

**UJI TOKSISITAS DAN IDENTIFIKASI ISOLAT FLAVONOID HASIL
KLTP FRAKSI ETIL ASETAT DAUN KATUK (*Sauropus androgynus* L.
Merr)**

SKRIPSI

**Oleh:
KARAVANA NURA IZZA
NIM. 17630113**



**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2021**

**UJI TOKSISITAS DAN IDENTIFIKASI ISOLAT FLAVONOID HASIL
KLTP FRAKSI ETIL ASETAT DAUN KATUK (*Sauropus androgynus* L.
Merr)**

SKRIPSI

**Oleh:
KARAVANA NURA IZZA
NIM. 17630113**

**Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2021**

**UJI TOKSISITAS DAN IDENTIFIKASI ISOLAT FLAVONOID HASIL
KLTP FRAKSI ETIL ASETAT DAUN KATUK (*Sauropus androgynus* L.
Merr)**

SKRIPSI

Oleh :
KARAVANA NURA IZZA
NIM. 17630113

Telah Diperiksa dan disetujui untuk Diuji
Tanggal : 22 Desember 2021

Pembimbing I



Ahmad Ghanaim Fasya, M.Si
NIP. 19820616 200604 1 002

Pembimbing II



Oky Bagas Prasetyo, M.Si
NIDT. 1989011320180201 1 244

Mengetahui,
Ketua Program Studi Kimia,



Rachmawati Ningsih, M.Si
NIP. 1981 0811 200801 2 010

HALAMAN PENGESAHAN
UJI TOKSISITAS DAN IDENTIFIKASI ISOLAT FLAVONOID HASIL
KLTP FRAKSI ETIL ASETAT DAUN KATUK (*Sauropus androgynus* L.
Merr)

SKRIPSI

Oleh :
KARAVANA NURA IZZA
NIM. 17630113

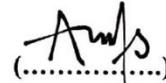
Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal : 22 Desember 2021

Penguji Utama : Suci Amalia, M.Sc
NIP. 19821104 200901 2 007

Ketua Penguji : Ahmad Hanapi, M.Sc
NIDT. 19851225 20160801 1 069

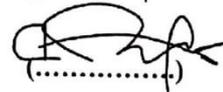
Sekretaris Penguji : A. Ghanaim Fasya, M.Si
NIP. 19820616 200604 1 002

Anggota Penguji : Oky Bagas Prasetyo, M.Si
NIDT. 1989011320180201 1 244


(.....)


(.....)


(.....)


(.....)

Mengesahkan,
Ketua Program Studi Kimia,



Rachmawati Ningsih, M.Si
NIP. 19810811 200801 2 010

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Karavana Nura Izza

NIM : 17630113

Jurusan : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Uji Toksisitas dan Identifikasi Isolat Flavonoid

Hasil KLTP Fraksi Etil Asetat Daun Katuk (*Sauropus androgynous* L. Merr)

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan data, tulisan, atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 22 Desember 2021
Yang membuat pernyataan



Karavana Nura Izza
NIM. 17630113

MOTTO

*Ketika Allah telah meridhoi mu maka tidak satupun manusia di dunia bisa
menggagalkanmu*

-K.Va-

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobbil'alamin...

Sujud syukur dan puji tiada henti kepada Allah Yang Maha Agung, kupersembahkan karya kecil ini untuk kedua orang tuaku yang memberi kasih sayang, doa, dorongan, kekuatan,, dan ridho yang tiada henti hingga aku dapat sampai pada titik ini. Semoga Allah hadiahkan kepada kita sekeluarga surga firdaus sehingga kita dapat berkumpul bersama nanti.

Kepada saudara dan saudariku, terimakasih telah menjadi penguat untukku.

Untuk orang-orang baik yang Allah kirimkan disetiap kesulitan yang ku alami untuk menenmani perjuanganku, Devi Rahmawati, Salma Iza Fadila, Siti Arifatul Aini, dan Atika Masrihanah. Trimakasih untuk setiap doa baik dan waktu yang kalian luangkan untuk membantuku.

Kawan seperjuangan, partner katuk squad Rodoh Nofita Sari, Bahan Alam squad (Devi, Safira, Ria, Jefry, Afifah, Erlina, Happy, Siti, Faskho, Sandy, Ifit, Fikry, Dean, Arif). Terimakasih telah menjadi bagian dalam kehidupanku. Semoga kelak kita akan dipertemukan kembali dengan versi hebat masing-masing dari kita.

KATA PENGANTAR

Puji syukur atas kehadiran Allah SWT. atas limpahan rahmat, taufik dan hidayah-Nya kepada penulis, sehingga penulis mampu menyelesaikan Penelitian dengan judul **“Uji Toksisitas dan Identifikasi Isolat Flavonoid Hasil KLTP Fraksi Etil Asetat Daun Katuk (*Sauropus androgynous* L. Merr)”**. Shalawat serta salam selalu tercurah melimpah kepada Nabi Muhammad SAW, keluarganya, sahabatnya dan para umat serta pengikutnya. Sosok teladan dalam membangun peradaban dan penyempurnaan akhlaq.

Skripsi penelitian ini dibuat untuk memenuhi salah satu kriteria utama kelulusan strata 1 di program studi kimia. Skripsi penelitian ini dapat diselesaikan karena dukungan, motivasi, serta bimbingan dari banyak pihak. Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian laporan hasil ini, khususnya kepada:

1. Orang tua tercinta, Ibu Zulaiha dan Pak Awaluddin Amri serta kakak adik Fara Ayu Fatmala, Yustisia Alfrida dan Savanta Emir Albaldad yang telah banyak memberikan perhatian, kasih sayang, nasihat, doa, dan dukungan baik materi maupun moril yang tak mungkin terbalaskan.
2. Bapak Prof. Dr. M. Zainuddin, M.A selaku rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si selaku Ketua Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Bapak Ahmad Ghanaim Fasya, M.Si selaku dosen pembimbing yang dengan sabar memberikan dorongan semangat serta bimbingan dengan penuh keikhlasan.

5. Bapak Oky Bagas Prasetyo selaku dosen pembimbing agama yang telah memberikan bimbingan dan pengarahan dengan kesabaran.
6. Ibu Armeida Dwi Ridhowati Madjid, M.Si selaku dosen wali selama menuntut ilmu di UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
7. Seluruh anggota grup SAUNA (Miftahul Badriyah, Aisyah Ainur Rahma, Sofi Salasi, Maulida Qurrota'ayun, Rodoh Nofitasari, Mita Wahyuningtyas dan Aini Halimiyah) yang selalu memberi motivasi, semangat ceria kepada penulis dan tempat curhat dikala mengerjakan penelitian.
8. Kelas C Kimia 2017, mahasiswa Kimia angkatan 2017 khususnya teman-teman satu tim penelitian bahan alam yang senantiasa memberikan motivasi dan dukungan selama penyusunan laporan hasil penelitian ini.

Sebagai akhir kata mudah-mudahan amal baik semua pihak yang telah membantu penulis mendapatkan imbalan pahala yang berlipat ganda dari Allah SWT. Aamiin. Penulis menyadari sepenuhnya bahwa penyusunan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna . untuk itu, dengan kerendahan hati penulis mengharap kritik dan saran yang bersifat membangun guna perbaikan dan peningkatan proposal di tahun yang akan datang. Semoga laporan hasil penelitian ini dapat menjadi sarana pembuka ilmu pengetahuan baru, bermanfaat bagi kita semua dan untuk peradaban yang akan datang. Aamiin.

Malang, 23 Desember 2021

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iv
MOTTO	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
ABSTRAK	xiv
ABSTRACT.....	xv
نبذة مختصرة	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.4 Batasan Masalah	6
1.5 Manfaat Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Tumbuhan Katuk (<i>Sauropus androgynous</i> L. Merr)	7
2.1.1 Deskripsi dan Morfologi Umum Tumbuhan Katuk	7
2.1.2 Kandungan dan Manfaat Senyawa Aktif Tumbuhan Katuk.....	9
2.2 Senyawa Flavonoid.....	11
2.2.1 Flavonol	13
2.2.2 Flavon	14
2.3 Ekstraksi Ultrasonik.....	15
2.4 Hidrolisis dan Partisi	19
2.5 Kromatografi Lapis Tipis	21
2.6 Uji Toksisitas	26
2.7 Identifikasi Senyawa Flavanoid menggunakan Spektrofotometer FT-IR	30
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	34
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	34
3.2 Alat dan Bahan	34
3.2.1 Alat	34
3.2.2 Bahan	34
3.3 Rancangan Penelitian.....	34
3.4 Tahapan Penelitian.....	35
3.5 Pelaksanaan Penelitian.....	36
3.5.1 Pengumpulan Bahan	36

3.5.2 Pembuatan Serbuk Simplisia	36
3.5.3 Analisis Kadar Air secara Thermogravimetri.....	37
3.5.4 Ekstraksi Ultrasonik <i>Sauropus androgynous</i> L.Merr.....	37
3.5.5 Hidrolisis dan Partisi	38
3.5.6 Uji Fitokimia	39
3.5.7 Isolasi Flavonoid dengan KLTA	39
3.5.8 Isolasi Flavonoid dengan KLTP.....	40
3.5.9 Uji Toksisitas Menggunakan Metode BSLT.....	41
3.5.9.1 Penetasan Larva Udang.....	41
3.5.9.2 Uji Toksisitas	41
3.5.10 Identifikasi Menggunakan Spektrofotometer FT-IR	42
BAB IV PEMBAHASAN.....	43
4.1 Preparasi Sampel	43
4.2 Analisis Kadar Air Secara Thermogravimetri	43
4.3 Ekstraksi Ultrasonik <i>Sauropus androgynous</i> L. Merr	44
4.4 Hidrolisis dan Partisi	46
4.5 Uji Fitokimia Senyawa Flavonoid.....	47
4.6 Isolasi Flavonoid dengan KLTA	48
4.7 Isolasi Flavonoid dengan KLTP	50
4.8 Uji Toksisitas Menggunakan Metode BSLT	52
4.8.1 Penetasan Larva Udang	52
4.8.2 Uji Toksisitas	52
4.9 Identifikasi Menggunakan Spektrofotometer FT-IR	54
4.10 Kajian Hasil Penelitian dalam Perspektif Islam	57
BAB V PENUTUP.....	59
5.1 Kesimpulan	59
5.2 Saran	59
DAFTAR PUSTAKA	60
LAMPIRAN.....	69

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman katuk (<i>Sauropus androgynous</i> L. Merr)	8
Gambar 2.2 Contoh struktur senyawa flavonoid	12
Gambar 2.3 Reaksi dugaan flavonoid dengan HCl pekat dan logam Mg	13
Gambar 2.4 Struktur senyawa flavonol	14
Gambar 2.5 Struktur senyawa flavon	15
Gambar 2.6 Dugaan reaksi pemutusan ikatan <i>O</i> -glikosida	20
Gambar 2.7 Reaksi antara HCl dan NaHCO ₃	20
Gambar 2.8 Reaksi antara Flavonoid dan Amoniak	24
Gambar 2.9 <i>Artemia salina</i> Leach	26
Gambar 2.10 Siklus hidup <i>Artemia salina</i>	27
Gambar 2.11 Spektra IR senyawa flavonoid dari daun sembukan (<i>Paederia foetidayang</i> L)	31
Gambar 4.1 Hasil uji fitokimia ekstrak etanol 70% dan fraksi etil asetat	46
Gambar 4.2 Hasil KLTA senyawa flavonoid dengan variasi eluen	48
Gambar 4.3 Hasil spektra FTIR isolat 4, 5, dan 6 daun katuk <i>Sauropus androgynous</i> L. Merr	27

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Penelitian metode ekstraksi pada daun katuk	17
Tabel 2.2 Konstanta dielektrikum dan tingkat kelarutan beberapa pelarut.....	18
Tabel 2.3 Potensi bioaktif nilai LC ₅₀	29
Tabel 2.4 Spektrum serapan UV-Vis senyawa flavonoid	33
Tabel 4.1 Nilai kadar air sampel kering daun katuk	45
Tabel 4.2 Dugaan senyawa flavonoid fraksi etil asetat dengan beberapa variasi eluen	48
Tabel 4.3 Hasil KLTP fraksi etil asetat menggunakan eluen N-heksana-etil asetat (5:5)	50
Tabel 4.4 Hasil uji toksisitas isolat 4, 5 dan 6 menggunakan metode BSLT.....	53
Tabel 4.5 Nilai LC ₅₀ isolat flavonoid <i>Sauropus androgynous</i> L. Merr	54
Tabel 4.6 Interpretasi spektra FTIR isolat 4, 5, dan 6 daun katuk <i>Sauropus androgynous</i> L. Merr	56

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Skema Kerja	51
Lampiran 2 Perhitungan	56
Lampiran 3 Data Pengamatan dan Perhitungan	73
Lampiran 4 Data Instrumentasi FT-IR	86
Lampiran 5 Dokumentasi Penelitian	90

ABSTRAK

Izza, K. N. 2021. **Uji Toksisitas Dan Identifikasi Isolat Flavonoid Hasil KLTP Fraksi Etil Asetat Daun Katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr).** Skripsi. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Kata Kunci : *Sauropus androgynus*, Flavonoid, Toksisitas, FT-IR, Ultrasonik

Sauropus androgynus merupakan salah satu tumbuhan golongan *phyllanthaceae* yang dikenal masyarakat luas sebagai obat tradisional maupun sebagai bahan pangan olahan. Salah satu metabolit sekunder tertinggi yang ada pada daun katuk adalah flavonoid. Senyawa flavonoid telah banyak diteliti sebagai senyawa yang memiliki aktivitas biologis. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui hasil identifikasi senyawa flavonoid yang terkandung dalam daun katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) serta tingkat toksisitasnya.

Metode ekstraksi yang digunakan adalah ekstraksi ultrasonik dengan menggunakan pelarut etanol 70%. Hasil ekstraksi akan dihidrolisis menggunakan HCl 2 N dan dipartisi menggunakan etil asetat. Kemudian, dilakukan uji fitokimia untuk mengetahui apakah dalam ekstrak dan fraksi mengandung flavonoid atau tidak. Selanjutnya, dilakukan pemisahan pada fraksi etil asetat untuk mendapatkan senyawa flavonoid menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Isolat yang didapat kemudian diuji tingkat toksisitasnya menggunakan metode BSLT. Selanjutnya, isolat diidentifikasi menggunakan spektrofotometer FT-IR.

Ekstraksi 20 g daun katuk dengan 200 mL etanol 70% menghasilkan 5,52 g ekstrak pekat etanol. Proses partisi menghasilkan 0,1129 g fraksi etil asetat. Uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan fraksi etil asetat positif mengandung senyawa flavonoid. Hasil pemisahan menggunakan eluen n-heksana:etil asetat (5:5) diperoleh senyawa flavonoid dari fraksi etil asetat yang ditunjukkan dengan noda berwarna hijau-kuning, biru, dan ungu. Hasil uji toksisitas isolat flavonoid daun katuk menunjukkan bahwa isolat 4, 5, dan 6 bersifat sangat toksik dengan nilai LC_{50} berturut-turut sebesar 8,42 ppm, 6,00 ppm, dan 6,79 ppm. Kemudian hasil analisis spektroskopi inframerah menunjukkan bahwa senyawa diduga golongan flavonoid yang memiliki gugus fungsi O-H, C-H alkana, C-H alkena, C=C konjugasi, C=O karbonil, C-O eter, daerah aromatik *overtone* C-H pada CH_2 , dan C-O alkohol.

ABSTRACT

Izza, K. N. 2021. **Toxicity Test and Identification of Flavonoid Isolates from Preparative TLC Result Ethyl Acetate Fraction of Katuk Leaves (*Sauropus androgynus* L. Merr)**. Thesis. Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology. Maulana Malik Ibrahim State Islamic University of Malang.

Keywords : *Sauropus androgynus*, Flavonoid, Toxicity, FT-IR, Ultrasonic

Sauropus androgynus is a plant in the *phyllanthaceae* group which is widely known by the public as a traditional medicine and as a processed food ingredient. One of the highest secondary metabolites in katuk is flavonoids. Flavonoid compounds have been widely studied as compounds that have biological activity. This research was conducted to determine the result of identification flavonoid compounds contained in katuk leaves (*Sauropus androgynus* L. Merr) and their toxicity levels.

The extraction method used is ultrasonic extraction using 70% ethanol. The extraction result will be hydrolyzed using 2 N HCl and partitioned using ethyl acetate. Then, a phytochemical test was carried out to determine whether the extract contained flavonoids or not. Furthermore, the ethyl acetate fraction was separated to obtain flavonoids using the Thin Layer Chromatography (TLC) method. Then, the isolates were tested for their toxicity using BSLT method. Furthermore, the isolates were identified using a FT-IR spectrophotometer. Extraction of 20 g of katuk leaves with 200 mL of 70% ethanol yielded 5.52 g of concentrated ethanol extract. The partition process resulted in 0.1129 g of ethyl acetate fraction. Phytochemical test showed that the ethanol extract and ethyl acetate fraction positively contained flavonoid compounds.

The results of the separation using n-hexane:ethyl acetate (5:5) eluent obtained flavonoid compounds from the ethyl acetate fraction which were shown by greenish yellow, blue, and purple colored stains. The results of the toxicity test of katuk leaf flavonoid isolates showed that isolates 4, 5, and 6 were highly toxic with LC₅₀ values of 8.42 ppm, 6.00 ppm, and 6.79 ppm, respectively. Then the Infrared spectroscopic analysis showed that the compound was suspected to be a flavonoid group that had the functional groups O-H, C-H alkane, C-H alkyl, C-H alkene, C=C conjugate, C=O carbonyl, C-O ether, C-H overtone aromatic region on CH₂, and C-O alcohol.

نبذة مختصرة

إيزا ، ك. ن. 2021. اختبار السمية. والتعرف على نتيجة عزل الفلافونويد لجزء خلات الإيثيل PTLK في ورقة كاتوك (rreM .L suonygordna suporuaS). مقترح البحث. قسم الكيمياء بكلية العلوم والتكنولوجيا. جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج.

الكلمات المفتاحية: أوراق الكاتوك ، الفلافونويد ، السمية ، RITF ، الموجات فوق الصوتية

كاتوك rreM .L suonygordna suporuaS هو نبات ينتمي إلى عائلة فيلانثاسيا المعروفة على نطاق واسع بالطب التقليدي وكمكون غذائي معالج. تعتبر مركبات الفلافونويد واحدة من أعلى المستقلبات الثانوية في الكاتوك. تمت دراسة مركبات الفلافونويد على نطاق واسع كمركبات لها نشاط بيولوجي. أجريت هذه الدراسة لتحديد أنواع مركبات الفلافونويد الموجودة في أوراق الكاتوك ومستوى سميتها. طريقة الاستخراج المستخدمة هي الاستخراج بالموجات فوق الصوتية باستخدام 70 % من الإيثانول كمذيب. سيتم تحليل نتائج الاستخلاص باستخدام N 2 ICH وتقسيمها باستخدام أسيتات الإيثيل. ثم أجريت اختبارات كيميائية نباتية لتحديد ما إذا كانت المستخلصات والكسور تحتوي على مركبات الفلافونويد أم لا. علاوة على ذلك ، تم فصل جزء أسيتات الإيثيل للحصول على مركبات الفلافونويد باستخدام طريقة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (CLT). تم بعد ذلك اختبار مستويات السمية الناتجة عن العزلات باستخدام طريقة TLSB. علاوة على ذلك ، تم التعرف على العزلات باستخدام مقاييس الطيف الضوئي RI-TF. استخلاص 20 جم من أوراق الكاتوك مع 200 مل من الإيثانول 70 % أسفر عن 5.52 جم من خلاصة الإيثانول المركزة. نتج عن عملية التقسيم 0.1129 جم من جزء أسيتات الإيثيل. أظهر الاختبار الكيميائي النباتي أن مستخلص الإيثانول وجزء أسيتات الإيثيل يحتويان بشكل إيجابي على مركبات الفلافونويد. حصلت نتائج الفصل باستخدام مذيب الهكسان: أسيتات الإيثيل (5: 5) مركبات الفلافونويد من جزء أسيتات الإيثيل والتي تظهر في بقع ملونة باللون الأخضر والأصفر والأزرق والأرجواني. أظهرت نتائج اختبار السمية لعزلات الفلافونويد أوراق الكاتوك أن العزلات 4 و 5 و 6 كانت عالية السمية بقيم 5CL 0 بلغت 8.42 جزء في المليون و 6.00 جزء في المليون و 6.79 جزء في المليون على التوالي. أظهر التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء أن المركب كان يشبه في أنه مجموعة فلافونويد تحتوي على H-C , H-O , ألكان ، H-C ، ألكيل ، H-C ألكين ، O=C متقارن ، C=C كربونيل ، منطقة تضخم عطري H-C على H-C₂ ، و HO-C الأساس.

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Katuk (*Sauropus androgynous* L. Merr) merupakan salah satu tumbuhan yang banyak ditemui di Asia Tenggara yang dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan (Majid, dan Muchtaridi., 2018), antistress (Hedge, dan Divya., 2015), antiinflamasi (Desnita, dkk., 2018), dan antibakteri (Winarsih, dkk., 2015; Mulyani, dkk., 2017). Di negara maju seperti Taiwan, daun katuk dikenal sebagai tanaman yang mampu mengontrol bobot badan (Santoso, 2013) sehingga dapat digunakan sebagai antiobesitas (Patonah, dkk., 2017). Sedangkan di negara berkembang seperti Indonesia, daun katuk lebih dikenal oleh masyarakat sebagai pelancar ASI (Juliastuti, 2019). Allah SWT menciptakan tanaman katuk dengan berbagai manfaatnya yang berguna untuk kehidupan makhluk hidup. Sebagaimana yang telah disebutkan pada Al-Qur'an dalam surah asy Syu'ara ayat 7 tentang bermacam tanaman yang ada di bumi beserta manfaatnya.

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ (٧)

Artinya: “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?” (Q.S. asy Syu'ara:7).

Dalam tafsir *al-Mishbah* kata *ila* pada firman-Nya di awal ayat ini: (أَوَلَمْ) (يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ) yaitu apakah mereka tidak melihat ke bumi, merupakan kata yang mengandung makna batas akhir. *ila* berfungsi memperluas arah pandangan hingga

batas akhir, dengan demikian ayat ini mengundang manusia untuk mengarahkan pandangan hingga batas kemampuannya memandang sampai mencakup seantero bumi, dengan aneka tanah dan tumbuhannya dan aneka keajaiban yang terhampar pada tumbuh-tumbuhannya (Shihab, 2002). Kata (زَوْجٍ) *zauj* berarti pasangan. Pasangan yang dimaksud pada ayat ini adalah pasangan tumbuh-tumbuhan, karena tumbuhan muncul di celah-celah tanah yang terhampar di bumi, dengan demikian ayat ini mengisyaratkan bahwa tumbuh-tumbuhan pun memiliki pasangan-pasangan untuk pertumbuhan dan perkembangannya. Selain itu, makna pasangan disini bukan hanya untuk pasangan yang bersifat materi saja, namun bisa untuk dua hal yang memiliki hubungan. Seperti halnya ada penyakit pasti ada obat. Konsep keseimbangan ini sebagai landasan teologis tatanan dan struktural kehidupan. Karena itu ayat diatas memulai dengan pertanyaan *apakah kamu tidak melihat?* Yang mana menunjukkan suatu keheranan terhadap mereka yang tidak memfungsikan matanya untuk melihat bukti yang sangat jelas itu. Kata (كَرِيمٍ) *karim* antara lain digunakan untuk menggambarkan segala sesuatu yang baik bagi setiap objek yang disifatinya. Tumbuhan yang baik, paling tidak adalah yang subur dan bermanfaat (Shihab, 2002). Ayat ini membuktikan keniscayaan, serta keesaan Allah SWT. Karena aneka ragam tumbuhan yang berbeda (jenis, rasa, dan warnanya) yang terhampar di seluruh belahan bumi memiliki sedemikian banyak manfaat. Hal ini sesuai dengan adanya tumbuhan katuk yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat baik sebagai obat tradisional ataupun sebagai bahan pangan.

Senyawa metabolit sekunder dikenal sebagai senyawa yang berpotensi sebagai obat. Dalam penelitiannya, Andarwulan, dkk. (2010) menemukan bahwa

kandungan flavonoid pada ekstrak daun katuk merupakan kadar tertinggi diantara sebelas ekstrak yang diteliti. Andarwulan, dkk. (2012) juga menemukan bahwa setiap 100 gram daun katuk segar mengandung quercetin sebanyak 4,5 mg, kaempferol 138 mg, myricetin 0,00002 mg, luteolin < 0,006 mg, dan apigenin < 0,03 mg dengan flavonoid total sebanyak 143 mg.

Senyawa flavonoid yang terkandung dalam daun katuk tersebut dapat mempengaruhi fungsi fisiologis dalam jaringan (Soka, dkk., 2014). Tanaman yang mengandung Flavonoid mampu digunakan sebagai peningkat kadar hormon testosteron (Andini, 2014), antioksidan (Arista, 2013; Nurdianti dan Tuslinah, 2017), antiinflamasi (Desnita, dkk., 2018), anti-viral (Anggraeni, 2016), hepatoprotektor (Joniada, 2011), antistress (Hedge dan Divya, 2015), dan suplemen pakan unggas (Santoso, 2018). Obesitas, sering disertai dengan adanya oksidasi stress sehingga aktivitas flavonoid daun katuk sebagai antioksidan dan imunostimulan berkaitan dengan aktivitas daun katuk sebagai antiobesitas (Sánchez, dkk., 2011). Potensi senyawa flavonoid sebagai obat tersebut dapat menjadi dasar pentingnya isolasi senyawa flavonoid dalam daun katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr).

Potensi senyawa flavonoid sebagai senyawa toksik dibuktikan pada hasil penelitian Mojo, dkk. (2016) yang menguji sitotoksitas fraksi n-heksana, etil asetat, dan etanol daun soyogik hasil maserasi dengan metode *Bhrine Shrimp Lethality Test* (BSLT) menghasilkan nilai LC₅₀ berturut-urut sebesar 181,97 ppm, 12,59 ppm, dan 2,82 ppm. Swantara, dkk. (2016) juga menguji sitotoksitas senyawa flavonoid hasil isolasi kromatografi kolom daun dewandaru sebagai skrining awal antikanker. Hasil penelitian menunjukkan senyawa flavonoid

terbukti toksik dengan nilai LC_{50} sebesar 63,10 ppm. Sementara itu, Ramadhianti (2020) melakukan uji sitotoksik pada ekstrak etanol 70%, fraksi etil asetat, dan isolat flavonoid dari daun binahong. Hasil dari penelitian menunjukkan nilai LC_{50} berturut-turut sebesar 56,721, 28,954 dan 24,371 ppm. Berdasarkan data tersebut maka senyawa flavonoid memiliki aktivitas yang toksik yang dilihat dari nilai LC_{50} kurang dari 1000 ppm.

Senyawa flavonoid diisolasi dengan tahap awal berupa proses ekstraksi. Optimasi ekstraksi daun katuk dapat dilakukan dengan metode ekstraksi ultrasonik. Metode ultrasonik menggunakan gelombang ultrasonik yaitu gelombang akustik dengan frekuensi lebih besar dari 16-20 kHz. Ultrasonik bersifat *non-destructive* dan *non-invasive*, sehingga dapat dengan mudah diadaptasikan ke berbagai aplikasi. Salah satu kelebihan metode ekstraksi ultrasonik adalah untuk mempercepat proses ekstraksi dan meningkatkan jumlah rendemen kasar. Hal ini dibuktikan oleh penelitian Hikmawati, dan Sofia (2019) yang mendapatkan rendemen sebesar 36,29% selama 40 menit ekstraksi daun katuk, sementara hasil maserasi daun katuk selama 3 hari sebanyak 20,11%. Proses ekstraksi menggunakan etanol 70% sebab etanol 70% mengandung air sebesar 30%, sehingga dapat meningkatkan polaritas etanol. Selain itu, etanol lebih mudah menembus membran seluler sehingga dapat mengekstraksi bahan intraseluler dari tanaman yang digunakan (Tiwari, dkk. 2011).

Pada hasil ekstraksi masih terdapat senyawa metabolit sekunder yang masih terikat dengan ikatan glikosidanya, sehingga untuk memutus ikatan glikosida tersebut dapat dilakukan dengan hidrolisis menggunakan HCl 2 N (Kaur, dan Murphy., 2012). Partisi dilakukan pada hasil hidrolisis untuk menarik

senyawa flavonoid yang bersifat semi polar. Proses partisi dilakukan dengan metode cair-cair. Rusdi, dkk. (2018) melakukan fraksinasi pada ekstrak etanol 70% menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat, dan air. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi etil asetat positif mengandung flavonoid.

Fraksi hasil partisi biasanya masih berupa senyawa campuran, sehingga perlu dilakukan pemisahan lebih lanjut. Metode KLTP dipilih pada penelitian ini karena metode ini telah umum digunakan oleh berbagai farmakope herbal di seluruh belahan dunia untuk tujuan identifikasi tanaman obat (Rafi, dkk., 2017). Isolat flavonoid hasil KLTP kemudian diuji aktivitas toksiknya. Salah satu metode uji toksisitas adalah metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) dengan hewan uji berupa larva udang *Artemia salina* L dimana tingkat toksisitas senyawa ditentukan dengan nilai LC_{50} (Sanjayasari, dan Piliang., 2011).

Setelah didapat angka kematian tertinggi pada larva udang. Maka perlu dilakukannya proses identifikasi hasil isolasi senyawa flavonoid dari daun katuk *Sauropus androgynus* L. Merr. Identifikasi isolat flavonoid dilakukan menggunakan spektrofotometer FT-IR.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu :

1. Bagaimana hasil uji toksisitas senyawa flavonoid hasil isolasi dengan KLTP fraksi etil asetat daun katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) ?
2. Bagaimana hasil identifikasi senyawa flavonoid hasil isolasi dengan KLTP fraksi etil asetat daun katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) menggunakan FT-IR ?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dalam penelitian ini yaitu :

1. Untuk mengetahui hasil uji toksisitas senyawa flavonoid hasil isolasi dengan KLTP fraksi etil asetat daun katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr)
2. Untuk mengetahui hasil identifikasi senyawa flavonoid hasil isolasi dengan KLTP fraksi etil asetat daun katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) menggunakan FT-IR

1.4 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini yaitu :

1. Daun Katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) berasal dari daerah Malang
2. Ekstraksi ultrasonik menggunakan pelarut etanol 70% pada frekuensi 40 kHz
3. Hidrolisis menggunakan pelarut HCl 2 N dan partisi menggunakan etil asetat
4. Pemisahan senyawa menggunakan Kromatografi Lapis Tipis
5. Uji toksisitas terhadap larva udang *Artemia Salina* L.
6. Identifikasi flavonoid menggunakan FT-IR

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah dapat diketahui tingkat toksisitas dan hasil identifikasi isolat flavonoid daun katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) hasil KLTP fraksi etil asetat, yang mana nantinya diharapkan dapat dijadikan informasi ilmiah kepada peneliti atau masyarakat luas.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tumbuhan Katuk (*Sauropus androgynous* L. Merr)

2.1.1 Deskripsi dan Morfologi Umum Tumbuhan Katuk

Daun katuk (*Sauropus androgynous* L. Merr) merupakan tanaman sayuran yang banyak ditemukan di Asia Tenggara. Tumbuhan katuk dalam beberapa bahasa dikenal sebagai mani cai (bahasa Cina), cekur manis (bahasa Melayu), binahian (bahasa Filipina/Tagalog), ngub (bahasa Kamboja), dan rau ngot (bahasa Vietnam) (Anggraeni, 2016). Di Indonesia katuk juga memiliki beberapa nama daerah antara lain: simani (Minangkabau), katuk (Sunda), babing, katukan, katu (Jawa), kerakur (Madura), katuk (Bengkulu), kayu manis (Bali) (Santoso, 2013).

Katuk telah tersebar di berbagai belahan bumi seperti India, Malaysia, dan Indonesia. Tumbuhan ini dapat tumbuh pada tempat yang memiliki air cukup dan agak teduh, biasanya pada daerah dataran rendah sampai dengan pegunungan (Santoso, 2013). Di Jawa katuk dapat tumbuh hingga 1300 dpl. Budidaya daun katuk juga terdapat di Kalimantan Barat, Sumatra Utara, dan Bengkulu. Tumbuhan katuk biasa ditanam sebagai tanaman pagar dan pembatas kebun. Namun di pulau Jawa, katuk telah dibudidayakan secara khusus meskipun masih dengan metode yang sederhana. Beberapa wilayah penyebaran katuk yang berada di pulau Jawa antara lain Banyuwangi, Pekalongan, Rembang, Semarang, Jakarta, Purwokerto, Kediri, Pasuruan, Surakarta, Malang, dll (Setyowati, 1997).

Menurut (Santoso, 2013; Firdausi, 2015; Anggraeni, 2016; Siswanto 2019; Masrihanah, 2020) sistematika tumbuhan daun katuk diklasifikasikan

sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Sub divisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledoneae
Bangsa : Euphorbiales
Suku : Euphorbiaceae
Marga : *Sauropus*
Spesies : *Sauropus androgynous* L. Merr



Gambar 2.1 Tanaman katuk (*Sauropus androgynous* L. Merr)

Tumbuhan katuk termasuk tumbuhan perdu, tingginya sampai dengan 3 meter. Batang yang muda berwarna hijau dan batang yang tua berwarna coklat. Batang memiliki alur-alur dengan kulit yang agak licin. Daun menyusun selang-seling pada satu tangkai, seolah-olah terdiri dari daun majemuk padahal daun katuk bersifat tunggal dengan jumlah daun per-cabang 11-21 helai, bentuk helaian daun lonjong hingga bundar (Santoso, 2013). panjang helai 2,5 cm, lebar 1,25-3 cm; tangkai pendek 2-4 mm, berdaun penumpu, panjang 1,75-3 mm. Daun yang di pangkal cabang berbentuk bulat telur berukuran lebar 1,5-2,5 cm, panjang 2,5-4,5 cm, sedangkan yang ditengah dan ujung berbentuk jorong berukuran lebar 2,2-3,1 cm, panjang 4,3-8,5 cm (Sukendar, 1997). Bunga tunggal atau

berkelompok 3, keluar diketiak daun atau diantara satu daun dengan daun lainnya. Bunga sempurna mempunyai helaian kelopak berbentuk bundar, warna merah gelap atau merah dengan bintik-bintik kuning, lebar 3-3,5 mm, tinggi putik 0,75 mm, lebar 1,75 mm, cabang dari tangkai putik berwarna merah, tepi kelopak bunga berombak atau berkuncup 6, panjang tangkai 6-7,5 mm. Bunga jantan berbentuk seperti giwang, kelopak dan mahkotanya serupa, berwarna merah kecoklatan, masing-masing berjumlah 3, saling berdekatan, tebal, dan berdaging, berwarna hijau kemerahan. Benang sari 6, dengan serbuk sari berwarna putih kekuningan. Selanjutnya dinyatakan bahwa bunga betina kelopak dan mahkotanya serupa, berwarna merah kecoklatan, masing- 6 masing berjumlah 3, tipis berlepasan, tidak mudah luruh dan tetap menempel pada buah. Bunga sepanjang tahun. Bunga bertangkai, pada tangkai 1,25 cm, diameter bunga jantan 6-11 mm (Santoso, 2013).

2.1.2 Kandungan dan Manfaat Senyawa Aktif Tumbuhan Katuk

Katuk telah banyak dikenal sebagai sayuran di sebagian besar Indonesia. Di pulau Jawa katuk telah dibudidayakan secara komersial, sedang di daerah lain katuk ditanam sebagai tanaman pagar atau tanaman sela. Daun katuk termasuk salah satu sayuran yang kaya akan zat gizi dan zat metabolit sekunder, sehingga katuk biasa dimanfaatkan sebagai sayur dan sebagai obat herbal (Santoso, 2013).

Dalam penelitiannya, Andarwulan, dkk. (2012) mengatakan bahwa dalam daun katuk mengandung enam senyawa flavonoid utama yaitu Quercetin, Kaempferol, Myricetin, Luteolin, dan Apigenin. Flavonoid telah terbukti berperan dalam berbagai aktivitas di dalam tubuh seperti sebagai antioksidan, anti-radang, anti-platelet, anti-thrombotic action, and anti-allergik. Flavonoid dapat

menghambat enzim seperti prostaglandin synthase, lipoxygenase, dan cyclooxygenase yang merupakan enzim yang berhubungan dengan tumorigenesis dan merangsang sistem enzim yang berkaitan dengan detoksifikasi seperti glutathione S-transferase. Quercetin menghambat oksidasi dan sitotoksitas low-density lipoprotein secara in vitro dan dapat menekan resiko terkena penyakit jantung koroner dan kanker. Model oksidasi in vitro menunjukkan bahwa quercetin, myricetin, dan rutin lebih kuat sebagai antioksidan jika dibandingkan dengan vitamin konvensional. Flavonol dan flavone berperan sebagai antioksidan dan pembawa radikal bebas dalam makanan, dan secara nyata mempunyai aktivitas vitamin C sparing, dimana myricetin yang paling aktif. Dalam sayuran, quercetin glycoside yang dominan, tetapi glycoside dalam bentuk kaempferol, luteolin, dan apigenin juga ada dalam jumlah sedikit. Studi epidemiologi menunjukkan adanya hubungan yang kuat antara pakan yang kaya dengan flavonol dan penurunan penyakit jantung (Santoso, 2013).

Aktivitas farmakologis (antibakteri) dari daun katuk telah dibuktikan oleh Winarsih, dkk. (2015). Ekstrak yang digunakan pada pengujian merupakan ekstrak yang diperoleh melalui proses maserasi dengan menggunakan etanol 96%. Konsentrasi ekstrak yang digunakan pada pengujian antibakteri *Salmonella typhi* adalah 0%, 10%, 15%, 20%, 25% dan 30%. Hasil dari penelitian menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi dari ekstrak, maka akan semakin kecil jumlah koloni yang tumbuh pada media tersebut. Senyawa yang berperan untuk anti bakteri meliputi alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin. Flavonoid memiliki mekanisme menghambat sintesis protein sehingga akan menyebabkan membran bakteri rusak. Saponin bekerja dengan merusak membran dengan cara

mengganggu permeabilitasnya. Mekanisme alkaloid sebagai antibakteri yaitu dengan menghambat pembentukan bakteri yang menyebabkan bakteri menjadi rusak dan mati. Tanin merusak dinding sel dan menghambat pertumbuhan bakteri sebagai mekanisme antibakteri (Zukhri, dkk., 2018).

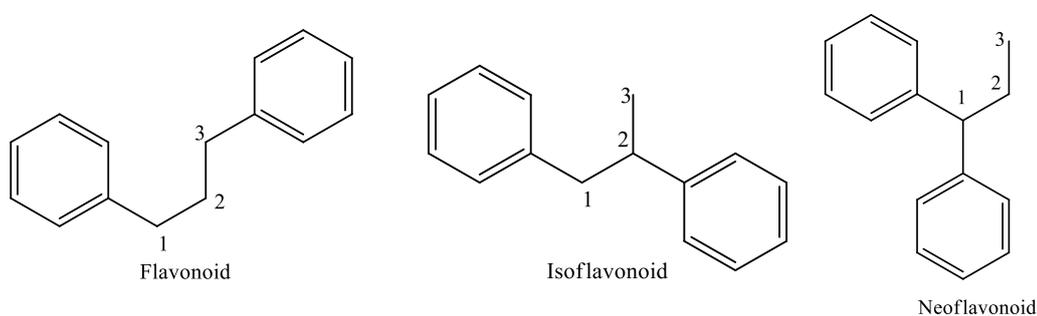
Penelitian yang dilakukan oleh Desnita, dkk., (2018) menunjukkan bahwa ekstrak potongan daun katuk memiliki efektivitas yang relatif sama dengan natrium diklofenak dalam penyembuhan radang. Dengan menggunakan dosis ekstrak 400 mg/kg BB, terjadi penghambatan peradangan berkisar 66,67- 100%. Sedangkan Suparmi, dkk. (2016) menemukan bahwa Klorofil dari daun katuk memiliki potensi sebagai alternatif pengobatan anemia hemolitik dengan adanya peningkatan kadar Hb dan ferritin. Klorofil daun katuk berpotensi dapat digunakan sebagai antioksidan akibat stres oksidatif.

Selain digunakan untuk pengobatan, katuk dapat digunakan untuk pewarna yaitu warna hijau. Produk yang menggunakan pewarna daun katuk tidak mempengaruhi kualitasnya karena katuk tidak mengakibatkan sifat inderawi. Bubuk pewarna yang paling diminati adalah bubuk yang mengandung klorofil 0,83%, 4% maltodoksin dengan kadar air 5,64% yang dikeringkan pada suhu 900°C selama 1,19 menit dan menghasilkan warna Redness 0,65, Blueness 2,75, Yellowness 8,9 (Hardjati, 2008).

2.2 Senyawa Flavonoid

Flavonoid termasuk kedalam daftar salah satu senyawa fenol terbesar yang ditemukan dengan tingkat hidroksilasi, alkoksilasi, dan glikosilasi pada strukturnya (Kristanti, dkk., 2008). Struktur dasar flavonoid terdiri dari dua gugus aromatik (benzene) yang digabungkan oleh jembatan karbon rantai propane (C₃)

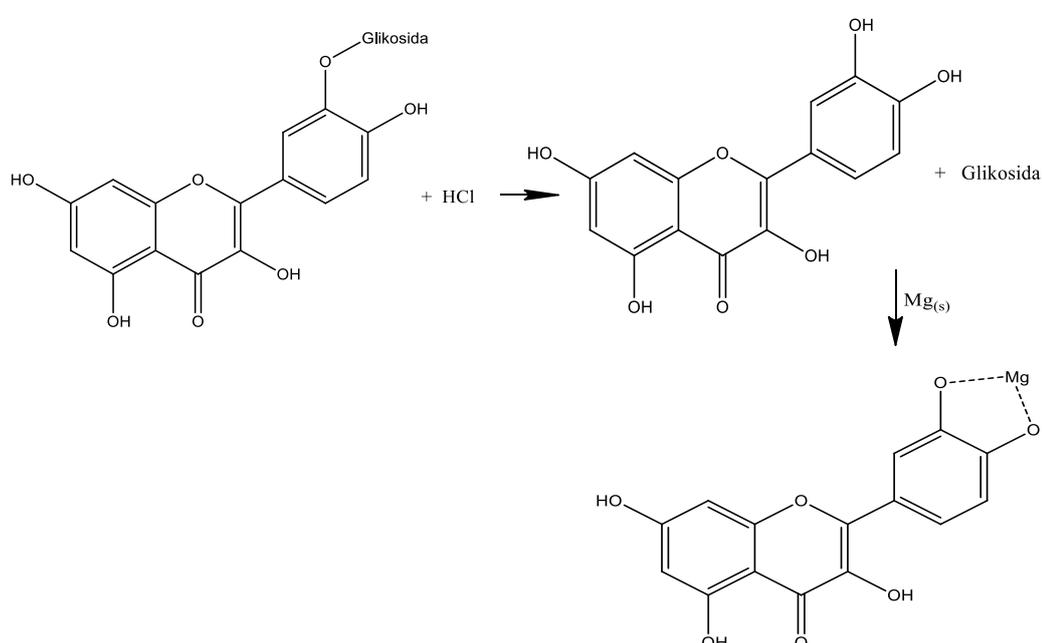
membentuk susunan (C6-C3-C6) (Alfaridz, dan Riezki., 2016). Pengelompokan senyawa flavonoid disusun berdasarkan cincin heterosiklik-oksigen tambahan serta gugus hidroksilnya, sehingga dari susunan (C6-C3-C6) dapat dihasilkan tiga jenis struktur yakni 1,3-diarilpropan atau flavonoid, 1,2-diarilpropan atau isoflavonoid, dan 1,1-diarilpropan atau neoflavonoid (Masrihanah, 2020). Tiga jenis struktur flavonoid dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Contoh struktur senyawa flavonoid (Masrihanah, 2020)

Cara untuk mengetahui apakah dalam suatu sampel terkandung flavonoid atau tidak biasanya dilakukan uji fitokimia, yakni dengan menambahkan HCl pekat dan logam Mg kedalam analit, metode ini biasa dikenal dengan nama metode Wilstater (Masrihanah, 2020). Menurut Syahadat, dan Siregar (2020) ciri-ciri sampel yang positif mengandung flavonoid akan membentuk garam flavilium berwarna kuning, jingga, atau merah ketika setelah ditambahkan HCl pekat dan logam Mg. Warna yang spesifik yang terdapat pada bahan yang diuji flavonoid menunjukkan adanya hasil reduksi antara HCl pekat dan logam Mg yang menghasilkan senyawa kompleks yang menunjukkan jenis kandungan flavonoid yang berbeda, contoh; isoflavon, flavon dan lain sebagainya (Sanjayasari, dan Pliliang., 2011), jika berwarna merah jingga maka menunjukkan adanya senyawa

flavonol, flavanon, flavanonol, dan xanton (Sakinah, 2017). Masrihanah (2020) menemukan bahwa penambahan HCl pekat dalam uji flavonoid dimaksudkan untuk menghidrolisis *O*-glikosida flavonoid menjadi aglikonnya, sehingga glikosida akan tergantikan dengan H^+ dari HCl karena sifatnya yang elektrofilik. Reaksi dugaan antara flavonoid dengan HCl pekat dan logam Mg dapat dilihat pada Gambar 2.3.

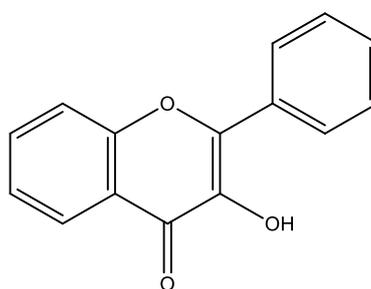


Gambar 2.3 Reaksi dugaan flavonoid dengan HCl pekat dan logam Mg (Iskandar, 2020)

2.2.1 Flavonol

Flavonol merupakan flavonoid dengan gugus keton. Beberapa contoh senyawa flavonol adalah kuersetin, rutin, mirisetin, fisetin, galangin, morin, dan robinetin (Cushnie, dan Lamb., 2005). Perbedaan antara flavonol dengan flavon terdapat pada gugus di posisi 3 pada cincin C yang memungkinkan terjadinya glikosilasi. Aktivitas farmakologi yang dimiliki flavonol adalah antioksidan

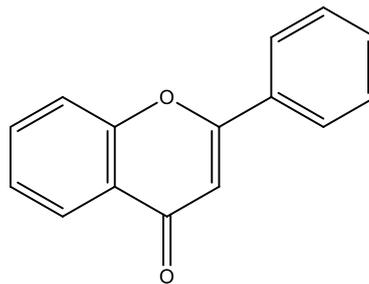
(Alfaridz, dan Riezki., 2016). Gugus aromatik cincin B merupakan gugus yang bertanggung jawab atas aktivitas flavonol karena ikatan rangkap konjugasi pada nomor 2' dan 3' memiliki kemampuan untuk perpindahan elektron dari cincin B menuju radikal bebas dan memecah radikal bebas. Sebagian besar flavonol memiliki gugus hidroksil pada posisi 5, 7, dan 4' (Panche, dkk., 2016). Struktur dari senyawa flavonol dapat dilihat pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Struktur senyawa flavonol (Alfaridz, dan Riezki., 2016)

2.2.2 Flavon

Flavon merupakan salah satu senyawa flavonoid yang sering terkandung pada daun, buah dan bunga dalam bentuk glukosida. Beberapa contoh senyawa flavon adalah apigenin, luteolin, luteolin-7- glukosida, akatekin, dan baicalin (Alfaridz, dan Riezki., 2016). Struktur flavon sendiri terdiri dari ikatan rangkap antara posisi 2' dan 3', serta memiliki keton pada posisi 4. Sebagian besar flavon memiliki gugus hidroksil pada posisi 5, 7, dan 4' (Panche, dkk., 2016). Struktur dari senyawa flavon dapat dilihat pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Struktur senyawa flavon (Alfaridz, dan Riezki., 2016)

2.3 Ekstraksi Ultrasonik

Ultrasonic Assisted Extraction (UAE) adalah salah satu metode ekstraksi yang menggunakan bantuan gelombang ultrasonik. Gelombang ultrasonik adalah gelombang suara yang memiliki frekuensi diatas pendengaran manusia (≥ 20 kHz). Metode ekstraksi ini digunakan untuk memperoleh kandungan antioksidan yang lebih tinggi dengan waktu yang relatif singkat (Sholihah, dkk. 2017). Ultrasonik bersifat non-destructive dan non-invasive sehingga dapat dengan mudah diadaptasikan ke berbagai aplikasi (McClements, 1995). Dengan bantuan ultrasonik, proses ekstraksi senyawa organik pada tanaman dan biji-bijian dengan menggunakan pelarut organik dapat berlangsung lebih cepat (Sayuti, 2017). Dinding sel dari bahan dipecah dengan getaran ultrasonik sehingga kandungan yang ada di dalamnya dapat keluar dengan mudah (Sholihah, dkk., 2017). Pengolahan bahan makanan juga tidak luput dari pemanfaatan teknik ultrasonik (Mason, dkk., 1996). Hasil waktu uji rendemen pati jagung dengan menggunakan ekstraksi ultrasonik selama 2 menit adalah sekitar 55,2-67,8% hampir sama dengan rendemen yang didapat dari pemanasan dengan air selama 1 jam yaitu 53,4% (Cameron, dan Wang., 2006).

Prinsip dasar dari ekstraksi ultrasonik yaitu meningkatnya transfer massa yang disebabkan gelombang akustik ultrasonik. Ketika gelombang akustik merambat dalam suatu cairan berisi bahan yang akan diekstrak, getaran ultrasonik berkecepatan tinggi akan menyebabkan medium yang dilewati bergetar. Proses getaran akan memberikan perpindahan massa terhadap pelarut dan sampel yang akan mempengaruhi proses ekstraksi. Proses getaran tersebut akan menghasilkan gelembung kavitasi pada dinding sel tanaman, ketika gelembung kavitasi pecah akan meningkatkan pori-pori dinding sel dan mengakibatkan pecahnya dinding sel tanaman sehingga akan membuat komponen di dalam sel keluar bercampur dengan larutan (Thompson, dan Doraiswamy., 1999).

Keuntungan utama dari ekstraksi ultrasonik yaitu waktu yang digunakan lebih singkat, efisiensi lebih besar (Garcia, dan Castro., 2004), aman, dan meningkatkan hasil ekstrak atau jumlah rendemen (Zou, dkk., 2014). Supardan, dkk. (2011) telah membuktikan dalam penelitiannya, Minyak yang diambil dari limbah cair hasil proses ekstraksi ultrasonik dengan rasio volume limbah terhadap pelarut 1:1 dan waktu ekstraksi 60 menit memiliki rendemen sebesar 0,138%. Pada kondisi yang sama, proses ekstraksi tanpa ultrasonik menghasilkan rendemen sebesar 0,002% dengan kecepatan pengadukan 200 dan 300 rpm. Selain itu, penelitian Yang, dkk. (2009) dalam mengekstraksi tongkol jagung juga menunjukkan hasil yang signifikan. Hasil ekstraksi menggunakan ultrasonik dengan waktu 43 menit mampu mengekstrak sebanyak 43%, sedangkan menggunakan ekstraksi konvensional yang membutuhkan waktu 24 jam menghasilkan ekstrak sebanyak 34%. Beberapa penelitian yang dapat menjadi kajian literature metode ekstraksi ditunjukkan pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Penelitian metode ekstraksi pada daun katuk

Sampel	Pelarut	Metode	Deskripsi	Referensi
Daun Katuk	Etanol 95% dan n-heksana	Maserasi	Hasil terbaik menunjukkan bahwa pelarut etanol memberikan hasil terbaik dalam meng-isolasi senyawa flavonoid.	Wijono, 2003
Daun Katuk	Etanol 90%	Maserasi	Maserasi dilakukan selama 5 hari dengan remaserasi sebanyak 2 kali pada 1000 g simplisia kering, diperoleh rendemen sebesar 3,793%	Susanti, dkk., 2017
Daun Katuk	Etanol 70%	Maserasi	Maserasi dilakukan selama 24 jam dengan remaserasi sebanyak 3 kali pada 1,43 Kg simplisia kering. Berat randemen ekstrak yang diperoleh sebesar 21,99%. Senyawa Flavonoid lebih banyak terdeteksi pada etanol 70%.	Rusdi, dkk., 2018
Batang Katuk, Daun Mangrove, Daun Kejibeling	Etanol 96%	Maserasi	Maserasi dilakukan selama 24 jam dengan remaserasi sebanyak 3 kali pada 500 g simplisia kering. Berat randemen ekstrak yang diperoleh berturut-urut 4,47%, 13,05%, 10,47%.	Simanjutak, dkk., 2019
Daun Katuk	Etanol 70%	Ultrasonik	Ekstraksi ultrasonik dilakukan selama 20 menit pada frekuensi Ekstraksi 40 kHz, diperoleh rendemen sebesar 31,67%	Siswanto, 2019
Daun Katuk	Air, Metanol, Etanol, Etil Asetat, Petroleum Eter	Ultrasonik	Ekstraksi ultrasonik dilakukan selama 20 menit pada frekuensi 42 kHz, diperoleh rendemen berturut-urut sebesar 34,49%, 15,74%, 16,54%, 4,64%, 3,10%	Masrihanah, 2020
Daun Katuk	n-heksana, Aseton, Etanol	Maserasi	Maserasi dilakukan selama 24 jam dengan remaserasi sebanyak 2 kali, diperoleh rendemen ekstrak etanol sebesar 24,9% dengan kandungan flavonoid, fenol, tanin. Ekstrak n-heksana tidak mengandung senyawa apapun, sedangkan aseton mengandung flavonoid, fenol, tanin.	Rivai, dkk., 2020

Pemilihan pelarut dapat mempengaruhi proses ekstraksi suatu senyawa. Ekstraksi senyawa aktif dari suatu tanaman dengan berbagai jenis pelarut pada tingkat kepolaran yang berbeda bertujuan untuk memperoleh hasil yang optimum pada jumlah ekstrak dan jenis senyawa metabolit sekunder yang ada di dalam ekstrak (Harbone, 1987). Semakin tinggi nilai konstanta dielektrik dari suatu pelarut, maka semakin polar pula pelarut tersebut (Sudarmadji, dkk., 2003). Tingkat kepolaran dari suatu pelarut ditunjukkan pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2 Konstanta dielektrikum dan tingkat kelarutan beberapa pelarut (Masrihanah, 2020)

Jenis Pelarut	Konstanta Dielektrikum	Tingkat Kelarutan dalam Air	Titik Didih (°C)
Heksana	1,90	TL	68,07
Petroleum eter	2,28	TL	60,00
Benzene	2,38	TL	80,10
Toluene	4,81	TL	111
Kloroform	4,81	S	61,30
Etil asetat	6,02	S	77,10
Metil asetat	6,68	S	57,00
Metil klorida	9,08	S	39,75
Butanol	15,80	S	117,20
Propanol	20,10	L	97,22
Aseton	20,70	L	56,20
Etanol	24,30	L	78,50
Metanol	33,60	L	64,00
Air	78,40	L	100

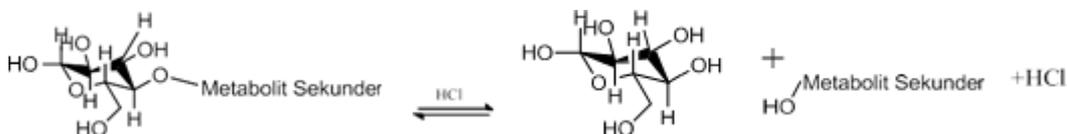
Keterangan : TL = tidak larut; S = sedikit; L = larut

Berdasarkan uraian diatas, maka pada penelitian ini akan dilakukan ekstraksi daun katuk (*Sauropus androgynous* L. Merr) menggunakan ekstraksi ultrasonik dengan pelarut etanol 70% dengan rasio bahan : pelarut adalah 1 : 10 lama ekstraksi 20 menit dengan frekuensi 40 kHz pada suhu 25°C.

2.4 Hidrolisis dan Partisi

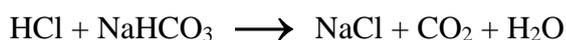
Senyawa organik yang terdapat di alam biasanya berada dalam bentuk glikosidanya, yaitu merupakan senyawa yang terdiri dari gabungan bagian gula (glikon) yang bersifat polar dan bagian bukan gula (aglikon) yang dapat bersifat polar, semipolar, ataupun nonpolar (Kristanti, dkk., 2008). Senyawa metabolit sekunder termasuk dalam senyawa aglikon (Majidah, 2019), saat masih berikatan dengan gugus gula melalui ikatan glikosida maka senyawa metabolit sekunder akan bersifat lebih polar (Saifudin, 2014), Sehingga untuk memperoleh senyawa flavonoid yang bebas dari gugus gula perlu dilakukan pemutusan ikatan glikosidanya dengan proses hidrolisis (Ningsih, dkk., 2015). Hidrolisis merupakan proses pemutusan ikatan glikosida pada senyawa metabolit sekunder melalui reaksi menggunakan air dan dengan bantuan katalis asam (Mawaddah, 2019). Katalisator digunakan karena hidrolisis menggunakan air berlangsung sangat lambat (Nihlati, dkk., 2008). Penambahan asam kuat pada sistem reaksi hidrolisis berpengaruh terhadap kekuatan pelepasan proton (H^+) dari asam tersebut, sehingga proton akan membantu pemutusan ikatan glikosida. Asam yang biasa digunakan dalam proses hidrolisis di industri adalah H_2SO_4 dan HCl . Namun, HCl lebih menguntungkan daripada H_2SO_4 karena sifatnya yang lebih reaktif dan mudah dipisahkan dari produknya karena sifatnya yang mudah menguap (Wahyudi, dkk. 2011). Selain itu, katalisator asam klorida (HCl) akan membentuk garam yang tidak berbahaya yakni $NaCl$ (Nihlati, dkk., 2008). Penelitian ini menggunakan HCl 2 N karena menurut Pramitania (2019) hidrolisis asam menggunakan HCl 2 N akan menghasilkan laju konsentrasi yang lebih baik dari

pada penggunaan HCl 1 M. Dugaan reaksi hidrolisis dapat dilihat pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6 Dugaan reaksi pemutusan ikatan *O*-glikosida (Mardaneni, 2017)

Setelah proses pemecahan ikatan glikon dan aglikon selesai perlu dilakukan penetralan. Penetralan dilakukan karena reaksi hidrolisis bersifat reversible, sehingga perlu dihentikan agar tidak terbentuk kembali ikatan antara glikon dan aglikonnya (Pramitania, 2019), selain itu glikosida bersifat lebih stabil pada kondisi netral (Anggraini, 2018). Karena hidrolisis yang dilakukan menggunakan katalis asam, sehingga dibutuhkan larutan basa. Basa yang digunakan adalah Natrium bikarbonat jenuh (NaHCO_3) jenuh (Ningsih, dkk., 2015). Reaksi penetralan pembentukan garam ditunjukkan pada Gambar 2.7.



Gambar 2.7 Reaksi antara HCl dan NaHCO_3 (Ningsih, dkk., 2015)

Kemudian dilakukan partisi untuk proses lebih lanjut dengan tujuan memperoleh ekstrak yang optimum sesuai dengan pelarut yang digunakan. Partisi atau ekstraksi cair-cair termasuk dalam salah satu jenis ekstraksi dengan prinsip pemisahan berdasarkan perbedaan distribusi suatu zat terhadap dua fase pelarut yang tidak saling bercampur karena memiliki tingkat kepolaran dan massa jenis yang berbeda (Majidah, 2019), pada penelitian kali ini menggunakan pelarut etil

asetat. Berdasarkan penelitian Pramitania (2019) komponen gula (glikon) akan larut pada fase air sedangkan komponen metabolit sekunder (aglikon) yang mengandung flavonoid akan larut pada fase organik. Adanya perbedaan kepolaran dan massa jenis antara keduanya, sehingga fasa air dan fasa organik dapat dipisahkan.

Djamil, dan Zaidan (2016) menyebutkan bahwa isolasi ekstrak etanol daun katuk yang di partisi menggunakan pelarut n-butanol akan menghasilkan adanya senyawa flavonoid yang diduga termasuk jenis senyawa flavonol dan flavon. Wijono (2003) juga melakukan isolasi senyawa flavonoid dengan ekstrak etanol yang di fraksinasi dengan pelarut n-butanol, hasil yang diperoleh terdapat enam senyawa flavonoid yakni rutin, flavonol OH-3 tersubstitusi, dan flavon. Sedangkan Rusdi, dkk. (2018) yang melakukan penelitian menggunakan ekstrak etanol 70% yang di fraksinasi dengan pelarut n-heksana, etil asetat, dan air menemukan bahwa terdapat kandungan senyawa flavonoid didalam ekstrak etanol 70% dan didalam fraksi etil asetat. Flavonoid yang terdeteksi diduga jenis flavon atau flavonol (aglikon flavonoid polar) ataupun isoflavon, dihidroflavon, dan flavanon (aglikon flavonoid nonpolar).

2.5 Kromatografi Lapis Tipis

Pemisahan senyawa dapat dilakukan dengan teknik kromatografi lapis tipis (KLT) (Hayati, dkk., 2013). Prinsip pemisahannya didasarkan pada perbedaan distribusi molekul-molekul komponen diantara dua fase yaitu fase gerak dan fase diam yang berbeda tingkat kepolarannya (Masrihanah, 2020). Proses pengaliran pelarut yang naik sepanjang permukaan pelat KLT disebabkan oleh gaya kapilaritas atau biasa disebut sebagai elusi (Atun, 2014). Sebelum

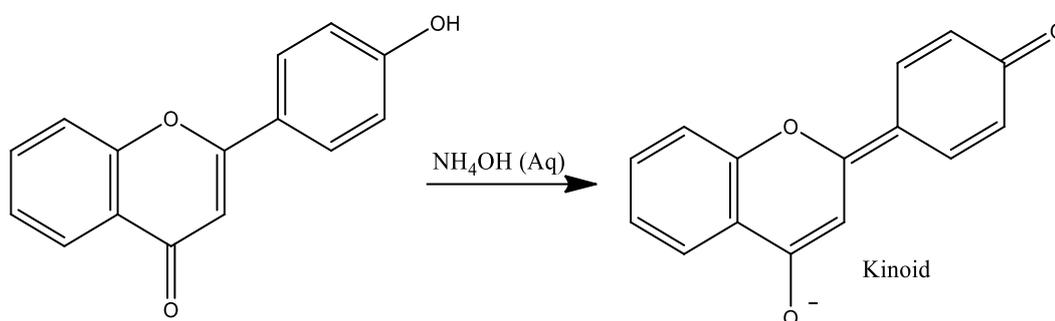
melakukan proses isolasi, pelarut yang akan digunakan sebagai fasa gerak harus dijenuhkan terlebih dahulu di dalam chamber sampai terbentuk uap (Azah, 2019). Hal ini dilakukan untuk mencapai kesetimbangan uap eluen di dalam chamber, karena di dalam chamber dimungkinkan terdapat uap air atau gas lain yang nantinya akan dapat menghalangi laju eluen.

Fase diam yang biasa digunakan dalam pemisahan adalah silika gel (berupa plat silika gel F₂₅₄) dan alumunium oksida. Perbedaannya terletak pada sifat asam-basanya, fase diam silika gel bersifat asam, sedangkan fase diam alumika bersifat basa (Masrihanah, 2020). Umumnya plat silika gel F₂₅₄ mengandung indikator flourosensi, sehingga ketika disinari lampu UV₂₅₄ atau lampu UV₃₆₆ plat yang telah dielusi akan memancarkan sinar pada bercak yang tak berwarna (Gritter, 1991). Sedangkan untuk senyawa yang tidak berfluoresensi, maka dapat ditambahkan indikator fluoresensi pada fase diam yang digunakan. Bercak yang dihasilkan akan berwarna gelap dengan penggunaan pereaksi semprot yang terkadang memerlukan pemanasan untuk memunculkan bercak (Masrihanah, 2020). Plat silika gel perlu diaktivasi terlebih dahulu sebelum digunakan, karena adanya molekul air yang berada di atmosfer dapat diserap oleh gugus silanol (Si-OH) yang terdapat di permukaan plat silika. Gugus OH mampu membentuk ikatan hidrogen dengan gugus yang sama dari molekul lain. Molekul air akan mendeaktifkan permukaan silika gel karena air akan menutup sisi aktif silika gel, sehingga proses elusi dapat terganggu.

Kromatografi lapis tipis analitik (KLTA) dapat digunakan untuk menentukan fasa gerak (eluen) terbaik dari beberapa eluen yang baik dalam memisahkan senyawa metabolit sekunder (Mardaneni, 2017). Pemilihan eluen

didasarkan pada sifat kepolaran yang paling mendekati dengan flavonoid yaitu semi polar dan polar. Dalam penelitiannya, Mardaneni (2017) dan Masrihanah (2020) menemukan bahwa KLTA juga dapat membantu untuk mengetahui jumlah noda yang terpisah ketika suatu sampel dipisahkan, pemisahan senyawa dikatakan baik apabila ditandai dengan banyaknya noda yang dihasilkan, noda berbentuk bulat, tak berekor, dan jarak antara noda yang satu dengan yang lainnya terlihat jelas. Djamil, dan Zaidan (2016) dan Wijono (2003) telah melakukan penelitian tentang isolasi dan identifikasi senyawa flavonoid dengan metode KLT menggunakan fasa gerak n-butanol : asam asetat : air (BAA) dengan rasio 4:1:5, hasil yang diperoleh menunjukkan terdapat tiga senyawa yang diduga termasuk kedalam golongan flavonoid yakni rutin, flavonol, dan flavon. Masrihanah (2020) juga melakukan identifikasi senyawa flavonoid pada ekstrak daun katuk menggunakan metode KLTA, hasil penelitian menunjukkan pola pemisahan terbaik terjadi pada eluen n-butanol : asam asetat : air (4:1:5). Ramadhianti (2020) melakukan isolasi flavonoid pada daun binahong, hasil penelitian menunjukkan bahwa pelarut terbaik dalam memisahkan senyawa flavonoid adalah metanol : aquades dengan rasio 6 : 4. Sedangkan Rusdi, dkk. (2018) melakukan penelitian tentang aktivitas afrodisiaka fraksi etanol 70% daun katuk pada tikus putih jantan, dan identifikasi senyawa flavonoid dilakukan menggunakan metode KLT dengan eluen n-heksana : etil asetat dengan rasio 5:5. Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak etanol 70% dan fraksi etil asetat diduga merupakan jenis flavon atau flavonol (aglikon flavonoid polar) ataupun isoflavon, dihidroflavon, dan flavonon (aglikon flavonoid nonpolar) yang ditandai dengan timbulnya bercak berwarna ungu baik sebelum ataupun sesudah

diuapi amoniak dan disinari sinar UV₃₆₆ nm. Menurut Ramadhianti (2020) noda yang telah diuapi amoniak terdeteksi mengandung flavonoid ditandai dengan munculnya warna kuning untuk flavon dan flavonol, biru untuk katekin, antosianin dan antosiadin, sedangkan merah untuk kalkon dan auron. Amoniak merupakan suatu basa dan flavonoid merupakan senyawa golongan fenol yang bersifat asam, reaksi yang terjadi antara keduanya menyebabkan pembentukan garam dan membentuk struktur kinoid pada cincin B yang membuat ikatan rangkap menjadi lebih panjang sehingga menyebabkan intensitas warna pada plat menjadi meningkat (Arnida, dkk., 2021) atau menyebabkan perubahan warna yang khas untuk masing-masing golongan (Markham, 1988). Dugaan reaksi yang terjadi antara senyawa flavonoid dan amoniak dapat dilihat pada Gambar 2.8.



Gambar 2.8 Reaksi antara flavonoid dan Amoniak
(Kumalasari, dan Musiam., 2019)

Pemisahan flavonoid dari KLTA berupa hasil eluen terbaiknya akan dilanjutkan pada kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP) untuk memisahkan campuran senyawa dari sampel berdasarkan fraksinya, selanjutnya fraksi tersebut dikumpulkan menjadi satu dan digunakan untuk analisis berikutnya (Azah, 2019). Penggunaan KLTP dilakukan dengan cara sampel ditotolkan dalam lempeng dengan lapisan yang besar kemudian dideteksi. Penotolan harus sekecil mungkin

agar didapat pemisahan yang optimal. Waktu pengembangan perlu diperhatikan agar senyawa yang berkontak dengan fasa diam tidak terlalu lama berinteraksi yang nantinya akan menyebabkan senyawa tersebut dapat mengurai kembali. Bercak yang mengandung analit yang diinginkan selanjutnya dikerok dan dilakukan analisis lebih lanjut (Mardaneni, 2017).

Identifikasi dari senyawa-senyawa yang terpisah pada kromatografi lapis tipis dapat diketahui melalui harga Rf (*Retardation Factor*). Rf menunjukkan jarak tempuh suatu senyawa terhadap pelarutnya. Kepolaran suatu molekul ditentukan oleh struktur suatu senyawa, perbedaan struktur tersebut akan menghasilkan nilai Rf yang berbeda-beda. Semakin polar suatu senyawa maka perpindahan Rf akan semakin tertahan (nilai Rf kecil) karena lebih tertahan atau lebih terdistribusi pada fase diam (polar), sedangkan ketika senyawa tersebut bersifat non polar maka ia akan memiliki nilai Rf besar karena lebih terbawa atau terdistribusi pada fasa gerak yang bersifat non polar dibandingkan pada fase geraknya. Harga Rf suatu senyawa dapat ditentukan melalui Persamaan 2.1.

$$Rf = \frac{\text{Jarak tempuh senyawa}}{\text{jarak tempuh eluen}} \dots\dots\dots(2.1)$$

Harga Rf untuk senyawa-senyawa murni dapat dibandingkan dengan harga Rf standar. Faktor yang mempengaruhi gerakan noda dan harga Rf diantaranya adalah struktur kimia, sifat fase diam, jenis eluen, serta jumlah analit yang digunakan tidak terlalu berlebihan (Mardaneni, 2017). Pemisahan yang baik memiliki harga Rf antara 0,15-0,20 cm antara noda satu dengan noda lainnya (Rohman, 2007).

2.6 Uji Toksisitas

Uji toksisitas dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui adanya efek toksik dan atau menilai batas keamanan dalam kaitannya dengan penggunaan suatu senyawa (Azah, 2019). *Brine shrimp lethality test* (BSLT) merupakan salah satu metode uji toksisitas yang banyak digunakan dalam penelitian senyawa bioaktif bahan alam yang bersifat toksik. Menurut Pramitania (2019) dalam penelitiannya, metode BSLT lebih sering dipilih untuk pengujian sifat sitotoksik suatu ekstrak karena larva udang *Artemia salina Leach* yang dipakai sebagai hewan uji sangat rentang oleh beberapa senyawa toksik. Selain itu larva udang mudah untuk dikembangbiakan dengan mudah tanpa penanganan khusus, cepat dan hanya membutuhkan sedikit sampel. Majidah (2019) melakukan penelitian tentang uji toksisitas isolat steroid hasil kromatografi kolom mikroalga *Chlorella* sp. Hasil penelitian menunjukkan *Artemia salina Leach* mampu menentukan toksisitas dengan konsentrasi yang menyebabkan 50% hewan uji mati terhadap senyawa yang telah dilaporkan sebagai racun dan ekstrak tanaman.

Artemia merupakan salah satu jenis larva udang yang hanya dapat hidup dalam air dengan tingkat salinitas tinggi yaitu berkisar antara 60-300 ppt. Ukuran tubuhnya hanya mencapai 1-2 cm dengan daur hidup 25 hari yang ditentukan pada keadaan lingkungannya, seperti keadaan pH (antara 7,3 – 8,4), suhu, serta tingkat salinitas. *Artemia salina* hanya dapat bertahan dibawah suhu 35°C (Khasanah, 2018; Pramitania, 2019). *Artemia salina* ditunjukkan pada Gambar 2.9 Klasifikasi larva udang yang digunakan dalam uji toksisitas metode BSLT adalah sebagai berikut (Mawaddah, 2019) :

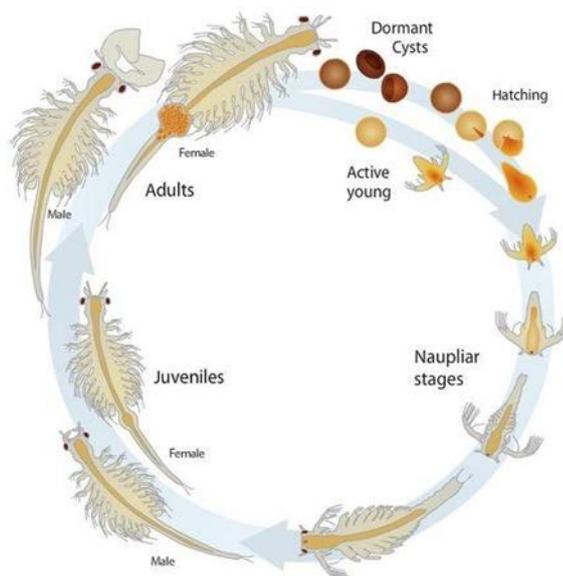
Kingdom : Animalia
Divisi : Arthropoda

Subdevisi : Crustacea
Kelas : Branchiopoda
Ordo : Anostraca
Famili : Artemiidae
Genus : *Artemia* L.
Species : *Artemia salina* Leach



Gambar 2.9 *Artemia salina* Leach (Aye, dkk., 2018)

Artemia salina Leach bersifat fototaksis positif yang artinya menyukai cahaya, di alam hal tersebut dibuktikan dengan adanya gerakan tubuh menuju ke permukaan karena sinar matahari sebagai sumber cahaya secara alami. Larva udang akan selalu di permukaan saat siang hari dan tenggelam pada saat malam hari (Majidah, 2019). Intensitas cahaya yang terlalu tinggi juga dapat mengakibatkan respon fototaksis negatif yang menyebabkan ia menjauhi cahaya (Pramitania, 2019). *Artemia* diperdagangkan dalam bentuk telur istirahat yang disebut kista. Telur *Artemia* dapat bertahan dalam kondisi kering dan dapat disimpan cukup lama. Kista berbentuk bulat kecil berwarna abu kecoklatan dengan diameter ± 300 mikron, dengan berat kering $\pm 3,6$ μg . Makanan *Artemia* terdiri atas ganggang renik, bakteri, dan cendawan (Khasanah, 2018). *Artemia* memiliki beberapa tahap proses penetasan. Siklus hidup *Artemia salina* dapat dilihat pada Gambar 2.10.



Gambar 2.10 Siklus hidup *Artemia salina* (Azah, 2019)

Tahap pertumbuhan *Artemia salina* yang pertama adalah tahap hidrasi. Tahap hidrasi terjadi penyerapan air sehingga kista yang diawetkan dalam bentuk kering (bulat melengkuk) akan menjadi bulat penuh setelah 24 - 48 jam, kemudian disusul pemecahan cangkang (belum sempurna) dan munculnya embrio berselaput. Tahap selanjutnya disebut pecah cangkang. Pada tahap ini embrio berselaput telah pecah dengan warna kuning kecoklatan dan dapat berenang. Tahap terakhir adalah tahap pecah payung, dimana larva telah berumur 7 – 15 hari dan tumbuh mata majemuk bertangkai serta telah memiliki alat cerna (Khasanah, 2018; Pramitania, 2019).

Senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid di dalam tubuh larva udang *Artemia salina* akan bersifat toksik dengan cara, gugus OH pada senyawa flavonoid dapat mengikat integral protein pada membran sel larva sehingga

menghambat kinerja enzim seperti RNA *polymerase* dan Na^+/K^+ *ATPase* sehingga merusak proses biologis di dalam tubuh larva udang. RNA *polymerase* merupakan enzim yang berguna dalam pemisahan untai DNA dan menggabungkan nukleotida-nukleotida RNA. Apabila enzim RNA *polymerase* dihambat maka RNA *polymerase* tidak dapat memperpanjang nukleotida-nukleotida RNA dan sintesis protein di DNA tidak dapat terbentuk. Sedangkan Na^+/K^+ *ATPase* berperan dalam transport ion. Apabila enzim tersebut dihambat maka ion Na^+ tidak dapat keluar dari sel sehingga akan menyebabkan protein membrane integral menggebu dan pecah. Hal inilah yang dapat menyebabkan larva udang akan mati (Sanjayasari, dan Pliliang., 2011; Budaraga, 2016; Anggraini, 2018). Sedangkan Majidah (2019) menyebutkan bahwa senyawa yang bersifat racun akan menghambat daya makan *Artemia salina* Leach dengan berperan sebagai racun perut yang menyerang sistem pencernaan dengan mengganggu reseptor perasa pada mulut *Artemia salina* sehingga larva tidak mampu mengenali makanannya dan menyebabkan larva mati kelaparan.

Tingkat toksisitas dari suatu ekstrak tanaman dapat ditentukan melalui harga LC_{50} . LC_{50} merupakan konsentrasi suatu zat yang dinyatakan dalam milligram zat per meter kubik media uji (*part per million* atau ppm) yang mampu menyebabkan kematian 50% pada hewan uji dalam waktu tertentu (Majidah, 2019). Menurut Anderson, dkk. (2001) suatu ekstrak dikatakan toksik ketika ekstrak dapat menyebabkan kematian 50% hewan uji pada konsentrasi kurang dari 1000 ppm. Mojo, dkk. (2016) telah melakukan penelitian uji toksisitas fraksi etil asetat, fraksi n-heksana, dan fraksi etanol daun soyogik terhadap larva udang *Artemia salina*. Hasil penelitian menunjukkan fraksi heksana, etil asetat, dan

etanol dari daun soyogik mempunyai potensi toksisitas terhadap *Artemia salina*, nilai LC_{50} berturut-urut 181,97 ppm, 12,59 ppm, dan 2,82 ppm. Sedangkan Swantara, dkk. (2016) melakukan penelitian tentang uji toksisitas senyawa flavonoid dari ekstrak etanol daun dewandaru sebagai potensi antikanker. Hasil dari penelitian menunjukkan bahwa senyawa flavonoid yang diduga berjenis dihidroflavonol memiliki efek toksik terhadap larva udang *Artemia salina* pada LC_{50} sebesar 63,10 ppm. Sementara itu Ramadhianti (2020) juga melakukan uji toksisitas terhadap 3 macam sampel, yakni ekstrak etanol 70% daun binahong, fraksi etil asetat daun binahong, serta isolate flavonoid dari daun binahong. Hasil penelitian yang didapat dari nilai probit yang dihasilkan dari ekstrak etanol 70%, fraksi etil asetat, dan isolate flavonoid berturut-urut LC_{50} 56,721 ppm, 28,954 ppm, dan 24,371 ppm. Tingkat toksisitas dapat dikategorikan, dan memberikan makna terhadap potensi aktivitasnya sebagai pengobatan tertentu seperti pada Tabel 2.3 berikut.

Tabel 2.3 Potensi bioaktif nilai LC_{50} (Majidah, 2019; Mawaddah, 2019; Azah, 2019)

LC_{50} (ppm)	Sifat	Potensi
<30	Sangat toksik	Antitumor, Antikanker (Sitotoksik)
30-200	Toksik	Antibakteri
$200 > x < 1000$	Toksik	Pestisida
>1000	Tidak toksik	-

2.7 Identifikasi Senyawa Flavanoid menggunakan Spektrofotometer FT-IR

Spektroskopi Infra Merah (IR) merupakan instrument yang digunakan untuk identifikasi suatu senyawa berdasarkan serapan yang ditimbulkan oleh vibrasi molekul (Panji, 2012) dengan bantuan radiasi sinar inframerah

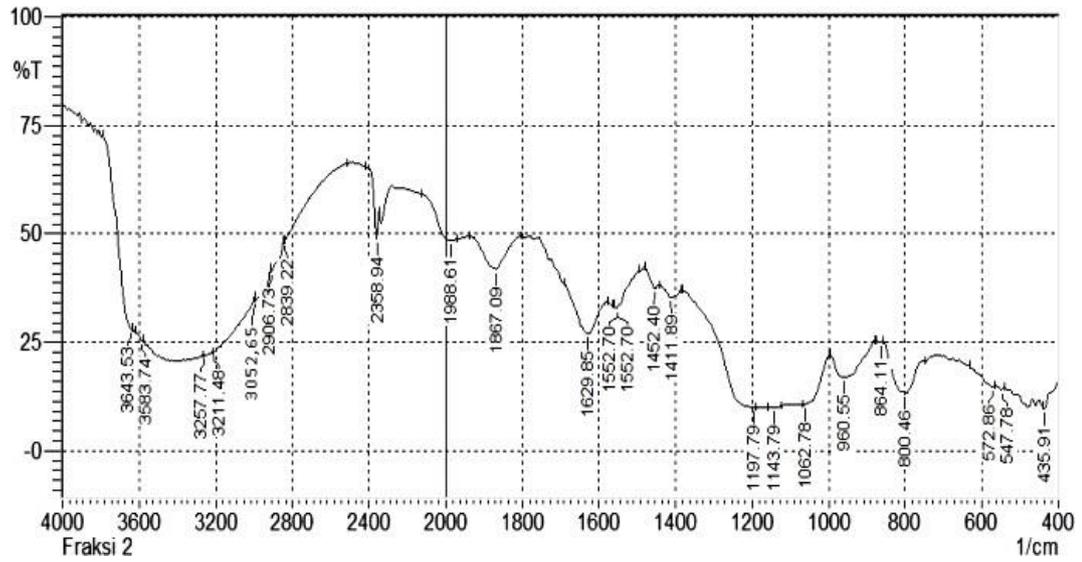
(Masrihanah, 2020). Vibrasi molekul akan memberikan *peak* pada bilangan gelombang dan intensitas tertentu pada setiap gugus molekulnya (Pramitania, 2019). Identifikasi menggunakan FT-IR hanya akan memberikan informasi mengenai gugus fungsi berdasarkan panjang gelombang, bentuk pita, dan intensitas (Anggraini, 2018).

Prinsip kerja spektroskopi inframerah adalah sinar inframerah dilewatkan melalui suatu cuplikan senyawa organik sehingga terjadi interaksi antara sampel dengan energi dari sinar inframerah. Sejumlah frekuensi akan diserap sedangkan frekuensi yang lain akan diteruskan atau ditransmisikan tanpa diserap. Frekuensi yang terserap akan muncul sebagai penurunan signal yang terdeteksi. Informasi tersebut ditampilkan sebagai spectrum radiasi antara % transmitan dan bilangan gelombang (Masrihanah, 2020). Fungsi utama dari spektroskopi inframerah adalah mengidentifikasi gugus fungsi suatu senyawa organik berdasarkan spectrum khas pada daerah inframerah. Vibrasi gugus fungsi suatu senyawa dapat terjadi pada bilangan gelombang 2,5-15 μm ($4000\text{-}650\text{ cm}^{-1}$) yang merupakan bilangan gelombang spektrofotometer inframerah. Ikatan yang berbeda menghasilkan vibrasi yang berbeda sehingga senyawa tertentu akan memiliki karakteristik frekuensi vibrasi sebagai pita serapan berbeda dengan senyawa lainnya.

Ekawati, dkk. (2017) telah melakukan identifikasi flavonoid pada daun sembukan (*Paederia foetidayang* L) yang ditunjukkan pada Gambar 2.11. Spektrum khas flavonoid menghasilkan serapan gugus fungsi C-H sp^2 pada bilangan gelombang $>3000\text{ cm}^{-1}$, serapan C=C aromatic pada panjang gelombang

1600 dan 1475 cm^{-1} , C-O pada bilangan gelombang 1260-1000 cm^{-1} , C-O karbonil pada panjang gelombang 1850-1650 cm^{-1} .

Hasil penelitian identifikasi isolate flavonoid daun sembukan yang dilakukan oleh (Ekawati, dkk., 2017) menunjukkan adanya vibrasi ulur gugus –OH terikat, bentuk pita melebar terdapat pada daerah gelombang 3257,77 cm^{-1} dan ditunjang dengan adanya vibrasi tekuk C-O alkohol pada gelombang 1062,78 cm^{-1} . Kedua serapan tersebut mengindikasikan adanya gugus OH alkohol yang terikat pada atom karbon. Serapan lemah pada gelombang 3052,65 cm^{-1} menunjukkan gugus C-H aromatik, dugaan tersebut diperkuat oleh serapan dari C=C aromatik pada gelombang 1629,85 cm^{-1} dan serapan lemah dari tekuk C-H aromatik pada daerah bilangan gelombang 800,46 cm^{-1} . Bilangan gelombang 2906,73 cm^{-1} dan 2839,22 cm^{-1} diduga serapan C-H alifatik serta serapan lemah dari vibrasi tekuk C-H alifatik pada gelombang 572,86 cm^{-1} . Pita serapan kuat, bentuk pita tajam pada daerah gelombang 1867,09 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus karbonil (C=O), sedangkan serapan pada daerah gelombang 1197,79 cm^{-1} , bentuk pita melebar menunjukkan adanya gugus C-O eter sehingga isolat diduga terdapat gugus-gugus fungsi seperti OH, C-H alifatik, C-H aromatik, C=C aromatik, C-O alkohol, C=O dan C-O eter yang mana gugus fungsi ini merupakan gugus fungsi yang dimiliki senyawa flavonoid.



Gambar 2.11 Spektra IR senyawa flavonoid dari daun sembukan (*Paederia foetidissima* L) (Ekawati, dkk., 2017)

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 02 Juni 2021 - 02 Agustus 2021 di Laboratorium Organik jurusan Kimia Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam percobaan ini adalah seperangkat alat gelas diantaranya beaker glass, erlenmeyer, gelas ukur, labu ukur, corong pisah, pengaduk, gelas arloji, botol vial, *great chamber*. Alat yang lain diantaranya neraca analitik, spatula, plat silika F₂₅₄, shaker, *rotary vacuum evaporator*, aluminium foil, Corong Buchner, oven, hot plate, stirrer, statif, blender, bola hisap, pipa kapiler, lampu UV, sentrifugasi, Ultrasonik, dan spektroskopi FT-IR.

3.2.2 Bahan

Bahan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun katuk *Sauropus androgynous*, etanol 70%, aquades, HCl 2N, natrium bikarbonat (NaHCO₃) jenuh, etil asetat, serbuk magnesium, HCl pekat, *n*-butanol, asam asetat glasial, *n*-Heksana, metanol, amoniak, larva udang *Artemia salina*, DMSO, air laut.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui pengujian di laboratorium. Tumbuhan *Sauropus androgynous* yang telah diambil, dibersihkan, kemudian dikeringkan. Sampel dihaluskan dan diukur kadar airnya kemudian diekstraksi menggunakan

metode ultrasonik dengan pelarut etanol 70%. Hasil ekstraksi yang diperoleh kemudian disaring dan dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator*. Ekstrak pekat etanol yang diperoleh dihidrolisis menggunakan HCl 2 N dan dinetralkan dengan NaHCO₃ jenuh. Kemudian dipartisi dengan pelarut etil asetat. Hasil partisi dipekatkan dengan cara dialiri gas N₂. Selanjutnya, dilakukan uji fitokimia flavonoid pada fraksi hasil partisi untuk mengetahui apakah fraksi tersebut mengandung flavonoid atau tidak. Fraksi pekat etil asetat hasil partisi kemudian dipisahkan senyawanya menggunakan KLTP dengan pemilihan eluen terbaik menggunakan KLTA, noda yang terbentuk dianalisis senyawa flavonoidnya dengan cara disemprot amoniak, kemudian diamati dengan lampu UV, selanjutnya dikerok dan diuji toksisitasnya menggunakan metode BSLT, dengan konsentrasi sebagai berikut (Azah, 2019),

M1 : 0 ppm

M2 : 1 ppm

M3 : 2 ppm

M4 : 3 ppm

M5 : 4 ppm

M6 : 5 ppm

Kemudian dilakukan ulangan sebanyak 5 kali. Hasil uji toksisitas tersebut diamati jumlah larva udang yang mati dari total larva uji, kemudian dihitung nilai LC₅₀ dengan memasukkan nilai probit, nilai terendah menunjukkan aktivitas toksik isolat yang terbaik, dan diidentifikasi menggunakan FT-IR.

3.4 Tahapan Penelitian

Tahapan dalam penelitian ini yaitu :

1. Pengumpulan bahan
2. Pembuatan serbuk simplisia
3. Analisis kadar air
4. Ekstraksi ultrasonik *Sauropus androgynous* L. Merr
5. Hidrolisis dan partisi
6. Uji fitokimia (senyawa flavonoid)
7. Isolasi senyawa flavonoid dengan KLTA
8. Isolasi senyawa flavonoid dengan KLTP
9. Uji toksisitas isolat flavonoid dengan metode BSLT
10. Identifikasi senyawa flavonoid menggunakan spektrofotometer FT-IR

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Pengumpulan Bahan

Daun katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) diperoleh dari daerah Merjosari, Kecamatan Lowokwaru, Kota Malang, Jawa Timur. Daun yang diambil adalah daun yang masih segar dengan rentang usia 2-3 bulan.

3.5.2 Pembuatan Serbuk Simplisia

Serbuk simplisia dibuat dengan menggunakan 350 gram daun katuk yang telah dikumpulkan sebelumnya. Kemudian dilakukan sortasi basah untuk memisahkan kotoran – kotoran ataupun benda asing lain dari daun katuk. Setelah itu dilakukan pencucian menggunakan air mengalir, daun yang telah dicuci selanjutnya dipotong kecil-kecil dan diangin-anginkan atau dikeringkan dengan oven pada suhu 45°C sampai kering yang ditandai dengan daun mudah hancur bila diremas dengan tangan. Simplisia kering kemudian dibuat menjadi serbuk dengan cara diblender. Serbuk kemudian diayak dengan ayakan nomor 90. Serbuk

simplisia yang diperoleh kemudian disimpan dalam wadah kaca tertutup dengan silika gel didalamnya (Rusdi, dkk., 2018).

3.5.3 Analisis Kadar Air secara Thermogravimetri

Cawan porselen dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C selama 1 jam. Kemudian cawan porselen dibiarkan dingin dalam desikator selama 15 menit sebelum ditimbang. Cawan tersebut dioven dan ditimbang kembali hingga beratnya konstan. Selanjutnya 0,5 gram serbuk daun katuk dimasukkan ke dalam cawan dan dipanaskan pada suhu 105°C selama 1 jam. Cawan dimasukkan dalam desikator selama 15 menit kemudian ditimbang, diulang perlakuan tersebut hingga didapat berat konstan (Masrihanah, 2020). Nilai kadar air dalam serbuk daun katuk *Sauropus androgynous* L. Merr dapat dihitung dengan persamaan 3.1.

$$\text{Kadar air} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\% \dots\dots\dots(3.1)$$

Keterangan :

- (a) berat konstan cawan kosong
- (b) berat cawan + sampel sebelum dioven
- (c) berat konstan cawan + sampel setelah dioven

3.5.4 Ekstraksi Ultrasonik *Sauropus androgynous* L.Merr

Serbuk daun katuk sebanyak 20 gram dimasukkan dalam erlenmeyer, selanjutnya ditambahkan 200 mL pelarut etanol 70% dengan perbandingan bahan dan pelarut yang akan digunakan yaitu 1 : 10 (b/v) dan ditutup dengan alumunium foil (Masrihanah, 2020). Selanjutnya diekstraksi dengan metode Ultrasonik pada frekuensi 40 kHz selama 20 menit dalam suhu 25°C. Selanjutnya hasil ekstraksi yang didapat disaring menggunakan alat penyaring vakum. Filtrat hasil

penyaringan kemudian dipekatkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada tekanan 24 kPa (0,2369 atm) dengan suhu < 50°C (Siswanto, 2019). Ekstrak kental etanol yang diperoleh kemudian dihitung rendemennya dengan menggunakan persamaan 3.2.

$$\% \text{Randemen} = \frac{\text{Berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{Berat sampel yang diekstrak}} \times 100\% \dots \dots \dots (3.2)$$

3.5.5 Hidrolisis dan Partisi

Hidrolisis ekstrak pekat etanol dilakukan dengan cara menambahkan 10 mL asam klorida (HCl) 2 N ke dalam 5 gram ekstrak pekat. Hidrolisis dilakukan selama 1 jam menggunakan *magnetic stirrer hot plate* pada suhu ruang. Hidrolisat yang diperoleh ditambahkan dengan natrium bikarbonat (NaHCO₃) jenuh sampai pH nya netral (Imamah, 2015).

Partisi dilakukan dengan cara hidrolisat diekstraksi cair-cair dengan menggunakan pelarut etil asetat. Pertama, ditambahkan 25 ml pelarut etil asetat kedalam corong pisah yang telah berisi hidrolisat yang telah dinetralkan, kemudian dikocok selama 15 menit dan didiamkan beberapa saat hingga terbentuk 2 lapisan yaitu fasa organik dan fasa air. Kedua lapisan kemudian dipisahkan. Lapisan air dipartisi kembali dengan etil asetat. Perlakuan ini diulangi hingga tidak lagi terbentuk 2 lapisan, yaitu hingga 3 kali pengulangan (Imamah, 2015). Kemudian fraksi hasil partisi dialiri dengan gas N₂, ditimbang, dan dihitung rendemennya menggunakan persamaan 3.3.

$$\% \text{Randemen} = \frac{\text{Berat fraksi yang diperoleh}}{\text{Berat ekstrak yang dipartisi}} \times 100\% \dots \dots \dots (3.3)$$

3.5.6 Uji Fitokimia

Sebanyak 0,05 gram fraksi etil asetat dilarutkan dalam 1-2 mL metanol yang telah dipanaskan. Setelah itu ditambahkan 0,05 gram serbuk logam Mg serta 4-5 tetes HCl pekat. Jika timbul warna kuning, jingga, atau merah bata menunjukkan positif adanya flavonoid (Syahadat, dan Siregar., 2020).

3.5.7 Isolasi Flavonoid dengan KLTA

Pemisahan dengan KLTA dilakukan dengan menggunakan plat silika G60 F₂₅₄ dengan ukuran 1 cm x 10 cm yang sudah diaktifkan dengan pemanasan dalam oven pada suhu 60-80°C selama 30 menit. Ditotolkan 1 µL (1-10 total) 0,05 gram fraksi etil asetat yang sudah dilarutkan dalam 5 mL etil asetat pada jarak 1 cm dari tepi bawah plat dengan pipa kapiler di masing-masing plat. Kemudian plat dikeringkan dan dielusi dalam bejana (*great chamber*) yang telah dijenuhkan dengan fasa gerak tertentu (Masrihanah, 2020). Pada percobaan ini digunakan 3 macam variasi fasa gerak sebagai berikut,

1. *n*-butanol-asam asetat-air (BAA) (4:1:5) (Wijono, 2003; Ekawati, dkk., 2017; Djamil, dan Zaidan., 2016; Masrihanah, 2020)
2. Metanol : aquades (6:4) (Ramadhianti, 2020)
3. Etil asetat : *n*-heksana (5:5) (Rusdi, dkk., 2018)

Kemudian *great chamber* ditutup rapat hingga fase gerak mencapai ± 1 cm dari garis batas atas plat, maka elusi dihentikan, selanjutnya plat diangkat dan dikeringkan. Selanjutnya disemprot amoniak, jika terbentuk noda berwarna merah jingga, kuning, biru, ungu maka sampel mengandung senyawa flavonoid. Diamati pemisahan noda yang terbentuk pada plat dengan lampu UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Noda yang terbentuk diamati dan dilingkari

dengan pensil. Pengamatan noda hasil elusi meliputi jumlah, bentuk, nilai Rf, serta warna noda. Bercak noda yang dihasilkan pada masing-masing plat KLT dihitung nilai Rf-nya (Ramadhianti, 2020; Masrihanah, 2020).

3.5.8 Isolasi Flavonoid dengan KLTP

Pemisahan senyawa flavonoid dilakukan dengan KLTP menggunakan plat silika gel G60 F₂₅₄ dengan ukuran 10 x 20 cm. Fraksi etil asetat yang telah dilarutkan pada pelarutnya ditotolkan pada plat dengan jarak 1 cm dari garis bawah, jumlah sampel yang diaplikasikan sebanyak 1 mL. Sampel dikeringkan dan dielusi menggunakan eluen yang memberikan pemisahan terbaik pada proses KLTA. Jika fasa gerak mencapai ± 1 cm dari garis batas atas plat maka elusi dihentikan dan dihitung jarak tempuh fasa gerak. Plat dikeringkan dan noda-noda pada permukaan plat diperiksa di bawah sinar UV pada panjang 366 nm, kemudian diamati dan dihitung jarak tempuh noda yang diduga senyawa flavonoid. Masing-masing noda dikerok kemudian dilarutkan dalam etil asetat, selanjutnya divortex untuk menghomogenkan larutan, dan disentrifugasi untuk mengendapkan silikanya. Dipisahkan silika dari supernatannya dan diulangi proses sampai tiga kali hingga silika tidak berwarna, kemudian diuapkan pelarut pada supernatan.

Uji fitokimia dilakukan dengan menyemprotkan amoniak pada potongan plat hasil KLTP. Hasil uji positif jika spot menghasilkan warna kuning kehijauan, jingga, biru, ungu, ataupun merah muda, yang menunjukkan adanya senyawa golongan flavonoid (Suhaenah, dan Nuryanti., 2017).

3.5.9 Uji Toksisitas Menggunakan Metode BSLT

3.5.9.1 Penetasan Larva Udang

250 mL air laut dimasukkan dalam botol penetasan, kemudian dimasukkan 2,5 mg telur *Artemia salina* Leach. Selanjutnya diaerasi dan diberi pencahayaan sinar lampu pijar 40-60 watt agar suhu penetasan 25-30°C tetap terjaga. Telur akan menetas dalam waktu \pm 48 jam dan siap digunakan sebagai target uji toksisitas (Sanjayasari, dan Pliliang., 2011).

3.5.9.2 Uji Toksisitas

Uji toksisitas dilakukan pada isolat senyawa flavonoid hasil KLTP dengan variasi konsentrasi 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, 5 ppm, dan 0 ppm sebagai kontrol. Masing-masing konsentrasi dilakukan pengulangan sebanyak 5 kali. Kontrol negatif yang digunakan adalah kontrol dimetil sulfoksida (DMSO), kontrol pelarut, dan kontrol air laut. Larutan stok 200 ppm dibuat dengan cara ditimbang 2 mg isolat flavonoid kemudian dilarutkan dalam 10 mL pelarut etil asetat. Larutan yang diperoleh selanjutnya dipipet masing-masing sebanyak 0,05 mL, 0,1 mL, 0,15 mL, 0,2 mL, dan 0,25 mL kemudian dimasukkan kedalam botol vial dan pelarutnya diuapkan hingga kering. Selanjutnya dimasukkan 100 μ L DMSO, setetes larutan ragi 60%, dan 2 mL air laut, kemudian divortex hingga isolat dapat tercampur rata. Selanjutnya ditambahkan 10 ekor larva udang, dan ditambahkan air laut hingga volumenya menjadi 10 mL. konsentrasi masing-masing larutan menjadi 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, dan 5 ppm. Selanjutnya dilakukan pengamatan setelah 24 jam terhadap kematian larva udang (Azah, 2019).

Kontrol DMSO dibuat dengan cara ditambahkan 100 μL dimetil sulfoksida, setetes larutan ragi 60%, dan 2 mL air laut kedalam vial, kemudian divortex hingga larut. Selanjutnya dimasukkan 10 ekor larva udang *Artemia salina* dan ditambahkan air laut hingga volumenya menjadi 10 mL. Pengamatan dilakukan selama 24 jam terhadap kematian larva udang (Sanjayasari, dan Piliang., 2011). Kontrol pelarut dibuat dengan cara ditambahkan 100 μL etil asetat ke dalam vial kemudian diuapkan hingga kering. Selanjutnya ditambahkan setetes larutan ragi 60%, dan 2 mL air laut kedalam vial, kemudian divortex hingga larut. Selanjutnya dimasukkan 10 ekor larva udang *Artemia salina* dan ditambahkan air laut hingga volumenya menjadi 10 mL. Kontrol air laut hanya berisi air laut, larutan ragi 60%, dan 10 ekor larva udang *Artemia salina*. Analisis data dilakukan untuk mencari nilai LC_{50} dengan analisis probit untuk menunjukkan nilai LC_{50} dengan menggunakan nilai mortalitas dari nilai modus kematian larva.

3.5.10 Identifikasi Menggunakan Spektrofotometer FT-IR

Hasil isolasi senyawa flavonoid dengan KLTP yang memiliki sifat paling toksik atau nilai LC_{50} terendah akan diidentifikasi menggunakan FT-IR. Preparasi sampel mula-mula dengan mencampurkan hasil isolat flavonoid yang telah diuapkan dengan 0,2 g pellet KBr, kemudian digerus bersamaan menggunakan mortar agate. Campuran pellet KBr dan sampel yang telah halus di press dengan tekanan 80 Torr (8-20 tor per satuan waktu) selama 10 menit. Selanjutnya pellet yang telah di press dianalisis menggunakan FT-IR dengan bilangan gelombang $4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$ (Fangohoy, dkk., 2019).

BAB IV

PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun katuk (*Sauropus androgynous* L. Merr) yang diperoleh dari daerah Lowokwaru, Malang. Preparasi sampel terdiri dari beberapa tahap diantaranya, pencucian, pengeringan, dan penghalusan atau penyerbukan sampel. Pencucian bertujuan untuk membersihkan sampel dari kotoran atau benda asing yang menempel pada daun katuk. Selanjutnya dilakukan pengeringan yang bertujuan untuk mengurangi kandungan air di dalam sampel sehingga tidak mengganggu proses ekstraksi dan dapat meminimalisir tumbuhnya jamur sehingga sampel dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama (Azah, 2019). Proses pengeringan sampel dilakukan dengan cara diangin-anginkan tanpa pemanasan sinar matahari langsung, hal ini dilakukan agar senyawa aktif yang diinginkan tidak mengalami kerusakan akibat suhu yang tinggi. Daun katuk kering kemudian dihaluskan di *Materia Medica* Batu dengan ukuran 90 mesh. Proses penghalusan atau penyerbukan sampel dimaksudkan untuk menyeragamkan ukuran sampel dan memperluas permukaan kontak antara sampel dengan pelarut sehingga pelarut dapat lebih maksimal mengekstraksi senyawa metabolit sekunder (Pramitania, 2019). Hasil pengeringan dari 0,28 kilogram sampel basah menghasilkan 80 gram serbuk daun katuk berwarna hijau.

4.2 Analisis Kadar Air Secara Thermogravimetri

Analisis kadar air perlu dilakukan untuk mengetahui kandungan air yang terdapat dalam serbuk simplisia daun katuk. Kadar air yang kecil dapat mempermudah proses penarikan senyawa aktif dalam sampel karena pelarut

mudah menembus dinding sel sampel tanpa adanya gangguan dari molekul air. Selain itu, kadar air yang kecil juga akan mendukung tercapainya kestabilan optimum suatu bahan dan menghindari adanya pertumbuhan mikroba (Masrihanah, 2020). Hasil pengukuran kadar air simplisia daun katuk pada penelitian ini sebesar 5,92% (Lampiran 4.1 dan Tabel 4.1), nilai ini tidak jauh berbeda dengan nilai kadar air daun katuk yang didapatkan oleh (Masrihanah, 2020) yakni sebesar 7,7%. Hal ini menunjukkan bahwa sampel yang dianalisis mempunyai kadar air yang memenuhi standar Depkes RI (1994) dengan batas maksimum kadar air yang diisyaratkan sebesar 10% sehingga tidak mengganggu proses ekstraksi.

Tabel 4.1 Nilai kadar air sampel kering daun katuk

Cawan	Kadar Air
1	5,95%
2	5,91%
3	5,90%
Rata-rata	5,92%

4.3 Ekstraksi Ultrasonik *Sauropus androgynous* L. Merr

Proses penarikan senyawa metabolit sekunder pada penelitian ini menggunakan metode ekstraksi ultrasonik. Adanya gelombang ultrasonik yang merambat melalui medium yang dilewati akan menimbulkan getaran. Getaran yang ditimbulkan menyebabkan terbentuknya gelembung kavitasi yang menyebabkan dinding sel pada tanaman pecah, sehingga komponen di dalam sel keluar dan bercampur dengan pelarut (Ramadhianti, 2020).

Ekstraksi ultrasonik daun katuk dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 70%. Sampel yang telah diekstraksi, kemudian disaring dan filtratnya dipisahkan dengan *rotary evaporator* untuk menguapkan pelarut dan dihitung

nilai rendemennya. Nilai rendemen yang dihasilkan dari ekstrak etanol daun katuk sebesar 27,62% dengan berat 5,52 gram (Lampiran 4.2) berwarna coklat. Hasil penelitian dari Masrihanah (2020) yang menggunakan metode ultrasonik dengan pelarut etanol p.a diperoleh rendemen untuk ekstrak etanol *Sauropus androgynous* L. Merr sebesar 16,54% dari 20 gram sampel. Hasil penelitian dari Siswanto (2019) yang menggunakan metode ultrasonik diperoleh rendemen untuk ekstrak etanol 70% dari *Sauropus androgynous* L. Merr daerah Wonosobo Jawa Tengah sebesar 31,67% dari 1500 gram sampel. Sedangkan hasil penelitian dari Rusdi, dkk. (2018) yang menggunakan metode maserasi diperoleh rendemen untuk ekstrak etanol 70% dari *Sauropus androgynous* L. Merr sebesar 21,99% dari 1430 gram sampel.

Perbedaan hasil rendemen dengan Masrihanah (2020) terjadi dikarenakan perbedaan jenis pelarut yang digunakan. Pada etanol 70% terdapat kandungan air sebanyak 30% yang menyebabkan sifat kepolarannya meningkat sehingga senyawa metabolit sekunder yang bersifat polar akan lebih terekstrak dengan baik dan dapat meningkatkan rendemen ekstrak. Perbedaan hasil rendemen dengan Siswanto (2019) terjadi dikarenakan asal dari daun katuk yang berbeda. Hal ini tentu berpengaruh pada hasil ekstraknya, sebab jenis dan jumlah senyawa metabolit sekunder dari daun katuk dipengaruhi oleh lingkungan geografis, iklim, tanah, ataupun sifat morfologi dari induk tanamannya. Sedangkan perbedaan hasil rendemen dengan Rusdi, dkk. (2018) terjadi dikarenakan perbedaan metode ekstraksi yang digunakan. Hal ini membuktikan bahwa metode ekstraksi ultrasonik dapat meningkatkan rendemen ekstrak akibat adanya kavitasasi yang

menyebabkan meningkatnya efek penetrasi pelarut sehingga senyawa metabolit sekunder dapat terekstrak dengan maksimal.

4.4 Hidrolisis dan Partisi

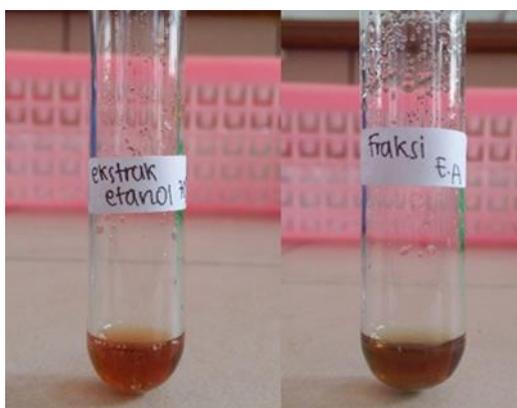
Ekstrak pekat etanol selanjutnya dihidrolisis untuk memutus ikatan glikon dan aglikon pada senyawa metabolit sekunder yang masih dalam bentuk glikosidanya. Hidrolisis dilakukan dengan penambahan HCl 2 N sebagai katalis, dengan pengadukan menggunakan *magnetic stirrer* selama 1 jam pada suhu ruang. Pengadukan dilakukan selama 1 jam pada suhu ruang agar ekstrak pekat dapat tercampur dan memutus ikatan gula dengan maksimal (Mardaneni, 2017). Adapun dugaan reaksi pemutusan ikatan glikosida ditunjukkan pada Gambar 2.6. Sifat dari reaksi hidrolisis adalah *reversible* atau bolak-balik sehingga perlu dilakukan penetralan menggunakan natrium bikarbonat (NaHCO_3) untuk menghentikan reaksi hidrolisis lanjut yang mungkin dapat merusak senyawa metabolit sekunder yang ditargetkan. Proses penambahan ini akan menghasilkan busa yang menunjukkan gas CO_2 sudah terbentuk dan terjadi reaksi antara HCl dan NaHCO_3 , selanjutnya proses ini dihentikan ketika telah tercapai pH 7 (netral). Adapun dugaan reaksi antara HCl dan NaHCO_3 ditunjukkan pada Gambar 2.7.

Hidrolisat yang diperoleh selanjutnya dipartisi menggunakan pelarut etil asetat yang bersifat semipolar untuk mengambil senyawa flavonoid yang bersifat semipolar-polar. Markham (1988) menyebutkan dalam bukunya bahwa etil asetat dapat mengikat flavonoid yang mempunyai kepolaran rendah, antara lain flavonol, isoflavon, dan flavonon. Flavonoid jenis tersebut akan menghasilkan warna coklat kemerahan ketika ditambahkan HCl pekat dan serbuk magnesium. Proses partisi menghasilkan dua fasa cairan yaitu fasa organik yang mengandung senyawa

flavonoid dan fasa air yang berisi garam hasil reaksi hidrolisis. Fasa organik diambil pada setiap hasil partisi yang dilakukan sebanyak 3 kali ulangan dan didapat fraksi etil asetat pekat sebesar 2,04% (Lampiran 4.3) berwarna coklat kehijauan. Penelitian Rusdi, dkk. (2018) melakukan fraksinasi pada ekstrak *Sauropus androgynous* L. Merr dengan pelarut n-heksana dan etil asetat diperoleh rendemen sebesar 1,74% dan 5,29 %. Rendemen etil asetat lebih besar dibandingkan n-heksana yang menunjukkan senyawa metabolit sekunder pada *Sauropus androgynous* L. Merr cenderung bersifat semipolar karena lebih banyak terdistribusi pada pelarut semipolar.

4.5 Uji Fitokimia Senyawa Flavonoid

Uji fitokimia dilakukan dengan mengambil ekstrak etanol 70% dan fraksi etil asetat ke dalam tabung reaksi, selanjutnya ditambahkan 0,2 gram logam Mg dan 5 tetes HCl pekat. Penambahan HCl pekat berfungsi untuk menghidrolisis *O*-glikosida flavonoid menjadi aglikonnya. Hasil pengujian menunjukkan ekstrak etanol 70% dan fraksi etil asetat daun katuk positif mengandung flavonoid yang ditandai dengan adanya warna merah kecoklatan pada sampel, yang dapat dilihat pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Hasil uji fitokimia ekstrak etanol 70% dan fraksi etil asetat

Reaksi dugaan yang terjadi antara flavonoid dengan HCl pekat dan logam Mg dapat dilihat pada Gambar 2.3. Polihidroksi dari senyawa flavonoid akan direduksi oleh logam magnesium dalam asam klorida pekat pada larutan sampel. Sehingga membentuk garam benzopirilium yang berwarna merah hingga kecoklatan dengan sebutan garam flavilium. Warna yang dihasilkan dari proses fitokimia akan menentukan golongan dari senyawa flavonoid yang terdeteksi. Warna merah atau jingga yang terbentuk menunjukkan adanya flavonoid golongan auron, flavon, dan kalkon. Sementara warna coklat kemerahan menunjukkan adanya flavonoid golongan flavonol (Ramadhianti, 2020).

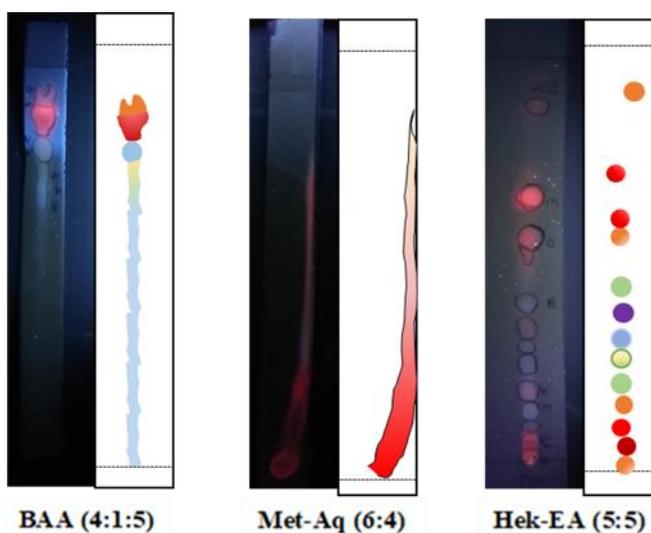
4.6 Isolasi Flavonoid dengan KLTA

Pemisahan senyawa flavonoid dengan KLTA dilakukan untuk mencari variasi eluen terbaik yang dapat memisahkan komponen senyawa dari fraksi etil asetat *Sauropus androgynous* L. Merr. Eluen terbaik merupakan eluen yang dapat memisahkan senyawa dengan menghasilkan noda yang tidak berekor dan jarak antar satu noda ke noda lainnya tidak tumpang tindih (Azah, 2019). Noda yang dihasilkan pada KLTA dapat diduga sebagai senyawa flavonoid ketika menunjukkan bercak noda berwarna hijau kuning, biru, merah jingga, dan lembayung baik sebelum maupun sesudah diuapi ammonia dibawah lampu UV 366 nm (Markham, 1988; Hepni, 2019) atau bercak ungu dibawah lampu UV 366 nm (Djamil, dan Zaidan., 2016; Rusdi, dkk., 2018; Nurjanah, 2019). Hasil identifikasi menunjukkan bahwa fraksi etil asetat mengandung senyawa flavonoid dengan munculnya bercak noda berwarna hijau-kuning, biru, merah jambu, jingga, dan ungu. Data pemisahan noda dugaan senyawa flavonoid fraksi etil asetat daun katuk dengan beberapa variasi eluen ditunjukkan pada Tabel 4.2.

Berdasarkan Tabel 4.2 menunjukkan dari ketiga variasi eluen yang digunakan, pola pemisahan terbaik terjadi pada eluen n-heksana-etil asetat (5:5) dengan 12 noda terpisah. Hasil pola pemisahan variasi eluen pada KLTA saat diamati di bawah lampu UV 366 nm dapat dilihat pada Gambar 4.2.

Tabel 4.2 Dugaan senyawa flavonoid fraksi etil asetat dengan beberapa variasi eluen.

No.	Fasa Gerak	Jarak (cm)		Rf	Warna Noda pada Lampu UV λ 366 nm	Dugaan Senyawa
		Noda	Eluen			
1.	N-butanol-asam asetat-air (4:1:5)	6,5	8	0,81	Biru	Flavonoid
		7,2	8	0,90	Merah jambu	Flavonoid
		7,7	8	0,96	Jingga	Flavonoid
2.	Metanol-aquades (6:4)	-	8	-	-	-
3.	N-heksana-etil asetat (5:5)	0,6	8	0,075	Merah tua	-
		0,8	8	0,1	Merah jambu	-
		1,1	8	0,137	Jingga	-
		1,6	8	0,2	Hijau putih	-
		2	8	0,25	Hijau kuning	Flavonoid
		2,9	8	0,362	Biru	Flavonoid
		3,6	8	0,45	Ungu	Flavonoid
		5	8	0,625	Hijau	-
		5,9	8	0,737	Jingga	Flavonoid
		6,3	8	0,787	Merah jambu	Flavonoid
		6,6	8	0,825	Merah jambu	Flavonoid
		7,7	8	0,962	Jingga	Flavonoid



Gambar 4.2 Hasil KLTA senyawa flavonoid dengan variasi eluen

Berdasarkan Tabel 4.2 dan Gambar 4.2 menunjukkan bahwa terdapat beberapa noda terduga flavonoid dengan pola pemisahan yang berbeda-beda pada masing-masing plat variasi eluen. Eluen n-heksana-etil asetat (5:5) menghasilkan jumlah noda terduga flavonoid terbanyak dengan pola pemisahan terbaik, karena adanya jarak yang jelas antar noda yang terbentuk, dengan tidak adanya ekor pada noda yang diduga flavonoid. Sementara eluen n-butanol-asam asetat-air (4:1:5) menghasilkan 3 noda yang diduga merupakan senyawa flavonoid, akan tetapi pola pemisahannya membentuk pola noda yang berekor serta melebar dengan warna noda yang tumpang tindih.

4.7 Isolasi Flavonoid dengan KLTP

KLTP dilakukan untuk mendapatkan isolat senyawa flavonoid. Elusi dilakukan dengan menggunakan eluen terbaik hasil KLTA, yakni n-heksana-etil asetat (5:5). Noda yang terbentuk diamati dan diidentifikasi di bawah lampu UV 366 nm. Berdasarkan Tabel 4.3 dapat diketahui bahwa saat diamati dibawah lampu UV terdapat 6 noda yang diduga merupakan senyawa flavonoid. Sehingga dilakukan identifikasi lebih lanjut menggunakan pendeteksi ammonia, dengan cara menyemprotkannya ke potongan plat hasil KLTP ukuran 10 x 20 cm. Hasil uji pada Tabel 4.3 menunjukkan bahwa tidak ada perubahan warna noda pada plat KLTP. Menurut Markham (1988) dalam bukunya dijelaskan bahwa noda yang berwarna lembahyung, biru, kuning, hijau-kuning, dan hijau-biru akan menunjukkan hasil positif flavonoid dengan perubahan warna sedikit atau tanpa perubahan setelah disemprot dengan ammonia. Sedangkan noda yang berwarna merah jingga dan merah jambu akan menunjukkan hasil positif flavonoid ketika mengalami perubahan warna menjadi biru setelah disemprot ammonia. Markham

(1988) juga menambahkan bahwa bercak noda yang berfluoresensi merah jambu, keputihan, jingga, dan kecoklatan harus dianggap bukan flavonoid sebelum diperiksa lebih lanjut dengan UV-Vis.

Tabel 4.3 Hasil KLTP fraksi etil asetat menggunakan eluen N-heksana-etil asetat (5:5) dan Dugaan senyawa flavonoid fraksi etil asetat pada hasil KLTP (Markham, 1988; Djamil, dan Zaidan., 2016; Rusdi, dkk., 2018; Hepni, 2019; Nurjanah, 2019).

Isolat	Jarak (cm)		Rf	Warna Noda tanpa pendeteksi amoniak	Warna Noda dengan pendeteksi amoniak	Dugaan Senyawa
	Noda	Eluen				
1	1,2	18	0,06	Merah Tua	Merah Tua	-
2	1,9	18	0,105	Merah Jambu	Merah Jambu	-
3	3,3	18	0,183	Hijau putih	Hijau putih	-
4	5,3	18	0,294	Hijau kekuningan	Hijau kekuningan	Flavonoid golongan auron atau flavonol
5	6,4	18	0,356	Biru	Biru	Flavonoid golongan flavonol, isoflavon
6	9,4	18	0,523	Ungu	Ungu	Flavonoid golongan flavon, flavonol, isoflavon, flavanon atau dihidroflavonol
7	10,6	18	0,589	Hijau	Hijau	-
8	12,6	18	0,7	Jingga	Jingga	-
9	14,3	18	0,795	Merah jambu	Merah jambu	-
10	15	18	0,834	Merah jambu	Merah jambu	-
11	16,4	18	0,912	Hijau	Hijau	-
12	16,9	18	0,93	Orange	Orange	-
13	17	18	0,945	Hijau	Hijau	-

Noda positif flavonoid pada plat KLTP dikumpulkan, kemudian dilarutkan dengan pelarutnya dan diuapkan. Hasil penguapan tersebut disebut isolat flavonoid. Dalam penelitian ini didapat isolat flavonoid sebanyak 1,6 mg - 2,5 mg. Isolat tersebut kemudian diuji lebih lanjut menggunakan spektrofotometer FTIR.

4.8 Uji Toksisitas Menggunakan Metode BSLT

4.8.1 Penetasan Larva Udang

Artemia salina Leach yang digunakan sebagai bahan pengujian toksisitas tersedia dalam bentuk telur, sehingga perlu dilakukan penetasan telur dalam air laut dengan bantuan pencahayaan dan aerasi. Penetasan dilakukan selama 48 jam dan baru dapat digunakan sebagai hewan uji karena pada fase ini telah terbentuk organ-organ *Artemia* seperti mulut. Kulit dan mulut merupakan jalan masuknya senyawa flavonoid ataupun senyawa toksik ke dalam tubuh.

4.8.2 Uji Toksisitas

Uji toksisitas dilakukan pada tiga isolat flavonoid hasil isolasi menggunakan KLTP yaitu isolat 4, 5, dan 6 masing-masing pada konsentrasi 1, 2, 3, 4, dan 5 ppm dengan 5 kali pengulangan. Kontrol yang digunakan adalah kontrol pelarut, kontrol DMSO, dan kontrol air laut. Penggunaan kontrol dilakukan untuk memastikan bahwa kematian larva benar-benar disebabkan oleh isolat flavonoid. Hasil uji toksisitas isolat 4, 5, dan 6 disajikan dalam Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Hasil uji toksisitas isolat 4, 5 dan 6 menggunakan metode BSLT

Konsentrasi (ppm)	Modus larva yang mati (ekor)		
	Isolat 4	Isolat 5	Isolat 6
0 ₁	0	0	0
0 ₂	0	0	0
0 ₃	0	0	0
1	0	0	0
2	1	0	0
3	1	0	1
4	1	1	1
5	2	2	2

Keterangan kontrol: 0₁= pelarut, 0₂= DMSO, 0₃= Air laut

Dari tabel di atas menunjukkan bahwa nilai modus dengan kematian tertinggi terjadi pada konsentrasi 5 ppm. Senyawa flavonoid akan masuk ke dalam tubuh *Artemia* melalui mulut dan kulit. Gugus OH pada senyawa flavonoid akan mengikat integral protein pada membran sel larva sehingga enzim RNA polymerase tidak dapat memperpanjang nukleotida RNA dan sintesis protein di DNA tidak dapat terbentuk, ketika kinerja enzim tersebut dihambat maka ion Na^+/K^+ ATPase tidak dapat keluar dari sel dan menyebabkan membran sel *Artemia* pecah dan mengalami kematian. Analisa data dari uji toksisitas dilakukan dengan analisis probit menggunakan minitab untuk memperoleh nilai LC_{50} . Hasil analisis probit toksisitas disajikan pada Tabel 4.5.

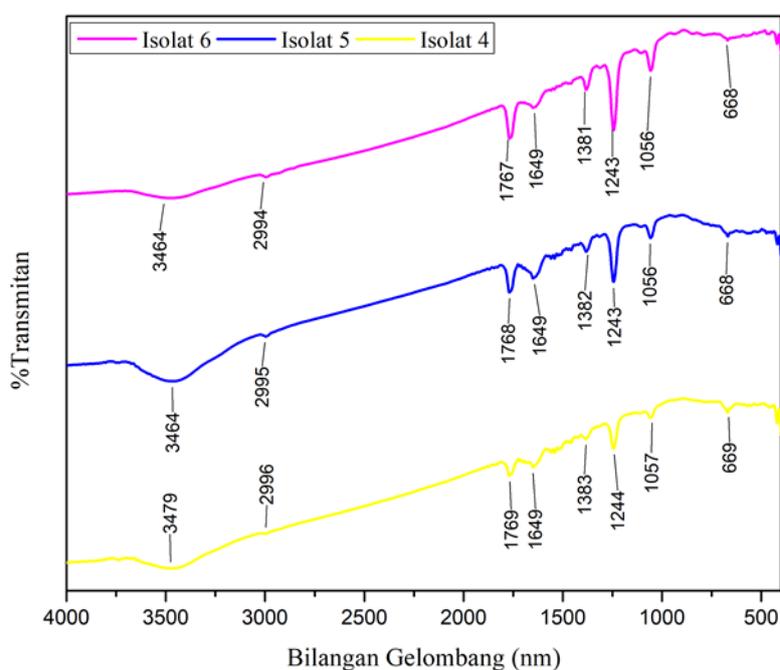
Tabel 4.5 Nilai LC_{50} isolat flavonoid *Sauropus androgynous* L. Merr

Larutan Uji	Nilai LC_{50} (ppm)
Isolat 4	8,42
Isolat 5	6,00
Isolat 6	6,79

Nilai LC_{50} memberikan informasi bahwa pemberian senyawa pada konsentrasi tertentu akan membunuh sebanyak 50% dari jumlah total larva udang yang diujikan (Sanjayasari, dan Pliliang., 2011). Menurut Ramadhianti (2020) nilai LC_{50} menandakan sifat sangat toksik ketika hasilnya <30 ppm, bersifat toksik jika hasilnya 31-1000 ppm dan bersifat tidak toksik jika hasilnya >1000 ppm. Berdasarkan tabel 4.5 kategori LC_{50} dari isolat 4, 5, dan 6 menunjukkan nilai <10 ppm. Hasil penelitian dari Nurhayati, dkk. (2009) mendapat nilai LC_{50} 16,11 ppm pada isolat flavonoid golongan flavanon ekstrak etil asetat rimpang lengkuas merah. Selain itu, penelitian dari Swantara, dkk. (2016) melaporkan bahwa

senyawa flavonoid hasil ekstrak etanol daun dewandaru yang diduga berjenis dihidroflavonol memiliki nilai LC_{50} sebesar 63,10 ppm. Hal ini menunjukkan isolat flavonoid fraksi etil asetat daun katuk *Sauropus androgynous* L. Merr memiliki aktivitas toksik yang lebih tinggi, hal ini dimungkinkan karena perbedaan penggunaan metode ekstraksi sebagai tahap awal isolasi. Berdasarkan hasil penelitian Nurhayati, dkk. (2009) dan Swantara, dkk. (2016) yang masih menggunakan maserasi sebagai tahap awal ekstraksi, terbukti bahwa ekstraksi ultrasonik dapat memberikan nilai LC_{50} yang lebih toksik dibandingkan dengan ekstraksi menggunakan metode maserasi. Sehingga, karena memiliki tingkat toksisitas yang tinggi (<30 ppm), maka isolat flavonoid hasil penelitian ini dapat berpotensi untuk dikembangkan di bidang farmakologi sebagai obat antikanker atau antitumor.

4.9 Identifikasi Menggunakan Spektrofotometer FT-IR



Gambar 4.3 Hasil spektra FTIR isolat 4, 5, dan 6 daun katuk *Sauropus androgynous* L. Merr

Tabel 4.6 Interpretasi spektra FTIR isolat 4, 5 dan 6 daun katuk *Sauropus androgynous* L. Merr

Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)			Range Pustaka	Intensitas	Jenis Vibrasi
Isolat 4	Isolat 5	Isolat 6			
3479	3464	3464	3550-3200 _(b)	Kuat	O-H ulur
2996	2995	2994	3000-2800 _(a)	Sedang	C _{sp³} -H, ulur, asimetris (alkana)
2000-1700	2000-1700	2000-1700	2500-1700 _(b)	Lemah	<i>Overtone</i> aromatis
1769	1768	1767	1750-1680 _(b)	Kuat	C=O, ulur (karbonil)
1649	1649	1649	1660-1580 _(a)	Kuat	C=C ulur aromatis
1383	1382	1381	1390-1370 _(a)	Sedang	C-CH ₃ tekuk, simetris
1244	1243	1243	1225-1200 _(b)	-	C-O ulur eter
1057	1056	1056	1085-1050 _(b)	-	C-O ulur alkohol
669	668	668	1000-650 _(b)	Sedang	C-H tekuk (alkena)

Keterangan: (a) Socrates, 1994; (b) Shriner, dkk., 2004

Berdasarkan Gambar 4.3 dan Tabel 4.6 menunjukkan ketiga isolat yang diidentifikasi menggunakan spektrofotometer FTIR memiliki gugus –OH terikat dengan bentuk pita melebar pada bilangan gelombang 3479 cm⁻¹ (isolat 4), 3464 cm⁻¹ (isolat 5 dan isolat 6) dengan puncak melebar dan diperkuat dengan adanya vibrasi ulur C-O alkohol pada daerah 1057 cm⁻¹. Kedua serapan tersebut mengindikasikan adanya gugus OH alkohol yang terikat pada atom karbon. Vibrasi pada 2996 cm⁻¹ (isolat 4), 2995 cm⁻¹ (isolat 5), 2994 cm⁻¹ (isolat 6) menunjukkan adanya vibrasi ulur yang diduga berasal dari C_{sp³}-H. Dugaan ini diperkuat dengan adanya vibrasi pada 1383 cm⁻¹ (isolat 4), 1382 cm⁻¹ (isolat 5), 1381 cm⁻¹ (isolat 6) yang menunjukkan adanya vibrasi tekuk gugus C-CH₃ alifatik, dan 669 cm⁻¹ (isolat 4), 668 cm⁻¹ (isolat 5 dan isolat 6) yang menunjukkan vibrasi tekuk C-H keluar bidang untuk gugus alkena. Pada rentang bilangan gelombang 1700-2000 cm⁻¹ terdapat daerah *overtone* yang menunjukkan ciri khas

senyawa aromatis. Kemudian karakteristik lain yang mendukung adanya cincin aromatik ditunjukkan oleh serapan pada bilangan gelombang 1649 cm^{-1} yang menunjukkan adanya vibrasi dari regangan cincin C=C aromatik sebagai gugus kromofor yang khas dari flavonoid dalam sistem ikatan terkonjugasi. Selain itu, pada daerah 1769 cm^{-1} (isolat 4), 1768 cm^{-1} (isolat 5), 1767 cm^{-1} (isolat 6) terdapat vibrasi ulur C=O yang berasal dari gugus karbonil, yang mana merupakan gugus fungsi khas dari senyawa flavonoid baik keton maupun ester. Pada daerah 1244 cm^{-1} (isolat 4), 1243 cm^{-1} (isolat 5 dan isolat 6) terdapat vibrasi ulur C-O dari gugus eter. Hal ini didukung dengan hasil penelitian dari (Nurjanah, 2019) yang menemukan senyawa flavonoid berjenis kaempferol pada kayu songga melalui pengujian LC-MS/MS dan memberikan interpretasi FT-IR pada panjang gelombang 3368 cm^{-1} (gugus OH), 2922 cm^{-1} (gugus C-H alifatik), 1642 cm^{-1} (gugus C=C aromatik), 1732 cm^{-1} (gugus C=O), dan 1060 cm^{-1} (gugus C-O alkohol). Samosir (2019) juga telah mengisolasi senyawa flavonoid dari daun tumbuham mundu dan memberikan interpretasi FT-IR pada panjang gelombang 3379 cm^{-1} (gugus OH), 2924 cm^{-1} (gugus C-H alifatik), 1512 cm^{-1} (gugus C=C aromatik), 1635 cm^{-1} (gugus C=O), 1165 cm^{-1} (gugus C-O alkohol), dan 1060 cm^{-1} (gugus C-O-C eter), kemudian diidentifikasi dengan LC-MS/MS menghasilkan flavonoid berjenis biflavonoid yang diduga merupakan Morelloflavanon. Berdasarkan hasil interpretasi FTIR dan beberapa literatur, diduga isolat 4,5 dan 6 daun katuk merupakan senyawa flavonoid yang mengandung gugus fungsi O-H, C-H alkana, C-H alkil, C-H alkena, C=C konjugasi, C=O karbonil, C-O-C eter, daerah aromatik overtone C-H pada CH_2 , dan C-O alkohol.

4.10 Kajian Hasil Penelitian dalam Perspektif Islam

Tumbuhan katuk yang telah diteliti dalam penelitian ini menunjukkan adanya sifat toksik yang dilihat dari nilai LC_{50} sebesar 8,42; 6,00; 6,79 ppm. Menurut Mawaddah (2019) nilai LC_{50} kurang dari 30 ppm dapat digunakan sebagai obat antitumor atau antikanker. Pemanfaatan daun katuk *Sauropus androgynous* L. Merr sebagai obat merupakan salah satu bentuk sarana untuk mengambil pelajaran dan memikirkan tentang kekuasaan dan bentuk kasih sayang-Nya. Melalui pemikiran tersebut kita dapat berusaha dalam mencari obat dari berbagai penyakit. Penelitian ini merupakan hasil dari berpikir sehingga kita dapat mengetahui dan menyadari kebesaran Allah SWT yang telah menciptakan langit dan bumi. Salah satunya adalah penciptaan daun katuk *Sauropus androgynous* L. Merr yang mengandung bermacam-macam senyawa metabolit sekunder yang dapat digunakan sebagai obat. Allah SWT menyembuhkan penyakit dengan berbagai macam sarana pengobatan yang menjadi penyebab kesembuhan. Hal ini menunjukkan bahwa semua penyakit memiliki obat penyembuhnya dan hanya Allah SWT yang dapat menyembuhkan. Sebagaimana dalam surat asy-Syu'ara ayat 80:

وَإِذَا مَرَضْتُ فَهُوَ يَشْفِينِي (٨٠)

Artinya: “Dan apabila aku sakit, Dialah yang menyembuhkanku.” (Q.S. asy Syu'ara: 80).

Tanda-tanda kebesaran Allah SWT hanya dapat disadari dan diketahui oleh orang-orang ulul albab. Pengertian khusus ulul albab menurut Mawaddah (2019) adalah hamba-hamba Allah SWT yang memperhatikan gejala-gejala alam

dan banyak menggunakan pikirannya untuk berfikir, seperti dalam Al-Qur'an telah tercantum di surat Ali 'Imran ayat 190-191, yang berbunyi:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَآخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ
(۱۹۰) الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَامًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ
وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ (۱۹۱)

Artinya: “Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan pergantian malam dan siang terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi orang yang berakal, (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri, duduk atau dalam keadaan berbaring, dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata), “Ya Tuhan kami, tidaklah Engkau menciptakan semua ini sia-sia; Mahasuci Engkau, lindungilah kami dari azab neraka.” (Q.S. Ali ‘Imran: 190-191).

Pada ayat diatas Allah SWT menyebutkan (لأولى الألباب) yang berarti fungsi akal yang diberikan kepada manusia agar mereka dapat berfikir dan menggunakan akal tersebut untuk merenungi kebesaran Allah SWT (Qurthubi, 2009). Menurut tafsir *al-Mishbah* dikatakan bahwa ulul albab adalah orang-orang yang memiliki akal yang murni yang tidak diselubungi oleh “kulit”, yakni kabut ide, yang dapat melahirkan kerancuan dalam berpikir. Yang merenungkan tentang fenomena alam raya akan dapat sampai kepada bukti yang sangat nyata tentang keesaan dan kekuasaan Allah SWT.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang didapat dari penelitian ini adalah :

1. Isolat 4, 5, dan 6 flavonoid dari daun katuk memperoleh nilai LC_{50} berturut-urut sebesar 8,42; 6,00; 6,79 ppm. Nilai LC_{50} dari isolat tersebut termasuk toksik dan dapat dikembangkan di bidang farmakologi sebagai obat antikanker atau antitumor.
2. Hasil identifikasi isolat 4, 5, dan 6 flavonoid daun katuk hasil KLTP dengan instrumen spektrofotometer FTIR menunjukkan bahwa isolat daun katuk mengandung dugaan senyawa flavonoid yang memiliki gugus fungsi O-H, C-H alkana, C-H alkil, C-H alkena, C=C konjugasi, C=O karbonil, C-O eter, daerah aromatik *overtone*, dan C-O alkohol.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan isolasi senyawa flavonoid dari *Sauropus androgynous* L. Merr menggunakan kromatografi kolom untuk mendapat isolat yang lebih murni dan lebih banyak sehingga dapat digunakan untuk uji toksisitas dengan konsentrasi yang lebih besar.
2. Perlu dilakukan uji toksisitas menggunakan konsentrasi yang lebih besar. Selain itu, dapat dilanjutkan dengan penelitian antikanker payudara, kolon, dan sebagainya karena daun katuk mengandung nilai LC_{50} yang toksik.
3. Perlu dilakukan identifikasi isolat senyawa flavonoid dengan UV-Vis yang menggunakan pereaksi geser dan instrumen LC-MS/MS untuk mengetahui jenis senyawa flavonoid dengan lebih spesifik.

DAFTAR PUSTAKA

- Alfaridz, F., dan Amalia, R. 2016. Review Jurnal : Klasifikasi Dan Aktivasi Farmakologi Dari Senyawa Aktif Flavonoid. *Farmaka* Vol. 16 No. 3, 1-9.
- Andarwulan, N., Batari, R., Sandrasari, D. A., Bolling, B., dan Wijaya, H. 2010. Flavonoid Content and Antioxidant Activity of Vegetables From Indonesia. *Food Chemistry* Vol. 121, 1231– 1235.
- Andarwulan, N., Kurniasih, D., Apriady, R. A., Rahmat, H., Roto, A. V., dan Bolling, B. 2012. Polyphenols, Carotenoids, and Ascorbic Acid in Underutilized Medicinal Vegetables. *Journal of functional foods* Vol. 4, 339-347.
- Anderson, J. E., Goetz, C. M., Mclaughin, J. L., dan Suffness, M. 2001. A Blind Comparison of Simple Benchtop Bioassay and Human Tumour Cell Cytotoxicities as Antitumor Prescreens. *Phytochemical Analysis* Vol 2.
- Andini, D. 2014. Potential of Katuk Leaf (*Sauropus Androgynus* L. Merr) as Aphrodisiac. *Journal Majority* Vol. 3 No. 7.
- Anggraeni, D. N. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Katuk Sebagai Alternatif Pembuatan Handsanitizer. *Skripsi*. Semarang: Universitas negeri Semarang.
- Anggraini, V. 2018. Uji Toksisitas Isolat Steroid Hasil Kromatografi Kolom Dengan Variasi Gradien Eluen Fraksi Etil Asetat Makroalga (*Euchema cottoni*). *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Arista, M. 2013. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 80% dan 96% Daun Katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr). *Calyptra* Vol. 2 No. 2.
- Arnida., Erfani, A. B., Dini, R., dan Sutomo. 2021. Identifikasi Kandungan Senyawa Ekstrak Etanol Rimpang Purun Danau (*Lepironia articulate* (Retz.) Domin). *Prosiding Seminar Nasional Lingkungan Lahan Basah* Vol. 6 No. 2.
- Atun, S. 2014. Metode Isolasi dan Identifikasi Struktur Senyawa Organik Bahan Alam. *Jurnal Konservasi Cagar Budaya Borobudur* Vol. 8 No. 2.
- Aye, M. T., Win, P. P., Than, N. N., dan Ngwe, D. H. 2018. Bioactivity Study Of *Cleome Burmanni* L. Merr and *Eleusine Indica* L. Gaertn. (Sinngomyet). *Journal Myanmar Acad Arts Sci* Vol. 16 No. 1B, 180-191.

- Azah, S. N. 2019. Uji Toksisitas Dan Identifikasi Isolat Steroid Hasil KLTP Ekstrak n-Heksana Dan Petroleum Eter *Hydrilla verticillata* Menggunakan UV-Vis Dan LC-MS. *Skripsi*. Malang: Universitas Maulana Malik Ibrahim.
- Budaraga, I. K., Arnim., Marlida, Y., dan Bulanin, U. 2016. Toxicity of Liquid Smoke Cinnamon Production of Ways for Purification and Different Concentration. *International Journal of Scientific and Research Publications* Vol. 6 No. 7, 13-21.
- Cameron, D. K., dan Wang, Y. J. 2006. Application of Protease and High Intensity Ultrasound in Corn Strach Isolation from Degermed Corn Flour. *Journal Food Science University of Arkansas* Vol. 83 No. 5, 505-509.
- Chen, Y., Yu, H., Wu, H., Pan, Y., Wang, K., Jin, Y., dan Zhang, C. 2015. Characterization and Quantification by LC-MS/MS of the Chemical Components of the Heating Products of the Flavonoids Extract in Pollen Typhae for Transformation Rule Exploration. *Molecules* Vol. 20, 18353-18366.
- Coppin, J. P., Xu, Y., Chen, H., Pan, M., Ho, C., Juliani, R., Simon, J. E., dan Wu, Q. 2013. Determination of Flavonoids by LC/MS and Anti-Inflammatory Activity in Moringa oleifera. *Journal of Functional Foods* Vol. 5, 1892-1899.
- Cushnie, T. P. T., dan Lamb, A. J. 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal Antimicrob Agents* Vol. 26, 343–356.
- Desnita, R., Luliana, S., Anastasia, D. S., dan Yuswar, M. A. 2018. Uji Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Katuk (*Sauropus Androgynus* L. Merr). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia* Vol. 16 No. 1, 1-5.
- Djamil, R., dan Zaidan, S. 2016. Isolasi Senyawa Flavonoid dari Ekstrak Metanol Daun Katuk (*Sauropus Androgynus* L. Merr) Euphorbiaceae. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia* Vol. 14 No. 1, 57-61.
- Effendy. 2010. *Teori VSPER, Kepolaran, dan Gaya antar Molekul Edisi 3*. Malang: Banyu Media Publishing.
- Ekawati, M. A., Suirta, W., dan Santi, S. R. 2017. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Pada Daun Sembukan (*Paederia foetida* L) Serta Uji Aktivitasnya Sebagai Antioksidan. *Jurnal Kimia* Vol 11, 43-48.
- Fangohoy, J. M., Sudewi, S., dan Yudistira, A. 2019. Prediksi Model Penetapan Kadar Flavonid Total Pada Ekstrak *Abelmoschus manihot* L. Menggunakan Spektroskopi IR Yang Dikombinasikan Dengan Kemometrik. *PHARMACON* Vol. 8 No. 2, 480-487.

- Firdausi, K. M. 2015. Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Air Daun Katuk (*Sauropus androgynous* L. Merr) terhadap Kadar Enzim Transaminase (ALT dan AST) Hepar Tikus (*Rattus norvegicus*) Betina. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Garcia, J. L. L., dan Castro, M. D. L. 2004. Ultrasound-Assisted Soxhlet Extraction: an Expeditive Approach for Solid Sample Treatment, Application to the Extraction of Total Fat from Oleaginous Seeds. *Journal of Chromatography* Vol. 1 No. 2, 37-42.
- Gritter, R. 1991. *Pengantar Kromatografi Edisi Kedua*. Bandung: ITB Press.
- Harbone, J. 1987. *Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: Penerbit ITB.
- Hardjati, S. 2008. Potensi Daun Katuk Sebagai Sumber Zat Pewarna Alami dan Stabilitasnya Selama Pengeringan Bubuk dengan Menggunakan Binder Maltodekstrin. *Jurnal Penelitian Sainstek* Vol. 13 No. 1, 1-18.
- Hayati, E. K., Muti'ah, R., dan Chusna, I. 2013. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak n-Heksana Batang Kesembukan (*Paederia foetida* Linn). *Alchemy* Vol. 2 No. 1, 150-153.
- Hedge, K., dan Divya, K. V. 2015. Evaluation of Anti-Stress Activity of Hydro-Alcoholic Extract of *Sauropus Androgynus* Leaves. *International Journal of Pharmaceutical Science and Research* Vol. 16 No. 10, 4375-4380.
- Hepni. 2019. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Daun Kumak (*Lactuca indica* L.). *Jurnal Dunia Farmasi* Vol. 4 No. 1, 17-22.
- Hikmawati, N. P. E., dan Sofia, F. 2019. Potensi Aktivitas Antioksidan Beberapa Ekstrak Daun Katuk *Sauropus Androgynus* terhadap Radikal Bebas DPPH. *Penelitian Mandiri*. Jakarta: Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. Hamka.
- Imamah, N. 2015. Pemisahan Senyawa Steroid Fraksi Etil Asetat Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol Mikroalga *Chorella* sp Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis dan Identifikasinya Menggunakan Spektrofotometer FT-IR. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Juliastuti. 2019. Efektivitas Daun Katuk Terhadap Kecukupan Asi Pada Ibu Menyusui di Puskesmas Kuta Baro Aceh Besar. *Indonesia Journal For Health Sciences* Vol. 3 No. 01, 1-5.
- Joniada, I. M. W. 2011. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Katuk (*Sauropus androgynous* L. Merr) sebagai Hepatoprotektor pada Mencit

yang Diinduksi Parasetamol. *Skripsi*. Jember: Fakultas Farmasi Universitas Jember.

- Kaur, N., dan Murphy, J. B. 2012. Enhanced Isoflavon Biosynthesis In Transgenic Cowpea (*Vigna unguiculata* L) callus. Urbana Campaign, USA: University of Illinois Departement of crop science. *Academy Journal plant Mol Biol Biotechnol*, Vol. 3 No. 1, 1-8.
- Khasanah, N. F. 2018. Uji Toksisitas Senyawa Aktif Fraksi N-heksana, Kloroform, dan N-butanol Hydrilla verticillata Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol Perairan Danau Ranu Pasuruan. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Kristanti, A. N., Nanik, S. A., Mulyadi, T., dan Bambang, K.. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Kumalasari, E., dan Musiam, S. 2019. Perbandingan Pelarut Etanol-Air dalam Proses Ekstraksi Daun Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* Linn) Terhadap Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia* Vol. 2 No. 1, 98-107.
- Majid, T. S., dan Muchtaridi, M. 2018. Aktivitas Farmakologi Ekstrak Daun Katuk. *Farmaka*, Vol. 16 No. 02, 398-405.
- Majidah, B. 2019. Uji Toksisitas Isolat Steroid Hasil Kromatografi Kolom Fraksi Etil Asetat Mikroalga *Chlorella* sp. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Mardaneni, I. 2017. Pemisahan dan Identifikasi Senyawa Steroid Alga Merah (*Euchema cottoni*) Fraksi Etil Asetat Perairan Wongsorejo-Banyuwangi dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis dan LC-MS/MS. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Markham. K. 1988. *Technique of Flavonoid Identification*. London: Academic Pr.
- Mason, T. J., Paniwnyk, L., dan Lorimer, J. P. 1996, The Uses of Ultrasound in Food Technology. *Ultrasonic Sonichemistry* Vol. 3 No. 3, S253-S260.
- Masrihanah, A. 2020. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Ultrasonik Air, Metanol, Etanol, Etil Asetat, Dan Petroleum Eter Daun Katuk (*Sauropus androgynous* L. Merr). *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Mawaddah. 2019. Uji Toksisitas Isolat Steroid Hasil Kromatografi Kolom Fraksi n-Heksana Hydrilla verticillata. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.

- McClements, D. J. 1995. Advances in the application of ultrasonic in food analysis and processing. *Trends Food Sci Techn* Vol. 6, 293-299.
- Mojo, T., Abidjulu, J., dan Runtuwene, M. R. J. 2016. Kajian Toksisitas dari Fraksi Heksana, Etil Asetat, dan Etanol Daun Soyogik (*Sauria bracteosa* DC). *Jurnal MIPA Unsrat Online* Vol. 5 No. 1, 40-43.
- Mulyani, Y. W. T., Hidayat, D., Isbiyantoro., dan Fatimah, Y. 2017. Ekstrak Daun Katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) Sebagai Antibakteri Terhadap *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*. *Jurnal Farmasi Lampung* Vol. 6 No. 2, 46-54.
- Nihlati, I., Rohman, A., dan Hertiani, T. 2008. Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Rimpang Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata*) Dengan Metode Penangkapan Radikal DPPH (1,1- difenil-2-pikrilhidrazil). *Jurnal Farmasi UGM* Vol. 1 No. 8.
- Ningsih, R., Fasya, A. G., dan Afif, S. 2015. Extraction Toxicity Assay and Identification of Active Compounds of Red Algae (*Euchema cottoni*) from Sumenep Madura. *ALCHEMY* Vol. 4 No. 2, 101-106.
- Nurdianti, L., dan Tuslinah, L. 2017. Uji Efektivitas Antioksidan Krim Ekstrak Etanol Daun Katuk terhadap DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil). *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada* Vol. 17 No. 1, 87-96.
- Nurhayati., Fachriyah., Kusri., Enny., dan Dewi. 2009. Isolasi, Identifikasi, dan Uji Toksisitas Senyawa Flavonoid Ekstrak Etil Asetat Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia Galaga* L. Wild). *Jurusan Kimia FMIPA*.
- Nurjanah, S., Kamariyah, N., dan Soleha, U. 2017. Pengaruh Konsumsi Ekstrak Daun *Sauropus androgynus* (L) Merr (Katu) Dengan Peningkatan Hormon Prolaktin Ibu Menyusui Dan Perkembangan Bayi Di Kelurahan Wonokromo Surabaya. *Jurnal Ilmiah Kesehatan* Vol. 10 No. 1, 24-35.
- Nurjanah, W. 2019. Identifikasi Senyawa Flavonoid Fraksi Etil Asetat Kayu Songga (*Strychnos ligustrida*) sebagai Anti Malaria Melalui Penghambatan Polimerisasi Heme. *Skripsi*. Yogyakarta: Universitas Islam Indonesia.
- Panche, A. N., Diwan, A. D., dan Chandra, S. R. 2016. Flavonoids: an overview. *Journal Nutrition Science* Vol. 5 No. 47, 1-15.
- Panji, T. 2012. *Teknik Spektroskopi untuk Elusidasi Struktur Molekul*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Patonah., Susilawati, E., Riduan, A. 2017. Aktivitas Antiobesitas Ekstrak Daun Katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) Pada Model Mencit Obesitas. *Pharmacy* Vol. 14 No. 2, 137-152.

- Pramitania, V. A. 2019. Uji Toksisitas Isolat Steroid Hasil Kromatografi Kolom Fraksi n-Heksana Alga Merah (*Euchema cottoni*) Dari Perairan Wongsorejo Banyuwangi. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Primer, A. 2001. Agilent Technology the HP LC/MSD System has been Design and Manufactured Under a Quality System That has been Registered to ISO 9001. *Hewlett Packard Published*.
- Rafi, M., Heryanto, R., dan Septaningsih, D. A. 2017. *Atlas Kromatografi Lapis Tipis Tumbuhan Obat Indonesia Volume 1*. Bogor: IPB Press.
- Ramadhianti, S. 2020. Isolasi dan Uji Toksisitas Senyawa Flavonoid Dari Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) Dengan Metode BSLT Menggunakan Ekstraksi Ultrasonik. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Rivai, H., Afriati, A., dan Zulharmita. 2020. Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Dari Ekstrak Heksan, Aseton, Etanol, Dan Air Dari Daun Katuk (*Sauropus androgynous* L. Merr). *ResearchGate*.
- Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka pelajar.
- Rusdi, N. K., Hikmawanti, N. P. E., Maifitrianti, Ulfah, Y. S., dan Annisa, A. T. 2018. Aktivitas Afrodisiaka Fraksi dari Ekstrak Etanol 70% Daun Katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) Pada Tikus Putih Jantan. *Pharmaceutical Sciences and Research (PSR)* Vol. 5 No. 3, 123-132.
- Saifudin, A. 2014. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, Konsep, dan Teknik Pemurnian*. Yogyakarta: Deepublish.
- Sakinah, F. 2017. Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Rimpang Kunyit Putih (*Curcuma longa* L.) dan Rumput Bambu (*Lophaterum gracile* B.) Menggunakan Metode DPPH Serta Identifikasi Golongan Senyawa Aktifnya. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Samosir, S. R. 2019. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Daun Tumbuhan Mundu (*Garcinia dulcis* (Roxb) kurz) serta Uji Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan. *Tesis*. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Sánchez, A. F., Santillán, E. M., Bautista, M., Soto, J. E., González, A. M., Chirino, C. E., Montiel, I. D., Rivera, G. S., Vega, C. V., dan González, J. M. 2011. Inflammation, oxidative stress, and obesity. *International Journal of Molecular Sciences* Vol. 12 No. 5, 3117-3132.
- Sanjayasari, D., dan Pliliang, W. 2011. Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Daun Katuk (*Saoropus androgenus* L. Merr) Terhadap Larva

- Udang *Artemia Salina*: Potensi Fitofarmaka Pada Ikan. *Berkala Perikanan Terubuk* Vol. 39 No. 1, 91-100.
- Santoso, U. 2004. Effect of *Sauropus androgynus* Extract on Organ Weight, Toxicity and Number of Salmonella sp and *Escherichia coli* of Broilers Meat. *B I P P* Vol. 7 No. 2, 162-169.
- Santoso, U. 2013, Katuk, Tumbuhan Multi Khasiat. *Badan Penerbit Fakultas Pertanian (BPFP)* Unib, ISBN. 978-602-9071-12-2.
- Santoso, U. 2018. Penggunaan Daun Katuk sebagai Suplemen Pakan pada Unggas1. Pengaruhnya Terhadap Performa Ayam. *Jurnal Sains Peternakan Indonesia* Vol. 13 No. 2, 151-156.
- Sayuti, M. 2017. Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi, Bagian dan Jenis Pelarut Terhadap Rendemen dan Aktifitas Antioksidan Bambu Laut (*Isis hippuris*). *Technology Science and Enginerring Journal* Vol. 1 No. 3.
- Setyowati, F. M. 1997. Arti katuk bagi masyarakat Dayak Kenyah, Kalimantan Timur. *The Journal on Indonesian Medicine Plants* Vol. 3 No. 3, 54.
- Shihab, M. 2002. *Tafsir Al-Mishbah Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Qur'an Volume 10 Surah Asy-Syu'ara, Surah An-naml, Surah Al-Qashash, Surah Al-'Ankabut*. Jakarta: Lentera Hati.
- Sholihah, M., Ahmad, U., dan Budiastra, I. M. 2017. Aplikasi Gelombang Ultrasonik untuk Meningkatkan Rendemen Ekstraksi dan Efektivitas Antioksi dan Kulit Manggis. *JTEP Jurnal Keteknikan Pertanian* Vol. 5 No. 2, 161-168.
- Shriner, R. L., Hermann, C. K. F., Morrill, T. C., Curtin, D. Y., dan Fuson, R. C. 2004. *The Systematic Identification of Organic Compounds*. United States: John Wiley and Sons, Inc.
- Simanjuntak, P., Susanto, E., Sulastri, L. 2019. Pengaruh Metode Ekstraksi Cara Maserasi Dan Infusa Daun Mangrove, Daun Kejibeling, dan Batang Katuk Serta Kombinasinya Terhadap Uji Bakteri. *Partomuan Simanjuntak Puslit Bioteknologi LIPI*, ISBN 978 602 50942 2 4.
- Siswanto. 2019. Standardisasi Parameter Spesifik Ekstrak Etanol Daun Katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) dari Dua Tempat Tumbuh. *Skripsi*. Semarang: Universitas Wahid Hasyim Semarang.
- Socrates, G. 1994. *Infrared Characteristic Group Frequencies Tables and Charts Second Edition*. United Kingdom: The University of West London.

- Soka, S., Alam H, Boenjamin N, Agustina T. W, Suhartono M. T. 2014. Effect of *Sauropus androgynus* leaf extracts on the expression of prolactin and oxytocin genes in lactating BALB/C mice. *J Nutrigenet Nutrigenomics* Vol. 3 No. 1, 31-36.
- Sudarmadji, S., Haryoto, dan Suhardi. 2003. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty.
- Suhaenah, S., dan Nuryanti, S. 2017. Skrining Fitokimia Ekstrak Jamur Kancing. *Jurnal Farmaka*, Vol. 4 No.1.
- Sukendar. 1997. Pengenalan morfologi katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr). *Warta Tumbuhan Obat* Vol. 3 No. 3, 53.
- Supardan, M. T., Asnawi, T. M., Putri, Y., dan Wahyuni, S. 2011. Metode Ekstraksi Pelarut Berbantuan Ultrasonik untuk Recovery Minyak dari Limbah Cair Pabrik Kelapa Sawit. *Jurnal Agritech* Vol. 31 No. 4, 368-373.
- Suparmi., Sampurna., Anna, N., Ednisari, A. M., Urfani, G. D., Laila, I., dan Saintika, H. R. 2016. Anti-anemia Effect of Chlorophyll from Katuk (*Sauropus androgynus*) Leaves on Female Mice Induced Sodium Nitrite. *Pharmacognosy journal* Vol. 8 No. 4, 375-379.
- Susanti, N. M. P., Budiman, I. N. A., dan Warditiani, N. K. 2017. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 90% Daun Katuk (*Sauropus androgynous* L. Merr). *Jurusan Farmasi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana*.
- Syahadat, A., dan Siregar, N. 2020. Skrining Fitokimia Daun Katuk (*Sauropus androgynus*) Sebagai Pelancar ASI. *Jurnal Kesehatan Ilmiah Indonesia* Vol. 5 No. 1, 85-89.
- Swantara, I. M. D., Rita, W. S., dan Suardhyana. 2016. Toksisitas Senyawa Flavonoid Dari Ekstrak Etanol Daun Dewandaru Sebagai Skrinning Awal AntiKanker. *Jurnal Kimia* Vol. 10 No. 2, 181-189.
- Thompson, L. H., dan Doraiswamy, L. K. 1999. Sonochemistry: Science Engineering. *Industrial and Engineering Chemistry Research* Vol. 38 No. 4.
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., dan Kaur, H. 2011. Phytochemical Screening and Extraction. *International Pharmaceutica Scientia* Vol. 1 No. 1, 98-16.
- Wahyudi, J., Wibowo, W. A., Rais, Y. A., dan Kusumawardani, A. 2011. Pengaruh Suhu Terhadap Kadar Glukosa Terbentuk dan Konstanta Kecepatan Reaksi pada Hidrolisis Kulit Pisang. Di dalam: Seminar

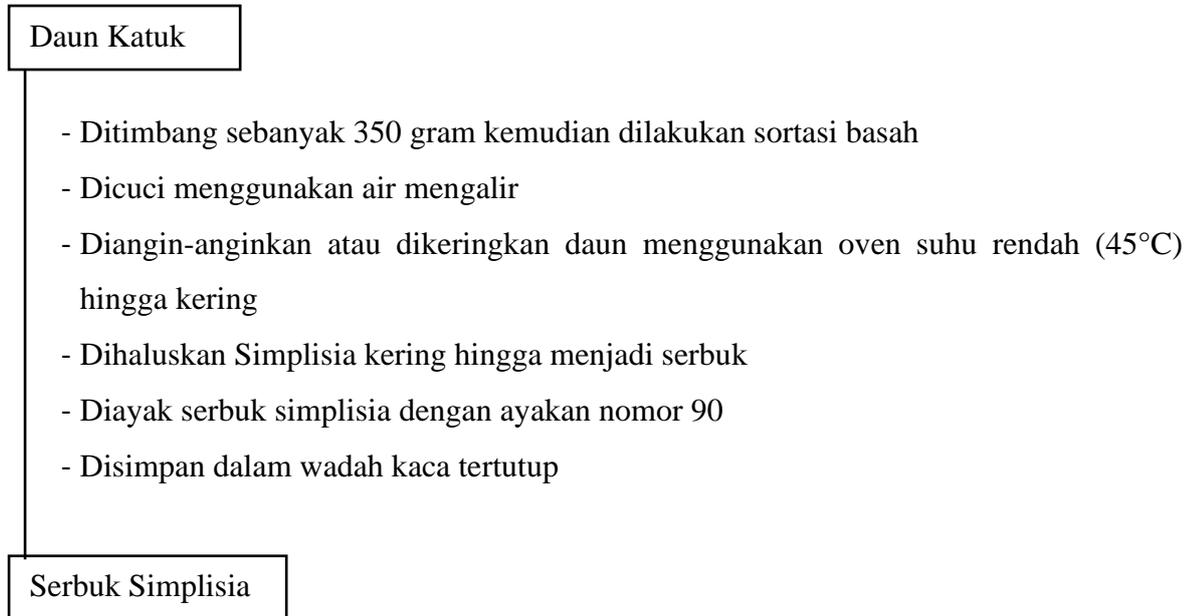
Nasional Teknik Kimia Kejuangan. *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia Kejuangan 2011*; Yogyakarta, 22 Februari 2011. Yogyakarta: Panitia Kejuangan Yogyakarta. Halaman 1-5.

- Wijono, S. H. 2003. Isolasi dan Identifikasi Flavonoid Pada Daun Katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr. *Makara Sains* Vol. 7 No. 2, 51-64.
- Winarsih, S., Purwantiningrum, D. A., dan Wardhani, A. S. 2015. Efek Antibakteri Ekstrak Daun Katuk (*Sauropus androgynus*) terhadap Pertumbuhan *Salmonella Typhi* secara In Vitro. *Mutiara medika* Vol. 15 No. 2, 96- 103.
- Yang, W., Ajapur, V. K., Krishnamurthy, K., Feng, H., Yang, R., dan Rababah, T. H. 2009. Expedited Extraction of Xylan from Corncob by Power Ultrasound. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering* Vol. 2 No. 4, 76-83.
- Zukhri, S., Dewi, K. M. S., Hidayati, N. 2018. Uji Sifat Fisik dan Antibakteri Salep Ekstrak Daun Katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr). *Jurnal Ilmiah Kesehatan* Vol. 11 No. 1, 303-312.
- Zou, T. B., En-Qin, X., Tai-Ping, H., Ming-Yuan, H., Qing, J., dan Hua-Wen, L. 2014. Ultrasound-Assisted Extraction of *Mangiferin* from Mango Leaves Using Response Surface Methodology. *Molecules* Vol. 19, 1411-1421.
- Zou, C., Luo, Y., Lei, Z., dan Wei, G. 2018. UHPLC-ESI-MS Analysis of Purified Flavonoids Fraction from Stem of *Dendrobium denneauxii* Paxt and its Preliminary Study in Inducing Apoptosis of HepG2 Cells. *Hindawi* Vol. 2018, 1-10.

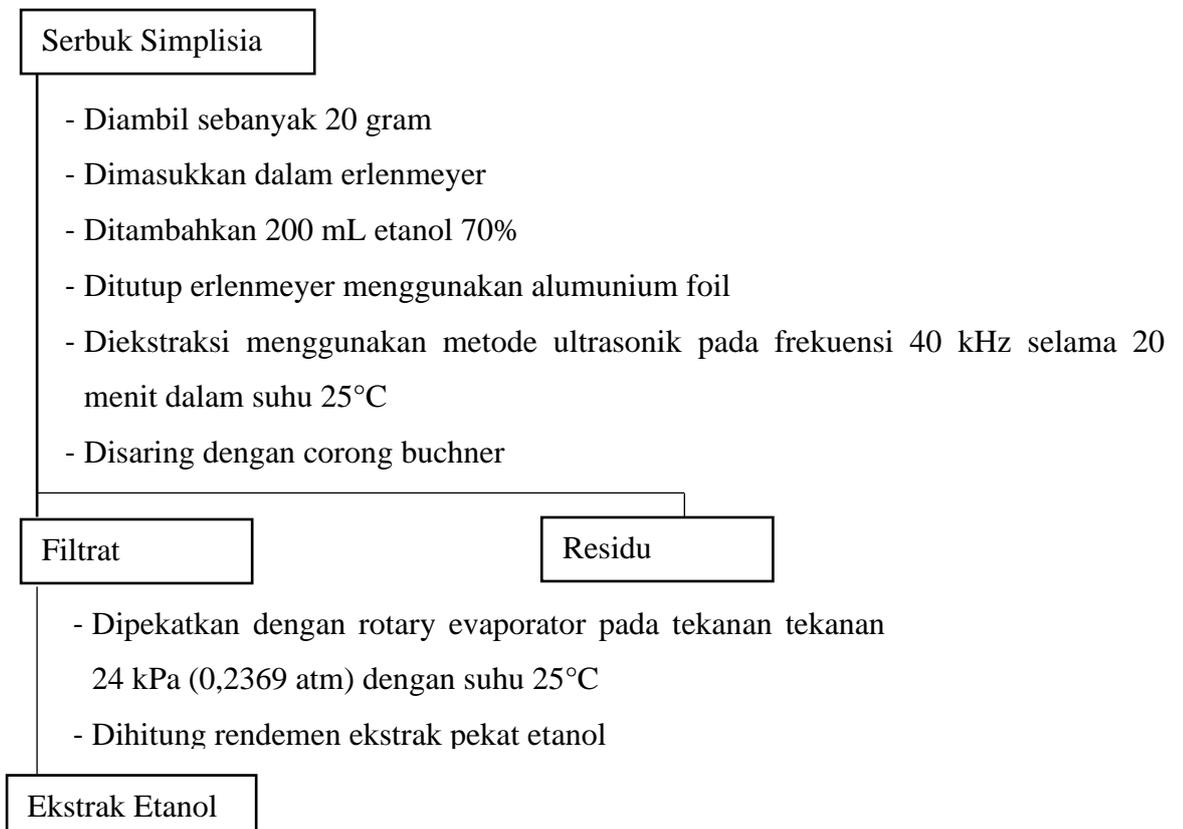
LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja

1.1 Pembuatan Serbuk Simplisia



1.2 Ekstraksi Ultrasonik *Sauropus androgynous* L.Merr



1.4 Uji Fitokimia Flavonoid

Fraksi Etil Asetat

- Dimasukkan 0,5 g kedalam tabung reaksi
- Ditambahkan 1-2 mL metanol panas
- Ditambahkan 0,5 gram logam Mg serta 4-5 tetes HCl pekat

Hasil

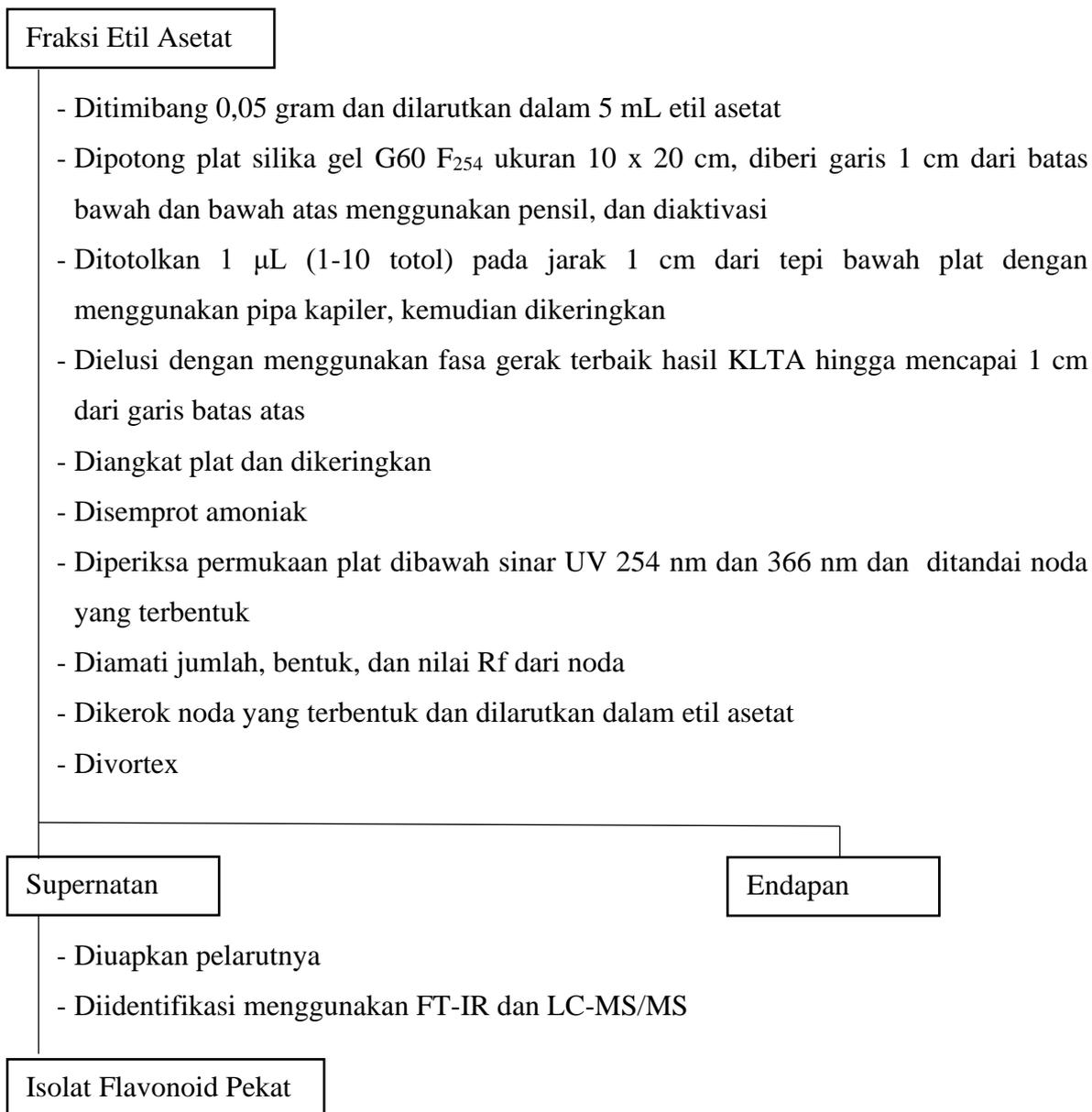
1.5 Isolasi Flavonoid dengan KLTA

Fraksi Etil Asetat

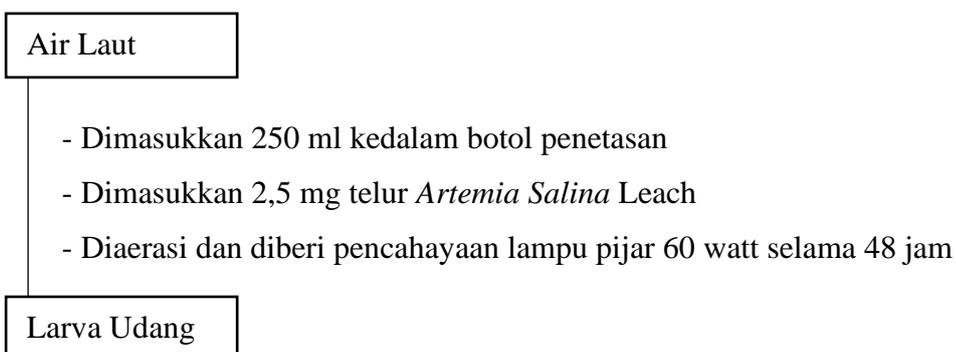
- Ditimbang 0,05 gram dan dilarutkan dalam 5 mL pelarut etil asetat
- Dipotong plat silika gel G60 F₂₅₄ ukuran 1 x 10 cm dan diaktivasi
- Ditotolkan 1 μ L (1-10 total) pada jarak 1 cm dari tepi bawah plat dengan menggunakan pipa kapiler, kemudian dikeringkan
- Dielusi dengan masing-masing fasa gerak yang telah divariasikan, hingga mencapai 1 cm dari garis batas atas
- Diangkat plat dan dikeringkan
- Disemprot amoniak
- Diperiksa permukaan plat dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm dan ditandai noda yang terbentuk
- Diamati jumlah, bentuk, dan nilai Rf dari noda

Hasil

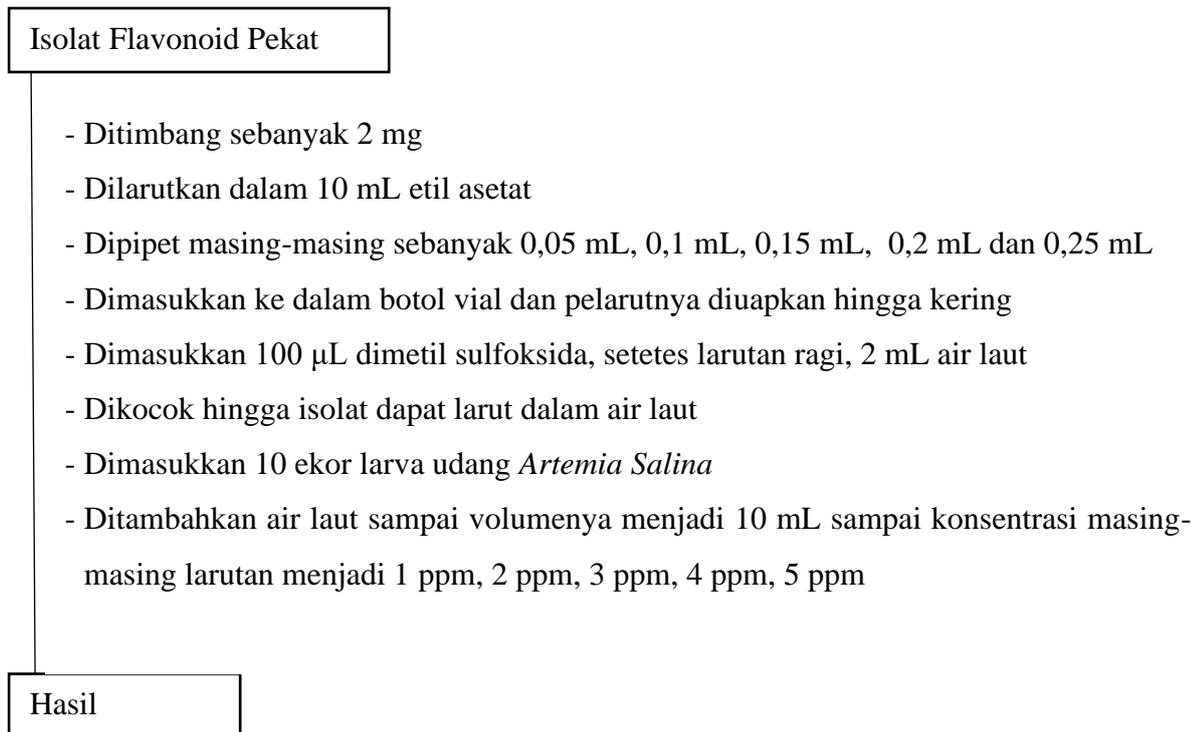
1.6 Isolasi Flavonoid dengan KLTP



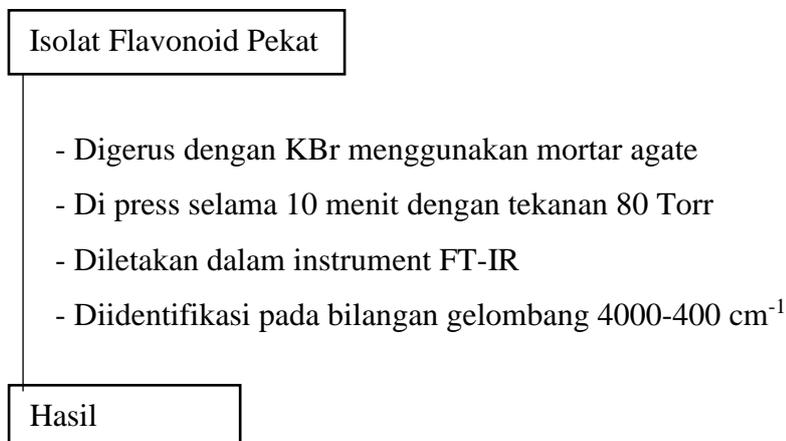
1.7 Penetasan Larva Udang



1.8 Uji Toksisitas



1.9 Identifikasi Flavonoid Menggunakan Spektrofotometer FT-IR



Lampiran 2. Perhitungan

2.1 Pembuatan larutan HCl 2N

$$\begin{aligned}
 \text{Berat jenis (BJ) HCl pekat} &= 1,267 \text{ g/mL} \\
 \text{Konsentrasi (C)} &= 37 \% = \frac{37}{100} \\
 \text{Berat Molekul (BM) HCl} &= 36,5 \text{ g/mol} \\
 n &= 1 \text{ (jumlah mol ion H}^+) \\
 \text{Normalitas HCl} &= n \times \text{Molaritas HCl} \\
 &= 1 \times \frac{C \times BJ \text{ HCl}}{BM \text{ HCl pekat}} \\
 &= \frac{\frac{37}{100} \times 12,67 \frac{\text{g}}{\text{mL}} \times 1000}{36,5 \frac{\text{g}}{\text{mol}}} \\
 &= \frac{37 \times 12,67 \text{ LL}^{-1} \times 10}{36,5 \text{ g/mol}} \\
 &= 12,84 \text{ mol/L}
 \end{aligned}$$

$$N_1 \cdot V_1 = N_2 \cdot V_2$$

$$12,84 \text{ N} \cdot V_1 = 2 \text{ N} \cdot 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = 15,6 \text{ mL}$$

Adapun prosedur pembuatannya adalah diambil aquades dan dimasukkan dalam labu takar kemudian ditambahkan larutan HCl pekat 37% sebanyak 15,6 mL. selanjutnya ditambahkan aquades hingga tanda batas dan dikocok hingga homogen.

2.2 Pembuatan Larutan NaHCO₃ Jenuh

Kelarutan NaHCO₃ dalam 100 ml aquades adalah 99,9 g. sehingga prosedur pembuatannya adalah ditimbang NaHCO₃ dengan berat > 9,99 g dalam 100 mL aquades (sampai terdapat padatan yang tidak larut). Kemudian disaring larutan tersebut untuk memisahkan residu dan filtrate sehingga didapatkan larutan NaHCO₃ Jenuh.

2.3 Pembuatan Larutan FeCl₃ 1%

$$\begin{aligned} \text{BM FeCl}_3 &= 162,2 \text{ gr/mol} \\ \text{Massa FeCl}_3 &= \frac{1\% \times \text{BM FeCl}_3 \times V}{22,4} \\ &= \frac{1\% \times 162,2 \frac{\text{gr}}{\text{mol}} \times 0,01L}{22,4} \\ &= 0,072 \text{ gram} = 72 \text{ mg} \end{aligned}$$

Cara pembuatannya adalah ditimbang 72 mg serbuk FeCl₃ dan dimasukkan ke dalam beaker glass 50 mL, kemudian ditambahkan ± 3 mL aquades untuk melarutkan dibantu pengadukan. Dipindahkan ke dalam labu ukur 10 mL, ditandabatkan dengan aquades dan dihomogenkan.

2.4 Pembuatan Larutan Stok 200 ppm dalam 10 mL Pelarut

$$\begin{aligned} \text{Ppm} &= \frac{\text{mg}}{L} \\ 200 \text{ ppm} &= \frac{\text{mg}}{0,01L} \\ &= 2 \text{ mg} \end{aligned}$$

Jadi, untuk membuat 10 mL larutan sampel 200 ppm diperlukan sebanyak 2 mg isolat flavonoid.

2.5 Pembuatan Larutan Sampel 1 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \cdot M_1 &= V_2 \cdot M_2 \\ 10 \text{ mL} \cdot 1 \text{ ppm} &= V_2 \cdot 200 \text{ ppm} \\ &= \frac{10 \text{ mL} \times 1 \text{ ppm}}{200 \text{ ppm}} \\ &= 0,05 \text{ mL} \end{aligned}$$

Jadi untuk membuat 10 mL larutan sampel 1 ppm diperlukan larutan stok 200 ppm sebanyak 0,05 mL.

2.6 Pembuatan Larutan Sampel 2 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \cdot M_1 &= V_2 \cdot M_2 \\ 10 \text{ mL} \cdot 2 \text{ ppm} &= V_2 \cdot 200 \text{ ppm} \\ &= \frac{10 \text{ mL} \times 2 \text{ ppm}}{200 \text{ ppm}} \\ &= 0,1 \text{ mL} \end{aligned}$$

Jadi untuk membuat 10 mL larutan sampel 2 ppm diperlukan larutan stok 200 ppm sebanyak 0,1 mL.

2.7 Pembuatan Larutan Sampel 3 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \cdot M_1 &= V_2 \cdot M_2 \\ 10 \text{ mL} \cdot 3 \text{ ppm} &= V_2 \cdot 200 \text{ ppm} \\ &= \frac{10 \text{ mL} \times 3 \text{ ppm}}{200 \text{ ppm}} \\ &= 0,15 \text{ mL} \end{aligned}$$

Jadi untuk membuat 10 mL larutan sampel 3 ppm diperlukan larutan stok 200 ppm sebanyak 0,15 mL.

2.8 Pembuatan Larutan Sampel 4 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \cdot M_1 &= V_2 \cdot M_2 \\ 10 \text{ mL} \cdot 4 \text{ ppm} &= V_2 \cdot 200 \text{ ppm} \\ &= \frac{10 \text{ mL} \times 4 \text{ ppm}}{200 \text{ ppm}} \\ &= 0,2 \text{ mL} \end{aligned}$$

Jadi untuk membuat 10 mL larutan sampel 4 ppm diperlukan larutan stok 200 ppm sebanyak 0,2 mL.

2.9 Pembuatan Larutan Sampel 5 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \cdot M_1 &= V_2 \cdot M_2 \\ 10 \text{ mL} \cdot 5 \text{ ppm} &= V_2 \cdot 200 \text{ ppm} \\ &= \frac{10 \text{ mL} \times 5 \text{ ppm}}{200 \text{ ppm}} \\ &= 0,25 \text{ mL} \end{aligned}$$

Jadi untuk membuat 10 mL larutan sampel 5 ppm diperlukan larutan stok 200 ppm sebanyak 0,25 mL.

2.10 Pembuatan Larutan Ragi 60%

$$\begin{aligned} \% &= \frac{3 \text{ mg ragi}}{5 \text{ mL air laut}} \times 100 \% \\ &= 60 \% \end{aligned}$$

Lampiran 3. Data Pengamatan dan Perhitungan

3.1 Data Pengukuran Kadar Air Sampel Kering Daun Katuk

3.1.1 Data Berat Cawan Kosong

Ulangan Cawan	Berat Cawan Kosong (g)				Berat Konstan (g)
	Sebelum dioven	P1	P2	P3	
1	57,0607	57,0604	57,0602	57,0601	57,0602
2	53,6966	53,6945	53,6939	53,6937	53,6940
3	54,6354	54,6333	54,6325	54,6319	54,6325

Keterangan : P = Ulangan

Berat cawan kosong konstan kemudian ditambah 0,5 g serbuk daun katuk dan ditimbang kembali sampai berat konstan pada data berat cawan + sampel

3.1.2 Data Berat Cawan + Sampel

Ulangan Cawan	Berat Cawan + Sampel (g)				Berat Konstan (g)
	Sebelum dioven	P1	P2	P3	
1	57,5603	57,5308	57,5305	57,5302	57,5305
2	54,1946	54,1651	54,1650	54,1650	54,1650
3	55,1335	55,1046	55,1038	55,1034	55,1039

Keterangan : P = Ulangan

Data berat konstan yang diperoleh adalah data berat cawan + sampel konstan yang akan dihitung kadar airnya.

1. Kadar Air Sampel pada Cawan 1

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar air} &= \frac{(\text{berat cawan+sampel sebelum dioven}) - (\text{berat cawan+sampel setelah dioven})}{(\text{berat cawan+sampel sebelum dioven}) - \text{berat cawan kososng}} \times 100\% \\
 &= \frac{(57,5603 - 57,5305)\text{g}}{(57,5603 - 57,0602)\text{g}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,0298}{0,5001} \times 100\% \\
 &= 5,95\%
 \end{aligned}$$

2. Kadar Air Sampel pada Cawan 2

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar air} &= \frac{(\text{berat cawan+sampel sebelum dioven}) - (\text{berat cawan+sampel setelah dioven})}{(\text{berat cawan+sampel sebelum dioven}) - \text{berat cawan kososng}} \times 100\% \\
 &= \frac{(54,1946 - 54,1650)\text{g}}{(54,1946 - 53,6940)\text{g}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,0296}{0,5006} \times 100\% \\
 &= 5,91\%
 \end{aligned}$$

3. Kadar Air Sampel pada Cawan 3

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar air} &= \frac{(\text{berat cawan+sampel sebelum dioven}) - (\text{berat cawan+sampel setelah dioven})}{(\text{berat cawan+sampel sebelum dioven}) - \text{berat cawan kosong}} \times 100\% \\
 &= \frac{(55,1335 - 55,1039)\text{g}}{(55,1335 - 54,6325)\text{g}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,0296}{0,5010} \times 100\% \\
 &= 5,90\%
 \end{aligned}$$

Kadar air rata-rata yang terkandung pada sampel kering daun katuk adalah 5,92%

3.2 Data Rendemen Ekstraksi

3.2.1 Ekstraksi ke I

$$\begin{aligned}
 \text{Berat gelas kosong} &= 62,6642 \text{ g} \\
 \text{Berat gelas kosong + ekstrak etanol} &= 68,1894 \text{ g} \\
 \text{Berat ekstrak etanol} &= 5,5252 \text{ g} \\
 \text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak etanol}}{\text{Berat sampel}} \times 100\% \\
 &= \frac{5,5252 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 100\% \\
 &= 27,62\%
 \end{aligned}$$

3.2.2 Ekstraksi ke II

$$\begin{aligned}
 \text{Berat gelas kosong} &= 62,7560 \text{ g} \\
 \text{Berat gelas kosong + ekstrak etanol} &= 68,1934 \text{ g} \\
 \text{Berat ekstrak etanol} &= 5,4374 \text{ g} \\
 \text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak etanol}}{\text{Berat sampel}} \times 100\% \\
 &= \frac{5,4374 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 100\% \\
 &= 27,18\%
 \end{aligned}$$

3.2.3 Ekstraksi ke III

$$\begin{aligned}
 \text{Berat gelas kosong} &= 62,9836 \text{ g} \\
 \text{Berat gelas kosong + ekstrak etanol} &= 69,0175 \text{ g} \\
 \text{Berat ekstrak etanol} &= 6,0339 \text{ g} \\
 \text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak etanol}}{\text{Berat sampel}} \times 100\% \\
 &= \frac{6,0339 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 100\% \\
 &= 30,16\%
 \end{aligned}$$

3.3 Data Rendemen Hidrolisis dan Partisi

3.3.1 Hidrolisis dan Partisi ke I

Hidrolisis = 5.5252 g ekstrak etanol + 11 mL HCl 2N, 340 tetes NaHCO₃

Partisi

Berat gelas kosong = 127,6714 g

Berat gelas kosong + fraksi etil asetat = 127,7843 g

Berat fraksi etil asetat = 0,1129 g

Rendemen = $\frac{\text{Berat fraksi etil asetat}}{\text{Berat ekstrak etanol}} \times 100\%$
 = $\frac{0,1129 \text{ g}}{5,5252 \text{ g}} \times 100\%$
 = 2,04%

3.3.2 Hidrolisis dan Partisi ke II

Hidrolisis = 6,0339 g ekstrak etanol + 12 mL HCl 2N, 355 tetes NaHCO₃

Partisi

Berat gelas kosong = 63,3212 g

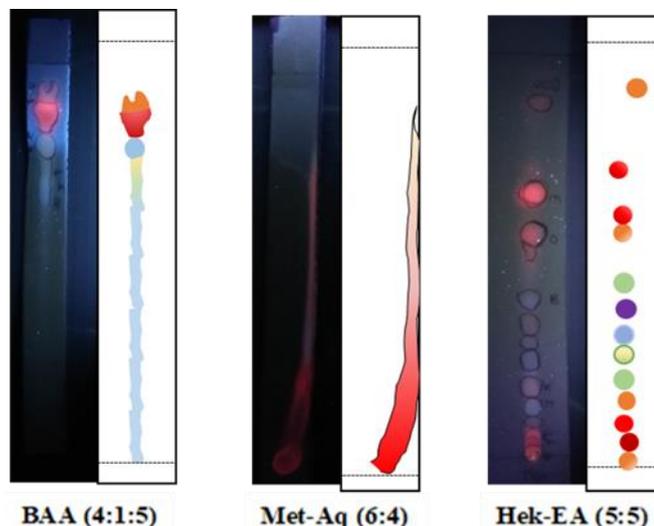
Berat gelas kosong + fraksi etil asetat = 63,4451 g

Berat fraksi etil asetat = 0,1239 g

Rendemen = $\frac{\text{Berat fraksi etil asetat}}{\text{Berat ekstrak etanol}} \times 100\%$
 = $\frac{0,1239 \text{ g}}{6,0339 \text{ g}} \times 100\% = 2,05\%$

3.4 Data Identifikasi dan Nilai Rf KLTA

$$\text{Harga } Rf = \frac{\text{Jarak tempuh noda}}{\text{jarak tempuh eluen}}$$

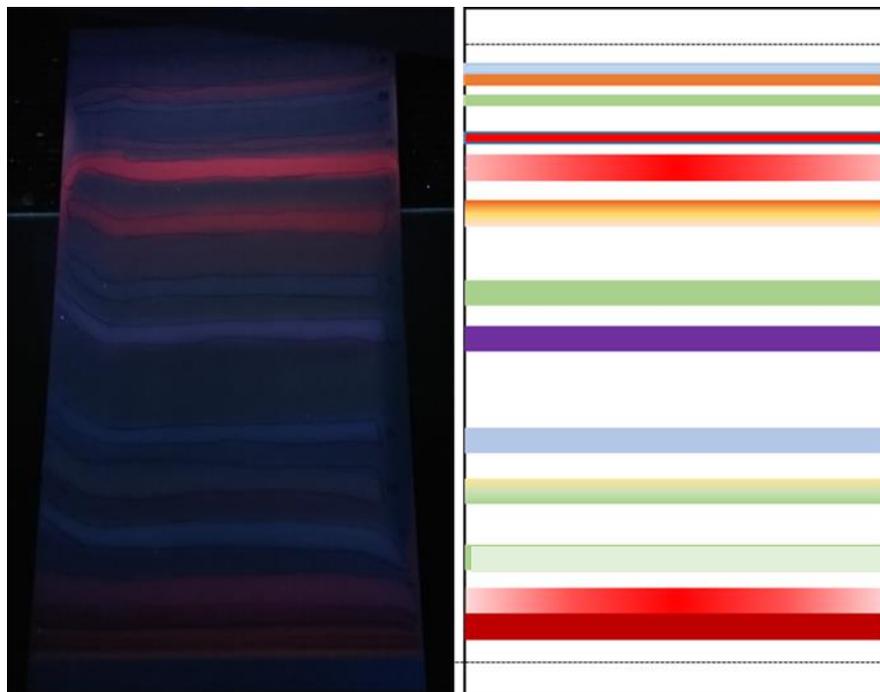


Keterangan : (BAA) n-butanol-asam asetat-air, (Met-Aq) Metanol-Aquades, (Hek-EA) n-heksana-etil asetat. Data KLTA diatas adalah hasil KLTA senyawa flavonoid fraksi etil asetat daun katuk dengan variasi pelarut.

No.	Fasa Gerak	Jarak (cm)		Rf	Warna Noda pada Lampu UV λ 366 nm	Dugaan Senyawa
		Noda	Eluen			
1.	N-butanol-asam asetat-air (4:1:5)	6,5	8	0,81	Biru	Flavonoid
		7,2	8	0,90	Merah jambu	Flavonoid
		7,7	8	0,96	Jingga	Flavonoid
2.	Metanol-aquades (6:4)	-	8	-	-	-
3.	N-heksana-etil asetat (5:5)	0,6	8	0,075	Merah tua	-
		0,8	8	0,1	Merah jambu	-
		1,1	8	0,137	Jingga	-
		1,6	8	0,2	Hijau putih	-
		2	8	0,25	Hijau kuning	Flavonoid
		2,9	8	0,362	Biru	Flavonoid
		3,6	8	0,45	Ungu	Flavonoid
		5	8	0,625	Hijau	-
		5,9	8	0,737	Jingga	Flavonoid
		6,3	8	0,787	Merah jambu	Flavonoid
6,6	8	0,825	Merah jambu	Flavonoid		
7,7	8	0,962	Orange	-		

3.5 Data Identifikasi dan Nilai Rf KLTP

$$\text{Harga } R_f = \frac{\text{Jarak tempuh noda}}{\text{jarak tempuh eluen}}$$



Keterangan : Data KLTP diatas adalah hasil KLTP senyawa flavonoid fraksi etil asetat daun katuk menggunakan eluen n-heksana-etil asetat (5:5).

No.	Fasa Gerak	Jarak (cm)		Rf	Warna Noda pada Lampu UV λ 366 nm	Dugaan Senyawa
		Noda	Eluen			
1.	N-heksana-etil asetat (5:5)	1,2	18	0,06	Merah tua	-
		1,9	18	0,105	Merah jambu	-
		3,3	18	0,183	Hijau putih	-
		5,3	18	0,294	Hijau Kuning	Flavonoid
		6,4	18	0,356	Biru	Flavonoid
		9,4	18	0,523	Ungu	Flavonoid
		10,6	18	0,589	Hijau	-
		12,6	18	0,7	Jingga	-
		14,3	18	0,795	Merah jambu	-
		15	18	0,834	Merah jambu	-
		16,4	18	0,912	Hijau	-
		16,9	18	0,93	Jingga	-
		17	18	0,945	Hijau	-

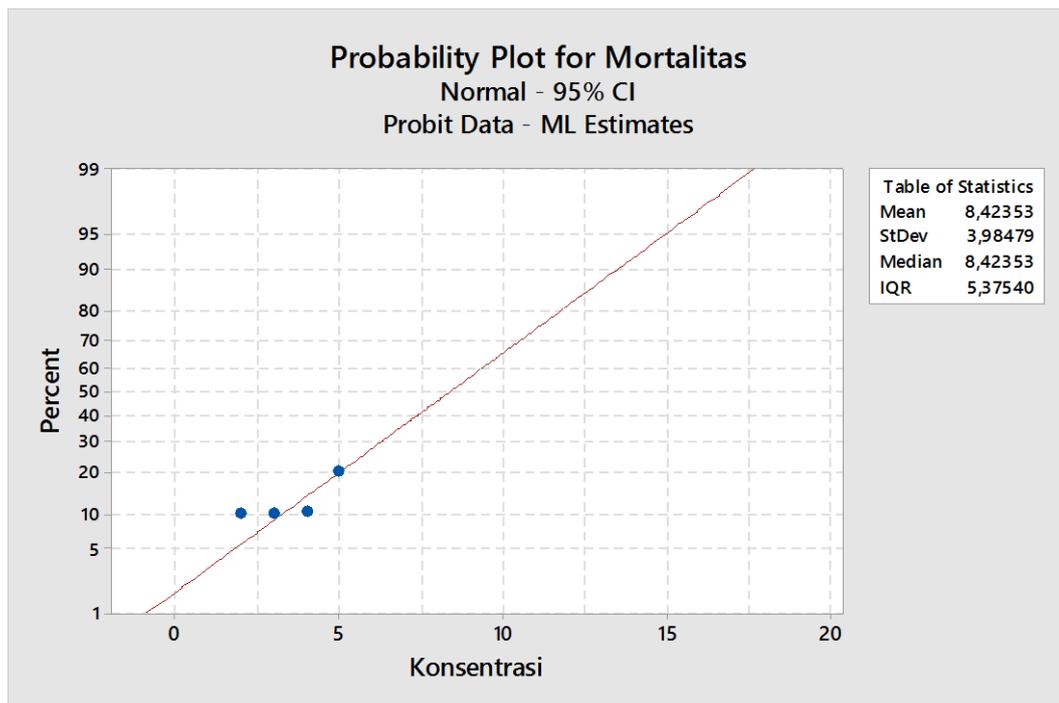
Isolat	Warna Noda tanpa pendeteksi amoniak	Warna Noda dengan pendeteksi amoniak	Dugaan Senyawa
4	Hijau Kuning	Hijau Kuning	a. Auron yang tak mengandung 4'-OH bebas dan flavanon tanpa 5-OH bebas b. Flavonol yang mengandung 3-OH bebas atau tanpa 5-OH bebas
5	Biru	Biru	a. Isoflavon yang tak mengandung 5-OH bebas
6	Ungu	Ungu	a. Flavon atau flavonol yang terikat pada 3-O yang mengandung 5-OH tetapi tanpa 4'-OH bebas b. Flavon 6-OH atau Flavon 8-OH, serta flavonol yang terikat pada 3-O yang mengandung 5-OH. c. Isoflavon, dihidroflavonol, biflavonil, dan beberapa flavanon yang mengandung 5-OH. d. Khalkon yang mengandung 2'- atau 6'-OH tetapi tidak memiliki 2- atau 4-OH bebas.

3.6 Data Uji Toksisitas

3.6.1 Isolat 4 Hijau Kuning

Kontrol	Jumlah Larva yang Mati (ekor)					Modus
	I	II	III	IV	V	
Pelarut	1	0	0	0	0	0
DMSO	0	0	0	0	0	0
Air laut	0	0	0	0	0	0

Konsentrasi (ppm)	Jumlah Larva yang Mati (ekor)					Modus
	I	II	III	IV	V	
1	0	0	0	0	1	0
2	0	0	1	1	1	1
3	1	0	0	1	1	1
4	1	1	0	1	1	1
5	0	2	2	2	1	2



Probit Analysis: Mortalitas; N versus Konsentrasi

Distribution: Normal

Response Information

Variable	Value	Count
Mortalitas	Event	5
	Non-event	45
N	Total	50

Estimation Method: Maximum Likelihood

Regression Table

Variable	Coef	Standard Error	Z	P
Constant	-2,11392	0,714702	-2,96	0,003
Konsentrasi	0,250954	0,190875	1,31	0,189

Natural

Response 0

Log-Likelihood = -15,310

Goodness-of-Fit Tests

Method	Chi-Square	DF	P
Pearson	0,87051	3	0,833
Deviance	1,10673	3	0,775

Tolerance Distribution

Parameter Estimates

Parameter	Estimate	Standard Error	95,0% Normal CI	
			Lower	Upper
Mean	8,42353	3,86943	0,839584	16,0075
StDev	3,98479	3,03081	0,897397	17,6940

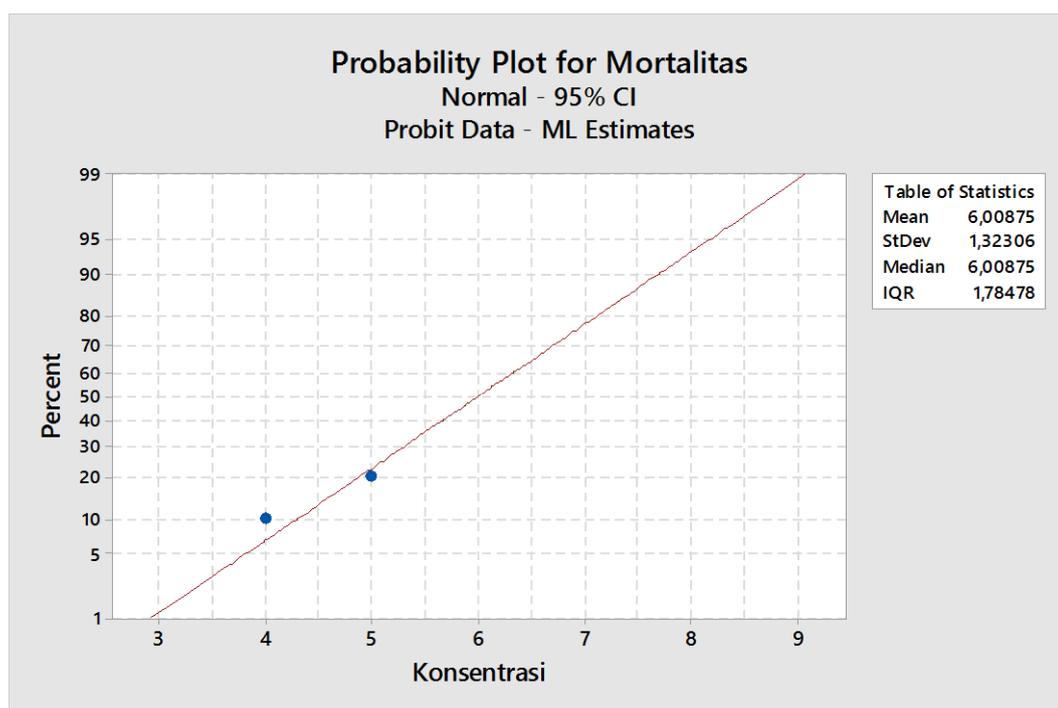
Table of Percentiles

Percent	Percentile	Standard Error	95,0% Fiducial CI	
			Lower	Upper
1	-0,846475	3,45842	*	*
2	0,239774	2,67785	*	*
3	0,928964	2,19996	*	*
4	1,44741	1,85700	*	*
5	1,86913	1,59563	*	*
6	2,22808	1,39285	*	*
7	2,54281	1,23749	*	*
8	2,82461	1,12371	*	*
9	3,08090	1,04793	*	*
10	3,31682	1,00690	*	*
20	5,06984	1,55063	*	*
30	6,33390	2,36928	*	*
40	7,41399	3,13372	*	*
50	8,42353	3,86943	*	*
60	9,43306	4,61562	*	*
70	10,5131	5,42066	*	*
80	11,7772	6,36817	*	*
90	13,5302	7,68793	*	*
91	13,7661	7,86588	*	*
92	14,0224	8,05928	*	*
93	14,3042	8,27202	*	*
94	14,6190	8,50971	*	*
95	14,9779	8,78090	*	*
96	15,3996	9,09966	*	*
97	15,9181	9,49172	*	*
98	16,6073	10,0132	*	*
99	17,6935	10,8356	*	*

3.6.2 Isolat 5 Biru

Kontrol	Jumlah Larva yang Mati (ekor)					Modus
	I	II	III	IV	V	
Pelarut	0	1	0	0	0	0
DMSO	0	0	0	0	0	0
Air laut	0	0	0	0	0	0

Konsentrasi (ppm)	Jumlah Larva yang Mati (ekor)					Modus
	I	II	III	IV	V	
1	0	0	0	0	0	0
2	1	0	0	0	1	0
3	0	1	2	0	0	0
4	0	1	1	1	2	1
5	0	2	3	2	2	2



Probit Analysis: Mortalitas; N versus Konsentrasi

Distribution: Normal

Response Information

Variable	Value	Count
Mortalitas	Event	3
	Non-event	47

N Total 50
 Estimation Method: Maximum Likelihood
 Regression Table

Variable	Coef	Standard Error	Z	P
Constant	-4,54155	2,14216	-2,12	0,034
Konsentrasi	0,755824	0,473633	1,60	0,111

Natural

Response 0
 Log-Likelihood = -8,489
 Goodness-of-Fit Tests

Method	Chi-Square	DF	P
Pearson	0,368661	3	0,947
Deviance	0,468963	3	0,926

Tolerance Distribution
 Parameter Estimates

Parameter	Estimate	Standard Error	95,0% Normal CI	
			Lower	Upper
Mean	6,00875	1,06508	3,92122	8,09627
StDev	1,32306	0,829088	0,387417	4,51835

Table of Percentiles

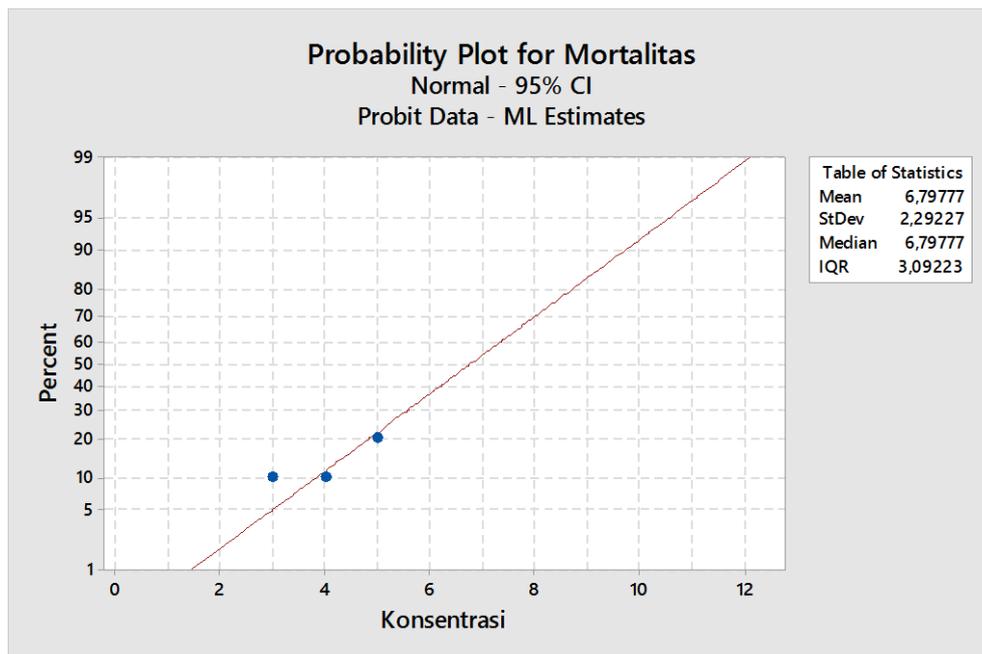
Percent	Percentile	Standard Error	95,0% Fiducial CI	
			Lower	Upper
1	2,93085	1,06095	*	*
2	3,29151	0,861284	*	*
3	3,52034	0,742476	*	*
4	3,69248	0,659575	*	*
5	3,83251	0,598045	*	*
6	3,95169	0,551293	*	*
7	4,05619	0,515742	*	*
8	4,14975	0,489184	*	*
9	4,23485	0,470105	*	*
10	4,31318	0,457360	*	*
20	4,89523	0,521806	*	*
30	5,31493	0,694898	*	*
40	5,67355	0,878886	*	*
50	6,00875	1,06508	*	*
60	6,34394	1,25881	*	*
70	6,70256	1,47105	*	*
80	7,12226	1,72346	*	*

90	7,70432	2,07787	*	*
91	7,78264	2,12583	*	*
92	7,86774	2,17799	*	*
93	7,96131	2,23540	*	*
94	8,06580	2,29960	*	*
95	8,18499	2,37290	*	*
96	8,32501	2,45913	*	*
97	8,49715	2,56528	*	*
98	8,72598	2,70659	*	*
99	9,08664	2,92973	*	*

3.6.3 Isolat 6 Ungu

Kontrol	Jumlah Larva yang Mati (ekor)					Modus
	I	II	III	IV	V	
Pelarut	0	0	0	0	0	0
DMSO	0	0	0	0	0	0
Air laut	0	0	0	0	0	0

Konsentrasi (ppm)	Jumlah Larva yang Mati (ekor)					Modus
	I	II	III	IV	V	
1	0	0	0	0	1	0
2	0	0	1	0	0	0
3	0	1	1	1	0	1
4	2	1	1	1	1	1
5	1	2	2	3	2	2



Probit Analysis: Mortalitas; N versus Konsentrasi

Distribution: Normal

Response Information

Variable	Value	Count
----------	-------	-------

Mortalitas	Event	4
------------	-------	---

	Non-event	46
--	-----------	----

N	Total	50
---	-------	----

Estimation Method: Maximum Likelihood

Regression Table

Variable	Coef	Standard Error	Z	P
Constant	-2,96552	1,05091	-2,82	0,005
Konsentrasi	0,436248	0,256785	1,70	0,089

Natural

Response 0

Log-Likelihood = -11,981

Goodness-of-Fit Tests

Method	Chi-Square	DF	P
Pearson	0,836370	3	0,841
Deviance	0,949946	3	0,813

Tolerance Distribution

Parameter Estimates

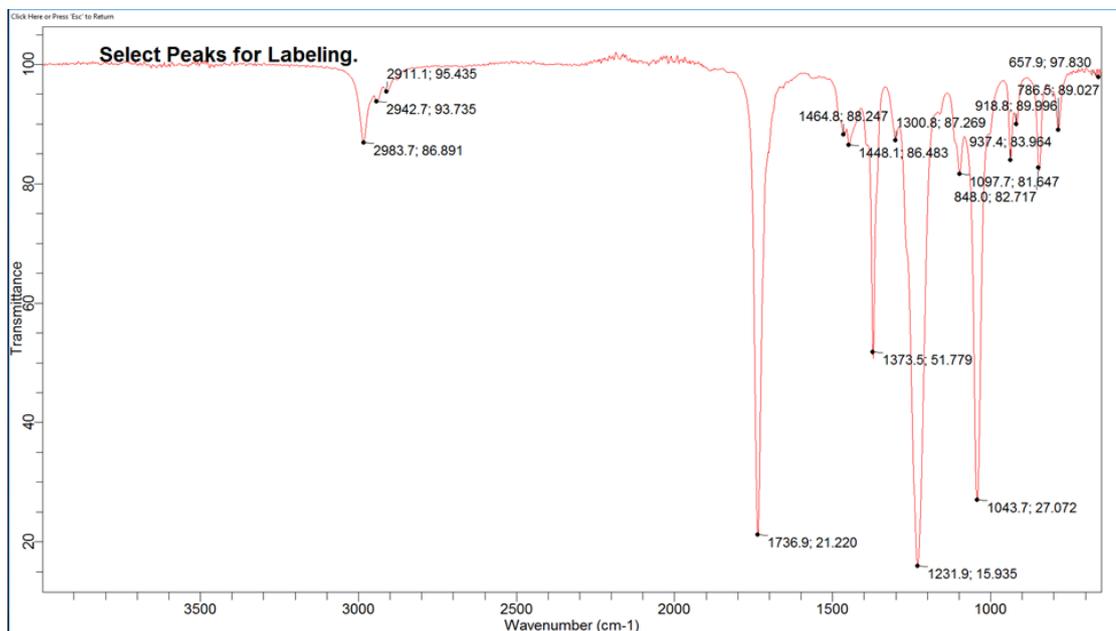
Parameter	Estimate	Standard Error	95,0% Normal CI	
			Lower	Upper
Mean	6,79777	1,80142	3,26706	10,3285

StDev 2,29227 1,34928 0,723155 7,26610
 Table of Percentiles

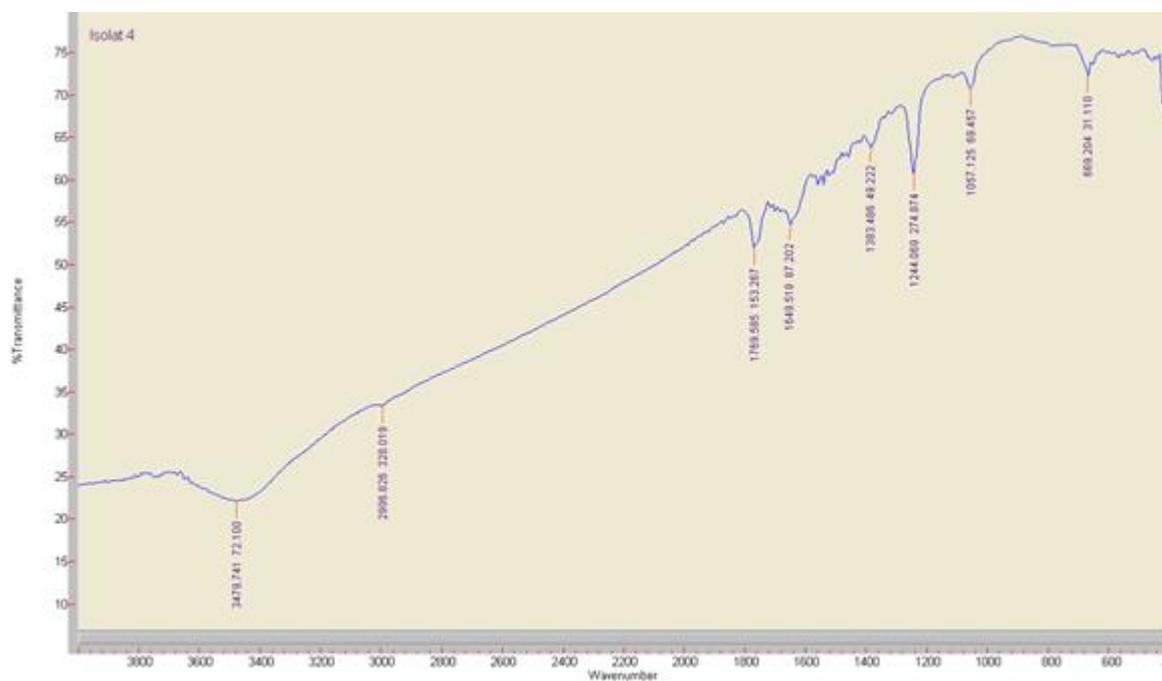
Percent	Percentile	Standard Error	95,0% Fiducial CI	
			Lower	Upper
1	1,46515	1,59524	*	*
2	2,09002	1,26792	*	*
3	2,48648	1,07392	*	*
4	2,78472	0,939852	*	*
5	3,02732	0,842125	*	*
6	3,23381	0,770115	*	*
7	3,41486	0,718048	*	*
8	3,57697	0,682268	*	*
9	3,72440	0,660101	*	*
10	3,86011	0,649350	*	*
20	4,86855	0,846650	*	*
30	5,59570	1,16915	*	*
40	6,21703	1,48751	*	*
50	6,79777	1,80142	*	*
60	7,37851	2,12396	*	*
70	7,99984	2,47479	*	*
80	8,72700	2,89006	*	*
90	9,73544	3,47111	*	*
91	9,87115	3,54962	*	*
92	10,0186	3,63498	*	*
93	10,1807	3,72891	*	*
94	10,3617	3,83391	*	*
95	10,5682	3,95376	*	*
96	10,8108	4,09469	*	*
97	11,1091	4,26813	*	*
98	11,5055	4,49893	*	*
99	12,1304	4,86320	*	*

Lampiran 4. Data Instrumentasi FT-IR

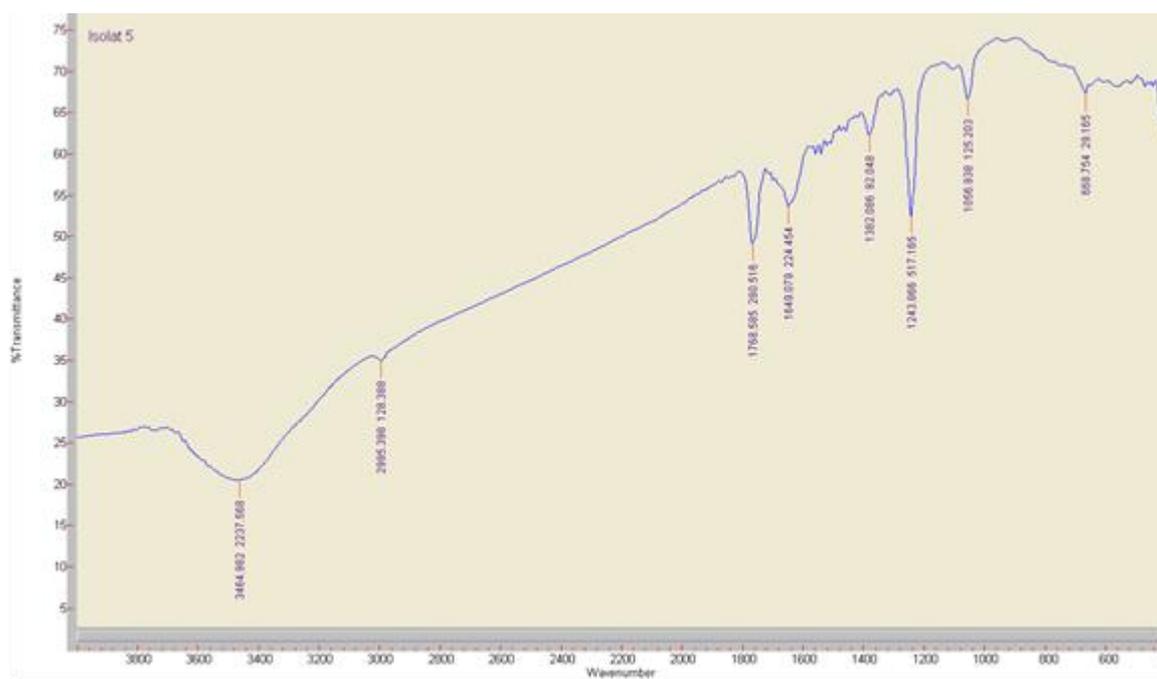
4.4 Hasil Spektrofotometer FTIR Fraksi Etil Asetat



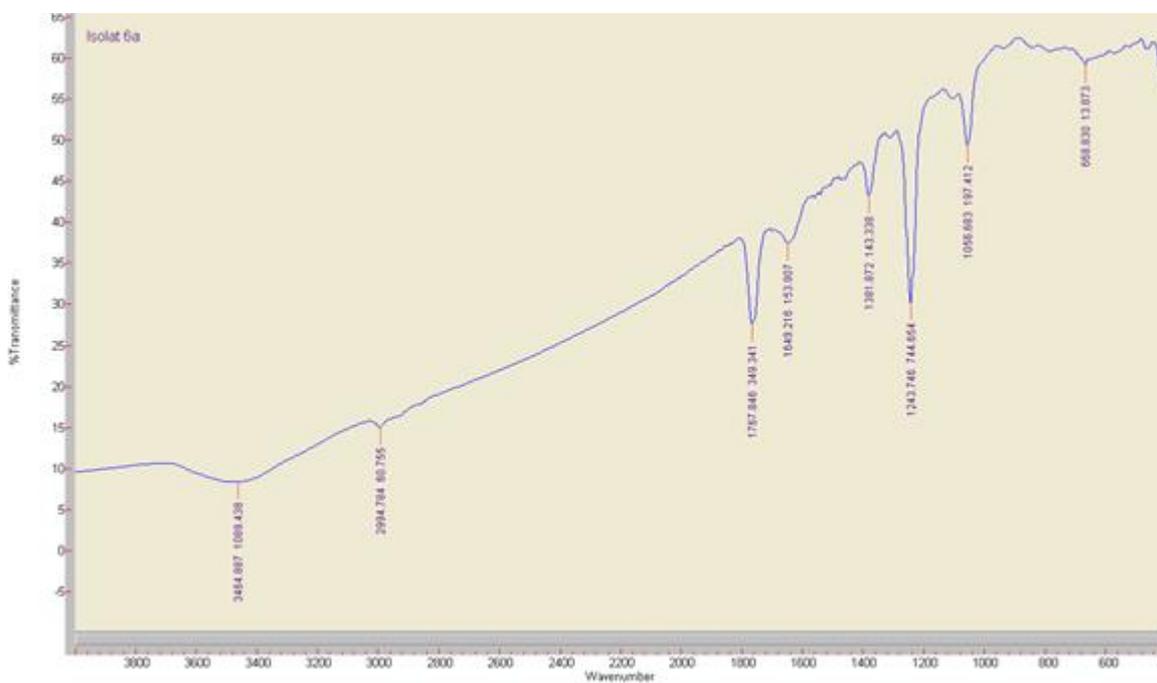
4.5 Hasil Spektrofotometer FTIR Isolat 4 Hijau Kuning



4.6 Hasil Spektrofotometer FTIR Isolat 5 Biru



4.7 Hasil Spektrofotometer FTIR Isolat 6 Ungu



Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian

5.1 Preparasi Sampel



Pencucian daun katuk



Pengeringan daun katuk



Serbuk daun katuk

5.2 Analisis Kadar Air dan Ekstraksi Ultrasonik



Pengovenan cawan



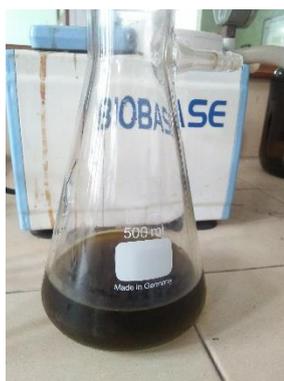
Desikator cawan



Ekstraksi ultrasonik



Penyaringan dengan corong buchner



Filtrat hasil ekstraksi ultrasonik



Pemekatan dengan rotary evaporator

5.3 Hidrolisis dan Partisi



Ekstrak pekat
etanol daun katuk



Hidrolisis ekstrak
etanol



Penambahan NaHCO_3
hingga pH netral



Terbentuknya busa
pada saat penambahan
 NaHCO_3



Pengecekan pH setelah
ditambahkan NaHCO_3



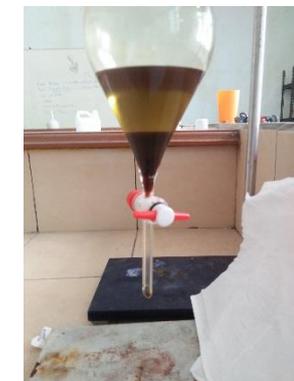
Hasil partisi
pengulangan 1



Hasil partisi
pengulangan 2



Hasil partisi
pengulangan 3



Hasil partisi setelah
digabungkan



Fraksi etil asetat

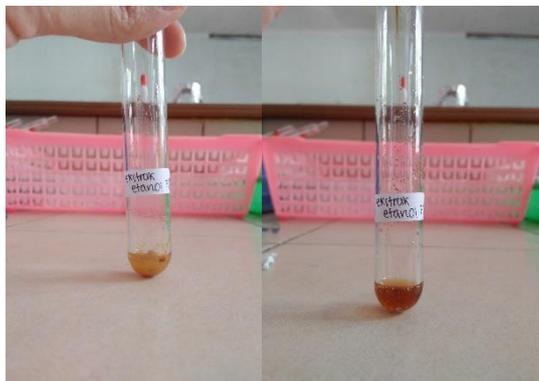


Fraksi air

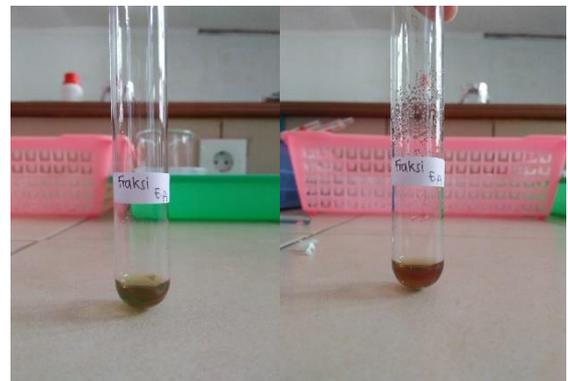


Fraksi kental etil asetat

5.4 Uji Fitokimia



Ekstrak etanol sebelum dan sesudah ditambahkan HCl



Fraksi etil asetat sebelum dan sesudah ditambahkan HCl

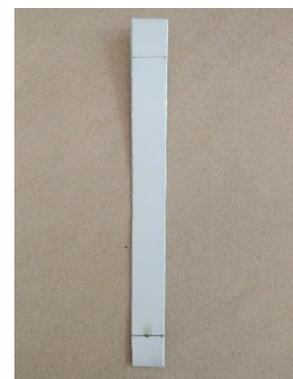
5.5 KLTA dan KLTP



Larutan stok ekstrak etanol 70%



Larutan stok fraksi etil asetat



Pemotongan plat KLTA



Elusi KLTA



Pemotongan plat
KLTP



Elusi KLTP

5.6 Uji Toksisitas



Penetasan Larva Udang



Uji toksisitas

5.7 Preparasi Sampel Identifikasi FTIR



Larutan stok isolat 4, 5, 6