandung senyawa antikanker atau tidak, dapat dilakukan uji aktivitas antikanker dengan beberapa metode yaitu (Meyer,1982) :

- (1) Uji kematian larva udang laut atau *Brine Shrimp Lethality Test*
- (2) Uji hambatan tumor pada lempeng kentang atau *Potato Disc Crown Gall Tumor Inhibition Assay*
- (3) Uji proliferasi kuncup lemna atau *Lemna Prond Proliferation Assay*
- (4) Uji kultur sel tumor manusia atau *Cell Cultur Human Tumour Cell Line Assay*
- (5) Uji P-388 (Leukimia in vivo pada mencit) atau P-388 Mouse Leukimia

Brine Shrimp Lethality Test (BST) yaitu uji toksisitas senyawa terhadap larva udang *Artemia salina* Leach merupakan praskrining dari uji aktivitas antikanker. Meskipun metode ini hanya merupakan uji praskrining aktivitas biologik yang tidak spesifik untuk bahan-bahan antikanker, tetapi mampu mendeteksi 14 diantara 27 ekstrak etanol yang aktif terhadap uji 9-PS pada penelitian yang dilakukan Meyer (1982). Metode ini juga mampu mendeteksi 6 diantara 7 senyawa murni yang aktif pada uji P-388 pada penelitian Anderson (1991). Sehingga memungkinkan penggunaan BST sebagai uji praskrining aktivitas biologik menggantikan uji sitotoksik lain yang jauh lebih mahal dan membutuhkan waktu relatif lama.

Disamping itu, BST memiliki keuntungan dibandingkan metode yang lain seperti pelaksanaannya sederhana, waktu relatif cepat, tidak memerlukan peralatan khusus, hanya memerlukan sedikit sampel serta tidak memerlukan serum hewan seperti pada metode sitotoksik lainnya (Sukardiman, 1995).

Berdasarkan uraian yang telah dikemukakan diatas, maka pada penelitian ini akan dilakukan uji aktivitas antikanker dari ekstrak eter dan ekstrak metanol *Marchantia cataractarum* Schffn dengan uji kematian larva udang laut atau *Brine Shrimp Lethality Test* (BST).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka dapat dirumuskan suatu masalah sebagai berikut :

- (1) Apakah ekstrak eter dan ekstrak metanol *Marchantia cataractarum* Schiffn menunjukkan hasil yang positif terhadap uji prskrining aktivitas antikanker dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST) ?
- (2) Golongan kandungan kimia apa yang terdapat dalam ekstrak yang menunjukkan aktivitas yang positif antikanker dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST) ?

1.3 Tujuan Penelitian

- (1) Melakukan prskrining aktivitas antikanker dari ekstrak eter dan ekstrak metanol *Marchantia cataractarum* Schiffn dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST).
- (2) Mengetahui golongan kandungan kimia dari ekstrak yang positif terhadap uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BST).

1.4 Hipotesis Penelitian

- (1) Ekstrak eter *Marchantia cataractarum* Schiffn memiliki aktivitas antikanker dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST).
- (2) Ekstrak metanol *Marchantia cataractarum* Schiffn memiliki aktivitas antikanker dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST).

1.5 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan sumbangan bagi perkembangan ilmu pengetahuan, khususnya di bidang produk alami tanaman Indonesia.

Hasil penelitian ini juga diharapkan dapat meningkatkan daya guna tanaman *Marchantia cataractarum* Schiffn sebagai salah satu tanaman alternatif dalam pengobatan penyakit kanker.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tentang Tanaman

2.1.1 Klasifikasi Tanaman (Tjitrosoepomo, 1986)

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Bryophyta
Class	: Hepaticae
Ordo	: Marchantiales
Famili	: Marchantiaceae
Genus	: <i>Marchantia</i>
Spesies	: <i>Marchantia cataractarum</i> Schiffn

2.1.2 Nama Daerah

Jawa	: lumut ati
Madura	: lomot ateh
Toraja	: limulun

2.1.3 Morfologi Tanaman

Habitus : Lumut dengan thalus berbentuk lembaran-lembaran merayap seperti daun dengan rizoid berbentuk benang atau kadang-kadang memang telah menyerupai akar.

Thalus : Seperti pita lebarnya $\pm 0,5-1$ cm, agak tebal, berdaging, bercabang-cabang, menggarpu dan mempunyai 1 rusuk tengah yang menonjol. Pada sisi bawah thalus terdapat rizoid-rizoid yang bersifat fototrop negatif. Permukaan atas thalus mempunyai lapisan kutikula. Oleh sebab itu hampir tidak mungkin untuk dilalui air. Jika dilihat dari atas thalus itu terlihat berpetak-petak. Dibawah tiap-tiap petak di dalam thalus terdapat suatu ruang udara dan ditengah tiap petak terdapat suatu liang udara.

Liang udara : Menghubungkan ruang udara dengan lingkungan. Dinding liang udara terdiri dari 4 cincin. Masing-masing cincin terdiri dari 4 sel. Pada dasar ruang udara terdapat sel-sel yang mengandung kloroplas dan merupakan jaringan asimilasi.

Gametangium : Didukung oleh suatu cabang thalus yang tumbuh tegak. Bagian bawah thalus ini tergulung. Di dalam gulungan terdapat saluran dengan benang-benang rizoid. Bagian tersebut mengadakan percabangan menggarpu hingga akhirnya membentuk suatu badan seperti bintang.



Gambar 2.1 Tanaman lumut hati (*Marchantia cataractarum* Schiffn)

2.1.4 Penyebaran Tanaman

Lumut hati tersebar luas di seluruh dunia. Kebanyakan hidup di tempat-tempat yang basah, meskipun ada pula yang terdapat pada tempat yang amat kering. Misal pada kulit pohon, batu cadas atau di atas tanah.

2.1.5 Khasiat Tanaman (Asakawa, 1984)

Belum diketahui tentang khasiat dari *Marchantia cataractarum* Schiffn namun secara umum suku Marchantiaceae mempunyai aktivitas antimikroba, diuretik, pembunuh serangga, regulator pertumbuhan tanaman, anti kanker dan antialergi.

2.1.6 Kandungan Tanaman (Asakawa, 1984)

Beberapa Hepaticae memiliki aktivitas biologik yang menarik, seperti antialergi, antitumor, antimikroba dan antijamur. Menurut laporan aktivitas tersebut disebabkan oleh senyawa terpenoid dan bis-bibenzil yang terkandung di dalamnya.

Hingga saat ini 18 macam bis-bibenzil telah diisolasi dari 9 spesies lumut hati. Enam diantaranya berasal dari ordo Marchantiales yaitu *Reboulia hemisphaerica*, *Plagiochasma intermedium*, dan 4 spesies *Marchantia*, yang merupakan varietas terbaik penghasil bis-bibenzil. Penyelidikan terakhir melaporkan bahwa *Marchantia polymorpha* L., *Marchantia paleacea* Bertol var *diptera* (Mont) dan *Marchantia tosana* Steph. mengandung turunan bis-bibenzil yaitu marchantin A.

Selain turunan bis-bibenzil kandungan lain dari *Marchantia* adalah flavonoid, terpenoid dan minyak atsiri.

2.2.1 Tinjauan Tentang Kanker

2.2.2 Definisi Kanker

Kanker adalah segolongan penyakit neoplasma yang bersifat ganas, penyakit yang terjadi karena timbul dan tumbuhnya sel-sel abnormal dalam tubuh. Sel-sel tubuh timbul secara teratur dan mempunyai fungsi tertentu dan ada koordinasi yang baik dengan lainnya. Sel kanker tumbuh dengan tidak teratur dan

tidak berfungsi serta tidak ada koordinasi yang baik dengan sel tubuh lain (Rochadi,1986).

Menurut Robinson dan Kumar (1992), kanker adalah massa jaringan abnormal dengan pertumbuhan berlebih dan tidak ada koordinasi dengan jaringan normal dikarenakan terjadi gangguan atau kehilangan mekanisme pengontrol pertumbuhan dan pembelahan sel dan tetap tumbuh secara berlebih setelah stimulus yang menyebabkan pertumbuhan tersebut terhenti.

Sedangkan menurut Siswandono dan Soekardjo (2000), tumor adalah istilah umum untuk menunjukkan adanya pertumbuhan tidak normal dari massa atau jaringan yang tidak membahayakan kehidupan.

Kanker merupakan kata yang lebih sering digunakan dalam lingkungan masyarakat dibandingkan dalam lingkungan kedokteran; secara umum mempunyai arahan kepada tumor maligna (ganas) atau neoplasma.

Neoplasma secara umum sering diartikan sebagai tumor dan dibagi dalam dua kategori, jinak dan ganas. Suatu tumor dinyatakan jinak jika ciri-ciri mikroskopis dan sitologisnya tergolong relatif tidak berbahaya. Sedangkan suatu tumor dinyatakan ganas jika menembus dan menghancurkan struktur yang berdekatan dan dapat menyebar ke tempat yang jauh (metastasis) dan dapat menyebabkan kematian tumor ganas secara keseluruhan dinyatakan sebagai kanker (Robinson,1992).

Kelompok utama bahan penyebab kanker (karsinogenik) yang telah diketahui, dilihat dari asalnya dapat dibagi menjadi dua yaitu :

Karsinogen yang berasal dari luar tubuh :

(1) Bahan kimia.

Kebanyakan karsinogen kimia adalah prokarsinogen yaitu karsinogen yang memerlukan perubahan metabolik agar menjadi perubahan pada DNA, RNA atau protein sel tubuh. Beberapa contoh karsinogen kimia :

- Hidrokarbon polisiklik aromatik

Hidrokarbon polisiklik aromatik mengandung Benzo(a)pyrene yang merupakan hasil antara pada proses pembakaran yang tidak sempurna.

- Amin aromatik dan pembawa Azo

Zat pewarna amin adalah prokarsinogen, masuk ke dalam tubuh melalui kulit, paru-paru atau saluran cerna. Banyak digunakan untuk pewarna di industri.

- Nitrosamin

Nitrosamin terbentuk di dalam saluran cerna dari gugus nitrat dan nitrit yang sering dipakai sebagai bahan tambahan pada makanan.

- Unsur logam

Unsur logam antara lain nikel dan timah bersifat elektrofilik, dapat bereaksi dengan pusat nukleofilik pada DNA menimbulkan kanker pada orang yang pekerjaannya banyak berhubungan dengan unsur logam tersebut.

(2) Virus.

Virus yang bersifat karsinogen disebut virus onkogenik. Dari berbagai penelitian diketahui bahwa virus DNA maupun virus RNA dapat menimbulkan transformasi sel.

(3) Radiasi.

Radiasi UV, panjang gelombang 290-370 nm berkaitan dengan terjadinya kanker kulit terutama pada orang kulit putih yang sering mendapat sinar matahari berlebihan. Radiasi pengion dapat langsung menimbulkan kerusakan “macromolecules” atau berinteraksi dengan cairan sel menimbulkan radikal bebas yang kemudian menimbulkan kerusakan atau perubahan ikatan kimia.

(4) Agen biologik.

Yaitu hormon, mikotoksin dan parasit. Contoh hormon adalah steroid androgenik dan steroid estrogen. Contoh mikotoksin adalah aflatoksin yang diproduksi oleh *Aspergillus flavus*. Dan contoh parasit adalah *Schistosoma sp.* dan *Clonorchis sinensis* (Tjarta, 1996; Djojopranoto, 1963).

Karsinogen yang berasal dari dalam tubuh :

- Suku/ras
- Diet/makanan

- Faktor konstitusional, yaitu jenis kelamin, resiko bawaan, umur dan sebagainya.
- Lesi dan kondisi premaligna
- Paparan transplasental

2.2.3 Sifat Kanker

Melalui perkembangan diagnostik, dapat diketahui sifat-sifat umum dari kanker (Nafrialdi,1995; Bellanti,1985) antara lain :

- (1) Otonomi, sel kanker mempunyai kemampuan untuk tumbuh diluar batas-batas normal
- (2) Anaplasia, hilangnya kemampuan mengorganisasi dan melaksanakan fungsinya sehingga menyebabkan gangguan deferensiasi sel dan jaringan
- (3) Invasif, kemampuan sel menembus jaringan yang ada disekitarnya dan menyebabkan rusaknya jaringan yang ditempati
- (4) Metastasis, kemampuan sel kanker untuk menyebar ke tempat lain melalui aliran darah atau limfe dan menyebabkan pertumbuhan baru

2.2.4 Perbedaan Sel Kanker dengan Sel Normal

Sel kanker mempunyai beberapa ciri yang membedakannya dengan sel normal, antara lain :

- (1) Bentuk dan ukuran sel lebih besar daripada sel normal
- (2) Inti sel kelihatan membesar karena jumlah sitoplasma berkurang
- (3) Anak inti mengalami perubahan bentuk dan ukuran
- (4) Mitokondria berkurang jumlahnya (Ahern, 1992; Robbins, 1971).

2.3 Tinjauan Tentang Brine Shrimp Lethality Test

Uji hayati terhadap *Artemia salina* Leach.(*Brine Shrimp Lethality*) adalah uji hayati umum yang digunakan untuk mendeteksi suatu rentang lebar aktivitas biologi dan keanekaragaman struktur kimia. Uji ini merupakan uji hayati pendahuluan (praskrining) yang sederhana untuk mengetahui ada atau tidaknya aktivitas biologi senyawa tertentu. Uji ini berdasar pemikiran bahwa toksikologi adalah farmakologi dalam dosis tinggi atau farmakologi secara sederhana adalah

toksikologi dalam dosis rendah (Laughlin,1991), yang artinya bila ditemukan suatu senyawa yang toksik maka dosis rendah non toksiknya dapat menimbulkan kegunaan farmakologi atau gangguan pada sistem fisiologi.

Artemia atau Brine Shrimp adalah sejenis udang-udangan primitif. Nama lainnya adalah *Cancer salinus* atau *Artemia salina*. Artemia hidup planktonik di perairan yang berkadar garam tinggi antara 15-300 per mil, temperature 25-30°C dan pH berkisar 7,3-8,4. Larva yang keluar disebut sebagai nauplius dan langsung hidup sebagai artemia muda. Terjadinya proses ovovivipar sangat tergantung pada kadar garam dan oksigen. Artemia mulai dewasa pada umur sekitar 2 minggu dan dapat hidup hingga 6 bulan, apabila keadaan lingkungannya cukup baik (Mulyadi, 1995).

Dari penelitian yang dilakukan oleh Meyer, dkk (1982) terbukti uji hayati terhadap anak udang memiliki korelasi yang baik terhadap uji antikanker menggunakan 9-PS. Penelitian tersebut menseleksi ekstrak etanol biji tanaman suku Euphorbiaceae, 24 ekstrak aktif terhadap uji antikanker menggunakan 9-PS dan 14 diantara ke-24 ekstrak tersebut juga aktif pada uji terhadap anak udang.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Laughlin (1991) terhadap sejumlah alkaloid kaktus dan derivat dihidroisokuinolin baik dengan udang air laut maupun dengan sel tumor 9-KB ditemukan suatu korelasi positif antara toksisitas udang air laut dan sitotoksitas 9-KB.

Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Anderson, dkk meneliti 10 senyawa murni yang diperoleh dari NCI, diperoleh hasil uji hayati terhadap anak udang berkorelasi baik terhadap antikanker, menggunakan P-388 (3-PS) ($p=0,33$ dan $kappa=0,78$). Beberapa keuntungan pemakaian metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST), seperti yang disampaikan oleh Laughlin (1991) adalah sebagai berikut :

1. Waktu pelaksanaannya cepat
2. Biayanya relatif murah
3. Pengerjaannya sederhana, tidak memerlukan teknik aseptis
4. Tidak memerlukan perawatan khusus
5. Menggunakan sampel yang relatif sedikit
6. Tidak memerlukan serum hewan



Gambar 2.2 Larva *Artemia salina* Leach yang berumur 2 hari (Lasiyana, 2003)

2.4 Tinjauan Tentang Antikanker

Bentuk pengobatan utama untuk penyakit kanker adalah pembedahan, terapi radiasi dan obat (bahan kemoterapeutik kanker). Bahan-bahan kemoterapeutik kanker seringkali dapat memberikan pertolongan pada penderita, perpanjangan umur dan kadangkala penyembuhan (Dewick, 1983).

Antikanker diharapkan memiliki toksisitas yang selektif, artinya menghancurkan tanpa merusak jaringan normal. Pada umumnya anti neoplastik menekan pertumbuhan atau proliferasi sel dan menimbulkan toksisitas karena menghambat sel yang proliferasinya cepat seperti sumsum tulang, epitel germinativum, mukosa saluran cerna dan folikel rambut. Tetapi dikatakan berhasil baik bila dosis yang digunakan dapat mematikan sel kanker dan tidak terlalu mengganggu sel normal yang berproliferasi (Nafrialdi dan Ganiswara, 1995).

Tujuan ini sering mengalami kegagalan yang disebabkan antara lain oleh perbedaan morfologi dan biokimia sel normal dengan sel kanker kecil sekali sehingga obat antikanker tidak ada yang selektif terhadap sel tumor tertentu. Kegagalan ini disebabkan pula karena banyak sel kanker bukan sesuatu yang asing bagi tuan rumah, sehingga tidak menimbulkan respon imunologis. Selain itu sel kanker cepat menjadi kebal terhadap obat antikanker dan banyak obat antikanker bersifat karsinogenik, teratogenik dan mutagenik.

Proses kehidupan sel merupakan suatu siklus yang terdiri beberapa fase sebagai berikut :

1) Fase G1

Fase G1 adalah fase istirahat, merupakan fase yang mendominasi siklus hidup dari sel. Fase ini terjadi setelah sel mengalami pembelahan (mitosis). Selama fase G1 tidak terjadi sintesa DNA, tetapi sintesa RNA dan protein tetap terjadi secara normal. Setelah fase G1 sel kemudian menuju fase S. kadang-kadang setelah mengalami pembelahan, sel bias menuju ke tipe lain dari fase istirahat yaitu fase G0 dimana sel keluar dari siklus tetapi masih bias untuk berproliferasi .

2) Fase S

Fase S adalah fase sintesa DNA yang terjadi setelah fase G1 dan didahului dengan peningkatan laju sintesa RNA. Hasilnya adalah replikasi DNA dan produksi kromatid.

3) Fase G2

Fase G2 adalah fase istirahat lain yang terjadi segera setelah fase S. sintesa DNA berhenti selama sintesa protein dan RNA berlanjut.

4) Fase M

Selama fase M (mitosis), terjadi pengurangan laju sintesa protein dan RNA.

Pada fase ini kromosom berkondensasi dan kromatid berpisah, sel terbelah menjadi dua dan terjadi fase istirahat lagi.

Cara kerja antikanker (Siswandono dan Soekardjo, 2000) :

(1) Alkilator

Senyawa pengalkilasi adalah senyawa reaktif yang dapat mengalkilasi DNA, RNA dan enzim-enzim tertentu. Senyawa pengalkilasi dapat membentuk senyawa kationik antara yang tidak stabil, diikuti pemecahan cincin membentuk ion karbonium reaktif. Ion ini bereaksi, melalui reaksi alkilasi membentuk ikatan kovalen dengan gugus-gugus donor elektron seperti karboksilat, amin, fosfat dan tiol yang terdapat pada struktur asam amino, asam nukleat dan protein yang sangat dibutuhkan untuk biosintesis sel. Reaksi ini membentuk hubungan melintang antara dua rangkaian DNA dan mencegah mitosis. Akibatnya proses pembentukan sel terganggu dan terjadi hambatan pertumbuhan sel kanker. Contoh : siklofosamid, klorambusil, busulfan, karmustin, dan semistin.

(2) Antimetabolit

Antimetabolit adalah senyawa yang dapat menghambat jalur metabolik yang penting bagi kehidupan dan reproduksi sel kanker melalui penghambatan asam folat, purin, pirimidin dan asam amino serta jalur nukleosida pirimidin yang diperlukan dalam sintesis DNA. Hambatan replikasi DNA ini dapat secara langsung maupun tidak langsung, sehingga menyebabkan sel tidak berproliferasi

dan mengalami kematian. Contoh : sitarabin, floksuridin, 6-merkaptopurin, dan metotreksat.

(3) Produk alam

a. Antibiotik Antikanker

Beberapa antibiotik yang mula-mula dikembangkan sebagai senyawa antibakteri ternyata didapatkan mempunyai efek sitotoksik tinggi. Efek samping tersebut dievaluasi dan kemudian dikembangkan menjadi obat-obat antikanker. Contoh : mitomisin, daktiomisin, doksorubisin dan bleomisin.

b. Antikanker Produk Tanaman (Dewick, 1983)

Senyawa antitumor yang berhasil diisolasi dari tanaman memiliki struktur kimia berbeda dan dikelompokkan berdasarkan struktur kimianya, sebagai berikut :

- Monoterpen, contohnya allamandin diisolasi dari *Allamanda cathartica*, Apocynaceae.
- Seskuiterpen, contohnya baccharin diisolasi dari *Baccharia megapotamica*, Compositae, helenalin dari *Helenium autumnale*, Compositae.
- Diterpen, contohnya taxol diisolasi dari *Taxus brevifolia*, Taxaceae.
- Triterpenoid, steroid dan lain-lain, contohnya cucurbitacin diisolasi dari *Maraah oreganuus*, Aslepidaceae.
- Alkaloid, contohnya emetin diisolasi dari *Cephaelis acuminata*, Rubiaceae.
- Peptida, contohnya vinkristin dan vinblastin diisolasi dari *Catharanthus roseus*, Apocynaceae.

c. Antikanker Produk Rekayasa Genetik

Contohnya antineoplaston, interferon, dan avaron.

(4) Hormon

Beberapa neoplasma dapat dikontrol dengan baik oleh hormon seks, seperti androgen, progestin, estrogen dan adrenokortikoid. Biasanya untuk pengobatan tambahan sesudah pembedahan, dikombinasi dengan obat antikanker yang lain.

Contoh hormon dan antihormon yang digunakan sebagai antikanker adalah :

Hormon androgen : testosteron propionat, testolakton, fluoksimesteron

Hormon estrogen : dietilbestrol, etinilestradiol, klortiasin

Hormon progestin : hidroksiprogesteron

Glukokortikoid : prednison, kortison, deksametason

Antiestrogen : tamoksifen sitrat

Antiandrogen : flutamid

BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL

Penyakit kanker masih menjadi salah satu penyakit yang paling ditakuti masyarakat, dan di negara-negara maju masih merupakan penyebab kematian kedua setelah kardiovaskular (Nafrialdi dan Ganiswara, 1995).

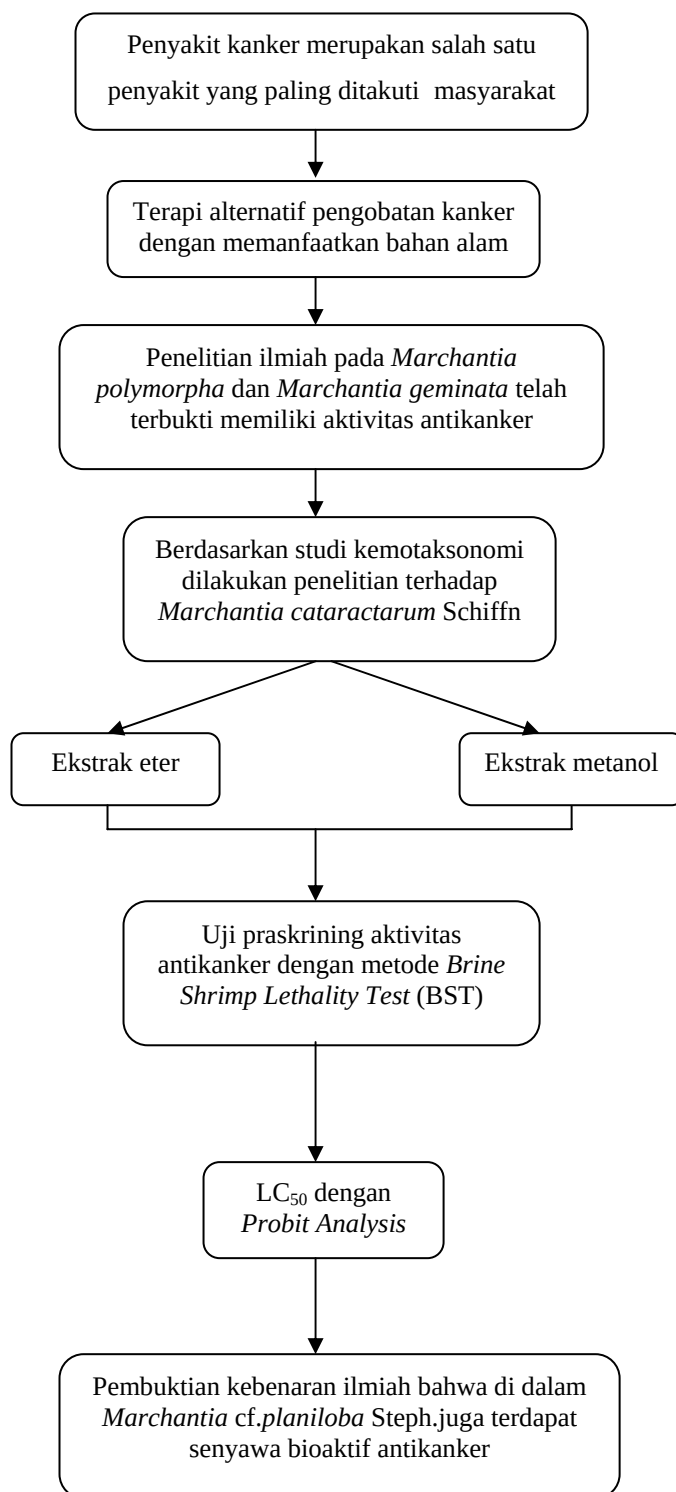
Selain karena sangat mematikan, sampai saat ini masih sedikit sekali obat antikanker yang bekerja secara selektif (Siswandono dan Soekardjo, 2000).

Salah satu pengobatan alternatif dalam mengobati penyakit kanker adalah dengan memanfaatkan bahan alam, seperti lumut hati. *Marchantia polymorpha* telah terbukti memiliki aktivitas antikanker. Penelitian terbaru pada *Marchantia geminata* menunjukkan aktivitas antikanker. Dengan pendekatan kemotaksonomi diharapkan *Marchantia cataractarum* Schiffn memiliki aktivitas yang sama sebagai antikanker.

Untuk membuktikan khasiat *Marchantia cataractarum* Schiffn sebagai antikanker, dapat digunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST) pada ekstrak eter dan ekstrak metanol dari *Marchantia cataractarum* Schiffn.

Meskipun hanya merupakan praskrining dari uji aktivitas antikanker, namun metode ini mampu mendeteksi 14 diantara 27 ekstrak etanol yang aktif terhadap uji 9-PS pada penelitian yang dilakukan oleh Meyer (1982). Metode ini juga mampu mendeteksi 6 diantara 7 senyawa murni yang aktif pada uji P-388 pada penelitian Anderson (1991). Mc. Laughlin (1991), menyatakan bahwa sebagian besar tumbuhanyang mempunyai aktivitas antikanker pada uji BST, mempunyai aktivitas pula pada uji sitotoksik dan 3-PS (leukimia in vivo). Hal ini memungkinkan penggunaan BST sebagai alat monitor yang baik untuk proses skrining bioaktivitas dari bahan alam menggantikan uji sitotoksik lain yang jauh lebih mahal dan membutuhkan waktu relatif lama.

Dari penelitian ini diharapkan agar pemanfaatan *Marchantia cataractarum* Schiffn sebagai salah satu alternatif dalam pengobatan kanker menjadi lebih optimal.



Gambar 3.1 Skema Kerangka Konseptual

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Bahan Penelitian

4.1.1 Bahan Tanaman

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah lumut hati, *Marchantia catarractarum* Schiffn. yang diambil dari daerah pegunungan Bromo, Jawa Timur. Bagian yang diteliti adalah seluruh bagian tanaman yang telah dicuci dan dikeringkan.

4.1.2 Bahan Kimia dan Bahan Lain

Bahan yang digunakan untuk ekstraksi :

- Eter teknis
- Metanol teknis

Bahan yang digunakan untuk skrining fitokimia

- Metanol teknis
- Kloroform teknis
- Etanol teknis
- HCl 2N
- NaCl
- NH_4OH
- Na_2SO_4 eksikatus
- Eti asetat teknis
- Heksana teknis
- Dietil eter teknis
- Asam asetat anhidrat dan asam asetat glacial
- Asam sulfat pekat
- Aseton p.a
- Larutan FeCl_3 10 %
- Butanol teknis
- Magnesium
- Benzena teknis

- Larutan KOH 0,1 N dan 15 %
- Larutan gelatin
- Pereaksi Mayer
- Pereaksi Wagner
- Pereaksi Dragendorf
- Pereaksi Na Pikrat
- Pereaksi anisaldehyd-asam sulfat

Bahan yang digunakan untuk uji aktivitas :

- Eter p.a (E. Merck)
- Metanol p.a (E. Merck)
- Telur udang laut *Artemia salina*, Ocean Star International, Amerika Serikat
- DMSO
- Air laut

4.2 Alat-alat Penelitian

- Maserator dan alat pengaduk
- Penyaring Buchner
- Pipet tetes
- Vial
- Mikropipet (Socorex, Swiss)
- Bejana kromatografi
- Rotavapor (Heidolph, West Germany)
- Cawan penguap
- Tabung reaksi
- Gelas ukur
- Pengaduk
- Penyemprot untuk KLT
- Kolom kromatografi
- KLT-densitometer

4.3 Prosedur Penelitian

4.3.1 Penyiapan Bahan

Lumut hati, *Marchantia cataractarum* Schiffn yang akan diteliti dan telah dideterminasi, dicuci bersih dengan air dan dilanjutkan pengeringan. Pengeringan dilakukan tidak dibawah sinar matahari langsung, cukup diangin-anginkan saja. Jika bahan sudah cukup kering, bahan tersebut dihaluskan dan diayak hingga diperoleh serbuk halus.

4.3.2 Praskrining Aktivitas Antikanker

4.3.2.1 Pembuatan Ekstrak Bahan

Bahan yang sudah dikeringkan dan diserbuk, kemudian diekstraksi dengan menggunakan pelarut eter dan metanol dengan cara maserasi. Tujuan pemilihan pelarut ini adalah untuk memisahkan komponen non polar, semi polar dan polar.

Serbuk bahan dimasukkan dalam bejana, ditambahkan dengan pelarut eter sampai terbasahi dan selanjutnya tertutup rapat. Kemudian biarkan selama 24 jam, saring filtratnya dengan penyaring Buchner dengan bantuan pompa vakum. Maserasi ini dilakukan beberapa kali dengan pelarut baru hingga filtrat jernih atau sampai filtrat memberikan reaksi negatif terhadap pereaksi tertentu.

Setelah itu residu dikeringkan untuk kemudian dilanjutkan proses maserasi dengan mengganti pelarut dari eter ke metanol lalu maserasi dilakukan dengan cara yang sama seperti pada pelarut eter. Hasil filtrat yang ditampung kemudian diuapkan dengan rotavapor hingga diperoleh ekstrak eter dan ekstrak metanol.

4.3.2.2 Uji Praskrining Antikanker Ekstrak dengan Metode BST

(Meyer, 1982)

- (1) Disiapkan air laut.
- (2) Air laut dimasukkan dalam wadah kecil yang sudah dibagi menjadi dua bagian ruangan dengan menggunakan sekat. Sedikit telur udang *Artemia salina* Leach. dimasukkan dalam salah satu ruang, kemudian ruangan ini ditutup sedang sisi lain dibiarkan terbuka atau diberi lampu untuk menarik

udang yang telah menetas melalui lubang sekat, sehingga anak udang dapat terpisahkan dari bagian telur atau kulit telur.

- (3) Setelah dua hari, telur udang akan menetas menjadi udang-udang kecil yang disebut nauplii dan siap digunakan untuk melakukan pengujian.
- (4) Disiapkan vial untuk melakukan uji. Lalu masing-masing ekstrak diujikan pada konsentrasi 10, 50, 100, 500 dan 1000 µg/ml. Disiapkan 3 vial untuk replikasi pada masing-masing konsentrasi dan sebuah vial untuk kontrol.

- (5) Pembuatan larutan hasil ekstraksi.

- a. Pembuatan larutan induk

Ditimbang 50 mg hasil fraksinasi, ditambah pelarutnya sampai 50,0 ml, campur sampai homogen.

Perhitungan konsentrasi larutan induk :

$$50 \text{ mg} / 50,0 \text{ ml} = 1000 \text{ µg/ml}$$

- b. Pembuatan larutan uji

Dimasukkan sejumlah tertentu larutan induk dalam vial hingga diperoleh konsentrasi larutan uji 10, 50, 100, 500 dan 1000 µg/ml, uapkan sampai kering. Masing-masing konsentrasi disiapkan dalam 3 vial sebagai replikasi.

Perhitungan konsentrasi larutan uji :

$$(5 \text{ ml} / 5,0 \text{ ml}) \times 1000 \text{ µg/ml} = 1000 \text{ µg/ml}$$

$$(2,5 \text{ ml} / 5,0 \text{ ml}) \times 1000 \text{ µg/ml} = 500 \text{ µg/ml}$$

$$(0,5 \text{ ml} / 5,0 \text{ ml}) \times 1000 \text{ µg/ml} = 100 \text{ µg/ml}$$

$$(0,25 \text{ ml} / 5,0 \text{ ml}) \times 1000 \text{ µg/ml} = 50 \text{ µg/ml}$$

$$(0,05 \text{ ml} / 5,0 \text{ ml}) \times 1000 \text{ µg/ml} = 10 \text{ µg/ml}$$

- c. Pembuatan larutan kontrol

Larutan kontrol dibuat tanpa penambahan hasil fraksinasi larutan ekstrak sama sekali. Untuk ekstrak yang sulit berdifusi dalam air dilarutkan dalam DMSO menggunakan alat penggetar ultrasonik.

- (6) Setelah telur udang menetas, maka anak udang (nauplii) telah siap digunakan sebagai uji aktivitas. Pada masing-masing vial ditambah 5 ml air laut dan 10 ekor larva udang (30 ekor larva udang tiap-tiap konsentrasi).

- (7) Setelah 24 jam, jumlah larva udang yang mati untuk tiap-tiap konsentrasi dihitung dan dicatat. Bila dalam larutan kontrol terdapat larva udang yang mati, maka pada tiap-tiap konsentrasi dikurangi jumlah larva udang yang mati dalam larutan kontrol.
- (8) Data tersebut dianalisis dengan komputer, menggunakan *Probit Analysis* untuk menentukan harga LC_{50} . Bila masing-masing ekstrak yang diuji kurang dari 1000 $\mu\text{g/ml}$ maka dianggap menunjukkan aktivitas biologik.

4.3.3 Skrining Zat Kandungan dalam Ekstrak yang Aktif

Terhadap ekstrak yang positif terhadap uji BST dilakukan skrining fitokimia untuk mengetahui golongan senyawa kimia yang terkandung di dalamnya (Harborne, 1987).

4.3.3.1 Skrining Flavonoid

Penyiapan ekstrak bahan pemeriksaan

Ekstrak etanol sebanyak 2 ml diuapkan diatas penangas air sampai kering, kemudian diekstraksi berulang-ulang dengan petroleum eter sampai cairan tidak berwarna. Residu ditambah dengan 20 ml etanol 80%, kemudian disaring dan filtratnya dibagi empat (A, B, C, D).

Reaksi warna

Uji Bate Smith & Metcalf

Larutan A sebagai blanko, larutan B ditambah 0,5 ml HCl pekat dan diamati perubahan warna yang terjadi, kemudian dipanaskan 15 menit di atas penangas air dan diamati lagi perubahan warna yang terjadi. Bila perlahan-lahan menjadi warna merah terang atau violet menunjukkan adanya senyawa leukoantosianin (dibandingkan dengan blanko).

Uji Wilstatter

Larutan A sebagai blanko, larutan C ditambah 0,5 ml HCl pekat dan 4 potong Mg. Diamati warna yang terjadi, diencerkan dengan air suling, kemudian ditambah 1 ml butanol. Diamati warna yang terjadi di setiap lapisan. Perubahan warna merah jingga menunjukkan adanya flavon, merah pucat menunjukkan adanya flavonoid, merah tua menunjukkan adanya flavonon.

Kromatografi lapis tipis

Larutan D ditotolkan pada fase diam. Uji kromatografi lapis tipis ini menggunakan

Fasa diam : lapisan tipis selulose

Eluen : butanol : asam asetat glasial : air (4:1:5)

Penampak noda : pereaksi citrat borat atau uap amonia

Adanya flavonoid ditunjukkan dengan timbulnya noda berwarna kuning.

4.3.3.2 Skrining glikosida Saponin

Uji buih

Ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambah dengan air suling 10 ml dan dikocok kuat-kuat selama 30 detik. Sebagai pembanding digunakan larutan yang dibuat dari sedikit daging buah Sapindus rarak. Tes buih positif mengandung saponin bila terjadi buih yang stabil lebih dari 30 menit dengan tinggi buih 3 cm diatas permukaan cairan.

4.3.3.3 Skrining Steroid dan Triterpen

Penyiapan ekstrak bahan pemeriksaan

Ekstrak etanol sebanyak 15 ml diuapkan diatas penangas air sampai kering. Setelah dingin dikocok dengan petroleum eter, didekantir dan filtratnya dibuang. Ulangi sampai petroleum eter tidak berwarna. Residu ditambah dengan 10 ml kloroform dan dikocok selama 5 menit, kemudian didekantir dalam tabung reaksi yang berisi 100 mg Na_2SO_4 kering lalu disaring. Filtrat dibagi menjadi 3 bagian yang selanjutnya dinamakan larutan A, B dan C.

Reaksi warna

Uji Liebermann-Burchard

Larutan A digunakan sebagai blanko, larutan B sebanyak 5 ml ditambah 3 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes H_2SO_4 pekat lalu dikocok perlahan dan diamati terjadinya perubahan warna. Terjadinya warna hijau biru menunjukkan adanya saponin steroid, warna merah ungu menunjukkan adanya

saponin triterpen dan warna kuning muda menunjukkan adanya sapogenin jenuh.

Uji Salkowski

Larutan A digunakan sebagai blanko, larutan C sebanyak 5 ml ditambah 1-2 ml H_2SO_4 pekat melalui dinding tabung reaksi. Adanya steroid tak jenuh ditandai dengan timbulnya cincin warna merah.

Deteksi steroid dan triterpen dengan KLT

Ekstrak etanol sebanyak 5 ml ditambah 2 ml HCl 2N, dididihkan dalam tabung reaksi yang mulutnya ditutup dengan corong berisi kapas dibasahi air selama 2 jam untuk menghidrolisa saponin. Setelah dingin dinetralkan dengan ammonia kemudian diuapkan diatas penangas air sampai kental. Setelah dingin, residu diekstraksi dengan heksana 3 ml, beberapa kali sampai sempurna (3 kali). Dikumpulkan semua ekstrak heksana, kemudian diuapkan. Residu yang terjadi dilarutkan dalam 5 tetes kloroform dan siap untuk pemeriksaan kromatografi lapis tipis.

Fasa diam : silika gel 60 GF₂₅₄

Eluen : heksana : etil asetat (4:1)

Penampak noda : anisaldehyd-asam sulfat atau antimon klorida

Adanya sapogenin ditunjukkan oleh timbulnya noda warna merah muda.

4.3.3.4 Skrining Alkaloid

Ekstrak dibagi 3 dan selanjutnya disebut larutan A,B, dan C..

Reaksi pengendapan

Larutan A ditambah pereaksi Meyer, larutan B ditambah pereaksi Wagner dan larutan C dipakai sebagai kontrol. Kemudian diamati terjadinya pengendapan. Adanya alkaloid ditunjukkan oleh timbulnya kekeruhan atau endapan.

Deteksi Alkaloid dengan KLT

Larutan C ditambah dengan NH_4OH 28% secukupnya sampai larutan suasananya basa, kemudian diekstraksi dengan 20 ml kloroform ditambah Na_2SO_4 eksikatus secukupnya hingga lapiosan kloroform babas air, kemudian

disaring. Filtrat kloroform diuapkan sampai kering, kemudian dilarutkan metanol siap untuk pemeriksaan KLT.

Fasa diam : silika gel 60 GF₂₅₄

Eluen : etil asetat : metanol : air (100:16,5:13,5)

Penampak noda : pereaksi Dragendorf

Jika timbul noda warna jingga menunjukkan adanya alkaloid..

4.3.3.5 Skrining Tanin dan Senyawa Polifenol

Penyiapan ekstrak

Ekstrak etanol sebanyak 2 ml diuapkan diatas penangas air sampai kering. Setelah dingin ditambah 20 ml air suling panas, dikocok sampai homogen dan kemudian ditambah 5 tetes NaCl 10%, disaring dan filtratnya dibagi 3 bagian (A,B,C).

Reaksi warna

Uji Gelatin

Larutan A digunakan sebagai blanko. Larutan B ditambah dengan sedikit larutan gelatin 1% dan NaCl 10%. Diamati terjadinya endapan serta dibandingkan dengan larutan A. Jika terbentuk endapan putih menunjukkan adanya tanin.

Uji Ferriklorida

Larutan C diberi 3 tetes larutan FeCl₃, kemudian diamati terjadinya perubahan warna. Jika terjadi warna hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin. Jika pada penambahan gelatin dan NaCl tidak timbul endapan, tetapi setelah ditambahkan dengan larutan FeCl₃ terjadi perubahan warna menjadi hijau biru hingga hitam, menunjukkan adanya senyawa polifenol.

4.3.3.6 Skrining Glikosida Jantung

Uji Liebermann-Burchard

Dilakukan seperti pemeriksaan steroid dan triterpen

Uji Keller-Killiani

Ekstrak etanol sebanyak 10 ml diuapkan diatas penangas air sampai kering. Setelah dingin diekstraksi berulang-ulang dengan heksana tidak

berwarna. Residu diuapkan untuk menghilangkan heksana. Kemudian ditambah dengan 6 ml larutan FeCl_3 , diaduk dan dituangkan kedalam 2 tabung reaksi, bagi 2 bagian yang sama (larutan A dan B). Larutan A digunakan sebagai kontrol sedangkan larutan B ditambah 1 ml H_2SO_4 pekat melalui dinding tabung secara perlahan-lahan. Diamati perubahan warna yang terjadi. Bila terbentuk cincin berwarna merah ungu atau terjadi warna dari coklat menjadi merah kemudian perlahan-lahan berubah menjadi biru atau ungu, menunjukkan adanya gula-2-deoksi.

4.3.4 Analisis Data

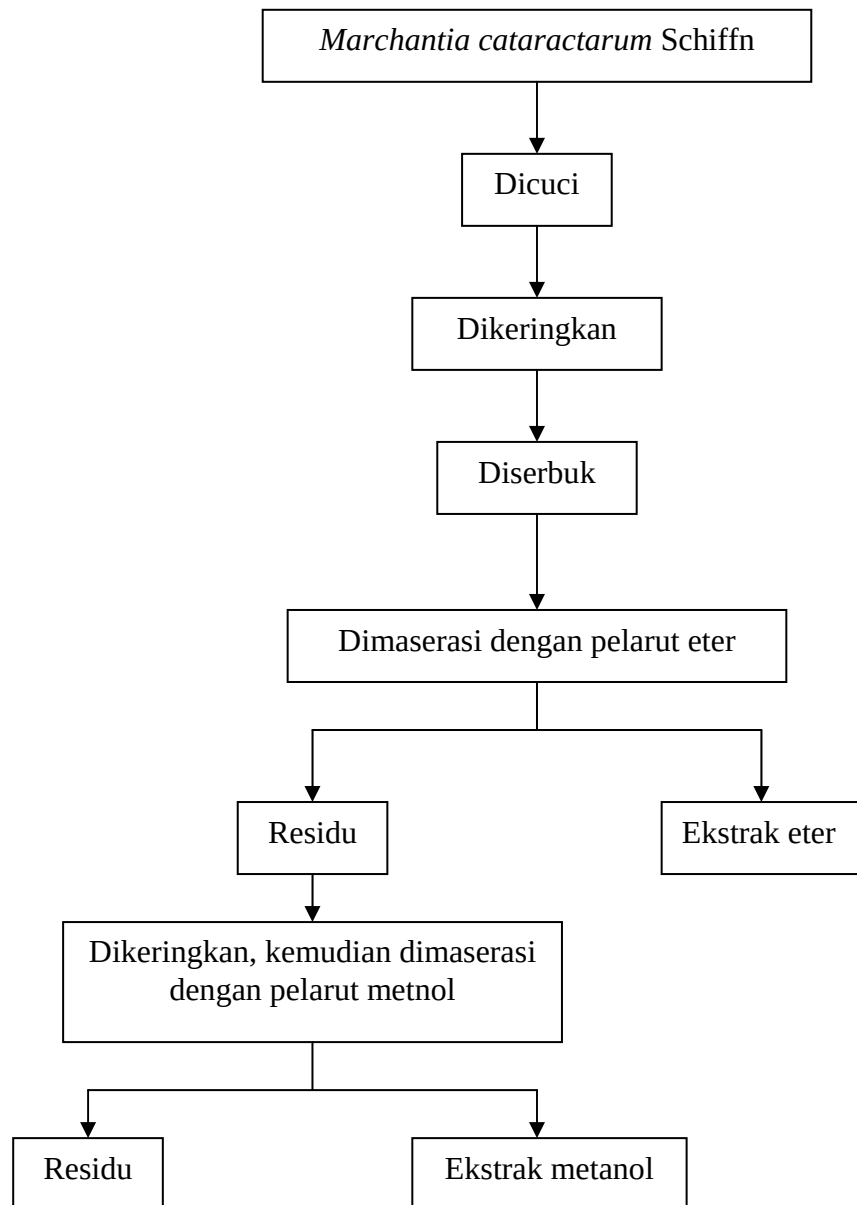
Data-data yang diperoleh dari hasil penelitian diolah dengan program SPSS yaitu *Probit Analysis*.

Analisis probit digunakan untuk mengukur suatu hubungan antara kekuatan suatu stimulus dengan proporsi dari respon yang terjadi. Metode ini dapat digunakan untuk menimbulkan respon dalam proporsi tertentu, seperti data ED_{50} (Median Effective Dose) dan LC_{50} (Median Lethal Concentration). Dengan Penggunaan analisis probit akan diperoleh kekuatan hubungan antara konsentrasi dan jumlah hewan coba yang mati dan dapat ditentukan pula berapa dosis efektif pada obat tersebut.

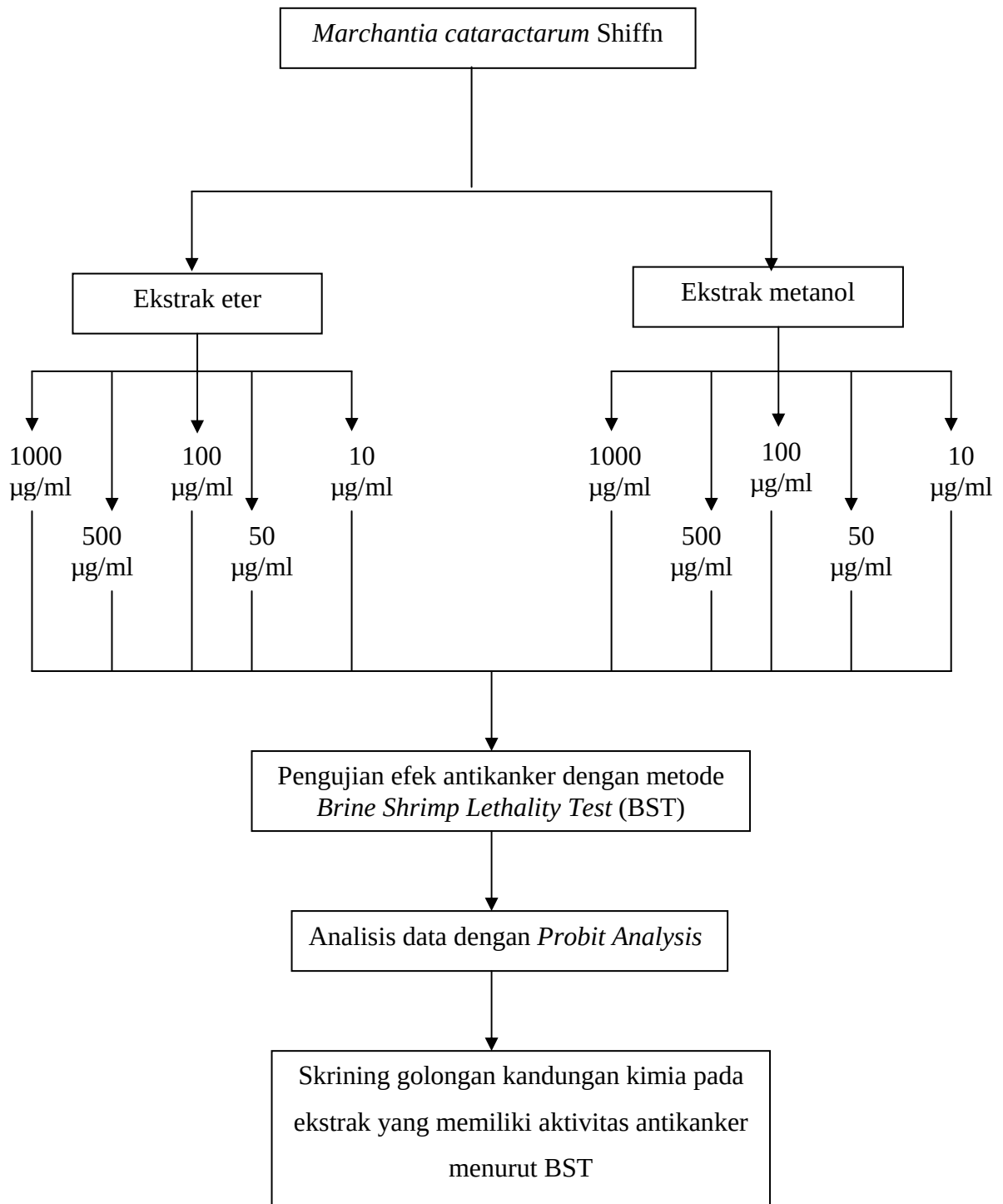
Data yang diperlukan untuk masing-masing bahan yang diuji dapat dilihat pada tabel IV.1.

Tabel IV.1 Data yang diperlukan untuk mencari harga LC_{50} masing-masing bahan yang diuji menggunakan *Probit Analysis*

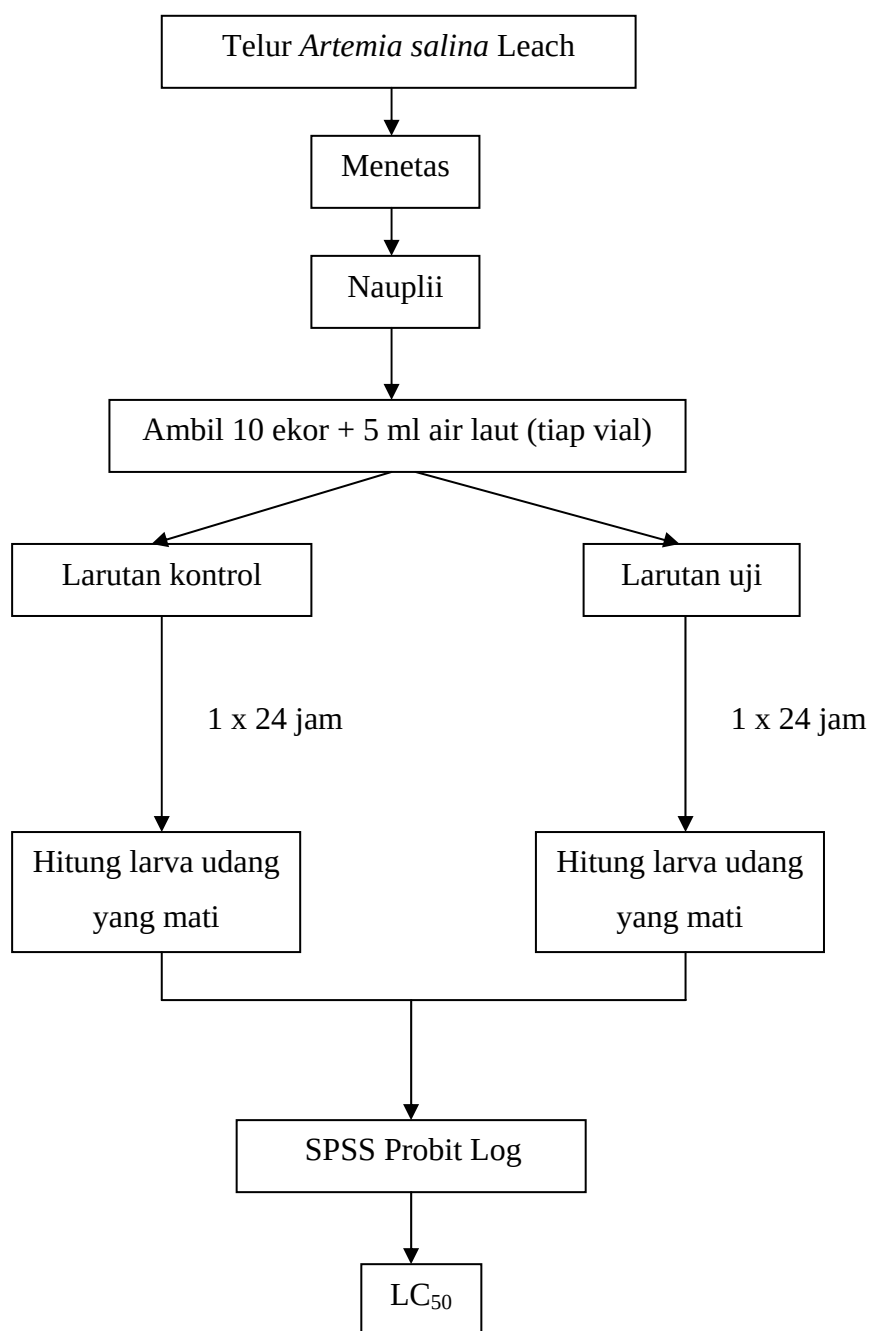
Jumlah anak udang yang mati	Jumlah anak udang yang diuji	Konsentrasi larutan ($\mu\text{g/ml}$)
X 1	30	1000
X 2	30	500
X 3	30	100
X4	30	50
X5	30	10



Gambar 4.1 Skema Proses Ekstraksi



Gambar 4.3 Skema Rancangan Penelitian



Gambar 4.2 Skema *Brine Shrimp Lethality Test* (BST)

BAB V

HASIL PENELITIAN

5.1 Pembuatan Ekstrak Bahan

Tumbuhan lumut hati (*Marchantia cataractarum* Schiffn) dicuci kemudian dikeringkan, setelah itu diserbuk. Serbuk kering sebanyak 468 gram kemudian diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut eter dilanjutkan dengan metanol. Hasil ekstraksi kemudian diuapkan. Hasil ekstraksi dari masing-masing pelarut dan berat ekstrak *Marchantia cataractarum* Schiffn. yang diperoleh tertera pada tabel V.1.

Tabel V.1. Hasil Pembuatan Ekstrak *Marchantia cataractarum* Schiffn

Nama bahan	Berat ekstrak yang diperoleh
Ekstrak eter	3,7131 g
Ekstrak metanol	2,7183 g

5.2 Pembuatan Larutan Uji

Ekstrak yang diperoleh dari masing-masing pelarut ditimbang ± 50 mg, kemudian ditambah dengan pelarutnya masing-masing sampai tepat 50,0 ml untuk mendapatkan larutan induk dengan konsentrasi 1000 $\mu\text{g/ml}$. Dari larutan baku induk dibuat 5 macam konsentrasi larutan uji seperti yang tertera pada tabel V.2

Tabel V.2. Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Eter dan Ekstrak Metanol *Marchantia cataractarum* Schiffn

Nama bahan	Ekstrak yang ditimbang	Konsentrasi larutan induk ($\mu\text{g/ml}$)	Konsentrasi larutan uji ($\mu\text{g/ml}$)
Ekstrak metanol	I. 50,4 mg	1008	1008; 504; 100,8; 50,4; 10,08
	II. 50,3 mg	1006	1006; 503; 100,6; 50,3; 10,06
	III. 50,0 mg	1000	1000; 500; 100 ; 50; 10
Ekstrak eter	I. 50,0 mg	1000	1000; 500; 100; 50; 10
	II. 50,1 mg	1002	1002; 501; 100,2; 50,1; 10,02
	III. 49,9 mg	998	998; 499; 99,8; 49,9 ; 9,98

5.3 Hasil Pengamatan Kematian Larva Udang (Uji BST)

Metode uji antikanker dengan metode BST dilakukan dengan menghitung larva *Artemia salina* Leach. yang mati pada masing-masing larutan. Hasil pengamatan pada tabel V.3.

Tabel V.3. Hasil Uji Aktivitas Antikanker Ekstrak Eter dan Ekstrak Metanol *Marchantia catarractarum* Schiffn dengan Metode BST

Nama bahan	Replikasi	Konsentrasi larutan uji ($\mu\text{g/ml}$)	Jumlah larva udang yang diuji	Jumlah larva udang yang mati setelah perlakuan
Ekstrak Eter	I	0	10	0
			10	0
			10	0
		10,08	10	1
			10	1
			10	1
		50,4	10	1
			10	1
			10	1
		100,8	10	5
			10	3
			10	5
	II	0	10	0
			10	0
			10	0
		10,06	10	1
			10	1
			10	2
		50,3	10	1
			10	2
			10	1
		100,6	10	4
			10	4
			10	4
	III	0	10	0
			10	0
			10	0
		10	10	1
			10	0
			10	1
		50	10	1
			10	2
			10	2
		100	10	3
			10	5
			10	4
		500	10	4
			10	3
			10	4
		1000	10	5
			10	5
			10	8

Nama bahan	Replikasi	Konsentrasi larutan uji ($\mu\text{g/ml}$)	Jumlah larva udang yang diuji	Jumlah larva udang yang mati setelah perlakuan
Ekstrak Metanol	I	0	10 10 10	0 1 0
		10	10 10 10	2 2 2
		50	10 10 10	3 2 2
		100	10 10 10	3 3 5
		500	10 10 10	10 9 10
		1000	10 10 10	10 10 10
	II	0	10 10 10	0 1 0
		10,02	10 10 10	3 3 2
		50,1	10 10 10	4 2 2
		100,2	10 10 10	6 3 3
		501	10 10 10	9 10 10
		1002	10 10 10	10 10 10
	III	0	10 10 10	0 1 0
		9,98	10 10 10	2 3 2
		49,9	10 10 10	3 3 3
		99,8	10 10 10	3 5 3
		499	10 10 10	9 10 10
		998	10 10 10	10 10 10

5.4 Penentuan Harga LC_{50} Ekstrak Eter dan Ekstrak Metanol *Marchantia cataractarum* Schiffn

Harga LC_{50} diolah dengan analisis probit menggunakan program SPSS 10.0 for windows dengan derajat kepercayaan 95 %. Harga LC_{50} ekstrak eter dan ekstrak metanol dapat dilihat pada tabel V.4. Ekstrak yang diuji dikatakan memiliki potensi antikanker dengan metode BST apabila harga LC_{50} kurang dari 1000 $\mu\text{g/ml}$.

Tabel V.4. Hasil Penentuan Harga LC_{50} Ekstrak Eter dan Ekstrak Metanol *Marchantia cataractarum* Schiffn

Nama bahan	Replikasi	Harga LC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	Rata-rata harga LC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
Ekstrak Eter	I	791,50	782,20 $\pm$ 14,20
	II	792,97	
	III	762,14	
Ekstrak Metanol	I	168,15	157,56 $\pm$ 7,70
	II	150,0	
	III	154,44	

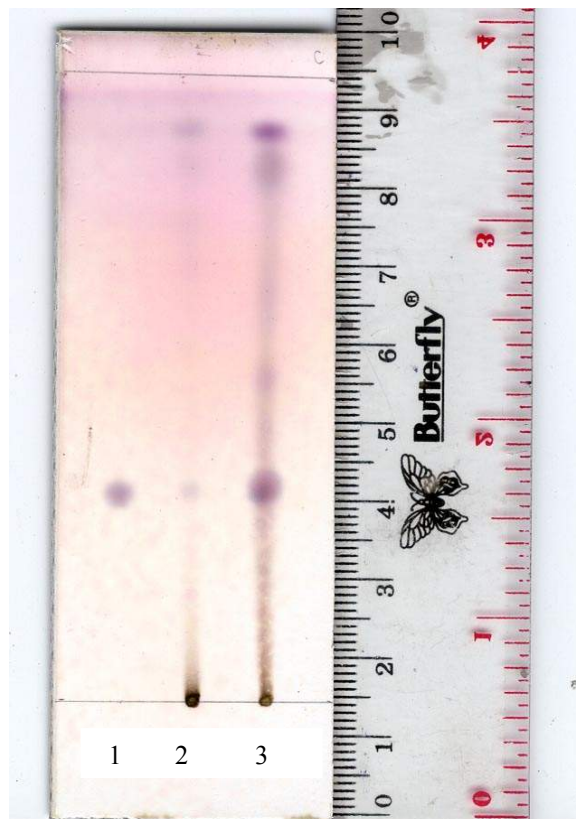
5.5 Skrining Kandungan Kimia Ekstrak yang Paling Aktif (Ekstrak Metanol) *Marchantia cataractarum* Schiffn

Berdasarkan harga LC_{50} ternyata ekstrak metanol adalah ekstrak yang paling aktif pada uji BST, karenanya dilakukan skrining fitokimia untuk mengetahui golongan kandungan kimia yang terdapat pada ekstrak tersebut. Hasil skrining fitokimia ekstrak metanol dapat dilihat pada tabel V.5.

Tabel V.5. Hasil Skrining Kandungan Kimia Ekstrak Metanol *Marchantia cataractarum* Schiffn

Uji golongan	Hasil	Keterangan
A. Flavonoid		
1. Uji Bate Smith & Metcalf	(-)	warna kuning
2. Uji Wilstatter	(-)	warna kuning
3. KLT	(-)	tidak ada noda
B. Saponin		
1. Uji buih	(+)	buih stabil
C. Steroid / Triterpen		
1. Uji Liebermann-Burchard	(+)	warna merah-ungu
2. Uji Salkowski	(+)	cincin merah
3. KLT	(+)	noda warna ungu
D. Tanin dan Polifenol		
1. Uji Gelatin-NaCl	(-)	tidak ada endapan
2. Uji Ferriklorida	(-)	warna kuning
E. Alkaloid		
1. Reaksi pengendapan	(-)	tidak ada endapan
2. KLT	(-)	tidak ada noda
F. Glikosida jantung		
1. Uji Keller-Killiani	(-)	warna orange

5.6 Hasil KLT Triterpenoid/Steroid Ekstrak Metanol *Marchantia cataractarum* Schiffn



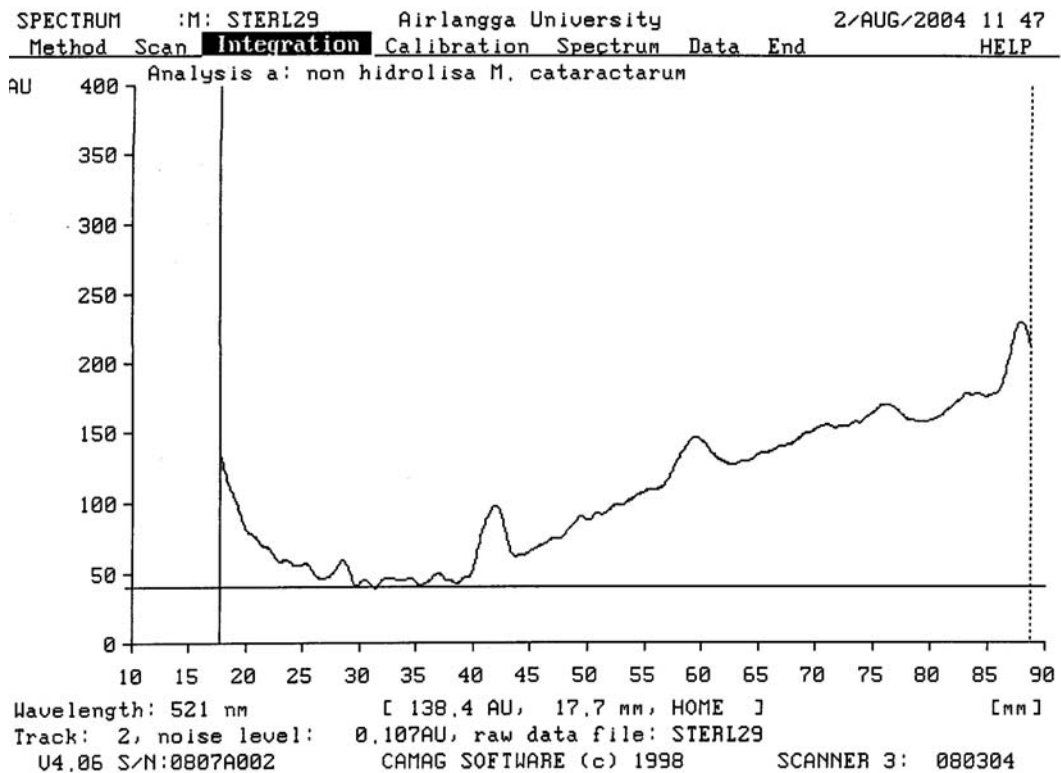
Gambar 5.1 Hasil KLT triterpenoid/steroid ekstrak metanol
Marchantia cataractarum Schiffn

Fase diam : silika gel GF₂₅₄
 Fase gerak : n-heksana : etil asetat (4 : 1)
 Penampak noda : anisaldehyd-asam sulfat

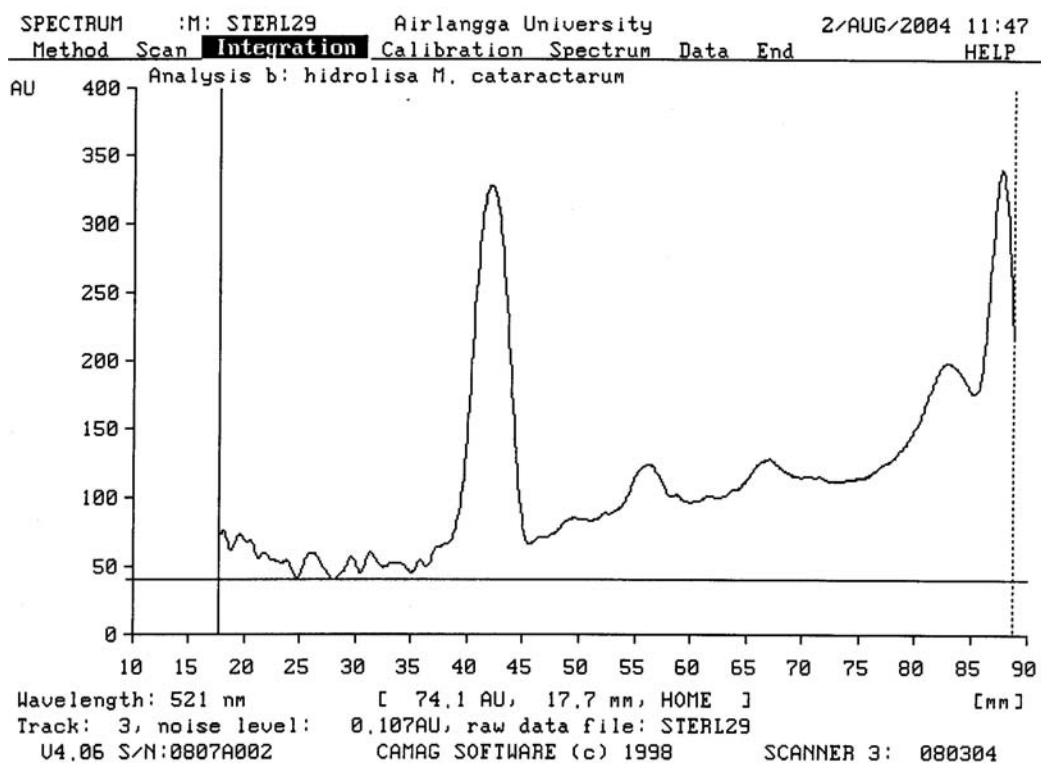
Keterangan :

1. Standar sterol (isolat dari *Marchantia geminata*)
2. Non hidrolisa ekstrak metanol *Marchantia cataractarum* Schiffn
3. Hidrolisa ekstrak metanol *Marchantia cataractarum* Schiffn

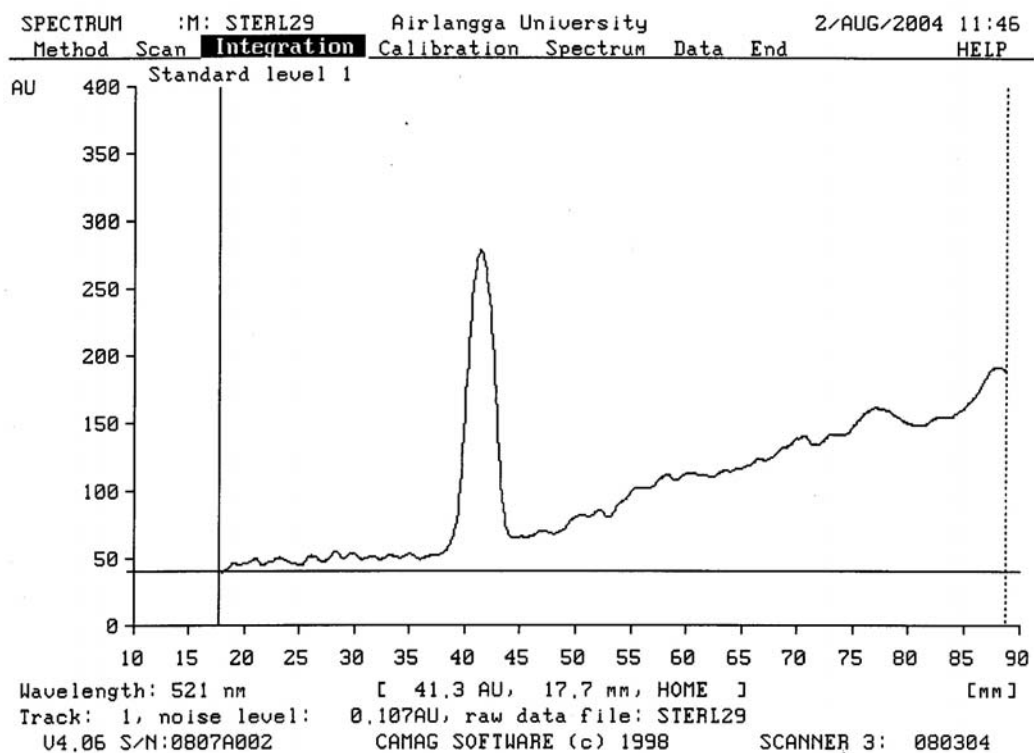
5.7 Profil KLT-densitometri Triterpenoid / Steroid Preparasi Non Hidrolisa dan Hidrolisa Ekstrak Metanol *Marchantia cataractarum* Schiffn (λ 521 nm)



Gambar 5.2 Profil KLT-densitometri triterpenoid/steroid non hidrolisa ekstrak metanol *Marchantia cataractarum* Schiffn (λ 521 nm)



Gambar 5.3 Profil KLT-densitometri triterpenoid/steroid dari hidrolisa ekstrak metanol *Marchantia cataractarum* Schiffn (λ 521 nm)



Gambar 5.4 Profil KLT-densitometri triterpenoid/steroid standar sterol
 (isolat *Marchantia geminata*) (λ 521 nm)

BAB VI

PEMBAHASAN

Salah satu pengobatan alternatif dalam mengobati penyakit kanker adalah dengan memanfaatkan bahan alam, seperti *Marchantia cataractarum* Schiffn. Untuk membuktikan aktivitas tanaman yang digunakan sebagai obat, perlu dilakukan penelitian ilmiah lanjut. Hal ini diperlukan agar didapat kesimpulan yang memuaskan tentang aktivitas dan kemungkinan toksisitas tanaman tersebut sehingga dapat digunakan dengan aman dan efektif. Oleh karena itu dilakukan penelitian mengenai aktivitas antikanker *Marchantia cataractarum* Schiffn dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST).

BST bukan merupakan metode uji aktivitas antikanker yang spesifik, akan tetapi metode ini mampu memberikan gambaran awal mengenai aktivitas dari ekstrak yang diuji. Penelitian yang dilakukan Meyer (1982) terhadap spesies Euphorbiaceae membuktikan bahwa BST mampu mendeteksi 14 diantara 27 ekstrak etanol yang aktif terhadap uji 9-PS (sel leukimia *in vitro* pada tikus). Metode ini juga mampu mendeteksi 6 diantara 7 senyawa murni yang aktif pada uji P-388 (sel leukimia *in vivo* pada mencit) pada penelitian Anderson (1991). Sehingga memungkinkan penggunaan BST sebagai uji praskrining aktivitas biologik menggantikan uji sitotoksik lain yang jauh lebih mahal dan membutuhkan waktu relatif lama

Pembuatan ekstrak yang akan diuji dilakukan dengan cara maserasi. Ekstraksi dengan cara maserasi berprinsip pada keseimbangan konsentrasi antara larutan dan residu padat (komponen aktif yang belum larut). Cara ini dipilih karena waktu yang diperlukan untuk mengekstraksi relatif lebih cepat dibandingkan cara perkolasi. Proses ekstraksi dengan cara maserasi dilakukan bertahap dengan menggunakan dua macam pelarut yang memiliki perbedaan polaritas. Pelarut yang digunakan adalah eter dan metanol.

Penggunaan pelarut dengan polaritas yang berbeda dimaksudkan agar zat-zat kandungan yang terdapat dalam tanaman *Marchantia cataractarum* Schiffn dapat tersari dalam pelarut yang sesuai dengan kepolarannya, sehingga terjadi

pemisahan zat kandungan. Zat kimia yang bersifat non polar dapat tersari dalam pelarut eter dan zat yang bersifat polar akan tersari pada pelarut metanol.

Hasil pengamatan uji kematian larva udang (BST) pada ekstrak eter dan ekstrak metanol *Marchantia cataractarum* Schiffn dapat dilihat pada tabel V.3. Data kematian larva udang yang diperoleh dianalisis dengan analisis probit menggunakan SPSS (*Statistic Program for Social Science*) 10,0 *for windows*. Data yang dihasilkan yaitu harga LC_{50} merupakan respon kematian 50% larva udang yang mengkorelasikan jumlah larva udang yang mati dengan konsentrasi larutan ekstrak uji.

Berdasarkan analisa probit dengan SPSS 10.0 *for windows*, diperoleh harga LC_{50} seperti tercantum pada tabel V.4. Ekstrak yang diuji dikatakan aktif atau memiliki potensi antikanker dengan metode BST apabila harga LC_{50} kurang dari 1000 $\mu\text{g/ml}$.

Dua macam ekstrak tanaman *Marchantia cataractarum* Schiffn yang diuji ternyata memiliki harga LC_{50} kurang dari 1000 $\mu\text{g/ml}$. Harga LC_{50} untuk ekstrak eter adalah $782,20 \pm 14,20 \mu\text{g/ml}$ sedangkan harga LC_{50} untuk ekstrak metanol adalah $157,56 \pm 7,70 \mu\text{g/ml}$. Hal ini menunjukkan bahwa kedua ekstrak tersebut memiliki aktivitas antikanker menurut metode BST.

Untuk meningkatkan kelarutan ekstrak yang mempunyai polaritas rendah seperti ekstrak eter digunakan DMSO agar dapat lebih mudah berdifusi dalam media air laut. Berdasarkan pustaka diketahui batas penggunaan DMSO adalah 50 μl tiap 5 ml air laut sebelum menimbulkan efek toksik.

Pada penelitian juga ditambahkan pelarut metanol, baik pada larutan uji ekstrak eter maupun pada larutan uji ekstrak metanol. Hal ini dilakukan sebab ekstrak eter masih sulit terdispersi secara merata pada media uji (air laut) walaupun telah ditambahkan DMSO. Demikian pula halnya dengan ekstrak metanol yang tergolong polar, masih memerlukan penambahan pelarut metanol agar dapat lebih terdispersi merata dalam media uji. Penambahan pelarut metanol adalah sebanyak 50 μl tiap 5 ml air laut (dari hasil orientasi).

Kontrol dibuat untuk mengetahui seberapa jauh pengaruh bahan DMSO dan pelarut metanol yang ditambahkan. Terdapat dua macam perlakuan yaitu untuk ekstrak metanol tanpa penambahan DMSO, maka larutan kontrol hanya

menggunakan pelarut metanol saja sedangkan untuk ekstrak eter ditambahkan DMSO dan pelarut metanol.

Skrining fitokimia dilakukan pada ekstrak metanol, yaitu ekstrak yang menunjukkan aktivitas paling tinggi sebagai antikanker dengan metode BST untuk mengetahui kandungan zat yang terdapat di dalamnya. Dari hasil skrining fitokimia, diketahui bahwa ekstrak metanol mengandung suatu senyawa golongan triterpenoid/steroid. Diduga bahwa steroid yang terkandung pada ekstrak metanol adalah bentuk sterol. Hal ini didasarkan pada kesamaan letak noda dan warna noda antara ekstrak metanol *Marchantia cataractarum* Schiffn dengan standar sterol yang digunakan (isolat *Marchantia geminata*).

Kemudian dilakukan pemeriksaan lebih lanjut dengan dua macam preparasi sampel yang berbeda, yaitu tanpa hidrolisa dan dengan hidrolisa dengan tujuan untuk mengetahui sterol yang terkandung dalam ekstrak metanol *Marchantia cataractarum* Schiffn adalah sterol bebas atau sterol dalam bentuk glikosida. Munculnya noda (walaupun samar) pada hasil KLT dari ekstrak metanol yang tidak dihidrolisa menunjukkan bahwa dalam ekstrak metanol *Marchantia cataractarum* Schiffn terdapat kandungan sterol bebas.

Pemeriksaan selanjutnya dengan menggunakan ekstrak metanol yang telah dihidrolisa. Diharapkan sterol bentuk glikosida akan menjadi sterol bebas dengan proses hidrolisa ini. Dari hasil pemeriksaan ekstrak metanol yang dihidrolisa menunjukkan warna noda yang lebih nyata pada hasil KLT dan memberikan puncak yang lebih tinggi pada profil KLT-densitometri bila dibandingkan dengan ekstrak metanol yang tanpa hidrolisa. Hal ini menunjukkan bahwa terkandung pula sterol dalam bentuk glikosida pada ekstrak metanol *Marchantia cataractarum* Schiffn. Dari pustaka diketahui bahwa sterol memiliki aktivitas antikanker, antara lain kandungan β -sitosterol-3-o- β -D-glukosida dari akar *Pinellia ternata*, rhizoma dari *Typhonium giraldii* melalui penelitian yang tercantum dalam buku "The Record of Chinese Medicinal Plants" diketahui bahwa tanaman ini mengandung glukosida, β -sitosterol dan saponin yang mempunyai aktivitas antikanker (Swee Hock Goh, 1997).

Berdasarkan pengalaman yang telah dilakukan, ada beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam pelaksanaan penelitian, yaitu ekstrak yang akan

ditimbang sebisa mungkin bebas dari pelarutnya sehingga pembuatan konsentrasi larutan uji dapat lebih tepat. Pelarut yang digunakan pada pembuatan larutan uji harus berderajat p.a dengan harapan pelarut tersebut dapat menguap sempurna sehingga tidak menyebabkan kematian larva udang. Perhitungan jumlah larva udang harus dilakukan dengan teliti, untuk mempermudah dapat digunakan dinding hitam dengan pencahayaan dari atas peneliti. Sebisa mungkin diusahakan agar pencahayaan, suhu dan sirkulasi udara pada tiap wadah uji (vial) harus disamakan sehingga larva benar-benar mendapat perlakuan yang sama. Selain itu untuk menghomogenkan larutan uji sebelum perlakuan terhadap larva udang dimulai dapat dilakukan penghomogenan larutan dengan vortex. Kriteria mati untuk larva udang adalah jika larva tidak menunjukkan gerakan sama sekali selama pengamatan.

BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

KESIMPULAN

1. Hasil uji praskrining aktivitas antikanker dengan menggunakan metode BST pada ekstrak eter dan ekstrak metanol *Marchantia cataractarum* Schiffn menunjukkan hasil yang positif, dengan harga LC_{50} untuk ekstrak eter sebesar $782,20 \pm 14,20 \mu\text{g/ml}$ dan ekstrak metanol sebesar $157,56 \pm 7,70 \mu\text{g/ml}$.
2. Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak metanol *Marchantia cataractarum* Schiffn mengandung senyawa golongan triterpenoid/steroid.

SARAN

1. Perlu dilakukan isolasi dan identifikasi lebih lanjut terhadap senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak metanol *Marchantia cataractarum* Schiffn.
2. perlu dilakukan uji aktivitas biologik antikanker lainnya, missal terhadap hewan coba ynag lain dan sel kanker.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahern, H., 1992. **Introduction to Experimental Cell Biology**, United States of America: WMC Brown Publisher, hal. 83-87
- Anderson, J.E and Mc. Laughlin, J.L., 1991. A Blind Comparison of Simple Bench Top Bioassay and Human Tumour Cell Cytotoxicities as Antitumour Prescreens, **Phytochemical Analysis**, Vol.2, hal.107-111
- Asakawa, Y., 1984. Phytochemistry of Hepaticae: **Isolation of Biologically Active Aromatic Compound and Terpenoids**, Rev. Latinomer. Quim, Japan, hal. 109-114
- Clarke, M.L., Harvey, D.G., Humpreys, D.J., 1981, **Veterinary Toxicology**, 2nd ed., The English Language Book Society and Bailliere Tindall
- Dewick, P.M., 1989. Tumour Inhibitor From Plants, in: **Trease and Evan's Pharmacognosy**, 13th edition Bailliere Tindal: English Language Book Society, hal. 629, 631-632
- Donatus, I.A., 1978, **Toksikologi Dasar**, Edisi ketiga, UGM, Yogyakarta, hal. 257-267
- Farnsworth, N.R., 1996, **Biologically and Phytochemical Screening of Plants**, Vol.55 (3), Journal of Pharm. Science, hal. 230-231
- Fong, Harry H.S., **Phytochemical Methods**, London: Chapman and Hall Ltd.
- Harborne, J.B., 1973. **Phytochemical Methods**, London: Chapman and Hall LTD.
- Hernawan, P., 2002, **Uji Toksisitas Sitotoksik Ekstrak Metanol Lumut Hati *Marchantia geminata* Reinw. Bl. Nees.**, Surabaya: Fakultas Farmasi Universitas Airlangga
- Loomis, T.A., 1978, **Essentials of Toxicology**, 3rd ed., Philadelphia: Lea and Febiger, hal. 222-223
- Mc. Laughlin, J.L., 1991. **Grown Gall Tumours on Potato Disc and Brine Shrimp Lethality: Two Simple Bioassay for Higher Plant Screening and Fractionation**, Methods in Plant Biochemistry, Assay for Bioactivity, Vol.6, London: Academic Press
- Meyer, Laughlin and Ferrigni, 1982. Brine Shrimp: Convenient General Bioassay for Active Constituents, **Planta Medica**, Vol.45, hal.31-34

- Nafrialdi dan Ganiswara,S., 1995. Antikanker dan Imunosupresan, **Farmakologi dan Terapi**, Edisi 4, Jakarta: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, hal. 686-687
- Noor Cholies Zaini dan Gunawan Indrayanto, 1978, **Cara-cara Skrining Fitokimia**, Disajikan pada acara khusus penyegar dalam rangka peringatan lustrum III Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, 20-21 Sept 1978, Surabaya
- Robbins, Stanley L., and Marcia Angell, 1971. **Basic Pathology**, Philadelphia: W.B. Saunders Company
- Robinson, S.L. and Kumar,V., 1992. Neoplasia, **Buku Ajar Patologi**, Edisi 4, Editor alih bahasa Jonathan Uswari, Jakarta: Penerbit buku kedokteran EGC, hal. 203-238
- Siswandono dan Soekardjo, B., 2000. **Kimia Medisinal**, Edisi kedua, Surabaya: Airlangga University Press
- Sukardiman, 1994, **Fraksinasi Ekstrak Heksan dari Daun Gynura procumbens yang Memiliki Aktivitas Antikanker dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BST)**, Surabaya : Lembaga Penelitian Universitas Airlangga
- Swee Hock Goh, 1997, Bioactive Principles from Folkloric Anti-neoplastic Plants and from Bioprospecting The Malaysian Forest, available from : URL : <http://www.iupac.org/symposia/proceeding/phuket97/goh.html>, cited : 2004 May 13
- Tjarta, Ahmad, 1996. Neoplasma, **Patologi**, Edisi I, Jakarta: Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, hal.77-109
- Tjitrosoepomo, G., 1986. **Taksonomi Tumbuhan** (Taksonomi Khusus), PT. Bhartara Aksara Karya, Yogyakarta, hal. 168-176
- Underwood, J.C.E, 1999. **Patologi Umum dan Sistemik**, Edisi kedua, Jakarta: Penerbit buku kedokteran EGC, hal. 258-304

Lampiran 12

Determinasi Tanaman



Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia
(Indonesian Institute of Sciences)
PUSAT PENELITIAN BIOLOGI
(RESEARCH CENTER FOR BIOLOGY)
Jl. Ir. H. Juanda 18, Bogor 16002, Indonesia P.O Box 208 Bogor
Telp. (0251) 321038 - 321041 Fax. 325854

Bogor, 6 Juni 2002

Nomor : 310 /IPH.1.02/If.8/2002
Lampiran : -
Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.
Sdr. **Drs. Sukardiman, Apt., MS.**
Jur. Farmasi Univ. Airlangga
SURABAYA

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor, adalah sebagai berikut :

No.	No. Kol./ Nama daerah	Jenis	Suku
1	Tengger 1	<i>Marchantia geminata</i> Reinw., Bl., Nees	Marchantiaceae
2	Tengger 2	<i>Marchantia</i> cf. <i>treubii</i> Schiffner	Marchantiaceae
3	Tengger 3	<i>Marchantia geminata</i> Reinw., Bl., Nees	Marchantiaceae
4	Tengger 4	<i>Marchantia</i> sp.	Marchantiaceae
5	Tengger 5	<i>Marchantia cataractarum</i> Schiffn.	Marchantiaceae
6	Tengger 6	<i>Marchantia</i> sp.	Marchantiaceae
7	Tengger 7	<i>Marchantia polymorpha</i> L.	Marchantiaceae
8	Tengger 8	<i>Marchantia nitida</i> Lehn. et. Lindenb.	Marchantiaceae
9	Tengger 9	<i>Marchantia</i> cf. <i>planiloba</i> Steph.	Marchantiaceae

Demikian, semoga berguna bagi saudara.

a.n. Kepala Bidang Botani
Pusat Penelitian Biologi-LIPI,

Warsita Mahyar
LIPI 320003382

Lampiran-3

Penentuan Harga LC₅₀ Ekstrak Eter *Marchantia cataractarum* Schiffn Replikasi I

* * * * * P R O B I T A N A L Y S I S * * * * *

DATA Information

12 unweighted cases accepted.

0 cases rejected because of missing data.

0 cases are in the control group.

MODEL Information

ONLY Normal Sigmoid is requested.

Parameter estimates converged after 14 iterations.
Optimal solution found.

Parameter Estimates (PROBIT model: (PROBIT(p)) =
Intercept + BX):

	Regression Coeff.	Standard Error
Coeff./S.E.		

KONSENTR	.00554	.00101
5.46736		

	Intercept	Standard Error
Intercept/S.E.		

	-.93220	.16903	-
5.51503			

Pearson Goodness-of-Fit Chi Square = 3.739
DF = 10 P = .958

Since Goodness-of-Fit Chi square is NOT significant,
no heterogeneity
factor is used in the calculation of confidence
limits.

Observed and Expected Frequencies

Residual	KONSENTR	Number of Subjects Prob	Observed Responses	Expected Responses
.097	10.00 .19031	10.0	2.0	1.903
.097	10.00 .19031	10.0	2.0	1.903
.097	10.00 .19031	10.0	2.0	1.903
.438	50.00 .25623	10.0	3.0	2.562
-.562	50.00 .25623	10.0	2.0	2.562
-.562	50.00 .25623	10.0	2.0	2.562
-.528	100.00 .35278	10.0	3.0	3.528
-.528	100.00 .35278	10.0	3.0	3.528
1.472	100.00 .35278	10.0	5.0	3.528
.329	500.00 .96710	10.0	10.0	9.671
-.671	500.00 .96710	10.0	9.0	9.671
.329	500.00 .96710	10.0	10.0	9.671

Confidence Limits for Effective KONSENTR

Prob	KONSENTR	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
.01	-251.47619	-456.11569	-150.11190
.02	-202.30483	-380.82423	-112.55824
.03	-171.10718	-333.27936	-88.50650
.04	-147.63841	-297.66817	-70.25836
.05	-128.54837	-268.82446	-55.29165
.06	-112.29975	-244.37951	-42.44704
.07	-98.05289	-223.04072	-31.09020
.08	-85.29652	-204.02183	-20.83405
.09	-73.69512	-186.80752	-11.42387
.10	-63.01601	-171.04103	-2.68249

.15	-18.80163	-106.81905	34.56470
.20	16.33855	-57.52272	65.91284
.25	46.48570	-17.09334	94.66924
.30	73.55877	17.23712	122.46974
.35	98.64600	47.04910	150.23137
.40	122.45133	73.44683	178.46536
.45	145.48327	97.31875	207.45025
.50	168.15004	119.41788	237.36991
.55	190.81681	140.38780	268.41879
.60	213.84875	160.78968	300.87372
.65	237.65408	181.14376	335.15137
.70	262.74131	201.98751	371.88122
.75	289.81439	223.96192	412.03777
.80	319.96153	247.96503	457.22044
.85	355.10172	275.49507	510.33488
.90	399.31609	309.65286	577.64625
.91	409.99520	317.84217	593.96482
.92	421.59661	326.71665	611.71482
.93	434.35297	336.45048	631.25603
.94	448.59983	347.29468	653.10748
.95	464.84845	359.63143	678.06026
.96	483.93849	374.08809	707.41403
.97	507.40727	391.81250	743.54895
.98	538.60491	415.30437	791.65370
.99	587.77627	452.20093	867.60225

Lampiran-4

Penentuan Harga LC₅₀ Ekstrak Eter *Marchantia cataractarum* Schiffn Replikasi II

* * * * * P R O B I T A N A L Y S I S * * * * *

DATA Information

12 unweighted cases accepted.

0 cases rejected because of missing data.

0 cases are in the control group.

MODEL Information

ONLY Normal Sigmoid is requested.

Parameter estimates converged after 13 iterations.
Optimal solution found.

Parameter Estimates (PROBIT model: (PROBIT(p)) =
Intercept + BX):

	Regression Coeff.	Standard Error
Coeff./S.E.		

KONSENTR	.00515	.00099
5.21111		

	Intercept	Standard Error
Intercept/S.E.		

	-.77324	.16344	-
4.73113			

Pearson Goodness-of-Fit Chi Square = 6.451
DF = 10 P = .776

Since Goodness-of-Fit Chi square is NOT significant,
no heterogeneity
factor is used in the calculation of confidence
limits.

Confidence Limits for Effective KONSENTR

Prob	KONSENTR	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
.01	-301.45750	-549.93303	-184.29128
.02	-248.54614	-466.31829	-144.64629
.03	-214.97558	-413.45786	-119.30238
.04	-189.72176	-373.82315	-100.10701
.05	-169.17972	-341.68638	-84.39004
.06	-151.69522	-314.42088	-70.92449
.07	-136.36474	-290.59303	-59.03919
.08	-122.63811	-269.33063	-48.32472
.09	-110.15430	-250.06188	-38.51178
.10	-98.66293	-232.39081	-29.41311
.15	-51.08558	-160.10922	9.13919
.20	-13.27262	-104.14901	41.26623
.25	19.16754	-57.80681	70.49505
.30	48.29980	-18.10111	98.65445
.35	75.29519	16.55431	126.88617
.40	100.91117	47.18903	155.92519
.45	125.69492	74.64767	186.20160
.50	150.08574	99.72449	217.94445
.55	174.47656	123.17193	251.31668
.60	199.26032	145.68240	286.54125
.65	224.87630	167.89850	323.99890
.70	251.87168	190.46193	364.32260
.75	281.00395	214.10483	408.54481
.80	313.44411	239.81677	458.40390
.85	351.25707	269.21347	517.09444
.90	398.83442	305.60487	591.53692
.91	410.32579	314.32088	609.59066
.92	422.80960	323.76332	629.22990
.93	436.53622	334.11723	650.85286
.94	451.86671	345.64924	675.03401
.95	469.35121	358.76530	702.64900
.96	489.89325	374.13167	735.13636
.97	515.14707	392.96739	775.13073
.98	548.71763	417.92711	828.37535
.99	601.62899	457.12143	912.44076

Lampiran-5

Penentuan Harga LC₅₀ Ekstrak Eter *Marchantia cataractarum* Schiffn Replikasi III

* * * * * P R O B I T A N A L Y S I S * * * * *

DATA Information

12 unweighted cases accepted.

0 cases rejected because of missing data.

0 cases are in the control group.

MODEL Information

ONLY Normal Sigmoid is requested.

Parameter estimates converged after 13 iterations.
Optimal solution found.

Parameter Estimates (PROBIT model: (PROBIT(p)) =
Intercept + BX):

	Regression Coeff.	Standard Error
Coeff./S.E.		

KONSENTR	.00524	.00099
5.27560		

	Intercept	Standard Error
Intercept/S.E.		

	-.80901	.16451	-
4.91767			

Pearson Goodness-of-Fit Chi Square = 3.532
DF = 10 P = .966

Since Goodness-of-Fit Chi square is NOT significant,
no heterogeneity
factor is used in the calculation of confidence
limits.

Observed and Expected Frequencies

Residual	KONSENTR Prob	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses
	9.98	10.0	2.0	2.246
-.246	.22461			
	9.98	10.0	3.0	2.246
.754	.22461			
	9.98	10.0	2.0	2.246
-.246	.22461			
	49.90	10.0	3.0	2.920
.080	.29198			
	49.90	10.0	3.0	2.920
.080	.29198			
	49.90	10.0	3.0	2.920
.080	.29198			
	99.80	10.0	3.0	3.874
-.874	.38735			
	99.80	10.0	5.0	3.874
1.126	.38735			
	99.80	10.0	3.0	3.874
-.874	.38735			
	499.00	10.0	9.0	9.645
-.645	.96446			
	499.00	10.0	10.0	9.645
.355	.96446			
	499.00	10.0	10.0	9.645
.355	.96446			

Confidence Limits for Effective KONSENTR

Prob	KONSENTR	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
.01	-289.65969	-526.89765	-176.39594
.02	-237.62063	-445.32452	-137.22479
.03	-204.60352	-393.76652	-112.17441
.04	-179.76603	-355.11667	-93.19477
.05	-159.56265	-323.78516	-77.64913
.06	-142.36640	-297.20871	-64.32578
.07	-127.28865	-273.98831	-52.56184
.08	-113.78833	-253.27290	-41.95296

.09	-101.51032	-234.50455	-32.23311
.10	-90.20840	-217.29692	-23.21731
.15	-43.41542	-146.97136	15.02914
.20	-6.22584	-92.62356	46.97092
.25	25.67951	-47.71386	76.09001
.30	54.33150	-9.32048	104.17676
.35	80.88183	24.13669	132.32335
.40	106.07551	53.70868	161.20730
.45	130.45068	80.26068	191.21209
.50	154.43939	104.58626	222.54662
.55	178.42810	127.41541	255.37758
.60	202.80327	149.40821	289.94158
.65	227.99694	171.17534	326.63038
.70	254.54728	193.33110	366.07838
.75	283.19927	216.58410	409.30551
.80	315.10462	241.90125	458.01714
.85	352.29420	270.87043	515.33755
.90	399.08718	306.75355	588.02644
.91	410.38910	315.35005	605.65337
.92	422.66711	324.66374	624.82787
.93	436.16743	334.87720	645.93871
.94	451.24518	346.25354	669.54670
.95	468.44143	359.19335	696.50670
.96	488.64481	374.35413	728.22307
.97	513.48230	392.93887	767.26782
.98	546.49941	417.56733	819.24774
.99	598.53846	456.24345	901.31589

Lampiran-6

Penentuan Harga LC_{50} Ekstrak Metanol *Marchantia cataractarum* Schiffn Replikasi I

* * * * * P R O B I T A N A L Y S I S * * *

DATA Information

15 unweighted cases accepted.

0 cases rejected because of missing data.

0 cases are in the control group.

MODEL Information

ONLY Normal Sigmoid is requested.

Parameter estimates converged after 10 iterations.
Optimal solution found.

Parameter Estimates (PROBIT model: (PROBIT(p)) =
Intercept + BX):

	Regression Coeff.	Standard Error
Coeff./S.E.		

KONSENTR	.00105	.00028
3.72071		

	Intercept	Standard Error
Intercept/S.E.		

	-.83200	.15243	-
5.45823			

Pearson Goodness-of-Fit Chi Square = 14.532
DF = 13 P = .337

Since Goodness-of-Fit Chi square is NOT significant,
no heterogeneity
factor is used in the calculation of confidence
limits.

Observed and Expected Frequencies

Residual	KONSENTR Prob	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	
1.057	10.08 .20571	10.0	1.0	2.057	-
1.057	10.08 .20571	10.0	1.0	2.057	-
1.057	10.08 .20571	10.0	1.0	2.057	-
1.180	50.40 .21798	10.0	1.0	2.180	-
1.180	50.40 .21798	10.0	1.0	2.180	-
1.180	50.40 .21798	10.0	1.0	2.180	-
2.661	100.80 .23391	10.0	5.0	2.339	
.661	100.80 .23391	10.0	3.0	2.339	
2.661	100.80 .23391	10.0	5.0	2.339	
1.188	504.00 .38124	10.0	5.0	3.812	
.188	504.00 .38124	10.0	4.0	3.812	
1.188	504.00 .38124	10.0	5.0	3.812	
-.900	1008.00 .59001	10.0	5.0	5.900	
-.900	1008.00 .59001	10.0	5.0	5.900	
.100	1008.00 .59001	10.0	6.0	5.900	

Confidence Limits for Effective KONSENTR

Prob	KONSENTR	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
.01	-1421.61746	-3443.23159	-779.90964
.02	-1162.28631	-2898.83648	-606.43527

.03	-997.74900	-2554.11842	-495.68816
.04	-873.97400	-2295.29471	-411.88316
.05	-773.29259	-2085.17350	-343.30236
.06	-687.59689	-1906.69674	-284.55992
.07	-612.45853	-1750.55437	-232.70746
.08	-545.18108	-1611.08359	-185.94368
.09	-483.99494	-1484.57391	-143.08049
.10	-427.67300	-1368.45833	-103.28805
.15	-194.48510	-892.83813	66.59258
.20	-9.15475	-525.69012	212.46817
.25	149.84218	-227.67976	354.58637
.30	292.62634	13.18443	508.97124
.35	424.93715	200.89086	687.52196
.40	550.48717	345.43620	890.51884
.45	671.95826	462.34965	1109.85652
.50	791.50348	564.02450	1339.10166
.55	911.04869	657.94777	1576.09837
.60	1032.51978	748.62924	1821.66802
.65	1158.06980	839.21685	2078.62264
.70	1290.38061	932.45244	2351.64420
.75	1433.16477	1031.36570	2647.97999
.80	1592.16170	1140.10949	2979.36477
.85	1777.49205	1265.60574	3366.89212
.90	2010.67995	1422.23089	3855.76780
.91	2067.00189	1459.90451	3974.00220
.92	2128.18803	1500.77619	4102.50339
.93	2195.46548	1545.65654	4243.85760
.94	2270.60384	1595.71402	4401.79494
.95	2356.29954	1652.72838	4581.99978
.96	2456.98095	1719.62153	4793.80865
.97	2580.75595	1801.74144	5054.31744
.98	2745.29326	1910.73829	5400.78576
.99	3004.62441	2082.22250	5947.17103

Lampiran-7

Penentuan Harga LC_{50} Ekstrak Metanol *Marchantia cataractarum* Schiffn Replikasi II

* * * * * P R O B I T A N A L Y S I S * * * *

DATA Information

15 unweighted cases accepted.
0 cases rejected because of missing data.
0 cases are in the control group.

MODEL Information

ONLY Normal Sigmoid is requested.

Parameter estimates converged after 10 iterations.
Optimal solution found.

Parameter Estimates (PROBIT model: (PROBIT(p)) =
Intercept + BX):

	Regression Coeff.	Standard Error
Coeff./S.E.		
KONSENTR	.00100	.00028
3.53837		

	Intercept	Standard Error
Intercept/S.E.		
	-.78978	.15064
5.24280		

Pearson Goodness-of-Fit Chi Square = 9.171
DF = 13 P = .760

Since Goodness-of-Fit Chi square is NOT significant,
no heterogeneity
factor is used in the calculation of confidence
limits.

Observed and Expected Frequencies

Residual	KONSENTR	Number of Subjects Prob	Observed Responses	Expected Responses	
1.178	10.06 .21776	10.0	1.0	2.178	-
1.178	10.06 .21776	10.0	1.0	2.178	-
-.178	10.06 .21776	10.0	2.0	2.178	
1.297	50.30 .22975	10.0	1.0	2.297	-
-.297	50.30 .22975	10.0	2.0	2.297	
1.297	50.30 .22975	10.0	1.0	2.297	-
1.548	100.60 .24523	10.0	4.0	2.452	
1.548	100.60 .24523	10.0	4.0	2.452	
1.548	100.60 .24523	10.0	4.0	2.452	
1.136	503.00 .38637	10.0	5.0	3.864	
.136	503.00 .38637	10.0	4.0	3.864	
1.136	503.00 .38637	10.0	5.0	3.864	
-.840	1006.00 .58402	10.0	5.0	5.840	
-.840	1006.00 .58402	10.0	5.0	5.840	
.160	1006.00 .58402	10.0	6.0	5.840	

Confidence Limits for Effective KONSENTR

Prob	KONSENTR	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
.01	-1542.75326	-3939.08344	-839.50205
.02	-1269.05610	-3329.04815	-659.83495
.03	-1095.40403	-2942.66385	-545.17840

.04	-964.77234	-2652.48159	-458.44715
.05	-858.51354	-2416.84017	-387.49850
.06	-768.07061	-2216.63045	-326.75192
.07	-688.76985	-2041.42193	-273.15282
.08	-617.76548	-1884.86948	-224.83533
.09	-553.18985	-1742.81471	-180.56908
.10	-493.74788	-1612.38000	-139.49499
.15	-247.64222	-1077.34134	35.55859
.20	-52.04524	-662.80839	185.38444
.25	115.75955	-324.44034	331.18600
.30	266.45344	-49.59324	491.13816
.35	406.09379	163.10240	681.34885
.40	538.59882	322.65371	904.11624
.45	666.79897	448.07179	1148.59592
.50	792.96656	555.22455	1405.47633
.55	919.13414	653.33715	1671.39691
.60	1047.33430	747.66741	1946.96442
.65	1179.83933	841.71186	2235.23866
.70	1319.47967	938.41217	2541.44467
.75	1470.17356	1040.95427	2873.70184
.80	1637.97835	1153.66510	3245.16062
.85	1833.57533	1283.73139	3679.45313
.90	2079.68099	1446.06248	4227.21429
.91	2139.12297	1485.10972	4359.67584
.92	2203.69860	1527.47224	4503.63434
.93	2274.70297	1573.99039	4661.98613
.94	2354.00372	1625.87551	4838.90863
.95	2444.44665	1684.97268	5040.76776
.96	2550.70545	1754.31108	5278.01942
.97	2681.33714	1839.43503	5569.80899
.98	2854.98921	1952.42251	5957.86236
.99	3128.68637	2130.19217	6569.79509

Lampiran-8

Penentuan Harga LC_{50} Ekstrak Metanol *Marchantia cataractarum* Schiffn Replikasi III

* * * * * P R O B I T A N A L Y S I S * * * *

DATA Information

15 unweighted cases accepted.

0 cases rejected because of missing data.

0 cases are in the control group.

MODEL Information

ONLY Normal Sigmoid is requested.

Parameter estimates converged after 11 iterations.
Optimal solution found.

Parameter Estimates (PROBIT model: (PROBIT(p)) =
Intercept + BX):

	Regression Coeff.	Standard Error
Coeff./S.E.		

KONSENTR	.00117	.00029
4.07806		

	Intercept	Standard Error
Intercept/S.E.		

	-.89400	.15424	-
5.79603			

Pearson Goodness-of-Fit Chi Square = 13.783
DF = 13 P = .389

Since Goodness-of-Fit Chi square is NOT significant,
no heterogeneity
factor is used in the calculation of confidence
limits.

Observed and Expected Frequencies

Residual	KONSENTR Prob	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	
	10.00	10.0	1.0	1.888	
-.888	.18882				
	10.00	10.0	.0	1.888	-
1.888	.18882				
	10.00	10.0	1.0	1.888	
-.888	.18882				
	50.00	10.0	1.0	2.018	-
1.018	.20176				
	50.00	10.0	2.0	2.018	
-.018	.20176				
	50.00	10.0	2.0	2.018	
-.018	.20176				
	100.00	10.0	3.0	2.187	
.813	.21867				
	100.00	10.0	5.0	2.187	
2.813	.21867				
	100.00	10.0	4.0	2.187	
1.813	.21867				
	500.00	10.0	4.0	3.792	
.208	.37923				
	500.00	10.0	3.0	3.792	
-.792	.37923				
	500.00	10.0	4.0	3.792	
.208	.37923				
	1000.00	10.0	5.0	6.099	-
1.099	.60988				
	1000.00	10.0	5.0	6.099	-
1.099	.60988				
	1000.00	10.0	8.0	6.099	
1.901	.60988				

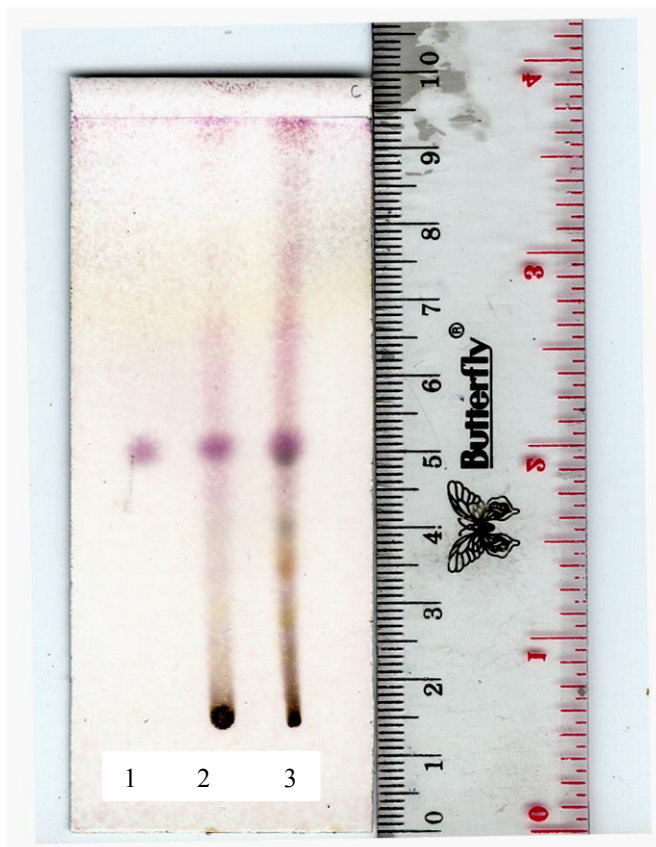
Confidence Limits for Effective KONSENTR

Prob	KONSENTR	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
.01	-1221.08647	-2718.29552	-681.51641
.02	-988.69404	-2274.52783	-520.88578
.03	-841.24849	-1993.66550	-418.27675
.04	-730.33095	-1782.88512	-340.58656

.05	-640.10809	-1611.84864	-276.97449
.06	-563.31426	-1466.64300	-222.45736
.07	-495.98109	-1339.67559	-174.30697
.08	-435.69228	-1226.32910	-130.85634
.09	-380.86201	-1123.57882	-91.00593
.10	-330.39066	-1029.33285	-53.98773
.15	-121.42578	-644.17546	104.32362
.20	44.65288	-348.39974	240.47963
.25	187.13358	-109.68381	372.32266
.30	315.08565	83.45370	511.95855
.35	433.65232	237.32787	666.44853
.40	546.16049	360.88093	835.50290
.45	655.01345	464.65152	1014.83337
.50	762.14058	556.92402	1201.17348
.55	869.26772	643.09622	1393.61389
.60	978.12067	726.71471	1593.09647
.65	1090.62884	810.43680	1801.98179
.70	1209.19551	896.69029	2024.09245
.75	1337.14758	988.22876	2265.32738
.80	1479.62828	1088.87008	2535.24503
.85	1645.70694	1205.00409	2851.04275
.90	1854.67182	1349.91860	3249.59698
.91	1905.14317	1384.77101	3346.00874
.92	1959.97344	1422.58018	3450.80027
.93	2020.26226	1464.09554	3566.08201
.94	2087.59542	1510.39741	3694.89794
.95	2164.38925	1563.13122	3841.88691
.96	2254.61211	1624.99839	4014.66829
.97	2365.52965	1700.94319	4227.19405
.98	2512.97520	1801.73621	4509.87240
.99	2745.36763	1960.29830	4955.70864

Lampiran-9

Hasil KLT Ekstrak Eter dan Ekstrak Metanol *Marchantia cataractarum* Schiffn



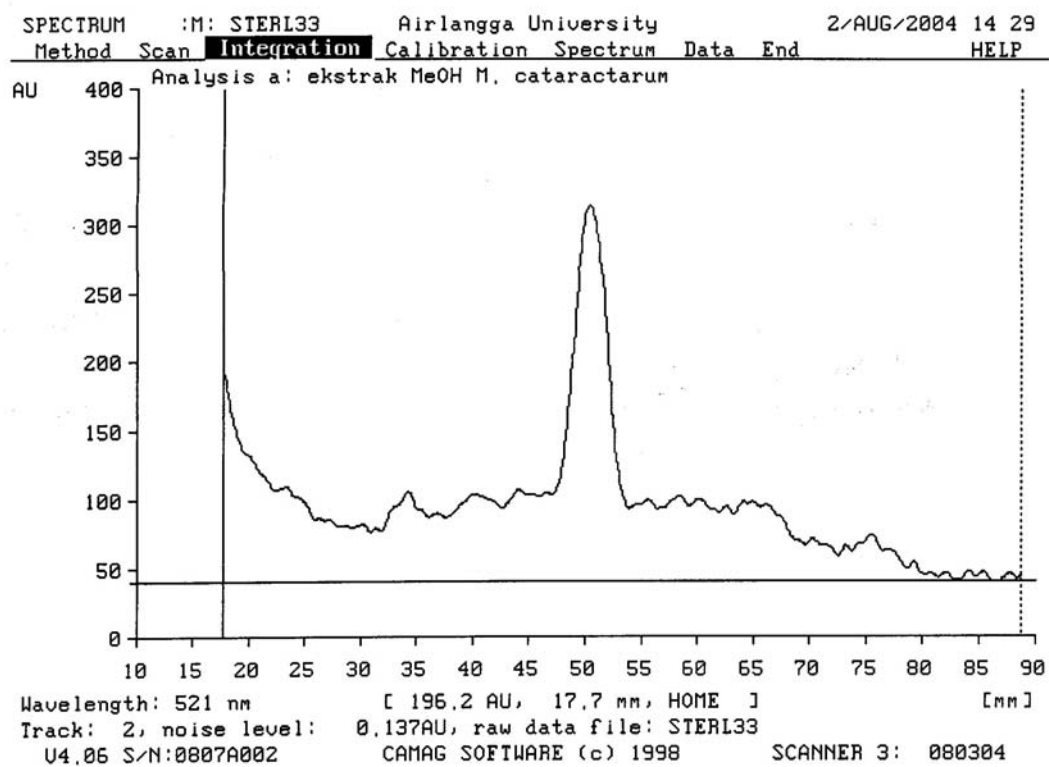
Fase diam : silika gel GF₂₅₄
Fase gerak : n-heksana : etil asetat (4 : 1)
Penampak noda : anisaldehyd-asam sulfat

Keterangan :

1. Standar sterol (isolat *Marchantia geminata*)
2. Ekstrak metanol *Marchantia cataractarum* Schiffn
3. Ekstrak eter *Marchantia cataractarum* Schiffn

Lampiran-10

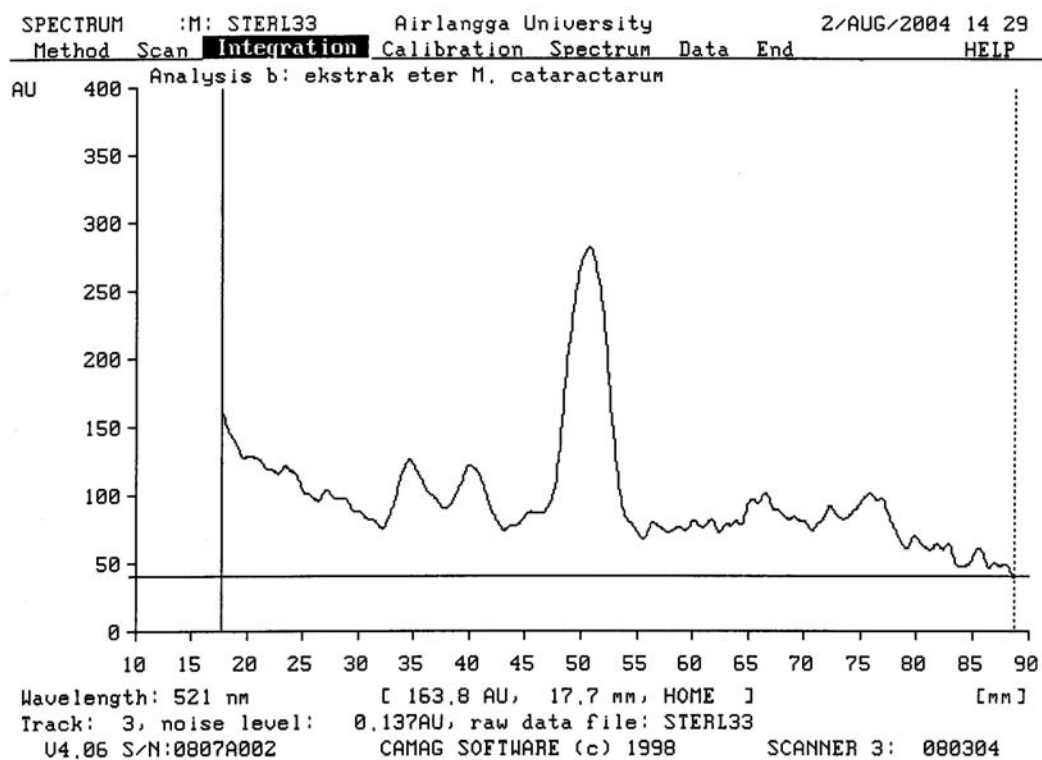
Profil Kandungan Kimia Ekstrak Metanol *Marchantia cataractarum* Schiffn dengan KLT-densitometri pada λ 521 nm



Fase diam : silika gel GF₂₅₄
 Fase gerak : n-heksana : etil asetat (4 : 1)
 Penampak noda : anisaldehyd-asam sulfat

Lampiran-11

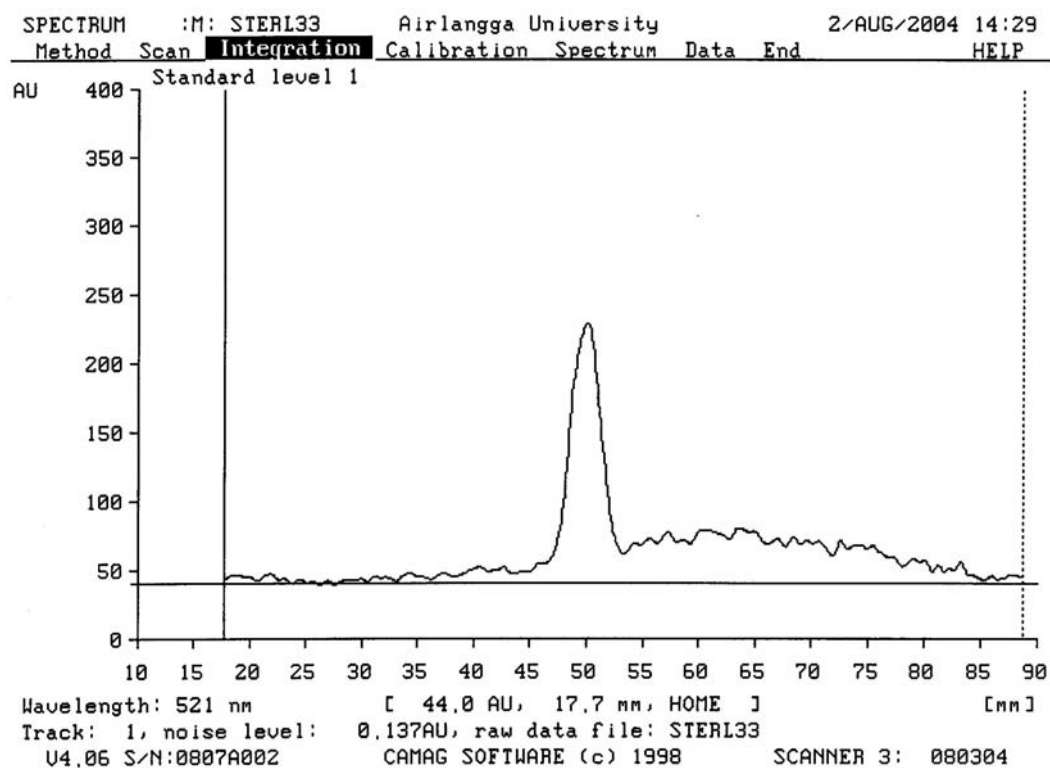
Profil Kandungan Kimia Ekstrak Eter *Marchantia cataractarum* Schiffn dengan KLT-densitometri pada λ 521 nm



Fase diam : silika gel GF₂₅₄
 Fase gerak : n-heksana : etil asetat (4 : 1)
 Penampak noda : anisaldehyd-asam sulfat

Lampiran-12

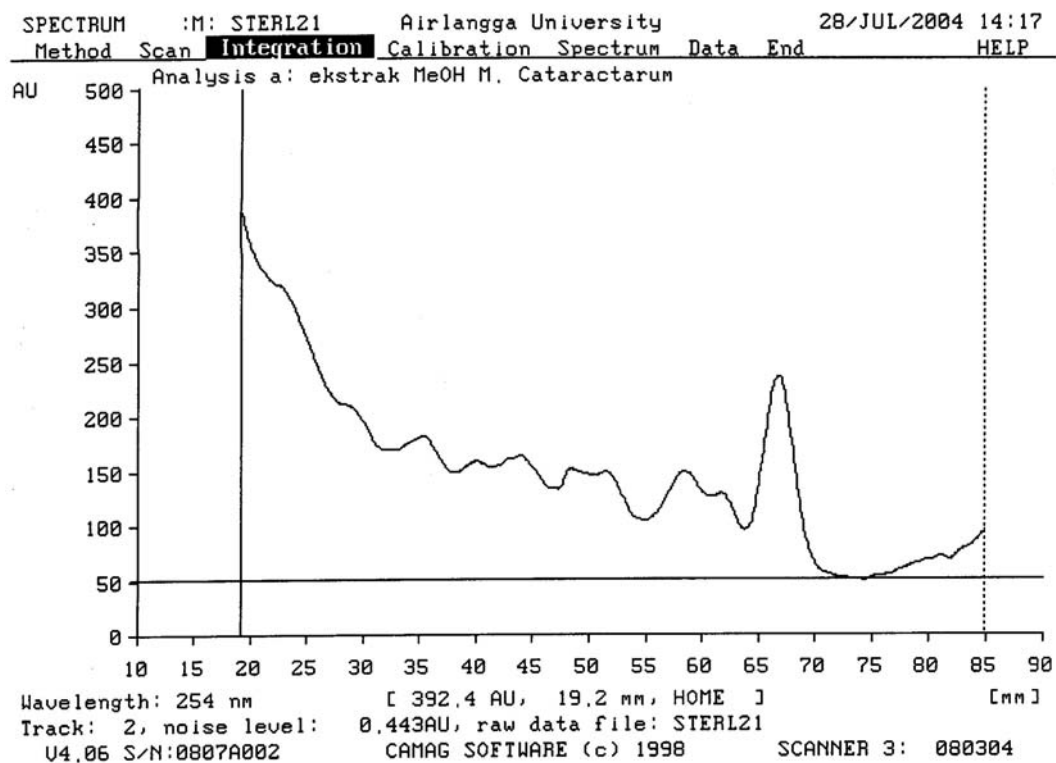
Profil Kandungan Kimia Standar Sterol (Isolat *Marchantia geminata*) dengan KLT-densitometri pada λ 521 nm



Fase diam : silika gel GF₂₅₄
 Fase gerak : n-heksana : etil asetat (4 : 1)
 Penampak noda : anisaldehyd-asam sulfat

Lampiran-13

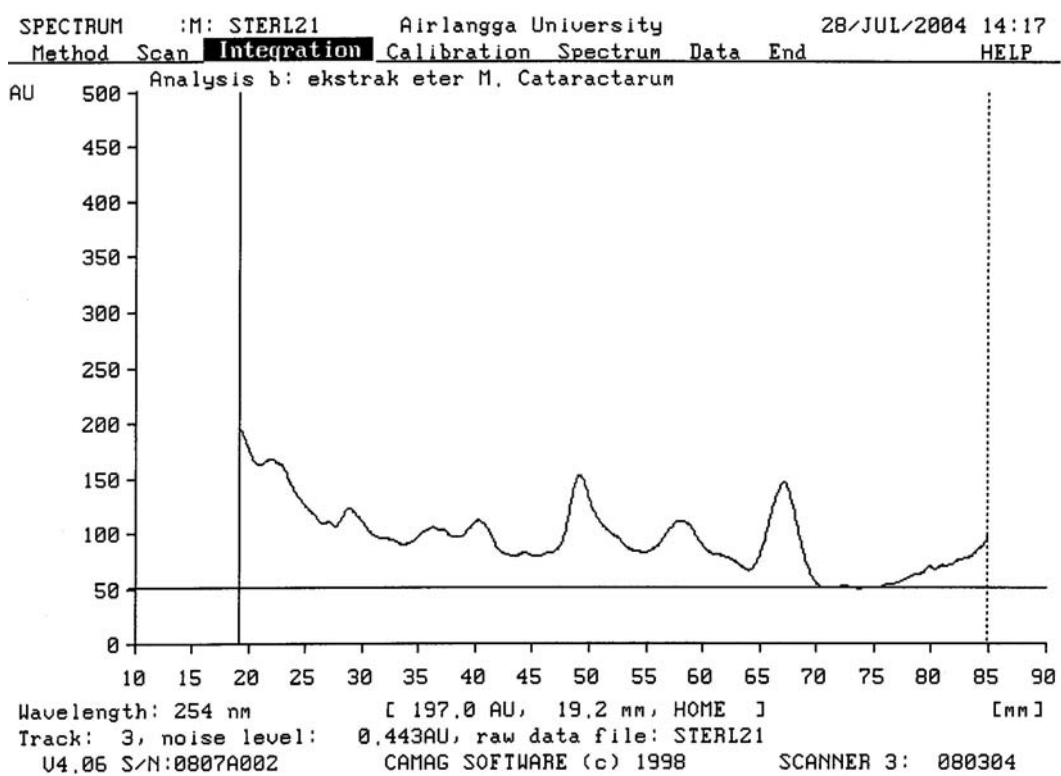
Profil Kandungan Kimia Ekstrak Metanol *Marchantia cataractarum* Schiffn dengan KLT-densitometri pada λ 254 nm



Fase diam : silika gel GF₂₅₄
 Fase gerak : n-heksana : etil asetat (4 : 1)
 Penampak noda : sinar UV

Lampiran-14

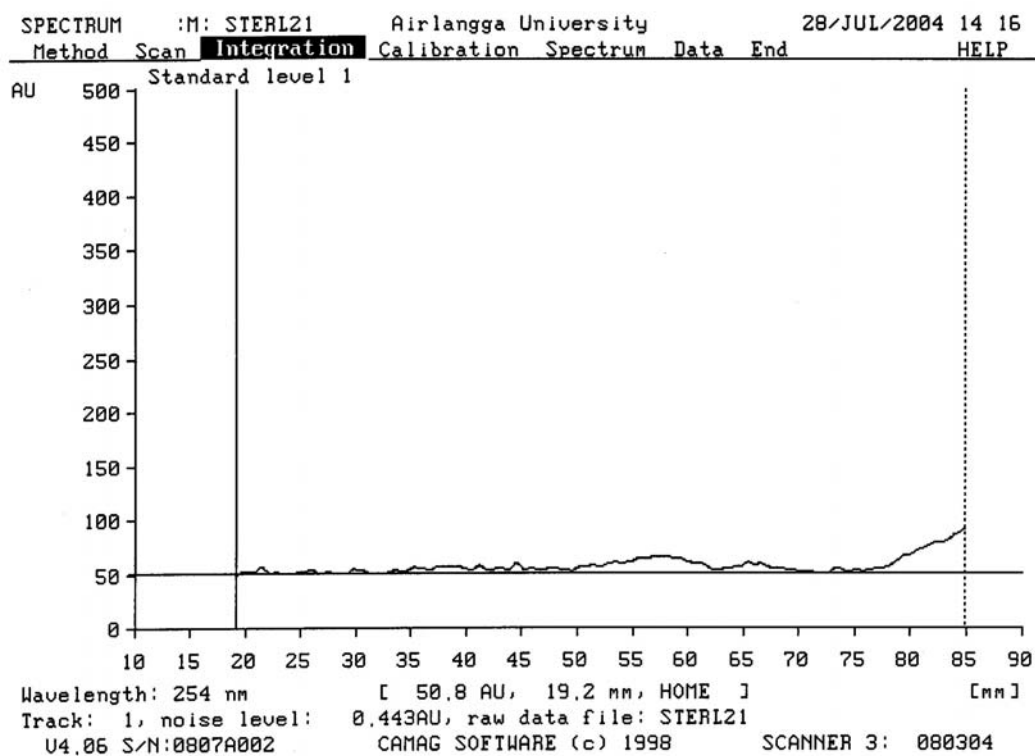
Profil Kandungan Kimia Ekstrak Eter *Marchantia cataractarum* Schiffn dengan KLT-densitometri pada λ 254 nm



Fase diam : silika gel GF₂₅₄
 Fase gerak : n-heksana : etil asetat (4 : 1)
 Penampak noda : sinar UV

Lampiran-15

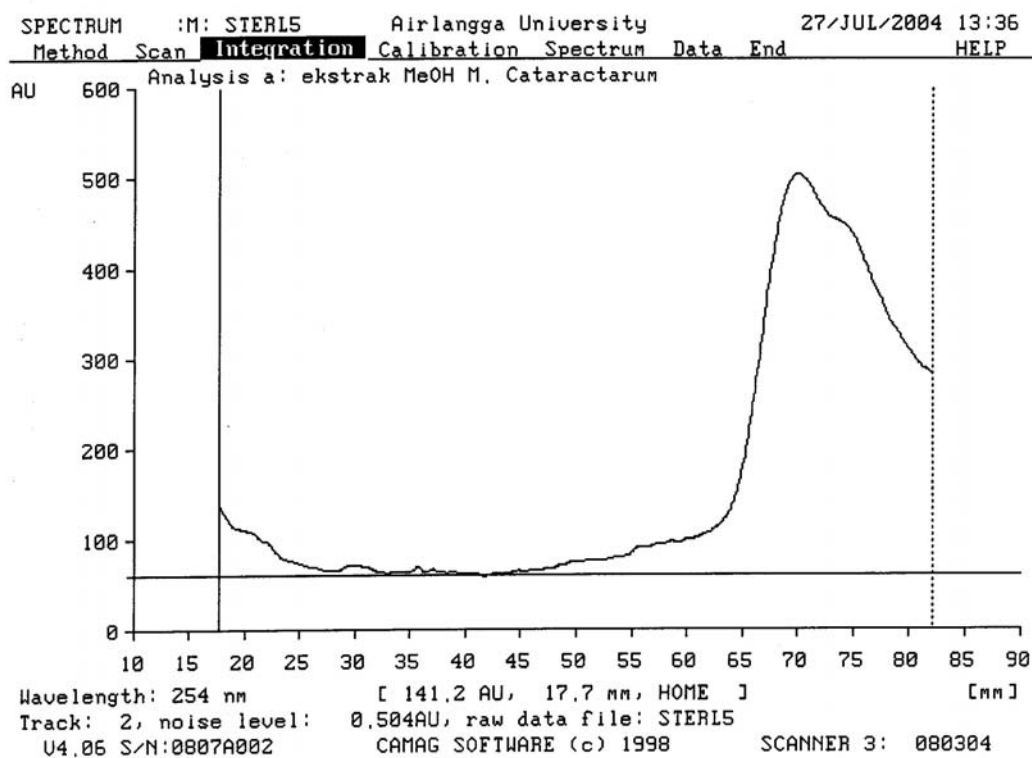
Profil Kandungan Kimia Standar Sterol (isolat *Marchantia geminata*) dengan KLT-densitometri pada λ 254 nm



Fase diam : silika gel GF₂₅₄
 Fase gerak : n-heksana : etil asetat (4 : 1)
 Penampak noda : sinar UV

Lampiran-16

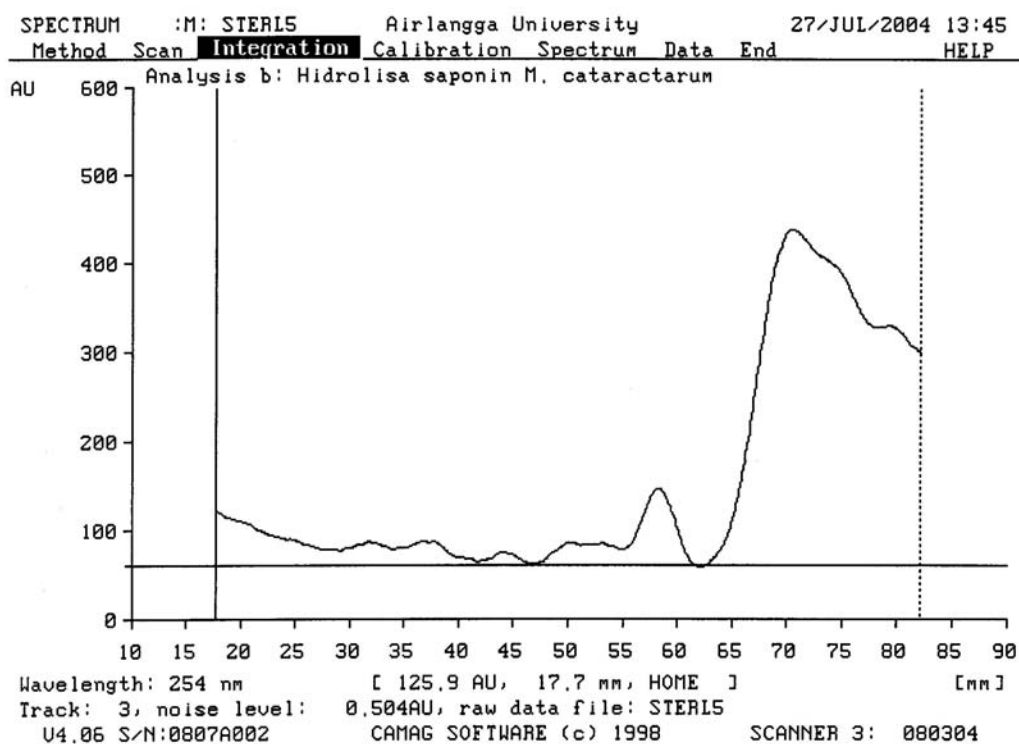
Profil Kandungan Kimia Non Hidrolisa Ekstrak Metanol *Marchantia cataractarum* Schiffn dengan KLT-densitometri pada λ 254 nm



Fase diam : silika gel GF₂₅₄
 Fase gerak : n-heksana : etil asetat (4 : 1)
 Penampak noda : sinar UV

Lampiran-17

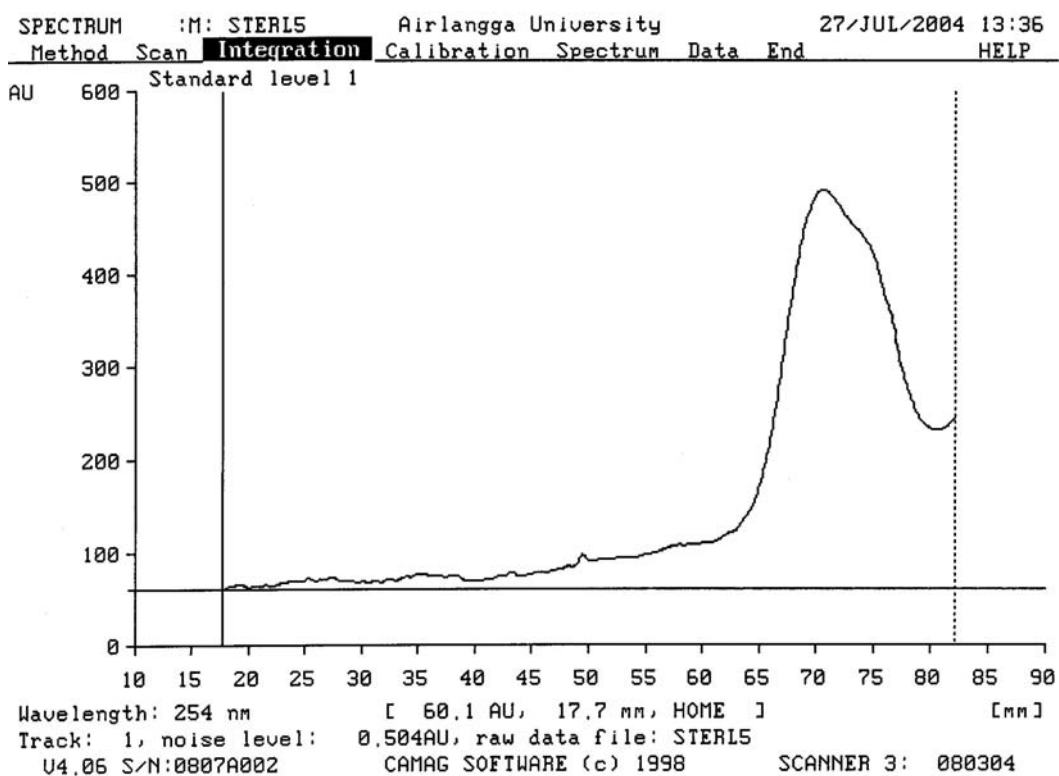
Profil Kandungan Kimia Hidrolisa Ekstrak Metanol *Marchantia cataractarum* Schiffn dengan KLT-densitometri pada λ 254 nm



Fase diam : silika gel GF₂₅₄
 Fase gerak : n-heksana : etil asetat (4 : 1)
 Penampak noda : sinar UV

Lampiran-18

Profil Kandungan Kimia Standar Sterol (Isolat *Marchantia geminata*) dengan KLT-densitometri pada λ 254 nm



Fase diam : silika gel GF₂₅₄
 Fase gerak : n-heksana : etil asetat (4 : 1)
 Penampak noda : sinar UV