

**UJI TOKSISITAS DAN IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIF FRAKSI AIR,
n-HEKSANA, DAN ETIL ASETAT HASIL HIDROLISIS EKSTRAK
ETANOL RIMPANG JERINGAU (*Acorus calamus* L) EKSTRAKSI
SONIKASI**

SKRIPSI

**Oleh:
ARIEF HADIYAN FITHRONY
NIM. 17630023**



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

**UJI TOKSISITAS DAN IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIF FRAKSI AIR,
n-HEKSANA, DAN ETIL ASETAT HASIL HIDROLISIS EKSTRAK
ETANOL RIMPANG JERINGAU (*Acorus calamus* L) EKSTRAKSI
SONIKASI**

SKRIPSI

**Oleh:
ARIEF HADIYAN FITHRONY
NIM. 17630023**

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

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

**UJI TOKSISITAS DAN IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIF FRAKSI AIR,
n-HEKSANA, DAN ETIL ASETAT HASIL HIDROLISIS EKSTRAK
ETANOL RIMPANG JERINGAU (*Acorus calamus* L) EKSTRAKSI
SONIKASI**

SKRIPSI

**Oleh:
ARIEF HADIYAN FITHRONY
NIM. 17630023**

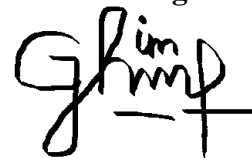
**Telah Diperiksa dan Disetujui
Tanggal : 27 Desember 2021**

Pembimbing I



**Suci Amalia, M.Sc
NIP. 19821104 200901 2 0027**

Pembimbing II



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

**Mengetahui,
Ketua Program Studi**





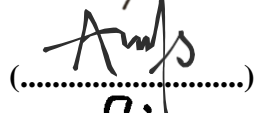
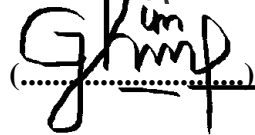
**Rachmawati Ningsih, M.Si
NIP. 19810811 200801 2 010**

**UJI TOKSISITAS DAN IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIF FRAKSI AIR,
n-HEKSANA, DAN ETIL ASETAT HASIL HIDROLISIS EKSTRAK
ETANOL RIMPANG JERINGAU (*Acorus calamus* L) EKSTRAKSI
SONIKASI**

SKRIPSI

**Oleh:
ARIEF HADIYAN FITHRONY
NIM. 17630023**

**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 27 Desember 2021**

Penguji Utama	: Dr. Anton Prasetyo, M.Si NIP. 19770925 200604 1 003	
Ketua Penguji	: Lulu'atul Hamidatul Ulya, M.Si NIDT. 199900906 20180201 2 239	
Sekretaris Penguji	: Suci Amalia, M.Sc NIP. 19821104 200901 2 0027	
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 di bawah ini:

Nama : Arief Hadiyan Fithrony

NIM : 17630023

Program Studi : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Uji Toksisitas dan Identifikasi Senyawa Aktif Fraksi Air, *n*-Heksana, dan Etil Asetat Hasil Hidrolisis Ekstrak Etanol Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) Ekstraksi Sonikasi

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan 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 dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 22 Desember 2021
Yang membuat pernyataan,



Arief Hadiyan Fithrony
NIM. 17630048

HALAMAN PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan kepada:

1. Allah Swt. yang selalu memberikan rahmat dan ridha-Nya sehingga memudahkan segala sesuatu dalam proses menuntut ilmu.
2. Bapak Rokhmad dan Ibu Wiji Lestari orang tua tercinta yang selalu mendo'akan saya agar selalu diberikan kemudahan dalam segala sesuatunya. Saudara-saudara saya (Ahmad Zahr Ammar Wahyu Al-Fajri, Bagus Dedi Riyadi, dan Dede Wahyu Maulidi) yang selalu memberikan supportnya kepada saya.
3. Seluruh dosen kimia Uin Malang khususnya Ibu Eny Yulianti, M.Si selaku dosen wali yang selalu memotivasi saya selama perkuliahan. Ibu Suci Amalia, M.Sc dan Bapak Ahmad Ghanaim Fasya, M.Si selaku pembimbing yang selalu memberikan dukungan dan bimbingannya. Semoga segala sesuatu yang telah diberikan dapat memberikan manfaat berkah dan dibalas dengan kebaikan yang lebih oleh Allah Swt. Terimakasih banyak bapak dan ibu sekalian.
4. Seluruh teman-teman Angkatan 2017 yang telah menjadi bagian dari indahnya selama proses perkuliahan hingga akhir ini.

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji syukur penyusun panjatkan kehadirat Allah Swt. Yang Maha Pengasih dan Yang Maha Penyayang, yang senantiasa melimpahkan rahmat, taufik, serta hidayah-Nya. sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini yang berjudul **“Uji Toksisitas dan Identifikasi Senyawa Aktif Fraksi Air, *n*-Heksana, dan Etil Asetat Hasil Hidrolisis Ekstrak Etanol Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) Ekstraksi Sonikasi”**. Tak lupa Selawat serta salam akan selalu tercurah limpahkan kepada junjungan kita yang Agung, Nabi Muhammad saw. yang menuntun umatnya hingga akhir zaman yang senantiasa berlandaskan al-Qur’an dan al Sunnah, serta suri tauladannya.

Selama proses penyusunan skripsi ini penulis banyak mendapatkan nasehat, bimbingan, bantuan, dan support dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. M. Zainuddin, MA., selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malaik Ibrahim Malang.
2. Ibu Dr. Sri Harini, M.Si., selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si., selaku ketua jurusan Kimia Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Suci Amalia, M.Sc selaku dosen pembimbing I, yang telah meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan, nasehat dan perhatian selama

proses penelitian hingga selesainya penyusunan skripsi ini.

5. Bapak A. Ghanaim Fasya, M.Si selaku dosen pembimbing II, yang telah meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan, nasehat dan perhatian selama proses penelitian hingga selesainya penyusunan skripsi ini.
6. Segenap Bapak/Ibu dosen serta pegawai di Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang memberikan akses sarana guna keberlangsungan penyusunan skripsi ini.
7. Orang tua saya yang selalu mendo'akan ketika penyusunan skripsi ini dan selalu memberikan support terbaiknya.
8. Seluruh kakak tingkat dan teman-teman sekalian terkhusus saudara (Faskho Akbar Kusuma dan Nova Alfian Hariyanto) sebagai partner penelitian dan pihak lainnya yang telah membantu dan memberikan support hingga penyusunan skripsi ini selesai.

Penulis menyadari akan keterbatasan penulisan skripsi ini jauh dari kata sempurna. sehingga dengan sepuh hati penulis membuka kritik dan saran guna perbaikan maupun pengembangan penyusunan selanjutnya. Terlepas dari segala kekurangan dan kesalahan, semoga skripsi ini dapat memberikan sebuah informasi yang bermanfaat bagi kita semua. Aamiin.

Malang, 20 Desember 2021

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN.....	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iv
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR LAMPIRAN	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
ABSTRAK	xiii
ABSTRACT	xiv
ملخص.....	xv

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian.....	7
1.4 Batasan Masalah.....	7
1.5 Manfaat Penelitian.....	7

BAB II STUDI PUSTAKA

2.1 Tanaman Jeringau (<i>Acorus calamus</i> L.).....	9
2.1.1 Manfaat Tanaman Jeringau (<i>Acorus calamus</i> L.).....	10
2.1.2 Kandungan Senyawa Tanaman Jeringau (<i>Acorus calamus</i> L.).....	12
2.2 Metode Isolasi Bahan Alam	14
2.2.1 Ekstraksi Sonikasi	15
2.3 Hidrolisis dan Partisi	16
2.4 Uji Fitokimia	18
2.4.1 Uji Alkaloid.....	19
2.4.2 Uji Flavonoid	21
2.4.3 Uji Tanin.....	23
2.4.4 Uji Saponin.....	24
2.4.5 Uji Steroid dan Triterpenoid	26
2.5 Uji Toksisitas Metode <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT).....	28
2.5.1 Klasifikasi <i>Artemia salina leach</i>	28
2.5.2 Pengujian Toksisitas.....	29
2.6 Identifikasi Senyawa dengan Spektroskopi Uv-Vis.....	31
2.7 Identifikasi Senyawa dengan Spektroskopi FTIR	32

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan	35
3.2 Alat dan Bahan.....	35
3.2.1 Alat.....	35
3.2.2 Bahan.....	35

3.3 Rancangan Penelitian.....	36
3.4 Tahapan Penelitian	37
3.5 Cara Kerja.....	37
3.5.1 Preparasi Sampel	37
3.5.2 Analisis Kadar Air.....	37
3.5.3 Ekstraksi Sonikasi Rimpang Jeringau (<i>Acorus calamus</i> L.).....	38
3.5.4 Hidrolisis dan Partisi Ekstrak Pekat Etanol.....	39
3.5.5 Uji Fitokimia	39
3.5.5.1 Uji Alkaloid.....	40
3.5.5.2 Uji Flavonoid	40
3.5.5.3 Uji Tanin	40
3.5.5.4 Uji Steroid dan Triterpenoid	40
3.5.5.5 Uji Saponin	41
3.5.6 Uji Aktivitas Toksisitas Rimpang Jeringau (<i>Acorus calamus</i> L.).....	41
3.5.6.1 Penyiapan Larva Udang <i>Artemia salina leach</i>	41
3.5.6.2 Pengujian Toksisitas	42
3.5.7 Identifikasi Senyawa dengan Spektroskopi Uv-Vis.....	42
3.5.8 Identifikasi Senyawa dengan Spektroskopi FTIR.....	43
3.5.9 Analisis Data	43

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Ekstraksi Sonikasi Rimpang Jeringau (<i>Acorus calamus</i> L.).....	44
4.2 Hidrolisis dan Partisi	46
4.3 Uji Fitokimia Rimpang Jeringau (<i>Acorus calamus</i> L.).....	49
4.3.1 Uji Flavonoid	50
4.3.2 Uji Saponin.....	52
4.3.3 Uji Steroid dan Triterpenoid	53
4.4 Identifikasi Senyawa Menggunakan Spektroskopi UV-Vis.....	55
4.5 Identifikasi Senyawa Menggunakan Spektroskopi FTIR.....	58
4.6 Uji Toksisitas Rimpang Jeringau (<i>Acorus calamus</i> L.).....	60
4.7 Pemanfaat Rimpang Jeringau (<i>Acorus calamus</i> L.) Dalam Perspektif Islam	66

BAB V PENUTUP	69
DAFTAR PUSTAKA	70
LAMPIRAN	81

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian.....	81
Lampiran 2. Skema Kerja	82
Lampiran 3. Perhitungan, Pembuatan Reagen dan Larutan.....	87
Lampiran 4. Data Perhitungan Rendemen	91
Lampiran 5. Data Uji Fitokimia Rimpang Jeringau (<i>Acorus calamus</i> L.)	93
Lampiran 6. Data Uji Toksisitas Rimpang Jeringau (<i>Acorus calamus</i> L.)	94
Lampiran 7. Hasil Spektra UV-Vis masing-masing fraksi	103
Lampiran 8. Hasil Spektrum FTIR masing-masing fraksi.....	106
Lampiran 8. Dokumentasi Penelitian.....	107

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Penelitian terdahulu rimpang Jeringau (<i>Acorus calamus</i> L.).....	13
Tabel 2.2 Metode ekstraksi rimpang Jeringau (<i>Acorus calamus</i> L.).....	14
Tabel 2.3 Pengujian fitokimia rimpang Jeringau (<i>Acorus calamus</i> L.).....	19
Tabel 2.4 Kategori tingkat toksisitas berdasarkan nilai LC ₅₀	30
Tabel 4.1 Data rendeman masing-masing fraksi.....	48
Tabel 4.2 Hasil pengujian fitokimia masing-masing fraksi dan ekstrak kasar.....	49
Tabel 4.3 Hasil spektrum spektroskopi FTIR masing-masing fraksi.....	58
Tabel 4.4 Hasil uji toksisitas masing-masing fraksi.....	62
Tabel 4.5 Nilai LC ₅₀ masing-masing fraksi.....	63
Tabel L.4.1 Data berat cawan kosong	91
Tabel L.4.2 Data berat cawan kosong + sampel	91
Tabel L.4.3 Data hasil ekstraksi menggunakan pelarut etanol	92
Tabel L.4.4 Data hasil partisi	92
Tabel L.5.1 Hasil uji fitokimia ekstrak kasar dan masing-masing fraksi	93
Tabel L.6.1 Data kematian larva udang pada fraksi air.....	94
Tabel L.6.2 Data mortalitas pada fraksi air.....	94
Tabel L.6.3 Data kematian larva udang pada fraksi <i>n</i> -heksana.....	97
Tabel L.6.4 Data mortalitas pada fraksi <i>n</i> -heksana	97
Tabel L.6.5 Data kematian larva udang pada fraksi etil asetat.....	100
Tabel L.6.6 Data mortalitas pada fraksi etil asetat.....	100

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman Jeringau (<i>Acorus calamus</i> L.).....	9
Gambar 2.2 Dugaan reaksi ikatan <i>o</i> -glikosida	17
Gambar 2.3 Kerangka dasar senyawa alkaloid	20
Gambar 2.4 Dugaan reaksi uji alkaloid.....	21
Gambar 2.5 Struktur dasar senyawa flavonoid	21
Gambar 2.6 Dugaan reaksi uji flavonoid.....	22
Gambar 2.7 Struktur dasar senyawa tanin.....	23
Gambar 2.8 Dugaan reaksi uji tanin.....	24
Gambar 2.9 Struktur dasar senyawa saponin	25
Gambar 2.10 Dugaan reaksi uji saponin	25
Gambar 2.11 Struktur dasar senyawa steroid.....	26
Gambar 2.12 Struktur dasar senyawa triterpenoid.....	26
Gambar 2.13 Dugaan reaksi uji steroid dan triterpenoid.....	27
Gambar 2.14 Larva udang <i>artemia salina leach</i>	29
Gambar 2.15 Spektrum UV-Vis rimpang Jeringau (<i>Acorus calamus</i> L.).....	32
Gambar 2.16 Spektrum FTIR rimpang Jeringau (<i>Acorus calamus</i> L.).....	33
Gambar 4.1 Rimpang Jeringau sebelum dan sesudah preparasi	44
Gambar 4.2 Ekstrak pekat etanol	46
Gambar 4.3 Dugaan reaksi hidrolisis	47
Gambar 4.4 Ekstrak pekat fraksi air, <i>n</i> -heksana, dan etil asetat.....	48
Gambar 4.5 Dugaan reaksi uji flavonoid.....	50
Gambar 4.6 Hasil uji flavonoid.....	51
Gambar 4.7 Hasil uji saponin.....	52
Gambar 4.8 Dugaan reaksi uji saponin	53
Gambar 4.9 Dugaan reaksi uji steroid dan triterpenoid.....	54
Gambar 4.10 Hasil uji triterpenoid.....	55
Gambar 4.11 Spektrum UV-Vis masing-masing fraksi	55
Gambar 4.12 Spektrum FTIR masing-masing fraksi	58

ABSTRAK

Fithrony, A. H. 2021. **Uji Toksisitas dan Identifikasi Senyawa Aktif Fraksi Air, *n*-Heksana, dan Etil Asetat Hasil Hidrolisis Ekstrak Etanol Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) Ekstraksi Sonikasi**. SKRIPSI. Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Suci Amalia M.Sc. Pembimbing II: A. Ghanaim Fasya, M.Si.

Tanaman Jeringau (*Acorus calamus* L.) merupakan salah satu jenis tanaman obat yang memiliki banyak khasiat dan manfaat. Pada tanaman Jeringau terdapat kandungan senyawa yang dapat dimanfaatkan sebagai obat-obatan. Pada rimpang maupun daunnya mengandung senyawa metabolit sekunder diantaranya (flavonoid, triterpenoid, dan saponin). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas toksisitas dan identifikasi golongan senyawa metabolit sekunder pada fraksi air, *n*-heksana, dan etil asetat ekstrak etanol rimpang Jeringau. Ekstraksi rimpang Jeringau menggunakan metode sonikasi dengan pelarut etanol dengan perbandingan 1:10 (30 g sampel : 300 mL pelarut). Kemudian hasil ekstraksi dihidrolisis menggunakan HCl 2 N dan dilakukan penetralan dengan natrium bikarbonat (NaHCO₃). Hasil hidrolisis dipartisi secara bertingkat dengan variasi pelarut yaitu air, *n*-heksana, dan etil asetat. Pengujian toksisitas dilakukan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dengan hewan uji larva udang *Artemia salina leach*. Konsentrasi larutan uji yang digunakan adalah 5, 10, 15, 20, 25, dan 50 ppm. Identifikasi senyawa aktif dengan pengujian fitokimia menggunakan beberapa reagen. Serta diidentifikasi menggunakan spektroskopi UV-Vis dengan rentang 200-800 nm dan spektroskopi FTIR.

Hasil penelitian didapatkan rendemen ekstrak etanol rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) sebesar 16,67%. Proses partisi pada penelitian ini didapatkan hasil rendemen fraksi air, *n*-heksana, dan etil asetat berturut-turut sebesar 53,44; 23,24; dan 2,67%. Uji fitokimia didapatkan hasil pada fraksi air rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) positif golongan senyawa flavonoid, saponin, dan triterpenoid. Sedangkan fraksi *n*-heksana dan etil asetat positif senyawa flavonoid, dan triterpenoid. Hasil Uji toksisitas dengan konsentrasi uji 5, 10, 15, 20, 25, dan 50 ppm dihasilkan nilai LC₅₀ pada fraksi air sebesar 58,3879 ppm, pada fraksi *n*-heksana sebesar 28,9017 ppm, dan fraksi etil asetat sebesar 41,1556 ppm.

Kata kunci: rimpang Jeringau, toksisitas, fitokimia

ABSTRACT

Fithrony, A. H. 2020. **Toxicity Test and Identification of Active Compounds Fractions of Water, *n*-Hexane, and Ethyl Acetate from Hydrolysis of Ethanol Extract of Jeringau Rhizome (*Acorus calamus* L.) Sonication Extraction.** SKRIPSI. Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Maulana Malik Ibrahim State Islamic University of Malang. Supervisor I: Suci Amalia M.Sc. Supervisor II: A. Ghanaim Fasya, M.Si.

Jeringau plant (*Acorus calamus* L.) is one type of medicinal plant that has many properties and benefits. The Jeringau plant contains compounds that can be used as medicines. Both the rhizome and leaves contain secondary metabolites, including flavonoids, triterpenoids, and saponins. This study aims to determine the toxicity activity and identification of secondary metabolite compounds in the water, *n*-hexane, and ethyl acetate fractions of the ethanol extract of the Jeringau rhizome. Extraction of Jeringau rhizome using the sonication method with ethanol solvent in a ratio of 1:10 (30 g sample: 300 mL solvent). Then the extract was hydrolyzed using 2 N HCl and neutralized with sodium bicarbonate (NaHCO₃). The results of the hydrolysis were partitioned in stages with various solvents, namely water, *n*-hexane, and ethyl acetate. Toxicity testing was carried out using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method with *Artemia salina* leach shrimp larvae as test animals. The concentrations of the test solutions used were 5, 10, 15, 20, and 50 ppm. Identification of active compounds by phytochemical testing using several reagents. And identified using UV-Vis spectroscopy with a range of 200-800 nm and FTIR spectroscopy.

The results showed that the yield of ethanol extract of Jeringau rhizome (*Acorus calamus* L.) was 16.67%. The partition process in this study resulted in the yield of water, *n*-hexane, and ethyl acetate fractions, respectively, of 53,44; 23,24; and 2,67%. The phytochemical test showed that the water fraction of Jeringau rhizome (*Acorus calamus* L.) was positive for the flavonoid, saponin, and triterpenoid compounds. Meanwhile, the *n*-hexane and ethyl acetate fractions were positive for flavonoids and triterpenoids. The results of the toxicity test with test concentrations of 5, 10, 15, 20, 25, and 50 ppm resulted in the LC₅₀ value in the water fraction of 58,3879 ppm, the *n*-hexane fraction of 28,9017 ppm, and the ethyl acetate fraction of 41,1556 ppm.

Keywords: Jeringau rhizome, toxicity, phytochemicals

رسالة جامعية

فطرنى، أ، هـ، 2021. تجربة السموم وتعرّف مستحضر فعّال فصيلة الماء، ن-هيكسانا وايتيل آسيتات حاصل هيدرووليسيس خلع ايتانول ريمفانج جيرينجو (*Acorus calamus L*) خلع سونيكاسي. مقترح البحث. القسم الكيمياء، كلية العلم والتكنولوجيا، الجامعة الإسلامية الرسمية مولانا مالك إبراهيم مالانج. المشرفة الأولى: سوتشي عمليا، الماجستير فالعلوم، المشرفة الثانية: أ. غنائم فاشا، الماجستير فالعلوم.

كانت نبات جيرينجو (*Acorus calamus L*) هي احدى نبات الدّواء وفيه المنافع الكثيرة. وتحتوي نبات جيرينجو على المستحضر الذي يُنفع للدّواء. ويحتوي ريمفانج والورقة على المستحضر ميتبوليت الثاني وهو (فلافونويد، تريترفينويد وسافونين). وأهمية هذا البحث هي لمعرفة عمل السموم وتعرّف فرقة مستحضر ميتبوليت الثاني في فصيلة الماء، ن-هيكسانا وايتيل آسيتات خلع ايتانول ريمفانج جيرينجو. ويستعمل ريمفانج جيرينجو طريقة سونيكاسي بمسيل ايتانول بمقارنة 1:10 (30 غرام : 300 ميلي لترا مسيلا). تمّ يستعمل حاصل خلع هيدرووليسيس HCl 2 N ويُعمل الحياديّ بنترؤوم بكاربونات (NaHCO_3). ويُقسم حاصل هيدرووليسيس متدرّجا بتنوع المسيل وهو الماء، ن-هيكسانا وايتيل آسيتات. وتُعمل تجربة السموم بطريقة *Brine Shrimp* *Lethality Test* (BSLT) ببحوان تجربة يرقة الجنبري *Artemia salina leach*. واكتراث مسيل التجربة المستخدم هو 5، 10، 15، 20 و 25 ppm. وتعرّف المستحضر الفعّال بتجربة فيتوكيمياء ببعض ريمكان وسفكتروسكوفي اوفي-فيس بقدر 200-800 nm. و المطيافية FTIR

وتُنال نتيجة هذا البحث هي زيادة خلع ايتانول ريمفانج جيرينجو (*Acorus calamus L*) قدر 16,67%. وتنال عملية الانقسام في هذا البحث هي حاصل زيادة فصيلة الماء، ن-هيكسانا وايتيل آسيتات متواليا قدر 2,67% و 23,24، 53,44. وتُنال تجربة فيتوكيمياء هي الحاصل في فصيلة ن-هيكسانا وفصيلة الماء ريمفانج جيرينجو (*Acorus calamus L*) الفعّال المستحضر فلافونويد، سافونين وتريترفينويد. وأما فصيلة ن-هيكسانا ايتيل آسيتات الفعّال المستحضر فلافونويد وتريترفينويد. وحاصل تجربة السموم باكتراث تجربة 0، 5، 10، 15، 20، 25 و 50 ppm تُحصل نتيجة LC_{50} في فصيلة الماء قدر 58,3879 ppm في فصيلة ن-هيكسانا قدر 28,9017 ppm وفصيلة ايتيل آسيتات قدر 41,1556 ppm. الكلمات الرئيسية: السموم، فيتوكيمياء، ريمفانج جيرينجو.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tanaman Jeringau (*Acorus calamus* L.) atau dengan nama lain dringo merupakan tanaman endemik yaitu tanaman yang berasal dari negara India namun telah tersebar di berbagai negara lainnya. Jeringau (*Acorus calamus* L.) tumbuh liar pada daerah persawahan, rawa-rawa (Anisah, dkk., 2014). Jeringau termasuk jenis tumbuhan rempah-rempah yang telah diketahui masyarakat luar Indonesia dengan cara penanaman tidak memerlukan perlakuan khusus. Sehingga mengakibatkan tumbuhan ini dapat dijumpai disekitar lingkungan kita seperti tumbuhan liar (Hasan, 2015). Tanaman Jeringau masih banyak digunakan oleh masyarakat luas sebagai bahan dari obat alami seperti obat diare, disentri, serta cacingan (Gholkar, 2012). Selain itu juga dapat digunakan pengobatan penyakit mental, diare kronis, epilepsi, dan tumor di perut (Paithankar, dkk., 2011). Beberapa penyakit seperti kudis, limpa, bengkak, cacar, demam, dan bengkak juga dapat diobati dengan Jeringau (Hartati, dkk., 2012).

Kandungan-kandungan yang ada pada tanaman Jeringau (*Acorus calamus* L.) antara lain minyak atsiri, glukosida, *acorin*, *acoretin*, *calamin*, *calamenenol*, *cholin*, tanin, *sesquiterpene*, terpenoid, flavonoid, dan alkaloid (Hendrajaya, 2003). Selain itu juga terdapat senyawa polifenol dan glikosida (Imam, dkk., 2013). Menurut Singh, dkk. (2012) melaporkan bahwa pada ekstrak metanol Jeringau mengandung senyawa flavonoid, senyawa fenolik, saponin dengan tingkatan yang sangat tinggi. Pada tingkatan sedang terdapat senyawa tanin dan alkaloid, kemudian

senyawa steroid berada pada tingkatan paling rendah. Safrina, dkk. (2018) menyatakan bahwa analisis fitokimia ekstrak etanol rimpang Jeringau merah (*Acorus Sp.*) positif senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, fenol, tanin, serta minyak atsiri.

Menurut Saman, dkk. (2013) melaporkan bahwasannya uji fitokimia rimpang Jeringau (*Acorus calamus L.*) fraksi etil asetat dan *n*-heksana positif flavonoid, dan terpenoid. Sedangkan fraksi air positif senyawa flavonoid, saponin, dan terpenoid. Meliala, dkk. (2020) menjelaskan ekstrak etanol rimpang Jeringau positif senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, tanin, dan flavonoid. Kandungan senyawa metabolit sekunder tanaman Jeringau (*Acorus calamus L.*) dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri (Rita, dkk., 2017), sebagai antimikroba (Irwan, 2017), antioksidan (Hasan, 2015), antiinflamasi (Safrina, 2018), dan sebagai uji toksisitas (Suwandi dan Supriyanto, 2018).

Tanaman obat dapat diartikan sebagai seluruh spesies tumbuhan yang telah diketahui memiliki khasiat obat. Tumbuhan obat tradisional merupakan jenis tumbuhan yang memiliki khasiat obat dan digunakan sebagai bahan baku dari obat tradisional, sedangkan pengolahan tanaman obat secara modern merupakan jenis tumbuhan obat yang dipergunakan sebagai bahan obat secara ilmiah dan dipertanggungjawabkan dengan medis (Zuhud, dkk., 1994). Zaman dewasa ini masih banyak tanaman obat yang berkhasiat tumbuh dengan liar belum terolah dengan populasi yang bermacam-macam seperti di tegalan, perkebunan, perhutanan, persawahan, pekarangan, hingga pertamanan di wilayah perkotaan (Agromedia, 2008). Berbagai macam jenis tumbuhan terdapat salah satu jenis macam tumbuhan yang memiliki berbagai kegunaan dan manfaat. Tumbuhan

tersebut merupakan Jeringau dengan nama latin (*Acorus calamus* L.). Banyak orang tradisional atau jaman dahulu menggunakan tanaman ini sebagai tanaman obat. Pemanfaatan ini sesuai dengan yang dijelaskan di dalam al Quran dalam surah ar Ra'd ayat 4:

وَفِي الْأَرْضِ قِطْعٌ مُتَجَاوِرَاتٌ وَجَنَّاتٌ مِّنْ أَعْنَابٍ وَزَّرَئِجٌ وَنَخِيلٌ وَصِنَوَانٌ وَغَيْرُ صِنَوَانٍ يُسْقَى بِمَاءٍ وَاحِدٍ وَنُفِضَتْ بِعَظْمِهَا عَلَى بَعْضٍ فِي الْأَكْلِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يَعْقِلُونَ

Artinya: “Dan di bumi terdapat bagian-bagian yang berdampingan, kebun-kebun anggur, tanaman-tanaman, pohon kurma yang bercabang, dan yang tidak bercabang; disirami dengan air yang sama, tetapi Kami lebihkan tanaman yang satu dari yang lainnya dalam hal rasanya. Sungguh, pada yang demikian itu terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi orang-orang yang mengerti” (Q.S ar Ra'd:4)

Allah swt. telah menciptakan tumbuh-tumbuhan hidup dengan beserta unsur hara yang berupa garam-garam mineral, yang berbatang maupun tidak kemudian memiliki kelebihan yang dapat dimanfaatkan dalam kehidupan sehari-hari karena semua yang terjadi di alam adalah tanda-tanda kebesaran Allah Swt. (Rossidy, 2008). Dalam ayat tersebut dapat diartikan bahwa Allah Swt. telah menciptakan tumbuhan yang dapat dimanfaatkan dalam kehidupan sehari-hari. Hal ini dapat diterjemahkan bahwasannya penggunaan tanaman Jeringau sebagai bahan baku obat tradisional merupakan salah satu bentuk aplikasi dari ayat tersebut. Karena tanaman Jeringau memiliki berbagai macam manfaat secara tradisional sehingga sering digunakan oleh masyarakat luas. Bagian yang sering digunakan dalam proses pemanfaatan tanaman Jeringau salah satunya adalah bagian rimpang.

Mendapatkan senyawa metabolit sekunder dalam rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) dapat dilakukan melalui metode ekstraksi (pemisahan). Ekstraksi adalah sebuah proses terjadinya penarikan atau pengambilan senyawa target

menggunakan pelarut yang sesuai (Mukhriani, 2014). Penelitian menggunakan metode ekstraksi ultrasonik (sonikasi) merupakan metode ekstraksi yang memanfaatkan gelombang ultrasonik dalam prosesnya dengan frekuensi lebih dari 20 KHz. Kelebihan dari metode ini adalah kecepatan proses ekstraksi, kemudian lebih aman dan singkat. Selain itu juga tidak membutuhkan pelarut banyak dan hasil rendemen yang lebih besar dibanding dengan metode ekstraksi maserasi (Handayani, 2016).

Pemilihan pelarut ekstraksi akan mempengaruhi hasil ekstrak yang didapatkan (Rahmah, 2018). Penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Hasan (2015) proses pemisahan senyawa metabolit sekunder dari rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) menggunakan metode ekstraksi maserasi. Menggunakan variasi pelarut berdasarkan tingkat kepolarannya. Dengan perbandingan 1:4 (pelarut:sampel) didapatkan rendemen pada pelarut etanol sebesar 7,8%, kemudian pada pelarut kloroform sebesar 3,3%, dan pada pelarut *n*-heksana sebesar 2,4%. Irwan (2017) melakukan ekstraksi rimpang Jeringau dengan pelarut *n*-heksana, etil asetat, dan etanol. Didapatkan hasil ekstraksi pada ekstrak etanol sebesar 20,57 gram, ekstrak etil asetat 10,25 gram, dan ekstrak *n*-heksana sebesar 3,73 gram. Kemajuan zaman yang mendukung pembaharuan metode ekstraksi simplisia. ekstraksi sonikasi pada sampel tanaman Jeringau merupakan salah satu pembaharuan metode. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Suhendra, dkk. (2019) menggunakan ekstraksi sonikasi pada sampel rimpang Ilalang dengan perbandingan 1:10 (sampel:ekstrak) *b/v*. Pelarut yang digunakan adalah etanol dengan lama waktu sonikasi 30 menit dan frekuensi 47 kHz didapatkan rendemen sebesar 12,85%.

Hasil ekstraksi simplisia dilanjutkan dengan proses hidrolisis dan partisi. Proses hidrolisis bertujuan untuk memecah antara glikon dan aglikon yang terhubung pada ikatan glikosida. Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak merupakan senyawa aglikon sehingga perlu dipecah untuk mendapatkan hasil yang lebih spesifik (Fasya, dkk., 2016). Ekstrak etanolik yang didapatkan saat proses ekstraksi masih terdapat senyawa pengotor yang terkandung di dalamnya. Sehingga, perlu dilakukan proses pemisahan menggunakan metode fraksinasi. Metode fraksinasi memiliki prinsip perbedaan sifat partisi cair-cair berdasarkan sifat kepolaran senyawa aktif. Senyawa aktif ada pada ekstrak akan terpisah ke dalam pelarut yang memiliki sifat kepolaran yang sama (Ningsih, dkk., 2016). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Saman (2013) melaporkan hasil partisi ekstrak metanol rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) dengan variasi fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air. Didapatkan hasil rendemen fraksi *n*-heksana sebesar 3,49 gram, fraksi air sebesar 3,12 gram, dan fraksi etil asetat sebesar 0,85 gram.

Uji toksisitas merupakan tahapan skrining awal untuk mengetahui tingkatan toksik atau racun yang dapat menyebabkan gangguan fungsi pada tubuh suatu organisme (Meyer, 1982). Sehingga, diharapkan dalam pengujian ini dapat mengetahui seberapa dosis yang dibutuhkan dalam proses pengobatan. Pengujian toksisitas dilakukan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dengan obyek pengujian adalah hewan larva udang *Artemia salina leach* ketika umur 48 jam (Azizah, 2016). Berdasarkan penelitian sebelumnya yang menguji tingkat toksisitas dari rimpang Jeringau yaitu Suwandi dan Supriyanto (2018). Menggunakan sampel ekstrak kasar rimpang Jeringau merah (*Acorus sp.*) dengan konsentrasi uji 100, 250, 500, 750, dan 1000 ppm. Didapatkan hasil uji toksisitas

ekstrak *n*-heksana dengan nilai LC₅₀ dengan yaitu 128,2921 µg/mL, sedangkan pada nilai LC₅₀ pada ekstrak metanol sebesar 242,7169 µg/mL. Berdasarkan penelitian Mustariani, dkk. (2017) melakukan uji toksisitas menggunakan rimpang Temu dengan variasi pelarut *n*-heksana, metanol, dan kloroform. Larutan uji yang digunakan adalah 10, 100, dan 1000 ppm. Didapatkan nilai LC₅₀ pada ekstrak *n*-heksana sebesar 153,391 ppm, ekstrak metanol sebesar 107,473 ppm, dan ekstrak kloroform sebesar 132,391 ppm.

Berdasarkan latar belakang yang telah dijelaskan di atas, maka penulis tertarik melakukan penelitian pada sampel rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) diekstraksi menggunakan metode sonikasi dengan pelarut etanol perbandingan 1:10 (b/v) selama 30 menit. Ekstrak yang dihasilkan akan dilakukan hidrolisis menggunakan HCl 2N dan dipartisi menggunakan variasi fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan fraksi air. Hasil fraksinasi akan dilanjutkan pengujian skrining fitokimia dan uji toksisitas menggunakan metode BSLT. Kemudian diidentifikasi dan dianalisis menggunakan spektroskopi *ultraviolet-visible* (UV-Vis) dan spektroskopi *fourier transform infrared* (FTIR) guna mengetahui nilai panjang gelombang maksimal dan gugus fungsi yang terdapat pada fraksi rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.).

1.2 Rumusan Masalah

- a. Apa saja golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada fraksi air, *n*-heksana, dan etil asetat hasil hidrolisis ekstrak etanol rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) ?
- b. Bagaimana tingkat toksisitas pada fraksi air, *n*-heksana, dan etil asetat hasil

hidrolisis ekstrak etanol rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) menggunakan metode BSLT ?

1.3 Tujuan

- a. Untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder apa saja yang terkandung pada fraksi air, *n*-heksana, dan etil asetat hasil hidrolisis ekstrak etanol rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.).
- b. Untuk mengetahui potensi aktivitas toksisitas pada fraksi air, *n*-heksana, dan etil asetat hasil hidrolisis ekstrak etanol rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.).

1.4 Batasan Masalah

- a. Sampel yang digunakan analisis adalah Jeringau (*Acorus calamus* L.) bagian rimpang.
- b. Sampel yang digunakan adalah rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) diambil dari Kota Semarang, Jawa Tengah.
- c. Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode sonikasi (*ultrasonic*).
- d. Pelarut yang digunakan adalah pelarut etanol (polar).
- e. Perbandingan pelarut dan sampel saat ekstraksi yaitu 1:10 (*b/v*).
- f. Pengujian toksisitas metode yang digunakan adalah BSLT.
- g. Identifikasi senyawa menggunakan instrumen spektroskopi UV-Vis dan FTIR.

1.5 Manfaat

Penelitian ini dilakukan dengan harapan agar dapat memberikan suatu informasi ilmiah. Informasi ilmiah bahwasannya tanaman Jeringau (*Acorus calamus* L.) memiliki banyak manfaat serta mengetahui kandungan senyawa

metabolit sekunder yang terdapat pada rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.). Pengujian toksisitas diharapkan dapat memberikan gambaran tingkat toksisitas pada sampel tanaman Jeringau (*Acorus calamus* L.) dan dapat dimanfaatkan dalam bidang kesehatan sebagai obat maupun yang lain.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Jeringau (*Acorus calamus* L.)

Tanaman Jeringau (*Acorus calamus* L.) merupakan tanaman spora air yang hidup secara liar biasanya dapat dijumpai di tepian sungai. Tanaman Jeringau (*Acorus calamus* L.) berasal dari negara benua Eropa, Asia, dan Amerika (Hasan, 2015). Tanaman Jeringau (*Acorus calamus* L.) memiliki nama lain *A. terrestris* Spreng, dan *Var Verus*. Berjalannya perkembangan jaman tanaman Jeringau (*acorus calamus*) telah menyebar luas ke berbagai belahan dunia melalui jalur perdagangan rempah-rempah dunia (Pakasi dan Christina, 2013). Adapun klasifikasi dan gambar tanaman Jeringau ditunjukkan pada Gambar 2.1.

Kingdom: *Plantae*
Divisi: *Magnoliophyta*
Kelas: *Liliopsida*
Ordo: *Acorales*
Famili: *Acoraceae*
Genus: *Acorus*
Spesies: *Acorus calamus*
Nama Inggris: *Sweet Flag, Sweet root, Calamus*
Nama Indonesia: *Dringo, Jeringau.*



Gambar 2.1 Tanaman Jeringau (*Acorus calamus* L.)
(Balakumbahan, 2010)

Morfologi tanaman Jeringau (*Acorus calamus* L.) termasuk jenis herbal menahun yang memiliki bentuk seperti rumput, dengan tinggi sekitar 75 cm dengan rimpang dan daun memiliki aroma khas yang sangat kuat. Pertumbuhan tanaman ini biasanya terjadi pada tempat yang memiliki keadaan lembab, seperti rawa-rawa dan berair dengan semua ketinggian setempat. Daun yang ada pada tanaman Jeringau tunggal dengan bentuk lancet, tepi rata, dan ujung runcing. Ukuran daunnya adalah lebar sekitar 5 cm, kemudian pada panjang sebesar 60 cm. Warna daunnya adalah hijau. Tanaman Jeringau memiliki batang yang basah dengan ukuran pendek, membentuk rimpang dengan warna putih kotor. Bunganya majemuk dengan bentuk bonggol dan ujungnya berbentuk runcing dengan panjang antara 20 hingga 28 cm yang terletak pada ketiak daun dan berwarna putih (Irwan, 2017). Tanaman Jeringau (*Acorus calamus* L.) sangat jarang mengeluarkan biji benih dan pembiakan yang utama melalui jalur pecahan pada rimpangnya (Sukmawati, 2012). Tanaman Jeringau (*Acorus calamus* L.) memiliki akar yang bentuknya berupa serabut (Kardinan, 2004).

Tanaman Jeringau (*Acorus calamus* L.) memiliki nama sebutan lain-lain di setiap daerah yang berbeda. Nama-nama yang terdapat pada tanaman ini adalah sebagai berikut: Jeuruger (Aceh), jangu atau kaliraga (Flores), jerango (Gayo), dringo (Sunda), jarango (Batak), jeriangu (Minangkabau), ai wahu (Ambon), sarangu (Nias), dlingo (Jawa Tengah), jharango (Madura), jaringo (Sasak), kareango (Makassar), areango (Bugis), kalamunga (Minahasa) (Sukmawati, 2015).

2.1.1 Manfaat Tanaman Jeringau (*Acorus calamus* L.)

Manfaat Tanaman Jeringau (*Acorus calamus* L.) memiliki berbagai manfaat

diantara dalam bidang farmasi atau obat-obatan (Silalahi dan Nisyawati,2018), sebagai bahan pangan (Dusek, dkk., 2007). Telah kita ketahui bersama bahwasannya tanaman Jeringau memiliki kandungan senyawa yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan untuk pembuatan obat. Baik obat-obatan modern maupun tradisional. Masyarakat tradisional sering menggunakan tanaman Jeringau (*Acorus calamus* L.) untuk mengobati penyakit seperti diare, cacangan, disentri, dan juga obat penyakit lainnya. Selain itu juga dapat digunakan sebagai bahan antiseptik cacangan serta obat demam berdarah (DBD). Berdasarkan penelitian terdahulu senyawa bioaktif yang terkandung pada tanaman Jeringau (*Acorus calamus* L.) memiliki berbagai aktivitas farmakologis seperti yang dilakukan oleh Hasan (2015) melakukan pengujian aktivitas antioksidan, sebagai antibakteri (Rita dkk., 2017). Pada rimpang Jeringau yang diekstrak dengan metanol dapat digunakan sebagai antimikroba (Phongpaichit, dkk., 2005). Penggunaan tanaman Jeringau dalam kehidupan sehari-hari sejalan dengan al Quran surah al Baqarah ayat 29:

هُوَ الَّذِي خَلَقَ لَكُمْ مَا فِي الْأَرْضِ جَمِيعًا ثُمَّ اسْتَوَىٰ إِلَى السَّمَاءِ فَسَوَّاهُنَّ سَبْعَ
سَمَاوَاتٍ وَهُوَ بِكُلِّ شَيْءٍ عَلِيمٌ

Artinya: “Dialah (Allah) yang menciptakan segala apa yang ada di bumi untuk kemudian Dia menuju ke langit, lalu Dia menyempurnakannya menjadi tujuh langit. Dan Dia Maha Mengetahui segala sesuatu” (Q.S al Baqarah:29)

Berdasarkan ayat di atas dapat diterjemahkan bahwasannya Allah Swt. telah menciptakan bumi beserta segala isinya agar kamu memperoleh manfaat dan mengambil perbandingan darinya. Artinya segala sesuatu yang telah Allah Swt. ciptakan semuanya tidak ada yang sia-sia. Sia-sia dalam artian ciptaan Allah Swt.

memiliki kebermanfaatannya bagi manusia, seperti rahasia-rahasia Allah Swt. melalui hasil penelitian yang akan menumbuhkan rasa keyakinan serta kekuasaan dan kebesaran Allah Swt. Salah satunya adalah pemanfaatan kandungan yang ada pada tanaman Jeringau (*Acorus calamus* L.) sebagai bahan pengobatan penyakit secara tradisional dan lain sebagainya.

2.1.2 Kandungan Senyawa Tanaman Jeringau (*Acorus calamus* L.)

Kandungan yang terdapat dalam tumbuhan Jeringau (*Acorus calamus* L.) Minyak atsiri, δ -asarone [(Z)-asarone], *Acorenone*, *isocalamendiol* (Venskutonis dan Dagilyte, 2003). Selain itu juga terdapat senyawa metabolit sekunder antara lain alkaloid, flavonoid, saponin, polifenol (Pakasi dan Salaki, 2013). Menurut Hendrajaya (2003) dalam bukunya menyebutkan bahwa kandungan kimia yang ada pada tanaman Jeringau adalah minyak atsiri, *acoretin*, *calameneol*, *choline*, tanin, glukosida *acorine* ($C_{36}H_{60}O_6$), *sesquiterpene*, dan senyawa metabolit sekunder terpenoid, flavonoid, dan alkaloid. Menurut Wahyuni, dkk. (2012) menjelaskan kandungan pada daun Jeringau (*Acorus calamus* L.) yaitu senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid dan saponin. Sedangkan pada rimpang terkandung senyawa tanin, kalsium oksalat, protein, dan minyak atsiri. Minyak atsiri pada rimpang Jeringau terdapat banyak kandungan antara lain asaron, parasaron, asarilaldehid, *sesquiterpene*, kalameon, eugenol, kalamenol, *methyleugenol*, asam akorik, dan asam *n-heptyl*. Adapun penelitian terdahulu yang telah dilakukan oleh para peneliti terhadap rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) dirangkum pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Penelitian terdahulu rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.)

No	Nama	Tahun	Isi Penelitian	Hasil Penelitian
1	Hasan, N	2015	Pengujian Antioksidan dan Antifungi rimpang Jeringau terhadap beberapa pelarut organik	hasil aktivitas antioksidan dengan nilai LC ₅₀ pada pelarut etanol 137,7 mg/L, kloroform 315,8 mg/L, dan <i>n</i> -heksana 1011 mg/L.
2	Susanti, N	2016	Uji aktivitas mikroba rimpang Jeringau pada pertumbuhan <i>Candida albicans</i>	Aktivitas antimikroba rimpang Jeringau pada <i>Candida albicans</i> dengan konsentrasi hambat minimum (KHM) yaitu 0,5%
3	Purwanti, dkk.	2016	Uji aktivitas antibakteri dan antifungal ekstrak etanol rimpang Jeringau merah	Hasil aktivitas rimpang Jeringau merah terdapat zona hambat pada bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> sebesar 24,32 mm dan bakteri <i>Eschericia coli</i> sebesar 12,06 mm
4	Suwandi dan Supriyanto	2018	Uji toksisitas ekstrak <i>n</i> -heksana, dan metanol rimpang Jeringau merah metode BSLT dengan variasi larutan uji 100, 250, 500, 750, dan 1000 ppm	hasil tingkat toksisitas berdasarkan nilai LC ₅₀ . rimpang Jeringau merah ekstrak <i>n</i> -heksana sebesar 128,2921 µg/mL dan ekstrak metanol sebesar 242,7162 µg/mL
5	Safrina, dkk.	2018	Uji efek antiinflamasi ekstrak etanol rimpang Jeringau merah pada radang kaki tikus	Ekstrak etanol rimpang Jeringau merah memiliki aktivitas antiinflamasi pada dosis optimum 450 mg/kgBB dengan daya antiinflamasi 34,20%

2.2 Metode Isolasi Bahan Alam

Ekstraksi adalah suatu proses dimana terjadi penarikan atau pengambilan suatu senyawa target dari suatu materi atau bahan dengan cara pemisahan satu maupun lebih komponen dari bahan sebagai sumber komponennya. Ekstraksi dapat dibedakan menjadi 2 bagian yaitu ekstraksi cara dingin dan ekstraksi cara panas. Proses ekstraksi untuk mendapatkan hasil yang baik jika permukaan serbuk pada simplisia yang bersentuhan dengan pelarut yang digunakan semakin luas. Sehingga semakin luas permukaan simplisia maka akan mendapatkan hasil yang baik. Selain itu juga dapat dipengaruhi sifat fisika dan kimia dari simplisia yang digunakan (Rezki, dkk., 2006). Hasil rendemen metode ekstraksi pada rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) berdasarkan penelitian terdahulu adalah sebagaimana Tabel 2.2.

Tabel 2.2 Metode ekstraksi rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.)

No	Referensi	Tahun	Isi Penelitian	Hasil Penelitian
1	Saman, S	2013	Menggunakan metode maserasi ekstrak metanol rimpang Jeringau	Nilai rendemen ekstrak metanol rimpang Jeringau sebesar 7,62%
2	Hasan, N	2015	Menggunakan metode maserasi, dengan perbandingan pelarut 1:4 (100 g : 400 mL pelarut)	Nilai rendemen pada pelarut etanol sebesar 7,8 %, pelarut <i>n</i> -heksana 2,4%, dan pelarut kloroform sebesar 3,3%
3	Muhridja, M	2016	Ekstraksi rimpang Jeringau menggunakan metode maserasi dengan pelarut metanol	Nilai rendemen ekstrak metanol rimpang Jeringau sebesar 18,95%

2.2.1 Ekstraksi Sonikasi Rimpang Jeringau (*Acorus calamus L.*)

Ekstraksi sonikasi adalah metode ekstraksi yang berbasis non *thermal* dalam penggunaan dalam proses peningkatan rendemen ekstraksi senyawa metabolit sekunder (Vilkhu, dkk., 2006). Metode ini dikenal dengan metode sonokimia yang memanfaatkan efek gelombang ultrasonik untuk mempengaruhi perubahan-perubahan yang berlangsung pada saat proses kimia. Kelebihan dari metode ini dibanding dengan metode yang lain adalah hasil rendemen yang lebih tinggi kemudian waktu yang digunakan untuk proses ekstraksi lebih cepat (Garcia dan Castro, 2004). Gelombang ultrasonik yang digunakan adalah gelombang akustik dengan frekuensi lebih dari 20 KHz (Suslick, dkk., 1986). Prinsip ekstraksi sonikasi yaitu proses perambatan yang dipancarkan oleh gelombang ultrasonik berasal dari sumber getaran yaitu sonikator dalam pelarut bergerak secara longitudinal. Perambatan gelombang menyebabkan molekul air akan mengalami peregangan. Peregangan pada molekul air dapat membentuk gelembung mikro yang akan pecah melepaskan energi jika secara terus menerus menerima energi melalui perambatan gelombang ultrasonik. Energi yang dihasilkan pada gelembung molekul air disebut energi kavitasi. Energi kavitasi akan memberikan efek tumbukan dinding sel bahan yang ingin di ekstrak serta dapat memperlebar diameter porinya. Melebarnya diameter pori ini yang akan memudahkan pelarut dalam melarutkan senyawa yang ada di dalam bahan melalui proses difusi (Santos dkk., 2009).

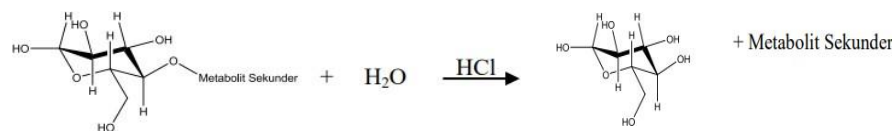
Menurut Setiawansyah, dkk. (2018) melaporkan bahwasanya perbedaan hasil rendemen metode sonikasi dengan metode maserasi. Sampel yang digunakan adalah rimpang temulawak dengan pelarut etanol 50% dan aquades perbandingan sampel:pelarut adalah 1:8 yaitu 25 gram sampel dibanding dengan 200 mL. lama

ekstraksi yang digunakan pada metode sonikasi 3x30 menit sedangkan pada metode maserasi 2x24 jam. Nilai rendemen yang dihasilkan pada metode sonikasi, pelarut etanol 50% sebesar 49,04%, dan pelarut aquades sebesar 34,8%. nilai ini jauh lebih besar dibanding dengan metode maserasi yang menghasilkan rendemen pada pelarut etanol 50% sebesar 37,16% sedangkan pada pelarut aquades yaitu 9,68%. Menurut Suhendra, dkk. (2019) dalam penelitiannya ekstraksi sonikasi pada rimpang Ilalang menggunakan etanol dengan perbandingan sampel:pelarut adalah 1:10 (*b/v*). Menggunakan frekuensi sebesar 47 kHz serta lama ekstraksi adalah 30 menit. Dihasilkan rendemen ekstrak etanol sebesar 14,13%.

2.3 Hidrolisis dan Partisi

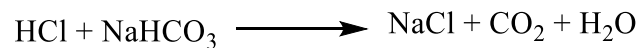
Hidrolisis adalah reaksi yang melibatkan senyawa dengan air sehingga membentuk reaksi kesetimbangan. Senyawa yang dimaksud dapat berupa senyawa organik maupun anorganik, sedangkan air merupakan medium reaksinya (Mulyono, 2006). Reaksi hidrolisis merupakan suatu proses pemutusan ikatan glikosida yang terjadi menggunakan media air sehingga menghasilkan senyawa yang sederhana (Adhiatama, dkk., 2012). Glikosida merupakan senyawa yang memiliki 2 gugus senyawa utama yang memiliki sifat kelarutan berbeda. Gugus gula (gula) memiliki sifat polar, sedangkan gugus non gula (aglikon) memiliki sifat polar, semi polar, dan non polar. Sehingga proses hidrolisis ini bertujuan untuk memutuskan ikatan senyawa glikon dan aglikonnya karena senyawa metabolit sekunder yang merupakan senyawa target termasuk senyawa aglikon. Dengan memutus ikatan glikosida maka akan menyebabkan senyawa tersebut lebih polar (Saifudin, 2014).

Menurut Rahmawati (2017) reaksi hidrolisis menggunakan air berjalan lambat, sehingga diperlukan pemercepat reaksi (katalisator). Katalisator yang sering digunakan adalah HCl atau H₂SO₄ yang merupakan asam kuat (Setyadi, 2007). HCl sering digunakan dalam reaksi hidrolisis air karena dapat melepaskan proton (H⁺) secara sempurna. Karena semakin banyak proton yang akan terionisasi pada air, maka dihasilkan pemutusan ikatan glikosida yang optimal karena semakin kuatnya peranan dari proton (Handoko, 2006). Adapun dugaan reaksi yang terjadi saat proses pemutusan ikatan glikosida (hidrolisis) menggunakan katalis asam (HCl) seperti Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Dugaan reaksi hidrolisis ikatan *o*-glikosida (Mardiyah, 2014)

Reaksi hidrolisis yang sangat lambat menggunakan air dibantu oleh katalisator asam HCl. HCl sering digunakan dibanding dengan H₂SO₄ karena HCl lebih reaktif daripada H₂SO₄ serta HCl akan menghasilkan garam yang tidak berbahaya yaitu NaCl dibanding H₂SO₄ (Nihlati, dkk., 2008). Setelah proses pemecahan ikatan glikosida antara glikon dan aglikon dilakukan penetralan menggunakan natrium bikarbonat (NaHCO₃). Glikosida perlu dilakukan penetralan karena memiliki sifat stabil pada saat kondisi netral (Fessenden, 1986). Reaksi penetralan katalisator asam (HCl) menggunakan natrium bikarbonat (NaHCO₃) ditunjukkan di bawah ini.



Proses selanjutnya setelah reaksi hidrolisis adalah proses partisi. Partisi dilakukan bertujuan untuk ekstraksi lebih lanjut dengan harapan mendapatkan ekstrak yang lebih murni. Prinsip yang digunakan pada proses partisi adalah perbedaan distribusi suatu zat terhadap dua fase pelarut yang berbeda atau tidak saling campur yang disebabkan oleh tingkat kepolaran yang berbeda (Majidah, 2019). Penelitian yang dilakukan oleh Firnando, dkk. (2019) menguji fraksi air dan fraksi butanol ekstrak etanol rimpang Jeringau merah (*acorus sp.*). diperoleh rendemen fraksi air sebesar 47,524%, sedangkan pada fraksi butanol didapatkan rendemen sebesar 20,961%. Menurut Saman (2013) melaporkan bahwasannya ekstrak metanol dari rimpang Jeringau (*Acorus calamus L.*) yang dipartisi menggunakan fraksi air, etil asetat, dan *n*-heksana. Didapatkan rendemen pada fraksi *n*-heksana sebesar 3,49%, kemudian fraksi etil asetat sebesar 8,5%, dan air sebesar 31%.

2.4 Uji Fitokimia Rimpang Jeringau (*Acorus calamus L.*)

Pengujian fitokimia dilakukan untuk menentukan baik dari ciri senyawa aktif penyebab efek racun maupun efek yang bermanfaat yang dihasilkan oleh ekstrak tumbuhan kasar bila dilakukan pengujian menggunakan sistem biologis (Robinson, 1991). Pengujian fitokimia ini bersifat uji kualitatif yang menghasilkan golongan senyawa metabolit sekunder suatu tanaman. Tanaman umumnya mengandung senyawa aktif yang berbentuk senyawa metabolit sekunder seperti

flavonoid, alkaloid, steroid, dan triterpenoid. Senyawa metabolit sekunder yang terkandung memiliki kemampuan bioaktivitas serta mempunyai fungsi sebagai perlindungan tanaman itu sendiri yaitu perlindungan dari gangguan hama penyakit (Lenny, 2006). Pengujian fitokimia dilakukan untuk menentukan ciri-ciri dari komponen bioaktif yang terkandung dalam ekstrak kasar. Komponen bioaktif tersebut memiliki efek racun maupun farmakologis lain yang dapat bermanfaat ketika dilakukan pengujian menggunakan sistem biologi (Harborne, 1987). Hasil pengujian fitokimia rimpang Jeringau pada penelitian terdahulu dirangkum pada Tabel 2.3.

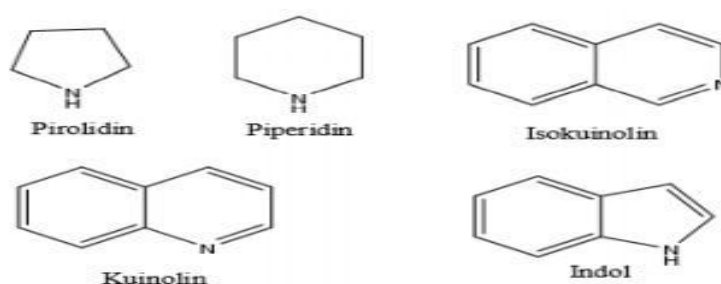
Tabel 2.3 Pengujian fitokimia rimpang Jeringau (*Acorus calamus L.*)

No	Nama	Tahun	Isi Penelitian	Hasil Penelitian
1	Saman, dkk.	2013	Analisis fitokimia rimpang Jeringau pada fraksi <i>n</i> -heksana, etil asetat, dan air	Fraksi <i>n</i> -heksana dan etil asetat positif flavonoid dan terpenoid, fraksi air positif flavonoid, saponin, dan terpenoid
2	Azzahra	2015	Analisis fitokimia rimpang Jeringau pada etanol, <i>n</i> -heksana, dan kloroform	Ekstrak etanol dan <i>n</i> -heksana positif alkaloid dan triterpenoid, sedangkan ekstrak <i>n</i> -heksana positif triterpenoid
3	Safrina, dkk.	2018	Analisis fitokimia rimpang Jeringau Merah pada ekstrak etanol	Ekstrak etanol positif senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, fenol, tanin, dan minyak atsiri

2.4.1 Uji Alkaloid

Alkaloid merupakan salah satu golongan senyawa organik terbanyak yang

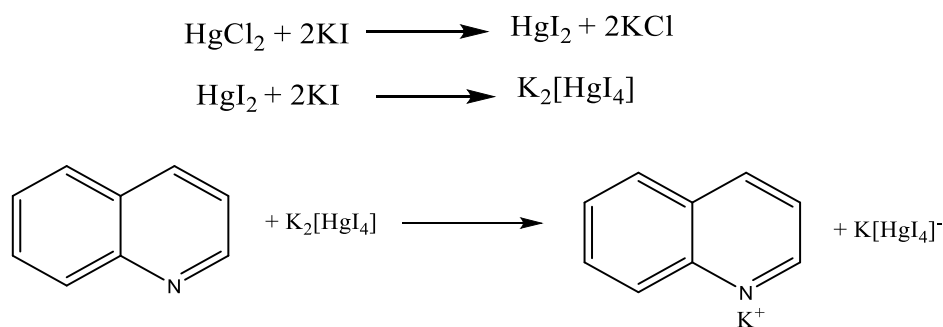
ditemukan di alam. Mayoritas seluruh senyawa alkaloid berasal dari tumbuhan dan tersebar sangat luas di dalam berbagai jenis tumbuhan (Baidowi, 2017). Golongan senyawa alkaloid paling sedikit mengandung satu atom nitrogen (N) yang bersifat basa. Sebagian besar atom nitrogen (N) ini adalah bagian dari cincin heterosiklik (Lenny, 2006). Penggolongan senyawa alkaloid dapat dilakukan berdasarkan sistem cincin yang berbentuk piridina, piperdina, isokuinolina, tropana, dan indol. Senyawa alkaloid yang terdapat di tumbuhan sebagai garam dalam berbagai senyawa organik (Latifah, 2015). Kerangka dasar senyawa golongan alkaloid ditunjukkan pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3 Kerangka dasar senyawa golongan alkaloid (Pratomo, 2019)

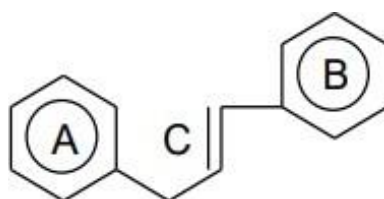
Pengujian golongan senyawa alkaloid menggunakan pereaksi yang biasa menggunakan pereaksi Mayer (kalium tetraiodomercurat), pereaksi wagner (idoium dalam keadaan idodida), asam tanat 5%, silikotungstat 5%, larutan asam pikrat jenuh dan pereaksi dragendorff (kalium tetraiodobismutat), pereaksi idoplatinat (Robinson, 1995). Prinsip pengujian alkaloid yaitu pengendapan alkaloid dengan logam-logam berat (Shoviyyah, 2019). Menurut Lutfillah (2008) menyatakan pemisahan senyawa alkaloid menggunakan pereaksi Dragendorff. Hasil positif senyawa alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan coklat mudah hingga

kekuningan. Sedangkan penggunaan pereaksi yang sering digunakan adalah Mayer yang hasil positifnya ditandai dengan endapan putih. Endapan putih tersebut diduga kompleks kalium-alkaloid (Svehla, 1990). Dugaan reaksi menggunakan pereaksi Meyer ditunjukkan pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Dugaan reaksi uji alkaloid (Marliana, dkk., 2005)

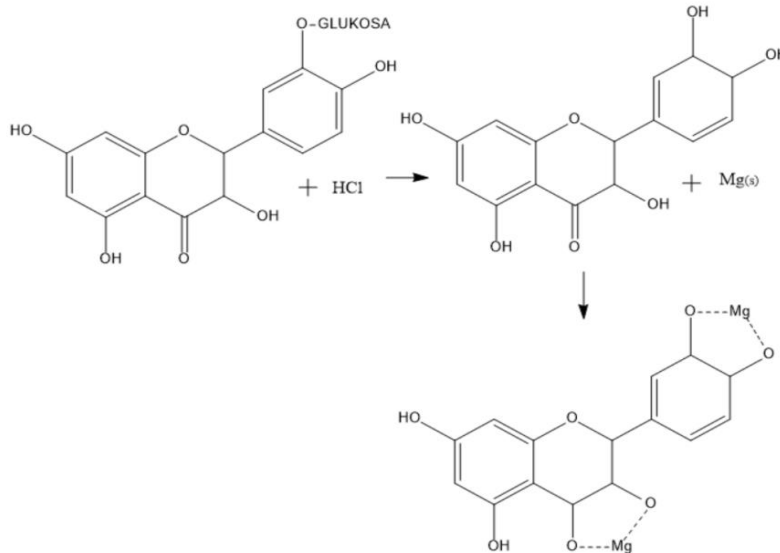
2.4.2 Uji Flavonoid



Gambar 2.5 Struktur dasar senyawa flavonoid (Illing, dkk., 2017)

Senyawa flavonoid merupakan senyawa polifenol yang keberadaannya tersebar luas di alam. Golongan senyawa flavonoid memiliki kerangka dasar 15 atom karbon yang terdiri dari dua cincin benzena yang terikat pada rantai propana (C_3). Sehingga dapat digambarkan senyawa flavonoid sebagai deretan senyawa $C_6-C_3-C_6$. Dapat dikatakan kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C_6 (cincin benzena yang tersubstitusi) disubangkan oleh rantai alifatik dari 3 karbon

(Robinson, 1995). Susunan tersebut menghasilkan tiga jenis golongan senyawa flavonoid antara lain, flavonoid, isoflavonoid, serta neoflavonoid. Senyawa flavonoid memiliki turunan yaitu *resveratrol*, *quercetin*, serta hesperidin (Lenny, 2006). Struktur dasar senyawa flavonoid ditunjukkan pada Gambar 2.5.



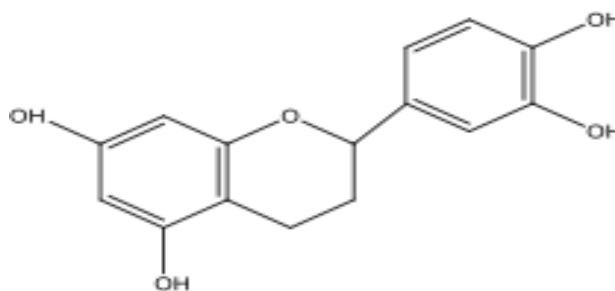
Gambar 2.6 Dugaan reaksi uji flavonoid (Nugrahani, 2016)

Pengujian flavonoid dilakukan dengan menambahkan sedikit serbuk Mg serta 3 tetes HCl pekat pada sampel. Senyawa flavonoid sering ditemukan sebagai glikosida. Bersifat polar karena flavonoid merupakan senyawa fenol yang memiliki gugus -OH dengan adanya perbedaan nilai keelektronegatifan yang tinggi. Golongan senyawa flavonoid mudah diekstrak menggunakan pelarut etanol yang memiliki sifat polar disebabkan oleh gugus hidroksil yang terkandung (Khasanah, 2018). Ekstrak yang positif senyawa flavonoid ditandai perubahan warna ketika bereaksi menjadi warna merah, kuning atau jingga (Harborne, 1987). Reaksi yang terjadi mengalami reduksi dengan Mg dan HCl pekat akan menghasilkan senyawa

kompleks yang memiliki warna jingga pada flavonol, flavononol, flavonon, serta *xanton* (Mariana, 2013). Dugaan reaksi flavonoid dengan logam Mg dan HCl pekat ditunjukkan pada Gambar 2.6.

2.4.3 Uji Tanin

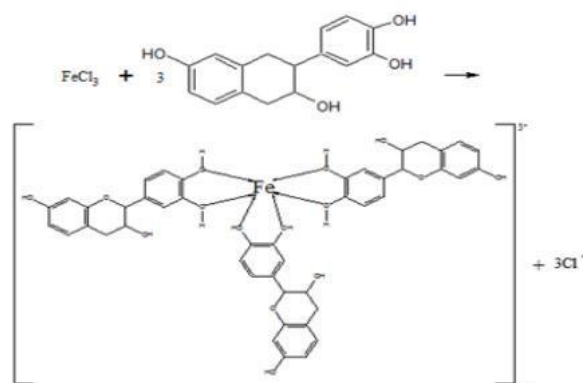
Senyawa Tanin adalah zat organik yang kompleks terdiri dari senyawa fenolik. Tanin memiliki 2 golongan yaitu senyawa tanin yang terkondensasi (tanin katekin) dan tanin yang terhidrolisis (tanin galat) (Robinson, 1995). Senyawa tanin terdiri dari kelompok zat kompleks yang ada pada tumbuhan yaitu bagian daun, batang, buah, dan kulit kayu (Latifah, 2015). Tanin terhidrolisis merupakan polimer *ellagic acid* atau *gallic* yang berikatan ester dengan molekul dari gula (Jayanegara & Sofyan, 2008). Tanin yang terkondensasi merupakan polimer flavonoid yang memiliki ikatan karbon yang berupa senyawa fenol (Zeuthen & Sorensen, 2003). Struktur dasar senyawa tanin ditunjukkan pada Gambar 2.7.



Gambar 2.7 Struktur dasar senyawa tanin (Robinson, 1995)

Pengujian senyawa Tanin dapat dilakukan menggunakan pereaksi FeCl_3 . Positif adanya senyawa Tanin akan ditunjukkan pada pembentukan warna hijau pada saat proses pengujian. Pembentukan warna hijau tersebut disebabkan

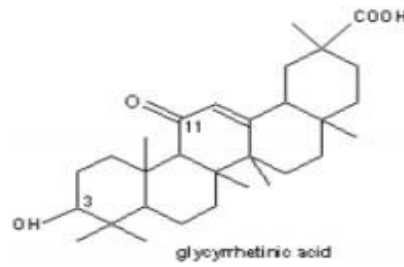
terbentuknya senyawa kompleks diantara logam besi (Fe) dan senyawa Tanin. Pembentukan senyawa kompleks tersebut disebabkan adanya ikatan kovalen koordinasi antara ion ataupun logam pereaksi dengan atom nonlogam (Effendy, 2007). Dugaan reaksi senyawa tanin ditunjukkan pada Gambar 2.8.



Gambar 2.8 Dugaan reaksi uji tanin (Sa'adah, 2010)

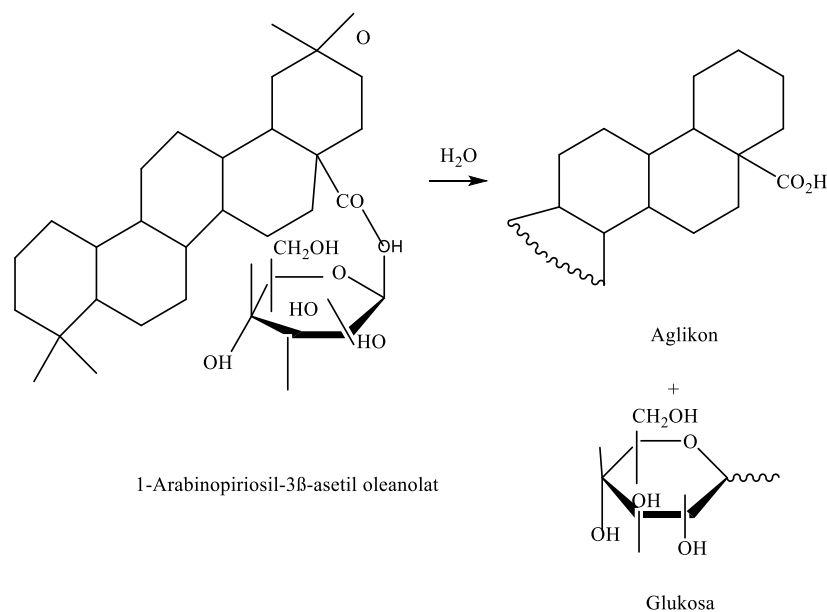
2.4.4 Uji Saponin

Senyawa saponin merupakan glikosida triterpen dan sterol yang berhasil di deteksi dalam lebih dari 90 suku tumbuhan. Saponin adalah senyawa aktif dengan permukaan yang kuat, sehingga menimbulkan busa jika dikocok menggunakan air. Terdapat dua jenis saponin yang dikenal yaitu glikosida struktur steroid, dan glikosida triterpenoid alkohol. Gugus aglikonnya biasa disebut dengan sapogenin yang dapat diperoleh melalui proses hidrolisis asam atau enzim. Saponin dapat dibedakan menjadi dua tipe berdasarkan struktur sapogeninnya yaitu tipe steroid dan tipe triterpenoid. Kedua tipe tersebut memiliki hubungan glikosidik yang terikat pada atom C-3 serta memiliki asal usul biogenetika yang sama. Jalur biogenetika yang sama adalah asam mevalonat serta satuan-satuan isoprenoid (Robinson, 1995). Struktur dasar senyawa saponin ditunjukkan pada Gambar 2.9.



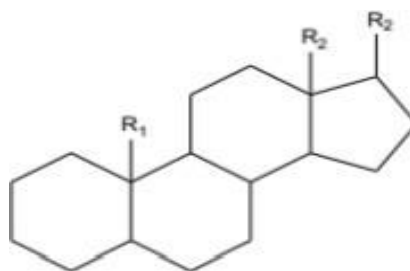
Gambar 2.9 Struktur dasar senyawa saponin (Illing, dkk., 2017)

Pengujian golongan senyawa saponin dapat dilakukan menggunakan penambahan HCl. Hasil positif senyawa saponin ditunjukkan dengan timbulnya busa saat berikan penambahan HCl. Hal ini disebabkan karena adanya glikosida yang memiliki kemampuan buih di dalam air yang terhidrolisis. Sehingga menjadi glukosa serta senyawa yang lainnya (Rusdi, 1990). Dugaan reaksi senyawa saponin ditunjukkan pada Gambar 2.10.



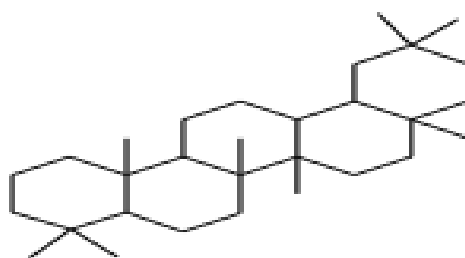
Gambar 2.10 Dugaan reaksi uji saponin (Illing, dkk., 2017)

2.4.5 Uji Steroid dan Triterpenoid



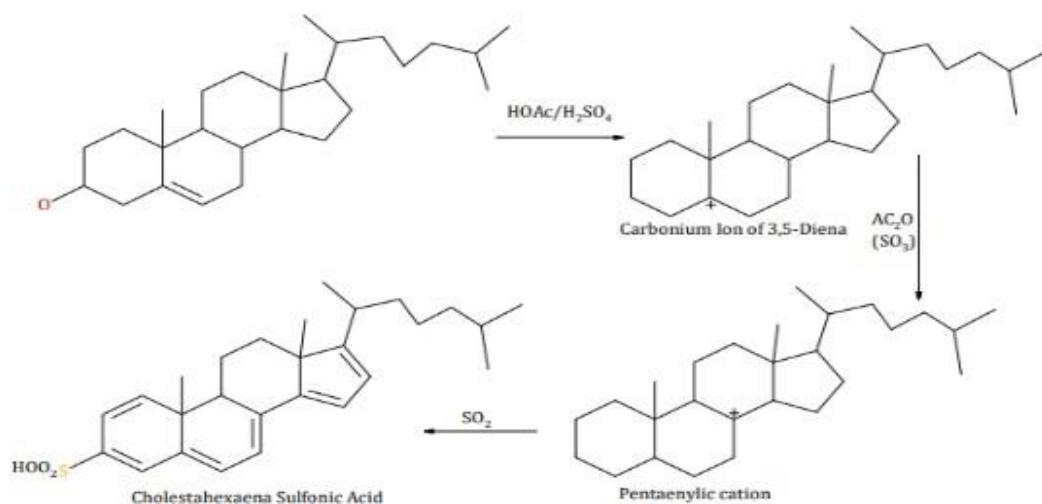
Gambar 2.11 Struktur dasar senyawa steroid (Poedjiadi, 1994)

Steroid merupakan triterpenoid yang memiliki bentuk dasar siklopentana perhidrofenantren. Biasanya larut dalam pelarut kurang polar (Fabriany, 2004). Steroid merupakan golongan lipid dari turunan senyawa yang jenuh. Senyawa steroid memiliki inti 3 cincin sikloheksana yang terpadu serta 1 cincin siklopentana yang tergabung dengan cincin sikloheksana yang memiliki efek fisiologis tertentu (Rizal, 2011). Senyawa steroid memiliki sifat nonpolar karena steroid termasuk lipid. Dengan sifat non-polarnya senyawa steroid memungkinkan untuk dapat melewati membran sel, dan meninggalkan sel, dalam mana steroid yang disintesis serta memasuki sel-sel targetnya (Sarker & Nahar, 2007). Senyawa steroid memiliki turunan yang penting yaitu sterol dan steroid alkohol. Struktur dasar senyawa steroid ditunjukkan pada Gambar 2.11.



Gambar 2.12 Kerangka dasar senyawa triterpenoid (Robinson, 1995)

Triterpenoid merupakan senyawa yang kerangka dasarnya berasal dari karbon yang memiliki 6 satuan *isoprene*. Secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C₃₀ yang berbentuk asiklik yaitu skualena. Senyawa triterpenoid memiliki struktur siklik yang kebanyakan berupa aldehida, atau asam karboksilat, dan juga alkohol (Harborne, 1987). Triterpenoid terdiri dari kerangka 3 siklik 6 bergabung dengan siklik 5 atau dapat berupa 4 siklik 6 yang memiliki gugus pada siklik lainnya (Lenny, 2006). Triterpenoid pada jaringan tumbuhan sering dijumpai berupa bentuk bebasnya, namun juga banyak dijumpai dalam bentuk glikosidanya (Kristanti, dkk., 2008). Berikut adalah kerangka dasar senyawa triterpenoid yang ditunjukkan pada Gambar 2.12.



Gambar 2.13 Dugaan reaksi uji steroid dan triterpenoid (Habibi, dkk., 2018)

Pengujian senyawa triterpenoid dapat menggunakan pereaksi Liebermann-Burchard yang mendeteksi senyawa triterpenoid menghasilkan warna *violet* (Robinson, 1995). Hasil positif yang ditunjukkan adanya senyawa triterpenoid dalam pengujian ditandai dengan memberikan warna merah, jingga, ungu, kuning,

cincin kecoklatan atau berwarna *violet* pada perbatasan dua pelarut. Sedangkan pada senyawa steroid ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau, hijau kebiru-biruan, atau biru (Lestari, 2012). Berikut adalah dugaan reaksi senyawa steroid dan triterpenoid ditunjukkan pada Gambar 2.13.

2.5 Uji Toksisitas Menggunakan Metode BSLT

2.5.1 Klasifikasi *Artemia salina leach*

Larva udang *Artemia salina leach* merupakan *Crustaceae* yang memiliki ukuran 1-2 cm dan sering digunakan dalam beberapa percobaan sebagai bahan uji. Hewan uji ini dapat ditemukan di air yang memiliki tingkat salinitasnya tinggi seperti danau, air laut namun tidak dapat hidup di air tawar. Lama waktu daur hidup dari larva udang *Artemia salina leach* ini yaitu 25 hari. fase pertumbuhan larva udang *Artemia salina leach* memiliki beberapa tahapan yaitu fase kista, dimana pada selang waktu 24 hingga 48 jam cangkangnya akan pecah dan muncul embrio berselaput berbentuk bulat. Kemudian fase nauplius dimana ketika terbentuk embrio mengalami perpecahan dengan perubahan warna menjadi kuning kecoklatan serta dapat berenang. Kemudian fase tumbuh dewasa yaitu kisaran 7 hingga 15 hari dengan pertumbuhan memiliki alat pencernaan dan mata majemuk yang bertangkai (Kristanti, dkk., 2008). Larva udang *Artemia salina leach* ditunjukkan pada Gambar 2.14.

Kingdom	: <i>Animal</i>
Filum	: <i>Arthropoda</i>
Kelas	: <i>Crustacea</i>
Sub kelas	: <i>Branchiopoda</i>
Ordo	: <i>Anostraca</i>
Famili	: <i>Artemilidae</i>
Marga	: <i>Artemia</i>
Jenis	: <i>Artemia salina leach</i> (Sriwahyuni, 2010).



Gambar 2.14 Larva udang *artemia salina leach* (Kristanti, dkk., 2008)

2.5.2 Pengujian Toksisitas Rimpang Jeringau (*Acorus calamus L.*)

Toksisitas merupakan kemampuan bahan sediaan *single dose* atau campuran untuk memberikan efek toksik atau racun. Pengujian toksisitas pada suatu bahan yang digunakan sebagai bahan-bahan obatan berfungsi untuk menentukan faktor resiko serta ambang batas konsumsi untuk dijadikan acuan pada saat diujikan pada manusia (uji klinis). Penentuan tingkat toksisitas ini sebagai informasi acuan dalam penentuan dosis obat-obatan maupun yang lainnya. faktor yang mempengaruhi pengujian toksisitas secara in vivo yaitu pemilihan spesies hewan uji, galur serta jumlah hewan, pemilihan dosis uji, efek samping dari sediaan uji, proses pemberian sediaan uji, serta teknik dan prosedur pengujian termasuk penanganan hewan uji selama percobaan (BPOM, 2014).

Metode uji toksisitas dapat menggunakan metode BSLT yaitu menggunakan media hewan uji larva udang *Artemia salina leach* biasa digunakan sebagai uji pendahuluan pada penelitian yang mengarah pada uji sitotoksik. selain itu juga larva udang mudah dikembang biakkan tanpa penanganan khusus, tidak membutuhkan banyak sampel, dan cepat (Kristanti, dkk., 2008). Metode BSLT digunakan karena larva udang memiliki sifat yang sangat rentang terhadap beberapa senyawa toksik

(Pramitania, 2019).

Menggunakan metode BSLT melalui mekanisme tahapan yang pertama penetasan telur larva udang *Artemia salina leach*, kemudian dilanjutkan dengan pembuatan larutan uji, dan yang terakhir adalah pengujian. Telur larva udang *Artemia salina leach* dilakukan penetasan menggunakan air laut serta proses aerasi. Proses penetasan larva udang *Artemia salina leach* meliputi hidrasi, pecah cangkang, kemudian tahap payung atau biasa disebut tahap pengeluaran. (Khasanah, 2018). Penetasan berlangsung selama 1-2 kemudian dapat digunakan sebagai hewan uji dalam pengujian toksisitas (Kristanti, dkk., 2008). Senyawa yang bersifat toksik akan memberikan efek toksik terhadap hewan uji larva udang *Artemia salina leach*. Senyawa tersebut menyebabkan 50% kematian pada populasi hewan uji atau yang biasa disebut nilai *Lethal Concentration-50* (LC_{50}) (Majidah, 2019). LC_{50} adalah konsentrasi yang dinotasikan dalam satuan *part per million* (ppm) yang menyebabkan kematian 50% hewan uji dalam waktu tertentu (Cahyono, 2004). nilai LC_{50} memiliki tingkatan berbeda-beda pada setiap tanaman yang diuji toksisitas. Tingkatan toksisitas yang didasarkan pada nilai LC_{50} ditunjukkan pada Tabel 2.4 (Meyer, 1982).

Tabel 2.4 Kategori tingkat toksisitas berdasarkan nilai LC_{50}

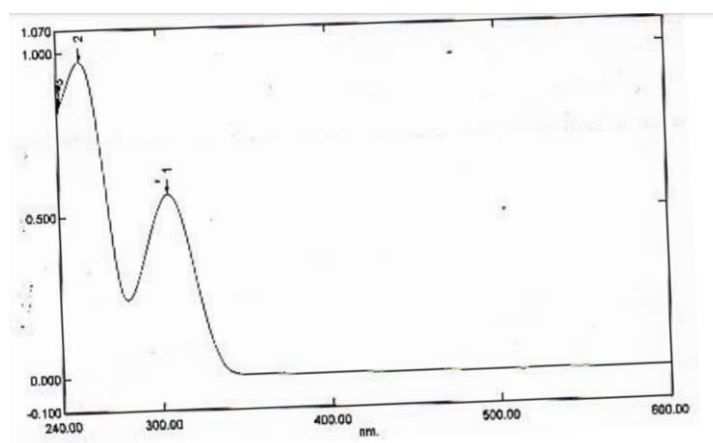
No	Kategori	Nilai LC_{50} (ppm)	Potensi
1.	Sangat Toksik	< 30	Antikanker, atau antitumor
2.	Toksik	30-1000	Antibakteri
3.	Tidak Toksik	> 1000	Pestisida

Menurut Suwandi & Supriyanto (2018) melakukan pengujian toksisitas pada rimpang Jeringau merah (*acorus sp.*) menggunakan metode BSLT pelarut metanol dan *n*-heksana. Dengan variasi konsentrasi larutan 100, 250, 500, 750, dan 1000 ppm. Didapatkan hasil nilai LC₅₀ pada ekstrak *n*-heksana sebesar 128,2921 µg/mL, sedangkan pada ekstrak metanol nilai LC₅₀ sebesar 242,7169 µg/mL. Mustariani, dkk. (2017) melakukan pengujian toksisitas pada rimpang temu menggunakan variasi pelarut *n*-heksana, metanol, dan kloroform. Dengan variasi konsentrasi larutan uji 10, 100, dan 1000 ppm. Dihasilkan nilai LC₅₀ pada ekstrak *n*-heksana sebesar 153,391 ppm, ekstrak metanol sebesar 107,473 ppm, dan pada ekstrak kloroform sebesar 132,391 ppm.

2.6 Identifikasi Senyawa Menggunakan Spektroskopi UV-Vis

Spektroskopi UV-Vis merupakan salah satu jenis spektroskopi yang digunakan untuk pengukuran serapan cahaya pada daerah ultraviolet (200-350 nm) serta sinar tampak pada daerah (350-800 nm). Identifikasi senyawa menggunakan spektroskopi UV-Vis pada hasil fraksi ekstrak etanol rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) digunakan untuk mengetahui panjang gelombang maksimalnya. Nilai panjang gelombang maksimal yang terdapat pada sampel ekstrak akan diidentifikasi transisi elektron yang terjadi didalam sampel akibat cahaya yang ditembakkan pada sampel. Spektroskopi UV-Vis bekerja menggunakan prinsip berdasarkan transisi tingkat energi dari rendah ke tinggi atau dinamakan eksitasi akibat penyerapan sinar UV-Vis oleh molekul. Transisi tersebut dapat dibedakan menjadi 2 yaitu transisi antar orbital anti ikatan (*anti bonding*) dan ikatan (*bonding*). Berdasarkan transisi tersebut kita dapat mengetahui perbedaan energi antara orbital

yang sama dengan panjang gelombang yang diserap detektor (Panji, 2012). Penyerapan tersebut akan diubah menjadi sebuah data spektra yang akan digunakan identifikasi gugus kromofor yang terdapat pada sampel (Hendayana, 2006). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Muhridja, dkk. (2016) menggunakan sampel rimpang Jeringau didapatkan hasil identifikasi menggunakan spektroskopi UV-Vis spektranya ditunjukkan pada Gambar 2.15.



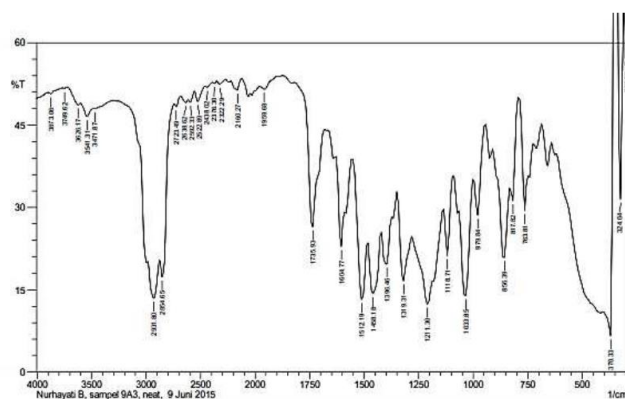
Gambar 2.15 Spektrum UV-Vis flavonoid (Muhridja, dkk., 2016)

Rimpang Jeringau dalam pelarut *n*-heksana berdasarkan spektrum diatas dapat diketahui bahwa terdapat 2 pita serapan. Pita pertama memiliki serapan panjang gelombang maksimum 304,78 nm dan nilai absorbansinya 0,564. Sedangkan pada pita kedua menghasilkan panjang gelombang maksimum sebesar 253,76 nm dan nilai absorbansinya 0,973 (Muhridja, dkk., 2016).

2.7 Identifikasi Senyawa Menggunakan Spektroskopi FT-IR

Spektroskopi FTIR (*fourier transform infrared*) merupakan suatu teknik pengukuran yang memanfaatkan radiasi sinar inframerah. Radiasi sinar inframerah

memiliki panjang gelombang 0,75-1000 μm pada bilangan gelombang 13.000-10 cm^{-1} (Sari, dkk., 2018). Prinsip dari pengukuran menggunakan spektroskopi FTIR yaitu interaksi antara energi dengan materi. Sinar inframerah ditembakkan pada celah sampel, kemudian diserap oleh sampel sehingga menghasilkan gerak vibrasi. Kemudian ditransmisikan melalui permukaan sampel. Sinar inframerah yang lolos ke detektor akan direkam sehingga menghasilkan puncak spektrum (Thermo, 2001). Daerah serapan FTIR dibagi menjadi tiga bagian yaitu daerah jauh berada pada daerah 14.000-4000 cm^{-1} . Kemudian daerah 4000-400 cm^{-1} yaitu daerah transisi energi vibrasi dari molekul yang dapat memberikan informasi gugus-gugus fungsional senyawa. Serta daerah jauh pada 400-10 cm^{-1} yang digunakan untuk analisis molekul dengan atom berat (Schechter, 1997). Identifikasi fraksi-fraksi dari ekstrak etanol rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) digunakan secara kualitatif dengan mengidentifikasi gugus-gugus fungsional dari suatu senyawa (Silverstein dan Bassler, 1998). Hasil identifikasi senyawa isolat rimpang Jeringau yang dilakukan Muhridja (2016) ditunjukkan pada Gambar 2.16.



Gambar 2.16 Spektra FTIR pada rimpang Jeringau (Muhridja, dkk., 2016)

Berdasarkan Gambar 2.16 yang dihasilkan pada isolate rimpang Jeringau didapatkan serapan oleh gugus O-H pada bilangan gelombang $3348,42\text{ cm}^{-1}$. Kemudian juga terdapat serapan pada bilangan gelombang $2931,80\text{ cm}^{-1}$. Serapan pada daerah $1728,22\text{ cm}^{-1}$ oleh gugus C=O. selain itu juga terdapat serapan oleh gugus C=C aromatik pada daerah $1604,77\text{ cm}^{-1}$. Gugus C-O juga terdeteksi pada daerah $1211,30\text{ cm}^{-1}$. Serapan lainnya yang dihasilkan pada daerah $1319,31\text{ cm}^{-1}$ oleh vibrasi gugus C-H.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September–Oktober 2021 di Laboratorium Organik, Laboratorium Layanan dan Instrumen Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2. Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat gelas laboratorium, oven, corong *buchner*, *magnetic stirrer hotplate*, *rotary evaporator*, lemari asap, *ultrasonic processor Qsonica*, neraca analitik, Spektroskopi UV-Vis *Varian Carry 50*, spektroskopi *fourier transform infrared* (FTIR) ayakan 90 *mesh*, *aluminum foil*, botol vial, desikator, *aquarium* kaca, dan aerator.

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian adalah rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.), aquades, etanol *p.a*, etil asetat *p.a*, *n*-heksana *p.a*, HCl 2N, HCl 2%, metanol, HCl 1N, natrium bikarbonat (NaHCO₃), reagen Mayer, reagen Dragendorff, serbuk Mg, FeCl₃ 1%, KBr, asetat anhidrat, H₂SO₄ pekat, kloroform, ragi roti, air laut, dimetil sulfoksida (DMSO), dan telur larva udang *Artemia salina leach*.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat deskriptif kualitatif menyajikan data dan hasil sesuai yang didapatkan. Penelitian ini menggunakan pembaharuan metode sonikasi (*ultrasonic*) pada sampel Jeringau (*Acorus calamus* L.), dengan variasi fraksi. Penelitian dilakukan dengan tahapan sebagai berikut: preparasi sampel dengan cara dikeringkan dan dihaluskan kemudian diayak menggunakan *mesh* ukuran 90. Kemudian dilakukan analisis kadar air dan dilanjutkan ekstraksi menggunakan metode ekstraksi sonikasi (*ultrasonic*) pelarut etanol dengan perbandingan pelarut 1:10 (30 g sampel: 300 mL pelarut). Tahapan selanjutnya adalah proses hidrolisis menggunakan HCl 2N dan dinetralkan menggunakan natrium bikarbonat (NaHCO_3), Hasil hidrolisis ekstrak etanol dipartisi menggunakan variasi pelarut *n*-heksana dan etil asetat masing-masing sebanyak 15 mL dengan 3 kali pengulangan. kemudian hasil partisi dipekatkan. Tahapan selanjutnya dilakukan uji toksisitas menggunakan metode BSLT dengan konsentrasi uji 5, 10, 15, 20, 25, dan 50 ppm. Kemudian diidentifikasi golongan senyawa metabolit sekunder dengan pengujian fitokimia secara lengkap yaitu uji alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid, dan triterpenoid. Tahapan selanjutnya identifikasi senyawa menggunakan spektroskopi UV-Vis dengan rentang 200-800 nm dan spektroskopi FTIR dengan rentang bilangan gelombang 4000-400 cm^{-1} . Tahap terakhir analisis data dalam pengujian toksisitas yang menghasilkan nilai LC_{50} menggunakan *software* Minitab 18 pada windows dan data hasil spektrum UV-Vis dan FTIR menggunakan *software* Origin 2018.

3.4 Tahapan Kerja

Tahapan-tahapan yang dilakukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Preparasi sampel
- b. Analisis kadar air
- c. Ekstraksi sampel menggunakan metode sonikasi (*ultrasonic*)
- d. Hidrolisis dan Partisi
- e. Uji fitokimia
- f. Pengujian toksisitas menggunakan metode BSLT
- g. Identifikasi senyawa menggunakan spektroskopi UV-Vis
- h. Identifikasi senyawa menggunakan spektroskopi FTIR
- i. Analisis data

3.5 Cara Kerja

3.5.1 Preparasi Sampel

Preparasi sampel dilakukan pada sampel rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) yang dipanen dari Kota Semarang, Jawa Tengah. Proses pemilihan sampel dilakukan dengan cara mengambil secara acak dari berbagai akar. Diambil sebanyak 2,61 Kg, Kemudian dibersihkan dengan cara dicuci menggunakan air hingga bersih. Kemudian dipotong menjadi bagian kecil-kecil. Selanjutnya dioven dengan suhu 50 °C serta dihaluskan menggunakan *mesh* ukuran 90 di Unit Pelaksana Teknis Materia Medika Kota Batu, Jawa Timur.

3.5.2 Analisis Kadar Air

Analisis kadar air pada rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) mula-mula

dioven cawan kosong hingga diperoleh berat konstan. Kemudian diambil sampel rimpang Jeringau sebanyak 1 g. Setelah itu dipanaskan dengan oven pada suhu 105 °C selama 1 jam. Kemudian dimasukkan kedalam desikator selama 10 menit lalu ditimbang. Kemudian dilakukan pemanasan kembali dengan oven pada suhu 105 °C ± 15 menit selama dan didinginkan didalam desikator selama ± 10 menit, lalu ditimbang kembali. Perlakuan dilakukan secara berulang hingga didapatkan berat konstan. Kadar air dapat dihitung menggunakan persamaan (3.1) (AOAC, 1984).

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

Dengan *a* adalah bobot cawan kosong, *b* adalah bobot sampel + cawan sebelum dikeringkan, dan *c* adalah bobot cawan + sampel setelah dikeringkan.

3.5.3 Ekstraksi Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) Menggunakan Metode Ultrasonik

Ekstraksi sampel Jeringau (*Acorus calamus* L.) menggunakan metode sonikasi (*ultrasonic*) yang mengacu pada penelitian Suhendra, dkk. (2019) yang telah dimodifikasi. Sebanyak 30 g simplisia Jeringau (*Acorus calamus* L.) yang didapatkan pada tahap preparasi dimasukkan ke dalam beaker glass. Kemudian ditambahkan dengan pelarut etanol. Perbandingan sampel dan pelarut 1:10 (30 g sampel : 300 mL pelarut) kemudian ditempatkan pada tempat *ultrasonic probe* dan diekstraksi selama 30 menit dengan suhu kamar menggunakan frekuensi 20 kHz. Ekstrak etanol disaring menggunakan corong *buchner* dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 30-40 °C, hingga pelarut benar-benar menguap tidak adanya pelarut yang menetes pada labu pelarut. Kemudian dihitung

rendemennya dengan persamaan (3.2).

$$Rendemen = \frac{\text{berat ekstrak kasar yang deperoleh}}{\text{berat sampel yang digunakan}} \times 100\% \dots \dots \dots (3.2)$$

3.5.4 Hidrolisis dan Partisi Ekstrak Pekat Etanol Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.)

Hidrolisis ekstrak pekat etanol rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) dilakukan mengacu (Tensiska, dkk., 2007) dengan cara menimbang ekstrak sebanyak 3 gram. Selanjutnya ditambahkan 6 mL HCl 2N ke dalam ekstrak pekat etanol perbandingan 1:2 (ekstrak pekat : HCl 2N). Proses hidrolisis dilakukan selama 1 jam dengan *magnetic stirrer hot plate* pada suhu ruang. Lalu ditambahkan natrium bikarbonat (NaHCO₃) hingga didapatkan pH netral. Hasil hidrolisis ekstrak pekat dipartisi menggunakan corong pisah menggunakan pelarut *n*-heksana dan etil asetat. Pertama ditambahkan pelarut *n*-heksana sebanyak 15 mL, dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Kemudian diambil fase organik (fraksi *n*-heksana) dan dipekatkan. Fase air ditambahkan dengan pelarut etil asetat sebanyak 15 mL di dalam corong pisah, kemudian dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Diambil fase organik (fraksi etil asetat) dan fase air (fraksi air), selanjutnya dipekatkan kemudian ditimbang dan dihitung rendemennya.

3.5.5 Uji Fitokimia

Pengujian fitokimia dilakukan menggunakan reagen untuk mengetahui adanya senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, steroid, dan triterpenoid.

3.5.5.1 Uji Alkaloid

Uji alkaloid dilakukan dengan cara dimasukkan ekstrak Jeringau (*Acorus calamus* L.) ke dalam tabung reaksi sebanyak 1 mg, kemudian ditambahkan HCl 2% sebanyak 0,5 mL, kemudian dibagi dalam 2 tabung. Tabung pertama ditambahkan 2 hingga 3 tetes reagen Dragendorff sedangkan pada tabung II ditambahkan reagen Mayer 2-3 tetes. Pada tabung pertama jika terbentuk endapan berwarna jingga dan tabung kedua terbentuk endapan putih kekuningan, maka ekstrak Jeringau (*Acorus calamus* L.) mengandung senyawa alkaloid.

3.5.5.2 Uji Flavonoid

Uji flavonoid dilakukan dengan cara dimasukkan sampel Jeringau (*Acorus calamus* L.) ke dalam tabung reaksi sebanyak 1 mg. Lalu ditambahkan 1-2 mL metanol panas 50% dan dikocok. Kemudian ditambahkan serbuk Mg sebanyak 1 mg dan 2-3 tetes HCl pekat. Jika terbentuk warna merah bata atau jingga maka dapat diindikasikan mengandung senyawa flavonoid.

3.5.5.3 Uji Tanin

Uji tanin dilakukan dengan cara dimasukkan sampel Jeringau (*Acorus calamus* L.) ke dalam tabung reaksi sebanyak 1 mg. Kemudian ditambahkan FeCl_3 1% 2-3 tetes. Diamati jika larutan terbentuk warna hijaukehitaman atau biru dapat diindikasikan ekstrak mengandung senyawa tanin.

3.5.5.4 Uji Triterpenoid dan Steroid

Uji triterpenoid dan steroid dilakukan dengan cara dimasukkan sampel

Jeringau (*Acorus calamus* L.) ke dalam tabung reaksi sebanyak 1 mg. Lalu ditambahkan pelarut kloroform 0,5 mL dan 0,5 mL asetat anhidrat. Kemudian ditambahkan H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung. Diamati jika terbentuk cincin kecoklatan atau keunguan maka dapat diindikasikan ekstrak mengandung senyawa triterpenoid, kemudian jika mengandung warna hijau kehitaman dapat diindikasikan mengandung senyawa steroid.

3.5.5.5 Uji Saponin

Uji Saponin dilakukan dengan cara dimasukkan sampel Jeringau (*Acorus calamus* L.) ke dalam tabung reaksi sebanyak 1 mg. Kemudian ditambahkan air dan perbandingan (1:1) dan dikocok dengan lama pengocokan 1 menit. Diamati jika terbentuk busa ditambahkan HCl 1 N sebanyak 2 tetes, jika busa yang terbentuk dapat bertahan dalam waktu 10 menit maka dapat diindikasikan ekstrak mengandung senyawa saponin.

3.5.6 Uji Aktivitas Toksisitas Menggunakan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

3.5.6.1 Penyiapan Larva *Artemia salina leach*

Penyiapan larva udang *Artemia salina leach* dapat dilakukan dengan cara, dimasukkan 250 mL air laut ke dalam wadah penetasan. Kemudian ditambahkan 2,5 mg telur larva udang *Artemia salina leach*. Dilakukan aerasi dan diberi lampu. Telur larva udang *Artemia salina leach* akan menetas dalam kurun waktu kurang lebih 24 jam, serta siap untuk digunakan hewan uji dalam pengujian toksisitas ketika umur 48 jam (Pramitania, 2019).

3.5.6.2 Uji Toksisitas

Pengujian toksisitas dilakukan merujuk pada penelitian yang dilakukan oleh Suwandi, dan Supriyanto. (2018) yang telah di modifikasi. Uji toksisitas dilakukan pada ekstrak hasil partisi yaitu fraksi air, *n*-heksana, dan etil asetat. Ekstrak hasil partisi diambil 10 mg dan dilarutkan dalam pelarutnya sebanyak 10 mL. Kemudian didapatkan larutan stok dengan konsentrasi 1000 ppm, selanjutnya diencerkan menggunakan variasi konsentrasi 5, 10, 15, 20, 25, dan 50 ppm Masing-masing konsentrasi dilakukan pengulangan sebanyak 5 kali. Larutan uji dimasukkan ke dalam botol vial dan diuapkan pelarutnya. Selanjutnya ditambahkan dimetil sulfoksida (DMSO) sebanyak 100 μ L, dan setetes larutan ragi roti, serta air laut 2 mL kemudian dilakukan pengocokan menggunakan *vortex*. Ditambahkan 10 ekor larva udang *Artemia salina leach* dan dan air laut hingga volumenya 10 mL. Pengujian pada larutan kontrol digunakan dengan DMSO dan pelarut. Dipipet pelarut sebanyak 100 μ L kemudian diuapkan hingga kering, ditambahkan 100 μ L DMSO. Setelah itu ditambahkan setetes larutan ragi roti, dan ditambahkan air laut 2 mL dan dikocok menggunakan *vortex*. Ditambahkan 10 ekor larva udang *Artemia salina leach* dan ditambahkan air laut hingga volumenya 10 mL. Pengamatan dilakukan selama 24 jam terhadap kematian larva udang *Artemia salina leach* (Pramitania, 2019).

3.5.7 Identifikasi Senyawa Menggunakan Spektroskopi UV-Vis

Hasil yang diperoleh dari fraksi ekstrak rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) akan diidentifikasi menggunakan spektroskopi UV-Vis dengan ditambahkan 5 mL sampel dengan pelarut masing-masing. Kemudian dilakukan pengocokan

menggunakan vortex hingga larut. Dimasukkan dalam kuvet dan diukur atau dianalisis menggunakan spektroskopi UV-Vis menggunakan panjang gelombang 200-800 nm (Pramitania, 2019).

3.5.8 Identifikasi Senyawa Menggunakan Spektroskopi FTIR

Hasil yang diperoleh dari proses partisi ekstrak etanol diidentifikasi menggunakan spektroskopi FTIR merk *varian type FT 1000*. Dengan mencampurkan sedikit KBr kemudian digerus menggunakan mortar. Setelah dicampurkan secara merata kemudian dipress dengan tekanan 80 torr selama 10 menit. Sehingga dihasilkan lempeng yang berisikan campuran sampel dan KBr. Kemudian diidentifikasi dengan instrumen spektroskopi FTIR pada rentang bilangan gelombang $4000-400\text{ cm}^{-1}$ (Wati, 2020).

3.5.9 Analisis data

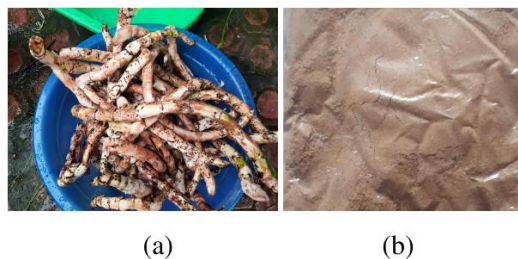
Hasil dari pengujian toksisitas rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) didapatkan modus jumlah kematian larva udang *Artemia salina leach* tiap konsentrasi yang akan diolah menggunakan *software* minitab pada *windows* (Okomoda, dkk., 2013). Sehingga menghasilkan nilai LC_{50} yang mengindikasikan nilai konsentrasi yang menyebabkan kematian 50%. Kemudian pada identifikasi senyawa menggunakan spektroskopi UV-Vis dan FTIR diperoleh data spektra kemudian diolah menggunakan *software* Origin pada *windows*. Data tersebut menginterpretasikan identifikasi senyawa yang terkandung dalam masing-masing fraksi rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.).

BAB IV

PEMBAHASAN

4.1 Ekstraksi Sonikasi Rimpang Jeringau (*Acorus calamus L.*)

Rimpang Jeringau (*Acorus calamus L.*) sebelum diekstraksi terlebih dahulu dilakukan preparasi sampel. Proses pencucian bertujuan untuk menghilangkan pengotor yang ada pada sampel. Proses pengeringan dilakukan menggunakan *oven* dengan suhu 50 °C bertujuan untuk mencegah adanya reaksi enzimatik yang dapat menyebabkan rusaknya senyawa aktif pada sampel. Proses penghalusan dengan ayakan 90 *mesh* bertujuan untuk memperluas ukuran permukaan sampel. Semakin tinggi luas permukaan sampel maka semakin memungkinkan pelarut masuk ke dalam dinding sel karena terjadinya kerusakan dinding sel dan memudahkan proses pelarutan senyawa aktif yang dilakukan oleh pelarut pada sampel (Afif, 2015). Serbuk halus sampel Jeringau yang dihasilkan pada proses preparasi sebesar 0,38 Kg, atau dengan nilai rendemen sebesar 14,55% (Perhitungan L.4.1) dari total berat sampel awal 2,61 Kg. Adapun hasil preparasi sampel ditunjukkan pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Rimpang Jeringau sebelum di preparasi (a), serbuk rimpang Jeringau hasil preparasi (b)

Hasil preparasi sampel rimpang Jeringau dilakukan analisis kadar air untuk mengetahui kandungan air yang ada pada sampel. Kandungan air yang ada pada sampel memiliki pengaruh terhadap berlangsungnya proses ekstraksi. Analisis kadar air yang digunakan menggunakan metode *thermogravimetric* dengan prinsip penguapan air dengan cara pemanasan pada sampel (Fatimah, 2020). Nilai kadar air sampel yang rendah akan memberikan keuntungan pada proses ekstraksi yang terjadi karena mempermudah pelarut untuk menembus dinding sel sampel sehingga senyawa yang terkandung dapat larut oleh pelarut (Khoiriyah, dkk., 2014). Hasil analisis kadar air pada sampel Jeringau sebesar 10,90% (Perhitungan L.4.2). Nilai kadar air maksimum pada sampel kering untuk proses ekstraksi sebesar $< 11\%$ (Septyaningsih, 2010).

Senyawa metabolit sekunder pada sampel rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) dapat diperoleh dengan cara ekstraksi. Pada penelitian ini dilakukan menggunakan metode sonikasi. Proses ekstraksi sonikasi berjalan dengan memanfaatkan gelombang ultrasonik yang dirambatkan oleh sonikator pada sampel dan menimbulkan peregangan yang akan menghasilkan gelembung-gelembung kavitasi. Gelembung ini akan pecah jika menerima energi rambatan gelombang ultrasonik secara terus menerus. Energi yang dihasilkan dari pecahnya gelembung ini disebut energi kavitasi. Energi kavitasi yang dihasilkan memberikan efek tumbukan dinding sel sampel rimpang Jeringau, sehingga dapat merusak dinding sel dan meluasnya pori sampel rimpang Jeringau (Santos, dkk., 2009). Proses ini memudahkan pelarut untuk menembus dinding sel melarutkan senyawa aktif yang ada pada sampel rimpang Jeringau.

Pelarut yang digunakan yaitu etanol yang bersifat polar. Karena etanol merupakan pelarut yang sering digunakan untuk melarutkan senyawa aktif pada sampel. Selain itu juga penggunaan pelarut polar bertujuan untuk memaksimalkan proses ekstraksi, karena senyawa metabolit sekunder yang ada pada sampel umumnya terikat pada gugus glikosida yang mudah larut dalam pelarut polar. Hasil ekstraksi rimpang Jeringau menggunakan pelarut etanol didapatkan rendemen sebesar 16,67% atau sebanyak 5,0035 g (Perhitungan L.4.3). Penelitian yang dilakukan oleh Hasan (2015) ekstraksi rimpang Jeringau dengan pelarut etanol menggunakan metode maserasi menghasilkan rendemen sebesar 7,8%. Hasil yang didapatkan dari ekstrak pekat etanol berwarna coklat kehitaman dengan filtrat berwarna coklat ditunjukkan pada Gambar 4.2.

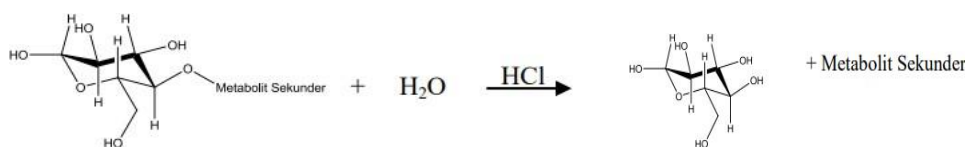


Gambar 4.2 Ekstrak pekat etanol

4.2 Hidrolisis dan Partisi Ekstrak Etanol Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.)

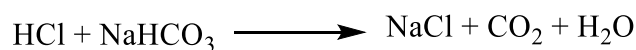
Kandungan senyawa metabolit sekunder pada rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) dalam ekstrak etanol masih berbentuk ikatan glikosida yang harus diputus melalui proses hidrolisis. Sehingga didapatkan glikon (gugus gula) bersifat polar dan aglikon (non gula) bersifat nonpolar yang merupakan senyawa metabolit

sekunder. Hidrolisis dilakukan dengan cara menambahkan katalis asam HCl 2N bertujuan untuk mempercepat reaksi hidrolisis. Dugaan reaksi hidrolisis ditampilkan pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3 Dugaan reaksi hidrolisis (Septyaningsih, 2010)

Reaksi pemutusan ikatan glikosida bersifat *reversible* sehingga perlu dilakukan penetralan dengan cara penambahan natrium bikarbonat (NaHCO_3) hingga netral. Proses penetralan dengan NaHCO_3 menghasilkan gelembung-gelembung busa yang menunjukkan adanya gas CO_2 . Gelembung busa yang dihasilkan akibat reaksi antara HCl dengan NaHCO_3 (Wati, 2020). Hasil yang diperoleh dari hidrolisis ekstrak etanol pekat berupa larutan berwarna coklat pekat dengan tidak adanya gelembung-gelembung busa. Tidak adanya gelembung-gelembung busa ini menandakan telah berhentinya reaksi penetralan yang ditunjukkan dibawah ini.



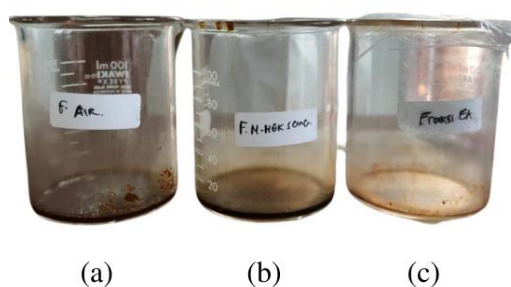
Hidrolisat (hasil hidrolisis) ekstrak pekat etanol selanjutnya dilakukan partisi guna untuk melarutkan senyawa aktif yang lebih spesifik sesuai dengan pelarutnya (Fasya, dkk., 2016). Dalam penelitian ini menggunakan variasi pelarut yaitu *n*-heksana (nonpolar) dan etil asetat (semipolar). Sehingga senyawa yang

terkandung dalam rimpang Jeringau terekstrak pada pelarut yang sesuai. Hidrolisat dipartisi pertama menggunakan pelarut *n*-heksana yang bersifat non polar, kemudian dilanjutkan dengan pelarut etil asetat yang bersifat semi polar. Hasil partisi didapatkan 2 lapisan yang berbeda. Lapisan atas merupakan fasa organik yaitu lapisan bawah merupakan fasa air. Nilai rendemen fraksi yang diperoleh dari hasil partisi (Perhitungan L.4.4) ditunjukkan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Data rendemen masing-masing fraksi

Fraksi	Warna	Berat (g)	Rendemen (%)
<i>n</i> -Heksana	Coklat Kehitaman	0,6973	23,24
Etil Asetat	Coklat	0,0802	2,67
Air	Coklat Kehitaman	1,6031	53,44

Lapisan yang dihasilkan dalam proses partisi diakibatkan oleh adanya perbedaan berat jenis masing-masing pelarut. *n*-heksana memiliki berat jenis sebesar 0,6548 g/mL, etil asetat 0,902 g/mL, dan air sebesar 1 g/mL (Mulyono, 2006). Hal ini menunjukkan bahwasannya berat jenis air lebih berat dibandingkan dengan pelarut *n*-heksana dan etil asetat sehingga berada di lapisan bawah. Hasil partisi pada fraksi air dan fraksi *n*-heksana berwarna coklat kehitaman, sedangkan fraksi etil asetat berwarna coklat ditunjukkan pada Gambar 4.4.



Gambar 4.4 Ekstrak pekat fraksi air (a), fraksi *n*-heksana (b), fraksi etil asetat (c)

Berdasarkan Tabel 4.1 hasil rendemen fraksi air lebih besar yaitu 53,44% dibandingkan dengan fraksi etil asetat 23,24% dan *n*-heksana 2,67%. Menurut penelitian Srividya, dkk. (2014) yang telah melakukan partisi ekstrak metanol rimpang Jeringau dengan pelarut air, aseton, etil asetat, kloroform, dan petroleum didapatkan hasil rendemen sebesar 16, 13, 12, 10, dan 11% berturut-turut. Hasil yang didapatkan pada penelitian ini menunjukkan bahwa senyawa metabolit sekunder yang ada pada rimpang Jeringau cenderung bersifat polar karena lebih banyak terdistribusi pada pelarut polar yaitu fraksi air.

4.3 Uji Fitokimia Rimpang Jeringau (*Acorus calamus L.*)

Tabel 4.2 Hasil pengujian fitokimia masing-masing fraksi dan ekstrak etanol

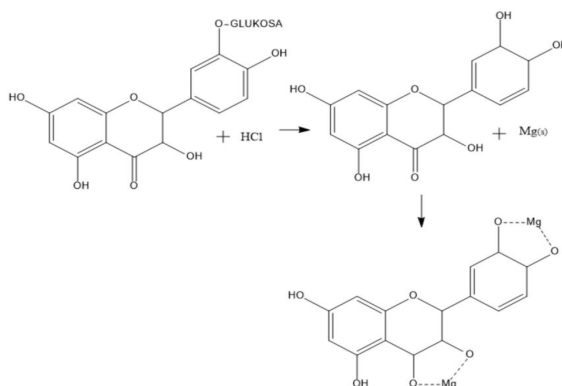
Uji Golongan Senyawa Aktif	Hasil			
	Ekstrak Kasar	Fraksi Etil Asetat	Fraksi <i>n</i> -Heksana	Fraksi Air
Alkaloid				
-Meyer	-	-	-	-
-Dragendorff	-	-	-	-
Flavonoid	+	+	+	+
Saponin	+	-	-	+
Tanin	-	-	-	-
Triterpenoid	+	+	+	+
Steroid	-	-	-	-

Keterangan: (+) Terdapat senyawa, (-) Tidak terdapat senyawa

Proses selanjutnya adalah skrining fitokimia pada sampel rimpang Jeringau (*Acorus calamus L.*). Pengujian fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada rimpang Jeringau secara kualitatif. Pada penelitian ini pengujian fitokimia dilakukan pada golongan senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, steroid, dan triterpenoid. Hasil

pengujian fitokimia rimpang Jeringau ditunjukkan pada Tabel 4.2.

4.3.1 Uji Flavonoid

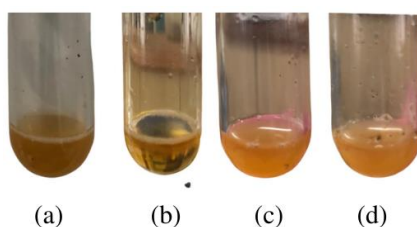


Gambar 4.5 Dugaan reaksi uji flavonoid (Nugrahani, 2016)

Pengujian golongan senyawa flavonoid dilakukan pada rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) dilakukan pada masing-masing fraksi air, *n*-heksana, etil asetat dan ekstrak kasar etanol. tahapan Pengujian ini dilakukan yang pertama menambahkan metanol panas. Penambahan metanol panas ini bertujuan untuk memaksimalkan pelarutan flavonoid. Kemudian ditambahkan dengan HCl pekat yang bertujuan untuk menghidrolisis senyawa flavonoid menjadi aglikonnya, dengan cara menghidrolisis O-glikosil. Hasil positif golongan senyawa flavonoid ditandai dengan terjadinya perubahan warna menjadi merah, kuning, atau jingga (Harborne, 1987). Perubahan warna ini disebabkan hasil reduksi yang dilakukan oleh logam Mg dan HCl pada inti benzopiron. Inti benzopiron terdapat pada struktur senyawa flavonoid (Ergina, dkk., 2014). Hasil reduksi tersebut menghasilkan garam benzopirilium (garam flavilium) yang memiliki warna kuning, merah, atau jingga (Sastrohamidjojo, 1996). Adapun dugaan reaksi flavonoid dengan logam Mg dan

HCl pekat ditampilkan pada Gambar 4.5.

Berdasarkan Tabel 4.2 hasil pengujian flavonoid didapatkan hasil positif pada fraksi air, *n*-heksana, etil asetat dan ekstrak kasar etanol. Hasil positif ini ditunjukkan pada perubahan warna yang terjadi ketika ditambahkan logam Mg dan HCl pekat. Fraksi air, *n*-heksana dan ekstrak kasar etanol berubah warna menjadi jingga. Sedangkan fraksi etil asetat berubah warna menjadi kuning. Ekstrak etanol rimpang Jeringau positif senyawa flavonoid (Anisah, dkk. 2014). Menurut Saman (2013) juga melaporkan bahwasannya senyawa flavonoid positif pada fraksi air, *n*-heksana, dan etil asetat rimpang Jeringau. Adapun hasil pengujian golongan senyawa flavonoid ditunjukkan pada Gambar 4.6.



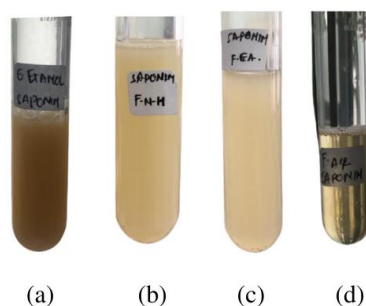
Gambar 4.6 Hasil uji flavonoid ekstrak etanol (a), fraksi air (b), fraksi etil asetat (c), fraksi *n*-heksana (d)

Senyawa flavonoid pada umumnya bersifat polar karena merupakan senyawa polihidroksil yaitu memiliki lebih dari satu gugus hidroksil (Harborne, 1987). Namun pada penelitian ini fraksi *n*-heksana yang bersifat non polar juga positif senyawa flavonoid. Hal ini disebabkan oleh beberapa senyawa flavonoid seperti *isoflavan*, *flavon*, *flavonol*, dan *flavonon* yang termetoksilasi sehingga cenderung lebih mudah larut pada pelarut non polar (Doloksaribu, 2009). Pelarut etil asetat juga dapat melarutkan senyawa flavonoid dengan tingkat kepolaran

rendah (Markham, 1988).

4.3.2 Uji Saponin

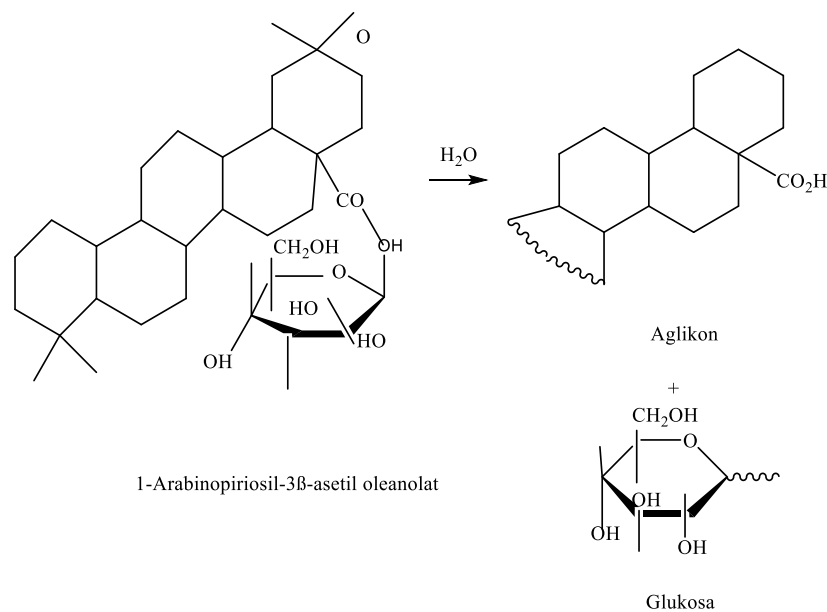
Pengujian golongan senyawa saponin pada rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) dilakukan menggunakan aquades kemudian dikocok. Selanjutnya jika terbentuk busa maka ditambahkan HCl bertujuan untuk kestabilan busa yang terbentuk. Hasil positif senyawa saponin ditunjukkan pada terbentuknya busa. Busa yang dihasilkan disebabkan oleh terbentuknya misel ketika ditambahkan *aquades* dan dilakukan pengocokan. Saponin memiliki gugus hidrofilik dan hidrofobik. Gugus hidrofilik akan berikatan dengan air, sedangkan gugus hidrofobik akan bergerak menjauhi air sehingga terbentuk busa (Kristanti, 2007). Adapun hasil pengujian golongan senyawa saponin ditunjukkan pada Gambar 4.7.



Gambar 4.7 Hasil uji saponin ekstrak etanol (a), fraksi *n*-heksana (b), fraksi etil asetat (c), fraksi air (d)

Berdasarkan Tabel 4.2 didapatkan hasil uji senyawa saponin positif pada fraksi air dan ekstrak kasar etanol. Hasil ini ditunjukkan pada terbentuknya busa stabil pada hasil pengujian. Sedangkan fraksi *n*-heksana dan etil asetat tidak terbentuk busa yang stabil sehingga dipastikan negatif senyawa saponin. Berdasarkan penelitian terdahulu senyawa saponin positif pada ekstrak metanol,

fraksi air, fraksi etil asetat, (Srividya, dkk., 2014). Senyawa saponin memiliki gugus glikosil yang berfungsi sebagai gugus polar, serta gugus steroid sebagai gugus non polar (Sangi, dkk., 2008). Menurut Saman (2013) fraksi air dan ekstrak kasar metanol positif golongan senyawa saponin. Adapun dugaan reaksi uji saponin ditampilkan pada Gambar 4.8.

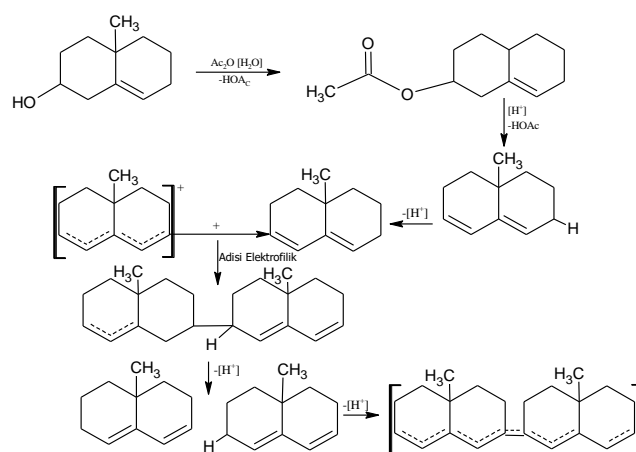


Gambar 4.8 Dugaan reaksi uji saponin (Illing, dkk., 2017)

4.3.3 Uji Steroid dan Triterpenoid

Pengujian golongan senyawa steroid dan triterpenoid dilakukan menggunakan reagen Lieberman-Burchard yaitu dengan campuran kloroform, asam asetat glasial, dan asam sulfat. Hasil positif pengujian senyawa steroid ditandai dengan terbentuknya warna hijau, hijau kebiruan, atau biru. Sedangkan hasil positif pada senyawa triterpenoid ditandai dengan terbentuknya warna merah, ungu, kuning, jingga, cincin kecoklatan pada perbatasan dua pelarut (Lestari, 2012). Perubahan warna tersebut disebabkan terbentuknya karbokation dari atom C

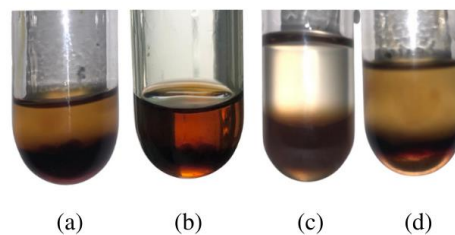
anhidrida, yang dihasilkan oleh reaksi asam sulfat dengan anhidrida asetat. Sehingga karbokation bereaksi dengan atom O dalam gugus -OH pada senyawa triterpenoid. Reaksi yang berlangsung merupakan reaksi esterifikasi yaitu pembentukan senyawa ester yang berasal dari senyawa triterpenoid dengan anhidrida asetat (Latifah, 2015). Adapun dugaan reaksi uji triterpenoid ditunjukkan pada Gambar 4.9.



Gambar 4.9 Dugaan reaksi uji steroid dan triterpenoid (Habibi, dkk., 2018)

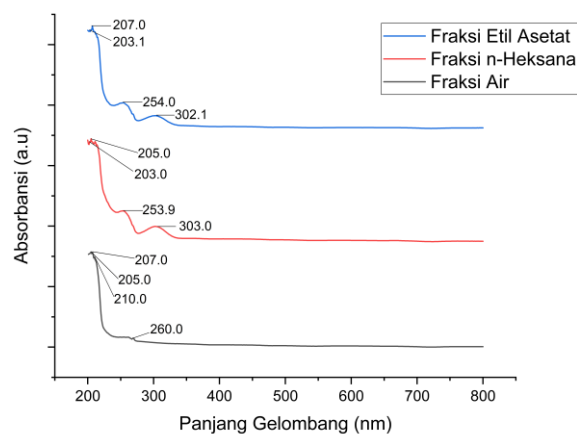
Berdasarkan hasil yang dirangkum pada Tabel 4.2 dapat diketahui bahwa pada fraksi air, *n*-heksana, etil asetat, dan ekstrak kasar etanol rimpang Jeringau positif golongan senyawa triterpenoid. Hal itu ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi jingga dan terbentuknya cincin kecoklatan di antara 2 pelarut (Lampiran L.8.5.3). Dugaan reaksi uji senyawa triterpenoid ditampilkan pada Gambar 2.11. Muhridja (2016) menyatakan bahwasannya ekstrak kasar metanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi metanol-air menunjukkan positif senyawa triterpenoid dengan perubahan warna merah kecoklatan. Menurut Saman (2013) melaporkan bahwa fraksi air, *n*-heksana, etil asetat, dan ekstrak kasar

metanol rimpang Jeringau positif senyawa triterpenoid dengan perubahan warna menjadi merah bata. Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwasannya fraksi etil asetat, fraksi air dan ekstrak etanol rimpang Jeringau juga positif senyawa triterpenoid (Srividya, dkk., 2014). Golongan senyawa triterpenoid memiliki gugus bagian polar dan non polar. Susunan rantai panjang hidrokarbon C_{30} yang menjadikan senyawa triterpenoid bersifat non polar, sedangkan gugus hidroksi yang menyebabkan bersifat polar (Taofik, dkk., 2010). Adapun hasil pengujian golongan senyawa saponin ditunjukkan pada Gambar 4.10.



Gambar 4.10 Hasil uji saponin ekstrak etanol (a), fraksi air (b), fraksi etil asetat (c), fraksi *n*-heksana (d)

4.4 Identifikasi Senyawa Menggunakan Spektroskopi UV-Vis



Gambar 4.11 Hasil spektrum UV-Vis masing-masing fraksi

Identifikasi senyawa menggunakan spektroskopi UV-Vis dilakukan pada fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dengan panjang gelombang 200-800 nm. Adapun spektrum yang dihasilkan pada air, *n*-heksana, dan etil asetat ditunjukkan pada Gambar 4.11.

Berdasarkan hasil identifikasi dengan spektroskopi UV-Vis dapat diketahui masih terdapat banyak serapan panjang gelombang yang dihasilkan dari fraksi air, *n*-heksana, maupun etil asetat rimpang Jeringau. Merujuk hasil pengujian fitokimia didapatkan hasil fraksi air positif golongan senyawa flavonoid, saponin, dan triterpenoid. Sedangkan fraksi *n*-heksana dan etil asetat positif golongan senyawa flavonoid dan triterpenoid. Selain itu juga tidak menutup kemungkinan terdapat senyawa yang lain.

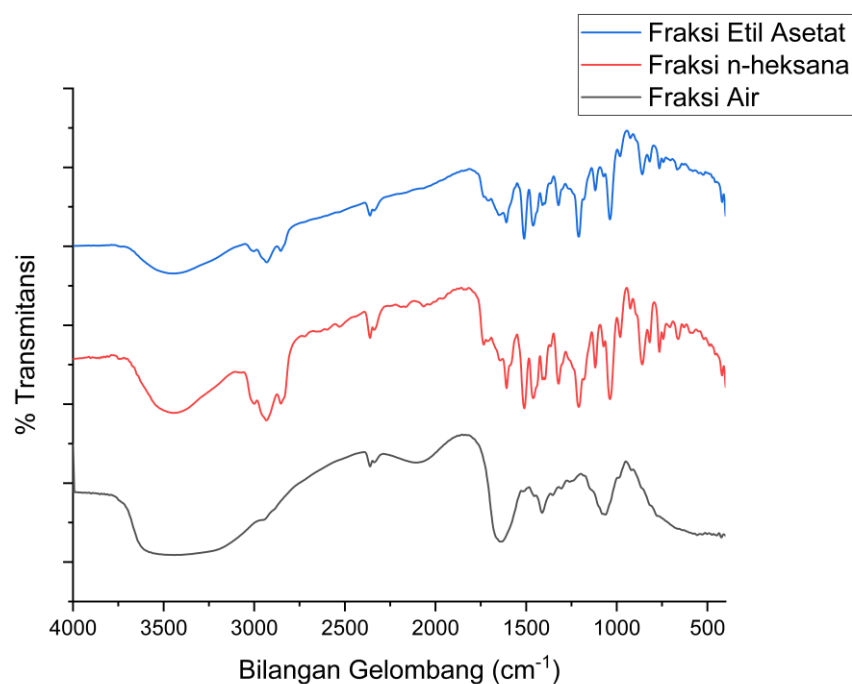
Hasil spektrum pada Gambar 4.11 diatas menunjukkan fraksi air, *n*-heksana, dan etil asetat masing-masing terdapat serapan pada panjang gelombang 269, 253, dan 254 nm dengan transisi elektron $\pi \rightarrow \pi^*$. Kemudian juga terdapat serapan pada panjang gelombang 302 nm dan 303 nm dengan transisi elektron $n \rightarrow \pi^*$. Menurut Markham (1998) golongan senyawa flavonoid memiliki 2 pita serapan yaitu 245-280 nm pada pita I dengan transisi elektron $\pi \rightarrow \pi^*$ dan $n \rightarrow \pi^*$ akibat adanya kromofor C=C dan C=O dari gugus aromatik yang terkonjugasi. Serta pita II pada panjang gelombang 300-560 nm dengan transisi elektron yang tidak berikatan ke orbital anti ikatan $n \rightarrow \pi^*$ oleh suatu gugus C=O terkonjugasi (Sastrohamidjojo, 1991). Hasil ini didukung dengan penelitian Muhridja (2016) yang telah mengidentifikasi isolat senyawa flavonoid dari rimpang Jeringau didapatkan panjang gelombang 304 nm dengan transisi elektron $n \rightarrow \pi^*$ dan panjang gelombang 253.76 nm dengan transisi elektron $\pi \rightarrow \pi^*$. Golongan senyawa flavonoid yang

memiliki serapan panjang gelombang pita I 250-270 nm dan pita II pada panjang gelombang 300 nm merupakan senyawa flavonol (Harborne, 1987).

Serapan UV-Vis lainnya yang dihasilkan oleh fraksi air yaitu 207 nm dan 205 nm, fraksi *n*-heksana pada 205 nm dan 203 nm, serta fraksi etil asetat 207 nm dan 203 nm (Gambar 4.11). Menurut Astuti, dkk. (2014) Golongan senyawa triterpenoid memiliki serapan khas dengan transisi elektron $\pi \rightarrow \pi^*$, akibat adanya kromofor berupa ikatan rangkap C=C yang tak terkonjugasi (Creswell, 1982). Hasil ini didukung dengan penelitian yang dilakukan oleh Awang, dkk., (2012) mengidentifikasi senyawa triterpenoid dari daun Pacar cina (*Aglaia eximai*) didapatkan serapan pada panjang gelombang 208 nm dengan transisi elektron $\pi \rightarrow \pi^*$. Selain itu penelitian yang dilakukan oleh Hartini, dkk. (2012) telah mengidentifikasi senyawa triterpenoid dari daun Ketapang Kencana (*Terminalia Muellieri* Benth) didapatkan serapan pada panjang gelombang 204 nm.

Berdasarkan Gambar 4.11 fraksi air juga memiliki serapan pada panjang 210 nm dengan transisi elektron $\pi \rightarrow \pi^*$. Menurut penelitian yang dilakukan Rachman, dkk. (2015) telah mengidentifikasi isolat senyawa saponin ekstrak etanol daun Binahong menghasilkan serapan pada panjang gelombang 211 nm. Minarno (2016) telah mengidentifikasi senyawa saponin pada tanaman Karika menghasilkan serapan pada panjang gelombang 209 nm. Golongan senyawa saponin memiliki transisi elektron $\pi \rightarrow \pi^*$ akibat adanya ikatan rangkap C=C yang tidak terkonjugasi (Suharto, dkk., 2012).

4.5 Identifikasi Senyawa Menggunakan Spektroskopi IR



Gambar 4.12 Hasil spektrum Fraksi masing-masing fraksi

Tabel 4.3 Hasil spektrum FTIR masing-masing fraksi

Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)			Pustaka	Gugus Fungsi
Fraksi air	Fraksi n-heksana	Fraksi etil asetat	(Socrates, 1994)	
3439,148	3445,268	3439,148	3580-3200	OH <i>stretching</i>
-	2932,764	2931,396	2940-2915	Csp ³ -H <i>stretching asym</i>
-	2853,274	-	2870-2840	Csp ³ -H <i>stretching sym</i>
-	1733,730	-	1745-1715	C=O <i>Stretching</i>
1639,385	1641,418	1648,446	1680-1620	C=C <i>stretching non konjugasi</i>
-	1608,303	1609,265	1625-1590	C=C aromatik
-	1510,440	1511,005	1525-1470	
-	1461,084	1461,234	1480-1440	C-H pada CH ₃ <i>bending</i>
1412,059	1408,856	1409,456	1420-1400	C-H pada CH ₂ <i>bending</i>
-	1209,364	1210,094	1260-1180	C-O <i>stretching</i> fenol
-	1118,493	1118,388	1125-1085	C-O <i>stretching</i> alkohol sekunder
1062,873	1037,700	1037,514	1300-1000	C-O <i>stretching</i> eter
-	859,274	859,005	1000-800	=C-H <i>bending</i> (alkena)
-	764,663	764,699	900-650	C-H aromatik
-	581,153	-	600-420	C-H <i>bending (out of plane)</i>

Identifikasi senyawa menggunakan spektroskopi IR bertujuan untuk mengetahui gugus-gugus fungsional yang terdapat senyawa rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.). adapun spektrum yang dihasilkan dari fraksi air, *n*-heksana, dan etil asetat ditunjukkan pada Gambar 4.12.

Berdasarkan Tabel 4.3 dan Gambar 4.12 serapan yang dihasilkan pada fraksi air memiliki gugus fungsi OH *stretching*, C=C nonkonjugasi, C-H *bending* alifatik, dan C-O *stretching*. Kemudian pada fraksi *n*-heksana memiliki gugus fungsi OH *stretching*, Csp³-H *stretching*, Csp²-H *stretching*, C=C nonkonjugasi, C=C aromatik, C-H *bending* alifatik, C-O *stretching*, =C-H *bending* (alkena), C-H aromatik, dan C-H *bending* (*out of plane*). Serapan yang dihasilkan oleh fraksi etil asetat memiliki gugus fungsi OH *stretching*, Csp³-H *stretching*, C=C nonkonjugasi, C=C aromatik, C-H *bending* alifatik, C-O *stretching*, =C-H *bending* (alkena), dan C-H aromatik. Hasil yang didapatkan dari identifikasi FTIR masing-masing fraksi memiliki perbedaan serapan diduga adanya perbedaan tingkat kepolaran masing-masing fraksi sehingga jenis senyawa yang terkandung didalamnya berbeda.

Merujuk hasil penelitian fitokimia fraksi air rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) positif golongan senyawa flavonoid dan triterpenoid. Sedangkan pada fraksi *n*-heksana dan etil asetat rimpang Jeringau positif golongan senyawa flavonoid dan triterpenoid. Selain itu juga tidak menutup kemungkinan terdapat senyawa lain yang terkandung pada fraksi rimpang Jeringau salah satunya adalah minyak atsiri (Melani, 2018). Minyak atsiri pada rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) terdapat banyak komponen penyusunnya seperti *methyl trans-isoeugenol*, *cyclohexane*, *cis-asarone*, *isocalammendiol*, *eusarone*, dan β -*asarone*

(Nadi, dkk., 2018). Kandungan minyak atsiri rimpang Jeringau yang paling banyak yaitu β -asarone dengan 59,02% (Effendi dan Widjanarko, 2014).

Menurut Sya'diyah, dkk. (2014) yang telah mengidentifikasi senyawa kandungan minyak atsiri yaitu β -asarone rimpang Jeringau menggunakan FTIR. Didapatkan hasil serapan pada bilangan 2923 cm^{-1} dan 2854 cm^{-1} oleh gugus C-H *stretching* alkana yang didukung dengan gugus C-H *bending* pada daerah 1460 cm^{-1} . Kemudian pada daerah 1608 cm^{-1} oleh gugus C=C *stretching* dan 1509 cm^{-1} oleh gugus C=C aromatik. Terdapat gugus C-H *bending* pada daerah 1373 dan 765 cm^{-1} . Pada daerah serapan 1077 dan 1042 cm^{-1} oleh gugus C-O. Hasil ini diperkuat dengan identifikasi menggunakan GC-MS menghasilkan peak m/e 208 yang mengindikasikan berat senyawa β -asarone. Berdasarkan hasil spektrum FTIR fraksi *n*-heksana dan etil asetat tidak jauh berbeda dengan penelitian Sya'diyah, dkk. (2014) sehingga dimungkinkan terdapat senyawa kandungan minyak atsiri yaitu β -asarone pada fraksi *n*-heksana dan etil asetat. Sedangkan pada fraksi air tidak menghasilkan serapan yang sama karena memiliki tingkat kepolaran yang sangat tinggi.

4.6 Uji Toksisitas Fraksi Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.)

Pengujian toksisitas diawali dengan tahapan penetasan larva udang *Artemia salina leach*. Penetasan larva udang *Artemia salina leach* dilakukan dengan cara dicampurkan dengan air laut. Setelah dicampurkan kemudian diaerasi selama 48 jam dengan penerangan lampu pijar. Proses aerasi dilakukan dengan tujuan mencukupi kadar oksigen guna keberlangsungan hidup larva udang *Artemia salina leach*. Pemberian cahaya lampu bertujuan sebagai penghangat suhu dan penerangan

saat proses penetasan larva udang *Artemia salina leach*. Selain itu pencahayaan dengan lampu ini bertujuan untuk menetasakan larva udang *Artemia salina leach* dengan cara memberi rangsangan, karena larva udang *Artemia salina leach* termasuk organisme fototropik. Penetasan larva udang *Artemia salina leach* dilakukan selama 48 jam, larva udang *Artemia salina leach* yang telah berumur 48 sudah memiliki organ penting pencernaan, sehingga dapat mencerna air laut dan senyawa yang terdapat di dalam sampel uji.

Uji toksisitas merupakan tahapan awal untuk mengetahui efek toksik senyawa aktif rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.). Pengujian ini dapat digunakan sebagai penentuan kemampuan bioaktivitas senyawa berdasarkan nilai LC₅₀ yang dihasilkan seperti antioksidan, antibakteri, antimikroba, maupun antikanker. Uji toksisitas pada penelitian ini menggunakan metode BSLT. Pada penelitian ini sampel yang diujikan yaitu fraksi air, *n*-heksana, dan etil asetat rimpang Jeringau. Larutan uji yang digunakan sebesar 5, 10, 15, 20, 25, dan 50 ppm. Larutan kontrol menggunakan DMSO dan pelarut yang bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh terhadap kematian larva udang *Artemia salina leach*. Penambahan DMSO ini bertujuan sebagai surfaktan yaitu melarutkan senyawa kedalam air laut. DMSO memiliki ujung hidrofobik serta hidrofilik. Struktur DMSO terdiri dari ikatan S=O yang bersifat polar dan 2 alkil CH₃ yang bersifat nonpolar (Khasanah, 2018).

Larutan uji dan kontrol dilakukan penambahan larutan ragi yang bertujuan untuk memberi makanan larva udang *Artemia salina leach* agar tidak mati karena kelaparan. Masing-masing larutan uji dilakukan pengulangan sebanyak 5 kali. Larutan uji dan kontrol ditambahkan 10 ekor larva udang *Artemia salina leach* dan

air laut kemudian dilakukan pengamatan kematian larva udang *Artemia salina leach* setelah 1x24 jam. Adapun hasil uji toksisitas fraksi air, *n*-heksana, dan etil asetat rimpang Jeringau ditunjukkan pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4. Hasil uji toksisitas masing-masing fraksi

Konsentrasi (ppm)	Modus larva udang yang mati (ekor)		
	Fraksi <i>n</i> -Heksana	Fraksi Etil asetat	Fraksi Air
0*	0	0	0
0**	0	0	0
5	0	0	0
10	0	0	1
15	0	1	2
20	1	2	2
25	2	2	3
50	10	6	4

Keterangan: 0* kontrol pelarut
0** kontrol DMSO

Berdasarkan Tabel 4.4 didapatkan nilai modus kematian larva udang *Artemia salina leach* pada fraksi air, *n*-heksana, etil asetat dan kontrol. Nilai modus merupakan nilai yang sering muncul dari kematian larva udang *Artemia salina leach* pada masing-masing konsentrasi dengan 5 kali pengulangan. Hasil uji larutan kontrol didapatkan tidak ada kematian pada larva udang *Artemia salina leach* yang artinya tidak berpengaruh penggunaannya pada proses pengujian. Sedangkan fraksi air, *n*-heksana, dan etil asetat dimulai dari konsentrasi 10, 20, dan 15 ppm secara berturut-turut dapat menyebabkan kematian larva udang *Artemia salina leach*. data modus kematian larva udang *Artemia salina leach* yang ditunjukkan pada Tabel 4.4 dapat digunakan untuk menentukan nilai mortalitas.

Nilai mortalitas merupakan ukuran kematian dalam suatu populasi larva udang *Artemia salina leach* akibat senyawa yang terkandung pada rimpang

Jeringau. Nilai mortalitas digunakan untuk penentuan nilai LC_{50} dengan analisis probit menggunakan software Minitab 18. Adapun nilai LC_{50} yang dihasilkan dari fraksi air, *n*-heksana, dan etil asetat rimpang Jeringau ditunjukkan pada Tabel 4.5.

Tabel 4.5 Nilai LC_{50} masing-masing fraksi

Sampel	Nilai LC_{50} (ppm)
Fraksi Air	58,3879
Fraksi <i>n</i> -Heksana	28,9017
Fraksi Etil asetat	41,1556

Berdasarkan Tabel 4.4 didapatkan nilai LC_{50} fraksi air sebesar 58,3879 ppm, fraksi *n*-heksana sebesar 28,9017 ppm, dan fraksi etil asetat sebesar 41,1556 ppm. Menurut penelitian oleh Suwandi dan Supriyanto (2018) yang telah melakukan uji toksisitas ekstrak kasar *n*-heksana dan metanol rimpang Jeringau didapatkan nilai LC_{50} sebesar 128,2921 dan 242,7169 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa hasil hidrolisis dan partisi rimpang Jeringau cenderung lebih toksik daripada ekstrak kasar rimpang Jeringau.

Ketoksikan suatu senyawa dapat ditentukan dengan nilai LC_{50} yang dihasilkan. LC_{50} merupakan nilai kemampuan suatu senyawa yang dapat menyebabkan kematian dari 50% hewan uji. Tingkat toksisitas dapat di kategorikan menjadi 3 bagian yaitu kategori tidak toksik memiliki nilai $LC_{50} > 1000$ ppm, kategori toksik memiliki nilai LC_{50} 30-1000 ppm, dan sangat toksik dengan nilai $LC_{50} < 30$ ppm. Nilai LC_{50} yang dihasilkan pada fraksi air, *n*-heksana, dan etil asetat kurang dari 1000 ppm sehingga dapat dikategorikan toksik. Sampel uji yang menghasilkan nilai $LC_{50} < 30$ ppm berpotensi sebagai antikanker (Meyer, 1982). Sedangkan sampel uji yang menghasilkan nilai LC_{50} 30-200 ppm berpotensi sebagai

antibakteri (McLaughlin, dkk., 1991). Fraksi *n*-heksana memiliki nilai LC_{50} paling rendah yaitu 28,9017 ppm termasuk kategori sangat toksik dan berpotensi sebagai antikanker. Fraksi air dan etil asetat menghasilkan nilai LC_{50} 58,3879 dan 41,1556 ppm termasuk kategori toksik berpotensi sebagai antibakteri. Hasil ini didukung dengan penelitian tentang uji antibakteri rimpang Jeringau pada ekstrak air menghasilkan zona hambat pada pertumbuhan *Staphylococcus aureus* sebesar 2,75 cm (Anisah, 2014), fraksi etil asetat 0,74 cm (Irwan, 2017).

Kematian larva udang *Artemia salina leach* disebabkan oleh fungsi-fungsi senyawa yang terkandung pada rimpang Jeringau sebagai *antifeedant* atau menghambat daya makan larva udang *Artemia salina leach*. Mekanisme senyawa rimpang Jeringau yaitu bertindak sebagai *stomach poisoning* (racun perut) sehingga dapat merusak sistem pencernaan pada larva udang *Artemia salina leach*. Selain itu juga senyawa-senyawa tersebut dapat menghambat sistem reseptor pada indera perasa sehingga dapat menyebabkan larva udang *Artemia salina leach* gagal mendapatkan stimulan rasa dan mengenali makanannya (Kurniawan dan Ropiqa, 2021).

Fraksi *n*-heksana menghasilkan nilai LC_{50} sebesar 28,9017 ppm lebih toksik dibandingkan dengan fraksi etil asetat dan air. Hal ini didukung dengan hasil identifikasi spektroskopi FTIR pada fraksi *n*-heksana terdapat gugus hidroksil OH pada daerah $3445,268\text{ cm}^{-1}$. Serta gugus karbonil C=O pada bilangan gelombang $1733,730\text{ cm}^{-1}$ diperkuat dengan hasil spektrum UV-Vis yang menghasilkan panjang gelombang 303 nm dengan transisi elektron elektron $n \rightarrow \pi^*$. Sedangkan fraksi air memiliki nilai LC_{50} sebesar 58,3879 ppm lebih tidak toksik dibandingkan dengan fraksi *n*-heksana dan etil asetat. Hasil ini didukung dengan identifikasi

spektroskopi FTIR pada fraksi air hanya terdapat gugus hidroksil OH pada daerah 3445,268 cm^{-1} namun tidak terdapat gugus karbonil C=O diperjelas dengan tidak adanya serapan pada spektrum UV-Vis dengan transisi $n \rightarrow \pi^*$.

Senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada rimpang Jeringau menghambat enzim RNA *polymerase* yang mengakibatkan tidak terjadinya proses sintesis protein (Birndorf, dkk., 1975). Gugus fungsi yang ada pada rimpang Jeringau dapat memecah dapat memecah interaksi hidrofobik, ikatan garam, dan ikatan hidrogen pada protein seperti gugus karbonil dan hidroksil sehingga menyebabkan denaturasi protein. Proses denaturasi pada protein integral menyebabkan terganggunya proses transport ion oleh Na^+/K^+ , sehingga mengakibatkan tidak terkendalinya proses pemasukan ion Na^+ dan pengeluaran ion K^+ . Tidak terkendalinya proses transport ion Na^+/K^+ ini menyebabkan pembengkakan hingga pecahnya sel, dan mengakibatkan kematian pada larva udang *Artemia Salina leach* (Rio, dkk., 2016). Adanya perbedaan gugus fungsi yang dimiliki fraksi *n*-heksana terhadap fraksi air dan etil asetat menyebabkan tingkat ketoksikan fraksi *n*-heksana meningkat.

Berdasarkan hasil uji fitokimia masing-masing fraksi terdapat golongan senyawa flavonoid, saponin, dan triterpenoid untuk fraksi air. Sedangkan golongan senyawa flavonoid dan triterpenoid untuk fraksi *n*-heksana dan etil asetat. Selain golongan senyawa hasil fitokimia yang positif juga terdapat kemungkinan senyawa lain yang ada pada masing-masing fraksi. Salah satu kandungan lainnya tersebut adalah minyak atsiri dengan penyusun terbesarnya yaitu senyawa β -asarone dari hasil identifikasi spektrum FTIR. Perbedaan nilai LC_{50} yang dihasilkan oleh fraksi air, *n*-heksana, dan etil asetat dimungkinkan dengan kandungan senyawa yang sama

namun total kandungannya berbeda. Selain itu didalam masing-masing fraksi masih terdapat gabungan beberapa senyawa yang dapat memberikan efek berbeda-beda terhadap hewan uji. Efek tersebut dapat berupa efek antagonis (saling berlawanan) bisa menurunkan kemampuan toksiknya, efek sinergis (saling mendukung) bisa meningkatkan kemampuan toksiknya, atau netral (Trianto, dkk., 2004).

4.7 Pemanfaatan Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) dalam Perspektif Islam

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لآيَاتٍ لِأُولِي الْأَلْبَابِ.
الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَامًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ
وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَاطِلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ

“Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal. (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): “Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha Suci Engkau, maka peliharalah kami dari siksa neraka.”(Q.S Ali ‘Imron 190-191)

Ilmu pengetahuan yang berkembang luas berkaitan erat dengan segala penciptaan Allah Swt. didunia ini. Segala sesuatu yang Allah Swt. ciptakan dapat bermanfaat bagi kehidupan manusia dan tidaklah ada yang sia-sia. Sebagaimana firman Allah Swt. dalam al-Qur’an surat Ali ‘Imron ayat 190-191. Menurut tafsir *Al-Mukhtashar* Allah Swt. memerintahkan untuk merenungkan penciptaan langit dan bumi dan pergantian siang dan malam dalam kondisi apapun sebagai tanda-tanda keagungan dan keesaan Allah Swt. yaitu Tanda-tanda keagungan dan keesaan Allah Swt. dapat dilihat oleh orang-orang yang berdzikir dan mau menggunakan akalinya untuk berfikir yaitu *ulul albab* (Al-Qurthubi, 2008). *Ulul albab* merupakan orang-orang yang mampu menggunakan akal untuk berfikir secara bersih sehingga

mendapatkan hakikat yang benar (Ar-Rifa'i, 1999). Dalam penelitian ini menginterpretasikan dari ayat tersebut yaitu dengan memanfaatkan akal pikiran untuk memikirkan ciptaan Allah Swt. yang tidak sia-sia salah satunya tumbuhan Jeringau (*Acorus calamus* L.).

Tumbuhan yang telah diciptakan Allah Swt. di bumi ini memiliki kebermanfaat bagi kehidupan manusia salah satunya adalah rimpang Jeringau. Manfaat yang dihasilkan oleh tumbuhan ini telah dijelaskan sebagaimana firman Allah Swt. dalam al-Qur'an surat Luqman ayat 10.

خَلَقَ السَّمَوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرَوْنَهَا وَالْأَرْضَ فِي أَلْفَي فِي الْأَرْضِ رُوسَى أَنْ تَمِيدَ بِكُمْ وَبَثَّ فِيهَا
مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ وَأَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

“Dia menciptakan langit tanpa tiang yang kamu melihatnya dan Dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan) bumi supaya itu tidak menggoyangkan kamu; dan memperkembangbiakkan segala macam jenis binatang. Dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik. (QS. Luqman: 10)

Menurut tafsir oleh Kementrian Agama RI (2006) bahwasannya Allah Swt. telah menunjukkan tanda dan bukti kekuasaannya di alam ini. Allah Swt. telah menciptakan gunung-gunung di permukaan bumi yang dapat dilihat oleh manusia agar bumi tidak berguncang dan stabil. Allah Swt. menurunkan air hujan dari langit yang membasahi permukaan bumi sehingga menumbuhkan berbagai macam jenis tumbuhan yang baik. Tumbuhan yang baik merupakan tumbuhan yang dapat dimanfaatkan bagi kehidupan salah satunya sebagai obat. Rimpang Jeringau merupakan salah satu tumbuhan yang diciptakan Allah Swt. dengan berbagai manfaat di dalamnya.

Manfaat tersebut tidak lepas dari kandungan yang dimiliki oleh rimpang

Jeringau. Pada penelitian fraksi air mengandung golongan senyawa flavonoid, saponin, dan triterpenoid. Sedangkan fraksi *n*-heksana dan etil asetat mengandung golongan senyawa flavonoid dan triterpenoid. Kandungan senyawa pada rimpang Jeringau memiliki kemampuan sebagai antioksidan (Hasan, 2015), antimikroba (Irwan, 2017), dan antiinflamasi (Safrina, dkk., 2018). Pada penelitian ini menguji tingkat ketoksikan rimpang Jeringau fraksi air, *n*-heksana, dan etil asetat. Nilai LC₅₀ masing-masing fraksi berturut-turut sebesar 58,3879; 28,9017; dan 41,1556 ppm yang menggambarkan bioaktivitas rimpang Jeringau dapat dimanfaatkan sebagai antikanker dan antibakteri. Sebagaimana sabda Nabi Muhammad SAW. Dalam hadits yang diriwayatkan oleh Muslim yang berbunyi

لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ، فَإِذَا أُصِيبَ دَوَاءُ الدَّاءِ بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ

“Semua penyakit ada obatnya. Apabila sesuai antara obat dan penyakitnya, maka (penyakit) akan sembuh dengan izin Allah Swt. (HR.Muslim)

Berdasarkan hadits riwayat Muslim dapat dijelaskan bahwasannya semua penyakit pasti ada obatnya. Artinya Allah Swt. menurunkan segala penyakit tidak lain juga menciptakan obatnya. Kewajiban kita sebagai umat muslim untuk berikhtiar dalam menemukan obatnya dengan akal pikiran sebagaimana yang dijelaskan pada al-Qur’an surat Ali-Imron ayat 190-191 diatas. Hasil yang diperoleh dari penelitian ini menunjukkan bahwasannya Allah Swt. telah menciptakan segala sesuatunya tanpa ada sia-sia. Hal ini merupakan tanda-tanda keagungan dan kebesaran Allah Swt. Lebih baiknya kita sebagai manusia ciptaan Allah Swt. senantiasa berfikir secara jernih terhadap segala sesuatu yang telah Allah Swt ciptakan.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah didapatkan, dapat disimpulkan bahwa:

- a. Fraksi air rimpang Jeringau positif golongan senyawa flavonoid, saponin, dan triterpenoid. Sedangkan fraksi *n*-heksana dan etil asetat rimpang Jeringau positif golongan senyawa flavonoid dan triterpenoid.
- b. Hasil uji toksisitas pada masing-masing fraksi ekstrak etanol rimpang Jeringau tergolong toksik yaitu dengan nilai LC_{50} sebesar 58,3879; 28,9017; 41,1556 berturut-turut untuk fraksi air, *n*-heksana, dan etil asetat.

5.2 Saran

- a. Hasil pengujian fitokimia pada masing-masing fraksi masih berupa skrining awal sehingga dapat dilakukan penelitian lebih lanjut dengan kromatografi lapis tipis (KLT).
- b. Berdasarkan hasil uji toksisitas pada fraksi air disarankan untuk menggunakan konsentrasi yang lebih tinggi.
- c. Hasil uji aktivitas rimpang Jeringau termasuk golongan toksik, terutama pada fraksi *n*-heksana. Disarankan untuk meneliti lebih lanjut dengan mengisolasi senyawa fraksi *n*-heksana untuk diuji toksisitas dan dilakukan identifikasi senyawa menggunakan LC-MS.

DAFTAR PUSTAKA

- Adhiatama, Irsan., Zainudin, Muhamad., dan Rokhati, Nur. 2012. Hidrolisis Kitosan Menggunakan Katalis Asam Klorida (HCl). *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri*, 1(1), 245-251.
- Afif, Sholeh., Fasya, Ahmad Ghanaim., dan Ningsih, Rachmawati. 2015. Extraction, Toxicity Assau and Identification of Active Compounds of Red Algae (*Eucheuma cottonii*) from Sumenep Madura. *Journal of Chemistry (Al-Chemy)*, 4(2), 101-106.
- Agromedia, Redaksi. 2008. *Buku Pintar Tanaman Obat*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Al-Qurthubi, S. I. 2008. *Terjemah Tafsir Al-Qurtubi*. Jakarta: Pustaka Azzam.
- Anam, Khoirul. 2015. Isolasi Senyawa Triterpenoid dari Alga Merah (*Eucheuma cottonii*) Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Analisisnya Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dan FTIR. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Anisah., Khotimah, Siti., dan Yanti, Ari Hepi. 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rimpang Jeringau (*Acorus Calamus L.*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Protobiont*, 3(3), 1-5.
- Ar-Rifai, Muhammad Nasib. 1999. *Tafsir Ibnu Katsir II*. Jakarta: Gema Insani.
- Association of Official Analytical Chemist (AOAC). 1984. *Official Methods*. Washington D. C: Association of Official Analytical.
- Astuti, Maria Dewi., Kuntorini, Evi Mintowati., dan Wisuda, Farah Eka Putri. 2014. Isolasi dan Identifikasi Terpenoid dari Fraksi n-Butanol Herba Lampasau (*Diplazium esculentum Swartz*). *Jurnal Kimia Valensi*, 4(1), 20-24.
- Awang, Khalijah., Loong, Xe-Min., Leong, Kok Hoong., Supratman, Unang., Litaudon, Marc., Mukhtar, Mat Ropi., Mohamad, Khalit. 2012. Triterpenes and Steroids From the Leaves of *Aglaia exima* (Meliaceae). *Journal of Fitoterapia*, 83(8), 1391-1395.
- Azizah, Laili Nur. 2016. Uji Toksisitas Isolat Steroid Hasil KLTP Fraksi Petroleum Eter Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol Alga Merah (*Eucheuma spinosum*). *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Azzahra, Laboney Velaylaty. 2015. Profil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak Etanol Rimpang Temu Mangga (*Curcuma mangga Val.*), Rimpang Jeringau (*Acorus calamus*), Umbi Bawang Putih (*Allium sativum*) dan Ramuannya. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

- Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM). 2014. *Kriteria dan Tata Laksana*
- Baidowi, Ahmad. 2017. Uji Aktivitas Antioksidan dan Identifikasi Awal Golongan Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Kasar Metanol dan *n*-Heksana Teripang *Holothuria atra* Pantai Wedi Ireng Banyuwangi. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Balakumbahan, Ramachandran., Rajamani, K., dan Kumanan, K. 2010. *Acorus calamus* An Overview. *Journal Of Medicinal Plants Research*, 4(25), 2740-2745.
- Birndorf, H., Dalesio, J., Bagshaw, J. 1975. DNA-dependent RNA-polymerases from *Artemia emboys* Characterization of Polymerases I and II from *Naupilus Lar vae*. *Development Biology*, 45(35), 29-35.
- Cahyono, Budi Achadi. 2004. *Keselamatan Kerja Bahan Kimia di Industri*. Yogyakarta: UGM Press.
- Creswell, J., Clifford, Runguist A., Olaf, Campbell M., Malcom. 1982. *Analisa Spektrum Senyawa Organik*. Bandung: ITB Bandung.
- Doloksaribu, Rianto. 2009. Isolasi Senyawa Flavonoid dari Daun Tumbuhan Harimonting (*Rhodomyrtus tomentosa W.Ait*). *Skripsi*. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Dusek, K., Galambosi, B., Heyhelyi, E. B., Korany, K., dan Karlova, K. 2004. Morphological and Chemical Variations of Sweet Flag (*Acorus calamus* L.) in the Czech and Finnish Gene Bank Collection. *Journal Horticultural Science*, 34(1), 17-25.
- Effendy. 2007. *Perspektif Baru Kimia Koordinasi*. Malang: Bayumedia Publishing
- Effendi, Violetta Prisca., dan Widjanarko, Simon Bambang. 2014. Distilasi dan Karakterisasi Minyak Atsiri Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) dengan Kajian Lama Waktu Distilasi dan Rasio Bahan : Pelarut. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 2(2), 1-8.
- Ergina., Nuryanti, Siti., dan Pursiasari, Indarini Dwi. 2014. Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder Pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) Yang Diekstraksi Dengan Pelarut Air Dan Etanol Qualitative Test of Secondary Metabolites Compounds in Palado Leaves (*Agave*). *Jurnal Akademika Kimia*, 3(3), 165–172.
- Fabriany, S. 2004. Pengaruh Beberapa Ekstrak Tunggal Bangle dan Gabungannya yang Berpotensi Meningkatkan Ativitas Enzim Lipase Secara In Vitro. *Skripsi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Fasya, Ahmad Ghanaim., Dinasti, Riska Anike., Shofiyah, Muharromatus., Rahmawati, Laili., Maghfiroh., Millati, Nuria., Safitri, Aulia Dany., Hanapi, Ahmad., dan Ningsih, Rahmawati. 2016. Ekstraksi, Hidrolisis, dan

- Partisi Metabolit Sekunder dari Mikroalga *Chlorella* sp. *Journal Alchemy*, 5(1), 5–9.
- Fatimah, Fitri. 2020. Uji Toksisitas Senyawa Steroid Hasil Kromatografi Kolom Basah Fraksi n-Butanol Ekstrak Metanol Alga Merah *Eucheuma cottonii* Dari Perairan Wongsorejo Banyuwangi. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Fessenden, dan Fessenden. 1986. *Kimia Organik*. Diterjemahkan Oleh A. H. Pudjaatmaka. Jakarta: Erlangga.
- Firnando, Hendri., Purwanti, Nera Umilia., dan Susanti, Ressi. 2019. Penetapan Kadar Total Fenolik dan Flavonoid Fraksi Butanol dan Fraksi Air dari Ekstrak Etanol Rimpang *Acorus* sp. *Jurnal Farmasi*, 3(1), 1-13.
- Garcia, J.L. Luque., dan Castro, De M. D Luque. 2004. Ultrasound-assisted Soxhlet Extraction: an Expeditive Approach for Solid Sample Treatment, Application to The Extraction of Total Fat from Oleaginous Seeds. *Journal Chromatography*, A1034(1-2), 237-242.
- Gholkar, Manasi S., Mulik, Mandar B., dan Laddha, Kirti S. 2012. Fate of β -asarone in Ayurvedic Sodhana process of Vacha. *Journal Ayurveda and Integrative Medicine*, 28(1), 19-22.
- Habibi, Ahmad Ikhwan., Firmansyah, R. Arizal., dan Setyawati, Siti Mukhlisoh. 2018. Skrinning Fitokimia Ekstrak n-Heksan Korteks Batang Salam (*Syzygium polyanthum*). *Indonesian Journal of Chemical Science*, 7(1), 1-4.
- Handayani, Hana., Sriherfyna, Feronika Heppy., dan Yunianta. 2016. Ekstraksi Antioksidan Daun Sirsak Metode Ultrasonic Bath (Kajian rasio Bahan: Pelarut dan Lama Ekstraksi). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 4(1), 262-272.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Hartati, Sri., Soemiati, Atiek., dan Eka, Irmawati. 2012. Isolasi β -asaron dari Rimpang Dringo (*Acorus calamus* L.) Serta Uji Aktivitas Antimikroba. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*, 8(2), 85.
- Hasan, Muhammad Nur. 2015. Pengaruh Ekstrak Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) dalam Beberapa Pelarut Organik Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Antifungi Secara *In Vitro*. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Hendayana, Sumar. 2006. *Kimia Pemisahan (Metode Kromatografi dan Elektroforesis Modern)*. Bandung: Rosda.
- Hendrajaya, Kusuma. 2003. Skrinning Fitokimia Limbang Rimpang Jeringau *Acorus calamus* L. yang Telah Terdestilasi Minyak Atsirin. *Prosiding*

- Seminar dan Pameran Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XXII*, 159-165.
- Illing, Ilmiati., Safitri, Wulan., dan Erfiana. 2017. Uji Fitokimia Ekstrak Buah Dengan. *Jurnal Dinamika*, 8(1), 66-84.
- Imam, Hasmar., Rias, Zanigar., Azhar, Mohd., Sofi, Ghulamuddin., dan Hussain, Azad. 2013. Sweet flag (*Acorus calamus* Linn.): an incredible medicinal herb. *International Journal of Green Pharmacy*, 7(4), 288-296.
- Irwan, Ayu Setiawati. 2017. Uji Aktivitas Antimikroba Hasil Fraksinasi Ekstrak Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) Terhadap Bakteri Patogen. *Skripsi*. Makassar: Universitas Islam Negeri Alaudin Makassar.
- Jayanegara, A., dan Sofyan, A. 2008. Penentuan Aktivitas Biologis Tanin Beberapa Hijauan Secara *in vitro* Menggunakan Hohenheim Gas Test dengan Polietilen Glikol Sebagai Determinan. *Journal Media Peternakan*, 31(1), 44-52.
- Kardinan, Agus., dan Taryono. 2004. *Tanaman Obat Penggempur Kanker*. Depok: Agro Media Pustaka.
- Kementrian Agama Republik Indonesia (KEMENAG RI). 2006. *Al-Qur'an dan Terjemahannya*. Bandung: Dipenogoro.
- Khasanah, Nur Fitriani. 2018. Uji Toksisitas Senyawa Aktif Fraksi *n*-Heksana, Klorofom, dan *n*-Butanol *Hydrilla verticillata* Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol dari Perairan Danau Ranu Pasuruan. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Khoiriyah, Siti., Hanapi, Ahmad., Fasya, Ahmad Ghanaim. 2014. Uji Fitokimia Dan Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat, Kloroform, Dan Petroleum Eter Ekstrak Metanol Alga Coklat *Sargassum vulgare* Dari Pantai Kapong Pamekasan Madura. *Jurnal of Chemistry (Al-Chemy)*, 3(2), 133-144.
- Kristanti, Alfinda Novi., Aminah, Nanik Siti., Tanjung, Mulyadi., dan Kurniadi, Bambang. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Kurniawan, Hadi., dan Ropiqa, Meri. 2021. Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Ekor Kucing (*Acalypha hispida* Burm.f.) Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Journal Syifa Science and Clinical Research*, 3(2), 52-62.
- Latifah. 2015. Identifikasi Golongan Senyawa Flavonoid dan Uji Akttivities Antioksidan pada Ekstrak Rimpang Kencur *Kaempferia galanga* L, dengan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil). *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Lenny, Sovia. 2006. *Senyawa Flavonoida, Fenil Propanoida, Alkaloida*. Medan:

Universitas Sumatera Utara Medan.

- Lestari, dan Edward. 2012. Dampak Pencemaran Logam Berat Terhadap Kualitas Air Laut dan Sumberdaya Perikanan. *Journal of Sceince*, 8(2), 52-58.
- Lubis, Lestiani. 2017. Karakterisasi dan Isolasi Senyawa Saponin dari Ekstrak Etanol Daun Situduh Langit (*Erigeron summatrensis Retz.*). *Skripsi*. Medan: Universitas Sumatera Utara Medan.
- Lutfillah, Mohamad. 2008. Karakterisasi Senyawa Alkaloid Hasil Isolasi dari Kulit Batang Angsret (*Spathoda campanulata Beauv*) serta Uji Aktivitasnya sebagai Antibakter secara In Vivo. *Skripsi*. Malang: Universitas Brawijaya.
- Majidah, Ba'itsatul. 2019. Uji Toksisitas Isolat Steroid Hasil Kromatografi Kolom Fraksi Etil Asetat Mikroalga *Chlorella* sp. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Mardiyah, Ulfatul., Fasya, Ahmad Ghanaim., Fauziyah, Begum., dan Amalia, Suci. 2014. Ekstraksi, Uji Aktivitas Antioksidan dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Alga Merah *Euclima spinosum* dari Perairan Banyuwangi. *Jurnal Alchemy*, 3(1), 9-46.
- Mariana, Lilik., Andayani, Yayuk., dan Gunawan, Erin Ryantin. 2013. Analisis Senyawa Flavonoid Hasil Fraksinasi Ekstrak Diklorometana Daun Keluwih (*Artocarpus camansi*). *Journal Chemistry Progress*, 6(2), 50-55.
- Markham, K. R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Marliana, Surya Dewi., Suryanti, Venty., dan Suyono. 2005. Skrinning Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. *Jurnal Biofarmasi*, 3(1), 26-31.
- McLaughlin, J.L., Chang, C. J., dan Smith, D. L. 1991. Bench-Top, Bioassay for The Discovery of Bioactive Natural Products, An Update, Natural Product Chemistry. Elsevier. Amsterdam.
- Melani, Dewi. 2018. Efektivitas Minyak Atsiri dan Limbah Rimpang Jeringau (*Acorus calamus Linnaeus*) Terhadap Aktivitas Larvasida Spodopteralitura Fabricius (*Lepidoptera: Noctuidae*), *Jurnal Agrosinta*, (1), 28-40.
- Meliala, Linta., Meliala, Dian Ika Perbina Br., Simamora, Pretty Uli Romaito., Lestari, Puji., dan Gultom, Evi Depiana. 2020. Uji Efektifitas Salep Ekstrak Etanol Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) pada Penyembuhan Luka Sayat. *Jurnal Penelitian Farmasi dan Herbal*, 3(1), 13-18.
- Meyer, L.H. 1982. *Food Chemistry*. California: The AVI Publishing Company Inc. 4.

- Minarno, Eka Budi. 2016. Analisis Kandungan Saponin pada Daun dan Tangkai Daun *Carica pubescens* Lenne & K. Koch. *Jurnal El-Hayan Biologi*, 5(4), 143-152.
- Muhridja, Melisa., Bialangi, Nurhayati., dan Musa, J. A. Weny. 2016. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Aktif Repellent Nyamuk dari Ekstrak Rimpang Jeringau (*Acorus calamus*). *Jurnal Entropi*, 11(2), 176-184.
- Mukhriani, Tetti. 2014 . Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*, 7(2), 361-367.
- Mulyono. 2006. *Kamus Kimia*. Jakarta: Bumi Aksara.
- Mustariani, Baiq Ayu Aprilia., Izuddin, Ahmad., Hasyim, Dadang Muhammad., dan Batubara, Irmanida. 2017. Uji Toksisitas dan Aktivitas Antimakan Ekstrak Rimpang Temu Hitam (*Curcuma Aeruginosa* ROXB). *Jurnal Farmasetis*, 6(1), 1-8.
- Nadi, Bambang Sisto., Ayu, Dewi Fortuna., dan Ali, Akhyar. 2018. Penambahan Minyak Atsiri Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) Sebagai Antibakteri Terhadap Karakteristik Sensori Sabun Transparan. *Jurnal Online Mahasiswa Fakultas Pertanian*, 5(1), 1-7.
- Nihlati, I'anatun., Rohman, Abdul., dan Hertiani, Triana. 2008. Daya Anitoksidan Ekstrak Etanol Rimpang Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata* (roxb) Schlechth) dengan Metode Penangkapan Radikal DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Skripsi*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.
- Ningsih, Dian Riana., Zufahir., dan Kartika, Dwi. 2016. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Serta Uji Aktivitas Ekstrak Daun Sirsak Sebagai Antibakteri. *Jurnal Molekul*, 11(1), 1-38.
- Nugrahani, Rizki., Andayani, Yayuk., dan Hakim, Aliefman. 2016. Skrining Fitokimia dari Ekstrak Buah Buncis (*Phaseolus vulgaris* L) dalam Sediaan Serbuk. *Jurnal Penelitian Pendidikan Ilmu Pengetahuan Alam*, 2(1), 97-103.
- Okomoda, Victor, T., Solomon, Shola, G., Ataguba, Gabriel, A., Ayuba, Victoria, O., dan Asuwaju, Pius, F. 2013. Acute Toxicity Test in Aquaculture: A Review. *Journal of Biotechnology*, 4(8), 59-64.
- Paithankar, V.V., Belsare, S.L., Charde, R.M., dan Vyas, J.V. 2011. A. calamus an Overview. *International Journal Biomed Science*, 2(10), 518-529.
- Pakasi, Sandra E. dan Christina, Salaki L. 2013. *Budidaya yang Baik Tanaman Karumenga (Acorus calamus)*. Sulawesi Utara: Fakultas Pertanian Universitas Sam Ratulangi.
- Panji, Tri. 2012. *Teknik Spektroskopi untuk Elusidasi Struktur Molekul*. Yogyakarta: Graha Ilmu.

Pendaftaran Obat Tradisional, Obat Herbal Terstandar, dan Fitofarmaka.
Jakarta: Departmen Kesehatan Republik Indonesia

- Phongpaichit, Souwalak., Pujenjob, Nangyao., Rukachaisirikul, Vatcharin., dan Ongsakul, Metta. 2005. Antimicrobial activities of the Crude Methanol Extract of (*Acorus calamus* L.) Songklanakarin. *Journal Science Technology*, 27(2), 517-523.
- Poedjiadi, Anna. 1994. *Dasar-dasar Biokimia*. Jakarta: UI-Press.
- Pramitania, Vioreta Aprilia. 2019. Uji Toksisitas Isolat Steroid Hasil Kromatografi Kolom Fraksi *n*-Heksana Alga Mera (*Eucheuma cottonii*) Dari Perairan Wongsorejo Banyuwangi. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Pratomo, Mas'uth. 2019. Isolasi dan Identifikasi Senyawa metabolit Sekunder Ekstrak Cacing Laor (*Lyidice olea*) sebagai Antibakteri *Escherichia coli*. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Purwanti, Nera Umilia., dan Susanti, Ressi. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri dan Antifungal Ekstrak Etanol Rimpang *Acorus* sp. *Jurnal Kesehatan Khatulistiwa*, 2(1), 256-268.
- Rachman, Arif., Wardatun, Sri., dan Wiendarlina, Ike Yulia. 2015. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Saponin Ekstrak Metanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis. *Jurnal Online Mahasiswa Bidang Farmasi*, 1(1), 1-6.
- Radiena, Mozes, S.Y., dan Dompeipen, Edward, J. 2019. Identifikasi Senyawa Aktif Triterpenoid Dari Ekstrak Alga Laut Hijau Silpau (*Dictyosphaeria versluysii*) Dengan Spektrofotometer FTIR. *Jurnal Balai Riset dan Standardisasi Industri Ambon*, 15(1), 33-40.
- Rahmah, Fadhilah Tsaniyatur. 2018. Uji Toksisitas Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica* L.) Hasil Ekstraksi Ultrasonik Dengan Variasi Pelarut dan Lama Ekstraksi. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Rahmawati. 2017. Hidrolis Variasi Eluen pada pemisahan Senyawa Triterpenoid dan Steroid Alga Merah *Eucheuma spinosum* Menggunakan Kromatografi Kolom Basah. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Rezki, Dewi., Ahmad, Fachri., dan Gusnidar. 2006. Ekstraksi Bahan Humat dari Batubara (*Subbituminus*) dengan Menggunakan 10 Jenis Pelarut. *Journal Solum*, 2(4), 73-80.
- Rio, Budi Syahputra., Nursal., dan Wulandari, Sri. 2016. Uji Toksisitas Ekstrak Kulit Batang Rengas (*Gluta renghas*) Terhadap Larva Udang *Artemia*

salina untuk Pengembangan Model Pembelajaran pada Konsep Keseimbangan Lingkungan Kelas X SMA. *Jurnal Online Mahasiswa Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan*, 3(1), 1-12.

- Rita, Wiwik Susanah., Suirta, I Wayan., dan Utami. 2017. Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* Linn.) Terhadap Bakteri *Escheria coli* dan *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 5(2), 130-136.
- Robinson, Trevor. 1991. *Kandungan Senyawa Organik Tumbuhan Tinggi*. Diterjemahkan Oleh Padmawinata, Kosasih. Bandung: Institut Teknologi Bandung Press.
- Robinson, Trevor. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Diterjemahkan Oleh Padmawinata, Kokasih. Bandung: Institut Teknologi Bandung Press.
- Rossidy, Imron. 2008. *Fenomena Flora dan Fauna dalam Perspektif Al-Quran*. Malang: UIN-Malang Press.
- Rusdi. 1990. *Tetumbuhan Sebagai Sumber Bahan Obat*. Padang: Pusat Penelitian Universitas Andalas.
- Sa'adah, Lailis. 2010. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Tanin dari Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Safrina, Nina., Susanti, Ressi., dan Sari, Rafika. 2018. Uji Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Rimpang Jeringau Merah (*Acorus* Sp.) terhadap Radang Kaki Tikus Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Karagenan. *Jurnal Cermin Dunia Kedokteran-265*, 45(6), 409-413.
- Saifudin, Aziz. 2017. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, Konsep, dan Teknik Pemurnian*. Yogyakarta: Deepublish.
- Saman, Sri Iin. 2013. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Flavonoid dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Rimpang Jeringau. *Skripsi*. Gorontalo: Universitas Negeri Gorontalo.
- Santos, Hugo Miguel., Lodeiro, Carlos., Martinez, Capelo., dan Luis, Jose. 2009. *The Power of Ultrasonic Analytical Applications*. Germany: Willey-Verlag Chemie Publisher. 1-16.
- Sarker, Satyajit D. dan Nahar, Lutfun. 2007. *Kimia Untuk Mahasiswa Farmasi Bahan Organik, Alam dan Umum*. Diterjemahkan Oleh Rohman, Abdul. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Sastrohamdijoyo, Hardjono. 1991. *Spektroskopi*. Yogyakarta : Liberty.
- Sastrohamidjoyo, Hardjono. 1996. *Sintesis Bahan Alami*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada Press

- Schechter, I. Brazilai, L.L., dan Bulatov, V. 1997. Online Remote Prediction of Gasoline Properties by Combined Optical Method. *Journal of Analytica Chimica Acta*, 893, 193-199.
- Septyaningsih, Dyah. 2010. Isolasi dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Biji Buah Merah (*Pandanus conoideus lamk*). *Skripsi*. Surakarta: Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Setiawansyah. 2018. Optimasi Metode dan pelatur Ekstraksi Terhadap Kadar Kurkumin pada Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*). *Prosiding Seminar Nasional Kesehatan*, 1-9.
- Setyadi, Moch. 2007. Hidrolisis Pentosan Menjadi Furfural dengan Katalisator Asam Sulfat untuk Meningkatkan Kualitas Bahan Bakar Mesin Diesel. *Prosiding Pertemuan dan Presentasi Ilmiah–Penelitian Dasar Ilmu Pengetahuan dan Teknologi Nuklir*. Yogyakarta: BATAN.
- Shoviyyah. 2019. Uji Aktivitas Antioksidan dan Fitokimia Fraksi Etil Asetat, Kloroform, dan Metanol Ekstrak Alga Hijau *Ulva lactuta* dari Pantai Gunung Kidul Yogyakarta. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Silalahi, Marina., Supriatna, Jatna., Walujo, Eko Baroto., dan Nisyawati. 2015. Local Knowledge of Medicinal Plants in Subethnic Batak Simalungun of North Sumatra Indonesia. *Jurnal Biodiversitas*, 16(1), 44-54.
- Singh, Amrit Pal., Muthurahman, Arunachalam., Jaggi, Amteshwar Singh., Singh, Nirmal., Grover, Kuldeep., dan Dhawan, Ravi. 2012. Animal Models of Acute Renal Failure. *Pharmacological Reports*, 64(1), 31-44.
- Socrates, George. 1994. *Infrared Characteristic Group Frequencies Table and Chart Second Editian*. New York: John Wiley an Sons Inc.
- Srividya, A., Aishwaria, S., dan Vishnuvarthan, V. 2014. Evaluation of Antioxidant, Antimicrobial and Cytotoxicity Activity of Hydroethanolic Extract and its Fractions of *Acorus calamus linn*. *International Journal for Pharmaceutical Research Scholars (IJPRS)*, 3(1), 114–125.
- Sriwahyuni, Ika. 2010. Uji Fitokimia Ekstrak Tanaman Anting- Anting (*Acalypha indica Linn*) dengan variasi Pelarut dan Uji Toksisitas Menggunakan Brine Shrimp (*Artemia salina leach*). *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Suhartati, Tati. 2017. *Dasar-Dasar Spektrofotometri UV-Vis dan Spektrofotometri Massa Untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Lampung: Aura.
- Suharto, M. Agung Pratama., Edy , Hosea Jaya., dan Dumanauw, Jovie M. 2012. Isolasi dan Identifikasi Senyawa saponin dari Ekstrak Metanol Batang Pisang Ambon (*Musa paradisiaca var. sapientum L.*). *Jurnal Farmasi*,

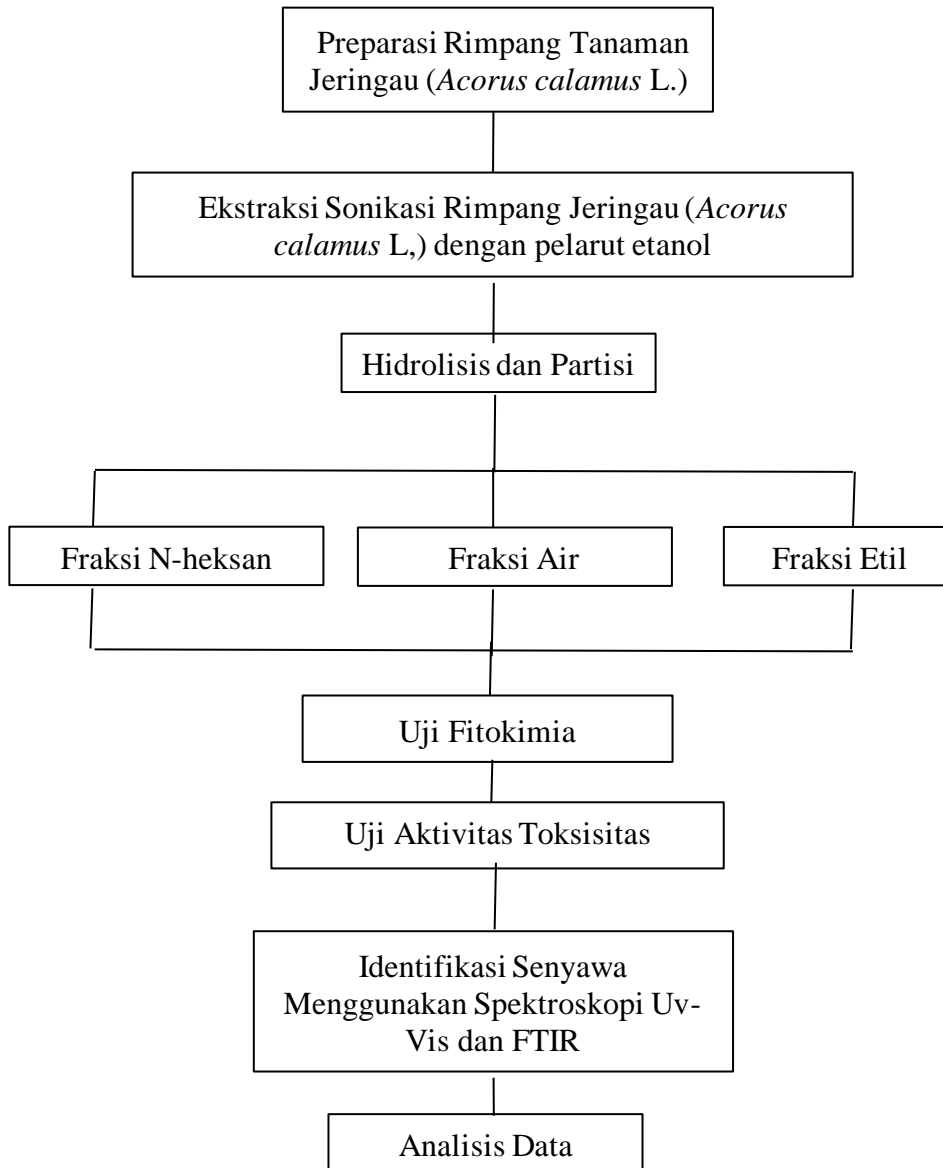
1(2), 86-92.

- Sari, Nindya, Wulan., Fajri, Miskah, Yumma., W. Fajri. 2018. Analisis Fitokimia dan Gugus Fungsi dari Ekstrak Etanol Pisang Gorohan Merah (*Musa Acuminata* (L)). *Indonesian Journal of Biotechnology and Biodiversity*, 2(1), 30-34.
- Suhendra, Corry Permatasari., Widarta, IWayan Rai., dan Wiadnyani, Anak Agung Istri Sri. 2019. Pengaruh Konsentrasi Etanol Terhadap Antioksidan Ekstrak Rimpang Ilalang (*Imperata cylindrical Beauv*) pada Ekstraksi Menggunakan Gelombang Ultrasonik. *Jurnal dan Ilmu Teknologi Pangan*, 8(1), 27–35.
- Sukmawati, Nila Ambar. 2015. Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri minyak Atsiri Daun Dlingo (*Acorus calamus* Linn). *Skripsi*. Surakarta: Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Susanti, Nurlaili. 2016. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*. *Jurnal Biodjati*, 1(1), 55-58.
- Suslick, Kenneth S., Cline, Raymond E., dan Hammerton, David A. 1986. Sonochemical hot spot. *Journal of the American Chemical Society*, 108(18), 5641-5642.
- Suwandi, dan Supriyanto. 2018. Toksisitas Akut Ekstrak N–Heksana dan Metanol Rimpang Jeringau Merah Terhadap Kematian *Artemia salina* leach dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test. *Jurnal Laboratorium Khatulistiwa*, 1(2), 125-129.
- Svehla, G. 1990. *Buku Teks Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimikro*. Diterjemahkan Oleh Setiono, L., dan Pudjaatmaka, A. Hadyana. Jakarta: Kalman Media Pusaka.
- Sya'diyah, Siti., Waris, Risda., Najib, Ahmad. 2014. Upaya Isolasi β -asaron pada Ekstrak *n*-Heksana Rimpang Dringo (*Acorus calamus* L.) Asal Kabupaten Pinrang. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 1(1), 6-13.
- Taofik, Muhammad I., Yulianti, Eny., Barizi, A., dan Hayati, Elok Kamilah. 2010. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Air Daun Paitan (*Thitonia Diversifolia*) Sebagai Bahan Insektisida Botani Untuk Pengendalian Hama Tungau Eriophyidae. *Jurnal AL-CHEMY*, 02(1), 104-157.
- Tensiska, Marsetio Silvia O. N. Y. 2007. Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar Isoflavon dari Ampas Tahu. *Hasil Penelitian Dosen Jurusan Teknologi Industri Pangan*. Bandung: Universitas Padjajaran.
- Thermo, Nicolet. 2001. *Introduction to FTIR Spectrometry*. Madison USA: Thermo Nicolet Inc.

- Trianto, Agus., HAS, Yan Yan., Ambariyanto, Mirnwani, Retno. 2004. Uji Toksisitas Ekstrak Gorgonian *Isis hippuris* Terhadap Nauplius *Artemia salina*. *Jurnal Ilmu Kelautan*, 9(2), 61-66.
- Vilkhu, Kamaljit Singh., Mawson, Raymond., Simons, Lioyd., dan Bates, Darren. 2006. Application and Opportunities For Ultrasound Assisted Extraction In The Food Industry. *Review Food Inovation*. Australia: Emerging Science, Technologies and Application.
- Wahyuni, Ari., Kadir, Abd., dan Najib, Ahmad. 2012. Isolasi dan Identifikasi Komponen Kimia Fraksi *n*-Heksana Daun Tumbuhan Jeringau (*Acorus calamus* Linn.). *Jurnal As-Syifaa*, 04(1), 58-64.
- Wati, Vivi Septya. Uji Toksisitas Isolat Steroid Hasil KLTP Fraksi Etil Asetat dan Petroleum Eter *Hydrilla verticillata*. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Zeuthen, Peter., dan Bogh-Sorensen, Leif. 2003. *Food Preservation*. Germany: Woodhead CRC Press LLC.
- Zuhud, E.A.M., dan Haryanto. 1994. *Pelestarian Dan Pemanfaatan Tumbuhan Obat Tropis Indonesia*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

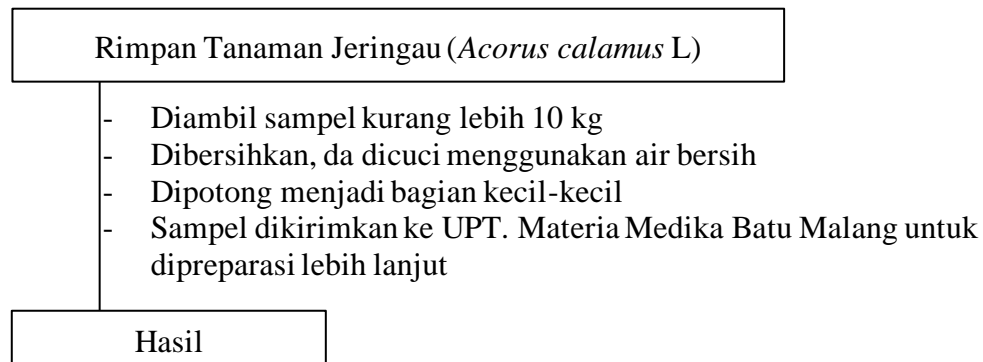
LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian

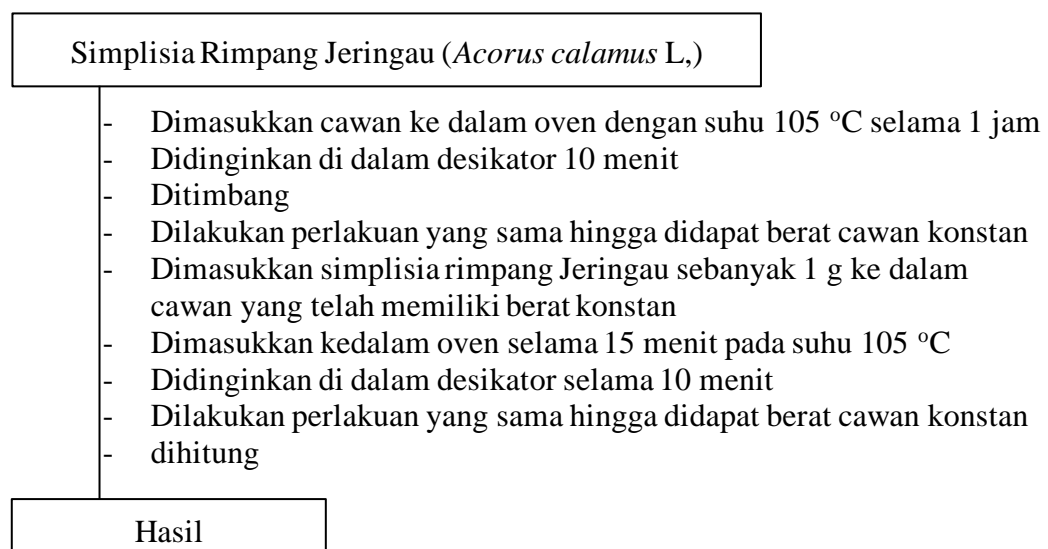


Lampiran 2. Skema Kerja

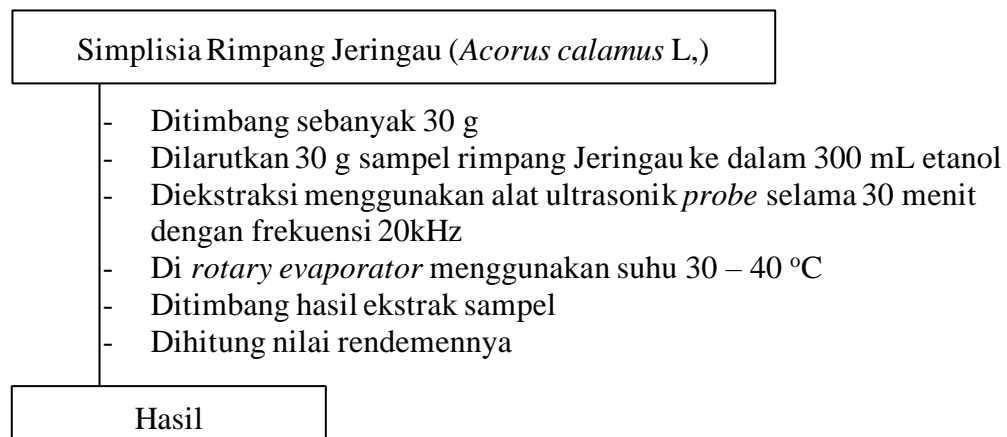
L.2.1 Preparasi Sampel



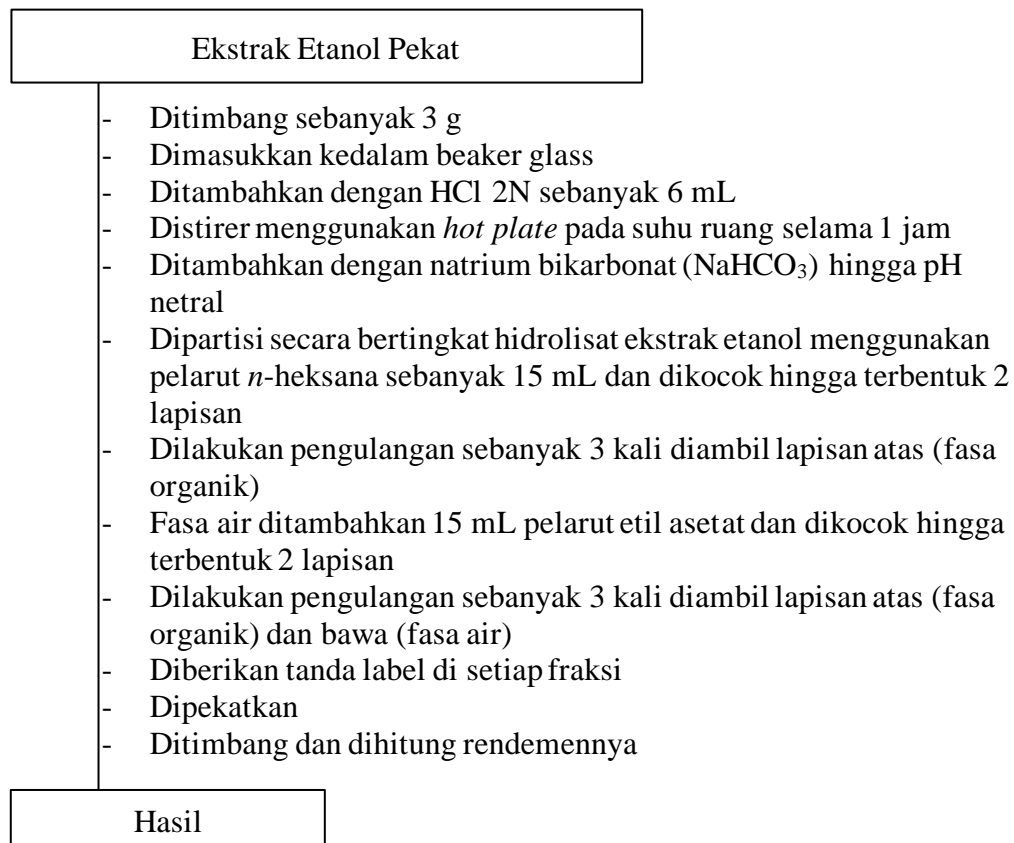
L.2.2 Analisis Kadar Air



L.2.3 Ekstraksi Sonikasi (*Ultrasonic*)

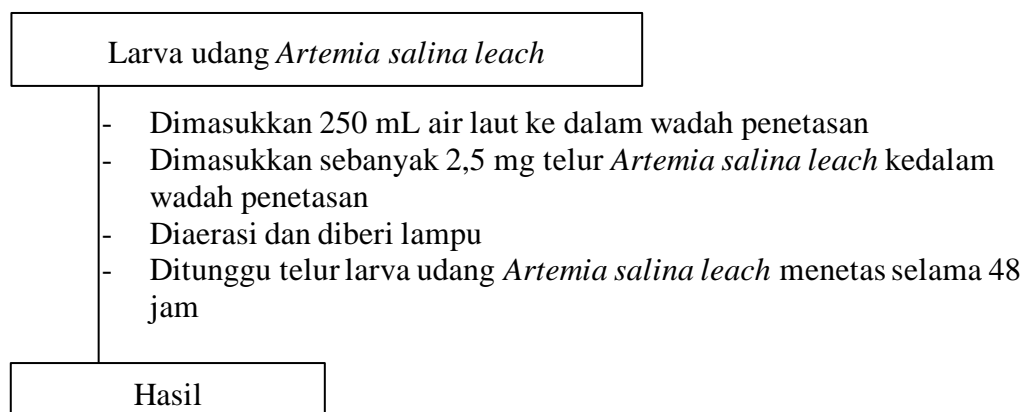


L.2.4 Hidrolisis dan Partisi

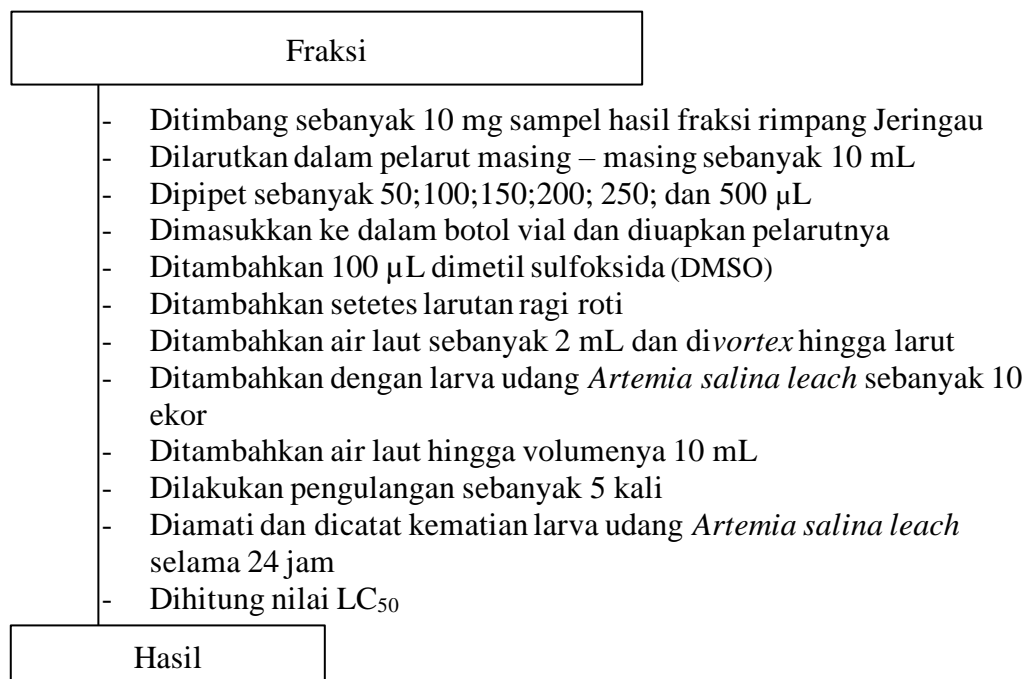


L.2.5 Uji Toksisitas Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L).

L.2.5.1 Penetasan Larva Udang

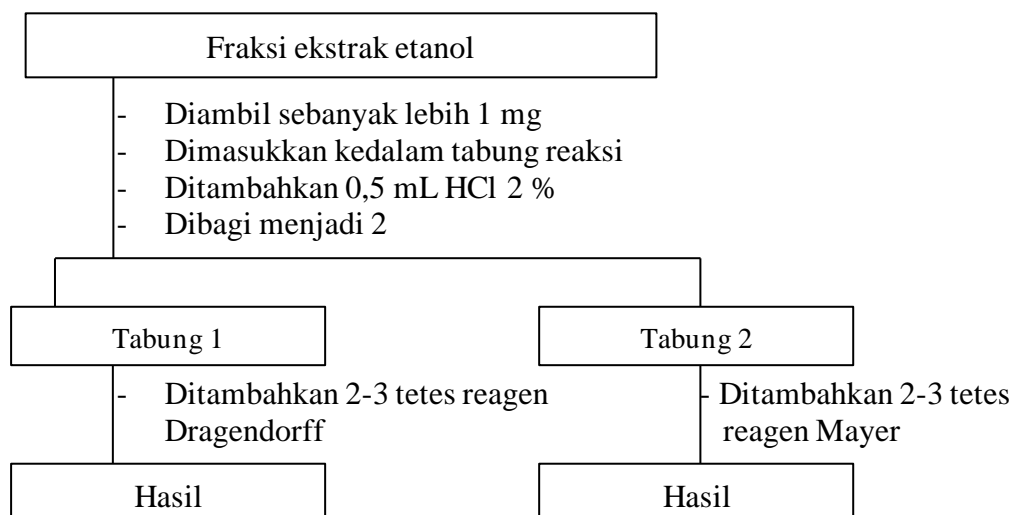


L.2.5.2 Uji Toksisitas

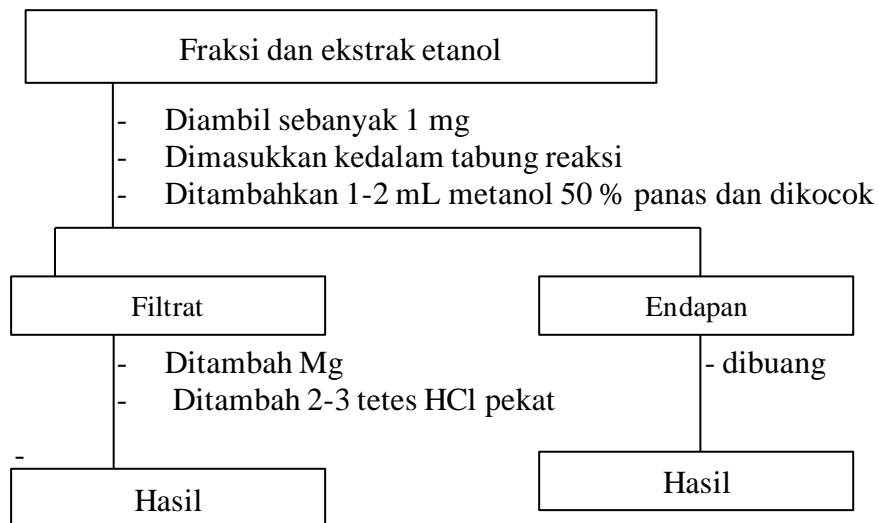


L.2.6 Uji Fitokimia

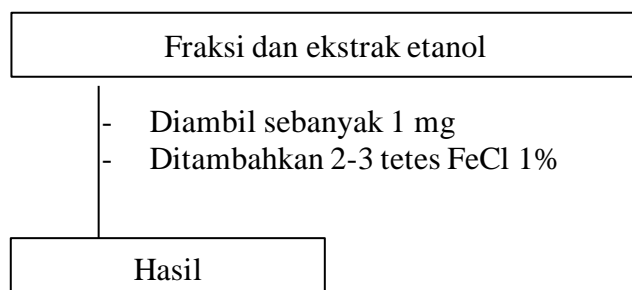
L.2.6.1 Uji Alkaloid



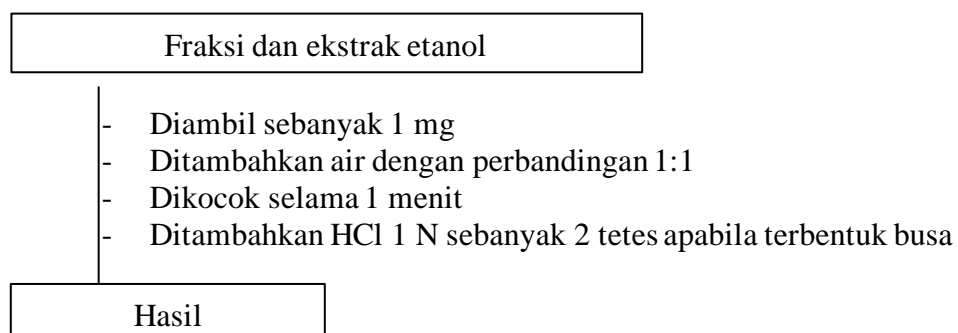
L.2.6.2 Uji Flavonoid

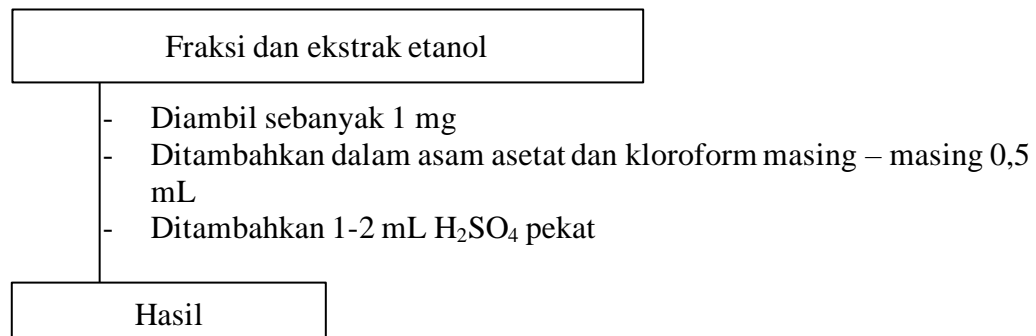
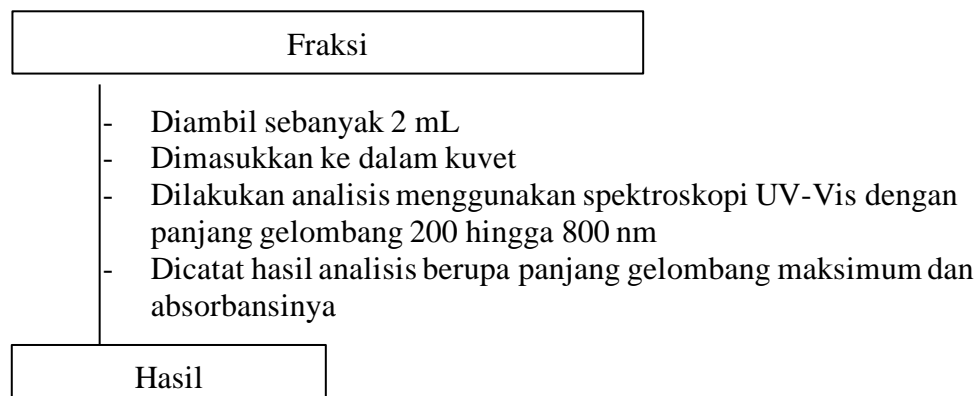
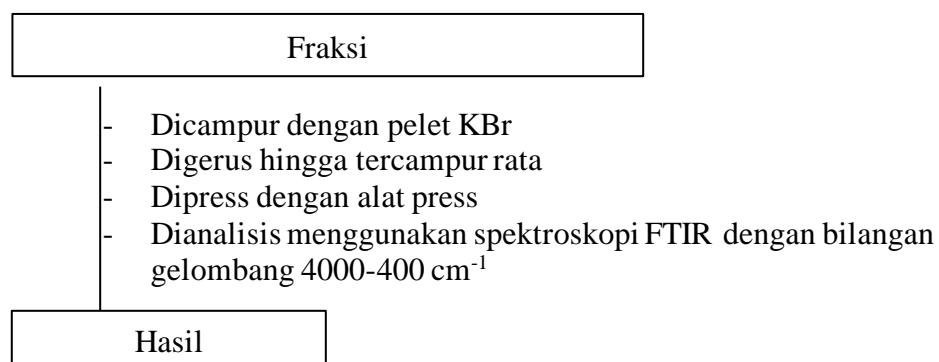


L.2.6.3 Uji Tanin



L.2.6.4 Uji Saponin



L.2.6.5 Uji Steroid dan Triterpenoid**L.2.7 Identifikasi Menggunakan Spektroskopi UV-Vis****L.2.8 Identifikasi Menggunakan Spektroskopi FTIR**

Lampiran 3. Perhitungan, Pembuatan Reagen dan Larutan

L3.1 Pembuatan Reagen Dragendorff

Pembuatan Reagen Dragendorff dilakukan dengan menimbang 0,85 gram bismuth subnitrat, ditambahkan dengan aquades sebanyak 40 mL dan 10 mL asam asetat glasial masuk dalam larutan 1. larutan 2 dibuat dengan cara mencampurkan 8 gram KI dengan 20 mL aquades. Kedua larutan dicampurkan dan diaduk hingga homogen.

L3.2 Pembuatan Reagen Mayer

Pembuatan Reagen Mayer dilakukan dengan menimbang 1,358 gram HgCl_2 kemudian dilarutkan dalam 60 mL aquades (larutan 1), pada (larutan 2) dibuat dengan cara mencampurkan 5 gram KI dengan 10 mL aquades. Larutan 1 dan 2 dicampurkan pada labu ukur 100 mL kemudian diencerkan hingga tanda batas.

L3.3 Pembuatan Larutan HCl 2%

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$37\% \times V1 = 2\% \times 10 \text{ mL}$$

$$V1 = \frac{20}{37}$$

$$V1 = 0,5 \text{ mL}$$

Pembuatan larutan HCl 2% yaitu dengan pengenceran HCl pekat 37% sebanyak 0,5 mL pada 10 mL.

L3.4 Pembuatan Larutan HCl 2 N

$$\text{Densitas} = 1190 \text{ g/L}$$

$$\text{Konsentrasi} = 37\%$$

$$\text{Mr HCl} = 36,42 \text{ g/mol}$$

$$n = 1 \text{ (jumlah mol ion H}^+\text{)}$$

$$N \text{ HCl} = n \times \text{Molaritas HCl}$$

$$N \text{ HCl} = 1 \times \frac{37\% \times \text{Densitas HCl}}{\text{Mr HCl}}$$

$$N \text{ HCl} = \frac{0,37 \times 1190 \frac{\text{g}}{\text{L}}}{36,42 \frac{\text{g}}{\text{mol}}}$$

$$= 12,09 \text{ N}$$

$$\text{Pengenceran: } N1 \times V1 = N2 \times V2$$

$$12,09 \text{ N} \times V1 = 2 \text{ N} \times 100 \text{ mL}$$

$$V1 = 16,5 \text{ mL}$$

Pembuatan larutan HCl 2N dilakukan dengan cara diencerkan HCl pekat 37% sebanyak 16,5 mL pada labu ukur 100 mL. menggunakan aquades. Kemudian

diitanabataskan dan dihomogenkan.

L3.5 Pembuatan Larutan HCl 1 N

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$12,06 \text{ N} \times V1 = 1 \text{ N} \times 10 \text{ mL}$$

$$V1 = \frac{10}{12,07}$$

$$V1 = 0,83 \text{ mL}$$

Pembuatan larutan HCl 1N dilakukan dengan cara diencerkan HCl pekat 37% sebanyak 0,83 mL pada labu ukur 10 mL. menggunakan aquades. Kemudian diitanabataskan dan dihomogenkan.

L3.6 Pembuatan Larutan Etanol 50%

$$V1 \times C1 = V2 \times C2$$

$$V1 \times 96\% = 10 \text{ mL} \times 50\%$$

$$V1 = 5,20 \text{ mL}$$

Pembuatan larutan etanol 50% yaitu dengan cara dipipet kurang lebih 1 mL aquades pada labu takar 10 mL, kemudian ditambahkan etanol 96% sebanyak 5,20 mL dengan pelan-pelan. Dan ditandabataskan menggunakan aquades hingga tanda batas tepat 10 mL dan dihomogenkan.

L3.7 Pembuatan Larutan FeCl₃ 1%

$$\text{FeCl } 1\% = \frac{1 \text{ g}}{100 \text{ mL}} \text{ (1 gram dalam 100 mL)}$$

Pembuatan larutan FeCl 1% dengan cara mengencerkan FeCl.6H₂O sebanyak 1 gram ke dalam beaker glass 100 mL menggunakan aquades.

L3.8 Pembuatan Larutan NaHCO₃ 5% (b/v)

Pembuatan larutan NaHCO₃ dilakukan dengan cara mengencerkan 5 gram Natrium bikarbonat menggunakan aquades pada labu takar 100 mL. kemudian ditandabataskan dan dihomogenkan.

L3.9 Pembuatan Larutan Stok Uji Toksisitas

L3.9.1 Pembuatan larutan stok 1000 ppm ekstrak rimpang Jeringau

$$\frac{x \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 = 1000 \text{ ppm}$$

$$x \text{ mg (sampel rimpang Jeringau)} = 10 \text{ mg}$$

Pembuatan larutan stok 1000 ppm dilakukan dengan cara menimbang 10 mg ekstrak hasil fraksi kemudian dilarutkan menggunakan aquades pada labu takar 10 mL. kemudian ditandabataskan dan dihomogenkan

L3.9.2 Pembuatan larutan 50 ppm

$$V1 \times \text{ppm1} = V2 \times \text{ppm2}$$

$$V1 \times 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ mL} \times 50 \text{ ppm}$$

$$V1 = \frac{500 \text{ mL ppm}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 0,5 \text{ mL}$$

Pembuatan larutan 50 ppm dengan mengambil larutan sebanyak 0,5 mL pada larutan stok 1000 ppm dengan pipet.

L3.9.3 Pembuatan larutan 25 ppm

$$V1 \times \text{ppm1} = V2 \times \text{ppm2}$$

$$V1 \times 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ mL} \times 25 \text{ ppm}$$

$$V1 = \frac{250 \text{ mL ppm}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 0,25 \text{ mL}$$

Pembuatan larutan 25 ppm dengan mengambil larutan sebanyak 0,25 mL pada larutan stok 1000 ppm dengan pipet.

L3.9.4 Pembuatan larutan 20 ppm

$$V1 \times \text{ppm1} = V2 \times \text{ppm2}$$

$$V1 \times 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ mL} \times 20 \text{ ppm}$$

$$V1 = \frac{200 \text{ mL ppm}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 0,20 \text{ mL}$$

Pembuatan larutan 20 ppm dengan mengambil larutan sebanyak 0,20 mL pada larutan stok 1000 ppm dengan pipet.

L3.9.5 Pembuatan larutan 15 ppm

$$V1 \times \text{ppm1} = V2 \times \text{ppm2}$$

$$V1 \times 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ mL} \times 15 \text{ ppm}$$

$$V1 = \frac{150 \text{ mL ppm}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 0,15 \text{ mL}$$

Pembuatan larutan 15 ppm dengan mengambil larutan sebanyak 0,15 mL pada larutan stok 1000 ppm dengan pipet.

L3.9.6 Pembuatan larutan 10 ppm

$$V1 \times \text{ppm1} = V2 \times \text{ppm2}$$

$$V1 \times 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ mL} \times 1000 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{10 \text{ mL ppm}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 0,1 \text{ mL}$$

Pembuatan larutan 10 ppm dengan mengambil larutan sebanyak 0,1 mL pada larutan stok 1000 ppm dengan pipet.

L3.9.7 Pembuatan larutan 5 ppm

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

$$V_1 \times 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ mL} \times 5 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{50 \text{ mL ppm}}{1000 \text{ ppm}}$$

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

Pembuatan larutan 5 ppm dengan mengambil larutan sebanyak 0,05 mL pada larutan stok 1000 ppm dengan pipet.

Lampiran 4. Data Perhitungan Rendemen

L4.1 Yield Sampel Kering Rimpang Jeringau (*Acorus calamus L.*)

Berat sampel basah = 2,61 Kg

Berat sampel serbuk kering = 0,38 Kg

$$\begin{aligned} \text{Yield} &= \frac{0,38}{2,61} \times 100\% \\ &= 14,55\% \end{aligned}$$

L.4.2 Penentuan Kadar Air Rimpang Jeringau (*Acorus calamus L.*)

Tabel L.4.1 Data berat cawan kosong

Ulangan	Berat Cawan Kosong (g)				Berat Cawan Konstan (g)
	Cawan	Sebelum dioven	P1	P2	
C1	53,4052	53,4037	53,4035	53,4037	53,4036
C2	55,2420	55,2409	55,2401	55,2408	55,2406
C3	57,6248	57,6237	57,6234	57,6234	57,6235

Keterangan: C = Cawan, P = Ulangan

Tabel L.4.2 Data berat cawan + sampel

Ulangan	Berat Cawan Kosong (g)				Berat Cawan Konstan (g)
	Cawan	Sebelum dioven	P1	P2	
C1	54,4036	54,2942	54,2942	54,2941	54,2941
C2	56,2406	56,1329	56,1325	56,1324	56,1326
C3	58,6235	58,5139	58,5139	58,5137	58,5138

Keterangan C = Cawan, P = Ulangan

1. Kadar air sampel pada cawan C1

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{(\text{berat cawan+sampel sebelum dioven})-(\text{berat cawan+sampel setelah dioven})}{(\text{berat cawan+sampel sebelum dioven})-(\text{berat cawan+kosong})} \times 100\% \\ &= \frac{(54,4036-54,2941)\text{g}}{(54,4036-53,4036)\text{g}} \times 100\% \\ &= 10,95\% \end{aligned}$$

2. Kadar air sampel pada cawan C3

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

$$= \frac{(56,2406 - 56,1326) \text{g}}{(56,2406 - 53,206) \text{g}} \times 100\%$$

$$= 10,80\%$$

3. Kadar air sampel pada cawan C3

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

$$= \frac{(58,6235 - 58,5138) \text{g}}{(58,6235 - 57,6235) \text{g}} \times 100\%$$

$$= 11,08\%$$

4. Kadar air rata-rata rimpang Jeringau (*Acorus calamus L.*)

$$= \frac{(10,95\% + 10,80\% + 10,97\%)}{3} \times 100\%$$

$$= 10,90\%$$

L.4.3 Perhitungan Rendemen Ekstraksi Ultrasonik Rimpang Jeringau (*Acorus calamus L.*)

Tabel L.4.3 Data hasil ekstraksi menggunakan pelarut etanol

Berat Sampel (g)	Berat Wadah (g)	Berat Wadah+Ekstrak Pekat (g)	Berat Ekstrak Pekat (g)
30	36,2184	41,2219	5,0035

$$\text{Yield} = \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$$

$$= \frac{5,0035 \text{ g}}{30 \text{ g}} \times 100\%$$

$$= 16,67\%$$

L.4.4 Yield Hasil Partisi Ekstrak Etanol

Tabel L.4.4 Data hasil partisi

Fraksi	Berat Ekstrak Etanol (g)	Berat Wadah (g)	Berat Wadah+Fraksi Pekat (g)	Berat Fraksi (g)
Etil Asetat	3	64,6042	64,6844	0,0802
<i>n</i> -Heksana	3	64,1267	64,8240	0,6973
Air	3	64,9237	66,5268	1,6031

$$\text{Yield Etil Asetat} = \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,0802 \text{ g}}{3 \text{ g}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned}
 &= 2,67\% \\
 \text{Yield } n\text{-Heksana} &= \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,6973 \text{ g}}{3 \text{ g}} \times 100\% \\
 &= 23,24\% \\
 \text{Yield Air} &= \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel}} \times 100\% \\
 &= \frac{1,6031 \text{ g}}{3 \text{ g}} \times 100\% \\
 &= 53,44\%
 \end{aligned}$$

Lampiran 5. Data Hasil Uji Fitokimia Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.)

Tabel L.5.1 Hasil uji fitokimia ekstrak etanol dan masing-masing fraksi

Uji Golongan Senyawa Aktif	Hasil			
	Ekstrak Etanol	Fraksi Etil Asetat	Fraksi <i>n</i> -Heksana	Fraksi Air
Alkaloid				
-Meyer	-	-	-	-
-Dragendroff	-	-	-	-
Flavonoid	+	+	+	+
Saponin	+	-	-	+
Tanin	-	-	-	-
Triterpenoid	+	+	+	+
Steroid	-	-	-	-

Keterangan: (+) Positif, (-) Negatif

Lampiran 6. Data Uji Toksisitas Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.)

L6.1 Hasil Uji Toksisitas Fraksi Air

Tabel L.6.1 Data kematian larva udang pada fraksi air

Konsentrasi (ppm)	Jumlah larva yang mati (Ekor)						%Mortalitas
	I	II	III	IV	V	Modus	
0*	0	0	0	0	0	0	0
0**	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	1	1	0	0	0
10	1	1	1	1	2	1	10
15	2	2	2	2	1	2	20
20	1	3	2	2	2	2	20
25	3	2	3	3	3	3	30
50	4	3	4	4	2	4	40

Keterangan: 0* kontrol pelarut
0** kontrol DMSO

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

Tabel L.6.2 Data mortalitas fraksi air

Konsentrasi (ppm)	Jumlah hewan uji (Ekor)	% Mortalitas	Mortalitas
0*	50	0	0
0**	50	0	0
5	50	0	0
10	50	10	5
15	50	20	10
20	50	20	10
25	50	30	15
50	50	40	20

Keterangan: 0* kontrol pelarut
0** kontrol DMSO

$$\text{mortalitas} = \% \text{ mortalitas} \times \text{jumlah hewan uji}$$

Probit Analysis: Mortalitas, N versus Konsentrasi

Distribution: Lognormal

Response Information

Variable	Value	Count
Mortalitas	Event	60
	Non-event	240
N	Total	300

Estimation Method: Maximum Likelihood

Regression Table

Variable	Coef	Standard Error	Z	P
Constant	-3.07924	0.437433	-7.04	0.000
Konsentrasi	0.757109	0.140370	5.39	0.000

Natural

Response 0

Log-Likelihood = -133.024

Goodness-of-Fit Tests

Method	Chi-Square	DF	P
Pearson	3.57897	4	0.466
Deviance	5.07173	4	0.280

Tolerance Distribution

Parameter Estimates

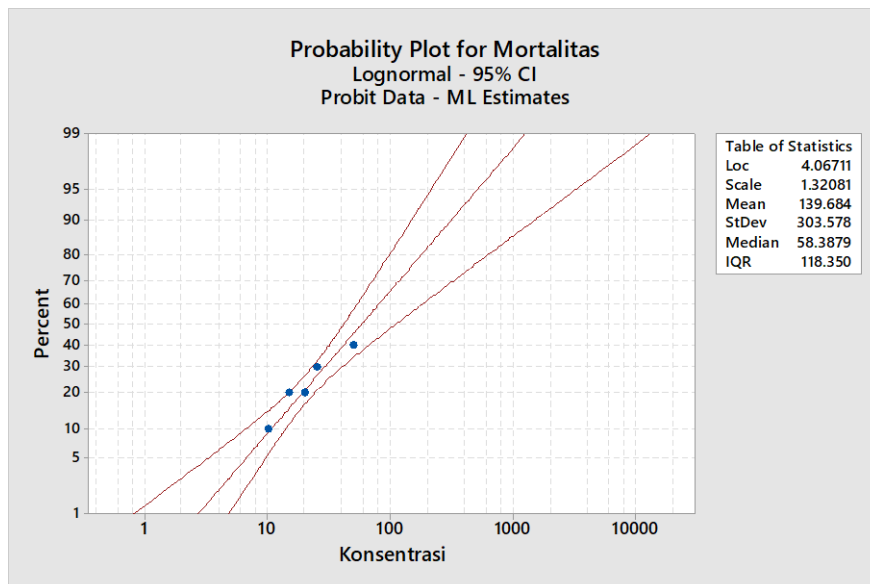
Parameter	Estimate	Standard Error	95.0% Normal CI	
			Lower	Upper
Location	4.06711	0.220761	3.63443	4.49979
Scale	1.32081	0.244883	0.918388	1.89958

Table of Percentiles

Percent	Percentile	Standard Error	95.0% Fiducial CI	
			Lower	Upper
1	2.70320	1.07816	0.807027	4.83976
2	3.87477	1.30007	1.41111	6.34550
3	4.86920	1.44191	2.00839	7.54724
4	5.78216	1.54436	2.61599	8.60944
5	6.64964	1.62246	3.24001	9.59293
6	7.48979	1.68382	3.88326	10.5285
7	8.31335	1.73310	4.54711	11.4347

8	9.12730	1.77348	5.23216	12.3242
9	9.93655	1.80741	5.93845	13.2062
10	10.7447	1.83691	6.66568	14.0884
20	19.2110	2.25027	14.7871	24.2278
30	29.2089	3.80192	23.2242	40.5091
40	41.7827	7.14688	31.8629	67.3725
50	58.3879	12.8897	41.7622	111.136
60	81.5921	22.4802	54.1648	185.263
70	116.716	39.3230	71.1319	321.897
80	177.458	72.8882	97.4647	616.922
90	317.285	163.401	150.284	1526.36
91	343.091	181.541	159.269	1724.62
92	373.511	203.382	169.632	1969.38
93	410.081	230.239	181.798	2278.88
94	455.172	264.176	196.410	2682.54
95	512.681	308.645	214.501	3231.08
96	589.597	369.956	237.877	4020.80
97	700.144	461.265	270.108	5261.39
98	879.830	616.364	319.767	7523.39
99	1261.15	966.630	417.100	13222.8

Probability Plot for Mortalitas



L6.2 Hasil Uji Toksisitas Fraksi *n*-Heksana

Tabel L.6.3 Data kematian larva udang pada fraksi *n*-heksana

Konsentrasi (ppm)	Jumlah larva yang mati (Ekor)					Modus	%Mortalitas
	I	II	III	IV	V		
0*	0	0	0	0	0	0	0
0**	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0
15	0	0	0	0	0	0	0
20	1	0	1	0	1	1	10
25	1	0	2	2	2	2	20
50	10	10	10	10	9	10	100

Keterangan: 0* kontrol pelarut

0** kontrol DMSO

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

Tabel L.6.4 Data mortalitas fraksi *n*-heksana

Konsentrasi (ppm)	Jumlah hewan uji (Ekor)	% Mortalitas	Mortalitas
0*	50	0	0
0**	50	0	0
5	50	0	0
10	50	0	0
15	50	0	0
20	50	10	5
25	50	20	10
50	50	100	50

Keterangan: 0* kontrol pelarut

0** kontrol DMSO

$$\text{mortalitas} = \% \text{ mortalitas} \times \text{jumlah hewan uji}$$

Probit Analysis: Mortalitas, N versus Konsentrasi

Distribution: Lognormal

Response Information

Variable	Value	Count
Mortalitas	Event	65
	Non-event	235
N	Total	300

Estimation Method: Maximum Likelihood

Regression Table

Variable	Coef	Standard Error	Z	P
Constant	-14.5045	2.10133	-6.90	0.000
Konsentrasi	4.31181	0.658105	6.55	0.000

Natural

Response 0

Log-Likelihood = -43.179

Goodness-of-Fit Tests

Method	Chi-Square	DF	P
Pearson	3.49428	4	0.479
Deviance	3.81046	4	0.432

Tolerance Distribution

Parameter Estimates

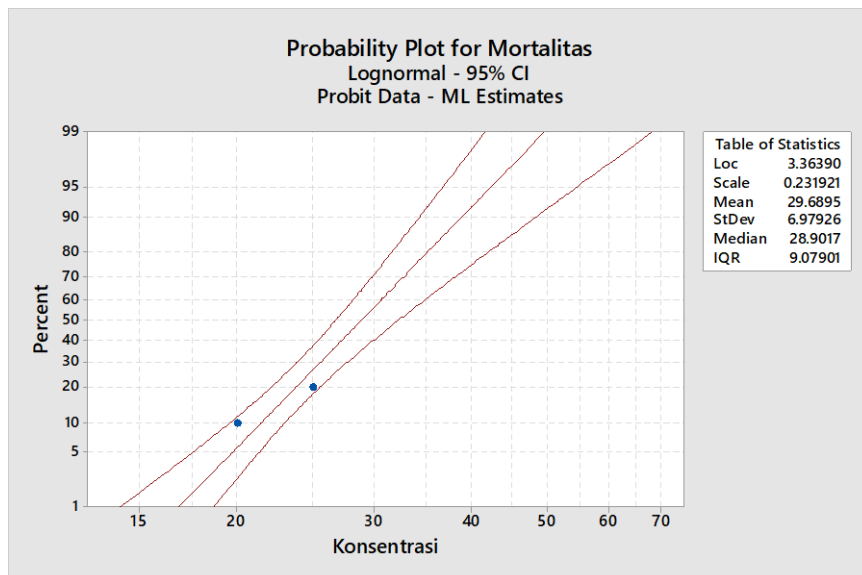
Parameter	Estimate	Standard Error	95.0% Normal CI	
			Lower	Upper
Location	3.36390	0.0443298	3.27702	3.45078
Scale	0.231921	0.0353978	0.171958	0.312794

Table of Percentiles

Percent	Percentile	Standard Error	95.0% Fiducial CI	
			Lower	Upper
1	16.8503	1.09775	14.1615	18.6784
2	17.9500	1.02733	15.4445	19.6782
3	18.6847	0.981189	16.3080	20.3528
4	19.2571	0.946811	16.9820	20.8843
5	19.7356	0.919756	17.5449	21.3340
6	20.1522	0.897875	18.0337	21.7305
7	20.5248	0.879947	18.4689	22.0896

8	20.8642	0.865205	18.8633	22.4210
9	21.1777	0.853128	19.2255	22.7314
10	21.4705	0.843347	19.5614	23.0251
20	23.7768	0.831810	22.0928	25.5083
30	25.5920	0.920899	23.8982	27.7173
40	27.2524	1.07475	25.4091	29.9292
50	28.9017	1.28121	26.8097	32.2734
60	30.6507	1.54349	28.2189	34.8857
70	32.6394	1.88195	29.7554	37.9831
80	35.1312	2.35181	31.6120	42.0230
90	38.9048	3.13738	34.3226	48.4273
91	39.4427	3.25547	34.7011	49.3656
92	40.0355	3.38721	35.1163	50.4068
93	40.6975	3.53628	35.5778	51.5781
94	41.4499	3.70808	36.0993	52.9200
95	42.3249	3.91098	36.7022	54.4949
96	43.3766	4.15908	37.4220	56.4073
97	44.7055	4.47889	38.3242	58.8538
98	46.5351	4.93025	39.5542	62.2759
99	49.5721	5.70583	41.5673	68.0883

Probability Plot for Mortalitas



L6.3 Hasil Uji Toksisitas Fraksi Etil Asetat

Tabel L.6.5 Data kematian larva udang pada fraksi etil asetat

Konsentrasi (ppm)	Jumlah larva yang mati (Ekor)						%Mortalitas
	I	II	III	IV	V	Modus	
0*	0	0	0	0	0	0	0
0**	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	1	0	0	0	0
10	0	0	0	1	0	0	0
15	1	1	0	1	0	1	10
20	1	2	2	2	1	2	20
25	2	2	0	2	1	2	20
50	6	6	6	7	6	6	60

Keterangan: 0* kontrol pelarut
0** kontrol DMSO

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

Tabel L.6.6 Data mortalitas fraksi etil asetat

Konsentrasi (ppm)	Jumlah hewan uji (Ekor)	% Mortalitas	Mortalitas
0*	50	0	0
0**	50	0	0
5	50	0	0
10	50	0	0
15	50	10	5
20	50	20	10
25	50	20	10
50	50	60	30

Keterangan: 0* kontrol pelarut
0** kontrol DMSO

$$\text{mortalitas} = \% \text{ mortalitas} \times \text{jumlah hewan uji}$$

Probit Analysis: Mortalitas, N versus Konsentrasi

Distribution: Lognormal

Response Information

Variable	Value	Count
Mortalitas	Event	55
	Non-event	245
N	Total	300

Estimation Method: Maximum Likelihood

Regression Table

Variable	Coef	Standard Error	Z	P
Constant	-5.29897	0.640894	-8.27	0.000
Konsentrasi	1.42547	0.195132	7.31	0.000

Natural

Response 0

Log-Likelihood = -101.960

Goodness-of-Fit Tests

Method	Chi-Square	DF	P
Pearson	2.96092	4	0.564
Deviance	4.03078	4	0.402

Tolerance Distribution

Parameter Estimates

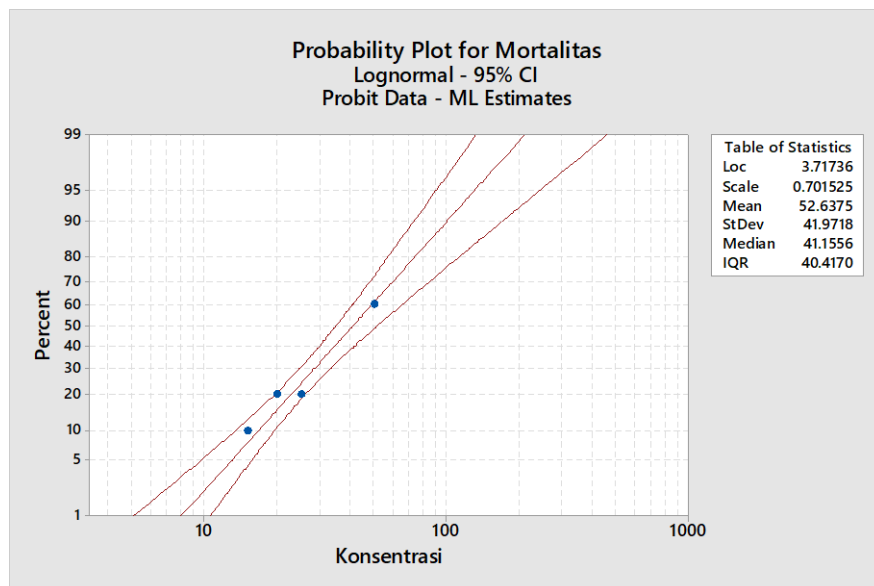
Parameter	Estimate	Standard Error	95.0% Normal CI	
			Lower	Upper
Location	3.71736	0.0952632	3.53065	3.90407
Scale	0.701525	0.0960315	0.536441	0.917411

Table of Percentiles

Percent	Percentile	Standard Error	95.0% Fiducial CI	
			Lower	Upper
1	8.04756	1.39531	5.11113	10.5856
2	9.74353	1.45957	6.60377	12.3717
3	11.0004	1.48869	7.76177	13.6717
4	12.0517	1.50403	8.75867	14.7494
5	12.9806	1.51246	9.65766	15.6975
6	13.8273	1.51712	10.4898	16.5608
7	14.6151	1.51974	11.2730	17.3647

8	15.3585	1.52143	12.0186	18.1255
9	16.0673	1.52293	12.7341	18.8542
10	16.7487	1.52481	13.4249	19.5586
20	22.8041	1.63554	19.5235	26.1547
30	28.4879	2.03276	24.8341	33.2159
40	34.4542	2.78147	29.8650	41.6108
50	41.1556	3.92061	35.0502	52.0028
60	49.1604	5.56549	40.8439	65.4543
70	59.4562	8.00578	47.8871	84.1048
80	74.2752	11.9928	57.4865	113.178
90	101.129	20.2647	73.8077	171.429
91	105.418	21.6868	76.3169	181.317
92	110.283	23.3295	79.1365	192.714
93	115.893	25.2603	82.3534	206.083
94	122.495	27.5811	86.0966	222.125
95	130.486	30.4553	90.5685	241.965
96	140.542	34.1680	96.1131	267.570
97	153.974	39.2799	103.387	302.819
98	173.837	47.1304	113.900	357.017
99	210.472	62.4026	132.647	462.918

Probability Plot for Mortalitas

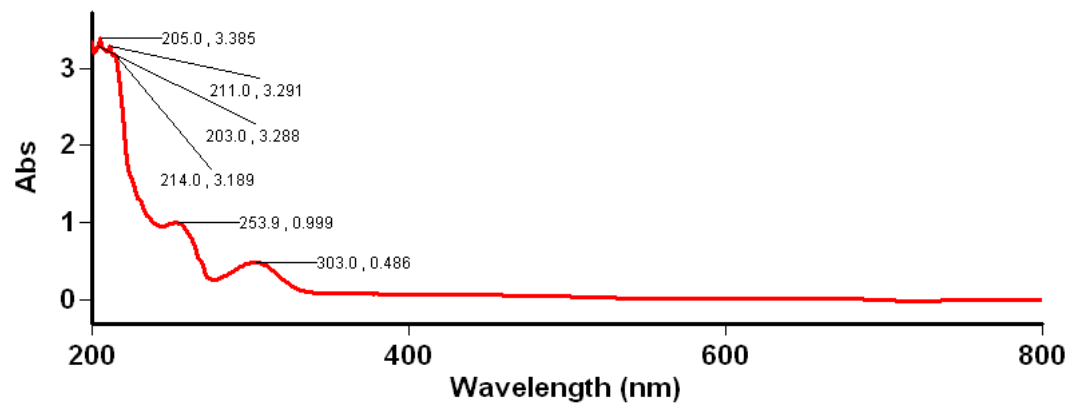


Lampiran 7. Hasil Spektra UV-Vis Masing-masing Fraksi

L.7.1 Spektra UV-Vis Fraksi *n*-Heksana

Lamdha Maks Fraksi *n*-Heksana Rimpang Jeringau

Tanggal Analisa : 08 November 2021



Scan Analysis Report

Report Time : Mon 08 Nov 01:40:51 PM 2021

Method:

Batch: D:\Mahasiswa On Going\Arief Hardiyana\Lamdha Maks Fraksi n-heksan Rimpang

Jeringau (08-11-2021).DSW

Software version: 3.00(339)

Operator: Rika

Sample Name: Fraksi *n*-heksana

Collection Time 11/8/2021 1:40:59 PM

Peak Table

Peak Style

Peaks

Peak Threshold

0.0100

Range

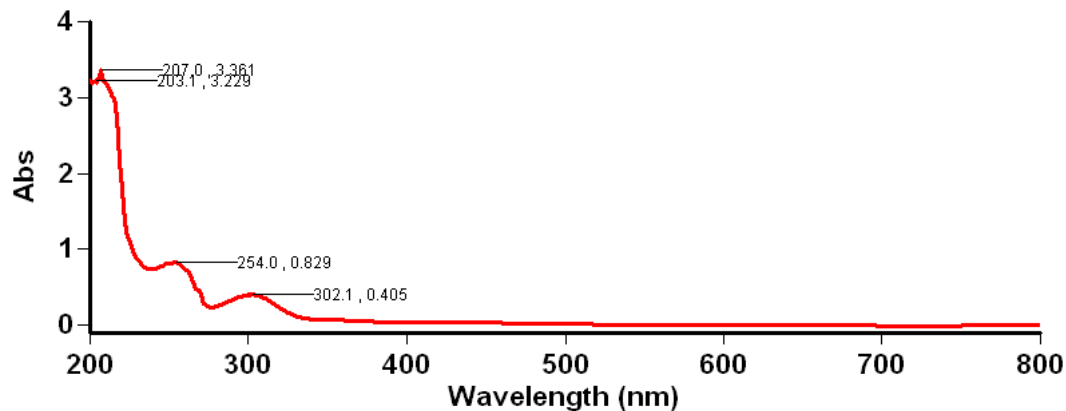
800.0nm to 200.0nm

Wavelength (nm)	Abs
303.0	0.486
253.9	0.999
214.0	3.189
211.0	3.291
205.0	3.385
203.0	3.288

L.7.2 Spektra Uv-Vis Fraksi Etil Asetat

Lamdba Maks Fraksi Etil Asetat Rimpang Jeringau

Tanggal Analisa : 02 November 2021



Scan Analysis Report

Report Time : Tue 02 Nov 01:20:53 PM 2021

Method:

Batch: D:\Mahasiswa On Going\Arief Hardiyana\Lamdba Maks Fraksi Etil Asetat rimpang Jeringau (02-11-2021).DSW

Software version: 3.00(339)

Operator: Susi

Sample Name: Fraksi Etil Asetat

Collection Time 11/2/2021 1:21:07 PM

Peak Table

Peak Style

Peaks

Peak Threshold

0.0100

Range

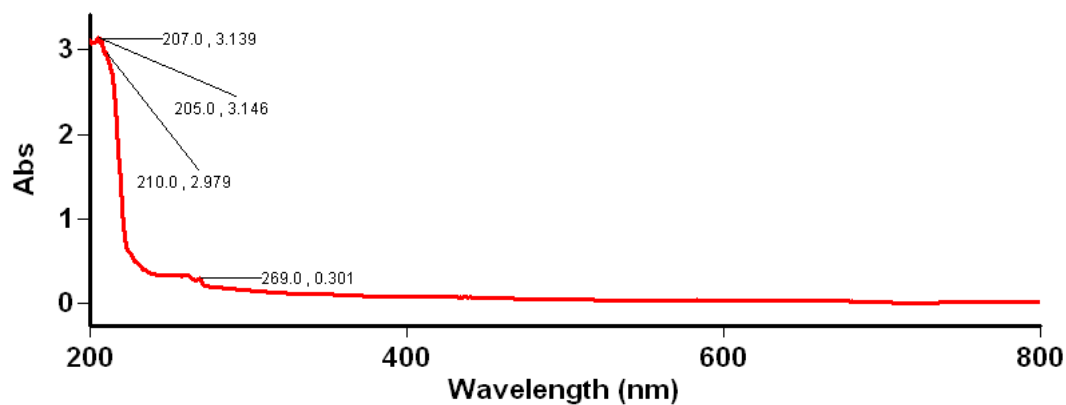
800.0nm to 199.9nm

Wavelength (nm)	Abs
302.1	0.405
254.0	0.829
207.0	3.361
203.1	3.229

L.7.3 Spektra UV-Vis Fraksi Air

Lamdha Maks Fraksi Air Rimpang Jeringau

Tanggal Analisa : 29 Oktober 2021



Scan Analysis Report

Report Time : Fri 29 Oct 01:47:04 PM 2021

Method:

Batch: D:\Mahasiswa On Going\Arief Hardiyana\Lamdha Maks Fraksi Air Rimpang Jeringau (29-10-2021).DSW

Software version: 3.00(339)

Operator: Rika

Sample Name: Fraksi Air

Collection Time

10/29/2021 1:47:07 PM

Peak Table

Peak Style

Peak Threshold

Range

Peaks

0.0100

800.0nm to 200.0nm

Wavelength (nm)	Abs
269.0	0.301
210.0	2.979
207.0	3.139
205.0	3.146



Pengovenan cawan+sampel



Penimbangan cawan+sampel

L.9.3 Ekstraksi Sonikasi



Penyiapan sampel 30 g



Proses ekstraksi sonikasi



Hasil ekstraksi sonikasi



Proses penyaringan



Pemekatan ekstrak etanol



Hasil pemekatan ekstrak etanol



Ekstrak pekat etanol

L.9.4 Hidrolisis dan Partisi



Penimbangan ekstrak



Proses hidrolisis



Penetralan dengan
 NaHCO_3



Hasil
hidrolisis



Partisi dengan *n*-heksana



Partisi dengan etil asetat



Fraksi etil asetat pekat



Fraksi *n*-heksana pekat



Fraksi air pekat

L.9.5 Uji Toksisitas

L.9.5.1 Uji Flavonoid



Ekstrak etanol



Fraksi *n*-heksana

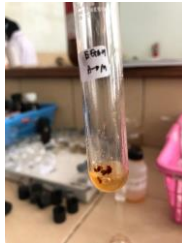


Fraksi etil asetat

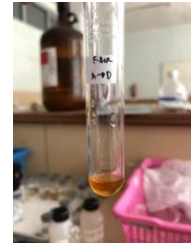
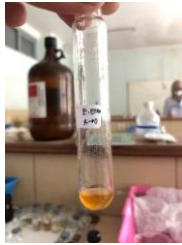


Fraksi air

L.9.5.2 Uji Alkaloid



Ekstrak etanol (M) Fraksi *n*-heksana (M) Fraksi etil asetat (M) Fraksi air (M)



Ekstrak etanol (D) Fraksi *n*-heksana (D) Fraksi etil asetat (D) Fraksi air (D)

L.9.5.3 Uji Saponin



Ekstrak etanol Fraksi *n*-heksana Fraksi etil asetat Fraksi air

L.9.5.4 Uji Steroid dan Triterpenoid



Ekstrak etanol Fraksi *n*-heksana Fraksi etil asetat Fraksi air

L.9.6 Uji Toksisitas



Proses aerasi



Hasil pembuatan larutan stok



Proses pelabelan botol vial uji



Penambahan DMSO



Penambahan larutan ragi



Proses uji toksisitas