Departemen Kesehatan menganjurkan agar dilakukan penelitian ilmiah tentang khasiat tanaman obat tradisional.

Berdasarkan kenyataan tersebut, maka dicoba untuk melakukan skrining terhadap tanaman-tanaman yang dapat digunakan untuk mengobati kanker. Prinsip suatu tumbuhan bisa digunakan untuk anti kanker adalah tumbuhan tersebut mengandung senyawa sitotoksik. Masih sedikitnya obat sitotoksik yang ada, menuntut dilakukannya penelitian terhadap bahan obat dari alam guna mencari obat baru yang dapat menjadi alternatif lain dalam pengobatan kanker (Dewi, 2004). Salah satunya metode yang mudah dan murah untuk arah penelitian ini adalah dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (*BST*) (Meyer *et al*., 1982). Uji dengan larva udang ini juga dapat digunakan untuk skrining awal terhadap senyawa-senyawa yang diduga berkhasiat sebagai anti kanker. Dengan kata lain uji ini seringkali mempunyai korelasi yang positif dengan potensinya sebagai anti kanker.

Tanaman *Clerodendrum calamitosum* L. merupakan salah satu tanaman obat tradisional Indonesia yang mudah didapat, karena dapat ditemukan disekitar kampung, di kebun, tepi jalan, kadang ditanam di pekarangan rumah sebagai tanaman hias atau tanaman obat. Tanaman ini dapat digunakan untuk mengobati demam, wasir, digigit ular, kencing batu, kencing nanah, *gonorrhea*, *syphillis*, disentri dan *menorrhagia*. Tanaman ini juga memiliki sifat menghentikan pendarahan dan penghancur batu ginjal (Anonim, 2006).

tidak memungkinkan terjadinya ekstraksi absolut (Ansel, 1989; Voight, 1984). Keuntungan cara penyarian ini adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Sedangkan kerugiannya adalah waktu pengerjaannya lama dan penyariannya kurang sempurna (Anonim, 1986).

b. Perkolasi

Istilah perkolasi berasal dari bahasa latin *per* yang artinya melalui, *colare* yang artinya merembes (Ansel, 1989). Perkolasi dilakukan dalam wadah berbentuk silindris atau kerucut (perkolator), yang memiliki jalan masuk dan keluar yang sesuai. Bahan pengekstraksi yang dialirkan secara kontinyu dari atas akan mengalir turun secara lambat melalui simplisia yang umumnya berupa serbuk kasar. Melalui penyegaran bahan pelarut secara kontinyu akan terjadi proses maserasi bertahap, sehingga perbedaan konsentrasi antara larutan dalam sel dengan cairan disekelilingnya dapat dipertahankan. Dengan demikian ekstraksi total secara teoritis dimungkinkan. Sebelum perkolator diisi simplisia dilembabkan dulu dengan menstrum dan dibiarkan membengkak untuk memudahkan penetrasi bahan pengekstraksi kedalam kelompok sel selama perkolasi. Setelah memasukkan bahan pengekstraksi ditunggu sampai cairan ekstrak menetes. Kemudian jalan keluar ditutup, jalan keluar ini baru dibuka jika bahan pengekstraksi berada 1-2 cm di atas lapisan simplisia. Setelah berakhirnya perkolasi, simplisia dipress dan cairan yang diperoleh dimasukkan kedalam perkolat sampai menunjukkan kandungan atau jumlah yang diinginkan. Hasil ekstraksi bahan aktif yang tinggi, ekstrak yang kaya dan juga pemanfaatan simplisia secara optimal serta singkatnya waktu pembuatan merupakan keuntungan dari perkolasi, akan tetapi sangat menuntut pengawasan dan pengamatan yang ketat (Voight, 1984).

c. Penyarian berkesinambungan

Penyarian berkesinambungan adalah suatu cara menyari simplisia dengan pelarut panas secara berkesinambungan dengan menggunakan alat yang dinamakan Soxhlet (Ansel, 1989). Bahan yang akan diekstraksi diletakkan dalam sebuah kantong ekstraksi (kertas, karton, dan sebagainya) di bagian dalam alat ekstraksi dari gelas yang bekerja kontinue (perkolator). Wadah yang mengandung kantung diletakkan diantara labu penyulingan dengan pendingin aliran balik dan

Tabel I. Kriteria ketoksikan LD_{50} (Loomis, 1978)

Ukuran ketoksikan	LD_{50}
Luar biasa toksik	1 mg/kg atau kurang
Sangat toksik	1 – 50 mg/kg
Cukup toksik	50 -500 mg/kg
Sedikit toksik	0,5 -5 mg/kg
Praktis tidak toksik	5 – 15 mg/kg
Relatif kurang berbahaya	Lebih daripada 15 mg/kg

Penggolongan tersebut hanya berlaku untuk harga LD_{50} pada hewan percobaan, untuk harga LC_{50} dibedakan menjadi :

1) Toksik ($LC_{50} \leq 1000$ µg/ml)

2) Tidak toksik ($LC_{50} \geq 1000$ µg/ml).

a. Mekanisme efek toksik

Semua efek toksik dapat dibedakan menjadi dua tipe pokok berdasarkan ada tidaknya efek yang memerlukan pernyataan dari spesimen baru biologi dan dapat terjadi secara berulang-ulang pada setiap kali penggunaan obat baru zat kimia tersebut, maka disebut efek normal atau efek yang diharapkan, baik merupakan efek terapetik maupun efek toksik, sedang zat kimia disebut efek abnormal atau efek yang tidak diharapkan (Loomis, 1978).

b. Metode uji toksisitas

Uji toksisitas senyawa pada makhluk hidup uji dilakukan sebelum diujikan pada manusia. Ada 3 tipe uji toksisitas secara umum :

1) Uji toksisitas akut merupakan hasil pengamatan dengan dosis tunggal dan diamati selama 24 jam atau kadang-kadang dosis berulang-ulang dengan waktu selama lebih 24 jam, yang dalam beberapa kasus selama 1 minggu.
2) Uji toksisitas sub akut, yaitu senyawa diberikan dengan dosis berulang-ulang dan pengamatan dilakukan selama 4 minggu. Senyawa kimia uji mungkin diberikan sekali sehari atau lebih.
3) Uji toksisitas kronik, senyawa diberikan dengan dosis berulang dan pengamatan dilakukan dengan diperpanjang sampai 3 bulan atau 2

serta pengendaliannya kondisi yang ketat. Selain itu, juga memerlukan biaya yang besar dan waktu yang cukup lama (Dwiatmaka, 2000).

Berbagai metode pengujian untuk mengetahui aktivitas anti kanker suatu senyawa dari bahan alam telah dilakukan. Uji aktivitas anti kanker didasarkan atau adanya efek toksik pada sel (sitotoksisitas). Uji sitotoksisitas ini umumnya dilakukan setelah terlebih dahulu dilakukan uji toksisitas, apabila telah terbukti dengan mengamati kematian hewan percobaan dan respon kematian ini dianggap sebagai pengaruh senyawa yang diuji (Cassaret dan Doull, 1975).

Untuk senyawa baru kriteria awal yang biasa digunakan adalah dengan mempergunakan kematian sebagai indeks untuk memperkirakan dosis total yang mungkin terjadi pada manusia. Respon apapun yang dipilih sebagai ukuran hubungan antara respon dan sistem biologis dan jumlah zat toksik yang diberikan ditunjukkan sebagai hubungan dosis-respon. Bila kematian merupakan responnya maka dosis yang menimbulkan kematian pada 50% populasi spesifik dan kondisi yang sama disebut sebagai "*median lethal dose*" atau LD_{50}, bila pemberian obat menyatakan dalam konsentrasi maka diistilahkan sebagai *median lethal concentration* (LC_{50}). Secara kuantitatif harga LD_{50} dapat digunakan untuk menentukan kategori toksisitas akutnya (Loomis, 1978).

untuk mencegah timbulnya bakteri, jamur dan bekerjanya enzim yang dapat menyebabkan perubahan komponen kimia simplisia dan juga agar dapat dikemas dan disimpan dalam waktu yang lama sehingga kualitas bahan dapat terjamin. Setelah kering bahan dihaluskan dengan blender, kemudian diayak untuk mendapatkan derajat halus yang seragam. Pembuatan serbuk bertujuan untuk memperluas partikel yang kontak dengan pelarut sehingga proses ekstraksi akan lebih efektif. Tetapi dalam pelaksanaannya tidak selalu demikian, karena penyarian masih tergantung juga pada sifat fisik dan kimia simplisia yang bersangkutan.

C. Penyarian Bahan

Penyarian merupakan peristiwa perubahan zat aktif di dalam sel ditarik oleh cairan penyari sehingga terjadi larutan zat aktif dalam cairan penyari. Penyarian harus memperhatikan sifat fisik dari simplisia dan sifat zat aktif dalam simplisia. Pembuatan serbuk, pembasahan, penyarian, dan pemekatan merupakan rangkaian dalam proses penyarian. Pada prinsipnya proses penyarian dapat dibedakan menjadi dua fase yaitu fase pembilasan dan fase ekstraksi. Pada saat cairan ekstraksi kontak dengan material simplisia maka sel-sel yang rusak atau tidak utuh lagi akibat penghalusan langsung bersentuhan dengan pelarut, lalu komponen sel diambil atau dibilas sehingga bahan aktif berpindah ke dalam bahan pelarut, fase ini disebut fase pembilasan. Pada fase ekstraksi bahan pelarut mendesak masuk ke dalam sel yang tidak terluka sehigga pembesaran volume membran akibat masuknya sejumlah molekul bahan pelarut. Bahan kandungan sel akan terus masuk ke dalam cairan di sebelah luar sampai difusi melintasi membran mencapai keseimbangannya, yakni pada saat konsentrasi antara larutan disebelah dalam dan sebelah luar sama (Voigt, 1984).

Penyarian serbuk dilakukan dengan menggunakan alat soxhlet. Metode ini merupakan metode penyarian berkesinambungan yang memiliki beberapa kelebihan yaitu hasil penyarian yang lebih sempurna, menggunakan volume pelarut yang relatif lebih sedikit jika dibandingkan dengan metode lainnya seperti maserasi dan perkolasi. Namun kekurangan metode ini adalah jumlah bahan yang digunakan terbatas (30-50 gram) dan jika pemanasan berlebih dapat

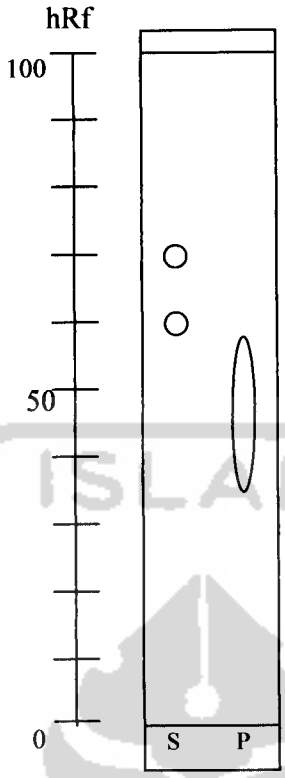
Hasil uji toksisitas fraksi daun kembang bugang terhadap larva *Artemia salina* Leach menunjukkan bahwa semua fraksi (fraksi petroleum eter, fraksi kloroform, fraksi etanol, dan fraksi akuades) memiliki sifat toksik, karena harga LC_{50} untuk setiap fraksi lebih kecil dari 1000 µg/ml. Menurut Meyer *et al.*, (1982) apabila harga LC_{50} dari suatu senyawa lebih kecil dari 1000 µg/ml, maka senyawa tersebut mempunyai prospek aktivitas antikanker. Dari keempat fraksi tersebut yang memiliki sifat toksik tertinggi adalah fraksi kloroform, karena LC_{50} dari fraksi kloroform paling kecil yaitu 74,97 µg/ml dan diketahui bahwa semakin kecil harga LC_{50} suatu zat maka semakin toksik zat tersebut.

F. Hasil Uji Kromatografi Lapis Tipis

Tumbuhan kembang bugang mengandung senyawa kimia antara lain alkaloid, flavonoid, fenol dan saponin. Kandungan senyawa kimia tersebut dapat dianalisis secara kualitatif, yaitu untuk mengetahui dan mendapatkan gambaran golongan senyawa yang terdapat dalam tumbuhan tersebut. Uji kandungan zat aktif dilakukan dengan metode Kromatografi Lapis Tipis, karena metode ini memiliki keuntungan dibandingkan jika menggunakan metode kromatografi kertas. Keuntungan tersebut diantaranya adalah mempunyai kekuatan pemisah yang lebih baik, kecepatan pemisahan lebih cepat dan dapat menggunakan berbagai macam campuran adsorben. Metode KLT ini menggunakan fase diam dan fase gerak yang sesuai sehingga memberikan bercak-bercak yang dapat dideteksi dengan sinar UV baik UV_{254} maupun UV_{366} dan pereaksi semprot.

Fraksi yang digunakan untuk uji KLT adalah fraksi yang memiliki aktivitas paling aktif, yaitu fraksi yang mempunyai LC_{50} paling kecil. Dari hasil uji dengan metode *Brine Shrimps Lethality Test* (*BST*) diperoleh fraksi kloroform sebagai fraksi yang memiliki aktivitas tertinggi, sehingga identifikasi dengan KLT hanya untuk fraksi kloroform.

Uji KLT dilakukan dengan melarutkan fraksi kloroform dalam kloroform *pro analytic* dan ditotolkan pada lempeng KLT yang sesuai dengan menggunakan pipa kapiler. Pembanding yang sesuai dengan senyawa yang diidentifikasi juga ditotolkan pada plat KLT, kemudian dilakukan pengembangan dalam bejana kromatografi dengan eluen yang sesuai untuk identifikasi adalah alkaloid,



Gambar 5. Kromatogram uji senyawa alkaloid fraksi kloroform

Fase diam : Silika gel GF_{254}

Fase gerak : metanol - amoniak (100:1,5)

Pereaksi : Dragendorff

Keterangan gambar :

P : Pembanding piperin

S : Fraksi kloroform daun kembang bugang