

**Article history:**

Received, 12 Feb 2024

Revised, 13 March 2024

Accepted, 15 March 2024

**Kata Kunci:**Antioksidan;  
Daun Pecut Kuda;  
sitoksisitas;**Keywords:**Antioxidants;  
Cytotoxicity;  
*Stachytarpheta cayennensis*;**INDEXED IN**SINTA - Science and  
Technology Index  
Crossref  
Google Scholar  
Garba Rujukan Digital: Garuda**CORRESPONDING  
AUTHOR**I Nyoman Bagus Aji K  
Prodi Farmasi, Fakultas  
Kesehatan, Universitas  
Bumigora, Indonesia**EMAIL**[ajikresnapati@gmail.com](mailto:ajikresnapati@gmail.com)**Optimasi Ekstrak Daun Pecut Kuda Menggunakan Simplex Centroid Design: Kajian Sitotoksitas***Optimization of horse leaf extraction using simplex centroid design: cytotoxicity study*Sri Winarni Sofya<sup>1\*</sup>, Eka Nurul Qomaliyah<sup>2</sup>, I Nyoman Bagus Aji K.<sup>3</sup>, I Made Kawi Widana<sup>4</sup>, I Gusti Nyoman Hari Satwika<sup>5</sup><sup>1</sup>Fakultas Farmasi, Universitas Bumigora| [winarni@universitasbumigora.ac.id](mailto:winarni@universitasbumigora.ac.id)<sup>2</sup>Fakultas Farmasi, Universitas Bumigora| [eka@universitasbumigora.ac.id](mailto:eka@universitasbumigora.ac.id)<sup>3</sup>Fakultas Farmasi, Universitas Bumigora| [ajikresnapati@gmail.com](mailto:ajikresnapati@gmail.com)<sup>4</sup>Fakultas Farmasi, Universitas Bumigora| [harisatwika23@gmail.com](mailto:harisatwika23@gmail.com)<sup>5</sup>Fakultas Farmasi, Universitas Bumigora| [kawiimd696@gmail.com](mailto:kawiimd696@gmail.com)

**Abstrak:** Tanaman pecut kuda dapat mengurangi radang tenggorokan, amandel, batuk, pilek. Adapun potensi bioaktivitas tanaman pecut kuda diantaranya sebagai antioksidan, antibakteri, antiinflamasi. Senyawa kimia yang terdapat pada pecut kuda antara lain flavonoid, fenol, saponin, glikosida, tanin dan steroid. Senyawa tersebut memiliki karakteristik semipolar-polar sehingga untuk pemisahan senyawa menggunakan pelarut semipolar-polar. Metode pemisahan senyawa pada penelitian ini menggunakan metode maserasi. Pelarut yang digunakan berupa etanol, n-heksan dan etil asetat dan proses optimasi pelarut tersebut dapat dilakukan dengan salah satu teknik pada *response surface mixture* yaitu *Simplex centroid design*. Hasil optimasi dianalisis berdasarkan *yield* ekstraksi yang akan dilanjutkan dengan menentukan nilai konsentrasi bunuh minimum ( $LC_{50}$ ) sitotoksitas yang diperoleh dari pengujian sitotoksitas akut pada larva *Artemia salina* Leach setelah diberi perlakuan dan didiamkan selama 24 jam. Uji sitotoksitas dilakukan pada ekstrak dengan nilai %yield ekstrak tertinggi yakni ekstrak etanol (kode EE). Nilai  $LC_{50}$  dari semua ekstrak menunjukkan potensi toksik.  $LC_{50}$  yang diperoleh pada ekstrak etanol sebesar 343,094 g/mL. sehingga diperoleh informasi bahwa ekstrak etanol daun pecut kuda memiliki sitoksisitas aktif dan potensi bioaktivitas yang tinggi. Nilai  $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/ml}$  berbanding lurus dengan potensi antiproliferasi dan antibakteri begitupun juga dengan inhibisi enzimatis alpha-Glukosidase dan alpha-amilase dalam penelitian antidiabetes secara In Vitro, sehingga pengujian lanjutan terkait potensi ekstrak etanol daun pecut kuda sebagai antiproliferasi, antibakteri, uji inhibisi enzimatis alpha-Glukosidase dan alpha-amilase menjadi target penelitian lanjutan.

**Abstract:** Horsewhip can reduce sore throats, tonsils, coughs and colds. The potential bioactivity of the horsewhip plant includes antioxidant, antibacterial and anti-inflammatory properties. Chemical compounds found in horse whip include flavonoids, phenols, saponins, glycosides, tannins and steroids. This compound has semipolar-polar characteristics so that the separation of the compound uses a semipolar-polar solvent. The method for separating compounds in this research uses the maceration method. The solvents used are ethanol, n-hexane and ethyl acetate and the solvent optimization process can be carried out using one of the response surface mixture techniques, namely Simplex centroid design. The optimization results were analyzed based on the extraction yield which will be followed by determining the minimum kill concentration ( $LC_{50}$ ) cytotoxicity value obtained from acute cytotoxicity testing on *Artemia salina* Leach larvae after being treated and left for 24 hours. Cytotoxicity test was carried out on the extract with the highest extract yield value, namely the ethanol extract (code EE). The  $LC_{50}$  value of all extracts showed toxic potential. The  $LC_{50}$  obtained from the ethanol extract was 343.094 g/mL. Thus, information was obtained that the ethanol extract of horse whip leaves has active cytotoxicity and high bioactivity potential. The  $LC_{50}$  value  $< 1000 \mu\text{g/ml}$  is directly proportional to the antiproliferative and antibacterial potential as well as the enzymatic inhibition of alpha-glucosidase and alpha-amylase in in vitro antidiabetic research, so further testing is related to the potential of horsewhip leaf ethanol extract as antiproliferative, antibacterial, inhibition test Enzymatic alpha-Glukosidase and alpha-amylase are the targets of further research.

**OPEN ACCESS**

E ISSN 2623-2022

**Jurnal Kolaboratif Sains (JKS)**

Doi: 10.56338/jks.v7i3.4963

Pages: 1146-1150



## LATAR BELAKANG

Bahan alam sebagai alternatif penyembuhan berbagai penyakit semakin banyak dipilih masyarakat global (World Health Organization (WHO) 2004). Kearifan lokal berupa terapi ataupun ramuan pengobatan tetap digunakan walaupun di zaman modern saat ini, sehingga perlu adanya pembuktian secara ilmiah untuk membuktikan kebenaran potensi yang dimiliki masing-masing tanaman baik terkait kualitas, keamanan dan kemanjuran (Abas et al., 2022; WHO, 2013). Konsep pengobatan semacam ini dikenal juga dengan istilah *traditional and complementary medicine* (TCM) (World Health Organization (WHO) 2013). Salah satu tanaman obat yang sering digunakan oleh mayoritas suku sasak sebagai obat flu, radang ataupun diyakini dapat menurunkan kadar gula darah yaitu pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* L. Vahl). Daun pecut kuda secara tradisional telah digunakan sebagai obat alergi, gangguan pernafasan, pilek, batuk, demam, konstipasi, gangguan pencernaan, dan gangguan akibat menstruasi (Sivaranjani, Ramakrishnan, and Bhuvaneshwari 2014). Potensi bioaktivitas lainnya yang dilaporkan dari daun pecut kuda yakni sebagai antibakteri, antioksidan, dan antiinflamatori (Ramakrishnan and Sivaranjani 2013). Beberapa penelitian terdahulu terkait pecut kuda menunjukkan adanya senyawa metabolit sekunder yang bersifat polar-semipolar yang memiliki potensi bioaktivitas diantaranya alkaloid, flavonoid, glikosida, fenol, saponin, steroid, tannin, terpenoid (Suhirman et al. 2015). Salah satu pengujian bioaktivitas tanaman obat yang memberi gambaran tentang potensi aktivitas tanaman obat yaitu uji sitotoksitas.

Proses optimasi ekstraksi berdasarkan penggunaan pelarut merupakan salah satu tahap awal penentu dalam pengambilan senyawa bahan alam. Sehingga, perlu dilakukan optimasi pelarut terbaik menggunakan teknik *simplex centroid design* (SCD) yang menentukan pengambilan senyawa metabolit sekunder, untuk meningkatkan kualitas ekstrak tanaman obat yang akan digunakan sebagai bahan herbal serta meminimalisir penggunaan bahan pelarut kedepannya tanpa perlu adanya *trial* dan *error* yang akan menghabiskan penggunaan pelarut lebih banyak. Hasil analisis yang akan diperoleh dapat digunakan sebagai informasi pelarut terbaik untuk mengekstraksi daun pecut kuda didasarkan atas *yield* ekstrak dan LC50 sitotoksitasnya. Hasil ekstraksi terbaik ini dapat dilanjutkan untuk penentuan kadar metabolit sekunder secara kuantitatif dan analisis farmakologi *in vitro*, *in vivo*, uji pra klinis dan klinis untuk mendapatkan informasi komprehensif kedepannya terkait potensi bioaktivitas yang dimiliki daun pecut kuda. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pelarut terbaik yang dapat mengekstraksi senyawa metabolit sekunder khususnya senyawa-senyawa semipolar-polar dengan menggunakan metode maserasi sederhana melalui optimasi SCD. Optimasi SCD selain untuk mengetahui pelarut terbaik juga digunakan untuk memodelkan pengaruh komponen masing-masing pelarut baik secara individu, dual pelarut maupun sinergisitas ketiga pelarut terhadap hasil ekstraksi dan sitotoksitas daun pecut kuda.

## METODE

Jenis penelitian yang digunakan berupa penelitian eksperimental kuantitatif. Sampel yang digunakan adalah daun pecut kuda yang diambil di daerah Kuripan, Lombok Barat. Teknik pengambilan sampel daun pecut kuda dimulai dengan pengumpulan bahan baku, sortasi basah, pencucian, perubahan bentuk (pencucian ukuran), pengeringan, sortasi kering. Kemudian dilakukan pemisahan senyawa dengan menggunakan metode maserasi melalui metode SDC dengan menggunakan 3 pelarut yaitu etanol, etil asetat, dan n- heksan. Analisis sitotoksitas dilakukan dengan metode *brine shrimp lethality test* (BSLT) menggunakan larva udang *Artemia salina* sebagai hewan uji untuk mendeteksi senyawa bioaktif dalam ekstrak tanaman, nilai toksisitas yang ditampilkan berkorelasi dengan antitumor, anti tripanosoma cruzi. dengan tahapan awal yakni penetasan larva. Telur udang *Artemia salina* Leach., ditempatkan dalam wadah tertutup yang ditambahkan air laut, aerator dimasukkan ke dalam wadah lalu telur diinkubasi selama 2x24 jam, untuk menetasakan larva udang dan menumbuhkannya agar siap digunakan sebagai bahan uji. Aktivitas sitotoksitas, ekstrak berbagai pelarut disiapkan dengan melarutkannya dalam air laut untuk membuat konsentrasi akhir 10, 50, 100, 500, dan 1000 µg/mL. Sebanyak 2 mL ekstrak dan 2 mL air laut dimasukkan ke dalam plat uji 24 well, kemudian 10 ekor larva udang yang berumur 2x24 jam dimasukkan ke dalam plat uji, lalu ditera air laut ke dalam masing-masing plat uji hingga 5 mL. Selanjutnya, diinkubasi 24 jam dan dihitung

jumlah larva udang yang mati. Nilai  $LC_{50}$  ditentukan dengan analisis probit menggunakan program SPSS 16.0.

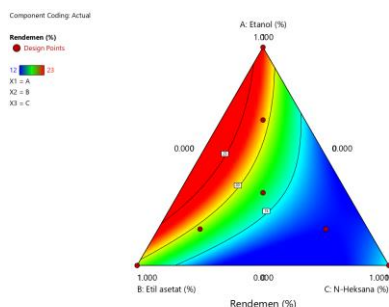
## HASIL

Penelitian ini menggunakan daun pecut kuda yang sudah melewati proses pengumpulan bahan baku, sortasi basah, pencucian, pengubahan bentuk (pengecilan ukuran), pengeringan, sortasi kering. Sampel daun pecut kuda yang digunakan ditunjukkan pada **Gambar 1**.



**Gambar 1.** Sampel daun pecut kuda

Sampel yang sudah kering diukur kadar airnya, dimana hasil pengukuran kadar air menunjukkan simplisia daun pecut kuda memiliki kadar air 7,63%. Setelah pengukuran kadar air dilakukan ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan optimasi secara SCD. Adapun respon *contour plot yield* ekstraksi yang diperoleh dari optimasi secara SCD ditunjukkan pada gambar 2.



**Gambar 2.** Respon Contour Plot % Yield Extract

Pelarut yang menghasilkan ekstrak maksimum pada plot dinyatakan dalam warna jingga yakni pada pelarut tunggal etanol (kode EE) yang disusul pelarut kombinasi etanol-etil asetat (kode EAE), sementara penambahan n-heksana mengurangi kemampuan ekstraksi pelarut etanol pada kombinasi etanol-n-heksana (kode ENH). Uji sitotoksitas dilakukan pada ekstrak dengan nilai %yield ekstrak tertinggi yakni ekstrak etanol (kode EE). Ekstrak pelarut etanol (kode E) sebagai ekstrak dengan potensi bioaktivitas yang tinggi. Semakin rendah nilai  $LC_{50}$  maka semakin baik potensi bioaktivitas dan tinggi toksik ekstrak sampel.  $LC_{50}$  yang diperoleh pada ekstrak etanol sebesar 343,094 g/mL.

## PEMBAHASAN

Hasil pengukuran kadar air menunjukkan simplisia daun pecut kuda memiliki kadar air 7,63%. Hasil pengukuran kadar air daun pecut kuda menunjukkan bahwa simplisia yang digunakan sudah memenuhi standar aturan Depkes (2008), yang menyatakan bahwa kadar air simplisia kering ideal tidak lebih dari 10%. Apabila kadar air lebih tinggi dari 10% akan menyebabkan pertumbuhan jamur atau kapang yang dapat merusak senyawa yang terkandung dalam simplisia (Febriani et al., 2015).

Hasil ekstraksi dinyatakan dalam % rendemen ekstrak atau % *yield ekstrak*. % *Yield extract* ( $Y_1$ ). Ekstraksi dengan pelarut Tunggal Etanol menghasilkan % *yield* ekstrak yang paling tinggi, sementara pelarut n-heksana menghasilkan % *yield* ekstrak yang paling rendah. Hal ini sesuai penelitian yang dilakukan oleh Fatmawati et al. (2023) bahwa pelarut yang akan mengekstrak senyawa fitokimia pada daun pecut kuda secara dominan dengan hasil yang tinggi adalah pelarut golongan alkohol seperti methanol dan etanol. Proses ekstraksi berdasarkan pada prinsip kelarutan *like dissolve like*, di mana pelarut polar akan melarutkan senyawa polar dan pelarut nonpolar akan melarutkan senyawa non polar.

Pelarut yang menghasilkan ekstrak maksimum pada plot dinyatakan dalam warna jingga yakni pada pelarut tunggal etanol (kode EE) yang disusul pelarut kombinasi etanol-etil asetat (kode EAE), sementara penambahan n-heksana mengurangi kemampuan ekstraksi pelarut etanol pada kombinasi etanol-n-heksana (kode ENH). Berdasarkan acuan terkait skrining fitokimia daun pecut kuda mengandung senyawa tannin, flavonoid, saponin, terpenoid, glikosida, dan fenol yang berpotensi sebagai fitokimia dalam pengobatan dan Kesehatan terutama dalam penyembuhan luka dan antioksidan (Dela et al. 2017).

Larva udang *Artemia salina* merupakan spesimen mikrocrustacea laut yang digunakan sebagai hewan uji untuk mendeteksi senyawa bioaktif dalam ekstrak tanaman, nilai toksisitas yang ditampilkan berkorelasi dengan antitumor, anti tripanosoma cruzi (Da Costa et al. 2010). Kematian larva udang pada pengujian sitotoksitas disebabkan karena larva udang belum memiliki sistem imunitas yang mampu menghambat dan menetralkan senyawa bioaktif yang masuk ke dalam tubuhnya. Hal ini menyebabkan larva udang akan mengalami keracunan karena media lingkungan hidupnya mengandung senyawa bioaktif yang bersifat toksik. Pengujian sitotoksitas BSLT dapat menunjukkan potensi bioaktivitas ekstrak sampel. Tingkat kematian larva udang menjadi penentu nilai toksisitas suatu bahan yang dianalisis dengan menggunakan analisis probit dalam penentuan nilai konsentrasi letal 50%. Uji sitotoksitas dilakukan pada ekstrak dengan nilai % *yield* ekstrak tertinggi yakni ekstrak etanol (kode EE). Ekstrak pelarut etanol (kode E) sebagai ekstrak dengan potensi bioaktivitas yang tinggi. Sitotoksitas dinyatakan berdasarkan respon kematian 50 % populasi larva udang ( $LC_{50}$ ). Nilai  $LC_{50}$  dari semua ekstrak menunjukkan potensi toksik. Berdasarkan (Meyer et al. 1982) suatu senyawa memiliki potensi bioaktivitas dan sitotoksitas aktif jika nilai  $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/ml}$ . Semakin rendah nilai  $LC_{50}$  maka semakin baik potensi bioaktivitas dan tinggi toksik ekstrak sampel.

## KESIMPULAN

Penelitian ini menyimpulkan bahwa pelarut terbaik yang dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa fitokimia pada daun pecut kuda yakni etanol 96%. Berdasarkan uji

sitotoksisitas ekstrak etanol memiliki nilai  $LC_{50}$  sebesar 343,094 g/mL, sehingga diperoleh informasi bahwa ekstrak etanol daun pecut kuda memiliki sitotoksisitas aktif dan potensi bioaktivitas yang tinggi.

#### SARAN

Penelitian ini merekomendasikan kepada peneliti selanjutnya dapat melakukan penelitian lebih lanjut karena nilai  $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/ml}$  berbanding lurus dengan potensi antiproliferasi dan antibakteri begitupun juga dengan inhibisi enzimatis alpha-Glukosidase dan alpha-amilase dalam penelitian antidiabetes secara In Vitro, sehingga pengujian lanjutan terkait potensi ekstrak etanol daun pecut kuda sebagai antiproliferasi, antibakteri, uji inhibisi enzimatis alpha-Glukosidase dan alpha-amilase menjadi target penelitian lanjutan. Selain itu, skrining fitokimia secara kualitatif dan uji kuantitatif senyawa yang dikandung oleh ekstrak etanol daun pecut kuda perlu untuk dilakukan.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Abas, Azlan, Azmi Aziz, and Azahan Awang. 2022. "A Systematic Review on the Local Wisdom of Indigenous People in Nature Conservation." *Sustainability (Switzerland)* 14(6).
- Da Costa, José Galberto et al. 2010. "Biological Screening of Araripe Basin Medicinal Plants Using *Artemia Salina* Leach and Pathogenic Bacteria." *Pharmacognosy Magazine* 6(24): 331–34.
- Dela, Emiliana, Cruz Caluya, Correspondence Emiliana, and Dela Cruz Caluya. 2017. "Wound Healing Potential of the Crude Leaf Extract of *Stachytarpheta Jamaicensis* Linn. Vahl (Kandikandilaan) on Inducedwounds in Rats." *Journal of Medicinal Plants Studies JMPS* 375(51): 375–81.
- Depkes. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia*. Jakarta (ID): DepKes RI.
- Diana Febriani, Dina Mulyati, and Endah Rismawati. 2015. "Karakterisasi Simplisia Dan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona Muricata* Linn)." *Prosiding Penelitian SPeSIA Unisba*: 475–80.
- Fatmawati, Sri et al. 2023. "Antioxidant and  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitory Activities of Compound Isolated from *Stachytarpheta Jamaicensis* (L) Vahl. Leaves." *Scientific Reports* 13(1): 1–8.
- Meyer, B. N. et al. 1982. "Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents." *Planta Medica* 45(1): 31–34.
- Ramakrishnan, K, and R Sivaranjani. 2013. "Pharmacognostical and Phytochemical Studies on Stem of *Stachytarpheta Jamaicensis* (L) Vahl." *International Research Journal of Pharmacy* 4(10): 44–47.
- Sivaranjani, R, K Ramakrishnan, and G Bhuvaneswari. 2014. "Pharmacogistic Studies on Root of *Stachytarpheta Jamaicensis*." 8(2): 100–105.
- Suhrman, Sintha, Balai Penelitian, Tanaman Rempah, and Dan Obat. 2015. "Skrining Fitokimiapada Beberapa Jenis Pecut Kuda (*Stachytarphetajamaicensis* L. Vahl)." *Prosiding Seminar Nasional Swasembada Pangan* (April): 93–97.
- World Health Organization (WHO). 2004. "WHO Guidelines on Safety Monitoring of Herbal Medicines in Pharmacovigilance Systems." *World Health Organisation, Geneva*: 82. <https://apps.who.int/medicinedocs/documents/s7148e/s7148e.pdf>.
- World Health Organization (WHO). 2013. "WHO Traditional Medicine Strategy 2014-2023." *World Health Organization (WHO)*: 1–76.