

# PENGUJIAN TOKSISITAS *IN VITRO* EKSTRAK DAN FRAKSI DARI DAUN JAMBU AIR (*SYZYGIUM AQUEUM*) DAN KULIT BUAH DELIMA (*PUNICA GRANATUM*) TERHADAP SEL VERO

Muhamad Insanu\*, Cindra Mutia , Aluicia Anita Artarini

## Informasi Penulis

Sekolah Farmasi  
Institut Teknologi  
Bandung, Jl.Ganesa 10,  
Bandung 40132

## \*Korespondensi

Muhamad Insanu  
E-mail:  
insanu@fa.itb.ac.id

## ABSTRAK

Daun jambu air (*Syzygium aqueum*) dan kulit buah delima (*Punica granatum*) merupakan tanaman yang pada umumnya terdapat di Indonesia. Kandungan flavonoid pada daun jambu air dan kulit buah delima diketahui memiliki efek antioksidan yang baik untuk tubuh sehingga tanaman ini banyak digunakan untuk pengobatan dan pencegahan beberapa penyakit. Secara tradisional daun jambu air dan kulit buah delima biasa digunakan sebagai antimikroba, antidiabetes, dan pengobatan diare. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan toksisitas ekstrak dan fraksi dari daun jambu air dan kulit buah delima secara *in vitro* terhadap sel Vero. Serbuk simplisia daun jambu air diekstraksi bertingkat dengan metode maserasi, sedangkan serbuk simplisia kulit buah delima diekstraksi bertingkat menggunakan metode refluks. Keduanya diekstraksi bertingkat dengan pelarut n-heksana, etil asetat, dan etanol. Ekstrak dipantau menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT). Ekstrak etanol dari daun jambu air dan kulit buah delima difraksinasi dengan metode ekstraksi cair-cair (ECC) menggunakan pelarut n-heksan dan etil asetat. Fraksi dipantau menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT). Ekstrak dan fraksi diuji toksisitasnya secara *in vitro* terhadap sel Vero menggunakan reagen *Alamar blue*. Ekstrak dan fraksi daun jambu air dan kulit buah delima pada konsentrasi uji antara 2 µg/ml sampai dengan 1024 µg/ml bersifat tidak toksik terhadap sel Vero. Berdasarkan penelitian, dapat disimpulkan bahwa ekstrak n-heksana, etil asetat, dan etanol tidak toksik terhadap sel Vero. Fraksi n-heksana, etil asetat, dan air dari tidak toksik terhadap sel Vero.

**Kata kunci:** *Alamar blue*, ekstrak, fraksi, *Punica granatum*, sel Vero, *Syzygium aqueum*.

## IN VITRO TOXICITY TEST OF *SYZYGIUM AQUEUM* LEAVES AND *PUNICA GRANATUM* PEELS EXTRACTS AND FRACTIONS ON VERO CELLS

### ABSTRACT

*Syzygium aqueum* and *Punica granatum* are plants commonly found in Indonesia. Flavonoids from *Syzygium aqueum* leaves and *Punica granatum* peels are known to have antioxidant effect for the human body. Because of that these plants widely used for treatment several diseases. Traditionally, *Syzygium aqueum* leaves and *Punica granatum* peels are commonly used as antibiotic, antidiabetic, and treatment for diarrhea. This study aim to determine *in vitro* toxicity effect of *Syzygium aqueum* and *Punica granatum* extracts and fractions using Vero cell lines. Crude drug of *Syzygium aqueum* was extracted by maceration, while crude drug of *Punica granatum* was extracted by reflux. Both crude drugs were extracted using continuous extraction method and solvents with increasing polarity which were n-hexane, ethyl acetate, and ethanol. Extracts were monitored by thin layer chromatography (TLC). The ethanol extract from *Syzygium aqueum* and *Punica granatum* were fractionated by liquid-liquid extraction using n-hexane, and ethyl acetate as solvents. Fractions were monitored by thin layer chromatography (TLC). Toxicity effect of *Syzygium aqueum* and *Punica granatum* extracts and fractions on Vero cells were evaluated using *Alamar blue*. Extracts and fractions of *Syzygium aqueum* leaves and *Punica granatum* had no toxicity effect against Vero cell at concentrations between 2 µg/ml-1024 µg/ml. Based on our findings all of extracts and fractions had no toxicity effect against Vero cell lines.

**Keyword:** *Alamar blue*, extract, fraction, *Punica granatum*, *Syzygium aqueum*, Vero cell.

## Pendahuluan

Jambu air (*Syzygium aqueum*) merupakan salah satu tanaman yang banyak dimanfaatkan untuk pengobatan berbagai penyakit. Tanaman ini berasal dari Asia Tenggara yaitu di daerah tropis seperti Indonesia (Jawa dan Sumatra). Berbagai bagian tanaman ini dimanfaatkan untuk pengobatan seperti daunnya yang memiliki aktivitas antimikroba, dan memiliki efek antihiperlikemia. Ekstrak daun jambu air memiliki aktivitas penghambatan enzim xanthin oksidase lebih besar dibandingkan suku Myrtaceae lainnya yaitu daun salam, daun jambu biji, daun kayu putih, dan daun cengkeh (Ramadania 2015). Daun jambu air mengandung tanin, glikosida, asam format, steroid, dan flavonoid (Manaharan 2013).

Delima (*Punica granatum*) merupakan tanaman yang berasal dari Asia dan berkembang pula di daerah Mediterania. Tanaman ini merupakan tanaman asli Asia, terutama di Iran, Afganistan, dan Himalaya. Kulit buah delima (*Punica granatum*) banyak digunakan untuk pengobatan berbagai penyakit. Buah delima banyak dimanfaatkan secara tradisional sebagai antibiotik, antikanker, antidiabetes, dan untuk pengobatan aterosklerosis (Bharani dan Namasivayam 2016).

Sel Vero adalah sel yang berasal dari ginjal normal monyet (*African green monkey kidney*). Sel ini merupakan jenis sel mamalia yang paling banyak digunakan untuk penelitian seperti studi intrasel bakteri, mengidentifikasi efek toksin, senyawa kimia, atau substansi lainnya terhadap sel mamalia. Penggunaan sel Vero untuk proses identifikasi efek dari suatu senyawa kimia dapat dilakukan melalui uji toksisitas senyawa kimia tersebut terhadap sel secara *in vitro*. Beberapa kelebihan penggunaan sel untuk pengujian toksisitas secara *in vitro* diantara lain pertumbuhannya yang cepat sehingga waktu yang dibutuhkan untuk pengujian lebih singkat, metode pengujian yang sederhana, dan dapat dilakukan pemilihan sel uji yang bersifat spesifik untuk tujuan penelitian yang diinginkan (Ekwall *et al.* 1990).

Uji toksisitas sel secara *in vitro* adalah salah satu

metode yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi keamanan pemakaian suatu obat atau senyawa kimia. Viabilitas sel dapat dihitung dengan menggunakan berbagai indikator yaitu integritas membran plasma, sintesis DNA, aktivitas enzim, dan kondisi reduksi seluler. *Alamar blue* merupakan salah satu indikator viabilitas sel. Sel hidup akan mereduksi komponen kimia berupa resazurin yang berada dalam reagen menjadi resorfin dan menyebabkan perubahan warna dari biru menjadi merah. Perhitungan viabilitas sel dengan *alamar blue* dapat dilakukan melalui pembacaan absorbansi pada panjang gelombang 570 nm dan 600 nm (Ricardo *et al.* 2009).

Daun jambu air (*Syzygium aqueum*) dan kulit buah delima (*Punica granatum*) banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional dengan menggunakan ekstrak ataupun fraksi dari kedua bahan tersebut. Akan tetapi belum banyak dilakukan penelitian mengenai toksisitas ekstrak ataupun fraksi tanaman tersebut secara *in vitro* terhadap sel Vero. Oleh karena itu, tujuan penelitian ini adalah untuk menguji keamanan penggunaan ekstrak dan fraksi dari daun jambu air dan kulit buah delima secara *in vitro* terhadap sel Vero.

## Percobaan

### Bahan

Bahan yang digunakan yaitu Serbuk simplisia daun jambu air (*Syzygium aqueum*) dan kulit delima (*Punica granatum*), sel Vero (ATCC CCL-81), *Dulbecco's Modified Eagle's Medium* dengan 4 Mm L-glutamin (Lonza), *Fetal Bovine Serum* (Life Technologies), tripsin/EDTA, PBS, penisilin streptomisin (Life Technologies), Dimetilsulfoksida, kloralhidrat, etanol, etil asetat, n-heksana, akuades, vaselin, toluen, kloroform, asam klorida, amonia, pereaksi Dragendorff (bismuth nitrat dan kalium iodida dalam asam klorida pekat dan air), pereaksi Mayer (raksa (II) klorida dan kalium iodida dalam asam klorida pekat dan air), pereaksi Steasny (formaldehid 30% dalam asam klorida pekat dengan perbandingan 2:1), besi (III) klorida, larutan gelatin, NaOH, pereaksi Liebermann Burchard (asam asetat pekat dan asam sulfat pekat 2:1),

silika gel GF 254, reagen *alar blue* (Invitrogen), amil alkohol.

### **Pemeriksaan Mutu dan Karakterisasi Simplisia**

Karakterisasi dari simplisia meliputi pemeriksaan mikroskopik, dan pemeriksaan kualitas simplisia ditinjau dari susut pengeringan, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, kadar abu total, dan kadar abu tidak larut asam.

### **Ekstraksi dan Pemantauan Ekstrak**

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi untuk simplisia daun jambu air, dan dengan metode refluks untuk simplisia kulit buah delima. Kedua simplisia diekstraksi sebanyak tiga kali dengan menggunakan tiga pelarut dengan kepolaran yang meningkat yaitu n-heksan, etil asetat, dan etanol. Ekstrak yang diperoleh diuapkan dengan alat penguap berputar (*rotavapor*), dipekatkan, dan dihitung rendemen ekstraknya. Masing-masing ekstrak yang diperoleh dipantau dengan kromatografi lapis tipis (KLT) pada panjang gelombang ( $\lambda$ ) 254 nm dan 366 nm. Pemantauan ekstrak dengan penampak bercak *universal* yaitu  $H_2SO_4$  10% dalam metanol, dan penampak bercak spesifik sitroborat.

### **Fraksinasi dan Pemantauan Fraksi**

Ekstrak etanol dari daun jambu air dan kulit buah delima dilarutkan dalam akuades dan difraksinasi dengan metode ekstraksi cair-cair (ECC) menggunakan pelarut n-heksan, dan etil asetat sebanyak tiga kali berturut-turut untuk setiap pelarut sehingga diperoleh fraksi n-heksan, etil asetat, dan air. Hasil fraksinasi dipekatkan dengan alat penguap berputar (*rotavapor*), dipekatkan, dan dihitung rendemen fraksinya. Fraksi yang diperoleh dipantau dengan kromatografi lapis tipis (KLT) dengan fase diam silika gel GF<sub>254</sub> pada panjang gelombang ( $\lambda$ ) 254 nm dan 366 nm. Pemantauan fraksi dilakukan dengan penampak bercak *universal* yaitu  $H_2SO_4$  10% dalam metanol, dan penampak bercak spesifik sitroborat.

### **Kultur Sel Vero**

Sel Vero ditumbuhkan dalam media *Dulbecco's Modified Eagle's Medium* (DMEM) dengan

glutamin yang ditambahkan 10 % *Fetal Bovine Serum* (FBS), dan 1% penisilin-streptomisin. Sel yang telah ditumbuhkan dalam media tersebut diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator pada kondisi tekanan  $CO_2$  5% dan suhu 37°C. Kultivasi sel dilakukan setiap 2-3 hari sekali dengan cara, media lama tempat sel tersebut tumbuh diambil dengan menggunakan mikropipet kemudian dibuang. PBS ditambahkan pada kultur sel kemudian dilakukan proses tripsinasi. Proses tripsinasi dilakukan dengan penambahan tripsin pada kultur sel, proses tripsinasi berlangsung selama 3-4 menit. Sel yang telah ditripsinasi ditambahkan media tumbuh segar dan diambil sejumlah tertentu suspensi sel dengan rasio 1:5 atau 1:10 untuk ditumbuhkan pada wadah baru dengan media tumbuh segar. Sel hasil kultivasi diinkubasi dalam inkubator pada kondisi  $CO_2$  5% dan suhu 37°C.

### **Uji Toksisitas secara in vitro terhadap Sel Vero**

Sel ditumbuhkan pada wadah 96-well dengan konsentrasi 10.000 sel/well. Sel tersebut kemudian diinkubasi selama 24-48 jam hingga sel tumbuh konfluen 80-100%. Setelah sel tumbuh konfluen, larutan stok ekstrak dan fraksi dibuat dengan melarutkan sejumlah tertentu ekstrak dan fraksi dengan DMSO. Ekstrak dan fraksi dibuat beberapa seri konsentrasi yaitu 1024, 512, 256, 128, 64, 32, 16, 8, 4, dan 2  $\mu g/ml$  pada wadah 96-well dengan cara mengencerkan larutan stok dengan media tumbuh sel. Media pertumbuhan sel dalam well diganti dengan larutan ekstrak atau fraksi yang telah diencerkan dalam media pertumbuhan. Larutan DMSO juga diuji aktivitasnya terhadap sel dengan menambahkan sejumlah volume yang sama dengan banyaknya ekstrak dan fraksi yang diuji aktivitasnya terhadap sel. Sel yang telah ditambahkan ekstrak dan fraksi diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator pada kondisi  $CO_2$  5% dan suhu 37°C. Setelah inkubasi 24 jam dilakukan penambahan reagen *alar blue* sebanyak 10% pada masing-masing well dan diinkubasi selama 4 jam. Penentuan viabilitas sel dilakukan dengan pembacaan absorbansi yang dihasilkan pada sel yang telah ditambahkan ekstrak dan fraksi uji. Pembacaan absorbansi dilakukan dengan

menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 570 nm dan 600 nm. Data absorbansi yang diperoleh diubah menjadi data persentase viabilitas sel yang menunjukkan banyaknya sel yang hidup pada masing-masing ekstrak dan fraksi yang diuji.

## Hasil dan Pembahasan

Daun jambu air yang diperoleh disortasi, dicuci, dikeringkan dan dijadikan serbuk. Kulit buah delima diperoleh melalui pemisahan bagian buah dan biji delima, kulit buah delima yang diperoleh disortasi, dicuci, dan digiling untuk kemudian dijadikan serbuk. Serbuk simplisia dikarakterisasi untuk menentukan kualitas mutu simplisia yang digunakan. Karakterisasi simplisia yang dilakukan meliputi pemeriksaan makroskopik dan mikroskopik, penetapan kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, kadar sari larut etanol, kadar sari larut air, kadar air, dan susut pengeringan (Tabel 1).

**Tabel 1.** Karakterisasi Simplisia Daun Jambu Air (SJ) dan simplisia kulit delima (SK).

Karakterisasi simplisia	Hasil (% b/b)	
	Rata rata SJ ± SD	Rata rata SK ± SD
Kadar abu total	6,05 ± 0,23	3,44 ± 0,007
Kadar abu tidak larut asam	1,49 ± 0,20	0,53 ± 0,46
Kadar sari larut etanol	13,27 ± 0,16	37,77 ± 0,13
Kadar sari larut air	12,08 ± 0,87	41,9 ± 0,05

Keterangan :

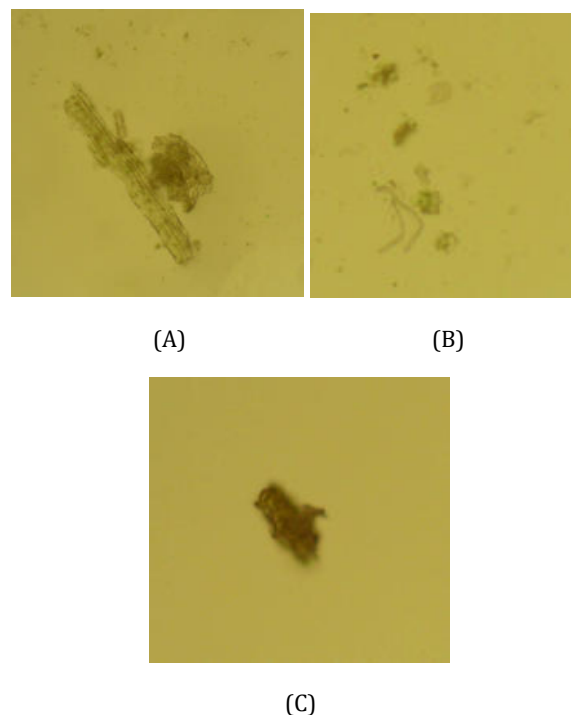
SD = standar deviasi

SJ = simplisia daun jambu air

SK = simplisia kulit buah delima

Pemeriksaan makroskopik daun jambu air menunjukkan bahwa daun jambu air memiliki karakteristik berbentuk bulat telur, berwarna hijau dengan permukaan atas mengkilap, ujung daun meruncing, dan memiliki sedikit bau aromatik dengan panjang 7-16 cm, sedangkan kulit buah delima memiliki karakteristik berbentuk bulat menyerupai buahnya, dan berwarna kuning kecoklatan. Berdasarkan pemeriksaan mikroskopik, daun jambu air

memiliki komponen penyusun berupa sel parenkim dan rambut penutup, sedangkan pada kulit buah delima dapat teramati adanya sel parenkim (Gambar 1).



**Gambar 1.** Pengamatan mikroskopik simplisia (A) sel parenkim daun jambu air (B) rambut penutup daun jambu air (C) sel parenkim kulit buah delima, menggunakan kloral hidrat dengan perbesaran 40 x.

Simplisia yang telah dikarakterisasi diekstraksi bertingkat dengan metode maserasi untuk simplisia daun jambu air dan refluks untuk simplisia kulit buah delima. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi baik pada daun jambu air maupun kulit buah delima adalah pelarut dengan kepolaran yang meningkat yaitu n-heksana, etil asetat, dan etanol. Hasil ekstraksi yang diperoleh dipekatkan dan dipantau menggunakan KLT. Penapisan fitokimia dilakukan pada simplisia dan ekstrak untuk mengetahui keberadaan golongan senyawa kimia berupa metabolit sekunder yang terdapat pada simplisia dan ekstrak. Pada ekstrak etanol dan simplisia baik daun jambu air maupun kulit buah delima terdapat berbagai golongan senyawa kecuali alkaloid, sedangkan pada ekstrak n-heksana dan etil asetat tidak terdapat kandungan

golongan senyawa metabolit sekunder yang diuji (Tabel 2).

**Tabel 2.** Penapisan Fitokimia Simplisia dan Ekstrak Daun Jambu Air dan Kulit Buah Delima.

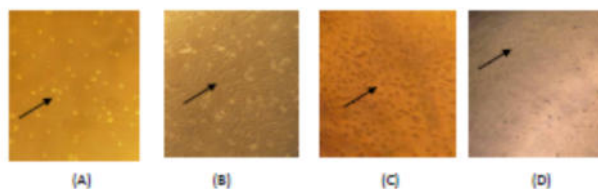
Golongan senyawa	Simplisia	Ekstrak		
		n-heksana	etil asetat	etano l
Alkaloid	-	-	-	-
Flavonoid	√	-	-	√
Fenol	√	-	-	√
Tanin	√	-	-	√
Kuinon	√	-	-	√
Saponin	√	-	-	√
Steroid/tri				
- terpenoid	√	-	-	√

Keterangan :

(-) = tidak terdeteksi

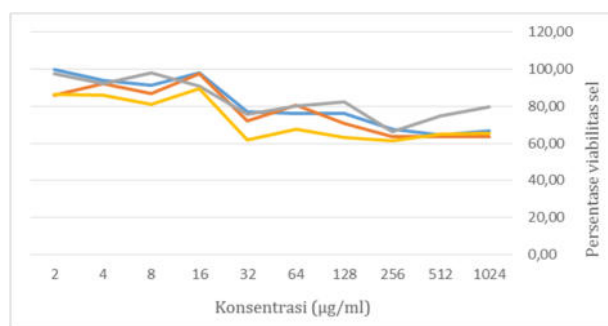
(√) = terdeteksi

Fraksinasi ekstrak etanol dari daun jambu air dan kulit buah delima dilakukan dengan menggunakan metode ekstraksi cair-cair (ECC) menggunakan pelarut n-heksana dan etil asetat. Fraksi yang diperoleh dipekatkan dan dipantau dengan menggunakan KLT. Ekstrak dan fraksi yang diperoleh diuji toksisitasnya terhadap sel Vero yang sebelumnya telah dikultur. Seluruh ekstrak dan fraksi uji dibuat larutan stok dengan melarutkannya dalam DMSO dan dibuat beberapa seri konsentrasi ekstrak dan fraksi dalam media kemudian ditambahkan *alar blue* sebagai indikator viabilitas sel. Penentuan persentase viabilitas sel ekstrak dan fraksi dilakukan dengan mengubah data absorbansi sel yang dihasilkan pada panjang gelombang 570 nm dan 600 nm. Persentase viabilitas ekstrak uji dibandingkan dengan DMSO sebagai pelarut. Jika terdapat toksisitas terhadap sel, penambahan DMSO dan ekstrak dapat menyebabkan perubahan morfologi pada sel Vero. Adanya zat yang bersifat toksik dapat menyebabkan gangguan permeabilitas sel, terjadinya reduksi fungsi mitokondria sel, perubahan replikasi sel, dan perubahan morfologi sel (Eisenbrand *et al.* 2002). Sel yang mengalami kematian akan mengalami perubahan bentuk dan mengalami perubahan warna menjadi lebih gelap dikarenakan adanya perubahan permeabilitas membran sel yang menyebabkan keluarnya cairan sitoplasma pada sel (Gambar 6).

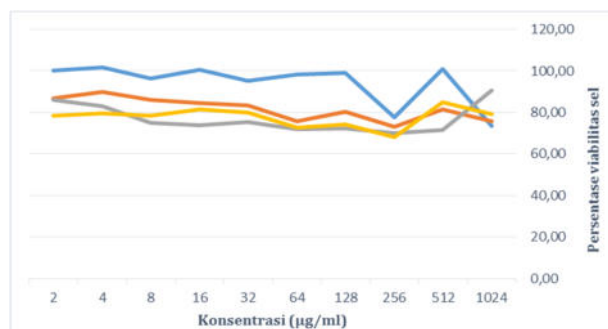


**Gambar 1.** Morfologi sel vero (A) Belum mengalami pertumbuhan, (B) telah mengalami pertumbuhan, (C) setelah penambahan DMSO 10%, (D) setelah penambahan ekstrak 1,024 mg/ml.

Berdasarkan penelitian, pada konsentrasi ekstrak 1024, 512, 256, 128, 64, 32, 16, 8, 4, dan 2 µg/ml tidak terdapat ekstrak daun jambu air maupun kulit buah delima yang menghambat 50% pertumbuhan sel dibandingkan dengan hasil normalisasi terhadap DMSO konsentrasi terendah (Gambar 2 dan Gambar 3).

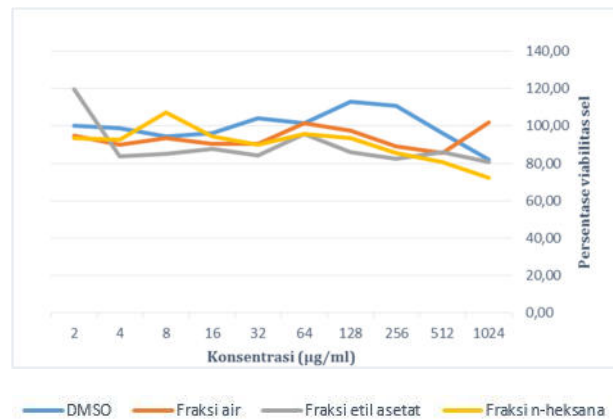


**Gambar 2.** Grafik persentase viabilitas sel terhadap DMSO, ekstrak n-heksana, ekstrak etil asetat, dan ekstrak etanol daun jambu air.

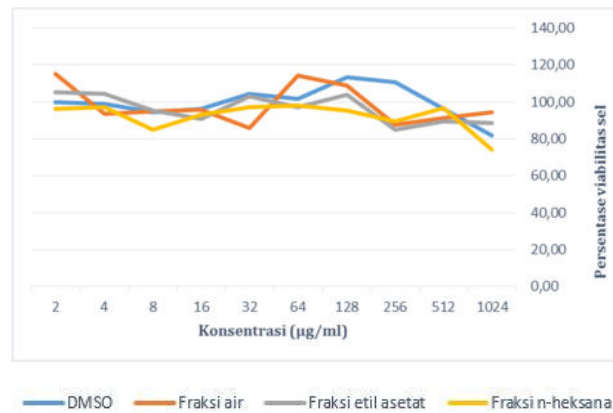


**Gambar 3.** Grafik persentase viabilitas sel terhadap ekstrak n-heksana, ekstrak etil asetat, dan ekstrak etanol kulit buah delima.

Ekstrak dinyatakan toksik apabila memiliki nilai  $IC_{50}$  31-200  $\mu\text{g/ml}$  dan bersifat tidak toksik apabila memiliki nilai  $IC_{50}$  diatas 1000  $\mu\text{g/ml}$  (McLaughlin *et al* 1998). Berdasarkan hasil uji toksisitas pada fraksi n-heksan, etil asetat, dan air dari daun jambu air dan kulit buah delima pada konsentrasi 1024, 512, 256, 128, 64, 32, 16, 8, 4, dan 2  $\mu\text{g/ml}$  tidak terdapat satu fraksi pun yang menghambat pertumbuhan sel sebesar 50% dibandingkan terhadap hasil normalisasi terhadap DMSO pada konsentrasi terendah (Gambar 4 dan Gambar 5).



**Gambar 4.** Grafik persentase viabilitas sel terhadap DMSO, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun jambu air.



**Gambar 5.** Grafik persentase viabilitas sel terhadap DMSO, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air kulit buah delima.

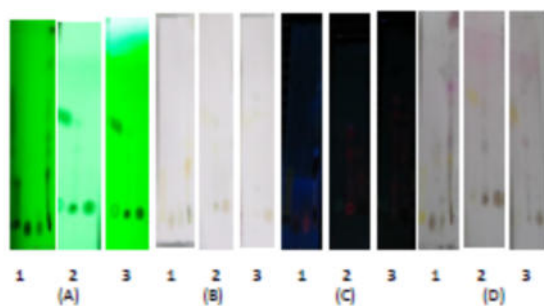
Penggunaan sel Vero untuk proses identifikasi efek dari suatu senyawa kimia dapat dilakukan melalui uji toksisitas senyawa kimia tersebut terhadap sel secara *in vitro*. Beberapa kelebihan

penggunaan sel untuk pengujian toksisitas secara *in vitro* diantara lain pertumbuhannya yang cepat sehingga waktu yang dibutuhkan untuk pengujian lebih singkat, metode pengujian yang sederhana, dan dapat dilakukan pemilihan sel uji yang bersifat spesifik untuk tujuan penelitian yang diinginkan (Ekwall *et al.* 1990). Sel Vero banyak digunakan untuk penelitian diantara lain, pengujian toksisitas ekstrak keong matah merah (*Cerithidea obtusa*) terhadap *Artemisia salina* dan sel Vero. Pengujian menunjukkan bahwa seluruh ekstrak uji bersifat nontoksik terhadap sel Vero (Aulia 2016). Dalam penelitian lain dilakukan pengujian aktivitas sitotoksitas *in vitro* ekstrak *Solanum nigrum* terhadap sel Hela dan sel Vero. Pengujian menunjukkan bahwa ekstrak memiliki aktivitas yang tinggi pada sel Hela, sedangkan aktivitas ekstrak terhadap sel Vero rendah (Patel *et al.* 2009). Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan, seluruh ekstrak dan fraksi daun jambu air dan kulit buah delima yang diuji memiliki aktivitas yang rendah atau bersifat nontoksik terhadap sel Vero.

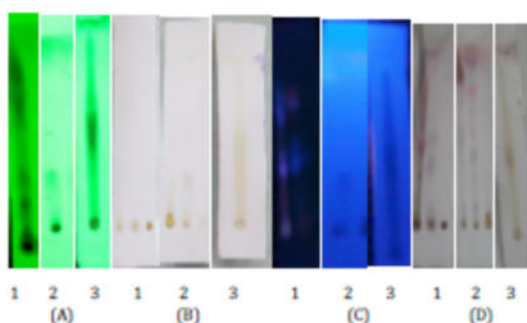
Ekstrak etanol daun jambu air memiliki nilai  $IC_{50}$  aktivitas peredaman DPPH sebesar 220  $\mu\text{g/ml}$  (Ling dan Palanisamy 2012). Ekstrak daun jambu air tidak bersifat toksik pada pengujian *in vivo* dengan hewan percobaan. Ekstrak etanol daun jambu air memiliki nilai  $LD_{50}$  lebih dari 2000 mg/kg. Ekstrak etanol sebesar 50, 100, dan 200 mg/kg yang diberikan selama 28 hari tidak menyebabkan kematian pada hewan uji. Hal tersebut menunjukkan tidak adanya efek toksisitas akut dan subkronis dari ekstrak daun jambu air (Manaharan *et al.* 2014). Hasil uji *in vivo* ekstrak kulit buah delima yang telah dilakukan sebelumnya menunjukkan bahwa pemberian ekstrak dengan dosis 0,5 mg/kg, 1,9 mg/kg, dan 7,5 mg/kg selama 22 hari tidak memberikan efek toksik, dan kematian pada hewan uji (Jahromi *et al.* 2014).

## Kesimpulan

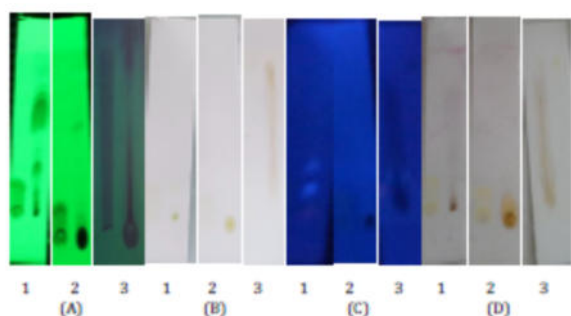
Ekstrak dan fraksi dari daun jambu air dan kulit buah delima tidak bersifat toksik pada konsentrasi 1024, 512, 256, 128, 64, 32, 16, 8, 4, dan 2  $\mu\text{g/ml}$  terhadap sel Vero



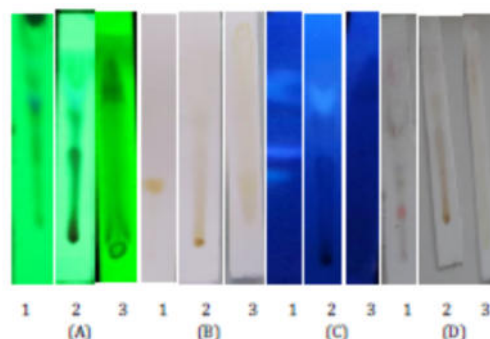
**Gambar 7.** Kromatografi Lapis Tipis pemantauan ekstrak daun jambu air (A) pada  $\lambda$  254 nm, (B) sinar tampak, (C) pada  $\lambda$  366 nm, (D) dengan penampak bercak  $H_2SO_4$  10%, (1) ekstrak n-heksan, fase gerak heksan-etil-asam format (9:1:1), (2) ekstrak etil asetat, heksan-etil (8:2), (3) ekstrak etanol, fase gerak heksan-etil-etanol(8:2:1).



**Gambar 8** Kromatografi Lapis Tipis pemantauan ekstrak kulit buah delima (A) pada  $\lambda$  254 nm, (B) sinar tampak, (C) pada  $\lambda$  366 nm, (D) dengan penampak bercak  $H_2SO_4$  10%, (1) ekstrak n-heksan, fase gerak toluen-heksan-etil (2:2:1), (2) ekstrak etil asetat, fase gerak heksan:etil (3:10) (3) ekstrak etanol, fase gerak kloroform-asam aetat-asam format (2:4:1).



**Gambar 9** Kromatografi Lapis Tipis pemantauan fraksi daun jambu air (A) pada  $\lambda$  254 nm, (B) pada sinar tampak, (C) pada  $\lambda$  366 nm, (D) dengan penampak bercak  $H_2SO_4$  10%, (1) fraksi heksan, fase gerak heksan-etil asetat-asam format (9:1:1), (2) fraksi etil asetat, fase gerak heksan-etil asetat-asam format (9:1:1), (3) fraksi air, fase gerak metanol-air (4:1).



**Gambar 10.** Kromatografi Lapis Tipis pemantauan fraksi kulit buah delima, (A) pada  $\lambda$  254 nm, (B) pada sinar tampak, C) pada  $\lambda$  366 nm, (D) dengan penampak bercak  $H_2SO_4$  10%, (1) fraksi heksan, fase gerak toluene-heksan-etil (2:2:1), (2) fraksi etil asetat, fase gerak heksan-etil (3:10), (3) fraksi air, fase gerak kloroform-asam asetat-asam format (2:4:1).

## Daftar Pustaka

Aulia AN, 2016, Pengujian toksisitas ekstrak keong matah (*Cerithidea obtusa*) terhadap *Artemisia salina* dan sel Vero, tugas akhir, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan IPB, Bogor.

Bharani RSA, Namasivayam SKR, 2016, Pomegranate (*Punica granatum* L.) Peel Extract- A Study on Potential Source of Pharmacological Activities, *International Journal of Pharma and Bio Sciences* 7(4): (B)282-290.

Eisenbrand G, Pool-Zobel B, Baker V, Balls M, Blaauboer BJ, Boobis A, Carere A, Kevekordes S, Lhuguenot JC, Pieters R, Kleiner J, 2002, Method of in vitro toxicology, *Food and Chemical Toxicology* 40: 193-236.

Ekwall B, Silano V, Paganuzzi SA, Zucco F, Bourdeau (edd), 1990, Toxicity with mammalian cell cultures, John Willey and Sons Ltd, London.

Jahromi SB, Pourshafie MR, Mirabzadeh E, Tavasoli A, Katirae F, Mostafavi E, Abbasian S, 2014, *Punica granatum* peel extract toxicity in mice, *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products* 10(4): e23770, doi: 10.17795/jjnpp-23770.

Ling LT, Palanisamy UD, 2012, Review: Potential antioxidant from tropical plants, Food Industrial Processes-Methods and Equipment, Valdez B (eds), ISBN: 978-953-307-905-9, In-Tech, Europe.

McLaughlin JL, Rogers LL, 1998, The use of biological assay to evaluate botanicals, Drug Information Journals 32: 512-534.

Manaharan T, Cheng MJ, Ming H, Uma D, 2013, *Syzygium aqueum* leaf extract and its bioactive compound enhance pre-adipocyte differentiation and 2 NBDG uptake in 3-T31 cell. Food Chemistry: 136-354-36.

Manaharan T, Chakravarthi S, Radhakrishnan AK, Palanisamy UD, 2014, In vivo toxicity evaluation of a standardized extract of *Syzygium aquem* leaf, Toxicology report 1: 718-725, doi: 10.1016/j.toxrep.2014.09.006.

Patel S, Gheewala N, Suthar A, Shah A, 2009, In vitro cytotoxicity activity of *Solanum nigrum* extract against Hela cell line and Vero cell line, International Journal of Pharmacy and

Pharmaceutical Science vol 1, suppl 1, Nov-Dec 2009.

Ramadania ZM, 2015, Isolasi senyawa 5,7-dihidroksi, 6,8-dimetil flavon dan uji aktivitas antioksidan serta penghambatan enzim xanthin oksidase dari ekstrak daun jambu air, tugas akhir, Sekolah Farmasi ITB, Bandung.

Ricardo CB, Monica AL, Sonia MG, Fabiana MB, Priscilia MA, 2009, A simple method to measure cell viability in proliferation and cytotoxicity assays, Braz Oral Res 23(3): 255-262.

RS Arvind Bharani, Selvaraj K, 2016, Pomegranate (*Punica Granatum* L.) peel extract- a study on potential sources of pharmacological activities, International Journal Pharmacy Bioscience: 282-290, doi: 10.22376/ljpbs.2016.7.4.b282-290.

**Daftar singkatan yang digunakan :**

DMEM: *Dulbecco's Modified Eagle's Medium*; FBS : *Fetal Bovine Serum*; DMSO : *Dymethyl Sulfoxide*; KLT : Kromatografi Lapis Tipis ; UV : Ultraviolet