

**UJI TOKSISITAS DAN IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT
SEKUNDER PADA DAUN BELUNTAS (*Pluchea Indica L*) HASIL
EKSTRAKSI ULTRASONIK DENGAN VARIASI PELARUT**

SKRIPSI

**Oleh :
DEAN ARISHENA FURQONI
NIM. 17630033**



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

**UJI TOKSISITAS DAN IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT
SEKUNDER PADA DAUN BELUNTAS (*Pluchea Indica L*) HASIL
EKSTRAKSI ULTRASONIK DENGAN VARIASI PELARUT**

SKRIPSI

**Oleh:
DEAN ARISHENA FURQONI
NIM. 17630033**

**Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri 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 SENYAWA METABOLIT
SEKUNDER PADA DAUN BELUNTAS (*Pluchea Indica* L) HASIL
EKSTRAKSI ULTRASONIK DENGAN
VARIASI PELARUT**

SKRIPSI

Oleh :
DEAN ARISHENA FURQONI
NIM. 17630033

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal : 27 Desember 2021

Pembimbing I



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

Pembimbing II



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

**Mengetahui,
Ketua Program Studi**



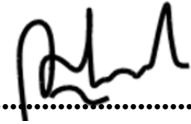
Rachmawati Ningsih, M.Si
NIP. 19810811 200801 2 010

**UJI TOKSISITAS DAN IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT
SEKUNDER PADA DAUN BELUNTAS (*Pluchea Indica* L) HASIL
EKSTRAKSI ULTRASONIK DENGAN
VARIASI PELARUT**

Oleh :
DEAN ARISHENA FURQONI
NIM. 17630033

**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal : 24 Desember 2021**

Penguji Utama : Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002


(.....)

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


(.....)

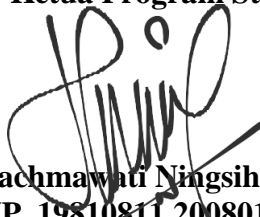
Sekretaris Penguji : Rachmawati Ningsih, M.Si
NIP. 19810811 200801 2 010


(.....)

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


(.....)

**Mengetahui,
Ketua Program Studi**



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

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Dean Arishena Furqoni
NIM : 17630033
Program studi : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Uji Toksisitas dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder pada Daun Beluntas (*Pluchea Indica L*) Hasil Ekstraksi Ultrasonik Dengan Variasi Pelarut

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

Malang, 27 Desember 2021

Yang membuat pernyataan,




Dean Arishena Furqoni
NIM. 17630033

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobbil'aalamiin

Puji syukur kehadiran Allah Swt. atas rahmat, hidayah dan ridhonya sehingga karya sederhana ini dapat terselesaikan.

Saya mempersembahkan karya sederhana ini kepada:

Kedua orang tua saya,

Bapak Gandung Sujarnoko, Ibu Suliani, serta saudara-saudara saya Ekky Dio Kurnia Gani dan Izzadin Akbar Gumilang yang selama ini telah memberikan dukungan, bimbingan dan nasihat untuk dapat menyelesaikan tugas akhir ini.

Untuk segala kebaikan, terimakasih.

Seluruh Tenaga Pendidik Program Studi Kimia, terutama Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si, dan Bapak A. Ghanaim Fasya, M.Si selaku dosen pembimbing skripsi; serta Ibu Dr. Akyunul Jannah, M.P selaku dosen wali, yang telah memberikan bimbingan, nasihat serta ilmu yang bermanfaat, baik dalam proses pembelajaran di perkuliahan maupun dalam proses penelitian.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penyusun panjatkan kehadirat Allah SWT Yang Maha Pengasih dan Yang Maha Penyayang, atas limpah rahmat, taufiq, dan hidayah-Nya penyusun dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Uji Toksisitas dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder pada Daun Beluntas (*Pluchea Indica L.*) Hasil Ekstraksi Ultrasonik Dengan Variasi Pelarut”** dengan baik.

Sholawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW yang telah membimbing kita ke jalan yang diridhai Allah SWT. Skripsi merupakan salah satu tugas akhir studi yang harus ditempuh sebagai syarat menyelesaikan program S-1 (Strata-1) di Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Penyusunan skripsi ini tidak luput dari bantuan, bimbingan, nasehat dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penyusun mengucapkan terima kasih kepada:

1. Allah SWT atas limpahan rahmat taufiq serta hidayah-nya sehingga penyusun dapat menyelesaikan Skripsi dengan baik.
2. Orang tua penyusun yang telah banyak memberikan perhatian, nasihat, doa, dan dukungan baik moril maupun materil yang tak mungkin terbalaskan, serta keluarga besar penyusun.
3. Bapak Prof. Dr. M. Zainuddin, MA, selaku Rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
5. Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
6. Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si selaku dosen pembimbing skripsi yang telah memberikan bimbingan, pengarahan dan nasehat kepada penyusun dalam menyelesaikan laporan dengan baik.
7. Bapak Ahmad Ghanaim Fasya, M,Si selaku dosen agama yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, dan nasehat kepada penyusun dalam menyelesaikan laporan.

8. Seluruh dosen Kimia UIN Malana Malik Ibrahim Malang yang telah mengalirkan ilmu, pengetahuan, pengalaman, wacana, dan wawasannya sebagai pedoman dan bekal bagi penyusun guna menyelesaikan laporan. Teriring do'a dan harapan semoga apa yang telah mereka berikan kepada penyusun mendapatkan balasan yang baik dari Allah SWT. Aamiin.
9. Semua pihak yang secara langsung maupun tidak langsung telah ikut memberikan kontribusi dan motivasi selama penyusunan skripsi.

Dengan menyadari atas terbatasnya ilmu yang penyusun miliki skripsi ini tentu jauh dari kesempurnaan, untuk itu penyusun dengan senang hati mengharapkan kritik dan saran untuk perbaikan dalam penyusunan selanjutnya. Terlepas dari segala kekurangan semoga skripsi ini dapat memberikan informasi dan kontribusi positif serta bermanfaat bagi kita semua. Aamiin.

Malang, 25 April 2021

Dean Arishena Furqoni

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
ABSTRAK	xiii
ABSTRACT.....	xiv
مستخلص البحث	xv
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan	4
1.4 Batasan Masalah	4
1.5 Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tanaman Beluntas (<i>Pluchea indica</i> L.)	6
2.1.1 Deskripsi Tanaman Beluntas	6
2.1.2 Klasifikasi Tanaman Beluntas	6
2.1.3 Kandungan dan Kegunaan Tanaman Beluntas	7
2.2 Senyawa Metabolit Sekunder dari Tanaman Beluntas	8
2.3 Ekstraksi Metode Ultrasonik pada Daun Beluntas (<i>Pluchea indica</i> L)	9
2.4 Hidrolisis	9
2.5 Uji Fitokimia pada Daun Beluntas	10
2.5.1 Uji Flavonoid	10
2.5.2 Uji Alkaloid	11
2.5.3 Uji Steroid dan Terpenoid.....	12
2.5.4 Uji Tanin	13
2.5.5 Uji Saponin	14
2.6 Uji Toksisitas dengan Metode BSLT (<i>Brine Shrimp Lethality Test</i>)	15
2.5 Identifikasi dengan Spektroskopi UV-Vis.....	17
BAB III METODOLOGI	
3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan.....	19
3.2 Alat dan Bahan.	19
3.2.1 Alat.....	19
3.2.2 Bahan	19

3.3 Rancangan Penelitian.....	19
3.4 Tahapan Penelitian.	20
3.5 Cara Kerja.....	21
3.5.1 Preparasi Sampel.....	21
3.5.2 Analisis Kadar Air	21
3.5.3 Ekstraksi Ultrasonik Daun Beluntas	22
3.5.4 Hidrolisis.....	22
3.5.5 Uji Fitokimia.....	22
3.5.5.1 Uji Alkaloid	23
3.5.5.2 Uji Flavonoid.....	23
3.5.5.3 Uji Tanin.....	23
3.5.5.4 Uji Uji Triterpenoid dan Steroid	23
3.5.5.5 Uji Saponin.....	24
3.5.6 Uji Toksisitas Metode BSLT	24
3.5.6.1 Penetasan Larva Udang <i>Artemia Salina Leach</i>	24
3.5.6.2 Uji Toksisitas.....	24
3.5.7 Identifikasi dengan Spektrofotometer UV-Vis.....	25
3.5.8 Analisa Data.....	25
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Preparasi Sampel	26
4.2 Analisis Kadar Air	27
4.3 Ekstraksi Daun Beluntas dengan Metode Ultrasonik.....	27
4.4 Hidrolisis	29
4.5 Toksisitas Daun Beluntas (<i>Pluchea Indica L.</i>).....	30
4.5.1 Penetasan Larva Udang <i>Aeremia Salina Leach</i>	30
4.5.2 Uji Toksisitas	30
4.6 Karakterisasi Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis.....	33
4.7 Uji Fitokimia.....	37
2.5.1 Uji Flavonoid	38
2.5.2 Uji Tanin	39
2.5.3 Uji Saponin	39
2.5.4 Uji Steroid dan Terpenoid.....	40
4.8 Daun Beluntas dalam Prospektif Islam	41
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
5.1 Kesimpulan.....	44
5.2 Saran	44
DAFTAR PUSTAKA.....	45
LAMPIRAN	51

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Daun Beluntas (<i>Pluchea indica</i> L.).....	7
Gambar 2.2 Reaksi Hidrolisis.....	10
Gambar 2.3 Struktur Flavonoid.....	11
Gambar 2.4 Contoh Senyawa Alkaloid.....	11
Gambar 2.5 Struktur Steroid.....	12
Gambar 2.6 Struktur Tanin.....	14
Gambar 2.7 Struktur inti saponin.....	15
Gambar 2.8 <i>Artemia salina</i> Leach.....	16
Gambar 2.9 Spektrum UV-Visible isolat daun gambir.....	18
Gambar 4.1. Sampel Daun Beluntas (a) Basah (b) Kering.....	26
Gambar 4.2. Hasil ekstraksi daun beluntas dengan berbagai pelarut (a) etanol (b) etil asetat (c) n-heksana	28
Gambar 4.3. Reaksi antara HCl dengan NaHCO ₃	29
Gambar 4.4. Hasil UV-Vis ekstrak etanol daun beluntas tanpa hidrolisis.....	34
Gambar 4.5. Hasil UV-Vis ekstrak etanol daun beluntas dengan hidrolisis....	34
Gambar 4.6. Hasil UV-Vis ekstrak etil asetat daun beluntas tanpa hidrolisis .	35
Gambar 4.7. Hasil UV-Vis ekstrak etil asetat daun beluntas dengan hidrolisis	35
Gambar 4.8. Hasil UV-Vis ekstrak n-heksana daun beluntas tanpa hidrolisis	36
Gambar 4.9. Hasil UV-Vis ekstrak n-heksana daun beluntas dengan hidrolisis	36
Gambar 4.10. Hasil uji flavonoid.....	38
Gambar 4.11. Reaksi dugaan antara senyawa flavonoid dengan Mg dan HCl	38
Gambar 4.12. Persamaan reaksi tanin	39
Gambar 4.13. Persamaan reaksi saponin.....	40
Gambar 4.14. Reaksi dugaan uji Steroid.....	40
Gambar 4.15. Hasil uji terpenoid dan steroid	41

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Hasil Rendemen Ekstrak Daun Beluntas dengan Berbagai Pelarut.	27
Tabel 4.2 Hasil Modus Kematian Larva Udang Artemia Salina Leach	31
Tabel 4.3 Hasil Mortalitas Larva Udang Artemia Salina Leach.....	31
Tabel 4.4 Nilai LC50 pada Masing-Masing Ekstrak	32
Tabel 4.5 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Daun Beluntas (<i>Pluchea Indica L</i>).....	37

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian	51
Lampiran 2. Diagram Alir	52
Lampiran 3. Perhitungan.....	56
Lampiran 4. Data Pengamatan dan Perhitungan.....	59
Lampiran 5. Data Instrumentasi UV-Vis	75
Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian.....	83

ABSTRAK

Furqoni, Arishena Dean. 2021. **Uji Toksisitas dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Pada Daun Beluntas (*Pluchea Indica L*) Hasil Ekstraksi Ultrasonik Dengan Variasi Pelarut**. Pembimbing I: Rachmawati Ningsih, M.Si. ; Pembimbing II: A Ghanaim Fasya, M.Si

Beluntas merupakan tumbuhan semak yang ditanam menjadi tumbuhan pagar. Daun beluntas memiliki manfaat yang sangat melimpah dan mengobati bermacam penyakit. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui toksisitas ekstrak daun beluntas menggunakan metode BSLT dan untuk mengetahui hasil karakterisasi senyawa metabolit sekunder menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Daun beluntas (*Pluchea Indica L*) diekstraksi dengan ultrasonik menggunakan pelarut etanol, etil asetat, dan n-heksan. Hasil masing-masing ekstrak kemudian dihidrolisis menggunakan asam dan diuji toksisitas menggunakan metode BSLT dengan variasi konsentrasi. Hasil ekstrak dan hidrolisisnya selanjutnya dilakukan uji fitokimia dan karakterisasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai toksisitas (LC_{50}) pada pelarut etanol sebesar 984,755 ppm dan hidrolisisnya sebesar 1216,07 ppm, etil asetat sebesar 275,083 ppm dan hidrolisisnya sebesar 297,181 ppm, n-heksana sebesar 88,3218 ppm dan hasil hidrolisisnya 116,524 ppm. Karakterisasi menggunakan UV-Vis menunjukkan adanya serapan maksimum pada panjang gelombang 203 nm yang menunjukkan transisi $\pi \rightarrow \pi^*$, 204 nm yang menunjukkan transisi $\pi \rightarrow \pi^*$, 329 nm yang menunjukkan transisi $\pi \rightarrow \pi^*$, dan 413 nm yang menunjukkan transisi $n \rightarrow \pi^*$. Uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan hidrolisisnya mengandung senyawa flavonoid, tannin, saponin dan steroid. Ekstrak etil asetat dan hidrolisisnya mengandung senyawa flavonoid, saponin, steroid dan terpenoid. Ekstrak n-heksana dan hidrolisisnya mengandung senyawa flavonoid dan terpenoid.

Kata Kunci : Beluntas, ekstraksi ultrasonik, toksisitas, fitokimia , UV-Vis.

ABSTRACT

Furqoni, Arishena Dean. 2021. **Toxicity Test and Identification of Secondary Metabolite Compounds on Beluntas Leaves (*Pluchea Indica* L) Ultrasonic Extraction Results with Variation of Solvents.** Advisor I: Rachmawati Ningsih, M.Si. ; Supervisor II: A Ghanaim Fasya, M.Si

Beluntas are shrubs that are planted as hedges. Beluntas leaves have very abundant benefits and treat various diseases. The purpose of this study was to determine the toxicity of beluntas leaf extract using the BSLT method and to determine the results of the characterization of secondary metabolites using a UV-Vis spectrophotometer.

Beluntas leaves (*Pluchea Indica* L) were extracted by ultrasonic using ethanol, ethyl acetate, and n-hexane as solvents. The results of each extract were then hydrolyzed using acid and tested for toxicity using the BSLT method with various concentrations. The results of the extract and hydrolysis were then carried out with phytochemical tests and characterization using a UV-Vis spectrophotometer.

The results showed that the toxicity value (LC_{50}) in ethanol solvent was 984.755 ppm and the hydrolysis was 1216.07 ppm, ethyl acetate was 275.083 ppm and the hydrolysis was 297.181 ppm, n-hexane was 88.3218 ppm and the hydrolysis result was 116.524 ppm. Characterization using UV-Vis showed that there was a maximum absorption at a wavelength of 203 nm which indicated $\pi \rightarrow \pi^*$ transition, 204 nm which indicated $\pi \rightarrow \pi^*$ transition, 329 nm which indicated $\pi \rightarrow \pi^*$ transition, and 413 nm which indicated $n \rightarrow \pi^*$ transition. Phytochemical test showed that the ethanol extract and its hydrolysis contained flavonoid compounds, tannins, saponins and steroids. The ethyl acetate extract and its hydrolysis contain flavonoid compounds, saponins, steroids and terpenoids. The n-hexane extract and its hydrolysis contain flavonoid and terpenoid compounds.

Keywords: Beluntas, ultrasonic extraction, toxicity, phytochemicals, UV-Vis.

مستخلص البحث

فورقوني، ديان اريسهينا ٢٠٢١. اختبار السمية وتحديد المركبات الأيضية الثانوية في أوراق بيلونتاس (*Pluchea Indica*) نتائج الاستخراج بالموجات فوق الصوتية مع تنوع

المذيبات المشرف الأول: رهموتي نينعسيه، الماسسير، المشرف الثاني: أ. غانائم فاشا، الماسسير بيلونتاس هي شجيرات مزروعة كتحوطات. أوراق بيلونتاس لها فوائد وفيرة للغاية وتعالج الأمراض المختلفة. كان الغرض من هذه الدراسة هو تحديد سمية مستخلص أوراق بيلونتاس باستخدام طريقة BSLT وتحديد نتائج توصيف المستقلبات الثانوية باستخدام مقياس الطيف الضوئي UV-Vis.

تم استخراج أوراق بيلونتاس (*Pluchea Indica L*) بالموجات فوق الصوتية باستخدام الإيثانول، وخلات الإيثيل، و ن الهكسان كمذيبات. تم بعد ذلك تحليل نتائج كل مستخلص باستخدام الحمض واختبار السمية باستخدام طريقة BSLT بتركيزات مختلفة. تم إجراء نتائج المستخلص والتحليل المائي بعد ذلك باختبارات كيميائية نباتية وتوصيف باستخدام مقياس الطيف الضوئي UV-Vis.

أظهرت النتائج أن قيمة السمية (LC_{50}) في مذيب الإيثانول كانت ٩٨٤,٧٥٥ جزء في المليون والتحليل المائي ١٢١٦,٠٧ جزء في المليون، وخلات الإيثيل ٢٧٥,٠٨٣ جزء في المليون والتحليل المائي ٢٩٧,١٨١ جزء في المليون، و ن الهكسان ٨٨,٣٢١٨ جزء في المليون ونتائج التحلل المائي ١١٦,٥٢٤ جزء في المليون. أظهر التوصيف باستخدام UV-Vis أن هناك حدًا أقصى للامتصاص بطول موجة يبلغ ٢٠٣ نانومتر مما يشير إلى الانتقال $\pi \rightarrow \pi^*$ ، ٢٠٤ نانومتر الذي يشير إلى $\pi \rightarrow \pi^*$ الانتقال، ٣٢٩ نانومتر الذي يشير إلى $\pi \rightarrow \pi^*$ الانتقال، و ٤١٣ نانومتر التي أشار إلى الانتقال $n \rightarrow \pi^*$. أظهر الاختبار الكيميائي النباتي أن مستخلص الإيثانول والتحليل المائي له يحتويان على مركبات الفلافونويد والعفص والصابونين والمنشطات. يحتوي مستخلص أسيتات الإيثيل والتحليل المائي الخاص به على مركبات الفلافونويد، والصابونين، والمنشطات، والتربينويدات. يحتوي مستخلص ن الهكسان وتحليله المائي على مركبات الفلافونويد والتربينويد.

الكلمات المفاتيحية: بيلونتاس، استخراج بالموجات فوق الصوتية، سمية، مواد كيميائية نباتية، UV-Vis.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Obat tradisional dikala ini kian banyak ditinggalkan oleh golongan pekerja paling utama di perkotaan yang mempunyai agenda kerja yang padat. Mereka lebih memilih untuk konsumsi obat- obatan sintesis. Pemakaian obat tradisional mempunyai kecenderungan untuk kembali ke alam dengan menggunakan bermacam tumbuhan obat, sebab obat buatan dirasa sangat mahal dan dampak samping yang lumayan besar (Wasito, 2011).

Allah berfirman dalam surat an Nahl ayat 11:

يُنْبِتُ لَكُمْ بِهِ الزَّرْعَ وَالزَّيْتُونَ وَالنَّخِيلَ وَالْأَعْنَابَ وَمِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ

يَتَفَكَّرُونَ ﴿١١﴾

Artinya : *“Dia menumbuhkan bagi kamu dengan air hujan itu tanam-tanaman; zaitun, korma, anggur dan segala macam buah-buahan. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar ada tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang memikirkan.”*

Ayat diatas menjelaskan bahwa Allah segala sesuatu yang ada di bumi dan menghijaukan tanaman-tanaman dengan air hujan sebagai sumber makanan kita. Dengan (air hujan) itu Dia menumbuhkan untuk kalian tanam-tanaman, zaitun, kurma, anggur dan segala macam buah-buahan. Sebetulnya air hujan serta apa yang ditumbuhkannya memiliki petunjuk atas kekuasaan Allah untuk kalangan yang memikirkan ciptaan- Nya, kemudian mereka menjadikannya bukti kemahaagungan Allah- Subhanahuwataala.

Uji toksisitas merupakan pengujian untuk mendeteksi tingkat racun dari ekstrak atau fraksi isolat tanaman pada hewan uji dengan melihat jumlah kematian

pada hewan uji. Hewan yang digunakan sebagai parameter uji toksisitas adalah larva nyamuk, ikan dan larva udang. Kematian dari hewan uji dapat dianggap sebagai efek dari zat tertentu. Senyawa kimia dianggap sangat toksik apabila memiliki nilai LC_{50} dibawah 30 ppm, dianggap toksik pada LC_{50} 30-1000 ppm dan dianggap tidak toksik bila nilai LC_{50} diatas 1000 ppm (Meyer, dkk., 1982).

Penelitian toksisitas (Muta & Indah, 2015) pada ekstrak daun beluntas dengan pelarut etanol 96% menggunakan larva *S. Litura F.* didapatkan LC_{50} pada konsentrasi 28% (28 gr/100 ml) dalam kurun waktu 24 jam pengamatan. Rochmat (2017) melakukan uji toksisitas pada daun beluntas menggunakan fraksi n-heksana dan fraksi etil asetat pada larva nyamuk *Aedes Aegypti* dengan konsentrasi 50, 100, 250, 500 dan 1000 ppm menghasilkan nilai LC_{50} masing-masing sebesar 46,09 ppm dan 108,79 ppm.

Identifikasi senyawa metabolit sekunder ialah langkah dini yang berarti dalam riset untuk mencari zat aktif baru dari bahan alam yang bisa jadi prekursor untuk sintesis obat ataupun prototip obat beraktifitas tertentu (Rasyid, 2012). Golongan senyawa metabolit sekunder sangat banyak serta biasanya dijumpai dalam organisme seperti alkaloid, flavonoid, steroid, terpenoid serta fenol (Marliana, 2007). Isi metabolit sekundernya berbeda-beda demikian pula kekuatan warna(intensitas) yang ditimbulkannya pada uji identifikasi Isi metabolit sekunder yang ada dalam daun beluntas menurut Maria, dkk (2015) meliputi Alkaliod, fenolik, flavonoid, saponin, serta tanin.

Penetapan prosedur ekstraksi sangat diperlukan sebab hasil ekstraksi akan mempresentasikan tingkatan keberhasilan dari metode tersebut. Metode konvensional yang kerap digunakan merupakan sokhletasi, maserasi, perklorasi

serta fraksinasi. Dimana cara konvensional ini mempunyai kekurangan karena membutuhkan waktu ekstraksi yang lama, hasil ekstrak yang didapatkan kurang maksimal serta membutuhkan banyak pelarut. Optimasi ekstraksi daun beluntas dapat dilakukan dengan metode ekstraksi ultrasonik (Rahmah, 2018).

Penelitian yang dilakukan Agus Rochmat dkk, (2017) menggunakan metode Sokletasi dengan pelarut etanol, etil asetat, dan n-heksana masing masing menghasilkan rendemen sebesar 3,8742%; 8627% dan 1, 1,2054%. Widyasari (2018) melakukan ekstraksi teh putih dengan metode ultrasonik dan menghasilkan rendemen total 67,35%. Hasil ultrasonik memiliki nilai yang lebih baik dibandingkan metode maserasi yang menghasilkan rendemen 60,12%. Anggraini (2018) melakukan ekstraksi ubi jalar ungu dengan pelarut etanol 96%, persen rendemen metode ekstraksi maserasi 12 , 24, dan 48 jam berturut-turut sebesar 6,236%, 5,714% dan 6,576% sedangkan persen rendemen metode ekstraksi sonikasi 30, 45, dan 60 menit berturut-turut sebesar 6,511%, 5,883%, dan 5,349%.

Waktu dan perbandingan berat sampel sangat mempengaruhi hasil rendemen yang dihasilkan pada metode ekstraksi ultrasonik. Percobaan yang dilakukan oleh Sekarsari dkk., (2019) menggunakan ekstraksi ultrasonik pada daun jambu biji dengan variasi waktu 10, 20, 30 menit menghasilkan rendemen terbanyak sejumlah 16.26% dengan waktu ekstraksi 20 menit. Berikutnya yang dilakukan oleh Handayani (2016) daun sirsak alterasi rasio bahan: pelarut (1: 5, 1: 10, 1: 15) dengan alterasi waktu (10, 15, 20) dengan pelarut etanol. Dihasilkan rendemen nilai paling tinggi dengan waktu 20 menit sebesar 11,72%.

Berdasarkan latar belakang diatas, maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian pada sampel daun beluntas (*Pluchea idica* L.) yang diekstraksi

menggunakan metode ekstraksi ultrasonik dengan variasi pelarut etanol, etilasetat, dan n-heksan dengan perbandingan sample:pelarut (1:10) selama 20 menit. Hasil ekstraksi dilakukan hidrolisis menggunakan HCl 2N. Hasil hidrolisis akan dilanjutkan skrinning fitokimia dan uji toksisitas dengan metode BSLT. Kemudian di karakterisasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis guna mengetahui nilai panjang gelombang maksimal senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak daun beluntas (*Pluchea idica* L.).

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Bagaimana toksisitas dari ekstrak daun beluntas (*Pluchea idica* L.) dan hasil hidrolisisnya terhadap larva *artemia salina leach* menggunakan metode BSLT?
2. Bagaimana hasil analisis UV-Vis pada ekstrak daun beluntas (*Pluchea idica* L.) serta hasil hidrolisisnya?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dalam penelitian ini adalah :

1. Untuk mengetahui toksisitas dari ekstrak daun beluntas (*Pluchea idica* L.) dan hasil hidrolisisnya terhadap larva *artemia salina leach* menggunakan metode BSLT.
2. Untuk mengetahui hasil analisis UV-Vis pada ekstrak daun beluntas (*Pluchea idica* L.) serta hasil hidrolisisnya.

1.4 Batasan Masalah

Batas masalah dalam penelitian ini adalah:

- 1 Sampel yang digunakan adalah daun beluntas (*Pluchea indica* L.) yang diperoleh dari Kelurahan Kedung Kandang Kota Malang.
- 2 Metode yang digunakan adalah metode ekstraksi ultrasonik.
- 3 Golongan senyawa metabolit sekunder yang diidentifikasi meliputi triterpenoid, steroid, alkaloid, saponin, tanin dan flavonoid.
- 4 Pelarut yang digunakan adalah etanol (polar), etil asetat (semi polar) dan n-heksana (non polar).
- 5 Uji toksisitas dilakukan menggunakan metode BSLT dengan menghitung nilai LC₅₀.
- 6 Identifikasi senyawa metabolit sekunder menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah:

1. Memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat tentang senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica* L.) sehingga dapat dijadikan sebagai bahan dasar uji toksisitas.
2. Menjadi rujukan bagi para peneliti untuk dapat melakukan penelitian selanjutnya dengan memanfaatkan daun beluntas (*Pluchea idica* L.) sebagai obat tradisional.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Beluntas (*Pluchea Indica L*)

2.1.1 Deskripsi Tanaman Beluntas

Beluntas biasanya tumbuh liar di wilayah kering bertanah keras serta berbatu, ataupun ditanam menjadi tumbuhan pagar. Tanaman ini butuh dipelajari lebih lanjut, khususnya untuk mengenali berbagai manfaat dari bahan aktif yang di milikinya. Berbagai pengalaman dimasyarakat, beluntas bisa dimanfaatkan untuk menyembuhkan demam, meredakan nyeri rematik, serta mengurangi bau badan (Dalimarta, 2005).

Beluntas ialah tumbuhan perdu tegak, besar menggapai 2 m, bercabang banyak, berdaun tunggal, tepi daun bergerigi, ujung daun runcing, daun muda bercorak hijau kekuningan ketika tua bercorak hijau pucat serta panjang daun 3,8 - 6,4 cm, apabila diremas berbau harum. Bunga tumbuhan beluntas ialah bunga majemuk dengan wujud bongkol kecil. Bunga beluntas mempunyai tabung kepala sari bercorak ungu serta tangkai putik dengan 2 cabang ungu yang menjulang tinggi (Van Steenis, 2008).

2.1.2 Klasifikasi Tanaman Beluntas

Klasifikasi tanaman beluntas (*Pluchea indica less*) menurut (Dalimarta, 2005) :

Kingdom	: Plantae
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub Kelas	: Asteridae
Ordo	: Asterales
Famili	: Asteraceae

Genus : *Pluchea*
Spesies : *Pluchea indica* (L.)



Gambar 2.1. Tanaman Beluntas (*Pluchea Indica* L)

2.1.3 Kandungan dan Kegunaan Tanaman Beluntas

Dalam dunia medis tanaman beluntas memiliki manfaat yang sangat melimpah. Daun beluntas bisa mengobati bermacam penyakit. Dalam penyembuhan, bagian tumbuhan yang bisa digunakan seperti dari pangkal, daun serta bunga. Tumbuhan beluntas (*Pluchae indica* L) ialah tanaman memiliki sifat *feed additive* alami (*additive non nutritive*), memuat senyawa yang berguna bagi tubuh seperti vitamin A, vitamin C dan flavonoid (Rukmiasih, 2011). Menurut Widiyatni, (2010) Senyawa fitokimia yang ditemukan pada daun beluntas meliputi tanin, sterol, fenol hidrokuinon serta flavonoid. Sementara pada pangkal beluntas terdapat senyawa flavonoid serta tanin (Ardiansyah, 2003).

Bersumber pada hasil uji fitokimia yang telah dilakukan oleh Ardiansyah, di tahun 2003, jenis senyawa aktif yang ditemukan dalam daun beluntas seperti flavonoid, alkaloid, tanin, steroid, fenol hidrokuinon, serta minyak atsiri (Ardiansyah, 2003).

2.2 Senyawa Metabolit Sekunder dari Tanaman Beluntas

Senyawa metabolit sekunder ialah senyawa organik yang berdimensi lebih kecil serta dibuat dalam sel tanaman, hewan serta mikroba yang melewati proses biosintesis dalam jumlah terbatas yang digunakan sebagai pendukung kehidupan tetapi tidak vital sebagaimana gula, asam amino serta asam lemak. Senyawa ini mempunyai kegiatan farmakologi serta biologi. Di bidang pengobatan secara spesifik, metabolit sekunder dipakai selaku kandidat obat ataupun senyawa penuntun (lead compound) untuk melangsungkan optimasi supaya mendapat senyawa yang lebih berpotensi dengan toksisitas minimum (Saifudin, 2014).

2.3 Ekstraksi Metode Ultrasonik pada Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.)

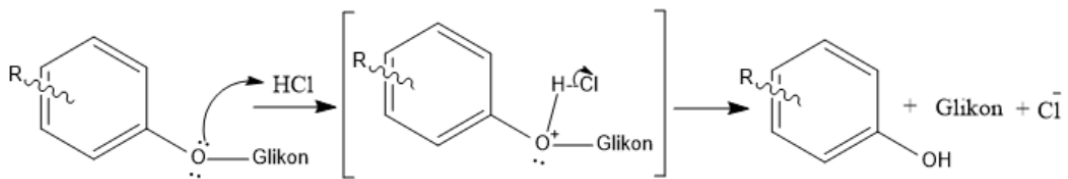
Teknik ekstraksi ini dilakukan dengan bantuan gelombang ultrasonik dengan frekuensi antara 20-2000 kHz untuk meningkatkan permeabilitas sel tumbuhan dan meningkatkan kavitasi. Karena adanya energi ultrasonik, ekstraksi dengan bantuan ultrasonik memiliki keuntungan dalam mengekstrak senyawa organik dan anorganik dari matriks bagian tanaman. Mekanismenya diperkirakan dengan meningkatkan perpindahan massa dan mempercepat akses pelarut ke senyawa bahan aktif yang terkandung dalam sel tumbuhan. Mekanisme ekstraksi model ini melibatkan dua fenomena fisik yaitu difusi dinding sel bagian tumbuhan dan ekskresi isi sel oleh pelarut setelah dinding sel pecah. Energi ultrasonik menghasilkan pencampuran yang efektif, transfer energi yang cepat, gradien termal dan suhu ekstraksi yang lebih rendah, selektivitas yang sangat tinggi dalam ekstraksi bahan aktif, ukuran perangkat yang kecil, respon yang cepat terhadap sistem kontrol, startup yang cepat dan ekstraksi yang terukur (Endarini, 2016).

Berdasarkan hasil percobaan yang dilakukan Andriani dkk., (2019) Hasil terbaik menunjukkan suhu 40 °C dengan waktu 20 menit memiliki jumlah rendemen 15,49%. Penelitian Ardianti & Kusnadi, (2015) pada daun berunuk dengan menggunakan variasi rasio bahan : pelarut (1:9, 1:10, dan 1:11) dan lama ekstraksi (10, 20, dan 30 menit). Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan terbaik didapat pada rasio bahan : pelarut 1:10 dan lama ekstraksi 20 menit dengan rendemen 26.24%.

2.4 Hidrolisis

Secara umum karbohidrat merupakan kandungan zat aktif yang selalu ada pada tumbuhan, terutama tumbuhan yang mampu mengalami fotosintesis termasuk daun beluntas (Endarini, 2016).

Hasil penelitian Laesah dkk. (2017) menunjukkan perbedaan konsentrasi HCl dalam proses hidrolisis α -selulosa dari limbah padat agar. Konsentrasi HCl terbaik dalam penelitian yang memenuhi syarat standar dari British Pharmacopoeia (2009) yaitu konsentrasi HCl 2N yang menghasilkan rendemen 77,60%. Diharmi & Sari, (2019) hasil Rendemen *Microcrystalline Cellulose* (MCC) dengan hidrolisis HCl 2, 2.5, dan 3.0 N dihasilkan berturut-turut 38.00, 37.00, dan 35,85%. Dari hasil penelitian di atas dapat dikatakan bahwa konsentrasi yang memberikan hasil terbaik adalah HCl 2 N, sehingga pada penelitian ini digunakan katalis asam HCl 2 N untuk mengoptimalkan proses hidrolisis yang dilakukan. Adapun dugaan reaksi pemutusan ikatan O-glikosida dari senyawa metabolit sekunder dengan HCl, dapat dilihat pada gambar 2.2 berikut :



Gambar 2.2 Reaksi Hidrolisis (Mardiyah, 2014)

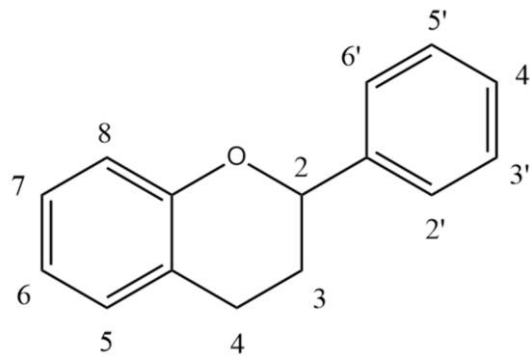
2.5 Uji Fitokimia pada Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.)

Senyawa metabolit sekunder pada Beluntas (*Pluchea indica* L.) dapat diketahui secara kualitatif melalui uji fitokimia. Prinsip uji fitokimia didasarkan terbentuknya warna dan busa (Kristianti dkk., 2008). Pengujian fitokimia meliputi uji alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid, dan terpenoid.

2.5.1 Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu golongan polifenol memiliki 2 cincin aromatik benzena dan terikat pada tiga atom karbon dalam konfigurasi C6- C3- C6 atau fenilbenzopiran, yang berarti kerangka karbon terdiri dari dua gugus C6 (cincin benzen tersubstitusi) yang terikat oleh rantai alifatik 3 karbon (Tian-Yang et al, 2018).

Senyawa flavonoid merupakan reaksi oksidasi, dimana senyawa flavonoid akan dioksidasi oleh Mg^{2+} dengan membentuk kompleks dengan ion magnesium. Reduksi dengan magnesium dan asam klorida pekat menghasilkan warna kemerahan pada ekstrak tanaman uji (Seniwaty dkk., 2009). Menunjukkan kandungan positif flavonoid apabila terbentuknya warna kuning (Setiabudi, D.,A. 2017).

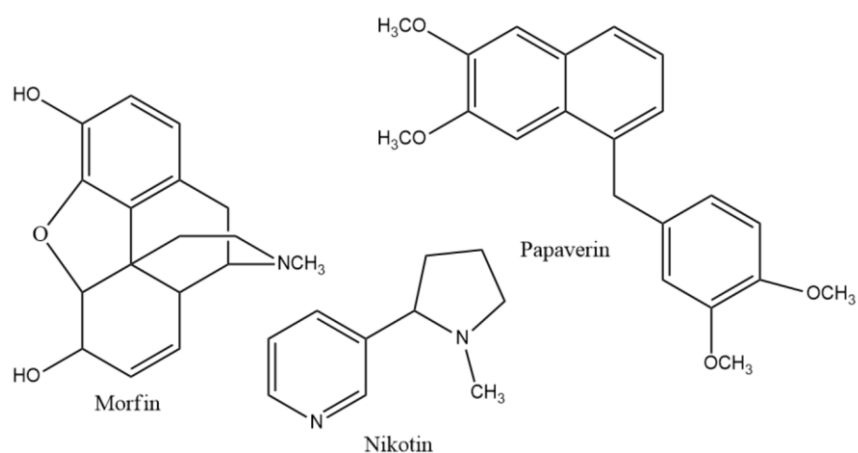


Gambar 2.3. Struktur Flavonoid (Grotewold, 2006).

2.5.2 Alkaloid

Alkaloid merupakan suatu kelompok senyawa basa bernitrogen yang mayoritas heterosiklik serta ditemukan di tanaman. Alkaloid mempunyai rasa pahit, kadang-kadang berwarna, sifatnya yang basa tergantung dari pasangan elektron bebas pada nitrogen, dapat larut dalam pelarut organik dan kurang larut dalam air (Endarini, 2016). Senyawa alkaloid dikelompokkan berdasarkan tipe cincin heterosiklik nitrogen (Kristianti, 2008).

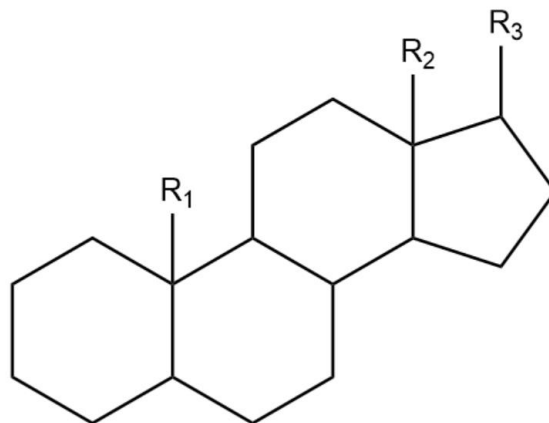
Reaksi positif yang terjadi pada uji alkaloid adalah endapan pada pereaksi Mayer (Padmasari dkk., 2013). Endapan yang terjadi pada pereaksi Mayer terjadi ikatan kompleks antara kalium dengan alkaloid (Marliana dkk., 2005).



Gambar 2.4. Contoh Senyawa Alkaloid.

2.5.3 Steroid dan Triterpenoid

Steroid ialah kelompok lipid yang tersusun dari 17 karbon serta memiliki dasar struktur 1, 2 siklopentenoperhidrofenantren, yang mempunyai inti dengan susunan 3 cincin sikloheksana dan 1 cincin siklopentana yang terikat pada ujung cincin sikloheksana tersebut. Sebagian turunan steroid yang penting ialah steroid alkohol (sterol) (Kristianti, dkk., 2008). Dari segi kerangkanya, perbedaan pada golongan ini bergantung pada tipe substituen R₁, R₂ dan R₃ yang terhubung ke susunan dasar (Endarini, 2016).



Gambar 2.5. Struktur Steroid.

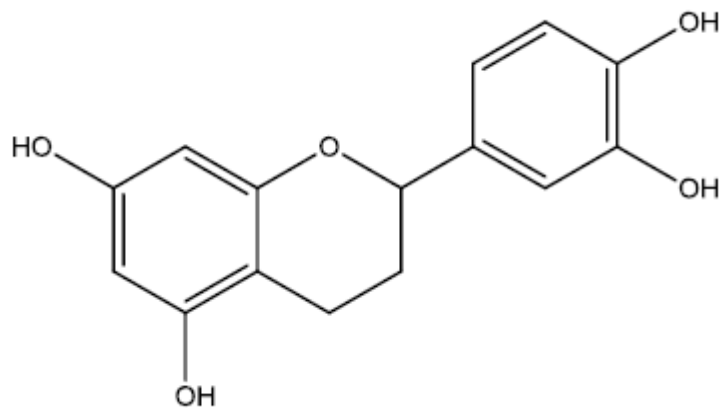
Triterpenoid ialah senyawa yang strukturnya dibangun oleh molekul isoprena, kerangka terpenoid terdiri dari dua atau lebih unit isoprena. Seperti strukturnya, terpenoid biasanya merupakan senyawa yang larut dalam lemak dan ditemukan di sitoplasma sel tumbuhan (Endarini, 2016). Saat pemanasan, sebagian besar terpenoid akan menghasilkan isoprena sebagai salah satu produknya (Julianto, 2019).

Terpenoid keberadaannya didasarkan pada kemampuan senyawa untuk membentuk warna dengan H_2SO_4 pekat dalam pelarut asam asetat anhidrat. Hasil positif terpenoid pada ekstrak ditandai dengan terbentuknya cincin berwarna kecoklatan. Perubahan warna ini disebabkan karena terjadinya reaksi oksidasi pada golongan terpenoid/steroid melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi (Dewi dkk., 2013; Tomahayu, 2014).

2.5.4 Tanin

Tanin ialah kelompok senyawa aktif tanaman yang tercantum dalam golongan flavonoid dan termasuk turunan fenol. Secara kimia tanin dipecah jadi 2 kelompok, yakni tanin terhidrolisis atau tanin galat dan tanin terkondensasi atau tanin katekol. Tanaman memiliki rasa asam dan pahit sebab terdapat sejumlah besar kandungan tanin sehingga tanaman ini dihindari hewan herbivora (Harborne, 1987). Tanin dalam bermacam tipe tumbuhan mempunyai struktur kimia dan respon yang berbeda- beda, namun mempunyai sifat yang sama ialah bisa mengendapkan gelatin dan protein(Shahidi dan Naczk, 1995).

Perubahan warna terjadi ketika penambahan $FeCl_3$ yang bereaksi dengan salah satu gugus hidroksil pada senyawa tanin, penambahan $FeCl_3$ pada ekstrak uji menghasilkan warna hijau kehitaman yang menunjukkan mengandung senyawa tanin (Dewi dkk., 2013).

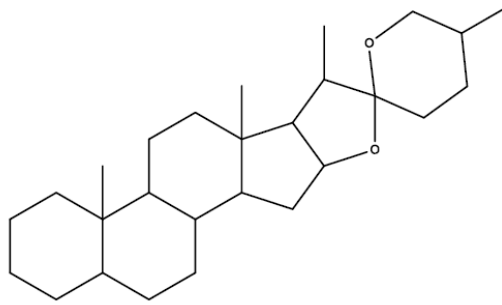


Gambar 2.6. Struktur Tanin.

2.5.5 Saponin

Sapogenin dan bentuk glikosidanya yang dikenal sebagai saponin. Glikosilasi biasanya terjadi pada posisi C-3. Keberadaan saponin sangat mudah ditandai dengan pembentukan larutan koloidal dengan air yang apabila dikocok menimbulkan buih yang stabil (karena sifatnya yang menyerupai sabun, maka dinamakan saponin). Saponin merupakan senyawa berasa pahit menusuk dan menyebabkan bersin dan sering mengakibatkan iritasi terhadap selaput lendir. Saponin juga bersifat bisa menghancurkan butir darah merah lewat reaksi hemolisis, bersifat racun bagi hewan berdarah dingin (Endarini, 2016).

Busa pada uji terjadi karena saponin memiliki gugus polar dan non polar yang akan membentuk misel. Misel terbentuk menyebabkan gugus polar akan menghadap ke luar dan gugus nonpolar menghadap ke dalam dan keadaan inilah yang tampak seperti busa (Padmasari dkk., 2013)



Gambar 2.7. Struktur inti saponin

2.6 Uji Toksisitas dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)

Uji toksisitas dilakukan dengan memperhatikan kematian hewan uji. Kematian hewan uji ini dianggap sebagai respon terhadap senyawa yang diujikan. Uji toksisitas dilakukan untuk membuktikan terdapatnya dampak toksik serta untuk mempelajari batasan keamanan dalam pemakaian senyawa yang terdapat di tanaman tersebut (Cassaret serta Doull, 1975).

Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) merupakan salah satu metode skrining untuk menentukan ketoksikan suatu ekstrak ataupun senyawa. Metode ini menggunakan *Artemia salina* Leach sebagai hewan percobaan. Penentuan ketoksikan suatu senyawa dengan metode BSLT ini dapat ditentukan dalam waktu yang relatif singkat, yaitu kurang lebih 24 jam sesudah pemberian dosis yang diujikan (Setiawan, 2010). Keuntungan dari metode BSLT adalah peka, cepat, sederhana dan dapat diulang tanpa terjadi penyimpangan.

Parameter yang digunakan untuk menunjukkan adanya kandungan zat aktif tanaman yang bersifat sitotoksik yaitu dengan menghitung tingkat kematian larva udang. Ekstrak tersebut bisa disebut toksik bila nilai LC_{50} menyebabkan

50% kematian pada kurang dari 1000 ppm, sebaliknya jika harga $LC_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$ tidak toksik (Carballo, 2002).

Metode uji yang dilakukan memakai *Artemia salina* Leach sebagai hewan uji coba. *Artemia salina* Leach adalah udang tingkat rendah yang hidup sebagai zooplankton. Uji ini ialah metode yang sangat efisien dan simpel, sebab persediaan telur larva udang yang melimpah, mudah menetas, cepat tumbuh, dan mudah dirawat. Pengembangan tata cara ini didasarkan pada sifat unik dari larva udang yang sanggup menerima seluruh tipe zat dan bahan tanpa diseleksi terlebih dulu (Meyer, et al. 1982).

Klasifikasi *Artemia* Menurut Barret, dkk (2010) adalah sebagai berikut :

Divisi : Animal
Phylum : Arthropoda
Kelas : Crustaceae
Subkelas : Branchiopoda
Ordo : Anostraca
Familia : Artemidae
Genus : Artemia
Species : *Artemia salina* Leach



Gambar 2.8. *Artemia salina* Leach.

Penelitian Ratu & Wirasti, (2018) hasil uji toksisitas ekstrak etanol dan n-heksana dengan metode maserasi masing masing memberikan nilai LC_{50} sebesar 80,33 ppm dan 57,45 ppm. Pada penelitian Latifah, (2016) yang menguji

toksistas ekstrak metanol dan fraksi n-eksana daun beluntas dengan konsentrasi larutan uji yang digunakan yaitu 100, 200, 400, 600, 800, dan 1000 ppm. Didapatkan LC_{50} ekstrak metanol dan fraksi n-heksana daun beluntas sebesar 651 ppm dan < 100 ppm.

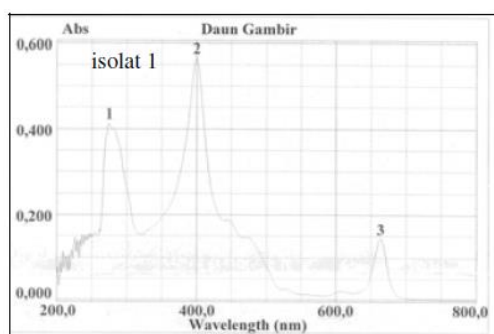
2.7 Identifikasi dengan Spektroskopi UV-Vis

Interaksi senyawa organik dengan sinar ultraviolet dan sinar tampak dapat digunakan untuk mengetahui struktur molekul senyawa organik. Bagian tercepat dari molekul yang bereaksi dengan cahaya adalah elektron terikat dan elektron tidak terikat (elektron bebas). Ultraviolet dan cahaya tampak adalah energi. Ketika mengenai elektron, elektron akan tereksitasi dari keadaan dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi. Eksitasi elektron ini terekam dalam bentuk spektrum, yang dinyatakan dalam panjang gelombang dan absorbansi, sesuai pada jenis elektron yang terkandung dalam molekul yang dianalisis. Semakin mudah elektron tereksitasi, semakin besar panjang gelombang yang diserap, dan semakin banyak elektron tereksitasi, semakin tinggi absorbansi (Suhartati, 2017).

Dalam spektrofotometri UV-Vis ada beberapa istilah yang digunakan terkait dengan molekul, yaitu kromofor, auksokrom, efek batokromik (pergeseran merah), efek hipokromik (pergeseran biru), hipsokromik, dan hipokromik. Kromofor adalah molekul atau bagian dari molekul yang sangat menyerap cahaya di wilayah UV-Vis, seperti heksana, aseton, asetilena, benzena, karbonil, karbon dioksida, karbon monoklir, dan nitrogen. Auksokrom adalah gugus fungsi yang mengandung pasangan elektron bebas ikatan kovalen, yang terikat pada kromofor, yang meningkatkan panjang gelombang dan intensitas penyerapan sinar

ultraviolet pada kromofor, seperti hidroksil, amina, halida, alkoksi (Suhartati, 2017).

Aplikasi Spektrofotometer ultraviolet dan sinar tampak (UV-Vis) terutama digunakan dalam senyawa organik berdasarkan transisi $n-\pi^*$ atau $\pi-\pi^*$, sehingga diperlukan adanya kromofor dalam molekul. Transisi ini terjadi di wilayah spektrum (sekitar 200-700 nm), yang digunakan dalam eksperimen (Day dan Underwood, 1999).



Gambar 2.9. Spektrum UV-Visible isolat daun gambir (Kresnawaty & Zainuddin, 2009)

Berdasarkan hasil pada gambar tersebut memberikan tiga daerah serapan dengan serapan maksimum pada 400 nm. puncak pertama dengan panjang gelombang 274,4 nm yang menunjukkan transisi $\pi \rightarrow \pi^*$, dan pada puncak dengan absorbansi maksimum yang menunjukkan transisi $\pi \rightarrow \pi^*$ menunjukkan adanya ikatan rangkap terkonjugasi dan pada puncak terakhir menunjukkan transisi $n \rightarrow \pi^*$ yang diasumsikan menunjukkan adanya gugus karbonil (Kresnawaty & Zainuddin, 2009).

BAB III

METODOLOGI

3.1. Waktu dan Tempat Pelaksanaan

Praktikum ini dilakukan pada bulan Mei-juni 2021 dan bertempat di Laboratorium Kimia Organik dan Instrumen Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas 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 Blender, timbangan analitik, ayakan stirer, beaker glass, erlenmeyer, gelas ukur, spatula, gelas arloji, botol vial. Alat yang lain diantaranya neraca analitik, plat klt, shaker, rotary evaporator, alumunium foil, kolom, sonikator, mikro pipet, kuvet, oven, hot plate, stirrer, statif, dan spektroskopi UV VIS 1800.

3.2.2. Bahan

Bahan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.), Etanol, etil asetat, n-heksana, aquades, natrium bikarbonat, aquades, HCl 2 N, reagen Dragendroff, reagen Meyer, reagen Libermann Burchard (asam sulfat pekat, kloroform dan asam asetat anhidrat), serbuk magnesium, HCl 37%, FeCl₃ 1% dan metanol 50%, dimetil sulfoksida (DMSO), ragi roti, dan air laut.

3.3. Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui pengujian eksperimental di laboratorium. Daun beluntas (*Pluchea indica* L.) diperoleh dari wilayah kelurahan Kedung

Kandang. Langkah pertama yang dilakukan yaitu dicuci terlebih dahulu lalu diangin-anginkan pada udara terbuka. Kemudian disortasi kering dan dihaluskan di Materia Medika Batu. Ekstraksi daun beluntas terlebih dahulu menggunakan metode ultrasonik. Pelarut yang digunakan saat ekstraksi yaitu menggunakan pelarut organik etanol, n-heksana dan etil asetat, setelah itu dilakukan hidrolisis.

Daun beluntas yang telah di hidrolisis selanjutnya di uji aktivitas uji fitokimia dan uji toksisitas dengan metode BSLT. Uji fitokimia terdiri dari uji alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid dan triterpenoid. Kemudian pengujian toksisitas dengan metode BSLT, parameter yang digunakan untuk menunjukkan adanya kandungan zat aktif tanaman yang bersifat sitotoksik yaitu dengan menghitung tingkat kematian larva udang. Ekstrak daun beluntas dan hasil hidrolisis juga diidentifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang 200-800 nm.

3.4. Tahapan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tahapan tahapan sebagai berikut :

1. Preparasi sampel
2. Analisis kadar air secara termogravimetri
3. Ekstraksi ultrasonik daun beluntas (*Pluchea indica* L.) variasi pelarut
4. Hidrolisis
5. Uji Fitokimia senyawa metabolit sekunder
6. Uji toksisitas dengan larva udang menggunakan metode BSLT
7. Karakterisasi menggunakan UV-Vis
8. Analisa data

3.5. Cara Kerja

3.5.1. Preparasi Sampel

Sampel daun beluntas diperoleh dari kelurahan kedung kandang malang sebanyak 1 kg. Selanjutnya daun beluntas dibasuh dengan air untuk menghilangkan kotoran. Kemudian diangin-anginkan dan dikeringkan. Setelah dikeringkan, tanaman beluntas dihaluskan dalam blender dan diayak dengan ayakan 40 mesh untuk mendapatkan sampel serbuk daun beluntas yang dapat diekstraksi (Rahmah, 2018).

3.5.2 Analisa Kadar Air

Pengujian kadar air dimulai dengan menimbang sampel daun beluntas kering sebanyak 5 g yang dimasukkan dalam cawan yang sudah ditimbang terlebih dahulu. Selanjutnya sampel dikeringkan didalam oven dengan suhu 105 °C dengan waktu \pm 15 menit. Selanjutnya cawan dikletakkan pada desikator \pm selama 10 menit dan dilakukan penimbangan. Kemudian dilakukan pemanasan kembali di oven pada suhu 105 °C dan dinginkan dalam desikator selama 10 menit kemudian ditimbang. Perlakuan ini diulangi sampai didapatkan berat yang konstan.

Kadar air diperoleh dari perhitungan dengan persamaan :

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

Yang mana:

a = Bobot cawan kosong

b = Bobot sampel + cawan sebelum dikeringkan

c = Bobot cawan + sampel setelah dikeringkan

3.5.3 Ekstraksi Ultrasonik

Ekstraksi senyawa aktif pada sampel mengacu pada Ardianti dan Joni (2014) yang dilakukan dengan metode ekstraksi ultrasonik menggunakan variasi pelarut etanol, etil asetat dan n-heksana. Sebanyak 20 gram daun beluntas dimasukkan ke dalam gelas kimia, setelah itu ditambahkan masing-masing pelarut pada setiap gelas kimia dengan perbandingan bahan : pelarut yaitu 1 : 10 sebanyak 200 ml. Kemudian diekstraksi ultrasonik dengan frekuensi 42 kHz pada suhu ruang. Hasil ekstrak yang didapat selanjutnya diaupkan pelarutnya menggunakan rotary evaporator sampai didapatkan ekstrak kental. Ekstrak yang diperoleh ditimbang dan dihitung rendemennya seperti pada persamaan berikut (3.2) :

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{Berat sampel total}} \times 100 \% \dots\dots\dots (3.2)$$

3.5.4 Hidrolisis

Proses hidrolisis dilakukan dengan mengambil ekstrak pekat masing masing pelarut (etanol, etil asetat, dan n heksan) daun beluntas, dimasukkan ke dalam gelas kimia. Kemudian dihidrolisis HCl 2 N dengan perbandingan (1:2). Hidrolisis dilakukan selama 1 jam dan diaduk menggunakan magnetik stirer pada suhu kamar. Setelah itu dinetralkan dengan menambahkan natrium bikarbonat sedikit demi sedikit hingga pH larutan netral.

3.5.5 Uji fitokimia

Ekstrak yang didapat selanjutnya dilakukan uji fitokimia senyawa flavonoid, alkaloid, triterpenoid, tanin, dan steroid dalam penelitian ini mengacu pada Harborne (1987).

3.5.5.1 Uji Alkaloid

Masukkan ekstrak kasar tanaman beluntas ke dalam tabung 2 reaksi \pm 1 mg, kemudian tambahkan 0,5 mL HCl 2%. Tabung reaksi I ditambahkan 2-3 tetes pereaksi Dragendorf dan tabung II ditambahkan 2-3 tetes pereaksi Mayer. Ketika terdapat endapan yang terbentuk pada tabung reaksi I berwarna jingga dan endapan berwarna kuning cerah terbentuk di tabung reaksi II, maka ekstrak tersebut menunjukkan adanya senyawa alkaloid.

3.5.5.2 Uji Flavonoid

Masukkan ekstrak kasar tanaman beluntas ke dalam tabung reaksi dengan jumlah \pm 1 mg, selanjutnya ditambahkan 3 mL etanol 70%, lalu kocok. Setelah itu memanaskan tabung reaksi dan mengocoknya kembali, lalu disaring. Kemudian, 0,1 g magnesium dan 2 tetes HCl 2M ditambahkan ke filtrat yang diperoleh untuk membentuk warna merah pada lapisan etanol, yang menunjukkan adanya flavonoid.

3.5.5.3 Uji Tanin

Masukkan ekstrak kasar daun beluntas ke dalam tabung reaksi \pm 1 mg. Kemudian tambahkan 2-3 tetes FeCl₃ 1%. Jika warna berubah menjadi hijautua atau biru, maka ekstrak menunjukkan adanya senyawa tanin.

3.5.5.4 Uji Terpenoid dan Steroid

Ekstrak kasar tanaman beluntas dimasukkan dalam tabung reaksi sebanyak \pm 1 mg, kemudian dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform dan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Ditambahkan 1-2 mL H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung.

Terbentuknya cincin kecoklatan atau keunguan menunjukkan adanya senyawa triterpenoid, sedangkan hijau kehitaman menunjukkan adanya senyawa steroid.

3.5.5.5 Uji Saponin

Ekstrak kasar tanaman beluntas dimasukkan dalam tabung reaksi sebanyak ± 1 mg. Setelah itu ditambahkan air dengan perbandingan (1:1) sambil dikocok selama 1 menit. Apabila terbentuk busa ditambahkan HCl 1 M sebanyak 2 tetes, adanya busa yang terbentuk dan dapat bertahan selama 10 menit dengan ketinggian 1-3 cm menunjukkan adanya senyawa saponin.

3.5.6 Uji Toksisitas Metode BLST

Uji toksisitas dalam penelitian ini mengacu pada Meyer, dkk. (1982)

3.5.6.1 Penetasan Larva Udang *Artemia Salina Leach*

Dimasukkan 2.5 mg telur udang *Artemia Salina Leach* ke dalam wadah penetas yang berisi air laut sebanyak 250 ml. Setelah itu, diaerasi dan telur akan menetas dalam kurun waktu ± 48 jam. Larva udang yang telah menetas kemudian siap digunakan untuk uji toksisitas.

3.5.6.2 Uji Toksisitas

Pengujian toksisitas mengacu pada Khasanah (2018) yang telah divariasi. Uji toksisitas dilakukan dengan pembuatan larutan stok. Ekstrak kental dari daun beluntas dengan berbagai pelarut ditimbang sebanyak 100 mg dan dilanjutkan dilarutkan pada pelarutnya sebanyak 10 ml. Larutan stok yang diperoleh sebanyak 10000 ppm selanjutnya dipipet sebanyak 0,05; 0,1; 0,25; 0,5; dan 0,75 mL. Dari masing masing larutan stok dimasukkan dalam botol vial dan pelarutnya diuapkan. Ditambahkan sebanyak 100 μ L dimetilsulfoksida (DMSO), setetes

larutan ragi, dan 2 mL air laut. Kemudian ditambahkan air laut sampai volumenya 10 mL. Larutan stok selanjutnya menjadi 50, 100, 250, 500, dan 750 ppm. Larva udang *Artemia salina* L sebanyak 10 ekor dimasukkan pada masing – masing vial dan dilakukan pengamatan kematian larva udang selama 24 jam. Kontrol pelarut dibuat dengan cara, masing – masing pelarut dipipet sebanyak 200 μ L dan diuapkan hingga kering. Ditambahkan 100 μ L DMSO, setetes larutan ragi, dan 2 mL air laut. Kocok hingga larut dan tambahkan air laut hingga volume mencapai 10 mL. Ditambahkan 10 ekor larva udang *Artemia salina* L dan diamati selama 24 jam terhadap kematian larva udang.

3.5.7. Identifikasi Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Sampel daun beluntas diambil sebanyak 2 mL lalu dimasukkan kedalam kuvet dan dianalisis pada panjang gelombang antara 200-800 nm, sehingga akan diperoleh spektrum data gelombang maksimum.

3.5.8. Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian tahap pertama yaitu berupa tingkat toksisitas larva udang *Artemia Salina* Leach yang dapat diketahui dengan melakukan uji LC_{50} . Identifikasi senyawa metabolit sekunder didukung dari hasil spektrofotometer UV-Vis berupa spektrum dan lamda max. Analisis data dilakukan secara deskriptif dengan memperhatikan spektrum dan panjang gelombang maksimum yang diperoleh.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel

Proses preparasi sampel daun beluntas (*Pluchea Indica* L) terdiri dari beberapa tahap yakni pencucian, pengeringan, dan penyerbukan. Tahap pencucian sampel dilakukan agar sampel bersih dari debu dan kotoran. Pengeringan sampel dilakukan pada suhu kamar untuk mengurangi kadar air yang terdapat pada sampel. Setelah sampel mengering, didapatkan berat sampel kering 0,53 kg. Proses penyerbukan untuk memperluas permukaan sampel. Semakin kecil ukuran serbuk maka luas permukaannya semakin besar sehingga semakin banyak kontak antara sampel dengan pelarut yang membuat transfer massa dari massa senyawa aktif dari tanaman ke pelarut semakin besar.

Serbuk halus yang diperoleh dari sampel daun beluntas (*Pluchea Indica* L) sebesar 0,42 kg atau mempunyai rendemen sebesar 14% dari berat sampel awal 3 kg daun beluntas (Lampiran 4.1).



Gambar 4.1. Sampel Daun Beluntas (a) Basah (b) Kering

4.2 Analisis Kadar Air

Analisis kadar air digunakan untuk mengetahui kualitas dan daya tahan bahan selama penyimpanan. Kandungan air yang berlebih pada sampel dapat mempercepat pertumbuhan mikroba dan juga mempermudah terjadinya hidrolisa terhadap kandungan kimia pada sampel sehingga dapat menurunkan mutu dari suatu sampel (Handayani, 2017). Hasil yang diperoleh dari perhitungan kadar air sampel daun beluntas (*Pluchea Indica* L) sebesar 9,63%. Bahan simplisia yang memiliki kadar air yang tinggi atau lebih dari 10% akan memungkinkan ditumbuhi oleh jamur yang dapat merusak dan mempengaruhi kualitas bahan.

4.3 Ekstraksi Daun Beluntas dengan Metode Ultrasonik

Ekstraksi sampel yang dilakukan dalam penelitian ini yakni metode ekstraksi ultrasonik. Ekstraksi ultrasonik adalah modifikasi dari ekstraksi maserasi.

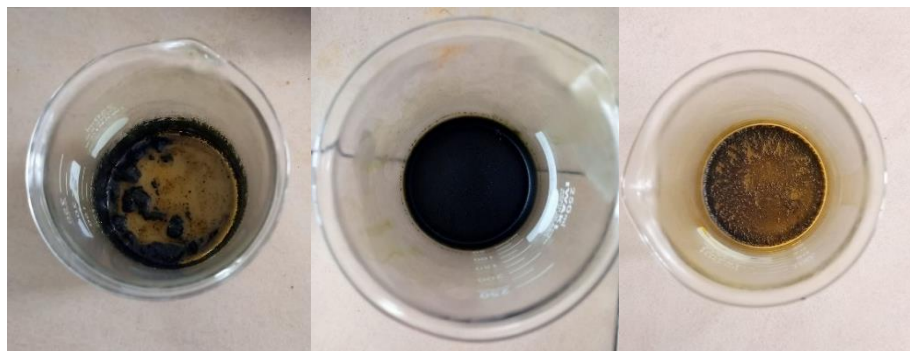
Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan 3 pelarut yaitu etano, etil asetat, dan n-heksana. Serbuk daun beluntas di tambahkan masing-masing pelarut dan disonikasi. Filtrat yang didapat dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* yang bertujuan untuk menguapkan pelarut. Hasil pengamatan terhadap, warna ekstrak, berat ekstrak kasar, dan rendemen ekstrak dapat dilihat pada table 4.1.

Tabel 4.1 Hasil Rendemen Ekstrak Daun Beluntas dengan Berbagai Pelarut

Jenis pelarut	Warna ekstrak	Ekstrak kasar (g)	Rendemen (%)
Etanol	Hijau tua	4,4558	22,27
Etil Asetat	Hijau tua	0,4057	2,028
N-heksana	Hijau kekuningan	0,2552	1,276

Hasil pada table 4.1 menunjukkan bahwa karakteristik ekstrak etanol dan ekstrak etil asetat berwarna hijau tua sedangkan ekstrak n-heksana berwarna hijau

kekuningan. Hasil ekstrak tertinggi yang diperoleh yakni ekstrak etanol sebesar 4,4558 g dengan rendemen sebesar 22,27%. Hasil perhitungan ekstrak etanol memiliki rendemen yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak etil asetat dan n-heksana. Golongan senyawa alkohol dapat menghancurkan struktur lipid dengan mengadakan penetrasi ke dalam bagian-bagian hidrokarbon. Penggunaan pelarut yang memiliki tingkat polaritas yang berbeda dapat mempengaruhi rendemen yang dihasilkan. Umumnya semua tanaman memiliki kandungan air yang tinggi, termasuk tanaman beluntas. Sehingga dapat diduga banyak senyawa metabolit pada tanaman kebanyakan bersifat polar. Etanol merupakan pelarut yang bersifat polar sehingga dapat menghasilkan rendemen yang lebih tinggi dibandingkan pelarut yang lain yang kurang polar. Selain itu, etanol juga memiliki gugus etil (non polar) yang dapat menarik senyawa yang bersifat semi polar atau sedikit non polar. Pelarut organik dibedakan menjadi dua berdasarkan konstanta dielektriknya yaitu pelarut polar dan non polar. Konstanta dielektrik dapat diartikan sebagai gaya tolak menolak antar unsur yang bermuatan listrik dalam suatu molekul. Pelarut yang bersifat polar memiliki konstanta dielektrik yang tinggi (Melia, 2018). Konstanta dielektrik yang terdapat pada etanol sebesar 24,300, etil asetat sebesar 6,020, dan n-heksana sebesar 1,89 (Stahl, 1985).



Gambar 4.2. Hasil ekstraksi daun beluntas dengan berbagai pelarut (a) etanol (b) etil asetat (c) n-heksana

4.4 Hidrolisis

Senyawa aktif di alam umumnya ditemukan dalam bentuk glikosida (berikatan dengan gula). Dengan dilakukannya hidrolisis ikatan glikosida akan terputus membentuk senyawa glikon (gula) dan aglikon (senyawa aktif). Ikatan glikosida yang menghubungkan glikon dan aglikon ini sangat mudah terurai oleh pengaruh asam, basa, enzim, air, dan panas (Octaviani, 2009). Hasil ekstraksi sonikasi dihidrolisis menggunakan katalis berupa HCl 2N. HCl merupakan asam kuat yang mampu melepaskan ion H^+ dalam air secara sempurna. Semakin banyak proton H^+ yang dilepas, semakin mudah melepaskan ikatan glikosida (Handoko, 2016).

Penambahan HCl akan membentuk suasana asam yang akan dinetralkan dengan $NaHCO_3$. Reaksi hidrolisis bersifat *reversible* atau reaksi kimia yang dapat berlangsung dalam dua arah. Oleh karena itu Penetralkan dilakukan untuk menghentikan reaksi hidrolisis tersebut. Pada saat penetralan akan terbentuk gelembung-gelembung gas CO_2 akibat dari reaksi antara HCl dengan $NaHCO_3$. Apabila reaksi ini tidak dihentikan maka dapat menyebabkan terbentuknya kembali ikatan glikosida antara glikon dan aglikon yang telah terurai dalam proses hidrolisis. Produk samping yang dihasilkan dalam reaksi tersebut berupa NaCl yang tidak berbahaya (Fasya dkk., 2016).



Gambar 4.3. Reaksi antara HCl dengan $NaHCO_3$

Hasil hidrolisis dari ekstrak etanol, etil asetat, dan n heksana tidak terdapat perubahan warna maupun bau. Namun memiliki kekentalan yang lebih kecil daibandingkan dengan ekstrak yang belum dihidrolisis. Hal ini dikarenakan pada proses hidrolisis ditambahkan sejumlah larutan HCl dan NaHCO₃ yang menyebabkan perubahan bentuk pada masing-masing pelarut (Lampiran 4.2).

4.5 Toksisitas Daun Beluntas (*Pluchea Indica* L)

4.5.1 Penetasan Larva Udang *Aeremia Salina* Leach

Penetasan telur larva udang dilakukan dengan menambahkan telur larva ke dalam aquarium kecil yang sudah ditambahkan air laut dan dipasang alat aerator. Fungsi dari aerator yakni untuk tambahan oksigen pada aquarium. Oksigen tersebut sangat dibutuhkan khususnya bagi larva udang supaya bisa hidup di aquarium. Penetasan dilakukan selama 48 jam dimulai saat menambahkan telur ke aquarium. Larva yang baik akan berenang menuju ruang yang terang karena bersifat fototropik. Larva udang akan siap untuk digunakan dalam pengujian setelah berumur 48 jam.

4.5.2 Uji Toksisitas

Pengujian toksisitas dilakukan pada ekstrak etanol, etil asetat, n-heksna beserta hasil hidrolisisnya. Langkah awal dilakukanya uji toksisitas adalah pembuatan larutan stok. Fungsi dari larutan stok adalah untuk menghindari penimbangan atau penakaran berulang ulang setiap kali membuat larutan uji. Selain itu, dapat meminimalisir kesalahan dalam pembuatan larutan uji dengan konsentrasi yang lebih kecil. Kemudian dibuat larutan uji menjadi beberapa konsentrasi menggunakan larutan stok dan dibiarkan hingga pelarut benar-benar menguap. Penguapan ini bertujuan agar larva *Artemia salina* Leach tidak mati

karena pengaruh pelarut yang digunakan. Selanjutnya ditambahkan DMSO, ragi roti dan air laut. DMSO merupakan surfaktan yang digunakan untuk melarutkan senyawa yang sulit larut dalam air laut seperti ekstrak tanaman untuk uji toksisitas. Ragi roti digunakan sebagai makanan larva udang yang digunakan sebagai hewan uji.

Kontrol dibuat dengan cara memasukkan masing masing pelarut tanpa ekstrak. Pengamatan uji toksisitas dilakukan selama 24 jam terhadap kematian larva udang. Hasil pengamatan kematian larva udang dapat di lihat pada tabel 4.2

Tabel 4.2 Hasil Modus Kematian Larva Udang *Artemia Salina* Leach

Konsentrasi (ppm)	Modus					
	Sebelum Hidrolisis			Sesudah Hidrolisis		
	Etanol	Etil Asetat	n-Heksana	Etanol	Etil Asetat	n-Heksana
Kontrol	0	0	0	0	0	0
50	0	2	2	0	1	2
100	0	3	6	0	2	3
250	0	6	10	0	6	10
500	1	7	10	1	8	10
750	2	9	10	1	9	10

Hasil modus kematian larva udang *artemia salina* leach digunakan untuk mengetahui mortalitas kematian dari larva udang yang ditunjukkan pada tabel 4.3.

Tabel 4.3 Hasil Mortalitas Larva Udang *Artemia Salina* Leach

Konsentrasi (ppm)	Mortalitas					
	Sebelum Hidrolisis			Sesudah Hidrolisis		
	Etanol	Etil Asetat	n-Heksana	Etanol	Etil Asetat	n-Heksana
Kontrol	0	0	0	0	0	0
50	0	10	10	0	5	10
100	0	15	30	0	10	15
250	0	30	50	0	30	50
500	5	35	50	5	40	50
750	10	45	50	5	45	50

Pada tabel 4.3 menunjukkan bahwa, setiap peningkatan konsentrasi ekstrak terjadi kenaikan tingkat mortalitas dari larva udang. Semakin tinggi konsentrasi suatu zat yang diberikan, semakin besar pula jumlah larva udang yang

mati. Hal ini berarti, semakin tinggi konsentrasi yang diberikan semakin besar pula keracunan yang ditimbulkan. Hasil dari mortalitas akan dihitung nilai LC_{50} pada masing-masing ekstrak daun beluntas (*Pluchea Indica* L) dengan uji statistik menggunakan minitab 18. Nilai LC_{50} ditunjukkan pada tabel 4.4

Tabel 4.4 Nilai LC_{50} pada Masing-Masing Ekstrak

	Ekstrak Daun Beluntas (<i>Pluchea Indica</i> L)					
	Sebelum Hidrolisis			Setelah Hidrolisis		
	Etanol	Etil Asetat	n-Heksana	Etanol	Etil Asetat	n-Heksana
Nilai LC_{50} (ppm)	984,755	275,083	88,3218	1216,07	297,181	116,524

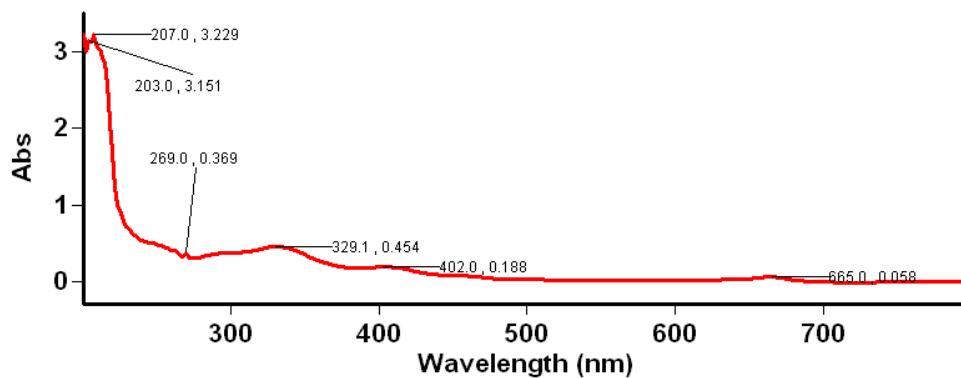
Hasil pengujian toksisitas dari ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksana dan hasil hidrolisisnya memiliki sifat toksik sedangkan untuk hidrolisis etanol bersifat tidak toksik. Ratu (2018) melakukan uji toksisitas pada daun beluntas dengan pelarut ethanol dan n-heksana dengan metode maserasi. Nilai LC_{50} yang didapatkan masing masing sebesar 80,33 mg/L dan 57,45 ppm. Hasil penelitian Ratu (2018) menghasilkan nilai LC_{50} yang lebih rendah dengan metode maserasi. Hal ini dikarenakan terdapat perbedaan pada hasil skrining fitokimia. Penelitian Ratu (2018) hasil skrining fitokimia yakni positif flavonoid pada ekstrak etanol dan positif saponin pada ekstrak n-heksana. Sedangkan hasil skrining fitokimia yang didapat pada penelitian ini yakni positif flavonoid, saponin, tannin, dan steroid. Diduga terdapat efek antagonis antar senyawa metabolit sekunder yang menyebabkan nilai LC_{50} pada penelitian ini lebih tinggi. Menurut Meyer (1982) suatu larutan uji dapat dikatakan toksik apabila memiliki nilai LC_{50} <1000 ppm dan sangat toksik apabila nilai LC_{50} <30 ppm. Nilai LC_{50} dari masing-masing larutan uji terhadap larva udang menunjukkan bahwa ekstrak n-heksana merupakan ekstrak yang paling toksik.

Ekstrak sesudah hidrolisis memiliki nilai LC_{50} yang lebih besar dibandingkan dengan sebelum hidrolisis. Perbedaan nilai LC_{50} pada sebelum dan sesudah hidrolisis dapat disebabkan karena pada hasil hidrolisis masih terdapat banyak campuran dari proses hidrolisis. Pada ekstrak etanol dan etil asetat memiliki nilai LC_{50} yang lebih kecil dari pada ekstrak n-heksana. Dilihat dari data fitokimia ekstrak etanol, etil asetat dan hasil hidrolisisnya memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang lebih banyak dibandingkan ekstrak n-heksana. Senyawa metabolit sekunder memiliki sifat sinergitas dan antagonis terhadap hasil uji yang dilakukan. Senyawa yang memiliki sifat sinergis mampu meningkatkan efek toksik dari senyawa yang di uji sedangkan senyawa yang mempunyai sifat antagonis akan melemahkan efek toksik dari senyawa uji tersebut. Sehingga dalam ekstrak etanol dan etil asetat terdapat senyawa antagonis yang menurunkan efek toksik dari senyawa yang memiliki kemampuan lebih toksik.

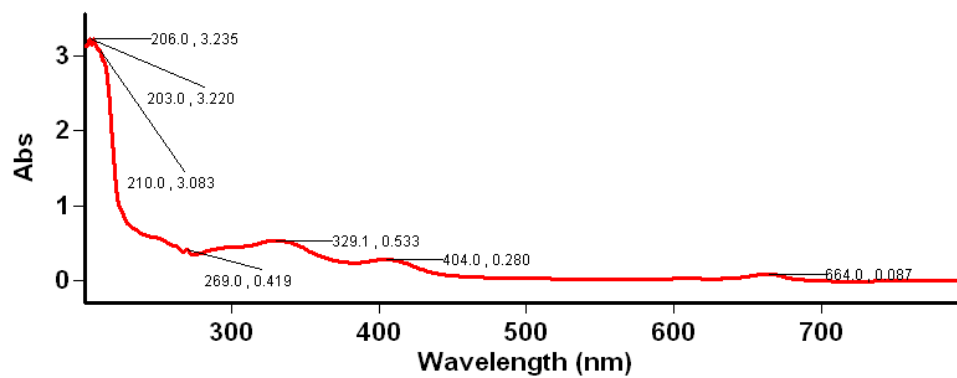
Ekstrak n-heksana memiliki efek yang lebih toksik dibanding ekstrak etanol dan etil asetat. Efek toksik ini dipengaruhi oleh sifat sinergitas dari senyawa yang terkandung dalam ekstrak n-heksana sehingga ekstrak n-heksana memiliki efek toksik yang lebih tinggi dibanding ekstrak etanol dan etil asetat.

4.6 Karakterisasi Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Ekstrak kasar masing-masing pelarut beserta hidrolisisnya diidentifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk mengetahui panjang gelombang maksimalnya pada rentang 200-800 nm. Berdasarkan hasil identifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis diperoleh data serapan panjang gelombang pada ekstrak daun beluntas dan hasil hidrolisisnya yang ditunjukkan pada gambar berikut.



Gambar 4.4. Hasil UV-Vis ekstrak etanol daun beluntas sebelum hidrolisis

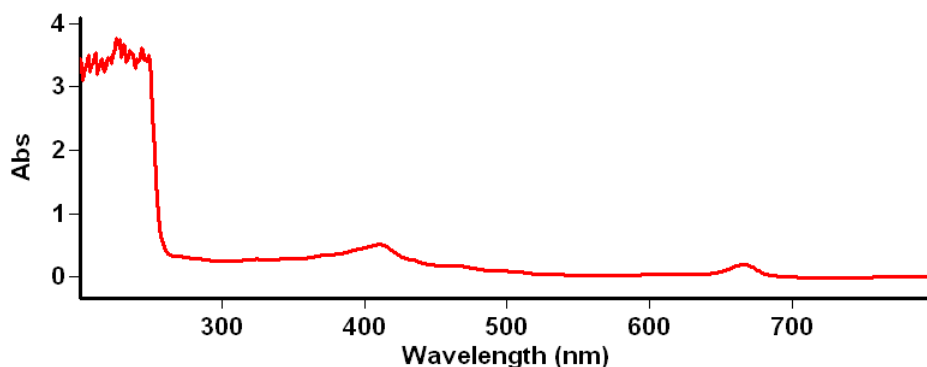


Gambar 4.5. Hasil UV-Vis ekstrak etanol daun beluntas dengan hidrolisis

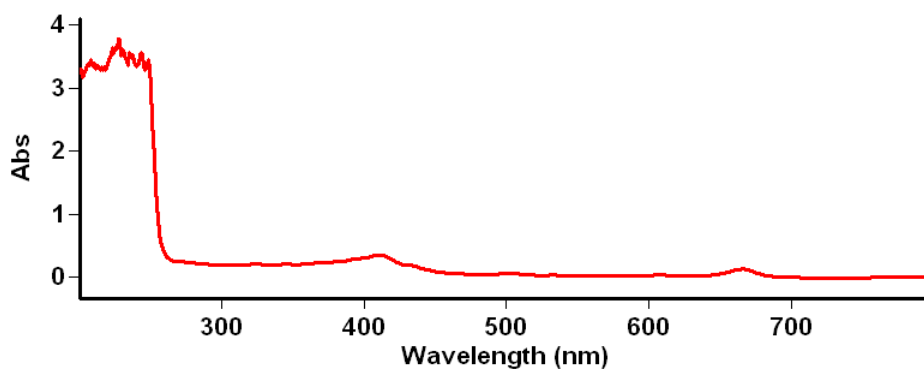
Panjang Gelombang	Transisi elektron	Gugus Fungsi	Dugaan Senyawa
203	$\pi \rightarrow \pi^*$	C=C	Steroid
204	$\pi \rightarrow \pi^*$	C=C alifatik	Terpenoid
210	$\pi \rightarrow \pi^*$	C=C	Saponin
329	$\pi \rightarrow \pi^*$	C=C terkonjugasi	Tannin
413	$\pi \rightarrow \pi^*$ dan $n \rightarrow \pi^*$	C=O	Flavonoid

Berdasarkan hasil pengukuran spektra UV-Vis terdapat serapan pada panjang maksimum 203, 204, dan 329. Menurut Fasya (2019) panjang gelombang 203 menunjukkan adanya transisi electron dari $\pi \rightarrow \pi^*$ yang disebabkan adanya ikatan C=C tidak terkonjugasi. Pada serapan panjang gelombang 204 terjadi transisi electron dari $\pi \rightarrow \pi^*$ yang menunjukkan adanya kromofor dari karboksil.

Penelitian Hartini (2012) menunjukkan golongan senyawa terpenoid dari isolate daun ketapang kencana memiliki serapan maksimum pada panjang gelombang 204. Pada puncak serapan panjang gelombang 210 nm menunjukkan transisi $\pi \rightarrow \pi^*$ dan menurut Khopkar (2007) menunjukkan adanya gugus kromofor (C=C) yang diduga merupakan golongan saponin. Panjang gelombang maksimum 329 nm diperkirakan adanya transisi $\pi \rightarrow \pi^*$ yang mengindikasikan adanya ikatan C=C terkonjugasi dan transisi $n \rightarrow \pi^*$ berupa kromofor C=O (Sastrohamidjojo, 2001). Berdasarkan penelitian yang dilakukan Putu (2015) spektrum UV-Vis dari isolat 2 dan isolat 3 tanin menunjukkan panjang gelombang maksimum masing-masing 346,50 nm dan 347,00 nm. Serapan pada panjang gelombang 269,40 nm diduga adanya transisi $\pi \rightarrow \pi^*$ dari kromofor C=C alifatik.

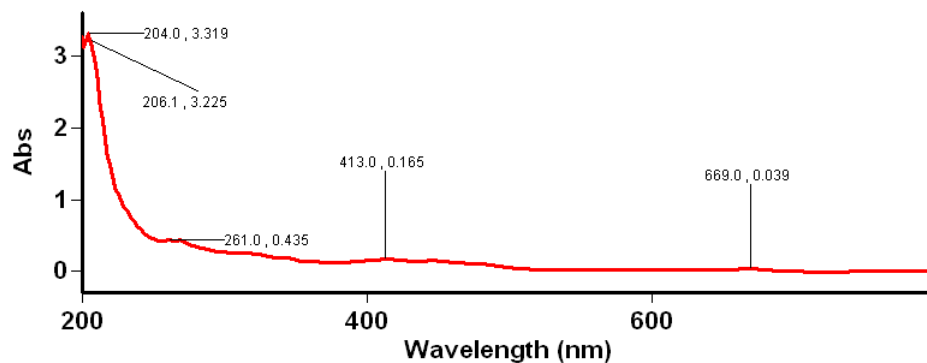


Gambar 4.6. Hasil UV-Vis ekstrak etil asetat daun beluntas sebelum hidrolisis

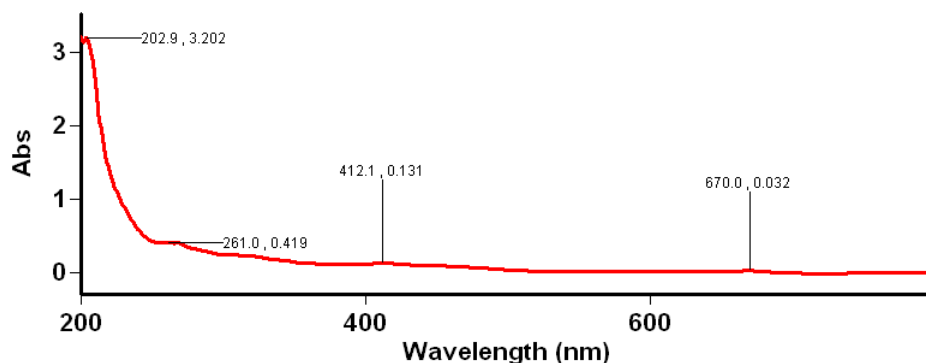


Gambar 4.7. Hasil UV-Vis ekstrak etil asetat daun beluntas dengan hidrolisis

Data UV-Vis dari ekstrak etil asetat didapatkan banyak serapan panjang gelombang pada rentang 200 nm – 250 nm. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Nariya (2012) yang mengungkapkan jumlah puncak serapan pada daerah 200 nm sampai 250 nm dengan puncak serapan maksimum pada 205 nm.



Gambar 4.8. Hasil UV-Vis ekstrak n-heksana daun beluntas sebelum hidrolisis



Gambar 4.9. Hasil UV-Vis ekstrak n-heksana daun beluntas dengan hidrolisis

Serapan pada panjang gelombang 413,80 nm diduga karena adanya transisi $n \rightarrow \pi^*$ dari kromofor $C=O$ (Wahjuni, 2016). Menurut (Harbone, 1987) Ciri spektrum flavonoid khalkon antara 365- 390, auron 390-430, flavonol 350-390, maka dari ciri spektrum di ketahui ini bahwa ketiga senyawa tersebut merupakan golongan senyawa hasil identifikasi. Pada rentang panjang gelombang

600-700 nm menunjukkan dalam sampel tersebut mengandung zat warna. Hal ini sesuai literatur senyawa-senyawa berwarna dalam analisis UV-VIS berada pada rentang 400-700 nm (Sastrohamidjoyo, 1991). Porra et al. (1989) melaporkan bahwa hasil scanning panjang gelombang dari klorofil berada di sekitar 400 hingga 700 nm. Pada klorofil a, puncak tertinggi berada pada panjang gelombang 665 nm, sedangkan untuk klorofil b, puncak tertinggi berada pada panjang gelombang 652 nm.

4.7 Uji Fitokimia

Senyawa aktif yang terkandung dalam daun beluntas (*Pluchea Indica L*) dapat diketahui dengan cara uji fitokimia. Pengujian fitokimia dilakukan dengan metode tabung yakni dengan mengambil sedikit sampel ekstrak lalu ditambahkan reagen yang sesuai dengan senyawa yang akan diidentifikasi. Analisis fitokimia ekstrak daun beluntas (*Pluchea Indica L*) yang dilakukan antara lain identifikasi tanin, saponin, alkaloid, flavonoid dan Steroid/Triterpenoid. Hasil analisis fitokimia menggunakan pereaksi-pereaksi kimia, yang ditunjukkan pada table 4.2

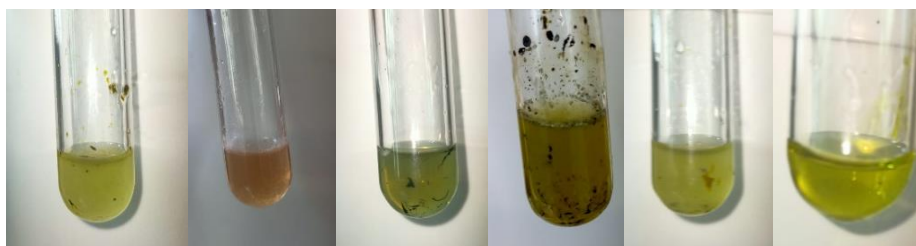
Tabel 4.5 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea Indica L*).

Golongan Senyawa	Sebelum Hidrolisis			Sesudah Hidrolisis		
	Etanol	Etil Asetat	n-Heksana	Etanol	Etil Asetat	n-Heksana
Flavonoid	+	+	+	+	+	+
Tanin	+	-	-	+	-	-
Saponin	+	+	-	+	+	-
Steroid	+	+	-	+	+	-
Terpenoid	-	+	+	-	+	+
Alkaloid :						
a. Dragendorf	-	-	-	-	-	-
b. Meyer	-	-	-	-	-	-

Keterangan : (+) terdapat golongan senyawa aktif dan (-) tidak terdapat golongan senyawa aktif

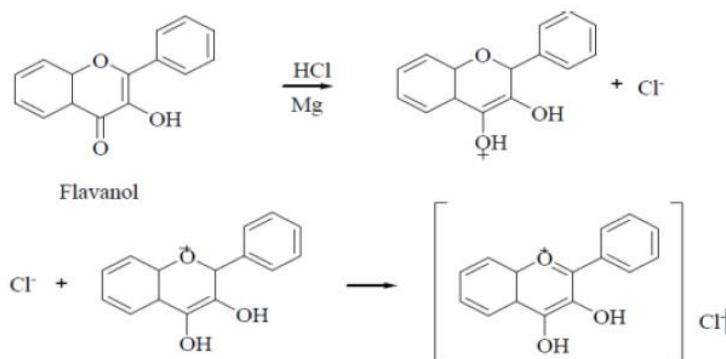
4.7.1 Flavonoid

Uji kualitatif flavonoid dilakukan dengan mengambil sedikit kemudian ditambahkan methanol 50% panas lalu ditambahkan serbuk logam Mg dan HCl pekat. Penambahan serbuk Mg bertujuan agar gugus karbonil flavonoid berikatan dengan Mg dan fungsi penambahan HCl untuk membentuk garam flavilium yang berwarna merah-jingga.



Gambar 4.10. Hasil uji flavonoid (a)Etanol (b) Hidrolisis etanol (c) Etil asetat (d) Hidrolisis etil asetat (e) n-Heksana (f) Hidrolisis n-Heksana

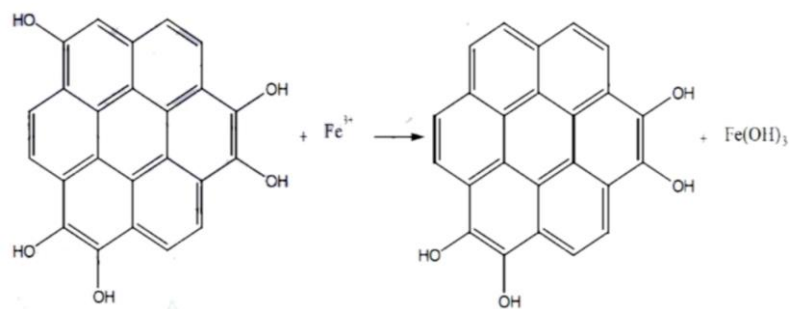
Hasil uji menunjukkan bahwa semua ekstrak positif mengandung flavonoid yang dapat diketahui dengan berubahnya warna sampel menjadi kuning. Senyawa flavonoid pada umumnya merupakan senyawa yang bersifat polar sehingga mudah larut pada pelarut polar. Namun ada beberapa senyawa flavanoid seperti isoflavon, flavon, flavanol dan flavanon yang termetoksilasi cenderung lebih mudah larut dalam pelarut nonpolar (Doloksaribu, 2009).



Gambar 4.11. Reaksi dugaan antara senyawa flavonoid dengan Mg dan HCl (Harbone, 1987)

4.7.2 Tanin

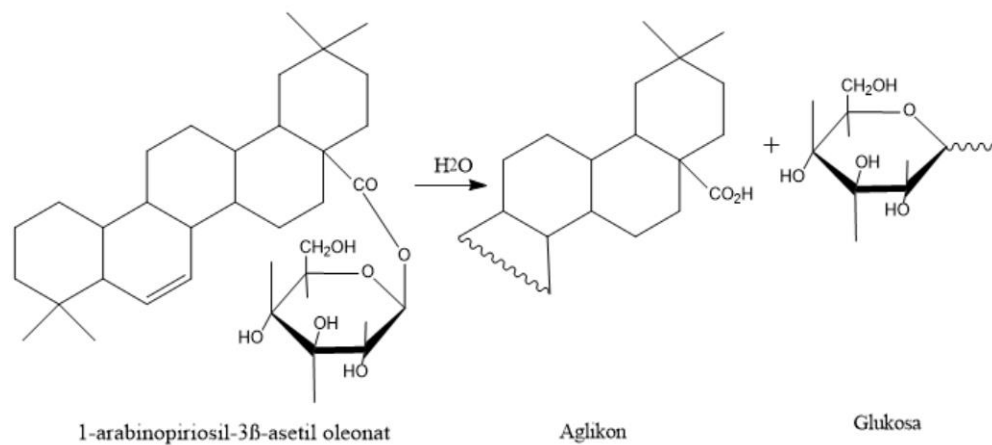
Langkah awal dalam pengujian golongan tanin pada masing-masing ekstrak daun beluntas yaitu dengan menambahkan FeCl 1% tetes demi tetes pada ekstrak daun beluntas. Hasil yang didapatkan adalah ekstrak etanol beserta hidrolisisnya berubah warna menjadi hijau kehitaman. Menurut Ergina (2014) terbentuknya warna larutan yaitu hijau kebiruan yang menandakan terbentuknya senyawa kompleks antara tanin dan Fe^{3+} yang memberikan indikasi perubahan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam yang kuat.



Gambar 4.12. Persamaan reaksi tanin (Setiabudi, D.,A. 2017).

4.7.3 Saponin

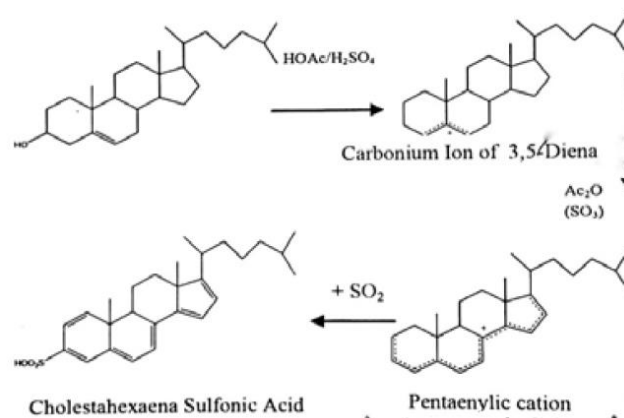
Pengujian senyawa saponin dilakukan dengan metode forth yaitu dengan menambahkan aquades dan dikocok selama 30 detik dan mengamati perubahan yang terjadi. Ekstrak dapat dikatakan positif bila terbentuk busa dan dapat bertahan selama 1 menit. Timbulnya busa pada uji saponin menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan untuk membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Marliana dkk., 2005). Saponin merupakan senyawa aktif yang akan menimbulkan busa bila dikocok.



Gambar 4.13. Persamaan reaksi saponin (Setiabudi, D.,A. 2017).

4.7.4 Steroid dan Terpenoid

Uji golongan steroid dan Terpenoid dilakukan dengan penambahan reagen Liebermann Burchard (kloroform, asam anhidrat, dan asam sulfat) kedalam sampel daun beluntas (*Pluchea Indica* L). Ekstak etanol, etil asetat, beserta hidrolisisnya menunjukkan positif steroid dengan terbentuknya warna hijau. Terjadi perubahan warna hijau disebabkan oleh terjadinya reaksi oksidasi pada golongan terpenoid/steroid melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi (senyawa pentaenilik) (Sriwahyuni, 2010).



Gambar 4.14. Reaksi dugaan uji Steroid (Setiabudi, D.,A. 2017).

Pengujian golongan terpenoid hasil positif ditandai dengan terbentuknya cincin kecoklatan. Reaksi ini dimulai dengan proses asetilasi gugus hidroksil menggunakan asam asetat anhidrida. Gugus asetil yang merupakan gugus pergi yang baik akan lepas, sehingga akan terbentuk ikatan rangkap. Selanjutnya gugus hidrogen bersama dengan elektronnya akan lepas, menyebabkan perpindahan ikatan rangkap. Senyawa ini mengalami resonansi yang bertindak sebagai elektrofil atau karbokation. Serangan karbokation menyebabkan adisi elektrofilik, diikuti lepasnya hidrogen. Kemudian gugus hidrogen dan elektronnya dilepas, mengakibatkan senyawa mengalami perpanjangan konjugasi yang memperlihatkan terbentuknya cincin berwarna kecoklatan (Setyowati dkk, 2014).



Gambar 4.15. Hasil uji terpenoid dan steroid (a)Etanol (b) Hidrolisis etanol (c) Etil asetat (d) Hidrolisis etil asetat (e) n-Heksana (f) Hidrolisis n-Heksana

4.8 Daun Beluntas dalam Prospektif Islam

Al-Qur'an merupakan kitab suci terakhir yang diturunkan Allah SWT kepada Nabi Muhammad SAW untuk semua umat manusia. Salah satu fungsi dari Al-Qur'an sebagai sumber ilmu pengetahuan. Selain itu, di dalam Al-Qur'an juga terdapat perintah Allah untuk selalu belajar. Sehingga yang dimaksudkan ialah saat membaca Al-Qur'an, Allah meminta untuk memahami. Bukan berdiam dan terpaku dengan arti ayat tersebut. Manusia harus dapat menguraikan fenomena

dan masalah melalui pembuktian dari sudut pandang ilmiah maupun integrasinya dengan Al-Qur'an. Sebagaimana firman Allah dalam surat Al-Furqan Ayat 2:

الَّذِي لَهُ مُلْكُ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَمِمَّا يَخْتِذُ أَوْلَادًا وَمِمَّا يَكُنُ لَهُ شَرِيكٌ فِي الْمُلْكِ وَخَلَقَ كُلَّ شَيْءٍ
فَقَدَرَهُ تَقْدِيرًا ﴿٢﴾

Artinya : *“Yang memiliki kerajaan langit dan bumi, tidak mempunyai anak, tidak ada sekutu bagi-Nya dalam kekuasaan(-Nya), dan Dia menciptakan segala sesuatu, lalu menetapkan ukuran-ukurannya dengan tepat.” (QS. Al-Furqan: 2)*

Firman Allah tersebut menjelaskan bahwa segala sesuatu dalam alam ini baik di langit maupun di bumi adalah makhluk-Nya. Dialah Penciptanya tidak ada Pencipta selain Dia tidak ada sekutu bagi-Nya yang patut disembah. Dia telah menciptakan segala sesuatu, dan Dia menetapkan ukuran-ukuran sesuai dengan makhluk-Nya. Kesesuaian yang mendatangkan hikmah-Nya tanpa ada kekurangan. Pada ayat tersebut juga terdapat kata qadar berarti mengukur, memberi kadar (Shihab, 2002). Maksud dari ayat ini yaitu dengan memberi kadar, ukuran, atau batas-batas tertentu pada kemampuan maksimalnya. Seperti pemanfaatan tanaman beluntas pada penelitian ini yang digunakan untuk mengetahui kadar LC₅₀ yang selanjutnya dapat dimanfaatkan dalam bidang pengobatan seperti antikanker, antibakteri dan antioksidan. Abdullah bin Mas'ud radhiyallahu „,anhu mengabarkan dari Nabi shallallahu „,alaihi wa sallam:

إِنَّ اللَّهَ لَمْ يَنْزِلْ دَاءً إِلَّا وَأَنْزَلَ لَهُ دَوَاءً، جَهْلُهُ مِنْ جَهْلِهِ وَعَلِمَهُ مِنْ عِلْمِهِ

Artinya : *“Sesungguhnya Allah tidaklah menurunkan penyakit kecuali Dia turunkan pula obatnya bersamanya. (Hanya saja) tidak mengetahui orang yang*

tidak mengetahuinya dan mengetahui orang yang mengetahuinya.” [HR. Ahmad (1/377, 413 dan 453), dishahihkan dalam Ash-Shahihah (no. 451)]

Hadist tersebut menjelaskan Allah telah menyiapkan obat dari semua penyakit baik itu penyakit ringan sampai penyakit berat. Allah SWT menciptakan manusia sebagai makhluk yang sempurna dengan memiliki akal pikiran. Dengan akal, manusia dapat mengamati dan menganalisa sesuatu yang membangun pengetahuan serta mengamalkan apa yang diketahui

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Nilai toksisitas dari ekstrak daun beluntas dengan pelarut etanol sebesar 984,755 ppm dan hidrolisisnya sebesar 1216,07 ppm, etil asetat sebesar 275,083 ppm dan hidrolisisnya sebesar 297,181 ppm, n-heksana sebesar 88,3218 ppm dan hasil hidrolisisnya 116,524 ppm.
2. Hasil analisis ekstrak daun beluntas dengan spektrofotometer UV-Vis menunjukkan adanya serapan maksimum pada panjang gelombang 203 nm, 204 nm, 210 nm, 329 nm, dan 413 nm

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menguji toksisitas terhadap isolat daun beluntas dan juga menguji aktivitas antibakteri sehingga dapat menambah informasi tentang keaktifan dari daun beluntas sebagai obat.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad Ganaim Fasya, Anike Riska Dinasti, Muharromatus Syofiyah, Laili Maghfiroh Rahmawati, Nuria Millati, Dany Aulia Safitri, Singgih Handoko, Ahmad Hanapi, Rachmawati Ningsih,. 2016. Ekstraksi, Hidrolisis dan Partisi Metabolit Sekunder dari Mikroalga *Chlorella sp.* .ALCHEMY: Journal of Chemistry, 5: 1 (2016) 5-9
- Ahmad Ghanaim Fasya, Bagas Purwantoro, Lulu'atul Hamidatu Ulya, Mujahidin Ahmad. 2020. Aktivitas Antioksidan Isolat Steroid Hasil Kromatografi Lapis Tipis dari Fraksi n-Heksana *Hydrilla verticillata*. ALCHEMY: Journal of Chemistry. 8 : 1 (2019) 23-34
- Andriani, M., Permana, I. D. G. M., & Widarta, I. W. R. (2019). Pengaruh Suhu dan Waktu Ekstraksi Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) Terhadap Aktivitas Antioksidan Dengan Metode Ultrasonic Assisted Extraction (UAE). *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan*, 8(3), 330–340.
- Anggraini, Doya Fitri (2018) *Pengaruh Perbedaan Metode Eksraksi Maserasi dan Sonikasi Terhadap Kadar Total Antosianin Ekstrak Etanol 96% Ubi Jalar Ungu (Ipomoea batatas L.)*. Sarjana thesis, Universitas Brawijaya.
- Ardiansyah. 2003. Aktivitas antimikroba ekstrak daun beluntas (*Plucea indica L.*) dan stabilitas aktivitasnya pada berbagai konsentrasi gara dan tingkat pH. *Jurnal Teknologi & Industri Pangan*. Vol. xiv (2):90-97.
- Ardianti, A., & Kusnadi, J. (2015). Extraction Of Antibacterial From Berenuk (*Crescentia cujete Linn.*) Leaves Using Ultrasonic Method. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 2(2), 28–35.
- Arief Adhiksana, 2017. Perbandingan Metode Konvensional Ekstraksi Pektin dari Kulit Buah Pisang dengan Metode Ultrasonik. *Journal of Research and Technology*. Vol. 3 No. 2
- Arista Setiabudi, D. (2017). Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Kulit Batang Tumbuhan Klampok Watu (*Syzygium Litorale*) Phytochemical Screening on Methanol Ekstrak From Steam Bark Klampok Watu (*Syzygium Litorale*). *UNESA Journal of Chemistry*, 6(3), 155-160.
- Barrett, K.E., Barman, S.E., Boitano, S., dan Brooks, H.L. 2010. *Ganong's Review of Medical Physiology*. New York: The McGraw-Hill Companies.
- Bartnik, M. and P.C. Facey. 2017. Glycosides. *Pharmacognosy*. Pp 101 - 161.
- Boleng, Didimus T,. 2015. BAKTERIOLOGI Konsep-Konsep Dasar. Malang:UMM Press.
- Carballo, J.L., Indra,Z.L.H, Perez, P, dan Gravalos,M.D.G. (2002). A Comparison Between Two Brine Shrimp Assays to Detect In Vitro Cytotoxicity in Marine Natural Products. *BMC Biotechnology* 2 (17): 1-5

- Cassaret dan Doull, 1975, *Toxikology The Basic Science of Poison*, 721, Macmilan Publishing CO Inc, New York.
- Dalimarta, S., 2005, *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*, , Jakarta : Puspa Swara, hal 49-51.
- Day, Jr., R.A., dan Underwood, A.L. 1999. *Analisis Kimia Kuantitatif* (terjemahan Pudjaatmaka, A.H.). Jakarta: Penerbit Airlangga.
- Dewi, I.D.A.D.Y., Astuti, K.W.1, Warditiani, N.K. 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 95% Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Skripsi*. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana. Bali.
- Diharmi, E. A., & Sari, E. D. (2019). Karakteristik Selulosa Mikrokristalin dari Rumput Laut Merah *Eucheuma cottonii*. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 22, 483–489.
- Doloksaribu, R., (2009), Isolasi Senyawa Flavonoid Dari Daun Tumbuhan Harimonting (*Rhodomyrtus Tomentosa* W.Ait.), *Skripsi*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Endarini, L. H. 2016. *Farmakologi dan Fitokimia*. Jakarta: Kementrian dan Kesehatan Republik Indonesia ~
- Ergina, Nuryanti, S. Pursitasari, I.D. 2014. Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder pada Daun Palado (*Agave angustivolia*) yang di Ekstraksi dengan Pelarut Air dan Etanol. *J. Akad. Kim.* 3(3): 165-172.
- Hana Handayani, Feronika Heppy Sriherfyna, Yunianta, 2016, EKSTRAKSI ANTIOKSIDAN DAUN SIRSAK METODE *ULTRASONIC BATH* (KAJIAN RASIO BAHAN : PELARUT DAN LAMA EKSTRAKSI), Malang : Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, FTP Universitas Brawijaya, *Jurnal Pangan dan Agroindustri Vol. 4 No 1 p.262-272*,
- Handayani, S., dkk.(2017). Penapisan Fitokimia dan Karakterisasi Simplisia Daun Jambu Mawar (*Syzygium jambos* Aiston). *Jf Fik Uninam.* 5(3): 179-180.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Edisi kedua diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soedira. Bandung: ITB Press.
- Harborne, J.B. 2006. *Metode Fitokimia*, Edisi ke-2. Bandung: ITB.
- Hartini, V. A., Anam, K., Cahyoni, B. 2012. Isolasi Senyawa Triterpenoid dari Daun Ketapang Kecncana (*Terminalia Muelleri Benth*) dan Uji Aktivitas Sitotoksik dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Journal Kimia Sains dan Aplikasi.* 15(2): 47-52.

- Julianto, T. S. (2019). Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia. In *Journal of Chemical Information and Modeling* (Vol. 53, Issue 9). <http://library.uui.ac.id>; e-mail: perpustakaan@uui.ac.id
- Khopkar, S.M. (2007). *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: UI-Press.
- KRESNAWATY, I., & ZAINUDDIN, A. (2009). AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI DARI DERIVAT METIL EKSTRAK ETANOL DAUN GAMBIR (*Uncaria gambir*). *Jurnal Penelitian Tanaman Industri*, 15(4), 145–151. <https://doi.org/10.21082/jlitri.v15n4.2009.145-151>
- Kristianti, A.N., Aminah, N.S., Tanjung, M., Kurniadi, B. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Jurusan Kimia Laboratorium Kimia Organik FMIPA Universitas Airlangga. hlm: 47-48.
- Laesah, S., Santoso, Uju, J. 2017. Pengaruh Konsentrasi Asam Klorida terhadap Karakteristik Mikrokristalin Selulosa dari Limbah Padat Industri Agar-agar. *Skripsi*. IPB
- Latifah, Neng Lala (2016). Uji toksisitas ekstrak metanol dan fraksi n-Heksana daun beluntas (*Pluchea indica* L.) terhadap artemia salina serta isolasi salah satu komponen penyusunnya. *Diploma thesis*, Universitas Negeri Malang.
- Listyo, A. B., Kusriani, D., & Fachriyah, E. (2018). ISOLASI ASAM FERULAT DARI DAUN MINDI (*Melia azedarach* L.) DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN. 3(1), 30–37.
- Maria Olivia Halima, dkk, 2015. PENGARUH PROPORSI TEPUNG DAUN BELUNTAS (*Pluchea indica* Less) DAN TEH HITAM TERHADAP SIFAT FISIKOKIMIA, SIFAT ORGANOLEPTIK, DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PRODUK MINUMAN. Vol 14 (1) : 10-16.
- Marliana, E. 2007. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dari Batang *Spatholobus Ferrugineus* (Zoll & Moritzi) Benth yang Berfungsi Sebagai Antioksidan, *Jurnal Penelitian MIPA*. 1(1): 23-29.
- Melia Verdiana, I Wayan Rai Widarta, I Dewa Gede Mayun Permana, 2018. PENGARUH JENIS PELARUT PADA EKSTRAKSI MENGGUNAKAN GELOMBANG ULTRASONIK TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK KULIT BUAH LEMON (*Citrus limon* (Linn.) *Burm F.*). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. Vol. 7, No.4, 213-222
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putman, J.E., Jacobsen, L. B., Nicols, D. E., dan McLaughlin, J. L. 1982. Brine shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Planta Medica*, 45(1): 31-34.
- Octaviani, Y. 2009. Isolasi dan Identifikasi Aglikon Saponin Kecambah Kacang Hijau (*Phaseolus radiates* L.). *Skripsi*. Tidak dipublikasi. Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta.
- Padmasari, P.D., Astuti, K.W., Warditiani, N.K., 2013, Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 70% Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.), Jurusan

Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana, Bali.

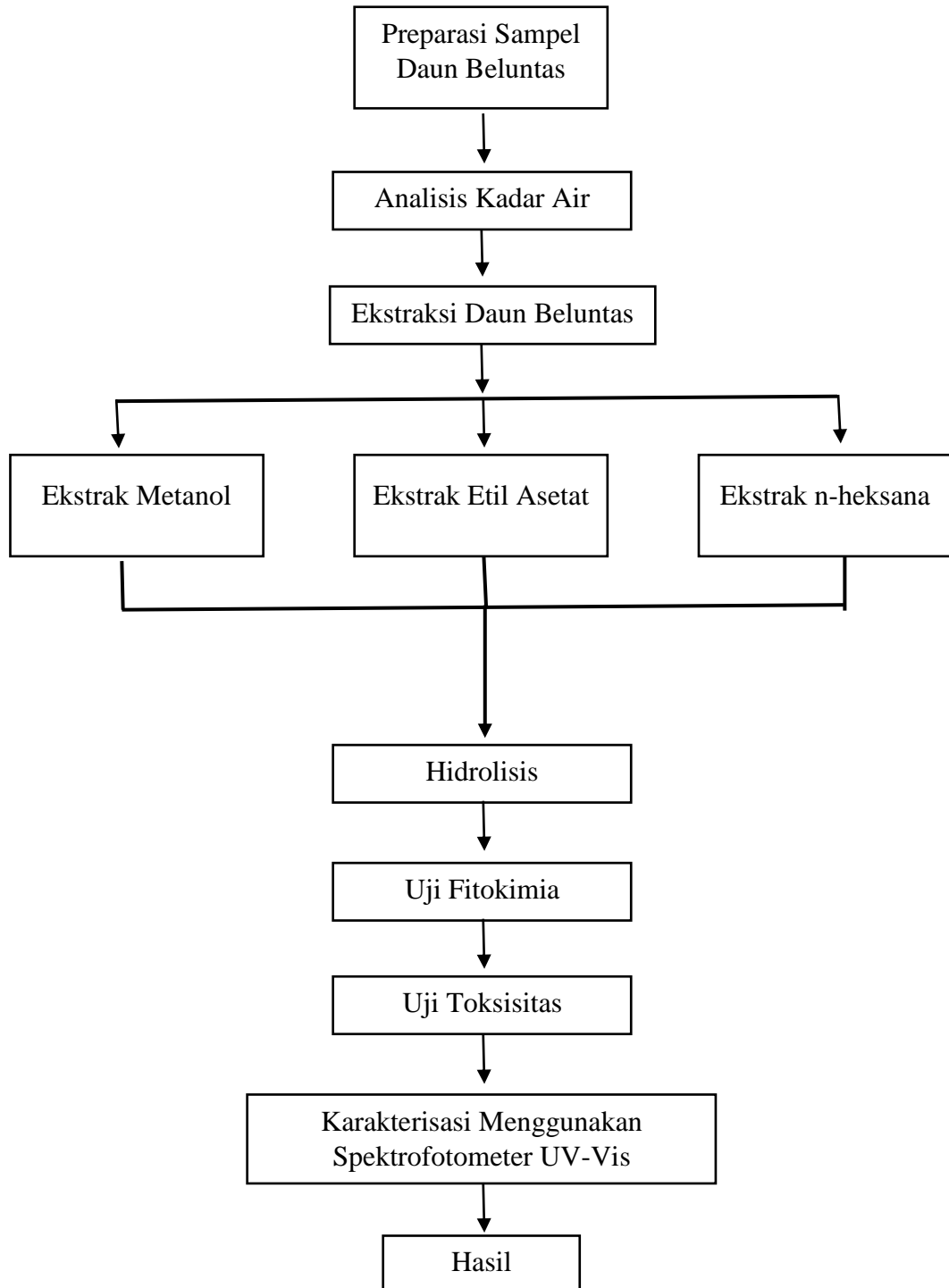
- Padua ratu, dkk. 2018. UJI TOKSISITAS DAUN BELUNTAS (*Pluchea indica Less*), DAUN KEMANGI (*Ocimum basilicum L.*) DAN KULIT DAGING BUAH JENGKOL (*Archidendron pauciflorum*) DENGAN METODE *brine shrimp lethality test* (BSLT). URECOL. 63
- Pankaj Nariya, Nikhil Jirankalgikar, Rahul Warma, Subrata De., 2012. Analytical Study & HPTLC Profile of Panchagavya – A Traditional Ayurvedic Preparation. *Asian Journal of Biochemical and Pharmaceutical Research Issue 2* (Vol. 2) 2012
- Porra,R.J., W. A. Thompson., and P. E. Kricdeman. 1989. Determination of Accurate Extinction Coefficients and Simultaneous Equations for Assaying Chlorophylls a and b Extracted With Four Different Solvents: Verification of the Concentration of Chlorophyll standads by atomic absorption spectroscopy. *Biochimia et Biophysica Acta*. 975: 384-34.
- QORIATI, Y. (2018). OPTIMASI EKSTRAKSI ULTRASONIK DENGAN VARIASI PELARUT DAN LAMA EKTRAKSI TERHADAP KADAR ALKALOID TOTAL PADA TANAMAN ANTING-ANTING (*Acalypha indica L.*) MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETER UV-VIS. Skripsi. Malang: Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Rahmah, Fadhlina Tsaniyatur. *Uji Toksisitas Tanaman Anting-anting (Acalypha indica L) Hasil Ekstraksi Ultrasonik Dengan Variasi Pelarut dan Lama Ekstraksi*. Uin Malang : Malang
- Rasyid, A. (2012). IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER SERTA UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANTIOKSIDAN EKSTRAK METANOL TERIPANG *Stichopus hermanii*. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Kelautan Tropis*, 4(2), 360–368. <https://doi.org/10.28930/jitkt.v4i2.7799>
- Rukmiasih. 2011. Penurunan bau amis (off-odor) daging itik lokal dengan pemberian daun beluntas (*Pluchea indica Less*) dalam pakan dan dampaknya terhadap performa disertasi Bogor : Program Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Saifudin, A. 2014. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder*. Teori, Konsep Dan Teknik Pemurnian. Ed.1, Cet. 1 Yogyakarta: Deepublish.
- Sastrohamidjojo, H, 1991, Kromatografi, Edisi II, hal 26-36, Liberty, Yogyakarta.
- Sastrohamidjojo, H. (2001) ‘*Spektroskopi*’, Yogyakarta, Liberty Yogyakarta.
- Seniwaty., Raihanah., Nugraheni, I K dan Umaningrum, D. 2009. Skrining Fitokimia Dari Alang-Alang (*Imperata Cylindrica L.Beauv*) dan Lidah Ular (Hedyotis *Corymbosa L.Lamk*). Sains dan Terapan

- Setiawan, B. (2010). UJI TOKSISITAS (*Arthemisa salina Leach*) DAN ANTIBAKTERI (*Staphylococcus aureus*) EKSTRAK ETANOL DAUN BENALU CENGKEH (*Dendropohtoe pentandra (L.) Miq.*). Skripsi. FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA : Surakarta.
- Setyowati, W.A.E., Ariani, S.R.D., Ashadi, Mulyani, B., Rahmawati, C.P. 2014. Skrining Fitokimia Dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio Zibethinus Murr. Varietas Petruk*). Seminar Nasional Kimia Dan Pendidikan Kimia VI.
- Shahidi, F., and Naczk, M. 1995. Food Phenolics : Sources, Chemistry, Effects, and Applications. Technomic Publishing Company, Inc. Pennsylvania, USA.
- Shihab, M.Q. 2002. Tafsir al-Mishbah Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Qur'an. Jakarta: Lentera Hati.
- Sri Wahjuni, Ni Made Puspawati, dan Ni Putu Rusma Eva Arista. 2016. ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIF ANTIJAMUR DARI DAUN MIMBA (*Azadiractha indica A. Juss.*) SEBAGAI PENGENDALI JAMUR *Fusarium sp.* PADA TANAMAN BUAH NAGA (*Hylocereus sp.*)
- Sriwahyuni I. 2010. Uji fitokimia ekstrak tanaman anting-anting (*Acalypha Indica Linn*) dengan variasi pelarut dan uji toksisitas menggunakan brine shrimp (*artemia salina leach*). Skripsi. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim. Malang
- Stahl, E., 1985, Analisis Obat Secara kromatografi dan Mikroskopi, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, 3-17, ITB, Bandung.
- Suhartati, T., 2017 DASAR-DASAR SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS DAN SPEKTROMETRI MASSA UNTUK PENENTUAN STRUKTUR SENYAWA ORGANIK. Lampung : CV. Anugrah Utama Raharja
- Tian-yang., Wang., Qing Li., Kai-shun Bi. (2018). Bioactive flavonoids In Medicinal Plants: Structure, Activity And Biological Fateasian. Journal Of Pharmaceutical Sciences, 13, 12–23
- Tomahayu, R.T. 2014. Identifikasi Senyawa Aktif dan Uji Toksisitas Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia Ten. Steenis*) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Thesis. Universitas Negeri Gorontalo.
- Van Steenis, C. G. G. J., 2008, *Flora*, Jakarta, PT. Praditya Paramita.
- Wasito, H. 2011. *Obat Tradisional Kekayaan Indonesia*. Yogyakarta : Graha Ilmu.
- Widiyatni. 2010. Isolasi, Penentuan Struktur Senyawa Serta Uji Aktivitas Biologi Dari Ekstrak Etanol Tandan Tanaman *Musa paradisiaca*. Tesis. Depok:

Fakultas MIPA Program Magister Ilmu Kimia Kekhususan Kimia Hayati
Depok

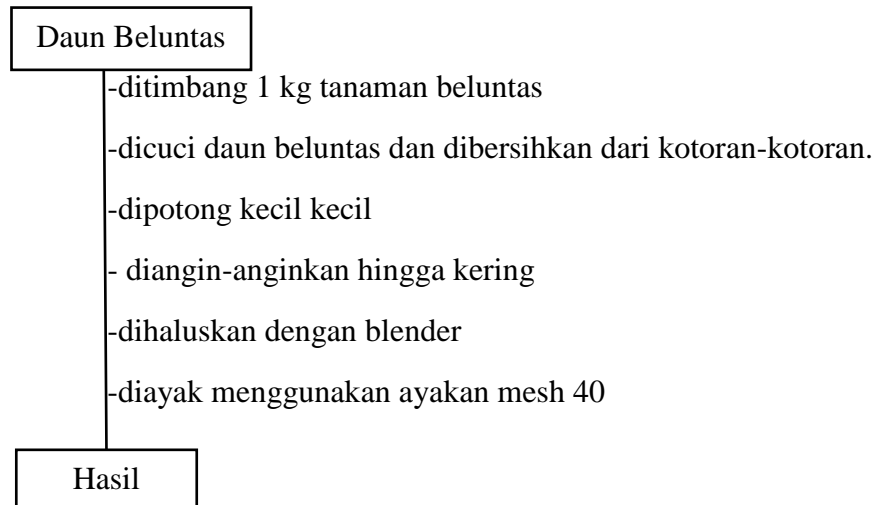
LAMPIRAN

Lampiran 1 rancangan penelitian

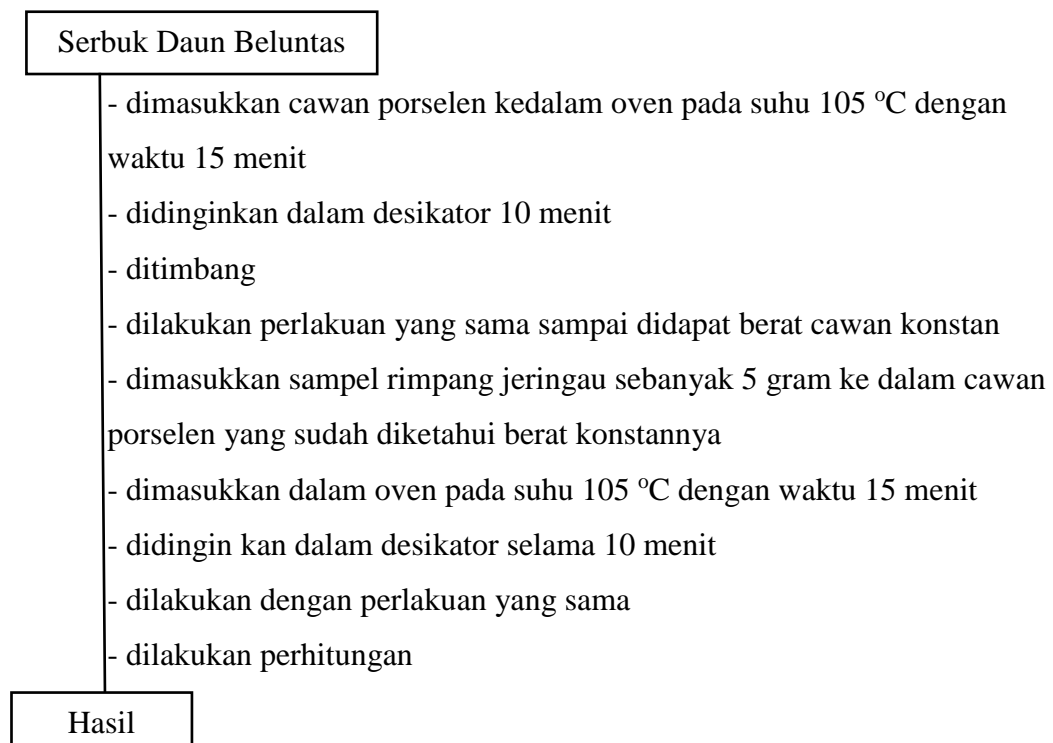


Lampiran 2. Skema Kerja

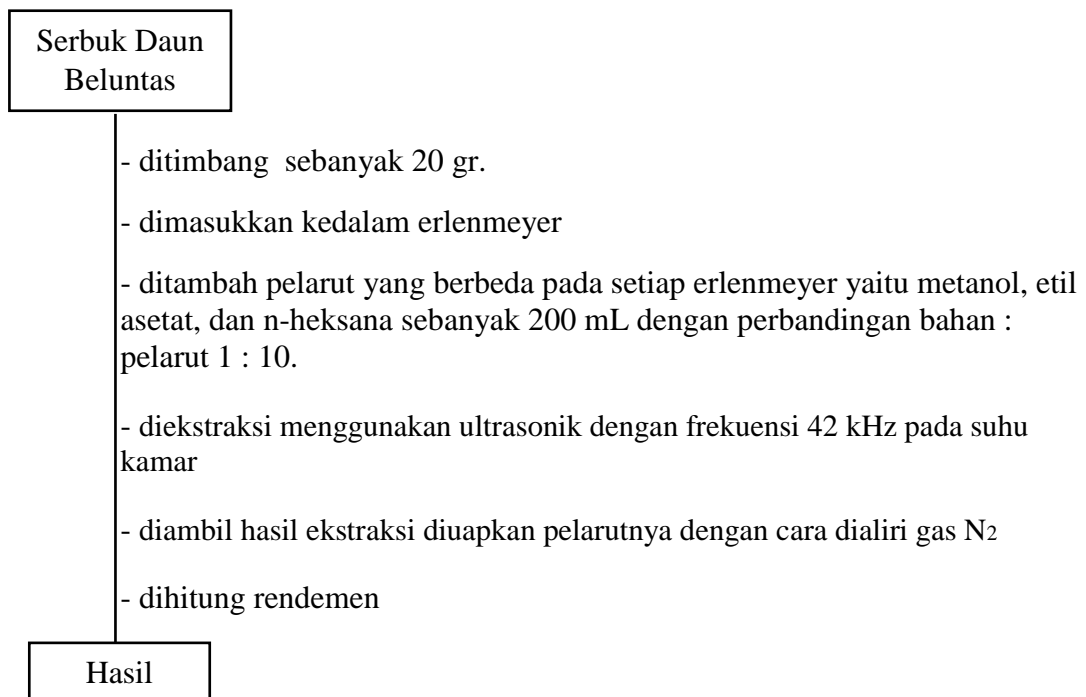
L.2.1. Preparasi Sampel



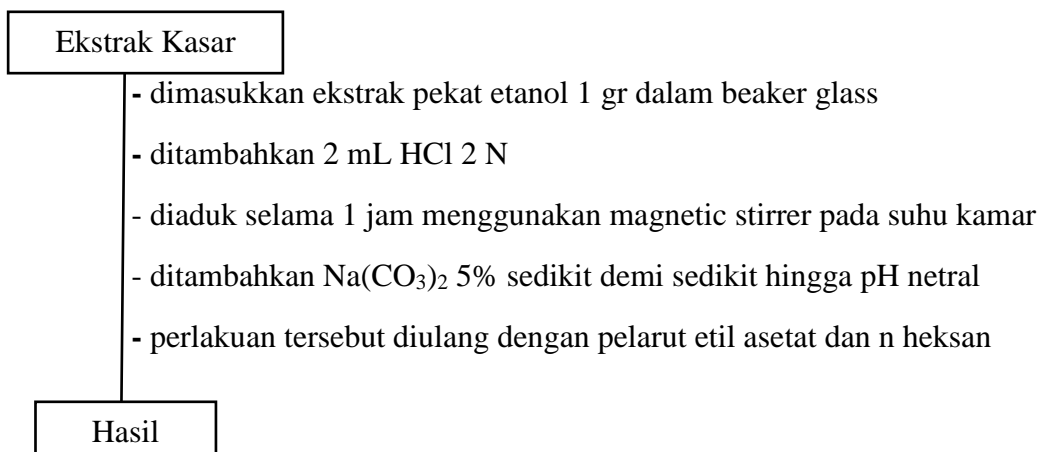
L.2.2 Analisis Kadar Air



L.2.3 Ekstraksi menggunakan Ultrasonik

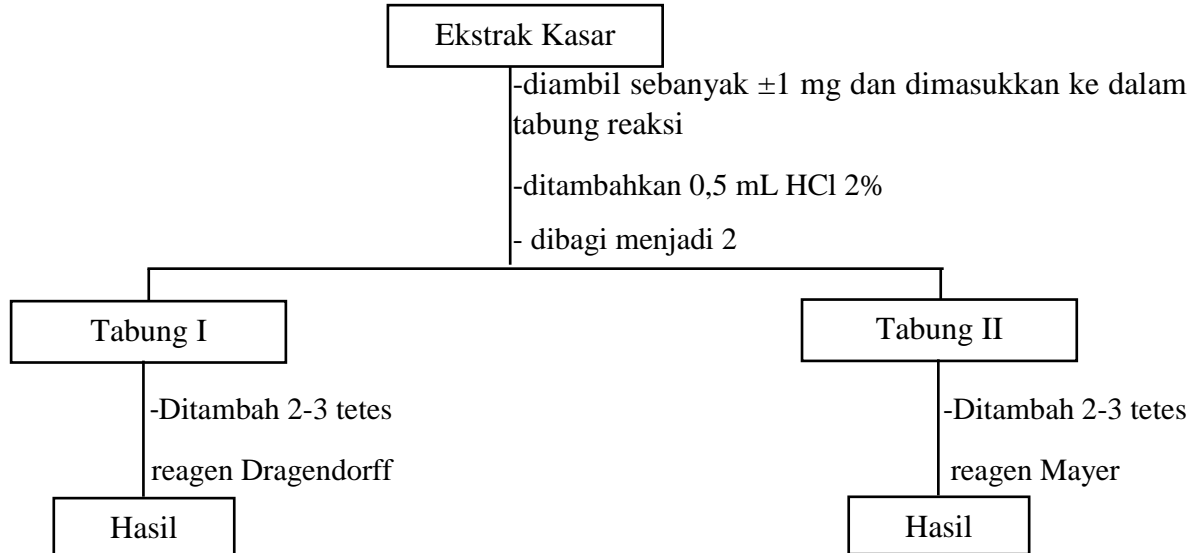


L.2.4 Hidrolisis

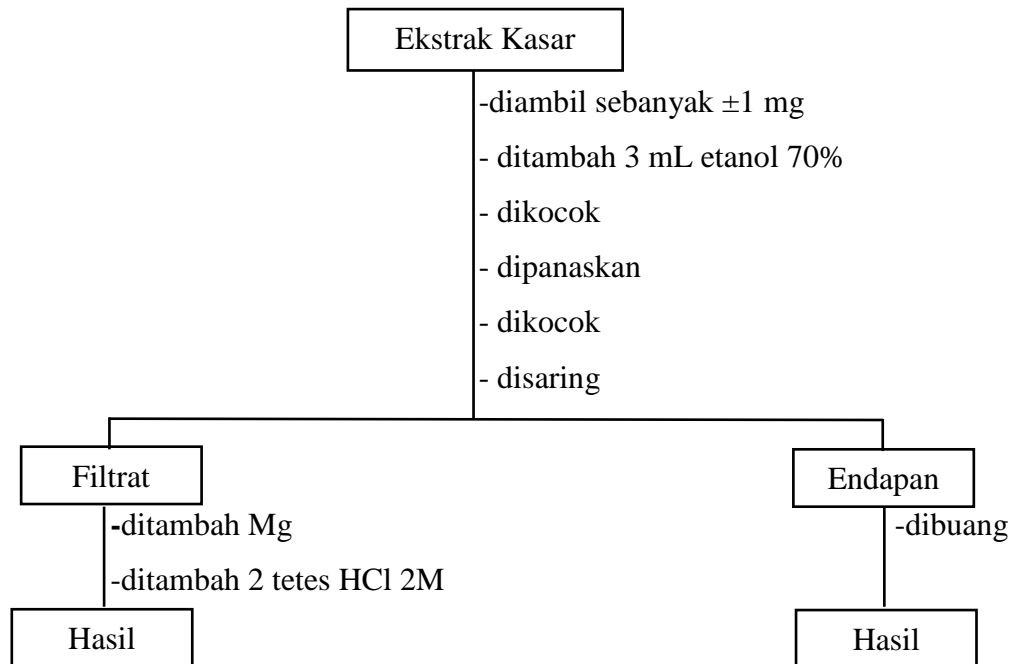


L.2.5 Uji Fitokimia dengan Reagen

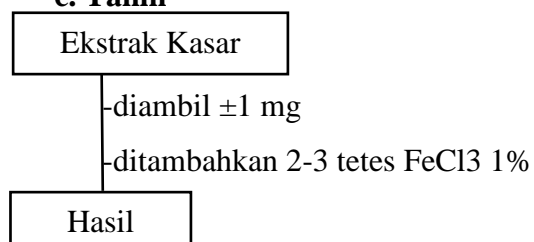
a. Alkaloid

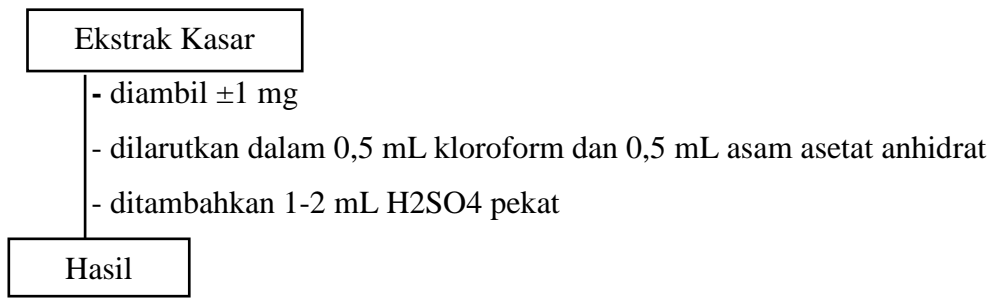
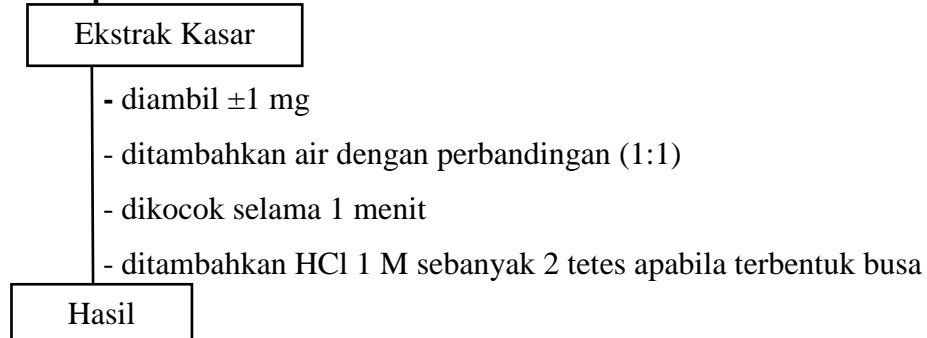
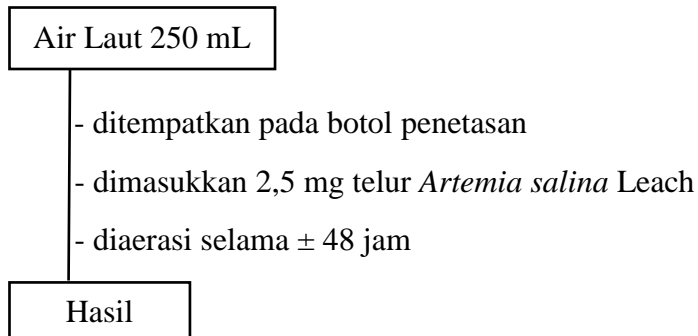


b. Flavonoid

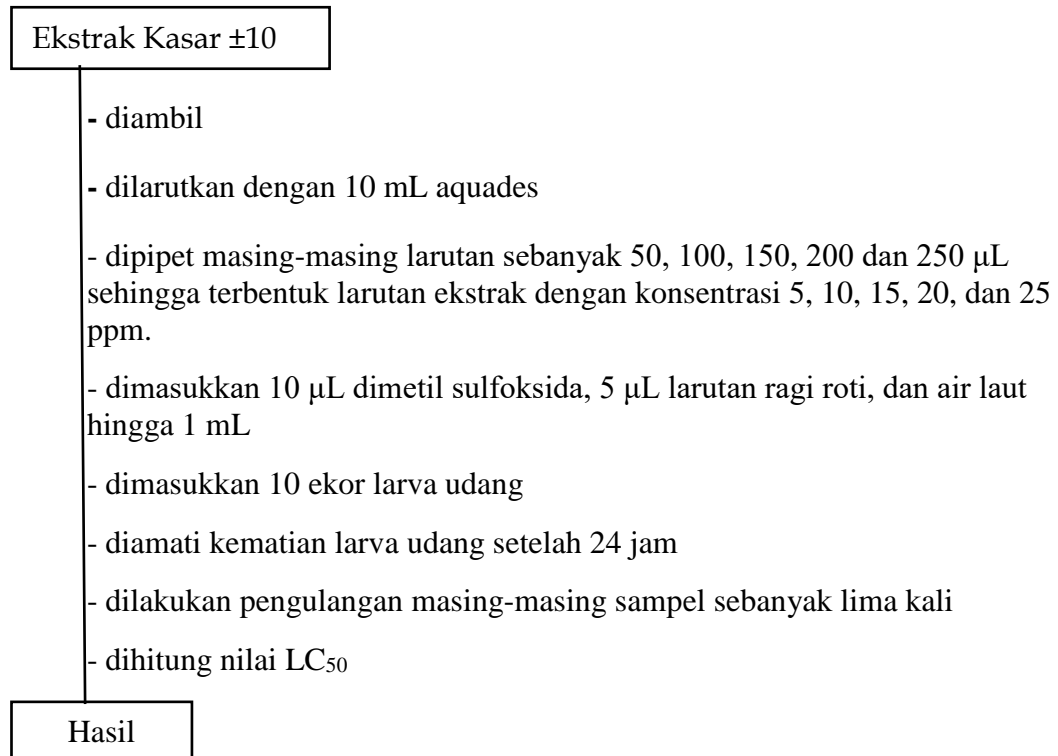


c. Tanin

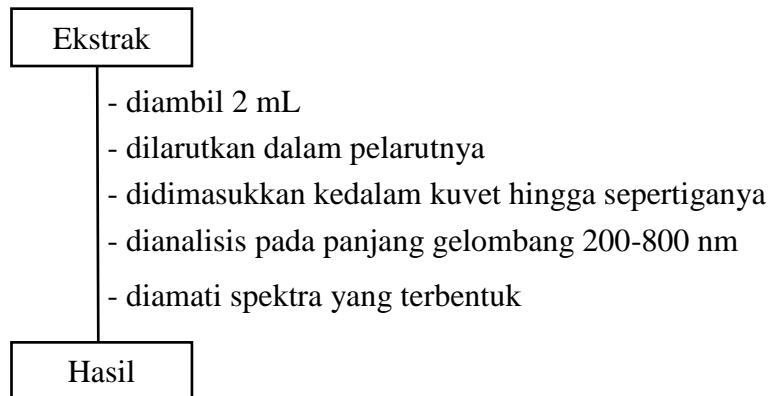


d. Triterpenoid dan Steroid**e. Saponin****L.2.6 Uji Toksisitas menggunakan Larva Udang (*Artemia salina* L)****L.2.6.1 Penetasan Telur**

L.2.6.2 Uji Toksisitas



L.2.7 Karakterisasi senyawa menggunakan UV-Vis



L.3 Perhitungan

L.3.1 Perhitungan Kadar Air pada Sampel

$$\text{Kadar Air} = \frac{b - c}{b - a} \times 100\%$$

Keterangan :

a = Bobot cawan kosong

b = Bobot sampel + cawan sebelum dikeringkan

c = Bobot cawan + sampel setelah dikeringkan

L.3.2 Perhitungan Rendemen Sampel

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{Berat sampel total}} \times 100 \%$$

L.3.3 Pembuatan Larutan HCl 2 N

Pembuatan larutan HCl 2 N

Diketahui : Persen HCl dalam botol 37 %

Berat jenis 1.19 g/mL

Berat molekul 35,6 g/mol

Ditanya : Larutan HCl 2 N ?

Jawab : $N = ((10\% \times \text{berat jenis}) \times \text{valensi}) / \text{Berat molekul}$

$$N = ((10 \times 37\% \times 1.19 \text{ g/mL}) \times 1) / 36.5 \text{ g/mol}$$

$$N = 12.06 \text{ N}$$

Pembuatan larutan HCl 1N 10 mL menggunakan rumus

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

$$12.06 \text{ N} \times V_1 = 2 \text{ N} \times 10 \text{ mL}$$

$$= 20 \text{ N mL} / 12.06 \text{ N}$$

$$= 1.66 \text{ mL}$$

Jadi untuk pembuatan HCl 1N diambil larutan pekat HCl 37% dengan mengambil sebanyak 1.66 mL diencerkan pada 10 mL

L.3.4 Perhitungan uji toksisitas

- Pembuatan larutan stok 1000 ppm ekstrak daun beluntas

$$X \text{ mg/mL} \times 1000 = 1000 \text{ ppm}$$

$$100 \text{ mg} / 100 \text{ mL} \times 1000 = 1000 \text{ ppm}$$

Pembuatan larutan stok dilakukan 1000 ppm dilakukan dengan memasukkan 100 mg ekstrak kasar selanjutnya dilarutkan dengan aquades dalam labu ukur 100 mL sampai tanda batas

- Pembuatan larutan ekstrak 1000 ppm

$$V_1 \times \text{ppm}_1 = V_2 \times \text{ppm}_2$$

$$V_1 \times 10000 \text{ ppm} = 10 \text{ mL} \times 50 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 500 \text{ mL} \cdot \text{ppm} / 10000 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 0,05 \text{ mL}$$

Untuk pembuatan larutan ekstrak larutan 100 ppm dengan memipet larutan stok 10 ml

- Pembuatan larutan ekstrak 100 ppm

$$V_1 \times \text{ppm}_1 = V_2 \times \text{ppm}_2$$

$$V_1 \times 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ mL} \times 100 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 1000 \text{ mL} \cdot \text{ppm} / 10000 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 1 \text{ mL}$$

Untuk pembuatan larutan ekstrak larutan 100 ppm dengan memipet larutan stok 1 mL

- Pembuatan larutan ekstrak 250 ppm

$$V_1 \times \text{ppm}_1 = V_2 \times \text{ppm}_2$$

$$V_1 \times 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ mL} \times 250 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 2500 \text{ mL} \cdot \text{ppm} / 10000 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 2,5 \text{ mL}$$

Untuk pembuatan larutan ekstrak larutan 100 ppm dengan memipet larutan stok 2,5 mL

- Pembuatan larutan ekstrak 500 ppm

$$V_1 \times \text{ppm}_1 = V_2 \times \text{ppm}_2$$

$$V_1 \times 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ mL} \times 500 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 5000 \text{ mL} \cdot \text{ppm} / 10000 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 5 \text{ mL}$$

Untuk pembuatan larutan ekstrak larutan 100 ppm dengan memipet larutan stok 5 mL

- Pembuatan larutan ekstrak 750 ppm

$$V_1 \times \text{ppm}_1 = V_2 \times \text{ppm}_2$$

$$V_1 \times 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ mL} \times 750 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 7500 \text{ mL} \cdot \text{ppm} / 10000 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 7,5 \text{ mL}$$

Untuk pembuatan larutan ekstrak larutan 100 ppm dengan memipet larutan stok 7,5 mL

Lampiran 4. Data Pengamatan dan Perhitungan

Lampiran 4. Data Pengamatan dan Hasil Perhitungan

L4.1 Yield Sampel Kering Daun Beluntas (*Pluchea Indica* L)

Berat sampel basah = 3 kg

Berat sampel kering = 0,53 kg

Berat sampel serbuk kering = 0.42 kg

$$\begin{aligned} \text{Yield} &= \frac{\text{Berat sampel kering}}{\text{Berat sampel basah}} \times 100\% \\ &= \frac{0,42 \text{ kg}}{3 \text{ kg}} \times 100\% \\ &= 14\% \end{aligned}$$

4.2 Data Penentuan Kadar Air Sampel

4.2.1 Data Berat Cawan Kosong

Ulangan Cawan	Berat Cawan Kosong (g)				Berat Konstan
	sebelum dioven	P1	P2	P3	
Cawan 1	57,0117	57,006	57,0065	57,0067	57,0064
Cawan 2	55,8004	55,7953	55,7955	55,7960	55,7956
Cawan 3	39,6189	39,6145	39,6161	39,6168	39,6158

Keterangan : P = Pengulangan

4.2.2 Data berat Cawan + Sampel

Ulangan Cawan	Berat Cawan + Sampel (g)				Berat Konstan
	sebelum dioven + sampel	P1	P2	P3	
Cawan 1	58,0067	57,9054	57,9073	57,9075	57,9067
Cawan 2	56,7953	56,7016	56,7017	56,7017	56,7016
Cawan 3	40,6168	40,5206	40,5213	40,5220	40,5213

Keterangan : P = Pengulangan

4.3 Perhitungan Kadar Air

4.3.1 Kadar Air pada Cawan 1

$$\text{Kadar air} = \frac{(\text{berat cawan+sampel sebelum dioven}) - (\text{berat cawan+sampel setelah di oven})}{(\text{berat cawan+sampel sebelum di oven}) - \text{berat cawan kosong}} \times 100\%$$

$$\text{Kadar air} = \frac{(58,0067 - 57,9067)}{(58,0067 - 57,0064)} \times 100\%$$

$$\text{Kadar air} = 0,1 / 1,0003 \times 100\%$$

$$\text{Kadar air} = 9,99\%$$

4.3.2 Kadar Air pada Cawan 2

$$\text{Kadar air} = \frac{(\text{berat cawan+sampel sebelum di oven}) - (\text{berat cawan+sampel setelah di oven})}{(\text{berat cawan+sampel sebelum di oven}) - \text{berat cawan kosong}} \times 100\%$$

$$\text{Kadar air} = \frac{(56,7953 - 56,7016)}{(56,7953 - 55,7956)} \times 100\%$$

$$\text{Kadar air} = 0,0937 / 0,9997 \times 100\%$$

$$\text{Kadar air} = 9,37\%$$

4.3.3 Kadar Air pada Cawan 3

$$\text{Kadar air} = \frac{(\text{berat cawan+sampel sebelum di oven}) - (\text{berat cawan+sampel setelah di oven})}{(\text{berat cawan+sampel sebelum di oven}) - \text{berat cawan kosong}} \times 100\%$$

$$\text{Kadar air} = \frac{(40,6168 - 40,5213)}{(40,6168 - 39,6158)} \times 100\%$$

$$\text{Kadar air} = 0,0955 / 1,001 \times 100\%$$

$$\text{Kadar air} = 9,54\%$$

Kadar air rata-rata yang terkandung pada sampel kering daun beluntas sebesar 9,63%

L.4.4 Perhitungan Rendeman Ekstraksi Ultrasonik Daun Beluntas (*Pluchea Indica* L)

L.4.4.1 Data Hasil Ekstraksi Daun Beluntas

Pelarut	Berat Sampel (g)	Berat Wadah (g)	Berat Wadah+Ekstrak Pekat (g)	Berat Ekstrak Pekat (g)
Etanol	20	126,3105	130,3911	4,454
Etil Asetat	20	126,3105	126,7162	0,4057
n-Heksana	20	15,4774	15,7323	0,2549

1. Hasil Ekstrak Etanol Daun Beluntas (*Pluchea Indica* L)

Berat gelas kosong = 125,9371 g
 Berat gelas kosong + Ekstrak = 130,3911g
 Berat Ekstrak pekat = 130,3911 - 125,9371 = 4,454 g

$$\begin{aligned} \text{Yield} &= \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{4,6082}{20} \times 100\% \\ &= 22,27\% \end{aligned}$$

2. Hasil Ekstrak Etil Asetat Daun Beluntas (*Pluchea Indica* L)

Berat gelas kosong = 126,3105 g
 Berat gelas kosong + Ekstrak = 126,7162 g
 Berat Ekstrak pekat = 126,7162 - 126,3105 = 0,4057 g

$$\begin{aligned} \text{Yield} &= \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{0,4165}{20} \times 100\% \\ &= 2,08\% \end{aligned}$$

3. Hasil Ekstrak Etanol Daun Beluntas (*Pluchea Indica* L)

Berat gelas kosong = 15,4774 g
 Berat gelas kosong + Ekstrak = 15,7323 g
 Berat Ekstrak pekat = 15,7323 - 15,4774 = 0,2549 g

$$\begin{aligned} \text{Yield} &= \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{0,2549}{20} \times 100\% \\ &= 1,27\% \end{aligned}$$

L.4.5 Hasil Uji Toksisitas Daun Beluntas (*Pluchea Indica* L)

$$\% \text{ mortalitas} = \frac{\text{Tes - kontrol}}{\text{Jumlah larva uji (10ekor)}} \times 100\%$$

Mortalitas = %Mortalitas x jumlah hewan uji

L.4.5.1 Hasil Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Beluntas (*Pluchea Indica* L)

Konsentrasi (ppm)	Jumlah Larva yang Mati (Ekor)					Modus	% Mortalitas	Mortalitas
	I	II	III	IV	V			
Kontrol	0	0	0	0	0	0	0	0
50	0	0	0	0	0	0	0	0
100	0	0	0	0	0	0	0	0
250	1	0	0	0	0	0	0	0
500	0	1	0	1	1	1	10	5
750	2	0	1	1	2	2	20	10

Probit Analysis: Mortalitas; N versus Konsentrasi

Distribution: Normal

Response Information

Variable	Value	Count
Mortalitas	Event	15
	Non-event	235
N	Total	250

Estimation Method: Maximum Likelihood

Regression Table

Variable	Coef	Standard Error	Z	P
Constant	-3,14776	0,513551	-6,13	0,000
Konsentrasi	0,0031965	0,0008042	3,97	0,000

Natural

Response 0
Log-Likelihood = -42,614

Goodness-of-Fit Tests

Method	Chi-Square	DF	P
Pearson	2,22457	3	0,527
Deviance	2,67853	3	0,444

Tolerance Distribution

Parameter Estimates

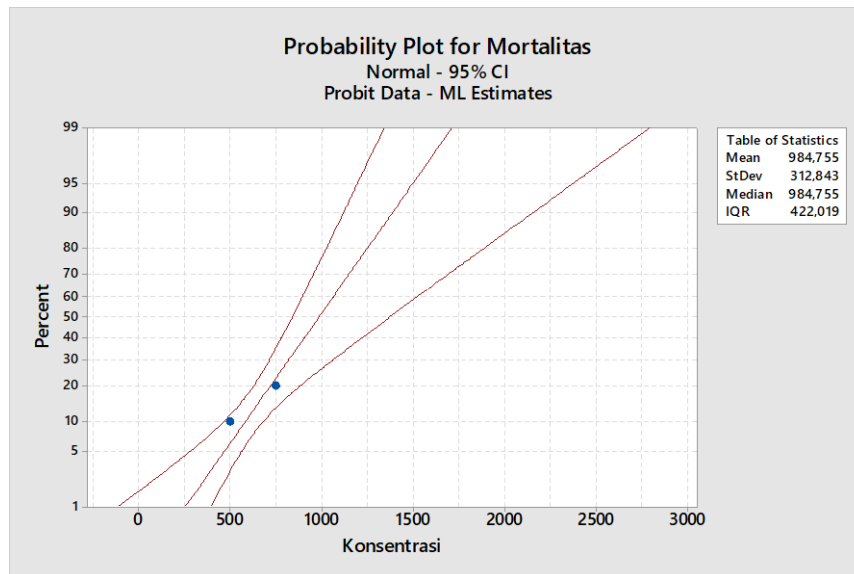
Parameter	Estimate	Standard Error	95,0% Normal CI	
			Lower	Upper
Mean	984,755	105,286	778,399	1191,11
StDev	312,843	78,7112	191,058	512,258

Table of Percentiles

Standard 95,0% Fiducial CI

Percent	Percentile	Error	Lower	Upper
1	256,973	100,649	-110,234	396,998
2	342,253	82,3014	51,5909	460,537
3	396,361	71,5631	152,262	502,852
4	437,065	64,2079	226,320	536,358
5	470,174	58,8646	285,012	565,159
6	498,354	54,9059	333,480	591,162
7	523,064	51,9854	374,527	615,412
8	545,188	49,8854	409,871	638,534
9	565,309	48,4541	440,663	660,914
10	583,830	47,5768	467,731	682,790
20	721,459	54,7530	628,707	885,515
30	820,700	70,8199	714,979	1061,50
40	905,497	87,9050	780,723	1219,84
50	984,755	105,286	839,063	1370,95
60	1064,01	123,443	895,757	1523,70
70	1148,81	143,395	955,324	1688,22
80	1248,05	167,180	1024,15	1881,65
90	1385,68	200,642	1118,64	2150,86
91	1404,20	205,174	1131,29	2187,15
92	1424,32	210,105	1145,03	2226,58
93	1446,45	215,533	1160,12	2269,96
94	1471,15	221,604	1176,96	2318,42
95	1499,34	228,537	1196,14	2373,71
96	1532,44	236,695	1218,66	2438,68
97	1573,15	246,739	1246,31	2518,60
98	1627,26	260,115	1283,01	2624,88
99	1712,54	281,244	1340,77	2792,48

Probability Plot for Mortalitas



L.4.5.1 Hasil Uji Toksisitas Hidrolisis Etanol Daun Beluntas (*Pluchea Indica* L)

Konsentrasi (ppm)	Jumlah Larva yang Mati (Ekor)						% Mortalitas	Mortalitas
	I	II	III	IV	V	Modus		
Kontrol	0	0	0	0	0	0	0	0
50	0	0	0	0	0	0	0	0
100	0	1	0	0	0	0	0	0
250	0	0	0	0	0	0	0	0
500	0	1	1	1	0	0	10	5
750	0	1	1	1	1	1	10	5

Probit Analysis: Mortalitas; N versus Konsentrasi

Distribution: Normal

Response Information

Variable	Value	Count
Mortalitas	Event	10
	Non-event	240
N	Total	250

Estimation Method: Maximum Likelihood

Regression Table

Variable	Coef	Standard Error	Z	P
Constant	-2,86472	0,460315	-6,22	0,000
Konsentrasi	0,0023557	0,0007539	3,12	0,002

Natural

Response 0

Log-Likelihood = -35,021

Goodness-of-Fit Tests

Method	Chi-Square	DF	P
Pearson	4,85650	3	0,183
Deviance	5,02631	3	0,170
Tolerance Distribution			

Parameter Estimates

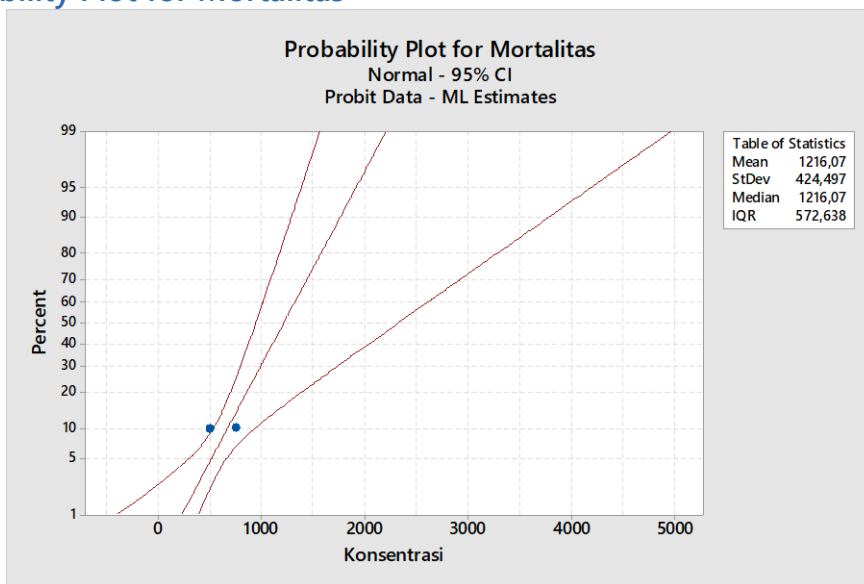
Parameter	Estimate	Standard Error	95,0% Normal CI	
			Lower	Upper
Mean	1216,07	217,342	790,082	1642,05
StDev	424,497	135,857	226,701	794,869

Table of Percentiles

Percent	Percentile	Standard Error	95,0% Fiducial CI	
			Lower	Upper
1	228,538	129,489	-388,719	400,583
2	344,255	100,023	-95,0553	488,491
3	417,674	84,4762	82,8636	552,668
4	472,904	75,5394	208,210	609,440
5	517,830	70,7379	301,477	664,313
6	556,069	68,7879	372,529	719,351
7	589,596	68,8454	427,569	774,867
8	619,617	70,3005	471,080	830,347
9	646,919	72,7091	506,346	885,107
10	672,051	75,7539	535,704	938,620
20	858,800	114,676	701,575	1388,54
30	993,459	151,421	797,947	1736,20
40	1108,52	185,002	875,355	2038,20
50	1216,07	217,342	945,669	2322,51
60	1323,61	250,238	1014,82	2607,98
70	1438,67	285,829	1088,00	2914,22
80	1573,33	327,829	1172,93	3273,32
90	1760,08	386,476	1289,91	3772,13
91	1785,21	394,394	1305,61	3839,31
92	1812,51	403,002	1322,64	3912,30
93	1842,53	412,472	1341,36	3992,57

94	1876,06	423,057	1362,25	4082,24
95	1914,30	435,138	1386,06	4184,52
96	1959,23	449,342	1414,01	4304,70
97	2014,46	466,818	1448,35	4452,49
98	2087,88	490,072	1493,94	4648,99
99	2203,59	526,768	1565,72	4958,78

Probability Plot for Mortalitas



L.4.5.1 Hasil Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Beluntas (*Pluchea Indica L*)

Konsentrasi (ppm)	Jumlah Larva yang Mati (Ekor)						% Mortalitas	Mortalitas
	I	II	III	IV	V	Modus		
Kontrol	0	0	0	0	0	0	0	0
50	1	2	1	2	3	2	20	10
100	3	3	2	4	1	3	30	15
250	7	9	6	8	6	6	60	30
500	6	7	7	9	8	7	70	35
750	5	10	9	9	7	9	90	45

Probit Analysis: Mortalitas; N versus Konsentrasi

Distribution: Normal

Response Information

Variable	Value	Count
Mortalitas	Event	135
	Non-event	115
N	Total	250

Estimation Method: Maximum Likelihood

Regression Table

Variable	Coef	Standard Error	Z	P
Constant	-0,773038	0,138500	-5,58	0,000
Konsentrasi Natural	0,0028102	0,0003689	7,62	0,000
Response	0			
Log-Likelihood = -138,415				

Goodness-of-Fit Tests

Method	Chi-Square	DF	P
Pearson	4,75054	3	0,191
Deviance	4,80736	3	0,186
Tolerance Distribution			

Parameter Estimates

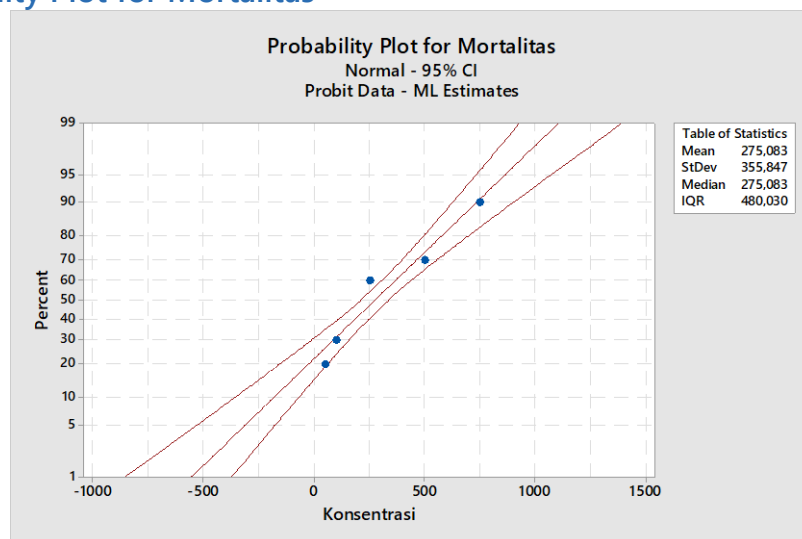
Parameter	Estimate	Standard Error	95,0% Normal CI	
			Lower	Upper
Mean	275,083	31,0481	214,230	335,936
StDev	355,847	46,7159	275,117	460,267

Table of Percentiles

Percent	Percentile	Standard Error	95,0% Fiducial CI	
			Lower	Upper
1	-552,740	115,147	-853,741	-371,531
2	-455,737	102,938	-724,167	-293,343
3	-394,191	95,2639	-642,097	-243,595
4	-347,893	89,5378	-580,452	-206,077
5	-310,233	84,9161	-530,381	-175,489
6	-278,178	81,0123	-487,821	-149,393
7	-250,072	77,6156	-450,557	-126,460
8	-224,907	74,5978	-417,239	-105,880
9	-202,020	71,8752	-386,981	-87,1190
10	-180,953	69,3896	-359,169	-69,8086
20	-24,4051	51,8164	-154,307	60,6234
30	88,4769	40,9053	-10,1687	158,256
40	184,930	34,0114	107,935	246,736

50	275,083	31,0481	210,895	336,865
60	365,236	32,4245	304,456	436,395
70	461,689	38,1446	395,421	552,014
80	574,571	48,3187	494,574	694,631
90	731,119	65,4339	625,931	898,568
91	752,187	67,8829	643,314	926,307
92	775,074	70,5700	662,146	956,494
93	800,239	73,5529	682,796	989,743
94	828,345	76,9153	705,797	1026,94
95	860,399	80,7851	731,960	1069,43
96	898,059	85,3725	762,617	1119,43
97	944,358	91,0633	800,205	1181,01
98	1005,90	98,6998	850,029	1263,00
99	1102,91	110,863	928,305	1392,49

Probability Plot for Mortalitas



L.4.5.1 Hasil Uji Toksisitas Hidrolisis Etil Asetat Daun Beluntas (*Pluchea Indica L*)

Konsentrasi (ppm)	Jumlah Larva yang Mati (Ekor)						% Mortalitas	Mortalitas
	I	II	III	IV	V	Modus		
Kontrol	0	0	0	0	0	0	0	0
50	0	2	1	0	1	1	10	5
100	2	2	4	5	1	2	20	10
250	6	6	8	9	10	6	60	30
500	8	7	8	9	5	8	80	40
750	10	7	9	7	9	9	90	45

Probit Analysis: Mortalitas; N versus Konsentrasi

Distribution: Normal

Response Information

Variable	Value	Count
Mortalitas	Event	130
	Non-event	120
N	Total	250

Estimation Method: Maximum Likelihood

Regression Table

Variable	Coef	Standard Error	Z	P
Constant	-1,07528	0,148573	-7,24	0,000
Konsentrasi	0,0036183	0,0004043	8,95	0,000

Natural

Response 0

Log-Likelihood = -121,785

Goodness-of-Fit Tests

Method	Chi-Square	DF	P
Pearson	11,3601	3	0,010
Deviance	11,1716	3	0,011

Tolerance Distribution

Parameter Estimates

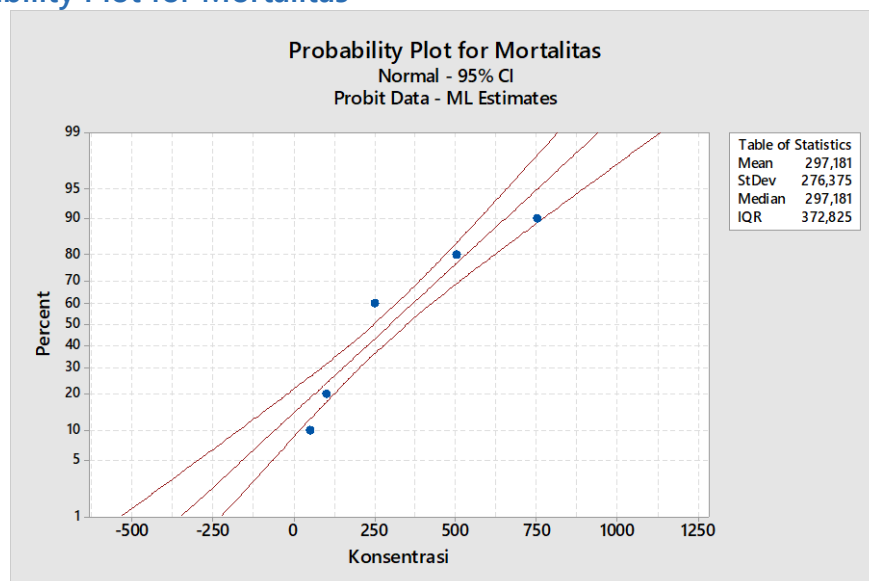
Parameter	Estimate	Standard Error	95,0% Normal CI	
			Lower	Upper
Mean	297,181	25,4080	247,382	346,980
StDev	276,375	30,8797	222,021	344,037

Table of Percentiles

Percent	Percentile	Standard Error	95,0% Fiducial CI	
			Lower	Upper
1	-345,764	75,3124	-532,351	-223,108
2	-270,424	67,4472	-436,975	-160,214
3	-222,624	62,5316	-376,610	-120,163
4	-186,665	58,8826	-331,296	-89,9371
5	-157,416	55,9518	-294,511	-65,2765
6	-132,520	53,4879	-263,262	-44,2252

7	-110,691	51,3543	-235,917	-25,7142
8	-91,1460	49,4679	-211,479	-9,09193
9	-73,3705	47,7743	-189,299	6,06929
10	-57,0081	46,2359	-168,923	20,0664
20	64,5778	35,6716	-19,2569	125,821
30	152,250	29,6235	85,4687	205,272
40	227,162	26,3089	171,118	276,995
50	297,181	25,4080	246,563	348,642
60	367,200	26,8585	317,053	425,244
70	442,113	30,6273	387,830	511,838
80	529,785	37,0072	466,601	617,244
90	651,371	47,8076	571,879	767,386
91	667,733	49,3662	585,836	787,802
92	685,508	51,0796	600,958	810,022
93	705,054	52,9856	617,541	834,499
94	726,882	55,1387	636,013	861,883
95	751,778	57,6221	657,026	893,171
96	781,028	60,5729	681,646	929,995
97	816,986	64,2427	711,831	975,350
98	864,787	69,1809	751,838	1035,76
99	940,127	77,0731	814,677	1131,19

Probability Plot for Mortalitas



L.4.5.1 Hasil Uji Toksisitas Ekstrak n-Heksana Daun Beluntas (*Pluchea Indica L*)

Konsentrasi (ppm)	Jumlah Larva yang Mati (Ekor)					Modus	% Mortalitas	Mortalitas
	I	II	III	IV	V			
Kontrol	0	0	0	0	0	0	0	0
50	2	3	0	1	2	2	20	10
100	6	3	2	7	6	6	60	30
250	9	10	10	9	10	10	100	50
500	10	10	10	10	10	10	100	50
750	10	10	10	10	10	10	100	50

Probit Analysis: Mortalitas; N versus Konsentrasi

Distribution: Normal

Response Information

Variable	Value	Count
Mortalitas	Event	190
	Non-event	60
N	Total	250

Estimation Method: Maximum Likelihood

Regression Table

Variable	Coef	Standard Error	Z	P
Constant	-1,94940	0,424654	-4,59	0,000
Konsentrasi	0,0220715	0,0051420	4,29	0,000

Natural

Response 0
Log-Likelihood = -58,680

Goodness-of-Fit Tests

Method	Chi-Square	DF	P
Pearson	0,0100148	3	1,000
Deviance	0,0189902	3	0,999

Tolerance Distribution

Parameter Estimates

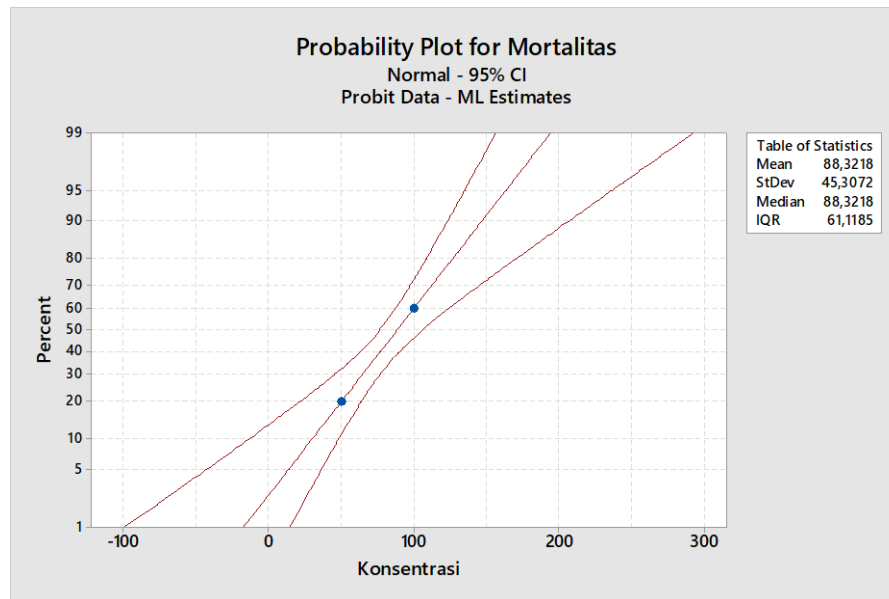
Parameter	Estimate	Standard Error	95,0% Normal CI	
			Lower	Upper
Mean	88,3218	6,50141	75,5793	101,064
StDev	45,3072	10,5552	28,6988	71,5272

Table of Percentiles

Standard 95,0% Fiducial CI

Percent	Percentile	Error	Lower	Upper
1	-17,0786	23,0495	-98,8810	14,4424
2	-4,72787	20,2880	-76,3818	23,1514
3	3,10826	18,5542	-62,1437	28,7138
4	9,00307	17,2624	-51,4582	32,9234
5	13,7980	16,2215	-42,7864	36,3678
6	17,8793	15,3440	-35,4228	39,3168
7	21,4578	14,5821	-28,9818	41,9181
8	24,6619	13,9070	-23,2292	44,2617
9	27,5759	13,2996	-18,0112	46,4069
10	30,2583	12,7468	-13,2214	48,3950
20	50,1903	8,94223	21,7177	63,8206
30	64,5627	6,87183	45,3583	76,4967
40	76,8434	6,08365	63,0346	89,8515
50	88,3218	6,50141	76,3840	105,506
60	99,8003	7,86306	87,2274	123,667
70	112,081	9,92927	97,3538	144,572
80	126,453	12,7438	108,320	169,922
90	146,385	16,9711	122,844	205,763
91	149,068	17,5560	124,765	210,620
92	151,982	18,1945	126,846	215,902
93	155,186	18,8998	129,128	221,716
94	158,764	19,6911	131,669	228,217
95	162,846	20,5976	134,559	235,640
96	167,641	21,6675	137,945	244,370
97	173,535	22,9890	142,094	255,116
98	181,372	24,7544	147,593	269,418
99	193,722	27,5529	156,228	291,991

Probability Plot for Mortalitas



L.4.5.1 Hasil Uji Toksisitas Hidrolisis n-Heksana Daun Beluntas (*Pluchea Indica L*)

Konsentrasi (ppm)	Jumlah Larva yang Mati (Ekor)						% Mortalitas	Mortalitas
	I	II	III	IV	V	Modus		
Kontrol	0	0	0	0	0	0	0	0
50	2	1	3	4	2	2	20	10
100	2	4	5	3	3	3	30	15
250	8	10	10	9	10	10	100	50
500	10	10	10	10	10	10	100	50
750	10	10	10	10	10	10	100	50

Probit Analysis: Mortalitas; N versus Konsentrasi

Distribution: Normal

Response Information

Variable	Value	Count
Mortalitas	Event	175
	Non-event	75
N	Total	250

Estimation Method: Maximum Likelihood

Regression Table

Variable	Coef	Standard Error	Z	P
Constant	-1,90166	0,275143	-6,91	0,000
Konsentrasi	0,0163199	0,0026259	6,21	0,000

Natural

Response 0
Log-Likelihood = -57,960

Goodness-of-Fit Tests

Method	Chi-Square	DF	P
Pearson	4,15068	3	0,246
Deviance	4,79325	3	0,188
Tolerance Distribution			

Parameter Estimates

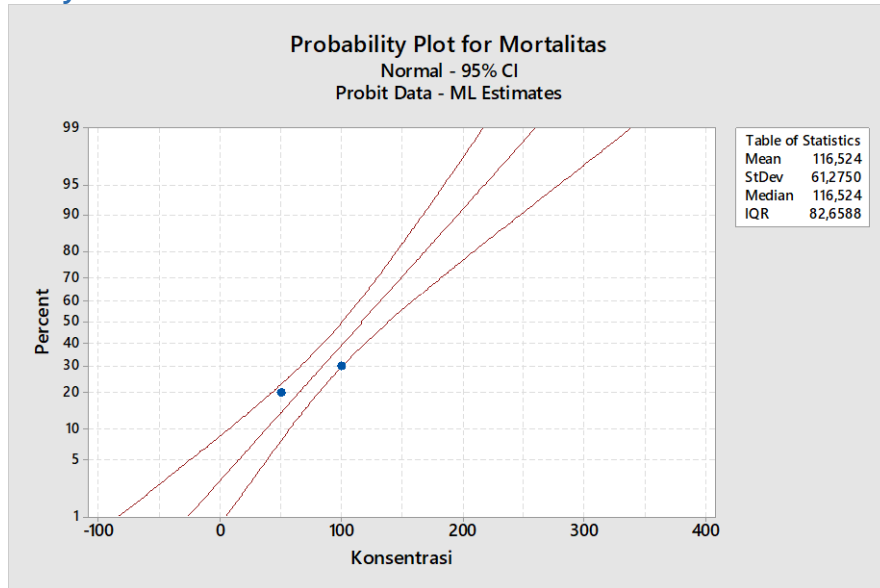
Parameter	Estimate	Standard Error	95,0% Normal CI	
			Lower	Upper
Mean	116,524	9,07362	98,7402	134,308
StDev	61,2750	9,85946	44,7014	83,9936

Table of Percentiles

Percent	Percentile	Standard Error	95,0% Fiducial CI	
			Lower	Upper
1	-26,0229	20,6245	-83,5650	5,51074
2	-9,31935	18,1866	-59,6634	18,7056
3	1,27849	16,6796	-44,5790	27,1578
4	9,25084	15,5730	-33,2864	33,5709
5	15,7357	14,6939	-24,1440	38,8306
6	21,2554	13,9636	-16,3989	43,3441
7	26,0950	13,3390	-9,64058	47,3341
8	30,4284	12,7940	-3,61906	50,9364
9	34,3694	12,3118	1,82943	54,2404
10	37,9971	11,8806	6,81833	57,3082
20	64,9538	9,21764	42,7312	81,2631
30	84,3915	8,23415	66,5558	100,607
40	101,000	8,28467	84,8832	119,166
50	116,524	9,07362	100,324	138,202
60	132,048	10,4165	114,531	158,471
70	148,657	12,2607	128,853	181,036
80	168,095	14,7447	144,929	208,128
90	195,051	18,5154	166,555	246,370
91	198,679	19,0413	169,428	251,554
92	202,620	19,6163	172,542	257,193
93	206,953	20,2526	175,957	263,401

94	211,793	20,9678	179,763	270,344
95	217,313	21,7889	184,092	278,273
96	223,798	22,7600	189,165	287,602
97	231,770	23,9621	195,386	299,087
98	242,368	25,5723	203,630	314,379
99	259,071	28,1329	216,580	338,526

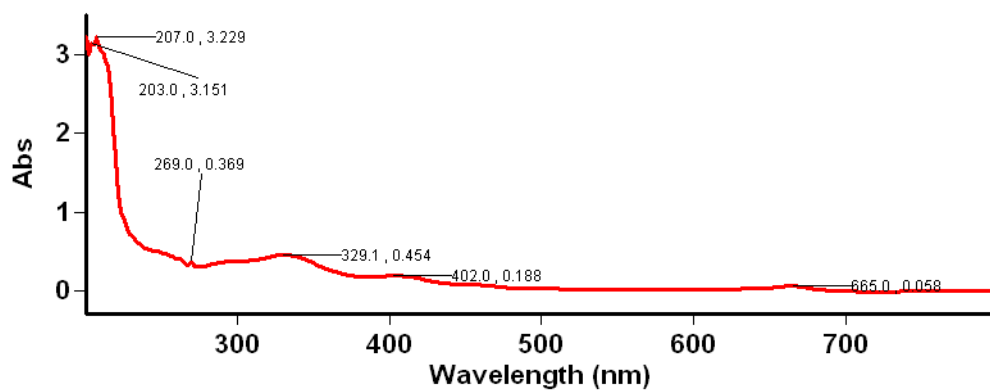
Probability Plot for Mortalitas



Lampiran 5. Data Instrumentasi UV-Vis

5.1 Hasil Spektrofotometer UV-Vis Daun Beluntas Ekstrak Etanol

Lamdha Maks Ekstrak Etanol Daun Beluntas (28-10-2021)



Scan Analysis Report

Report Time : Thu 28 Oct 03:25:45 PM 2021

Method:

Batch: D:\Mahasiswa On Going\Fikri Khowas\Lamda Maks Ekstrak Etanol Daun Beluntas
(28-10-2021).DSW

Software version: 3.00(339)

Operator: Rika

Sample Name: Ekstrak Etanol

Collection Time 10/28/2021 3:26:04 PM

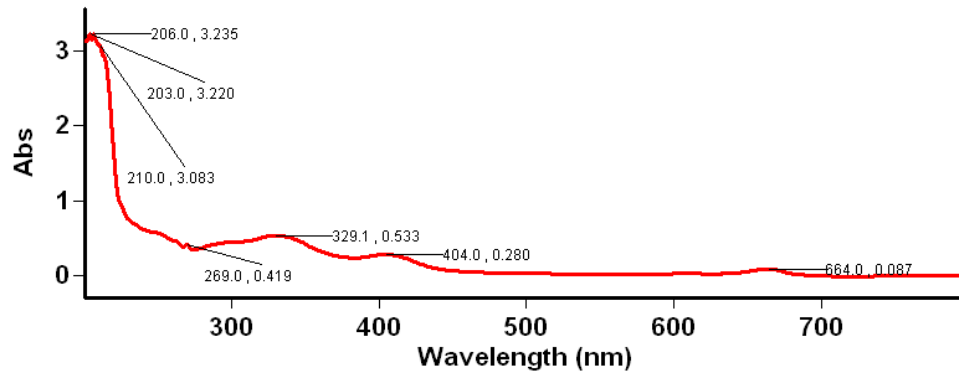
Peak Table

Peak Style	Peaks
Peak Threshold	0.0100
Range	800.0nm to 200.1nm

Wavelength (nm)	Abs
665.0	0.058
402.0	0.188
329.1	0.454
269.0	0.369
207.0	3.229
203.0	3.151

5.2 Hasil Spektrofotometer UV-Vis Daun Beluntas Hidrolisis Etanol

Lamdba Maks Ekstrak Hidrolisis Etanol Daun Beluntas (28-10-2021)



Scan Analysis Report

Report Time : Thu 28 Oct 03:28:10 PM 2021

Method:

Batch: D:\Mahasiswa On Going\Fikri Khowas\Lamdba Maks Ekstrak Hidrolisis Etanol Daun Beluntas (28-10-2021).DSW

Software version: 3.00(339)

Operator: Rika

Sample Name: Ekstrak Hidrolisis Etanol

Collection Time 10/28/2021 3:28:20 PM

Peak Table

Peak Style Peaks

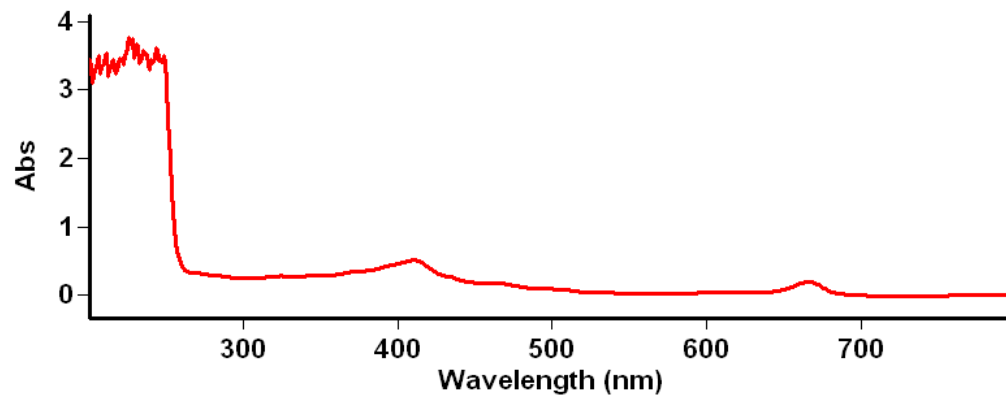
Peak Threshold 0.0100

Range 800.0nm to 200.1nm

Wavelength (nm)	Abs
664.0	0.087
404.0	0.280
329.1	0.533
269.0	0.419
210.0	3.083
206.0	3.235
203.0	3.220

5.3 Hasil Spektrofotometer UV-Vis Daun Beluntas Ekstrak Etil Asetat

Lamdha Maks Ekstrak Etil Asetat Daun Beluntas (28-10-2021)



Scan Analysis Report

Report Time : Thu 28 Oct 03:31:06 PM 2021

Method:

Batch: D:\Mahasiswa On Going\Fikri Khowas\Lamdha Maks Ekstrak Etil Asetat Daun Beluntas (28-10-2021).DSW

Software version: 3.00(339)

Operator: Rika

Sample Name: Ekstrak Etil Asetat

Collection Time 10/28/2021 3:31:32 PM

Peak Table

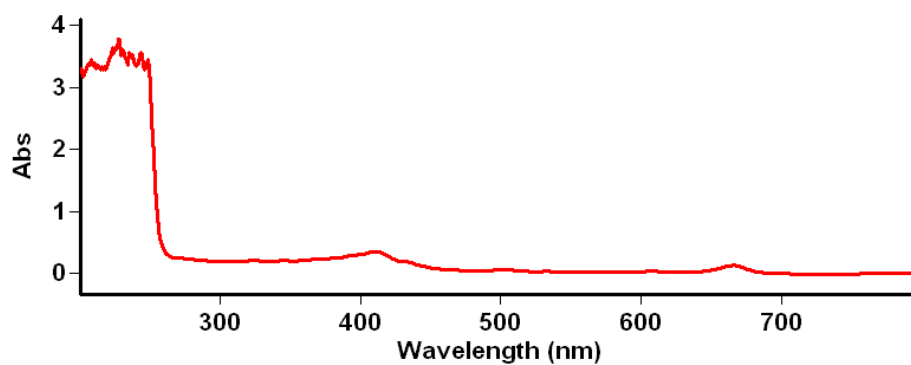
Peak Style Peaks
Peak Threshold 0.0100
Range 800.0nm to 200.1nm

Wavelength (nm)	Abs
666.0	0.200
608.0	0.050
411.0	0.517
324.1	0.283

248.0	3.503
243.0	3.619
240.1	3.440
236.9	3.525
235.1	3.585
230.0	3.674
228.0	3.756
225.0	3.764
220.9	3.465
219.1	3.462
215.0	3.436
211.1	3.544
206.0	3.491

5.4 Hasil Spektrofotometer UV-Vis Daun Beluntas Hidrolisis Etil Asetat

Lamda Maks Ekstrak Hidrolisis Etil Asetat Daun Beluntas (28-10-2021)



Scan Analysis Report

Report Time : Thu 28 Oct 03:33:43 PM 2021

Method:

Batch: D:\Mahasiswa On Going\Fikri Khawas\Lamda Maks Ekstrak Hidrolisis Etil Asetat Daun Beluntas (28-10-2021).DSW

Software version: 3.00(339)

Operator: Rika

Sample Name: Ekstrak Hidrolisis Etil Asetat

Collection Time 10/28/2021 3:33:53 PM

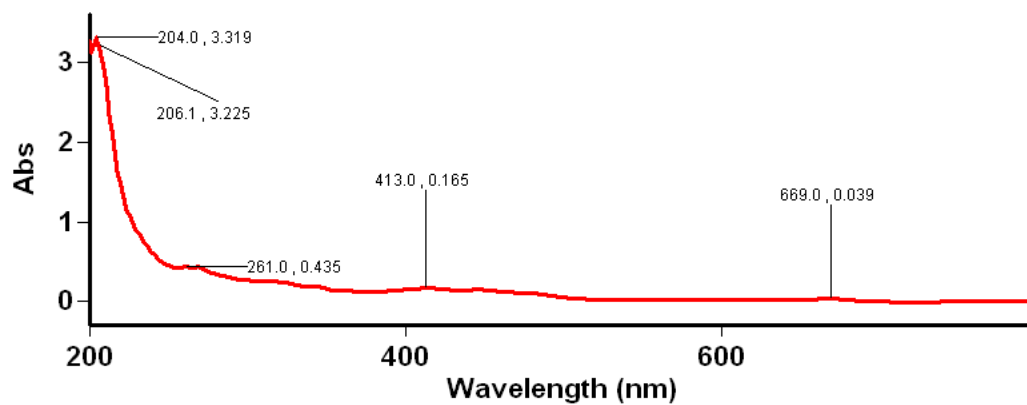
Peak Table

Peak Style Peaks
Peak Threshold 0.0100
Range 800.0nm to 200.1nm

Wavelength (nm)	Abs
667.0	0.129
609.0	0.034
503.0	0.057
411.0	0.351
324.1	0.208
248.0	3.446
243.0	3.574
236.9	3.528
235.1	3.574
230.0	3.605
228.0	3.775
225.0	3.666
223.0	3.637
217.0	3.331
215.0	3.341
212.9	3.354
210.0	3.403
208.1	3.459
206.0	3.391

5.5 Hasil Spektrofotometer UV-Vis Daun Beluntas Ekstran n-Heksana

Lamdha Maks Ekstrak n-Heksana Daun Beluntas (04-10-2021)



Scan Analysis Report

Report Time : Mon 04 Oct 02:51:35 PM 2021

Method:

Batch: D:\Mahasiswa On Going\Fikri Khowas\Lamdha Maks Ekstrak n-Heksana Daun Beluntas (04-10-2021).DSW

Software version: 3.00(339)

Operator: Rika

Sample Name: Ekstrak n-heksana

Collection Time 10/4/2021 2:51:56 PM

Peak Table

Peak Style Peaks

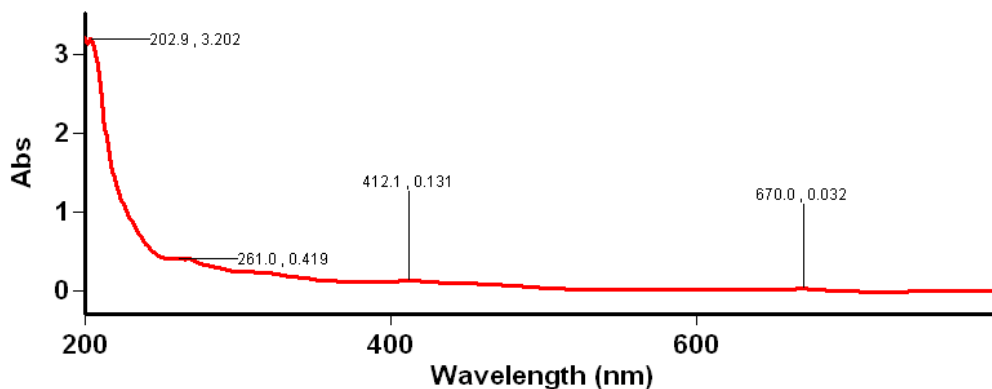
Peak Threshold 0.0100

Range 800.0nm to 199.9nm

Wavelength (nm)	Abs
669.0	0.039
413.0	0.165
261.0	0.435
206.1	3.225
204.0	3.319

5.6 Hasil Spektrofotometer UV-Vis Daun Beluntas Hidrolisis n-Heksana

Lamda Maks Ekstrak Hidrolisis n-Heksana Daun Beluntas (04-10-2021)



Scan Analysis Report

Report Time : Mon 04 Oct 02:54:11 PM 2021

Method:

Batch: D:\Mahasiswa On Going\Fikri Khowas\Lamda Maks Ekstrak Hidrolisis n-Heksana Daun Beluntas (04-10-2021).DSW

Software version: 3.00(339)

Operator: Rika

Sample Name: Ekstrak Hidrolisis n-heksana

Collection Time 10/4/2021 2:54:18 PM

Peak Table

Peak Style Peaks

Peak Threshold 0.0100

Range 800.0nm to 199.9nm

Wavelength (nm)	Abs
670.0	0.032
412.1	0.131
261.0	0.419
202.9	3.202

Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian

L.6.1 Kadar Air



Penimbangan cawan



pengovenan cawan



Proses desikator cawan kosong



Proses desikator cawan + sampel

L.6.2 Ekstraksi Ultrasonik



Penimbangan Sampel



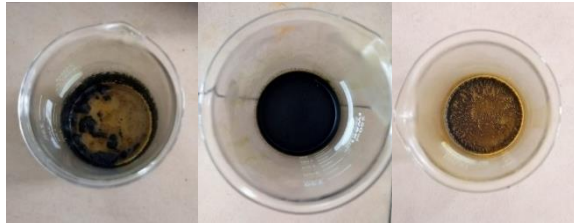
Proses Ekstraksi



Penyaringan Filtrat dengan ampas



Penguapan pelarut pada ekstrak



Hasil ekstrak daun beluntas

L 6.3 Hidrolisis



Penambahan HCl



Distirrer selama 1 jam



Penetralan menggunakan NaH_2CO_3



Pengecekan pH

L 6.3 Uji Toksisitas



Penetasan telur larva udang



pembuatan larutan stock



Penguapan pelarut



Vortex botol vial



Penambahan larva udang



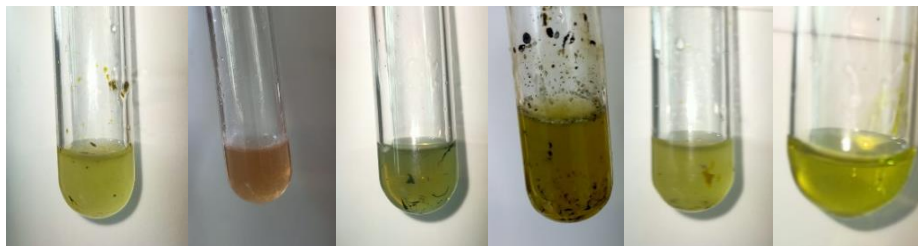
Vial ditunggu 24 jam



Pengamatan toksisitas pada hewan uji

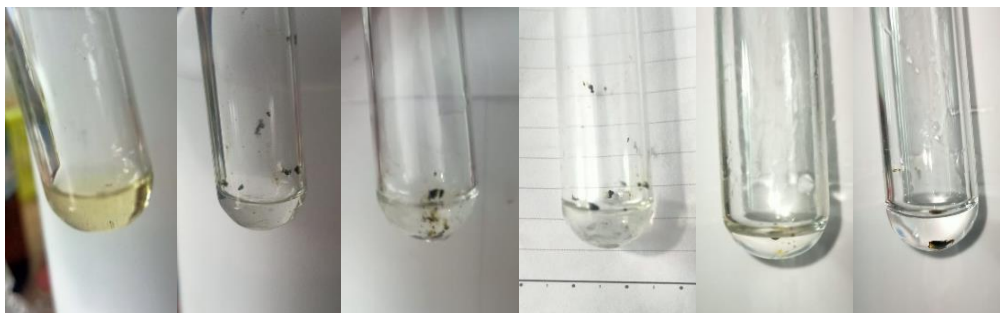
6.4 Uji Fitokimia

L 6.4.1 Flavonoid



Hasil uji flavonoid pada ekstrak etanol, hidrolisis etanol, etil asetat, hidrolisis etil asetat, n-heksana dan hidrolisis n-heksana

L 6.4.2 Alkaloid

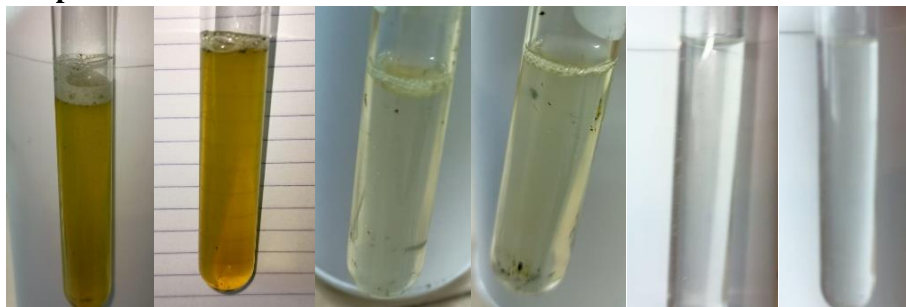


Hasil uji alkaloid dengan pereaksi meyer pada ekstrak etanol, hidrolisis etanol, etil asetat, hidrolisis etil asetat, n-heksana dan hidrolisis n-heksana



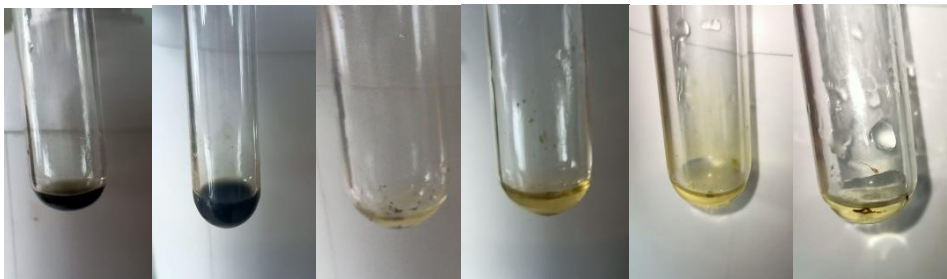
Hasil uji alkaloid dengan pereaksi dragendorf pada ekstrak etanol, hidrolisis etanol, etil asetat, hidrolisis etil asetat, n-heksana dan hidrolisis n-heksana

L 6.4.3 Saponin



Hasil uji saponin pada ekstrak etanol, hidrolisis etanol, etil asetat, hidrolisis etil asetat, n-heksana dan hidrolisis n-heksana

L 6.4.3 Tanin



Hasil uji tanin pada ekstrak etanol, hidrolisis etanol, etil asetat, hidrolisis etil asetat, n-heksana dan hidrolisis n-heksana

L 6.4.3 Steroid dan Terpenoid



Hasil uji Steroid dan Terpenoid pada ekstrak etanol, hidrolisis etanol, etil asetat, hidrolisis etil asetat, n-heksana dan hidrolisis n-heksana