

**UJI TOKSISITAS MENGGUNAKAN *BRINE SHRIMP LETHALITY TEST*
(BSLT) EKSTRAK DAUN SALAM (*Syzygium Polyanthum*) PELARUT
ETANOL, ETIL ASETAT DAN N-HEKSANA HASIL
EKSTRAKSI SONIKASI**

SKRIPSI

**Oleh:
UMI ANIATUL JANNAH
NIM. 16630040**



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

**UJI TOKSISITAS MENGGUNAKAN *BRINE SHRIMP LETHALITY TEST*
(BSLT) EKSTRAK DAUN SALAM (*Syzygium Polyanthum*) PELARUT
ETANOL, ETIL ASETAT DAN N-HEKSANA HASIL
EKSTRAKSI SONIKASI**

SKRIPSI

**Oleh:
UMI ANIATUL JANNAH
NIM. 16630040**

**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 MENGGUNAKAN *BRINE SHRIME LETHALITY TEST*
(BSLT) EKSTRAK DAUN SALAM (*Syzygium Polyanthum*) PELARUT
ETANOL, ETIL ASETAT DAN N-HEKSANA HASIL
EKSTRAKSI SONIKASI**

SKRIPSI

Oleh:
UMI ANIATUL JANNAH
NIM. 16630040

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji
Tanggal : 28 Desember 2021

Pembimbing I



Rachmawati Ningsih, M.Si
NIP. 198108112008012010

Pembimbing II



Dr. Akyunul Jannah, S.Si., M.P
NIP. 19750410 200501 2 009

Mengetahui
Ketua Program Studi



Rachmawati Ningsih, M.Si
NIP. 198108112008012010

HALAMAN PENGESAHAN
UJI TOKSISITAS MENGGUNAKAN *BRINE SHRIMP LETHALITY TEST*
(BSLT) EKSTRAK DAUN SALAM (*Syzygium Polyanthum*) PELARUT
ETANOL, ETIL ASETAT DAN N-HEKSANA HASIL
EKSTRAKSI SONIKASI

SKRIPSI

Oleh:

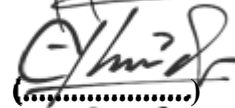
UMI ANIATUL JANNAH
NIM. 16630040

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

Penguji Utama : Dr. Anton Prasetyo, M.Si
NIP. 19770925 200604 1 003




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



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



Anggota Penguj : Dr. Akyunul Jannah, S.Si., M.P
NIP. 19750410 200501 2 009



Mengesahkan,
Ketua Program Studi



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

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Umi Aniatul Jannah
NIM : 16630040
Program Studi : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Uji Toksisitas Menggunakan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) Ekstrak Daun Salam (*Syzygium Polyanthum*) Pelarut Etanol, Etil Asetat dan N-Heksana Hasil Ekstraksi Sonikasi

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

Malang, 28 Desember 2021
Yang membuat pernyataan,



Umi Aniatul Jannah
NIM. 16630040

PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobbil alamin, segala puji syukur saya panjatkan kehadirat Allah SWT. Karya sederhana ini adalah bagian dari ibadahku kepada Allah SWT. Karena kepadaNya lah kami menyembah dan kepadaNya lah kami memohon pertolongan.

Karya ini saya persembahkan kepada teristimewa yang penulis cintai dan sayangi setelah Allah dan Rasul-Nya.

Ibu tercinta (Dra. Siti Aminah) dan Bapak tersayang (Peltu. Sutrisno) yang telah memberikan cinta dan kasihnya sepanjang masa.

suamiku terkasih (Tegar Agung Wibowo) yang mengasihiku setulus hati.

kepada ayah dan ibu mertua (Drs. Sunari dan sedyo Purwitaningsih, S.Pd) serta kakak dan adik-adikku (Irfana Atsil, S.Akun; Anisa Faras, Niken Diah Suci Rahayu dan Abdurrahman Maulidi).

Seluruh keluargaku yang telah memberikan kasih sayang, motivasi serta dukungan untuk mewujudkan cita-citaku dalam mencapai Ridha Allah SWT.

Kepada Bapak Ibu Guru dan Dosen yang tiada pernah lelah dalam mencurahkan segala ilmunya untuk membimbing saya. Sahabat-sahabatku (Rofiqo Ningrum Stephani, Chusnul Khatimah, Zilfi Wirdatul Mauliya, Afafa Ainur Rasyidah) dan teman-teman Kimia angkatan 2016 yang memberikan dukungan, semangat dan membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini serta semua pihak yang telah membantu. Semoga Allah SWT memberikan rahmat dan kasih sayang-Nya kepada kita semua. Aamiin

MOTTO

If you waste money, you will lose money. However, if you waste time, then you will lose the biggest part of your life.

(Jika kamu membuang uang, maka kamu akan kehilangan uang. Namun, jika kamu membuang waktu, maka kamu akan kehilangan bagian terbesar dalam hidupmu)

اَغْتَنِمَ خَمْسًا قَبْلَ خَمْسٍ: شَبَابَكَ قَبْلَ هَرَمِكَ، وَصِحَّتَكَ قَبْلَ سَقَمِكَ، وَغِنَاكَ قَبْلَ فَقْرِكَ،
وَفَرَاغَكَ قَبْلَ شُغْلِكَ، وَحَيَاتِكَ قَبْلَ مَوْتِكَ

"Jagalah lima perkara sebelum (datang) lima perkara (lainnya). Mudamu sebelum masa tuamu, sehatmu sebelum sakitmu, kayamu sebelum miskinmu, waktu luangmu sebelum sibukmu dan hidupmu sebelum matimu." (HR Nasai dan Baihaqi).

يَا أَيُّهَا الَّذِينَ آمَنُوا اتَّقُوا اللَّهَ وَانْتَظِرُوا اللَّهَ لِيَأْخُذَ بِكُمْ نَفْسًا مَّا قَدَّمْتُمْ لِغَدٍ وَاتَّقُوا اللَّهَ إِنَّ اللَّهَ خَبِيرٌ بِمَا تَعْمَلُونَ

"Wahai orang-orang yang beriman, bertakwalah kepada Allah, dan hendaknya setiap jiwa/ orang merenungi apa yang telah dilakukan untuk hari esok (akhirat), dan bertakwalah kepada Allah. Sungguh, Allah Mahateliti terhadap apa yang kamu kerjakan." (Q.S. al-Hasyr/59: 18).

KATA PENGANTAR



Puji syukur kepada Allah SWT berkat Rahmat, Hidayah, dan Karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan proposal skripsi dengan judul **“Uji Toksisitas Menggunakan *Brine Shrim* *Lethality Test* (BSLT) Ekstrak Daun Salam (*Syzygium Polyanthum*) Pelarut Etanol, Etil Asetat dan N-Heksana Hasil Ekstraksi Sonikasi”**.

Laporan proposal skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mengerjakan skripsi pada program Strata-1 di Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Penulis menyadari dalam penyusunan proposal skripsi ini tidak akan selesai tanpa bantuan dari berbagai pihak. Karena kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih, kepada :

1. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si selaku Ketua Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si selaku Dosen Pembimbing Skripsi.
3. Ibu Dr. Akyunul Jannah, S.Si., M.P selaku Dosen Pembimbing Agama.
4. Segenap Dosen Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan ilmunya kepada penulis.

5. Kakak-kakak tingkat di Laboratorium Organik Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
6. Orang tua, saudara-saudara, atas doa, bimbingan, serta kasih sayang yang selalu tercurah selama ini, yang telah memberikan dukungan moril maupun materil.
7. Keluarga besar Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
8. Teman-teman seperjuangan di Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang, atas semua dukungan, semangat, serta kerjasamanya.
9. Seluruh civitas akademika Jurusan Kimia, fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan dukungan moril kepada penulis.

Kami menyadari proposal skripsi ini tidak luput dari berbagai kekurangan. Penulis mengharapkan saran dan kritik demi kesempurnaan dan perbaikannya sehingga akhirnya laporan proposal skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi bidang pendidikan dan penerapan dilapangan serta bisa dikembangkan lagi lebih lanjut. Amiin.

Malang, 28 Desember 2021

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN NASKAH.....	iv
PERSEMBAHAN.....	vi
MOTTO	vii
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR TABEL	xv
ABSTRAK	xvi
ABSTRACT	xvii
ملخص البحث	xviii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan.....	5
1.4 Batasan Masalah.....	6
1.5 Manfaat.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Daun Salam (<i>Syzygium polyanthum</i>).....	7
2.2 Ekstraksi Senyawa Aktif dengan Ultrasonik.....	8
2.3 Hidrolisis Senyawa pada Ekstrak Daun Salam (<i>Syzygium polyanthum</i>)	10
2.4 Uji Toksisitas Terhadap Larva Udang (<i>Artemia Salina</i> Leach)	11
2.5 Uji Fitokimia Senyawa Aktif Daun Salam	13
2.5.1 Alkaloid	13
2.5.2 Flavonoid	14
2.5.3 Tanin	16
2.5.4 Triterpenoid	17
2.5.5 Saponin	18
2.6 Karakterisasi dengan Spektrofotometer UV-Vis.....	19
2.7 Manfaat Daun Salam Dalam Perspektif Islam	20
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	25
3.2 Alat dan Bahan Penelitian.....	25
3.2.1 Alat Penelitian.....	25
3.2.2 Bahan Penelitian.....	25
3.3 Rancangan Penelitian.....	26

3.4 Tahapan-tahapan Penelitian	27
3.5 Pelaksanaan Penelitian	27
3.5.1 Preparasi Sampel	27
3.5.2 Ekstraksi Senyawa Aktif dengan Ultrasonik.....	28
3.5.3 Karakterisasi dengan Spektrofotometer UV-Vis	28
3.5.4 Hidrolisis Senyawa Aktif	29
3.5.5 Uji Toksisitas dengan Larva Udang <i>Artemia Salina</i> Leach	29
3.5.5.1 Penetasan Telur	29
3.5.5.2 Uji Toksisitas.....	30
3.5.6 Uji Fitokimia dengan Uji Reagen	32
3.5.6.1 Uji Alkaloid.....	32
3.5.6.2 Uji Flavonoid.....	32
3.5.6.3 Uji Tanin	33
3.5.6.4 Uji Saponin.....	33
3.5.6.5 Uji Triterpenoid.....	33
3.6 Karakterisasi dengan Spektrofotometer UV-Vis	33
3.7 Analisis Data.....	34

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel	35
4.2 Ekstraksi Senyawa Aktif dengan Ultrasonik	36
4.3 Hidrolisis Senyawa pada Ekstrak Daun Salam.....	38
4.4 Uji Fitokimia	39
4.4.1 Flavonoid	40
4.4.2 Saponin	41
4.4.3 Tanin	42
4.4.4 Alkaloid	43
4.4.5 Triterpenoid	45
4.5 Karakterisasi dengan Spektrofotometer UV-Vis.....	47
4.6 Uji Toksisitas Terhadap Larva Udang <i>Artemia Salina</i> Leach.....	54
4.6.1 Penetasan Larva Udang <i>Artemia Salina</i> Leach	54
4.6.2 Uji Toksisitas	54
4.7 Manfaat Daun Salam (<i>Syzygium polyanthum</i>) dalam Perspektif Islam.....	56

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan.....	59
5.2 Saran	59

DAFTAR PUSTAKA	60
LAMPIRAN.....	67

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian	68
Lampiran 2. Skema Kerja	73
Lampiran 3. Perhitungan	75
Lampiran 4. Data Pengamatan dan Hasil Perhitungan.....	80
Lampiran 5. Hasil Uji Spektrofotometer UV-Vis	88
Lampiran 6. Dokumentasi.....	93

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Daun salam (<i>Syzygium Polyanthum</i>)	7
Gambar 2.2	Struktur senyawa alkaloid	14
Gambar 2.3	Struktur senyawa flavonoid.....	15
Gambar 2.4	Struktur senyawa tanin	17
Gambar 2.5	Struktur senyawa triterpenoid.....	18
Gambar 2.7	Struktur senyawa saponin.....	19
Gambar 4.1	Serbuk Daun Salam	35
Gambar 4.2	Ekstrak Kasar Daun Salam dari Berbagai Pelarut.....	37
Gambar 4.3	Hasil Hidrolisis Daun Salam dari Berbagai Pelarut	38
Gambar 4.4	Dugaan reaksi pada proses hidrolisis	39
Gambar 4.5	Reaksi dugaan flavonoid dengan logam Mg dan Cl.....	41
Gambar 4.6	Reaksi Perkiraan Tanin dengan $FeCl_3$	42
Gambar 4.7	Reaksi alkaloid dengan reagen Dragendorff	44
Gambar 4.8	Reaksi Lieberman-Burchard dan Triterpenoid.....	46
Gambar 4.9	Hasil uji spektrofotometer UV-Vis Ekstrak Etanol.....	47
Gambar 4.10	Hasil uji spektrofotometer UV-Vis ekstrak etil asetat.....	48
Gambar 4.11	Hasil uji spektrofotometer UV-Vis ekstrak n-heksana.....	49
Gambar 4.12	Kurva Hasil Toksisitas	53

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Tabel karakteristik penyerapan beberapa kromofor.....	20
Tabel 2.2	Tabel serapan gugus fungsi inframerah	22
Tabel 4.1	Data hasil rendemen ekstrak daun salam dari berbagai Pelarut.....	36
Tabel 4.2	Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Daun Salam.....	40
Tabel 4.3	Hasil uji toksisitas daun salam dari berbagai pelarut.....	52
Tabel 4.4	Hasil uji toksisitas ekstrak daun salam pada berbagai pelarut	53

ABSTRAK

Jannah, Umi Aniatul. 2021. **Uji Toksisitas Menggunakan *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)* Ekstrak Daun Salam (*Syzygium Polyanthum*) Pelarut Etanol, Etil Asetat dan N-Heksana Hasil Ekstraksi Sonikasi**. Skripsi. Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Rachmawati Ningsih, M.Si; Pembimbing II: Dr. Akyunul Jannah, S.Si., M.P.

Kata kunci : Daun salam (*Syzygium Polyanthum*), Toksisitas, BSLT, UV-Vis

Daun salam (*Syzygium Polyanthum*) merupakan tumbuhan yang mudah hidup di dataran rendah maupun tinggi. Biasanya digunakan sebagai penyedap rasa pada makanan dan dalam bidang pengobatan karena mengandung metabolit sekunder. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui tingkat toksisitas golongan senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak daun salam dan mengetahui gugus fungsi di dalamnya. Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode ekstraksi ultrasonik dengan menggunakan variasi pelarut etanol, etil asetat dan n-heksana. Ekstrak akan dilakukan uji lanjut fitokimia dan uji toksisitas menggunakan metode BSLT dengan menghitung nilai LC_{50} dan karakterisasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dalam kisaran panjang gelombang 200-800 nm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa hasil uji toksisitas ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksana terhadap larva udang *Artemia Salina* L. diperoleh nilai LC_{50} secara berturut-turut sebesar 708,23 ppm, 1258,79 ppm dan 629,58 ppm. Hasil fitokimia pada ketiga ekstrak adalah senyawa flavonoid. Hasil tersebut Pada ekstrak n-heksana selain mengandung flavonoid juga terdapat senyawa alkaloid dan triterpenoid.

ABSTRACT

Jannah, Umi Aniatul. 2021. **Toxicity Test Using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) Extract of Salam Leaves (Syzygium Polyanthum) Ethanol, Ethyl Acetate and N-Hexane Solvents from Sonication Extraction.** Proposal. Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Maulana Malik Ibrahim State Islamic University of Malang. Supervisor I: Rachmawati Ningsih, M.Si; Supervisor II: Dr. Akyunul Jannah, S.Si., M.P.

Keywords: Salam leaf (*Syzygium Polyanthum*), toxicity, BSLT, UV-Vis

Salam leaf (*Syzygium Polyanthum*) is a plant that easily lives in the low and highlands. Usually used as a flavoring in food and in the field of medicine because it contains secondary metabolites. The purpose of this study was to determine the level of toxicity of the active compound in the bay leaf extract and to determine the functional groups in it. The extraction method used is the ultrasonic extraction method using a variety of solvents ethanol 96%, ethyl acetate and n-hexane. The extract will be subjected to further phytochemical tests and toxicity tests using the BSLT method by calculating the LC_{50} value and characterisation using a UV-Vis spectrophotometer in the 200-800 nm wavelength range. The results showed that the results of the toxicity test of ethanol, ethyl acetate and n-hexane extracts against *Artemia Salina* L. shrimp larvae obtained LC_{50} values of 708,23 ppm, 1258,79 ppm and 629,581 ppm respectively. The phytochemical results in the third extract were flavonoid compounds. These results in the n-hexane extract, besides containing flavonoids, there are also alkaloids and triterpenoids.

ملخص البحث

جئة، أمي أنيتل. 2021 . تجربة السموم تستعمل *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) خلع ورقة سلام (*Syzygium Polyanthum*) مسيل ايتانول، ايتيل آسيتات، ن-هيكسانا حاصل خلع سونيكاسي. البحث العلمي. القسم الكيمياء، كآية العلم والتكنولوجيا، الجامعة الإسلامية الرسمة مولانا مالك إبراهيم مالانج. المشرفة الأولى: رحمواتي ننكسيه، الماجيستير؛ المشرفة الثانية : الدكتور. أعين الجنة، الماجيستير.

الكلمات الرئيسية : ورقة سلام (*Syzygium Polyanthum*)، السموم، BSLT، اوفي-فيس.

كانت ورقة سلام (*Syzygium Polyanthum*) هي النبات التي تحيي في المنخفض و المرتفع. و تستعمل عادة لمحبيب الشعور في الطعام و قسم العلاج لأنها تحتوي على ميتبوليت الثاني. و غرض هذا البحث هو لمعرفة درجة السموم لفرقة المستحضر الفعال فيه خلع ورقة سلام و لمعرفة القسم الأهمي فيها. و طريقة الخلع المستخدم هي و طريقة خلع الصوتية باستعمال تنوع مسيل ايتانول، ايتيل آسيتات، ن-هيكسانا. و سيعمل الخلع بتجربة استمرار فيتوكيمياء و تجربة السموم تستعمل طريقة BSLT بحساب قيمة LC_{50} و الخاصية تستعمل سفكتروفوميتر اوفي-فيس قدر استطيال موج 200-800 nm. و تدل نتيجة هذا البحث أن تجربة سموم خلع ايتانول، ايتيل آسيتات، ن-هيكسانا نحو يرقة الجنبري *Artemia Salina* L تُنال قيمة LC_{50} متواليا قدر ppm 708,23، ppm 1258,79 و ppm 629,581. و حاصل فيتوكيمياء في الخلع الثالث هو المستحضر فلافونويد. وذلك الحاصل في خلع ن-هيكسانا غير يحتوي فلافونويد فيه مستحضر الكالونيد و تريثيرفينويد.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Daun salam umumnya dimanfaatkan masyarakat sebagai rempah penyedap masakan untuk memberikan aroma khas. Selain itu, daun salam dapat dimanfaatkan dalam bidang pengobatan (Dalimartha, 2000). Pengobatan merupakan usaha agar mendapatkan kesembuhan dari suatu penyakit. Tanaman obat telah dijelaskan sebagaimana firman Allah dalam al-Qur'an surat Al-An'am ayat 141 :

وَهُوَ الَّذِي أَنشَأَ جَنَّاتٍ مَّعْرُوسَاتٍ وَعَبَرِ مَعْرُوسَاتٍ وَالنَّخْلَ وَالزَّرْعَ مُخْتَلِفًا أَكْلُهُ ۗ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَانَ مُنْتَسِبًا
وَعَبَرِ مُنْتَسِبًا كُلُّوْا مِنْ ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَءَاتُوا حَقَّهُ ۗ يَوْمَ حَصَادِهِ وَلَا تُسْرِفُوا إِنَّهُ لَا يُحِبُّ الْمُسْرِفِينَ

Terjemah Arti: Dan Dialah yang menjadikan kebun-kebon yang berjunjung dan yang tidak berjunjung, pohon korma, tanam-tanaman yang bermacam-macam buahnya, zaitun dan delima yang serupa (bentuk dan warnanya) dan tidak sama (rasanya). Makanlah dari buahnya (yang bermacam-macam itu) bila dia berbuah, dan tunaikanlah haknya di hari memetik hasilnya (dengan disedekahkan kepada fakir miskin) dan janganlah kamu berlebih-lebihan. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang yang berlebih-lebihan (QS : Al-An'am (06) : 141).

Berdasarkan ayat tersebut menunjukkan bahwa Allah SWT menciptakan berbagai jenis tanaman (Al-Jazairi, 2007). Tanaman tersebut dapat dimanfaatkan oleh manusia agar manusia seraya bersyukur kepadanya (Qurthubi, 2008). Salah

satu manfaat tanaman adalah digunakan sebagai obat. Daun salam merupakan salah satu tanaman yang berpotensi sebagai obat.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa daun salam diketahui mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid, terpenoid, minyak atsiri (0,05%), sitral dan eugenol (Herbie, 2015; Evendi, 2017; Silalahi, 2017). Oleh karena itu, daun salam sering digunakan untuk mengobati penyakit gastritis, diare, tekanan darah tinggi dan kolesterol dengan menurunkan kadar kolesterol total dan masih banyak penyakit lainnya (Kemenkes, dkk., 2011). Kandungan daun salam (*Syzygium polyanthum*) merupakan bahan aktif yang diduga memiliki efek Farmakologis, tanin dan flavonoid merupakan bahan aktif yang mempunyai efek anti-inflamasi dan antimikroba, sedangkan minyak atsiri mempunyai efek analgesik (Robinson, 1995).

Kandungan metabolit sekunder daun salam pada tiap daerah berbeda-beda. Fareza, dkk. (2019) melakukan penelitian perbandingan senyawa minyak atsiri daun salam pada daerah Bekasi, Lembang, Purwokerto, Baturaden dan Curup. Kandungan utama minyak atsiri dari lima daerah tersebut adalah aldehid dan terpenoid. Komponen kimia aldehid dan terpenoid terbesar terdapat pada daerah Curup.

Kandungan antioksidan dan senyawa metabolit sekunder daun salam berpengaruh terdapat umur daun salam. Penelitian yang dilakukan Bahriul, dkk. (2014) menguji kadar antioksidan daun salam muda, setengah tua dan tua. Hasilnya menunjukkan bahwa daun salam muda memiliki nilai IC_{50} 37,441 ppm, daun setengah tua menghasilkan 14,889 ppm dan daun tua menghasilkan 11,001 ppm. Menurut Fadli (2019) daun salam tua diambil dari daun pucuk nomor 5 ke bawah.

Beberapa penelitian daun salam memiliki banyak manfaat sebagai tumbuhan obat yaitu sebagai antioksidan. Penelitian Ramadhania, dkk. (2018) menunjukkan ekstrak metanol dan fraksi daun salam memiliki potensi besar terhadap bakteri gram positif aureus dan bakteri gram negatif *E. Coli* karena mengandung senyawa tanin, flavonoid dan minyak atsiri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Pada penelitian Lumowa, dkk. (2015) menunjukkan bahwa terdapat persentase kematian larva nyamuk *Aedes Aegypti L.* rata-rata 18,68; 32; 54,68 dan 78% berturut turut pada konsentrasi ekstrak 0,25; 0,5; 0,75 dan 1%. Ekstrak daun salam memiliki manfaat sebagai antimalaria. Berdasarkan penelitian tersebut dapat diduga bahwa daun salam memiliki efek sebagai antikanker, antitumor, antimikroba, antimalaria. Maka perlu dilakukan uji toksisitas terhadap daun salam.

Beberapa penelitian menunjukkan toksisitas daun salam. Penelitian yang dilakukan Dewijanti, dkk. (2019) menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70 % daun salam memiliki efek toksik LC_{50} 707,945 $\mu\text{g/mL}$ dan ekstrak etanol 96% memiliki efek toksik 977,237 $\mu\text{g/mL}$ terhadap *Artemia Salina*. Penelitian Fadli, dkk. (2019) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun salam berpotensi toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan nilai $LC_{50} < 1000 \mu\text{g} / \text{mL}$ yaitu sebesar 347,2126 $\mu\text{g} / \text{mL}$.

Uji toksisitas tahap awal dilakukan dengan diujikan terhadap organisme akuatik untuk mengetahui nilai LC_{50} (*Lethal Concentration 50*) (Soemirat, 2005). Pengujian bioaktivitasnya dilakukan dengan uji toksisitas terhadap larva udang *Artemia Salina* menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Artemia* digunakan karena memiliki kesamaan tanggapan dengan mamalia (Solis, 1993).

Metode BSLT ini sering digunakan karena relatif murah, cepat, dan hasilnya dapat dipercaya (Meyer, dkk., 1982). Dirgantara (2018) melakukan penelitian toksisitas ekstrak *Breynia Cernia* menggunakan metode BSLT dan *Microculture Tetrazolium Salt* (MTT) terhadap sel kanker *Michigan Cancer Foundation-7* (MCF-7). Hasilnya menunjukkan ekstrak yang bersifat toksik pada metode BSLT juga bersifat toksik pada metode MTT.

Potensi atau bioaktivitas suatu bahan alam sangat dipengaruhi oleh kandungan senyawa kimia yang terdapat di dalamnya. Untuk mendapatkan senyawa aktif tersebut dipengaruhi oleh metode ekstraksi dan pelarut yang digunakan. Penelitian ini menggunakan pelarut yang berbeda kepolaran yaitu etanol, etil asetat dan *n*-heksana yang berfungsi untuk melarutkan senyawa aktif yang terdapat pada daun salam. Penelitian yang dilakukan Fitri, dkk. (2020) ekstraksi daun salam menggunakan pelarut etanol 96% menghasilkan nilai rendemen sebesar 12,77%. Penelitian Azhar, dkk. (2019) ekstraksi daun salam menggunakan pelarut etil asetat menghasilkan nilai rendemen sebesar 3,5946% dan *n*-heksana sebesar 1,326%.

Penelitian ini menggunakan metode ekstraksi *ultrasonic bath*. Kelebihan ultrasonik yaitu lebih efisien, waktu lebih cepat dan biasanya laju perpindahan masa lebih cepat daripada ekstraksi konvensional seperti *Soxhlet* (Garcia dan Castro, 2004). Penelitian Dai, dkk. (2015) menghasilkan nilai alkaloid yang berbeda-beda pada tanaman *Dipsacus asperoides* dengan menggunakan 3 metode ekstraksi yaitu *Soxhlet*, maserasi dan ultrasonik. Pada ekstraksi *Soxhlet* dihasilkan nilai alkaloid total yaitu 0,520 mg/g selama 6 jam, pada maserasi dihasilkan 0,285 mg/g selama 48 jam, pada ekstraksi ultrasonik dihasilkan 0,590 mg/g selama 1 jam. Dari hasil

penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstraksi ultrasonik lebih efisien untuk mengekstrak senyawa kimia dibandingkan dengan ekstraksi *Soxhlet* dan maserasi.

Berdasarkan uraian di atas, maka dilakukan uji toksisitas pada setiap ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) dengan metode BSLT. Kemudian uji fitokimia untuk mengetahui senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak daun salam. Selanjutnya identifikasi senyawa aktif menggunakan UV-Vis.

1.2 Rumusan Masalah

- a) Bagaimana tingkat toksisitas masing-masing ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) dalam tiap pelarut etanol, etil asetat dan *n*-heksana terhadap larva udang *Artemia salina* Leach?
- b) Golongan senyawa aktif apa yang terdapat pada ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) pada pelarut etanol, etil asetat dan *n*-heksana dengan uji fitokimia?
- c) Bagaimana karakterisasi pada ekstrak daun salam menggunakan UV-Vis?

1.3 Tujuan

- a) Untuk mengetahui tingkat toksisitas masing-masing ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) dalam tiap pelarut etanol, etil asetat dan *n*-heksana terhadap larva udang *Artemia salina* Leach.
- b) Untuk mengetahui golongan senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) pada pelarut etanol, etil asetat dan *n*-heksana dengan uji fitokimia.

- c) Untuk mengetahui karakterisasi pada ekstrak daun salam menggunakan UV-Vis.

1.4 Batasan Masalah

- a) Penelitian ini menggunakan sampel daun salam (*Syzygium polyanthum*) yang diperoleh dari daerah Sipring Pagelaran Malang, Jawa Timur.
- b) Pelarut yang digunakan adalah pelarut etanol, etil asetat dan *n*-heksana.
- c) Hewan uji toksisitas yang digunakan adalah *Artemia salina* Leach.

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang toksisitas ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) dan senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Daun Salam (*Syzygium polyanthum*)

Daun salam mengandung beberapa vitamin dan mineral. Kandungan gizi dalam 100 gram daun salam diantaranya 400,00 energi, 57,00 zat besi dan 8214,00 vitamin A. Vitamin pada daun salam diantaranya vitamin C, vitamin A, vitamin E, vitamin B6, vitamin B12, thiamin, riboflavin, niacin dan asam folat. Kandungan mineral pada daun salam yaitu zat besi, fosfor, kalsium, magnesium, selenium, seng, natrium dan kalium (Harismah dan Chusniatun, 2016). Bentuk dari daun salam (*Syzygium polyanthum*) ditampilkan pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Daun Salam (*Syzygium Polyanthum*)
(Harismah dan Chusniatun, 2016)

Senyawa metabolit sekunder pada daun salam terdapat senyawa Alkaloid, flavonoid, steroid, tanin, saponin dan terpenoid. Pada penelitian skrining fitokimia

tanaman obat daun salam mengandung flavonoid, alkaloid, steroid dan tanin (Agustina, dkk., 2016). Penelitian pada kegiatan biologis dan analisis fitokimia tiga tanaman obat Indonesia menggunakan pelarut etanol 95% menunjukkan bahwa daun salam mengandung tanin, alkaloid, steroid, triterpenoid dan flavonoid (Kusuma, dkk., 2011). Pada penelitian obat herbal dan tradisional didapat bahwa daun salam mengandung tanin, minyak atsiri, seskuiterpen, triterpenoid, steroidsitral, saponin dan karbohidrat (Moeloek, 2006). Penelitian lain menunjukkan bahwa ekstrak daun salam dengan pelarut metanol mengandung senyawa aktif berupa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan steroid (Evendi, 2017).

Daun salam merupakan daun tunggal yang berbentuk lonjong sampai elips, letak berhadapan, panjang tangkai 0,5-1 cm, ujung meruncing, pangkal runcing, tepi rata, panjang daun 5-15 cm dengan lebar 3-8 cm, pertulangan menyirip, permukaan atas daun licin berwarna hijau tua dan permukaan bawah berwarna hijau muda serta daun salam memiliki bau wangi (Dalimatra, 2002).

2.2 Ekstraksi Senyawa Aktif dengan Ultrasonik

Ekstraksi adalah proses pemisahan suatu zat berdasarkan perbedaan kelarutan terhadap dua cairan yang tidak saling larut. Tujuan ekstraksi bahan alam adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. Ekstraksi suatu senyawa dilakukan berdasarkan sifat umum yang dimilikinya (Harborne, 1987). Ekstraksi ultrasonik merupakan ekstraksi dengan perambatan energi melalui gelombang ultrasonik dengan menggunakan cairan sebagai media perambatan yang dapat meningkatkan intensitas perpindahan energi, sehingga proses ekstraksi lebih maksimal (Torres, dkk., 2017).

Ekstraksi pada bahan jahe terdapat 3 metode yaitu Soxhlet, maserasi dan ultrasonik. Penelitian Oktora, dkk. (2007) menggunakan ekstraksi Soxhlet menghasilkan rendemen 85,40% dengan waktu ekstraksi 30 jam atau 1800 menit. Pada ekstraksi maserasi menghasilkan rendemen 83,43% dengan waktu ekstraksi 24 jam atau 1440 menit. Penelitian Hartuti dan Supardan (2012) menggunakan ekstraksi ultrasonik menghasilkan rendemen 11,03% dengan waktu 79 menit. Metode ultrasonik merupakan ekstraksi terbaik karena dengan waktu singkat dapat memperoleh hasil rendemen 11,03% dibandingkan dengan persentase rendemen dan waktu metode ekstraksi *Soxhlet* dan maserasi yang memerlukan waktu lebih lama.

Baihaqi, dkk. (2018) melakukan penelitian menggunakan ekstraksi ultrasonik dan maserasi dengan pelarut etanol pada Oleoresin Pala menunjukkan hasil rendemen pada ekstraksi ultrasonik sebesar 31,33% dengan lama ekstraksi 30 menit. Sedangkan pada ekstraksi maserasi dihasilkan rendemen sebesar 20,11% dengan lama ekstraksi 420 menit. Ekstraksi ultrasonik pada penelitian tersebut lebih efisien dibandingkan dengan ekstraksi maserasi.

Pemilihan pelarut untuk proses ekstraksi perlu pertimbangan karakteristik keseluruhan sistem reaksi, khususnya pada rentang polaritas substrat dan produk reaksi. Kemungkinan yang digunakan adalah interaksinya dengan pelarut (Yang, dkk., 1994). Kelarutan suatu senyawa berbeda-beda dalam pelarut yang beda. Senyawa kimia akan mudah larut pada pelarut yang relatif sama kepolarannya. Kepolaran pelarut tergantung pada tahapan dielektrik, makin besar tahapan dielektrik maka semakin polar pelarut tersebut (Harborne, 1987). Ekstraksi pada penelitian ini menggunakan pelarut polar, semi polar dan nonpolar untuk

mendapatkan kandungan kimia (metabolit sekunder) yang dimiliki tanaman salam berdasarkan tingkat kepolaran pelarut tersebut. Pada penelitian rivai, dkk. (2019) untuk melarutkan senyawa alkaloid, flavonoid, fenol dan tanin menggunakan pelarut etanol karena senyawa tersebut larut dalam pelarut polar. Pada penelitian Azhar, dkk. (2019) untuk melarutkan senyawa terpenoid menggunakan pelarut etil asetat.

2.3 Hidrolisis Senyawa pada Ekstrak *Syzygium polyanthum*

Pemisahan senyawa metabolit sekunder yang lebih spesifik dapat dilakukan dengan proses hidrolisis dan partisi. Hidrolisis merupakan proses dekomposisi kimia dengan menggunakan pelarut untuk memecah ikatan kimia dari substansinya. Prinsip hidrolisis asam yaitu peruraian suatu senyawa dengan cara memutus ikatan glikosida menggunakan air dan katalis asam (Saifuddin, dkk., 2006). Senyawa organik dalam tanaman umumnya berbentuk glikosida, yaitu senyawa yang terdiri dari gula (glikon) dan senyawa bukan gula (aglikon). Senyawa glikon bersifat polar dan aglikon bersifat polar, semi polar dan non polar. Metabolit primer tergolong dalam senyawa glikon dan metabolit sekunder tergolong dalam senyawa aglikon (Didik, 2004). Penelitian Auliawan dan Cahyono (2014) menunjukkan bahwa kadar fenolat total pada daun Iler tanpa hidrolisis diperoleh nilai rata-rata 156,38 mg/g bobot kering sampel dan yang dihidrolisis diperoleh nilai rata-rata 180,37 mg/g bobot kering sampel.

Penambahan asam pada proses hidrolisis akan berpengaruh terhadap kekuatan pelepasan proton dari asam tersebut sehingga proton akan membantu dalam pemutusan ikatan glikosida. Semakin banyak proton yang terionisasi dalam

air, maka semakin kuat peranan proton dalam pemutusan ikatan glikosida (Handoko, 2006). Menurut Nihlati, dkk. (2008) reaksi hidrolisis menggunakan air berlangsung sangat lambat sehingga memerlukan bantuan katalisator seperti asam. Asam klorida sering digunakan karena merupakan asam kuat.

Asam kuat seperti HCl lebih baik digunakan pada proses hidrolisis dibandingkan dengan H₂SO₄ karena HCl bersifat lebih reaktif (Wahyudi, 2011). Menurut Nihlati, dkk. (2008) katalisator HCl akan membentuk garam NaCl yang sifatnya tidak berbahaya. Menurut Tasic, dkk. (2009) HCl yang digunakan berkonsentrasi 2 N karena pada konsentrasi tersebut laju reaksi HCl lebih cepat (0,052 min⁻¹) daripada konsentrasi 1 N. Untuk menghentikan reaksi hidrolisis yaitu dengan penetralan, penetralan dilakukan dengan cara menambahkan basa NaHCO₃. Penetralan berfungsi untuk menstabilkan glikosida, karena glikosida bersifat stabil pada kondisi netral (Fessenden dan Fessenden, 1986).

2.4 Uji Toksisitas Terhadap Larva Udang (*Artemia Salina* Leach)

Toksisitas menurut ilmu kimia adalah kerusakan yang ditimbulkan oleh suatu bentuk aksi kimia yang mempunyai bentuk dan variasi yang luas. Asam kuat atau alkalis yang mengalami kontak langsung dengan organ mata, kulit atau saluran pencernaan, dapat mengakibatkan kerusakan pada jaringan dan bahkan kematian pada sel (Palar, 1994). Uji toksisitas akut dengan hewan uji *Artemia salina* Leach dapat digunakan sebagai uji pendahuluan pada penelitian yang mengarah ke uji sitotoksik, karena ada kaitan antara uji toksisitas akut dengan uji sitotoksik jika harga LC₅₀ dari toksisitas akut < 1000 µg/mL (Meyer, dkk., 1982).

Metode BSLT merupakan salah satu metode skrining untuk mengetahui toksisitas suatu ekstrak ataupun senyawa bahan alam (Sukardiman, 2004). Uji toksisitas ini dapat diketahui dari jumlah kematian larva *Artemia salina* L. karena pengaruh perubahan ekstrak atau senyawa bahan alam pada konsentrasi tertentu (McLaughlin, dkk., 1998). Bioaktivitas yang dapat dideteksi dari skrining awal dengan metode BSLT diantaranya adalah antikanker, antitumor, antimalaria, antimikroba, *immunosuppressive*, *antifeedant* dan residu pestisida (Colegate dan Molyneux, 2007).

Metode pengujian dengan larva *Artemia salina* Leach merupakan cara yang paling efektif dan sederhana karena ketersediaan telur larva yang mudah menetas, pertumbuhannya cepat dan relatif mudah pengaturan populasinya pada kondisi laboratorium. Pengembangan metode ini didasarkan pada sifat khas dari larva udang yang dapat menerima segala jenis zat dan bahan tanpa seleksi terlebih dahulu, pengerjaannya mudah, cepat serta menggunakan sampel yang relatif sedikit. Metode ini dapat digunakan sebagai metode awal untuk menemukan komponen antikanker (McLaughlin, 1991 ; Santi, 2009).

Daun salam mengandung alkaloid, steroid dan flavonoid. Menurut (Rita, dkk., 2008) Senyawa tersebut berhubungan dengan kematian larva *Artemia Salina* Leach yang dapat menghambat daya makan larva. Cara kerja senyawa tersebut yaitu dengan bertindak sebagai racun perut, apabila senyawa-senyawa tersebut masuk ke dalam larva, alat pencernaannya akan terganggu. Senyawa ini menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva. Hal ini mengakibatkan larva gagal mendapatkan stimulus rasa sehingga tidak mampu mengenali makanannya dan akibatnya larva mati kelaparan.

2.5 Uji Fitokimia Senyawa Aktif Daun Salam

Menurut Robinson (1991) alasan melakukan uji fitokimia yaitu menentukan ciri senyawa aktif penyebab efek racun atau efek yang bermanfaat yang ditunjukkan oleh ekstrak tumbuhan kasar bila diuji dengan sistem biologis. Pemanfaatan prosedur uji fitokimia telah mempunyai peranan yang mapan dalam semua cabang ilmu tumbuhan. Uji fitokimia dilakukan dengan menggunakan pereaksi yang spesifik terhadap suatu golongan senyawa. Pengerjaannya dapat dilakukan pada plat tetes atau tabung pereaksi yaitu dengan mereaksikan sedikit sampel dengan pereaksi golongan senyawa tertentu. Perubahan warna yang terjadi tergantung dari pereaksi yang digunakan dan golongan senyawa apa yang terkandung di dalamnya.

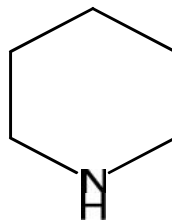
2.5.1 Alkaloid

Penelitian Rivai, dkk. (2019) menunjukkan bahwa uji fitokimia terhadap ekstrak etanol daun salam terdapat senyawa alkaloid sebesar 0,34 %. Alkaloid adalah senyawa metabolit sekunder terbanyak yang memiliki atom Nitrogen (N), terdapat dalam tumbuhan dan hewan. Alkaloid dalam tumbuhan berfungsi sebagai racun yang dapat melindungi dari serangga dan herbivora (Wink, 2008).

Alkaloid juga terdapat pada daun jambang (*Syzygium cumini*) pada penelitian Gafur, dkk. (2013) menunjukkan bahwa ekstrak metanol, *n*-heksana, air dan fraksi etil-asetat mengandung senyawa alkaloid. Pada ekstrak daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*) pada penelitian Shalihat, dkk. (2020) menunjukkan adanya senyawa alkaloid.

Alkaloid pada daun salam berfungsi sebagai antimalaria. Senyawa alkaloid merupakan bentuk garam yang dapat merusak sel dan mengganggu kerja sistem

saraf dengan menghalangi aksi enzim *acetyl cholinesterase* pada larva nyamuk sehingga dapat digunakan sebagai antimalaria (Lumowa dan Puput, 2015). Struktur umum alkaloid ditampilkan pada Gambar 2.2 (Robinson, 1995).



Gambar 2.2 Struktur senyawa alkaloid

Deteksi alkaloid paling banyak menggunakan pereaksi Mayer (kalium tetraiodomercurat) karena pereaksi ini mengendapkan hampir semua alkaloid. Pereaksi lain yang sering digunakan yaitu pereaksi *Wagner* (iodium dalam kalium iodida), asam silikotungstat 5 %, asam tanat 5 %, pereaksi *Dragendorff* (kalium tetraiodobismutat), iodoplatinat dan larutan asam pikrat jenuh (Robinson, 1995).

2.5.2 Flavonoid

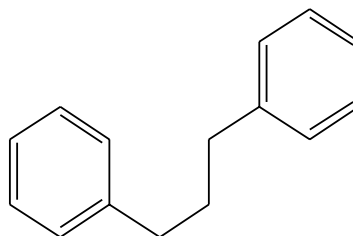
Menurut Prahastuti, dkk. (2011) daun salam mengandung senyawa utama yaitu flavonoid. Flavonoid yang terkandung dalam daun salam adalah kuersetin dan fluoretin. Penelitian Rivai (2019) menunjukkan uji fitokimia flavonoid pada ekstrak etanol daun salam sebesar 0,512 % dan pada ekstrak air sebesar 0,486%.

Flavonoid juga terdapat pada daun jambang (*Syzygium cumini*) pada penelitian Gafur, dkk. (2013) menunjukkan bahwa ekstrak metanol, *n*-heksana, air dan fraksi etil-asetat mengandung senyawa flavonoid. Pada ekstrak daun cengkeh

(*Syzygium aromaticum*) pada penelitian Shalihat, dkk. (2020) menunjukkan adanya senyawa flavonoid.

Flavonoid yang terdapat pada daun salam berfungsi sebagai antimalaria yang cara kerjanya merusak sistem pernafasan (Lumowa dan Puput, 2015). Sebagai antiinflamasi yang mekanisme kerjanya menghambat jalur siklooksigenase pada jalur metabolisme asam arakidonat (Agustina, dkk., 2015). Sebagai antioksidan yang mekanisme kerjanya dapat menghambat terjadinya kerusakan dan mereduksi resiko terjadinya penyakit degeneratif (Sutrisna, dkk., 2016).

Flavonoid merupakan senyawa fenol yang banyak ditemukan di alam. Banyaknya senyawa flavonoid bukan dikarenakan banyaknya variasi struktur, akan tetapi dikarenakan oleh berbagai tingkat hidroksilasi, alkoksilasi atau glikosilasi pada struktur tersebut. Flavonoid di alam sering dijumpai dalam bentuk glikosida (Kristanti, 2008) seperti yang ditampilkan dalam Gambar 2.3 (Robinson, 1995).



Gambar 2.3 Struktur senyawa flavonoid

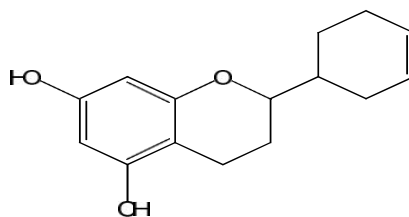
Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa fenol yang memiliki banyak gugus –OH dengan adanya perbedaan keelektronegatifan yang tinggi, sehingga sifatnya polar. Golongan senyawa ini mudah terekstrak dalam pelarut etanol yang memiliki sifat polar karena adanya gugus hidroksil, sehingga dapat terbentuk ikatan

hidrogen. Uji flavonoid dilakukan dengan penambahan serbuk Mg dan HCl pekat. Flavonoid ditunjukkan dengan adanya warna merah atau jingga (Astuti, 2012).

2.5.3 Tanin

Menurut penelitian yang dilakukan Rivai, dkk. (2019) senyawa tanin pada daun salam terdapat pada ekstrak aseton, etanol dan air. Pada ekstrak aseton sebesar 0,1452%, pada ekstrak etanol sebesar 0,1688% dan pada ekstrak air sebesar 0,622%. Tanin juga terdapat pada daun ekstrak daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*) pada uji fitokimia penelitian Shalihat, dkk. (2020) menunjukkan adanya senyawa Tanin.

Tanin pada daun salam dapat digunakan sebagai antibakteri dengan menghambat pertumbuhan bakteri (Sari, 2012). Sebagai antimalaria dengan menghambat aktivitas enzim membentuk ikatan kompleks dengan protein ke enzim dan substrat yang dapat menyebabkan gangguan pencernaan dan menghancurkan sel (Lumowa dan Puput, 2015). Sebagai antioksidan yang mekanisme kerjanya dapat menghambat terjadinya kerusakan dan mereduksi resiko terjadinya penyakit degeneratif (Sutrisna, dkk., 2016). Sebagai antikolesterol yang berperan menghambat penyerapan kolesterol di usus (Sutrisna, dkk., 2018). Struktur umum senyawa tanin ditampilkan pada Gambar 2.4 (Robinson, 1995).

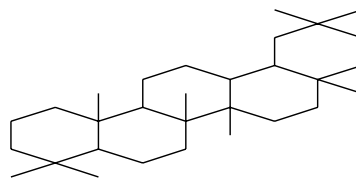


Gambar 2.4 Struktur senyawa tanin

2.5.4 Triterpenoid

Penelitian yang dilakukan oleh Wilapangga (2018) pada ekstrak metanol daun salam menunjukkan positif senyawa Alkaloid, Flavonoid, Saponin, Steroid, Terpenoid dan Tanin. Triterpenoid merupakan komponen yang mempunyai bau dan dapat diisolasi dari bahan nabati dengan penyulingan sebagai minyak atsiri. (Harborne, 1987). Terpenoid juga terdapat pada daun jambang (*Syzygium cumini*), pada penelitian Gafur, dkk., (2013) menunjukkan bahwa ekstrak metanol, air dan fraksi etil-asetat mengandung senyawa terpenoid.

Triterpenoid pada daun salam dapat digunakan sebagai antijamur. Senyawa seskuiterpenoid farnesol dan senyawa golongan terpenoid *phytol* yang diketahui dapat merusak membran sel jamur sehingga terjadi kebocoran ion dari sel jamur (Fitriani, dkk., 2012).



Gambar 2.5 Struktur senyawa triterpenoid

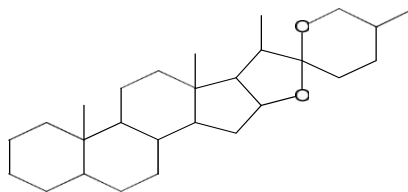
Triterpenoid berfungsi sebagai pelindung untuk menolak serangga dan serangan mikroba. Pereaksi yang umumnya digunakan untuk mendeteksi triterpenoid adalah Lieberman-Burchard yang menghasilkan warna violet (Harborne, 1987). Struktur umum senyawa triterpenoid ditampilkan pada Gambar 2.5 (Robinson, 1995).

2.5.5 Saponin

Saponin dalam larutan yang sangat encer memiliki efek sebagai racun ikan, selain itu saponin juga berpotensi sebagai antimikroba, dapat digunakan sebagai bahan baku sintesis hormon steroid (Robinson, 1995). Menurut Heldt (2011) Saponin secara umum banyak disintesis pada daun dan batang.

Saponin pada daun salam dapat berfungsi sebagai antimalaria dengan mekanisme kerja dapat menurunkan aktivitas enzim pencernaan, serta penyerapan makanan juga dapat membuat korosif dinding pencernaan pada serangga sehingga mekanisme saponin berfungsi sebagai racun lambung (Lumowa dan Puput., 2015). Saponin pada daun salam juga dapat meningkatkan sintesis asam empedu, dimana asam empedu membutuhkan kolesterol sebagai bahan baku sehingga dapat menurunkan tingkat kolesterol darah (Sutrisna, dkk., 2018).

Saponin tidak larut dalam pelarut non polar, tetapi larut dalam pelarut polar. Pada penelitian yang dilakukan oleh Evendi (2017) menunjukkan ekstrak metanol daun salam positif saponin. Hal ini menunjukkan bahwa saponin larut dalam pelarut polar dan daun salam mengandung senyawa saponin. Saponin juga terdapat pada daun jambang (*Syzygium cumini*), pada penelitian Gafur, dkk. (2013) menunjukkan bahwa ekstrak metanol, air dan fraksi etil-asetat mengandung senyawa Saponin. Pada ekstrak daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*) pada penelitian Shalihat, dkk. (2020) uji fitokimia menunjukkan adanya senyawa saponin. Struktur umum senyawa saponin ditampilkan pada Gambar 2.7 (Robinson, 1995).



Gambar 2.7 Struktur senyawa saponin

2.6 Karakterisasi dengan Spektrofotometer UV-Vis

Faroichi (2014) melakukan analisis menggunakan UV-Vis pada daun salam, spektrum UV-Vis menunjukkan peak tertinggi atau pita serapan maksimum berada pada panjang gelombang 430 nm. Jika dilihat dari tabel pita absorpsi UV dari flavonoid maka bisa diketahui bahwa pada panjang gelombang 430 nm merupakan range yang menunjukkan senyawa flavonoid berjenis auron. Rentang serapan sinar dari flavonoid dengan jenis auron ini adalah jika pita serapan maksimum berada antara rentang 380- 430 nm.

Tabel 2.1 Tabel karakteristik penyerapan beberapa kromofor (Housheh, 2009)

Kromofor	Pelarut	λ_{\max} (nm)	ϵ_{\max}	Tipe transisi
Alkena	<i>n</i> -heptana	177	13.000	$\pi \rightarrow \pi^*$
Alkuna	<i>n</i> -heptana	178	10.000	$\pi \rightarrow \pi^*$
		196	2.000	—
		225	160	—
Karbonil	<i>n</i> -heksana	186	1.000	$n \rightarrow \sigma^*$
		280	16	$n \rightarrow \pi^*$
	<i>n</i> -heksana	180	<i>Large</i>	$n \rightarrow \sigma^*$
		293	12	$n \rightarrow \pi^*$
Karboksil	Etanol	204	41	$n \rightarrow \pi^*$
Amido	Air	214	60	$n \rightarrow \pi^*$
Azo	Etanol	339	5	$n \rightarrow \pi^*$
Nitro	Isooktana	280	22	$n \rightarrow \pi^*$
Nitroso	Etil eter	300	100	—
		665	20	$n \rightarrow \pi^*$
Nitrat	Dioksana	270	12	$n \rightarrow \pi^*$

Spektrum khas Alkaloid mempunyai serapan pada rentang 270-285 nm (Pramita, dkk., 2013). Triterpenoid atau steroid terdapat pada panjang gelombang 205,60 nm (Mulyani, dkk., 2013). Flavonoid terdiri dari dua spektrum, rentang 240-285 nm pada pita II dan 300-550 nm pada pita I (Deskawi, dkk., 2015). Saponin terdapat pada panjang gelombang 210-215 nm (pixoto, dkk., 2011). Sedangkan Tanin terdapat pada serapan khas pada panjang gelombang 280,5 nm (Rosyda dan Ersam, 2009). Adapun tabel karakteristik penyerapan beberapa kromofor dirangkum pada Tabel 2.1.

2.7 Manfaat Daun Salam Dalam Perspektif Islam

Daun salam merupakan salah satu makhluk hidup ciptaan Tuhan yang memiliki banyak manfaat. Telah diketahui bahwa daun salam menghasilkan beberapa zat yang dapat dimanfaatkan oleh makhluk hidup lainnya, misalnya vitamin, minyak dan obat. Allah memerintahkan manusia supaya memperhatikan keberagaman dan manfaat-manfaat ciptaan-Nya yang menakjubkan dalam firman Allah QS. Al-an'am ayat 99 yaitu :

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرِجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنْ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَبَّتِ مِنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَابِهٍ ۗ انظُرُوا إِلَىٰ ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ ۗ إِنَّ فِي ذَٰلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ

Terjemah Arti: “Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang korma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai dan kebun-kebun anggur dan (Kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa.

Perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman” (QS. Al-an'am:99).

Ayat tersebut menjelaskan bahwa aneka tumbuhan dengan berbagai macam jenis, bentuk dan rasa merupakan hal-hal yang sungguh menakjubkan dan membuktikan bahwa ciptaan Allah sangat agung. Allah menciptakan setiap macam tumbuhan untuk kemaslahatan umat manusia, diantaranya sebagai salah satu sumber makanan bagi makhluk hidup lain yaitu manusia dan hewan. Selain itu juga dapat bermanfaat sebagai tanaman obat (Shihab, 2003). Salah satu tanaman yang memiliki banyak manfaat dan bermanfaat sebagai obat adalah daun yang terdapat pada tanaman salam (*Syzygium polyanthum*).

Allah menyuruh kita untuk terus-menerus mempelajari, menelaah keterangan dan tujuan dari al-Qur'an. Dalam ayat-ayat al-Qur'an terdapat banyak petunjuk dan informasi sehingga kita dapat mendapatkan kejelasan ilmu pengetahuan dari al-Qur'an dan mendapat petunjuk untuk menentukan langkah-langkah penelitian dan tujuan penelitian. Sebagaimana firman Allah dalam surat al-Furqaan ayat 2 yaitu :

الَّذِي لَهُ مُلْكُ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَلَمْ يَتَّخِذْ وَلَدًا وَلَمْ يَكُنْ لَهُ شَرِيكٌ فِي الْمُلْكِ وَخَلَقَ كُلَّ شَيْءٍ فَقَدَرَهُ تَقْدِيرًا

Terjemah arti : “Yang kepunyaan-Nya-lah kerajaan langit dan bumi dan Dia tidak mempunyai anak dan tidak ada sekutu baginya dalam kekuasaan(Nya) dan Dia telah menciptakan segala sesuatu dan Dia menetapkan ukuran-ukurannya dengan serapi-rapinya” (QS. Al-Furqaan:2).

Ayat di atas menjelaskan akan tujuan penelitian, studi dan usaha memahami berbagai fenomena di dalam kehidupan. Ilmu pengetahuan modern meneguhkan

bahwa semua makhluk terbentuk berdasarkan aturan penciptaan Allah dan segala perkembangan yang terjadi menempati sistem aturan yang teliti dan pasti yang tidak dapat diketahui kecuali Allah. Tumbuhan maupun binatang, masing-masing terbagi menjadi filum, kelas dan spesies yang berbeda-beda, yang memiliki kelengkapan sifat yang bertingkat-tingkat. Semua berjalan sesuai aturan dan sistem yang pasti dan teliti, sehingga menunjukkan keagungan dan kekuasaan sang pencipta (Mahran, 2006).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dengan judul “Uji Toksisitas menggunakan *Brine Shrim*e *Lethality Test* (BSLT) Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Pelarut Etanol, Etil Asetat dan *N*-heksana Hasil Ekstraksi Sonikasi” dilaksanakan pada bulan Maret - April 2021 dan bertempat di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah oven, blender, kaca arloji, cawan penguap, timbangan analitik, gelas ukur 100 mL, erlenmeyer 300 mL, pengaduk kaca, penyaring Buchner, ekstraksi *ultrasonic bath*, seperangkat alat spektrofotometer *UV-Vis*, *beaker glass* 100 mL, desikator, pipet tetes, pipet ukur, tabung reaksi, penjepit, corong kaca, labu ukur, pipet mikro, bejana untuk penetasan telur udang, lampu dan botol vial.

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun salam (*Syzygium polyanthum*), etanol 96%, etil asetat, *n*-heksana, asam sulfat, natrium bikarbonat, kertas pH, logam Mg, FeCl₃, formaldehid, asam klorida, asam asetat anhidrida,

reagen mayer, asam asetat glasial, reagen Dragendorff, reagen Lieberman-Burchard, kertas saring, aluminium foil, dimetil sulfoksida (DMSO), larva udang (*Artemia Salina Leach*), ragi roti dan air laut.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui pengujian eksperimental di laboratorium. Sampel daun salam dikeringkan terlebih dahulu lalu dihaluskan dan disaring dengan ayakan 60 mesh. Serbuk diekstraksi dengan ekstraksi ultrasonik dengan frekuensi 40 kHz selama 30 menit menggunakan 3 pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda yaitu etanol (polar), etil asetat (semi polar) dan *n*-heksana (non polar). Ekstrak yang diperoleh diuapkan sisa pelarutnya dengan *rotary evaporator* kemudian dihitung rendemennya. Ekstrak pekat yang diperoleh kemudian diidentifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Setelah itu, dihidrolisis dengan HCL 2 N kemudian dinetralkan dengan Na-bikarbonat. Setelah itu diidentifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Selanjutnya Ekstrak pekat yang dihasilkan diuji toksisitasnya terhadap larva udang *Artemia Salina Leach* pada variasi konsentrasi ekstrak daun salam yaitu 10, 100, 250, 500 dan 1000 ppm untuk mengetahui tingkat toksisitas terhadap larva udang melalui nilai LC₅₀. Kemudian masing-masing ekstrak daun salam diuji fitokimianya untuk mengidentifikasi senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol, etil asetat dan *n*-heksana daun salam. Uji dengan reagen ini antara lain uji flavonoid, saponin, tanin, alkaloid dan triterpenoid. Dilanjutkan dengan identifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Langkah terakhir yaitu analisis data menggunakan program MINITAB 16 dengan tingkat kepercayaan 95%.

3.4 Tahapan-tahapan Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada tahapan-tahapan sebagai berikut :

- a) Preparasi sampel.
- b) Ekstraksi senyawa aktif dengan ekstraksi ultrasonik.
- c) Karakterisasi dengan spektrofotometer UV-Vis.
- d) Hidrolisis ekstrak *S. Polyanthum*
- e) Uji toksisitas dengan larva udang *Artemia Salina Leach*.
- f) Uji fitokimia.
- g) Karakterisasi dengan spektrofotometer UV-Vis.
- h) Analisis data.

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Preparasi Sampel

Daun salam diambil dari daerah Sipring Pagelaran Kabupaten Malang, daun diambil daun tua yaitu nomer 5 ke bawah dari pucuk. Daun salam yang telah dikumpulkan dibersihkan dari kotoran yang melekat, setelah itu daun salam ditimbang sebanyak 1 kg kemudian dicuci dengan air mengalir. Daun salam kemudian dirajang kasar dan dikeringkan menggunakan oven pada suhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$. Setelah itu dihaluskan menjadi serbuk dan diayak dengan ukuran 60 mesh, hasil yang diperoleh digunakan sebagai sampel penelitian (Fadli, 2019).

3.5.2 Ekstraksi Senyawa Aktif dengan Ultrasonik

Ekstraksi daun salam dilakukan dengan cara ekstraksi ultrasonik dengan pelarut *n*-heksana, etil asetat dan etanol. Sebanyak 25 gram serbuk daun salam dimasukkan ke dalam Erlenmeyer, ditambah pelarut yang berbeda pada setiap

Erlenmeyer yaitu *n*-heksana, etil asetat dan etanol sebanyak 250 mL dengan perbandingan 1:10 (*b/v*) yaitu bahan : pelarut. Kemudian dimasukkan ke dalam ekstraksi ultrasonik dengan frekuensi 40 kHz selama 30 menit pada suhu kamar. Kemudian hasil ekstraksi disaring menggunakan kertas saring dan filtrat yang didapat merupakan ekstrak kasar senyawa daun salam. Filtrat diuapkan dengan *rotary evaporator* sampai dihasilkan ekstrak kental *n*-heksana, etil asetat dan etanol daun salam. Ekstrak pekat ditimbang kemudian dihitung rendemennya dengan persamaan (3.1) (Fatmawati, 2018).

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100\% \dots\dots\dots (3.1)$$

Selanjutnya ketiga ekstrak kental yang diperoleh dihidrolisis kemudian diuji toksisitasnya menggunakan larva udang *Artemia Salina* Leach dan diuji senyawa aktifnya menggunakan uji fitokimia dengan uji reagen.

3.5.3 Karakterisasi dengan Spektrofotometer UV-Vis

Ekstrak daun salam sebelum dihidrolisis diambil 4 ml yang dilarutkan sesuai dengan pelarutnya. Kemudian dimasukkan kuvet hingga sepertiganya lalu dianalisis dalam kisaran panjang gelombang 200-800 nm sehingga terbentuk spektra. Selanjutnya ditandai panjang gelombang dan absorbansi pada puncak yang terbentuk (Maharani, dkk., 2016).

3.5.4 Hidrolisis ekstrak *Syzygium Polyanthum*

Hidrolisis Ekstrak daun salam dilakukan dengan cara menambahkan 10 mL HCl 2 N pada 5 g ekstrak pekat, kemudian distirer selama 2 jam dengan *hot plate stirrer* pada suhu ruang. Selanjutnya ditambahkan natrium bikarbonat hingga pH netral (Khasanah, 2018).

3.5.5 Uji Toksisitas dengan Larva Udang *Artemia Salina Leach*

3.5.5.1 Penetasan Telur

Penetasan telur dilakukan dalam wadah bening dengan menggunakan media air laut. Wadah yang digunakan dibagi menjadi dua bagian oleh sekat berlubang, yaitu bagian gelap dan bagian terang. Sekat berlubang menjadi jalan untuk larva yang telah menetas untuk bergerak secara alamiah ke arah terang. Wadah diisi dengan satu liter air laut. Kemudian pada bagian gelap dimasukkan satu sendok (sendok teh) telur yang sebelumnya telah dicuci dengan cara direndam dengan aquades selama 1 jam. Pada wadah bagian gelap ditutup dengan aluminium foil atau lakban hitam. Pada wadah bagian terang diberi penerangan dengan cahaya lampu neon 40 Watt agar suhu penetasan 25-30°C tetap terjaga. Telur udang dibiarkan terendam selama 48 jam sampai telur menetas. Telur akan menetas dalam waktu 24-36 jam dan akan bergerak secara alamiah menuju daerah terang sehingga larva udang terpisahkan dari bagian telur atau kulit telur. Larva yang telah aktif bergerak siap digunakan sebagai hewan uji dalam penelitian. Ekstrak yang akan diuji dibuat dalam konsentrasi 10, 100, 250, 500 dan 1000 ppm (Fadli, 2019).

3.5.5.2 Uji Toksisitas

Uji toksisitas dengan metode BSLT digunakan larva *Artemia salina* Leach yang berumur 48 jam. Perlakuan uji dilakukan sebanyak 2 kali pengulangan pada masing-masing ekstrak sampel. Masing-masing ekstrak membutuhkan 5 botol dan 3 botol sebagai kontrol. Ekstrak kental *n*-heksana, etil asetat dan etanol ditimbang sebanyak 100 mg dan dilarutkan dengan menggunakan pelarutnya masing-masing sebanyak 10 mL untuk membuat larutan stok 10000 ppm. Dari larutan stok tersebut dipipet sesuai konsentrasinya masing-masing 10, 100, 250, 500 dan 1000 ppm. Dimasukkan ke dalam botol vial dan pelarutnya diuapkan hingga kering. Kemudian ditambahkan 100 μ L dimetil sulfoksida, satu tetes ragi roti (0,6 mg/ml) dan 2 mL air laut ke dalam botol vial tersebut. Kemudian dikocok hingga ekstrak larut. Kemudian ditambahkan air laut sampai volumenya 10 mL. Selanjutnya 10 ekor larva udang *Artemia Salina* dimasukkan ke dalam botol vial dan dilakukan pengamatan terhadap kematian larva (Fadli, 2019).

Pembuatan kontrol dilakukan hal yang sama untuk ketiga kontrol, yaitu kontrol tanpa ekstrak, kontrol pelarut dan kontrol DMSO. Kontrol tanpa ekstrak dibuat dengan menggunakan 100 μ L pelarut sebagai pengganti ekstrak sampelnya kemudian pelarut diuapkan. Selanjutnya ditambahkan DMSO sebesar 100 μ L, 1 tetes ragi roti dan air laut hingga 10 mL. Kontrol pelarut dibuat menggunakan 100 μ L pelarut tanpa penambahan ekstrak dan DMSO. Begitu sebaliknya kontrol DMSO dibuat tanpa penambahan ekstrak dan pelarut. Ketiga kontrol ditambahkan satu tetes ragi roti dan air laut hingga 10 mL kemudian ditambahkan 10 ekor larva udang.

Kematian diamati pada larva tiap-tiap kelompok perlakuan dalam 24 jam. Kriteria standar untuk mengukur kematian larva udang yaitu apabila larva udang tidak menunjukkan pergerakan selama 10 detik pengamatan (Fadli, 2019). Data

hasil penelitian uji toksisitas diolah dan disajikan dalam bentuk tabel dan grafik.

Data dari uji toksisitas tersebut dihitung mortalitas dengan persamaan (3.2).

$$\text{Mortalitas} = \frac{\text{jumlah akumulasi mati}}{\text{jumlah akumulasi hidup dan mati (total)}} \times 100\% \dots\dots\dots (3.2)$$

Grafik dibuat dengan log konsentrasi sebagai sumbu x terhadap mortalitas sebagai sumbu y. Nilai LC₅₀ merupakan konsentrasi zat yang menyebabkan kematian 50% yang didapatkan dengan menggunakan persamaan regresi linier $y = a + bx$ menggunakan Microsoft Office Excel. Suatu senyawa dinyatakan mempunyai potensi toksik jika mempunyai nilai LC₅₀ < 1000 ppm untuk ekstrak dan <30 ppm untuk senyawa (Meyer dkk, 1982).

3.5.6 Uji Fitokimia dengan Uji Reagen

Uji fitokimia dilakukan dengan metode skrining menggunakan reagen secara kualitatif, untuk melihat ada atau tidaknya senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*). Adapun uji fitokimia yang dilakukan adalah uji flavonoid, saponin, tanin, alkaloid dan terpenoid. Menurut prosedur yang telah dilakukan oleh Harborne (1987) sampel yang digunakan adalah ekstrak daun salam dengan variasi pelarut. Tiap ekstrak yang akan di uji fitokimia dibuat konsentrasi 10.000 ppm.

3.5.6.1 Uji Alkaloid

Sampel sebanyak 0,5 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 0,5 mL HCl 2 N dan larutan dibagi dalam dua tabung. Tabung 1 ditambahkan 2-3 tetes reagen Dragendroff, sedangkan tabung 2 ditambahkan reagen Mayer. Hasil positif alkaloid apabila terbentuk endapan berwarna merah bata, merah, jingga (reagen Dragendroff) dan endapan putih atau kekuningan (reagen Mayer) menunjukkan adanya alkaloid (Astuti, 2012).

3.5.6.2 Uji Flavonoid

Sampel sebanyak 0,5 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian dilarutkan dengan 2 mL etanol 50% panas, kemudian ditambah 0,1 gram serbuk Mg dan HCl pekat sebanyak 5 tetes. Adanya senyawa flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah atau jingga (Astuti, 2012).

3.5.6.3 Uji Tanin

Sampel sebanyak 0,5 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 2-3 tetes FeCl_3 1%. Apabila larutan terbentuk warna biru kehitaman atau hijau kehitaman maka ekstrak tersebut menunjukkan reaksi positif adanya tanin (Agustina, 2016).

3.5.6.4 Uji Saponin

Sampel sebanyak 0,5 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan air (1:1) dan dikocok selama 1 menit, apabila menimbulkan busa ditambahkan 2-3 tetes HCl 1 N. Apabila busa terbentuk tetap stabil kurang lebih 7

menit dengan ketinggian 1-3 cm, maka ekstrak positif mengandung saponin (Astuti, 2012).

3.5.6.5 Uji Triterpenoid

Sampel sebanyak 0,5 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambah dengan pereaksi Liebermann Burchard sebanyak 2-3 tetes. Apabila larutan terbentuk warna ungu maka ekstrak tersebut positif adanya triterpenoid (Wilapangga, 2018).

3.6 Karakterisasi dengan Spektrofotometer UV-Vis

Ekstrak daun salam yang telah dihidrolisis diambil 4 ml yang dilarutkan sesuai dengan pelarutnya. Kemudian dimasukkan kuvet hingga sepertiganya lalu dianalisis dalam kisaran panjang gelombang 200-800 nm sehingga terbentuk spektra. Selanjutnya ditandai panjang gelombang dan absorbansi pada puncak yang terbentuk (Maharani, dkk., 2016).

3.7 Analisis Data

Data yang diperoleh dibuat dalam bentuk tabel dan grafik, kemudian dideskripsikan hasilnya. Tingkat toksisitas larva udang *Artemia Salina* Leach dapat diketahui dengan melakukan uji LC₅₀ menggunakan analisis probit pada program MINITAB 16 dengan tingkat kepercayaan 95%.

Senyawa aktif digolongkan menggunakan identifikasi hasil uji warna dengan kepekatan warna yang dihasilkan pada masing-masing ekstrak dengan tanda berikut :

1. + = mengandung senyawa
2. - = tidak mengandung senyawa

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel

Sampel daun salam dalam penelitian ini dilakukan tahap pencucian sampel yang bertujuan untuk menghilangkan kotoran yang menempel. Selanjutnya sampel dikering anginkan untuk menghilangkan air sisa pencucian dan menjaga kandungan metabolit sekundernya. Kemudian sampel di hitung kadar airnya dan dihaluskan di Materia Medica Batu. Kadar air daun salam didapatkan 7,9 %. Proses penghalusan dilakukan agar luas permukaan sampel semakin besar sehingga kontak sampel dengan pelarut semakin maksimal. Semakin besar kontak sampel dengan pelarut dapat mempercepat rusaknya dinding sel, sehingga mempermudah pengambilan senyawa aktif oleh pelarut tertentu. Hasil ayakan sampel kering daun salam sebanyak 500 gram serbuk dari 1 kg sampel basah. Serbuk sampel berwarna hijau tua dan masih berbau khas daun salam. Serbuk daun salam (*Syzygium Polyanthum*) ditampilkan pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Serbuk daun salam

4.2 Ekstraksi Senyawa Aktif dengan Ultrasonik

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode ultrasonikasi dengan tiga variasi pelarut yaitu etanol 96%, etil asetat dan *n*-heksana. Metode ultrasonikasi dipilih untuk ekstraksi daun salam karena waktu yang digunakan untuk ekstraksi relatif singkat dan pelarut yang digunakan lebih sedikit. Proses ekstraksi dihentikan ketika sudah mencapai 30 menit dan menghasilkan warna lebih pekat dari sebelum ekstraksi. Warna tersebut menunjukkan bahwa senyawa aktif telah terekstrak dengan maksimal. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator* untuk menguapkan pelarut. Hasil warna ekstrak, warna filtrat, berat ekstrak dan rendemen ditunjukkan pada Tabel 4.1.

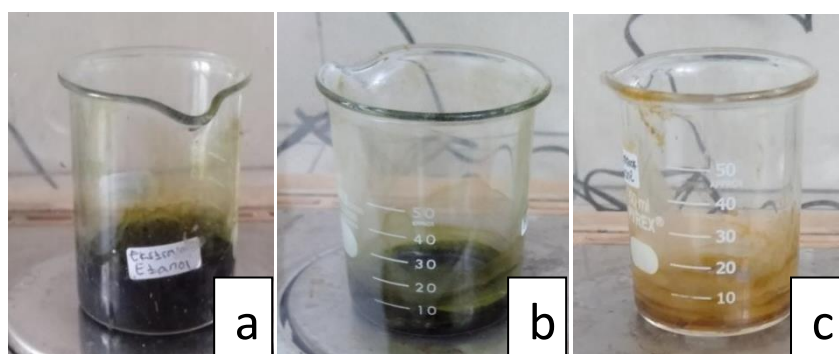
Tabel 4.1 Data hasil rendemen ekstrak daun salam dari berbagai Pelarut

Jenis Pelarut	Warna Ekstrak	Ekstrak Kasar (g)	Rendemen (%)
Etanol	Hijau tua pekat	0,979	3,265
Etil Asetat	Hijau tua pekat	0,394	1,314
<i>n</i> -heksana	Kuning kecoklatan	0,222	0,740

Tabel 4.1 menunjukkan bahwa jenis pelarut dapat memengaruhi nilai rendemen suatu ekstraksi dikarenakan perbedaan polaritas pelarut tersebut. Perbedaan pelarut juga mempengaruhi kandungan total senyawa bioaktif yang ada dalam daun salam (Santoso, dkk., 2012). Berdasarkan tabel dapat disimpulkan bahwa semakin polar suatu pelarut, maka semakin besar ekstrak yang didapatkan pada daun salam.

Rendemen tertinggi pada ekstrak daun salam terdapat pada pelarut etanol menunjukkan bahwa pelarut etanol pada daun salam mampu mengekstrak

senyawa aktif lebih baik. Hal ini dikarenakan senyawa yang terekstrak didasari oleh kesamaan sifat kepolaran terhadap pelarut. Pelarut etil asetat yang bersifat semipolar dan pelarut *n*-heksana yang bersifat non polar pada ekstrak daun salam memiliki rendemen lebih rendah karena komponen senyawa aktif pada kepolaran tersebut terdapat lebih sedikit pada daun salam. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa aktif pada daun salam relatif larut dalam pelarut etanol yang bersifat polar. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Fitri, dkk. (2020) dan Azhar, dkk. (2019) yaitu nilai rendemen tertinggi yaitu etanol kemudian etil asetat dan terendah yaitu *n*-heksana. Hasil ekstrak kasar dari berbagai pelarut ditunjukkan pada Gambar 4.2.



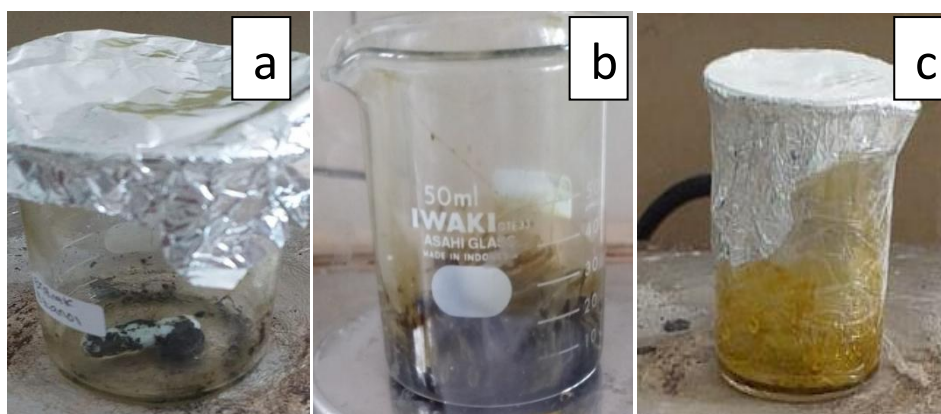
Gambar 4.2 Ekstrak kasar daun salam dari berbagai pelarut (a) etanol (b) etil asetat (c) *n*-heksana

Berdasarkan Gambar 4.2 menunjukkan bahwa ekstrak daun salam dari berbagai pelarut memiliki hasil dan warna yang berbeda-beda. Pada pelarut polar dihasilkan warna yang sangat pekat daripada pelarut etil asetat dan *n*-heksana. Bau dari ekstrak masing-masing pelarut sudah berubah menjadi bau pelarut tersebut.

4.3 Hidrolisis Senyawa pada Ekstrak Daun Salam

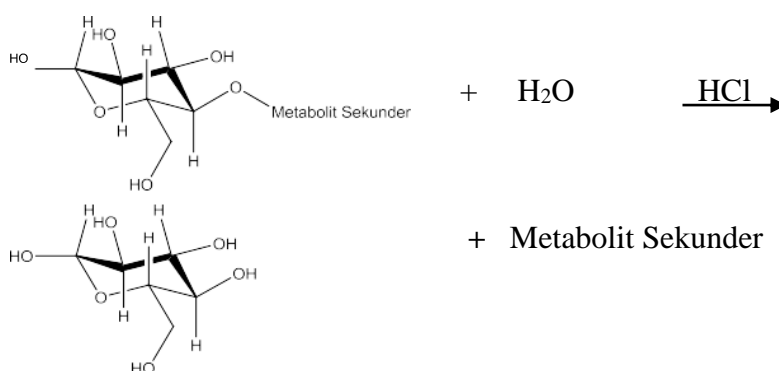
Senyawa aktif yang ada di alam umumnya terdapat dalam bentuk ikatan glikosida yaitu gabungan dari glikon dan aglikon. Hidrolisis dilakukan untuk memutus ikatan glikosida agar didapatkan senyawa metabolit sekunder secara maksimal tanpa adanya gugus gula. Ekstrak daun salam dihidrolisis menggunakan HCl 2 N. Penggunaan asam kuat ini akan membantu dalam pemutusan ikatan glikosida karena adanya pengaruh terhadap kekuatan pelepasan proton dari asam tersebut.

Hidrolisis ini reaksinya bersifat *reversible* sehingga harus dilakukan penetralan menggunakan NaHCO_3 jenuh agar tidak terjadi pembentukan ikatan glikosida lagi yaitu antara glikon dan aglikon. Penetralan dihentikan ketika terbentuknya gelembung-gelembung yaitu gas CO_2 yang mengidentifikasi bahwa HCl dan NaHCO_3 sudah bereaksi. Hasil hidrolisis daun salam ditunjukkan pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3 Hasil hidrolisis daun salam dari berbagai pelarut (a) etanol (b) etil asetat (c) *n*-heksana

Berdasarkan Gambar 4.3 menunjukkan bahwa pada hasil hidrolisis etanol, etil asetat dan *n*-heksana tidak terdapat endapan dan lebih encer dibandingkan dengan sebelum hidrolisis. Bau dari masing-masing pelarut tidak terjadi perubahan dari sebelum hidrolisis dan setelah hidrolisis. Warna dari masing-masing pelarut tidak terjadi perubahan sebelum hidrolisis dan setelah hidrolisis. Bentuk dari pelarut etanol setelah hidrolisis terjadi penggumpalan, untuk etil asetat dan *n*-heksana tidak ada perubahan bentuk sebelum dan sesudah hidrolisis. Penggumpalan etanol sesudah hidrolisis disebabkan adanya penambahan jumlah larutan HCl dan NaHCO₃ yang mengakibatkan perubahan bentuk dan warna pada setiap pelarut. Dugaan reaksi yang terjadi pada proses hidrolisis ditunjukkan pada Gambar 4.4.



Gambar 4.4 Dugaan reaksi pada proses hidrolisis (Mardiyah, 2014)

4.4 Uji Fitokimia

Ekstrak daun salam diidentifikasi metabolit sekundernya secara kualitatif menggunakan uji fitokimia. Identifikasi uji fitokimia ini merupakan dugaan awal untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam daun salam.

Berdasarkan pengamatan diperoleh hasil uji fitokimia ekstrak daun salam yang ditampilkan dalam Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil uji fitokimia ekstrak daun salam

No.	Golongan Senyawa aktif	Etanol	Etil Asetat	N-Heksana
1.	Flavonoid	+	+	+
2.	Saponin	+	-	-
3.	Tanin	+	+	-
4.	Alkaloid			
	a Meyer	-	-	-
	b Dragendorff	-	+	+
5.	Triterpenoid	-	-	+

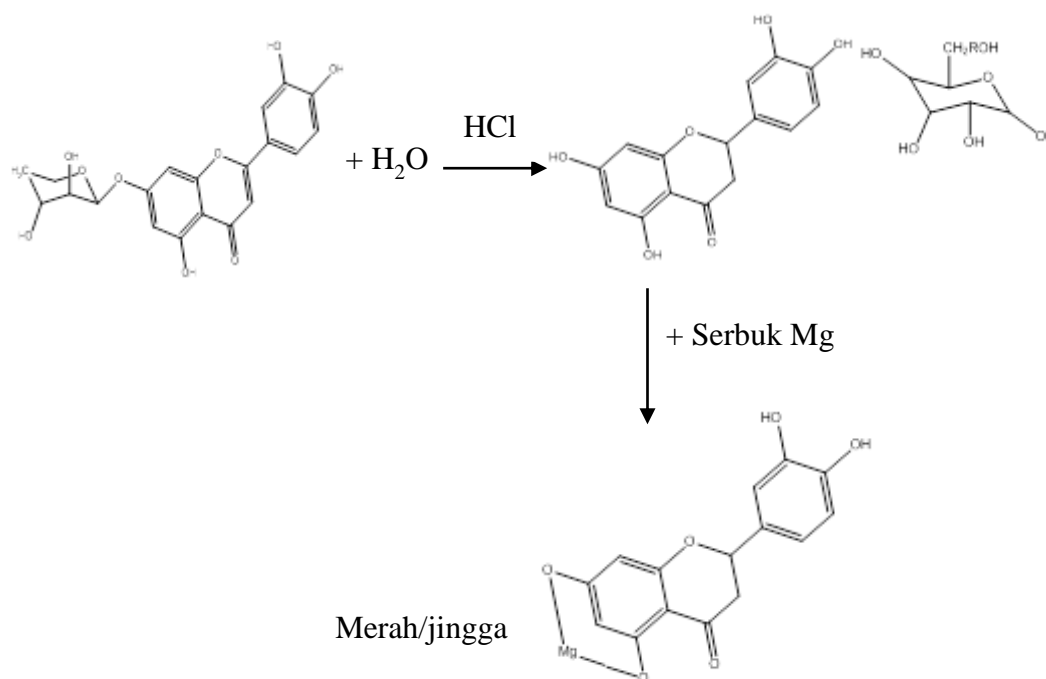
Keterangan : Tanda + = terkandung senyawa
Tanda - = tidak terkandung senyawa

Hasil uji fitokimia pada Tabel 4.2 menunjukkan bahwa ekstrak etanol *Syzygium Polyanthum* diduga terdapat senyawa flavonoid, saponin dan tanin. Pada etil asetat diduga terdapat golongan senyawa flavonoid, tanin dan alkaloid. Sedangkan pada *n*-heksana terdapat senyawa flavonoid, alkaloid dan triterpenoid. Hasil penelitian ini memiliki kesamaan dengan penelitian yang dilakukan Azhar, dkk. (2019) bahwa ekstrak etil asetat daun salam mengandung senyawa flavonoid, tanin dan steroid. Untuk ekstrak etanol memiliki kesamaan dengan penelitian Rivai, dkk. (2019) yang menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun salam diduga mengandung senyawa alkaloid, flavonoid dan tanin.

4.4.1 Flavonoid

Hasil uji flavonoid ekstrak etanol, etil asetat dan *n*-heksana memberikan hasil positif flavonoid ditandai dengan adanya perubahan warna ekstrak menjadi warna jingga setelah penambahan HCl. Uji kualitatif flavonoid pada penelitian ini,

ekstrak dilarutkan dengan metanol 50% panas dan ditambahkan dengan logam Mg serta HCl pekat. Penambahan HCl pekat dalam penelitian ini untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya (Zuhra, dkk., 2008). Dugaan reaksi flavonoid dengan $MgCl_2$ ditampilkan pada Gambar 4.4.

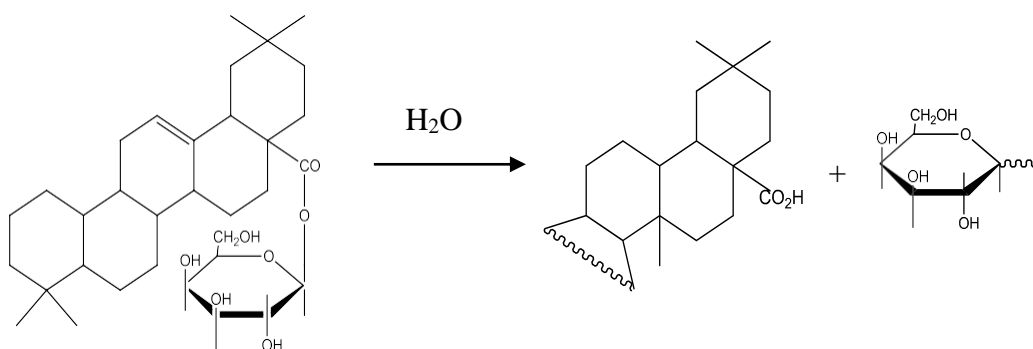


Gambar 4.4 Reaksi dugaan flavonoid dengan Llogam Mg dan Cl (Kristianti, dkk. 2008)

Hasil penelitian ini diketahui bahwa ekstrak etanol, etil asetat dan *n*-heksana daun salam positif mengandung flavonoid. Etanol merupakan pelarut yang dapat melarutkan senyawa dari yang kurang polar hingga polar, salah satu senyawa yang dapat dilarutkan oleh etanol ialah senyawa fenolik. Etanol dapat melarutkan senyawa fenolik karena mampu mendegradasi dinding sel sehingga senyawa bioaktif lebih mudah keluar dari sel tanaman. Etanol memiliki gugus hidroksil yang dapat berikatan dengan gugus hidrogen dari gugus hidroksil senyawa fenolik yang menyebabkan peningkatan kelarutan senyawa fenolik dalam etanol (Prayitno, dkk. 2016).

4.4.2 Saponin

Uji kualitatif saponin pada ekstrak daun salam penelitian ini dilakukan dengan uji busa, yaitu dengan penambahan air dan dilakukan pengocokkan. Adanya senyawa saponin ditunjukkan dengan timbulnya busa yang bertahan selama 10 menit. Pada penelitian ini ekstrak etanol daun salam diduga positif mengandung senyawa saponin. Sedangkan ekstrak etil asetat dan *n*-heksana memiliki nilai negatif. Menurut Gazali (2019) senyawa saponin hanya mampu terekstrak pada pelarut polar. Adanya busa pada uji saponin menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Marliana, dkk., 2005). dugaan reaksi yang terjadi pada senyawa saponin ditampilkan pada Gambar 4.5

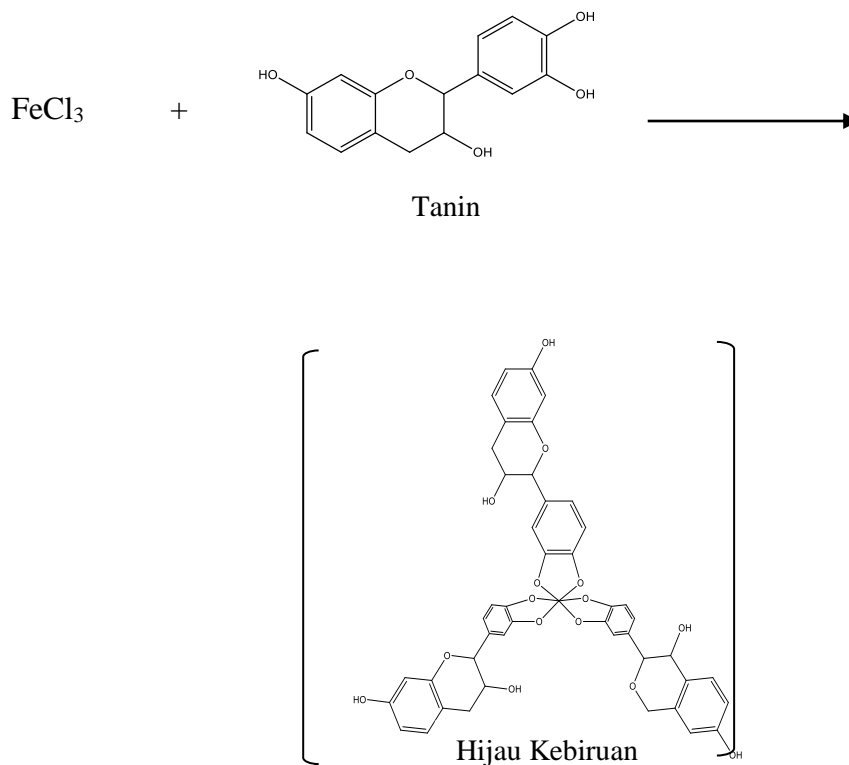


Gambar 4.5 Dugaan reaksi uji saponin (Rusdi, 1990)

4.4.3 Tanin

Hasil uji senyawa tanin pada ekstrak daun salam ini dengan penambahan larutan $FeCl_3$ yang digunakan untuk mengidentifikasi gugus fenol yang terkandung dalam sampel. Hal ini disebabkan tanin merupakan senyawa polifenol (Sangi, dkk. 2008). Senyawa kompleks terbentuk karena adanya ikatan kovalen

koordinasi antara ion logam dengan atom non-logam. Reaksi dugaan yang terjadi antara tanin dan FeCl_3 ditampilkan pada Gambar 4.6.



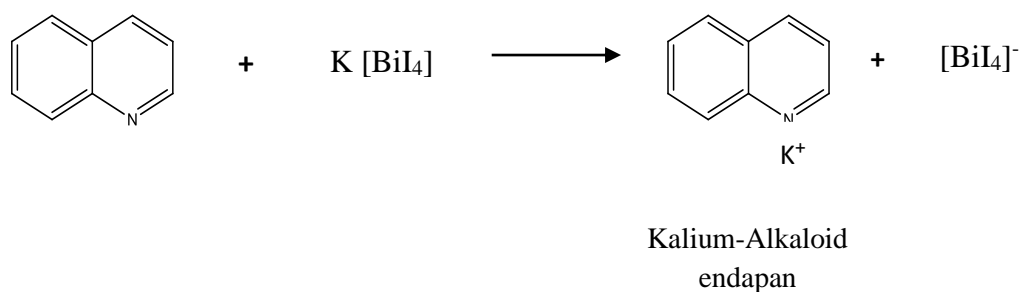
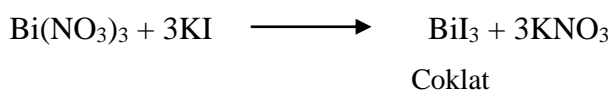
Gambar 4.6 Reaksi perkiraan tanin dengan FeCl_3 (Inayati, 2008)

Hasil uji fitokimia ekstrak etil asetat menunjukkan hasil positif tanin yang ditandai dengan perubahan warna menjadi hitam kehijauan. Terbentuknya warna hitam kehijauan pada ekstrak ini disebabkan senyawa polifenol pada tanin akan membentuk senyawa kompleks dengan FeCl_3 (Halimah, 2010). Sedangkan pada ekstrak etanol menunjukkan warna hitam pekat yang memiliki dugaan senyawa tanin terhidrolisis. Hasil uji tanin pada penelitian ini ekstrak etanol dan etil asetat positif tanin dikarenakan senyawa golongan tanin bersifat polar sehingga senyawa lebih larut dalam pelarut polar (Harborne, 1987). Sedangkan pada

ekstrak *n*-heksana menunjukkan hasil negatif yang ditandai dengan tidak adanya perubahan warna hitam pada larutan, hal ini karena *n*-heksana bersifat nonpolar.

4.4.4 Alkaloid

Uji alkaloid pada ekstrak daun salam dilakukan dengan penambahan HCl terlebih dahulu sebelum ditambahkan reagen atau pereaksi, karena alkaloid bersifat basa sehingga diekstrak dengan pelarut yang mengandung asam (Harbone,1996). Penambahan HCl bertujuan untuk meningkatkan kelarutan alkaloid, karena senyawa alkaloid akan bereaksi dengan asam klorida kemudian membentuk garam yang mudah larut dalam air (Harbone, 1987). Hasil positif alkaloid dengan reagen Dragendorff ditunjukkan dengan terbentuknya endapan berwarna jingga. Reaksi dugaan alkaloid dengan reagen dragendorff ditunjukkan dalam Gambar 4.7.



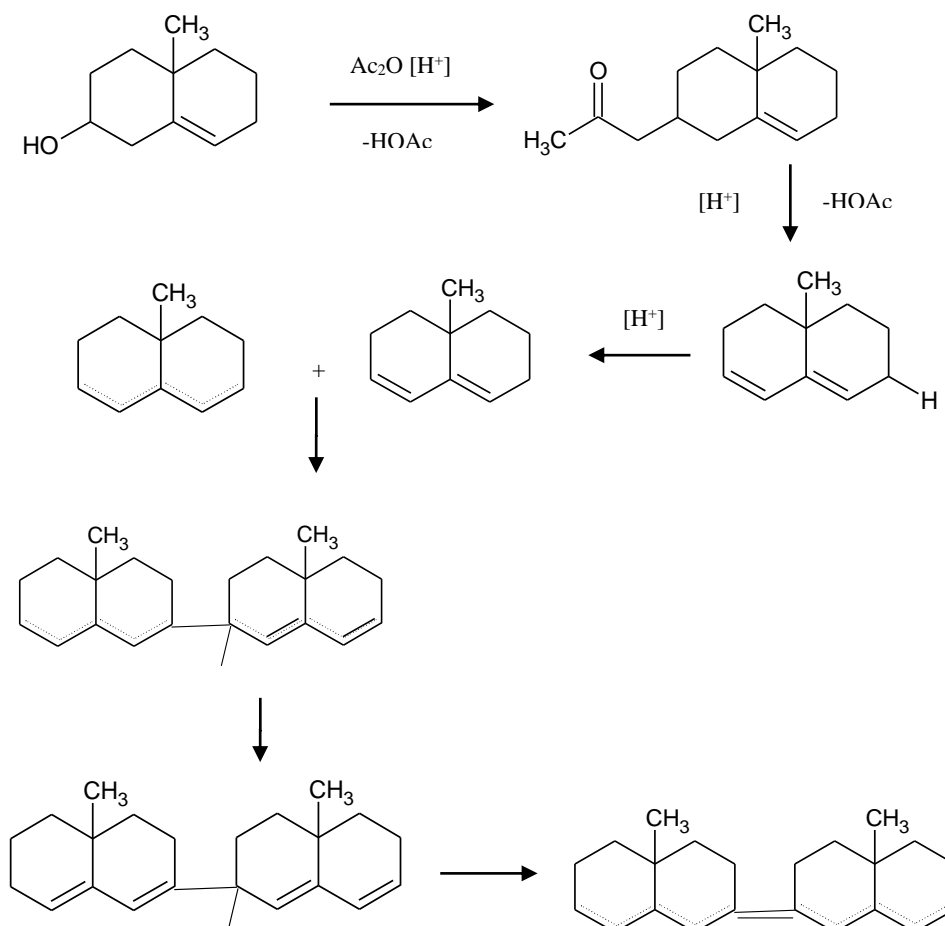
Gambar 4.7 Reaksi alkaloid dengan reagen dragendorff (Ergina, dkk., 2014)

Reagen Dragendorff terbuat dari bismut nitrat bereaksi dengan kalium iodida membentuk endapan bismut (III) iodida yang kemudian terlarut dalam iodida berlebih membentuk kalium tetra iodo bismut (Marliana, dkk., 2005). Alkaloid mengandung atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas (PEB) sehingga dapat digunakan untuk membentuk ikatan koordinat dengan logam. Pada reaksi antara alkaloid dengan reagen Dragendorff ini terjadi penggantian ligan dimana nitrogen yang mempunyai PEB pada alkaloid membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion K^+ dari kalium tetraiodobismut menghasilkan kompleks kalium-alkaloid yang mengendap (Haryati dan Erwin, 2015). Pada uji yang telah dilakukan ekstrak etil asetat dan ekstrak *n*-heksana daun salam positif mengandung senyawa alkaloid.

4.4.5 Triterpenoid

Uji golongan triterpenoid ekstrak daun salam dalam penelitian ini dilakukan dengan penambahan kloroform, asam anhidrat (reagen Libermann-Burchard) ke dalam sampel. Reaksi ini diawali dengan proses asetilasi gugus hidroksil menggunakan asetat anhidrat. Gugus asetil yang merupakan gugus pergi yang baik akan lepas sehingga terbentuk ikatan rangkap. Selanjutnya akan terjadi pelepasan gugus hidrogen beserta elektronnya menyebabkan ikatan rangkap berpindah. Senyawa ini mengalami resonansi yang bertindak sebagai elektrofil atau karbokation. Serangan karbokation menyebabkan adisi elektrofil yang diikuti pelepasan hidrogen. Kemudian gugus hidrogen dilepas, yang mengakibatkan senyawa mengalami perpanjangan konjugasi yang menyebabkan warna pada

triterpenoid. Dugaan reaksi yang terjadi pada uji triterpenoid ditunjukkan pada Gambar 4.8.



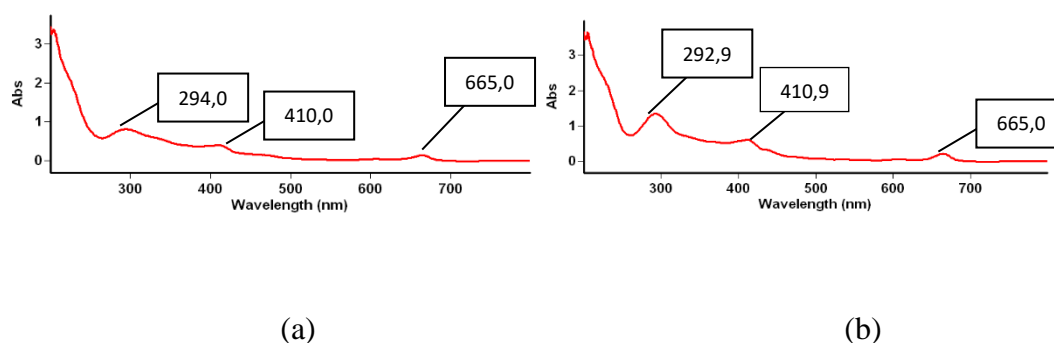
Gambar 4.8 Reaksi Liebermann-Burchard dan triterpenoid (Siadi, 2012)

Hasil uji yang telah dilakukan ekstrak *n*-heksana daun salam positif mengandung senyawa triterpenoid yang ditandai dengan terbentuknya cincin kecoklatan pada perbatasan dua pelarut saat ditambah H_2SO_4 . Hal ini dikarenakan kemampuan senyawa triterpenoid dalam membentuk warna oleh H_2SO_4 dalam pelarut asetat anhidrat. Perubahan warna ini terjadi karena adanya reaksi oksidasi pada golongan senyawa triterpenoid melalui pembentukan ikatan rangkap

terkonjugasi yang menghasilkan gugus kromofor. Hal ini disebabkan oleh adanya reaksi kondensasi atau pelepasan H₂O dan penggabungan dengan karbokation. Menurut Fidiyani (2015) senyawa triterpenoid tergolong nonpolar, biasanya senyawa non polar akan tertarik oleh pelarut non-polar (*like dissolved like*).

4.5 Karakterisasi dengan Spektrofotometer UV-Vis

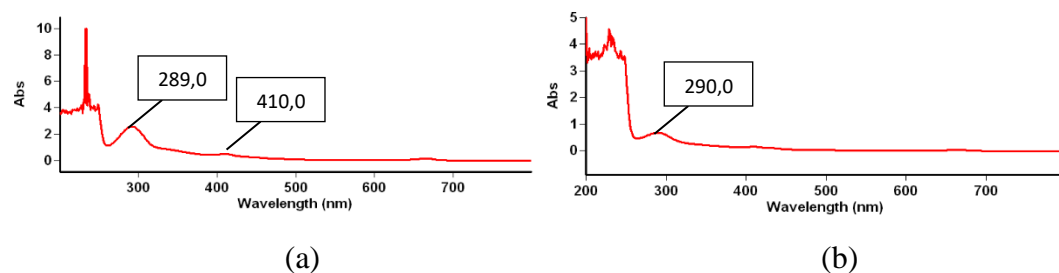
Ekstrak kasar daun salam diidentifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 200 – 800 nm. Ekstrak masing-masing pelarut diidentifikasi menggunakan Spektrofotometer UV-Vis untuk mengetahui panjang gelombang maksimumnya. Berdasarkan hasil identifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis didapatkan serapan panjang gelombang pada ekstrak daun salam sebelum dan sesudah hidrolisis. Spektra ekstrak etanol ditampilkan pada Gambar 4.9, spektra ekstrak etil asetat ditampilkan pada Gambar 4.10 dan spektra ekstrak *n*-heksana ditampilkan pada Gambar 4.11.



Gambar 4.9 Hasil uji spektrofotometer UV-Vis (a) ekstrak etanol sebelum hidrolisis dan (b) ekstrak etanol sesudah hidrolisis daun salam

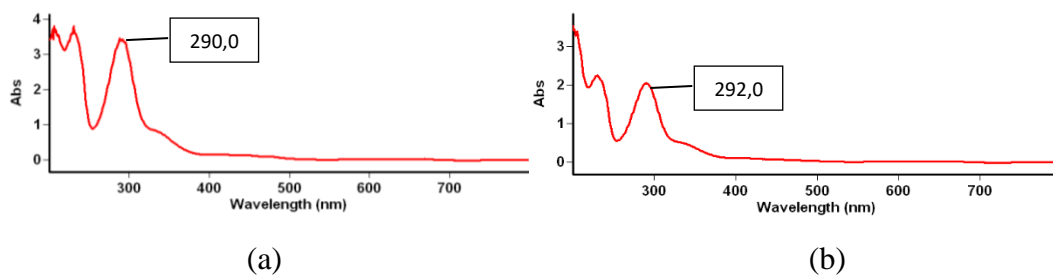
Berdasarkan hasil UV-Vis pada Gambar 4.9 menunjukkan bahwa pada ekstrak etanol sebelum hidrolisis terdapat panjang gelombang maksimum 294 nm

dan 410 nm menunjukkan terjadinya transisi $n \rightarrow \pi^*$. Menurut Markham (1988) serapan gelombang senyawa flavonoid pada pita I dengan panjang gelombang 340-430 menunjukkan ciri khas senyawa flavonoid khalkon. Penelitian Handayani (2018) pada panjang gelombang 294 nm merupakan senyawa flavanon dan dihidroflavonol. Ekstrak etanol sesudah hidrolisis pada serapan panjang gelombang 410,9 nm menunjukkan ciri khas senyawa Khalkon. Panjang gelombang maksimum 665,0 menunjukkan transisi $\sigma \rightarrow \pi^*$ yang merupakan pigmen klorofil.



Gambar 4.10 Hasil uji spektrofotometer UV-Vis (a) ekstrak etil asetat sebelum hidrolisis dan (b) ekstrak etil asetat sesudah hidrolisis daun salam

Hasil UV-Vis pada Gambar 4.10 menunjukkan ekstrak etil asetat sebelum hidrolisis didapatkan serapan pada panjang gelombang 289,0 nm menunjukkan terjadinya transisi $n \rightarrow \pi^*$. Penelitian yang dilakukan Tunnisa (2018) menunjukkan pada panjang gelombang 290 nm kulit buah durian adalah senyawa flavanon. Sedangkan ekstrak etil asetat sebelum hidrolisis menunjukkan pada pita I didapatkan panjang gelombang 410 nm menunjukkan terjadinya transisi $n \rightarrow \pi^*$. Penelitian Theodora, dkk. (2019) terkait isolasi flavonoid pada daun Gedi menghasilkan serapan UV-Vis pita I pada panjang gelombang 409,5 nm yang merupakan senyawa flavonoid jenis Auron.



Gambar 4.11 Hasil uji spektrofotometer UV-Vis (a) ekstrak *n*-heksana sebelum hidrolisis dan (b) ekstrak *n*-heksana sesudah hidrolisis daun salam

Hasil UV-Vis Gambar 4.11 menunjukkan ekstrak *n*-heksana sebelum hidrolisis terdapat panjang gelombang 669 nm dan 292 nm menunjukkan terjadinya transisi $\sigma \rightarrow \pi^*$ dan $n \rightarrow \pi^*$. Ekstrak *n*-heksana sesudah hidrolisis terdapat panjang gelombang maksimum 669 nm dan 290 nm menunjukkan terjadinya transisi $\sigma \rightarrow \pi^*$ dan $n \rightarrow \pi^*$. Puncak pada panjang gelombang 292 nm dan 290 nm menunjukkan ciri khas senyawa flavonoid (Tunnisa, 2018). Sedangkan pada puncak 669 nm merupakan pigmen klorofil. Adanya puncak klorofil ini disebabkan oleh adanya dua resonansi ikatan rangkap terkonjugasi yang membentang di dalam cincin *porphyrin* struktur klorofil. Resonansi yang lebih panjang akan menghasilkan puncak serapan pada nilai panjang gelombang yang lebih tinggi dan sebaliknya (Lichtenthaler dan Buschmann, 2001; Khulaifah, 2014). Harborne (1987) menyatakan apabila ditemukan serapan pada panjang gelombang di atas 625 nm, maka mengidentifikasi adanya klorofil.

Hasil dari uji kualitatif fitokimia pada daun salam diperkuat dengan identifikasi UV-Vis. Pada ekstrak etanol hasil analisis UV-Vis menunjukkan terdapat dugaan senyawa flavonoid. Hal ini sesuai dengan uji fitokimia pada ekstrak etanol positif mengandung senyawa flavonoid. Pada ekstrak etil asetat hasil analisis UV-Vis menunjukkan terdapat dugaan senyawa flavonoid. Hal ini

sesuai dengan hasil uji fitokimia bahwa ekstrak etil asetat mengandung dugaan senyawa flavonoid. Sedangkan pada ekstrak *n*-heksana hasil UV-Vis menunjukkan adanya senyawa flavonoid. Hal ini sesuai dengan hasil uji fitokimia bahwa ekstrak *n*-heksana mengandung senyawa flavonoid.

4.6 Uji Toksisitas Terhadap Larva Udang *Artemia Salina* Leach

4.6.1 Penetasan Larva Udang *Artemia Salina* Leach

Penetasan larva udang dilakukan dengan memasukkan telur *A. Salina* L. ke dalam air laut yang diaerasi di bawah lampu pijar selama 48 jam. Aerasi bertujuan untuk memberikan asupan oksigen yang cukup bagi kelangsungan hidup *A. Salina* L. Penggunaan lampu pijar berfungsi sebagai pemanas suhu dan penerangan selama penetasan. Larva yang digunakan untuk uji toksisitas adalah saat larva udang dalam bentuk nauplii aktif yang berumur 48 jam. Pada fase ini organ-organ *A. Salina* L. yang terbentuk sudah lengkap, salah satunya mulut sehingga dapat meminum air laut yang berisi sampel uji. Selain itu, Vanhaecke, dkk. (1981) menunjukkan bahwa usia yang paling sensitif untuk sebagian besar senyawa diuji adalah naupli usia 48 jam.

4.6.2 Uji Toksisitas

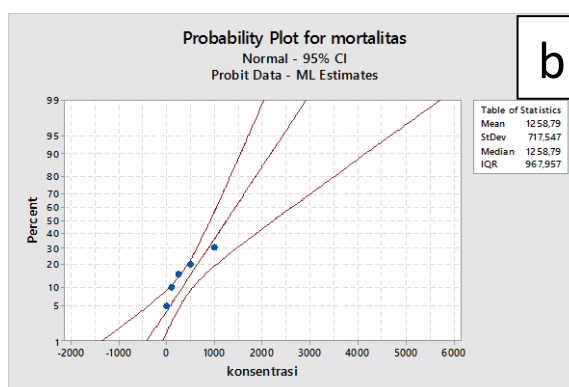
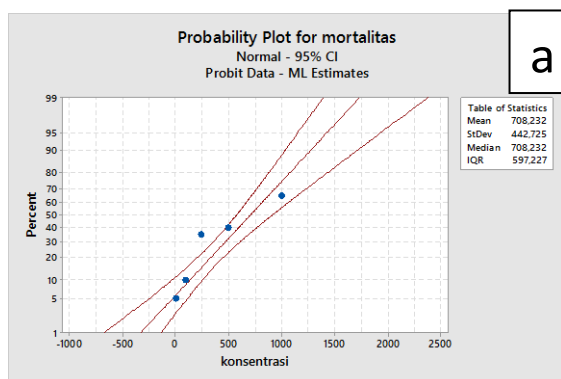
Uji Toksisitas dilakukan menggunakan metode BSLT, uji ini bertujuan untuk mengetahui efek toksik dari ekstrak kasar daun salam terhadap sistembiologi, di mana hasil yang diperoleh nantinya akan digunakan sebagai gambaran dalam uji bioaktivitas lainnya. Pada penelitian ini, sampel yang diuji adalah ekstrak etanol, etil asetat dan *n*-heksana dari daun salam.

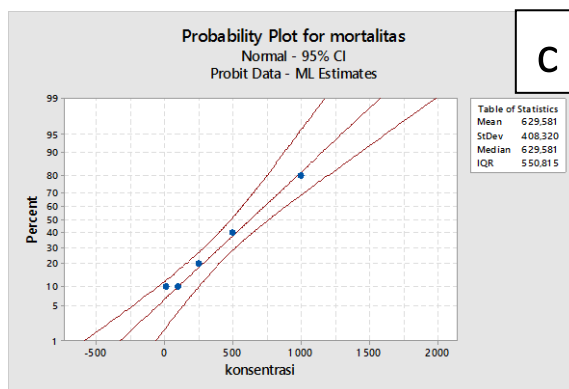
Penelitian masing-masing larutan ekstrak daun salam dibuat larutan stok 10000 ppm. Variasi konsentrasi ekstrak yang digunakan uji toksisitas adalah 10, 100, 250, 500 dan 1000 ppm, serta kontrol 0 ppm. Pembuatan variasi konsentrasi bertujuan untuk mengetahui pengaruh dari beberapa variasi konsentrasi terhadap kematian *A. Salina* L. Kontrol dibuat 3 yakni kontrol tanpa ekstrak, kontrol tanpa ekstrak berisi seluruh komponen yang ada kecuali ekstraknya, kontrol pelarut (pelarut masing-masing ekstrak) dan kontrol media (DMSO tanpa ekstrak). Hal ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pelarut dan DMSO terhadap kematian *A. Salina* L. sehingga dapat dipastikan kematian *A. Salina* disebabkan oleh senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak daun salam. Penambahan DMSO bertujuan untuk melarutkan komponen-komponen nonpolar pada ekstrak ke dalam air laut yang bersifat polar. Hal ini dikarenakan DMSO bertindak sebagai surfaktan yang memiliki ujung hidrofilik dari gugus S=O dan hidrofobik dari gugus -CH₃ yang dapat mengikat keduanya. Masing-masing konsentrasi dimasukkan 10 ekor larva uji, kemudian dilakukan pengamatan selama 24 jam terhadap kematian *A. Salina* L. untuk mengetahui potensi pada masing-masing ekstrak dengan menentukan nilai LC₅₀. Hasil uji toksisitas dan kurva hasil toksisitas dari berbagai pelarut ditampilkan pada Tabel 4.4 dan Gambar 4.12.

Tabel 4.3 Hasil uji toksisitas daun salam dari berbagai pelarut

Konsentrasi (ppm)	Ekstrak Etanol		Ekstrak Etil Asetat		Ekstrak <i>N</i> -Heksana	
	Total kematian	% Mortalitas	Total kematian	% Mortalitas	Total kematian	% Mortalitas
0*	0	0	0	0	0	0
0**	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0
10	1	5	1	5	2	10
100	2	10	2	10	3	15
250	7	35	3	15	4	20
500	8	40	4	20	8	40
1000	13	65	6	30	15	75

Keterangan :
 0 = Kontrol tanpa isolat
 0* = Kontrol Pelarut
 0** = Kontrol DMSO





Gambar 4.12 Kurva hasil toksisitas (a) etanol (b) etil asetat (c) *n*-heksana

Berdasarkan kurva, dapat dilihat bahwa nilai konsentrasi berbanding lurus dengan persen mortalitas. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka sifat toksiknya terhadap hewan uji semakin tinggi (Harborne, 1994). Kurva mortalitas menunjukkan hubungan antara konsentrasi larutan uji (sumbu x) dengan persentase mortalitas (sumbu y). Kurva masing-masing ekstrak terdapat 3 garis (*lower*, *percentile* dan *upper*). Garis *lower line* adalah batas bawah yang menunjukkan konsentrasi terendah pada setiap persentase mortalitas. Garis *percentile line* adalah konsentrasi pada setiap persentase mortalitas. Sedangkan garis *upper line* adalah batas atas yang menunjukkan konsentrasi tertinggi pada setiap persentase mortalitas. Nilai LC_{50} menunjukkan kemampuan ekstrak sebagai bioaktivitas ekstrak yang diujikan. Berdasarkan kurva mortalitas masing-masing ekstrak pelarut, diperoleh nilai LC_{50} yang ditunjukkan pada Tabel 4.16.

Tabel 4.4 Hasil uji toksisitas ekstrak daun salam pada berbagai pelarut

Ekstrak	LC_{50} (ppm)
Etanol	708,23
Etil Asetat	1258,79
<i>N</i> -Heksana	629,581

Nilai LC_{50} yang diperoleh pada Tabel 4.10 menunjukkan bahwa urutan tingkat toksisitas dari yang tertinggi berturut-turut yaitu ekstrak *n*-heksana > etanol > etil asetat. Menurut Mayer, dkk. (1982) suatu ekstrak menunjukkan aktivitas ketoksikan dalam BSLT, jika ekstrak dapat menyebabkan kematian 50% hewan uji pada konsentrasi kurang dari 1000 ppm. Dari nilai LC_{50} ekstrak daun salam tersebut dapat diketahui bahwa ekstrak etanol dan *n*-heksana daun salam bersifat toksik terhadap larva udang *A. Salina* L. karena memiliki nilai $LC_{50} < 1000$ ppm. Sedangkan ekstrak etil asetat daun salam bersifat tidak toksik karena nilai $LC_{50} > 1000$ ppm.

Perbedaan nilai LC_{50} pada setiap ekstrak dikarenakan adanya kandungan metabolit sekunder yang berbeda di dalamnya. Metabolit sekunder memiliki gugus-gugus yang dapat memecah ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik dan ikatan garam pada protein integral di membran sel larva, sehingga menyebabkan denaturasi protein. Gugus tersebut dapat berupa karbonil, hidroksil, karboksil, sulfhidril dan amino. Denaturasi protein menyebabkan hilangnya aktivitas pada senyawa protein (Triyono, 2010). Oleh karena itu, denaturasi yang terjadi pada protein integral di membran sel larva menyebabkan transpor aktif ion Na^+/K^+ terganggu sehingga proses pemasukan ion Na^+ dan pengeluaran ion K^+ menjadi tidak terkendali, hal ini menyebabkan pembengkakan sel dan akhirnya pecah. Pecahnya sel inilah yang dapat menyebabkan larva udang mati (Nurhayati, dkk., 2006).

Ekstrak etanol daun salam memiliki nilai LC_{50} sebesar 708,23 ppm. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Dewijanti, dkk., (2019) menunjukkan ekstrak etanol 70% memiliki efek toksik LC_{50} 707,945 $\mu\text{g/mL}$ dan

etanol 96% memiliki efek toksik LC_{50} 977,237 $\mu\text{g/mL}$. Sedangkan pada penelitian yang dilakukan oleh Fadli, dkk. (2019) menunjukkan efek toksik LC_{50} 347,2126 $\mu\text{g/mL}$ pada ekstrak etanol daun salam.

Berdasarkan hasil uji toksisitas ekstrak daun salam mempunyai nilai toksik yang berbeda-beda. Nilai toksik paling tinggi terdapat pada ekstrak *n*-heksana dan paling rendah pada etil asetat. Hal tersebut dikarenakan senyawa-senyawa non polar yang terlarut dalam ekstrak kasar daun salam, memiliki ukuran yang lebih kecil sehingga lebih mudah untuk masuk dalam membran sel melalui proses difusi, sehingga mengakibatkan sel lebih cepat mengalami kerusakan atau mati dalam proses difusi senyawa-senyawa non polar dari ekstrak kasar daun salam. Sedangkan senyawa semipolar tidak mudah berdifusi memasuki dinding sel atau membran. Hal ini mengakibatkan senyawa semipolar lebih sulit untuk masuk ke dalam dinding sel, sehingga nilai ketoksikan senyawa semi polar lebih rendah daya rusaknya terhadap sel (Putri, 2012).

Proses difusi pada sel terjadi akibat kecenderungan dari substansi yang bergerak dari daerah dengan konsentrasi tinggi ke daerah dengan konsentrasi yang rendah. Pelarut non polar hanya dapat melarutkan senyawa-senyawa nonpolar sehingga pelarut semi polar tidak dapat bercampur dengan pelarut non polar dalam *phospholipid bilayer*. Pelarut molekul semi polar tidak dapat memasuki membran sel lipid tanpa bantuan dari protein pembawa (*carrier*). Tidak semua molekul dapat memasuki membran *phospholipid bilayer* lewat proses difusi karena kesamaan polaritasnya, sedangkan pelarut molekul semi polar tidak dapat masuk ke dalam membran plasma hanya dengan proses difusi, melainkan dengan proses *endocytosis*, difusi yang difasilitasi dan transpor aktif (Prashant, dkk. 2009).

Penelitian yang dilakukan Gunawan (2016) pada uji toksisitas batang pranajiwa menggunakan pelarut *n*-heksana, kloroform dan air dengan *Artemia*. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak *n*-heksana bersifat efek paling toksik. Setelah dianalisis menggunakan spektrofotometer IR dan UV-Vis, ekstrak *n*-heksana mengandung senyawa triterpenoid.

4.7 Manfaat Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) dalam Perspektif Islam

Salah satu nikmat yang diberikan Allah Swt. kepada manusia yang memiliki banyak manfaat adalah tumbuhan. al-Qur'an telah memberikan isyarat fenomena ekologi tumbuhan lebih dari 45 ayat (Rossidy, 2008). Salah satunya terdapat dalam surat asy-Syu'araa ayat 7 Sebagaimana firman Allah Swt. :

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Terjemah Arti : Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik? (QS. Asy-Syu'araa : 7).

Berdasarkan ayat tersebut kata dapat diartikan untuk menggambarkan berbagai macam tumbuhan yang baik yang telah Allah Swt. tumbuhkan di bumi ini. sebagaimana tumbuhan yang baik adalah yang memiliki manfaat. Tumbuhan memiliki manfaat yang dapat digunakan sebagai obat penyembuh penyakit. Penelitian ini menggunakan daun salam yang biasa digunakan sebagai bahan rempah penyedap masakan dan sebagai jamu (obat herbal) oleh masyarakat.

Sesungguhnya Allah Swt. menciptakan segala sesuatu untuk kebutuhan hambaNya dengan manfaat dan menurut ukuran tertentu. Sebagaimana dalam firman Allah Swt. dalam surat al-Hijr ayat 21:

وَإِنْ مِنْ شَيْءٍ إِلَّا عِنْدَنَا خَزَائِنُهُ وَمَا نُنزِّلُهُ إِلَّا بِقَدَرٍ مَعْلُومٍ

Terjemah Arti : Dan tidak ada sesuatupun melainkan pada sisi Kami-lah khazanahnya dan kami tidak menurunkannya melainkan dengan ukuran yang tertentu (Q.S al Hijr ayat 21).

Ayat tersebut menjelaskan bahwa sesuatu apapun yang dimanfaatkan oleh hamba-Nya itu tidak diberikan, kecuali menurut ukuran yang telah ditentukan dan di dalamnya terdapat kecukupan bagi orang yang membutuhkan dan rahmat bagi hamba-hambaku (Al-Maragy, 1970). Sebagaimana kata dalam potongan ayat tersebut secara ilmiah memberikan makna bahwa sesungguhnya Allah memberikan nikmat dengan ukuran tertentu. ukuran dalam penelitian ini merupakan kadar dalam bentuk konsentrasi (ppm) yang digunakan sebagai ukuran seberapa besar tingkat toksisitas dari suatu senyawa yang terkandung di dalam daun salam yang telah ditumbuhkan Allah Swt. yang berpotensi sebagai farmakologi.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa daun salam memiliki bioaktifitas. Hal ini dilihat dari nilai LC₅₀ ekstrak etanol sebesar 757,110 ppm, ekstrak etil asetat sebesar 1172,79 ppm dan ekstrak *n*-heksana sebesar 629,581 ppm. Menurut Mayer, *et al.* (1982) suatu ekstrak menunjukkan aktivitas ketoksikan dalam BSLT jika ekstrak dapat menyebabkan kematian 50% hewan uji pada konsentrasi kurang dari 1000 ppm. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak daun salam mempunyai potensi sebagai tanaman obat. Firman Allah dalam surat Ali Imran ayat 191 :

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَامًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَاطِلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ

Terjemah Arti : (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 (QS. Ali-'Imran : 191).

Firman Allah dalam ayat tersebut menegaskan tentang sekelumit penciptaan-Nya atas alam raya ini serta memerintahkan agar memikirkannya untuk membuktikan tentang keesaan dan kekuasaan Allah Swt (Shihab, 2006). Sebagaimana kalimat “rabbana ma kholaqta” merupakan suatu bukti bahwa Allah Swt. menciptakan segala sesuatu yang ada di langit dan di bumi tidaklah sia-sia, salah satunya adalah tumbuhan salam.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

- a. Berdasarkan hasil uji toksisitas ekstrak etanol, dan *n*-heksana daun salam memiliki toksik terhadap larva udang *A. Salina* L. dengan nilai LC₅₀ ekstrak etanol sebesar 757,110 ppm dan ekstrak *n*-heksana sebesar 629,581 ppm. Sedangkan pada ekstrak etil asetat daun salam tidak memiliki sifat toksik terhadap larva udang *A. Salina* L. dengan nilai LC₅₀ sebesar 1172,79 ppm.
- b. Berdasarkan hasil uji fitokimia ekstrak daun didapatkan pada ekstrak etanol mengandung senyawa flavonoid, saponin dan tanin. Pada ekstrak etil asetat mengandung senyawa flavonoid, tanin dan alkaloid. Sedangkan pada ekstrak *n*-heksana mengandung senyawa flavonoid, alkaloid dan triterpenoid.
- c. Berdasarkan hasil UV-Vis pada ekstrak etanol, etil asetat dan *n*-heksana daun salam terdapat transisi $n \rightarrow \pi^*$. Serapan panjang gelombang maksimum etanol 410 nm dan 536 nm, etil asetat 289 nm dan 290 nm, *n*-heksana 292 nm dan 290 nm. Pada ekstrak tersebut terdapat transisi $\sigma \rightarrow \pi^*$ yang mengindikasikan adanya gugus klorofil.

5.2 Saran

Perlu adanya penelitian lanjutan terutama pada pencarian metode ekstraksi yang sesuai untuk meningkatkan hasil rendemen pada ekstrak daun salam.

Diperlukan pemisahan lebih lanjut dengan isolasi senyawa dengan menggunakan KLT dan identifikasi menggunakan instrumen LC-MS untuk menentukan struktur senyawanya.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, S., Ruslan. & Wiraningtyas, A. (2016). Skrining Fitokimia Tanaman Obat Di Kabupaten Bima. *Cakra Kimia*, 4(1).
- Al-Jazairi, Syaikh Abu Bakar Jabir. 2007. *Tafsir Al-Qur'An Al-Aisar*. Jakarta : Darus Sunnah Press.
- Al Qurthubi, S. I. 2009. *Tafsir Al-Qurthubi*. Jakarta : Pustaka Azzam.
- Ariviani, S. 2010. Anti Radical Capacity Of Anthosianin Extract From Fresh Salam (*Syzygium Polyanthum* [Wight] Walp) Fruits With Varied Solvent Proportion. *Caraka Tani*, 25(1).
- Astuti, S. M. 2012. Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antibiotika Ekstrak Etanol Daun, Batang, Bunga, Dan Umbi Tanaman Binahong (*Anredera Cordifolia* (Ten) Steenis). Universitas Malaysia Pahang. *Jurnal Kimia*, 3(4).
- Auliawan, Riky. & Cahyono, Bambang. 2014. Efek Hidrolisis Ekstrak Daun Iler (*Coleus Scutellarioides*) Terhadap Aktivitas Inhibisi Enzim A-Glukosida. *Jurnal Sains & Matematika*, 22 (1).
- Azhar, Hasna Yerina., Zustika, Diana Sri. & Suhendy, Hendy. 2019. Identifikasi Dan Uji Stabilitas Zat Warna Kuning Dari Ekstrak Etil Asetat Daun Salam (*Syzygium Polyanthum*) Menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis. *Pharmacoscript*, 2(1).
- Backer, C. A. & Brink, B. V. D. 1963. *Flora Of Java Vol. I. N.V.P.* Groningen The Netherlands : Noordhoff.
- Bahriul, P., Rahman, N. & Diah, A. W. M. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Salam (*Syzygium Polyanthum*) Dengan Menggunakan 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil. Palu: Universitas Tadulako. *Jurnal Akademika Kimia*, 3(3).
- Colegate S.M. & Molyneux, R. J. 2008. *Bioactive Natural Products: Detection, Isolation, And Structural Determination*. California: Crc Press.
- Dalimartha. 2002. *Resep Obat Untuk Menurunkan Kolesterol Cet V*. Jakarta: Swadaya.
- Dalimartha, Setiawan. 2000. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Bogor : Trobus. Agriwidya.

- Dai, J., Lin, H., Niu, S., Wu, X., Wu, Y. & Zhang, H. 2015. Total Alkaloids In *Dipsacus Asperoides* And Their Effect On Proliferation Of *Osteosarcoma Saos-2* Cell Lines And Gene Expression Of Vegf. *Biomedical Research*, 26 (1).
- Day R. A. & Underwood, A. L. 1986. *Analisa Kimia Kuantitatif*. Jakarta: Erlangga.
- Dewijanti, I. D., Mangunwardoyo, W., Artanti, N. & Hanafi, M. 2019. Bioactivities Of Salam Leaf (*Syzygium Polyanthum (Wight) Walp*). *Aip Conference Proceedings*.
- Deskawi, Oki. 2015. Potensi Ekstrak Kasar Teh Hitam (*Camellia Sinensis O.K.Var. Assamica*) Sebagai Pewarna (Dye) Pada Pembuatan Sel Surya Tersensitisasi (Sspt). *Alchemy*, 4(1) :50 – 59.
- Dirgantara, Sepriyanto., Tanjung, Rosye H.R., Maury, Hendra K. & Meiyanto. 2018. Cytotoxic Activity And Phytochemical Analysis Of *Breynia Cernua* From Papua. *Indonesian Journal Of Pharmaceutical Science And Technology*, 1(1).
- Didik, G. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi) Jilid 1*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Evendi, Agus. 2017. Uji Fitokimia Dan Anti Bakteri Ekstrak Daun Salam (*Syzygium Polyanthum*) Terhadap Bakteri *Salmonella Typhi* dan *Escherichia Coli* Secara In Vitro. *Mahakam Medical Laboratory Technology Journal*, 1(1).
- Fadli, Suhaimi. & Idris, Muhammad. 2019. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun salam (*Syzygium Polyanthum (Wight) Walp.*) dengan Metode Bslt (*Brine Shrimp Lethality Test*). *Medical Sains*, 4(1).
- Fareza, Muhamad Salman., Utami, Esti Dyah., Gita, Elesenda May., Permatasari, Vintya Roosalinga., Telaumbanua, Tryandika. & Choironi, Nur Amalia. 2019. Perbandingan Kandungan Senyawa Kimia Dan Aktivitas Antibakteri Terhadap Mrsa (Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus*) Beberapa Minyak Atsiri Daun Salam (*Syzygium Polyanthum*). *Alchemy Jurnal Penelitian Kimia*, 15(2).
- Farochi, Muchammad Bagus Fatchul. 2014. Pengaruh Penambahan Ekstrak Daun Salam (*Eugenia Polyantha*) Terhadap Laju Korosi Pada Baja Karbon Api 5L Grade B Di Lingkungan Nacl 3.5% Dan H2SO4 1M. *Skripsi*. Surabaya : Fakultas Teknologi Industri Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.
- Fitri, Dwikri., Kiromah, Naelaz Z. W. & Widiastuti, Tri C. 2020. Formulasi Dan Karakterisasi Nanopartikel Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium*

- Polyanthum*) Pada Berbagai Variasi Komposisi Kitosan Dengan Metode Gelasi Ionik. *Journal Of Pharmaceutical Science And Clinical Research*, 1(1).
- Fessenden, R.J. & Fessenden, J.S. 1986. *Kimia Organik Dasar Edisi Ketiga. Jilid 1* (Terjemahan Oleh Pudjaatmaka, A.H.). Jakarta: Erlangga
- Fitriani, A., Hamdiyati, Y. & Engriyani, R. 2012. Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium Polyanthum* (Wight) Walp.) Terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida Albicans* Secara In Vitro. *Biosfera*.
- Gafur, Maryati Abd., Isa, Ishak. & Bialangi, Nurhayati. 2013. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dari Daun Jamblang (*Syzygium Cumini*). *Skripsi*. Gorontalo : Jurusan Kimia Fakultas Mipa Universitas Negeri Gorontalo.
- Gandjar, I.G. & Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Garcia, J. L. L. & Castro, M. D. L. 2004. Ultrasound-Assisted Soxhlet Extraction: An Expeditive Approach For Solid Sample Treatment, Application To The Extraction Of Total Fat From Oleaginous Seeds. *Journal Chromatography*.
- Ghoffar, Abdul. 2007. *Tafsir Ibnu Katsir Jilid 3*. Semarang : Pustaka Imam Asy Syafi'i.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia, Edisi Ke Dua*. Bandung : ITB.
- Harismah, Kun. & Chusniatun. 2016. Pemanfaatan Daun Salam (*Eugenia Polyantha*) Sebagai Obat Herbal Dan Rempah Penyedap Makanan. *Warta Lpm*, 19(2).
- Herbie, T. 2015. *Kitab Tanaman Berkhasiat Obat: 226 Tumbuhan Obat Untuk Penyembuhan Penyakit Dan Kebugaran Tubuh*. Yogyakarta: Octopus Publishing House.
- Heldt, H.W. & Piechulla. 2011. *Plant Biochemistry 4Th Edition*. German: Academic Press.
- Hopp, D. C., Alali, F. Q., Gu, Z. M. & Mclaughlin, J. L. 1998. Mono-Thf Ring Annonaceous Acetogenins From *Annona Squamosa*. *Phytochemistry*.
- Kemenkes RI. 2011. *Standar Antropometri Penilaian Status Gizi Anak*. Jakarta: Direktorat Bina Gizi.
- Kristanti, Alfinda Novi. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Universitas Airlangga. Press.

- Kristanti, A. N., Nanik, S. A., Mulyadi, T. & Bambang, K. 2008. *Buku Ajar Fitokimia. Cetakan I*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Kusuma, I. W., Kuspradini, H., Arung, E.T., Aryani, E., Min, Y. H., Kim, J.S. & Kim, Y.U. 2011. Biological Activity And Phytochemical Analysis Of Three Indonesian Medicinal Plants, *Murraya Koenigii*, *Syzygium Polyanthum* And *Zingiber Purpurea*. *J Acupunct Meridian Stud: Korean Pharmacopuncture Institute*, 4(1).
- Lumowa, T. & Puput N. 2015. Larvicidal Activity Of *Syzygium Polyanthum* W. Leaf Extract Against *Aedes Aegypti* L Larvae. *Prog Health Sci*, (1).
- Mahrana & Mubasyir. 2006. *Al-Qur'An Bertutur Tentang Makanan Dan Obat-Obatan*. Yogyakarta: Mitra pustaka.
- Mardiana, Lina. 2013. *Daun Ajaib Tumpas Penyakit*. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Mardiyah, Ulfatul. 2014. Ekstraksi, Uji Aktivitas Antioksidan Dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Alga Merah (*Euclima Spinosum*) Dari Perairan Banyuwangi. *Alchemy*, 3(1).
- Mclaughlin, J. L. 1991. Crown Gall Tumours On Potato Disc And Brine Shrimp Lethality: Two Simple Bioassay For Higher Plant Screening And Fractination. *Methods In Plants Biochemistry*, 6(1).
- Prashant., D.S. Gour., P.P. Dubey., A. Jain., D.K. Nanda., B. K. Joshi., & D. Kumar. 2009. Complete nucleotide sequencing, SNP identification and characterization of SRY gene in Indian Sangamneri goat. *Afric J Biotechnol*. 8 : 2939-2942.
- Salihat, Iis., Pitopang, Ramadanil. & Lambui, Orryani. 2020. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L. M Perry) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Shigelladysenteriae*. *Biocelbes*, 14(2).
- Meyer B, N.R., Ferrighni, J. E., Put-Nam, L.B., Jacobson, D.E., Nichols, J. L & Mclaughlin. 1982. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay For Active Plant Constituent. *Planta Medica*, 45.
- Molyneux, P. 2004. The Use Of The Stable Free Radical Diphenylpicryl Hydrazyl (Dpph) For Estimating Antioxidant Activity, Songklanakarin. *J. Sci. Technol*, 26(2).
- Moeloek, F. A. 2006. Herbal And Traditional Medicine: National Perspective And Policies In Indonesia. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*, 5(1).
- Mursyidi, A. 1990. *Analisis Metabolit Sekunder*. Yogyakarta : Pusat Antar Universitas Bioteknologi UGM.

- Musanif, Jamil. 2008. *Bioetanol. Artikel Ilmiah*. Bandung : Institut Teknologi Bandung.
- Nihlati, I. A., Rohman, A. & Hertiani, T. 2008. Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Rimpang Temu Kunci [*Boesenbergia Pandurata (Roxb) Schlecht*] dengan Metode Penangkapan Radikal Dpph (*1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil*). *Majalah Obat Tradisional*, 45(5).
- Nurchayati, E. 2014. *Khasiat Dahsyat Daun Salam*. Jakarta : Jendela Sehat
- Oktoara, R. D., Aylilianawati. & Yohanes S. 2007. Ekstraksi Oleoresin Dari Jahe. *Jurnal Widya Teknik*, 6(2).
- Palar, H. 1994. *Pencemaran Dan Toksikologi Logam Berat*. Jakarta : Rineka Cipta.
- Prahastuti, Sijani., Tjahjani, Susy. & Hartini, Entin. 2011. The Effect Of Bay Leaf Infusion (*Syzygium Polyanthum (Wight) Walp*) To Decrease Blood Total Cholesterol Level In Dyslipidemia Model Wistar Rats. *Jurnal Medika Planta*, 1(4).
- Ramadhania, Nurina Rizka. Purnomo, Adi Setyo. & Fatmawati, Sri. 2018. Antibacterial Activities Of *Syzygium Polyanthum Wight* Leaves. *Aip Conference Proceedings*.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi, Edisi VI* (terjemahan Padmawinata, Kosasih.). Bandung : ITB.
- Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Rivai, Harrizul., Yulianti, Susi. & Chandra, Boy. 2019. Analisis Kualitatif Dan Kuantitatif Dari Ekstrak Heksan, Aseton, Etanol, Dan Air Dari Daun Salam (*Syzygium Polyanthum (Wight) Walp.*). *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Andalas (Unand) Padang.
- Rita, W. S., Suirta, I. W. & Ahmad, S. 2008. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Yang Berpotensi Sebagai Antitumor Pada Daging Buah Pare (*Momordica Carantia L*). *Jurnal Kimia*, 2(1). Issn 1907-9859:1-6.
- Robinson, T. 1991. *Kandungan Organik Tumbuhan Obat Tinggi VI* (terjemahan Padmawinata, Kosasih.). Bandung : ITB.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Obat Tinggi VI* (terjemahan Padmawinata, Kosasih.). Bandung : ITB.
- Rosyda, A. I. & Ersam, T. 2009. Peningkatan Kualitas Kayu (*Instia Biuga*): Kompleksasi Logam Cu (Ii), Fe (Iii) Dan Zn (Ii) Oleh Senyawa Tanin

Prosiding Kimia. *Skripsi*. Surabaya: Jurusan Kimia Fmipa Institut Teknologi Sepuluh Nopember.

Saifudin, A. 2006. Biotransformasi Kurkumin Melalui Kultur Suspensi Sel Daun *Catharanthus Rouseus* (L) G. Don Berbunga Merah. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah. *Jurnal Penelitian Sains Dan Teknologi*, 7(2).

Santi S. R. 2009. Penelusuran Senyawa Sitotoksik Pada Kulit Biji Nyamplung (*Calophyllum Inophyllum* L.) Dan Kemungkinan Korelasinya Sebagai Anti kanker. *Jurnal Kimia*, 3(2).

Sari, C. 2012. Uji Daya Anti bakteri Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium Polyanthum*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Atcc 6538 Dan *Escherichia Coli* Atcc 11229 Secara In Vitro. *Skripsi*. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.

Sastrohamidjojo, H. 2007. *Kromatografi*. Yogyakarta: Ugm Press.

Shihab, Q. 2003. *Tafsir Al-Mishbah Pesan, Kesan Dan Keserasian Al-Qur'an*. Jakarta : Lentera Hati.

Silalahi, Marina. 2017. *Syzygium Polyanthum* (Wight) Walp. (Botani, Metabolit Sekunder Dan Pemanfaatan). *Universitas Kristen Indonesia. J. D. P*, 10 (1).

Sikulamay A, Suharti, N. & Masri M. 2016. Efek Antibakteri Dari Rebusan Daun Sambilotto (*Andrographis Paniculata* Nees) dan Produk Herbal Sambilotto Terhadap *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal Kesehatan Andalas*.

Sjahid L.R. 2008. Isolasi Dan Identifikasi Flavonoid Dari Daun Dewandaru (*Eugenia Uniflora* L.). *Skripsi*. Surakarta : Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.

Soemirat, J. 2005. *Taksikologi Lingkungan*. Yogyakarta : Gadjah Mada University Press.

Solis, P.N., Wright, C.W., Anderson, M.M., Gupta. M.F. & Philipson, J.D. 1993. A Microwell Cytotoxicity Assay Using *Artemia Salina* (Brine Shrimp). *Planta Medica*.

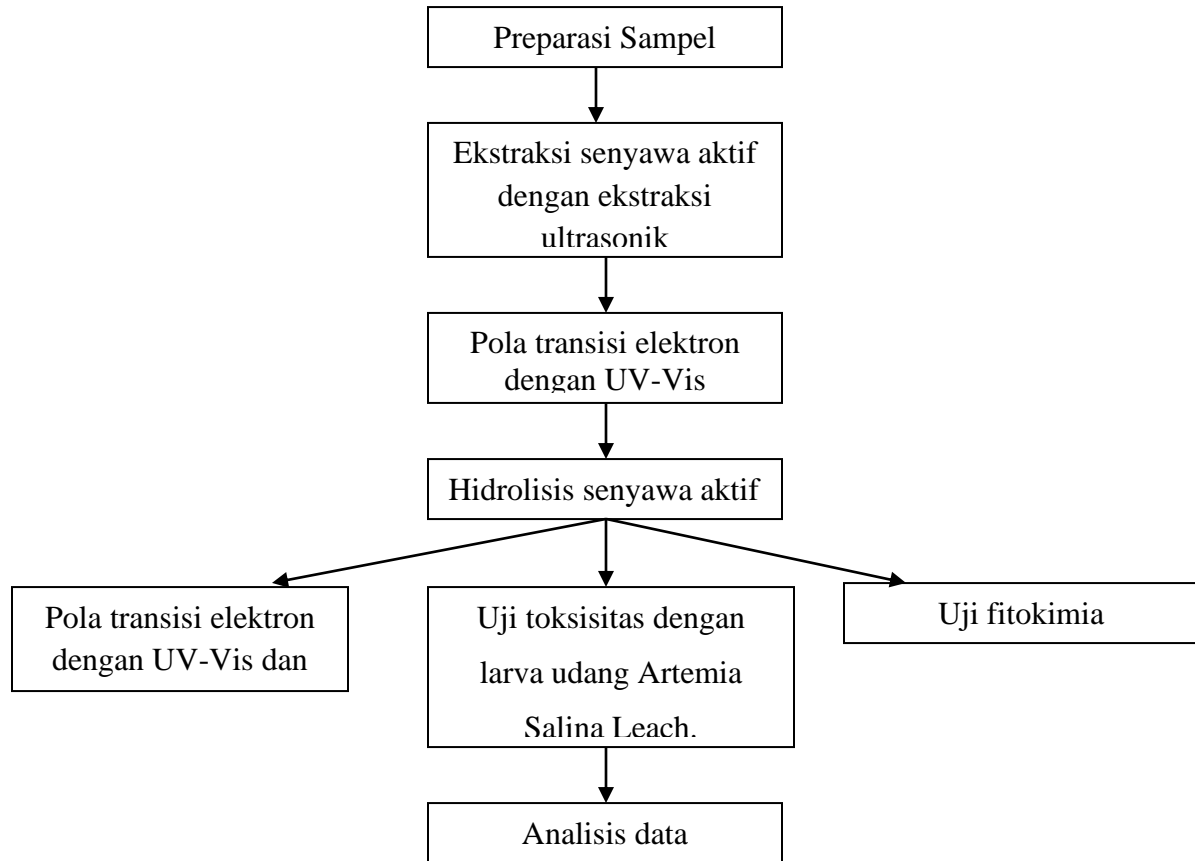
Hartuti, Sri. & Supardan, M. D. 2012. Optimasi Proses Ekstraksi Oleoresin Jahe (*Zingiber Officinale* Rosc) Menggunakan Ultrasonik. 9(1).

Studiawan, H. & Santosa, M. H. 2005. Uji Aktivitas Penurun Kadar Glukosa Darah Ekstrak Daun *Eugenia Polyantha* Pada Mencit Yang Diinduksi Aloksan. Surabaya: Universitas Airlangga. *Media Dokter Hewan*, 21(2).

- Sutrisna, Em., Trisharyanti, Ika., Munawaroh, Rima. & Suprpto. 2016. Antioxidant And Antidiabetic Activity Of 70% Ethanolic Extract Of *Syzygium Polyanthum (Wight)* Leaf From Indonesia. *International Journal Of Researching Ayurveda Phar*, 7(2).
- Sutrisna, E., Nuswantoro, Yoga. & Robbi, Fatqurahman Said. 2018. Hypolipidemic Of Ethanolic Extract Of Salam Bark (*Syzygium Polyanthum (Wight) Walp.*) From Indonesia (Preclinical Study). *Drug Invention Today*, 10(1).
- Torres, Nelly Medina., Talavera, Teresa Ayora., Andrews, Hugo Espinosa, Contreras, Angeles, Sainchez. & Pacheco, Neith. 2017. Review : Ultrasound Assisted Extraction For The Recovery Of Phenolic Compounds From Vegetable Sources. *Agronomy*.
- Utami, P. 2008. *Buku Pintar Tanaman Obat*. Jakarta : Agromedia Pustaka.
- Wahyudi, J., Wibowo, W. A., Rais, Y.A. & Kusumawardani, A. 2011. Pengaruh Suhu Terhadap Kadar Glukosa Terbentuk Dan Konstanta Kecepatan Reaksi Hidrolisis Kulit Pisang. *Jurnal Pengembangan Teknologi Kimia Untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia*, Issn 1693-4393.
- Widyawati, T., W. W., Purnawan, I. J. Atangwho., N. A. Yusoff, Ahmad, M. & Asmawi, M. Z. 2015. Antidiabetic Activity Of *Syzygium Polyanthum (Wight)* Leaf 6 Extract, The Most Commonly Used Herb Among Diabetic Patients In Medan, North Sumatera, Indonesia. *Ijpsr*. 6(4).
- Wilapangga, Anjas. & Sari, Lina Puspita. 2018. Analisis Fitokimia Dan Antioksidan Metode Dpph Ekstrak Metanol Daun Salam (*Eugenia Polyantha*). *Ijobb*. 2(1).
- Wink, M. 2008. *Ecological Roles Of Alkaloids*. Wink, M. (Eds) *Modern Alkaloids, Structure, Isolation Synthesis And Biology*, Wiley. Jerman: Wiley-Vch Verlag Gmbh & Co. Kгаа.
- Wulandari, Lstyo. 2011. *Kromatografi Lapis Tipis*. Jember: Pt. Taman Kampus Presindo.

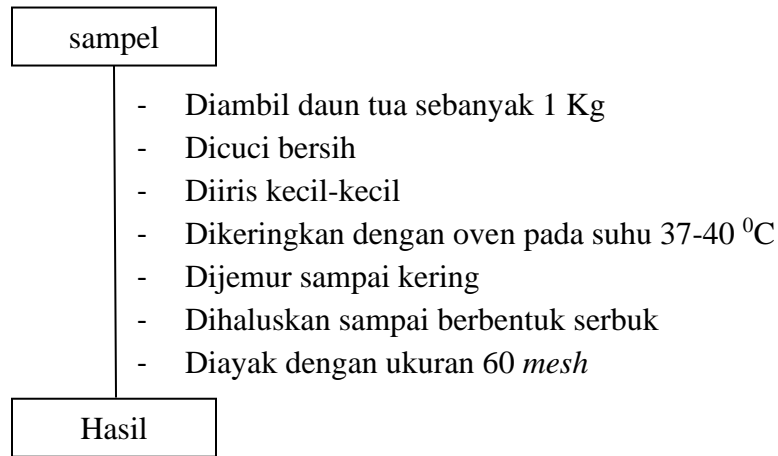
LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian

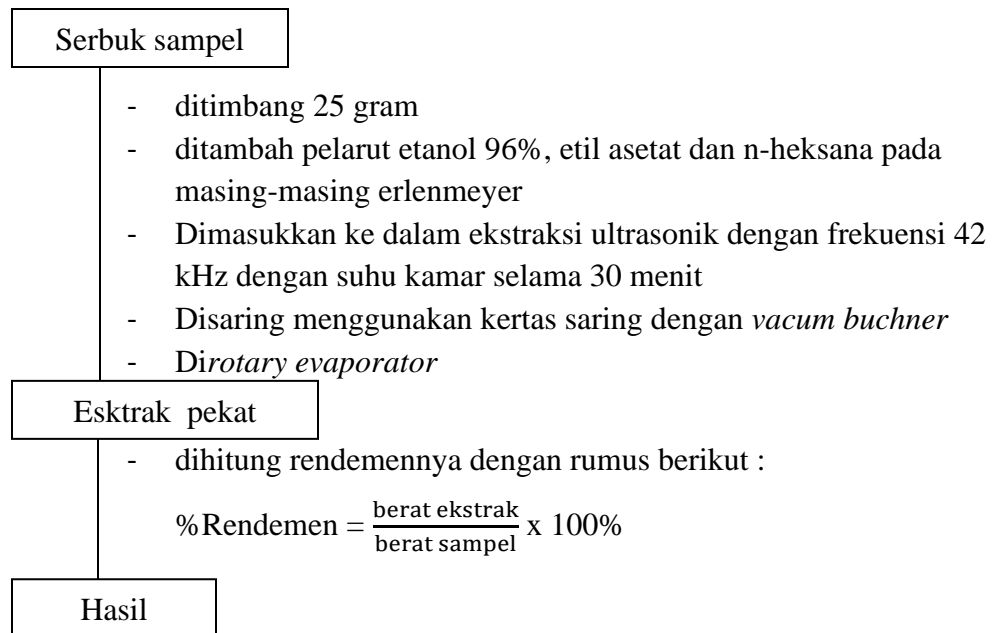


Lampiran 2. Skema Kerja

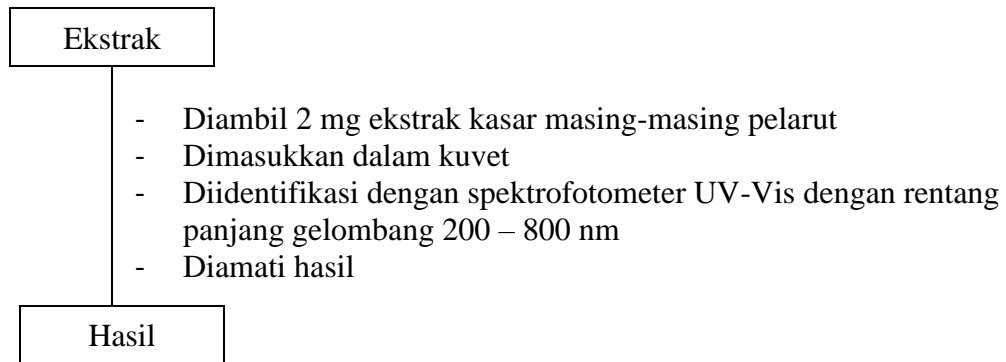
1. Preparasi Sampel



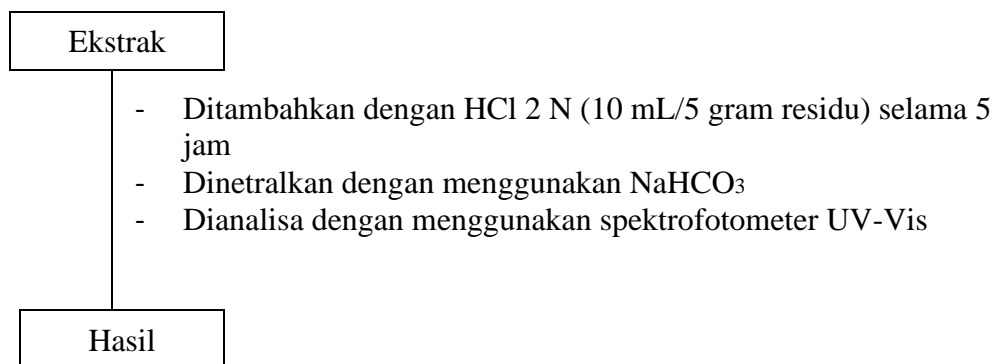
2. Esktraksi senyawa aktif dengan ekstraksi ultrasonik.



3. Transisi elektron dengan UV-Vis

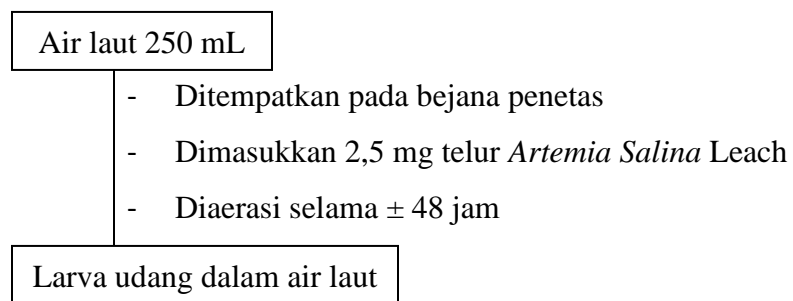


4. Hidrolisis senyawa aktif



5. Uji toksisitas dengan larva udang *Artemia Salina* Leach.

5.1 Penetasan Telur



4.2 Uji Toksisitas

25 gram ekstrak pekat etanol,etil asetat dan n-heksana

- Dilarutkan menggunakan pelarutnya masing-masing
- Dipipet masing-masing larutan sebanyak 0 μ L, 100 μ L, 250 μ L, 500 μ L, 750 μ L dan 1000 μ L sehingga terbentuk larutan ekstrak dengan konsentrasi 100 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm dan 1000 ppm dan larutan kontrol.
- Dimasukkan ke dalam botol vial
- Diuapkan pelarutnya sampai kering
- Dimasukkan 100 μ L dimetil sulfoksida, 0,5 mL larutan ragi roti, dan 2 mL air laut
- Dikocok hingga ekstrak larut
- Dimasukkan 10 ekor larva udang
- Ditambahkan air laut sampai volumenya menjadi 10 mL
- Diamati kematian larva udang setelah 24 jam
- Perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 2 kali
- Dianalisis data untuk menghitung nilai LC₅₀

Hasil

6. Uji Kandungan Senyawa Aktif dengan Uji Reagen.

6.1 Uji Alkaloid

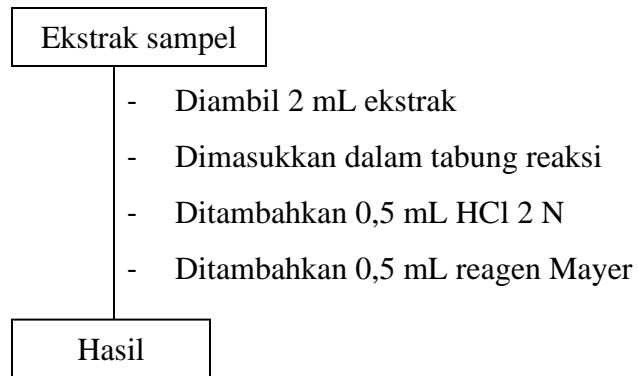
Reagen Dragendorff

Ekstrak sampel

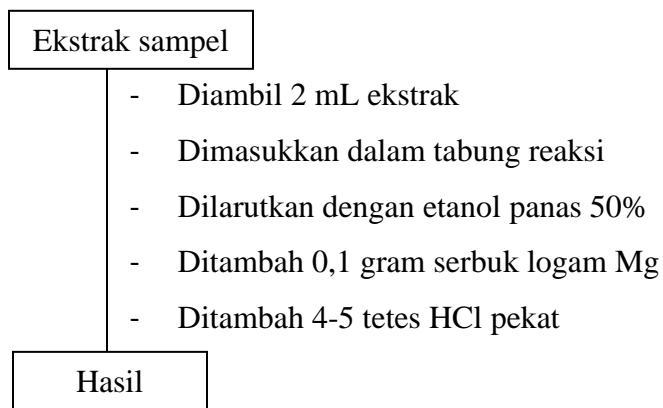
- Diambil 2 mL ekstrak
- Dimasukkan dalam tabung reaksi
- Ditambahkan 0,5 mL HCl 2 N
- Ditambahkan 0,5 mL reagen Dragendorff

Hasil

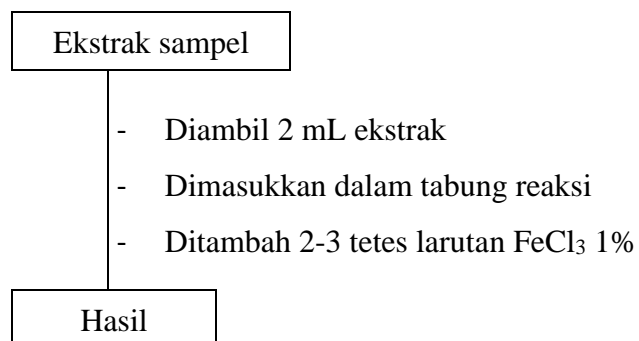
Reagen Mayer



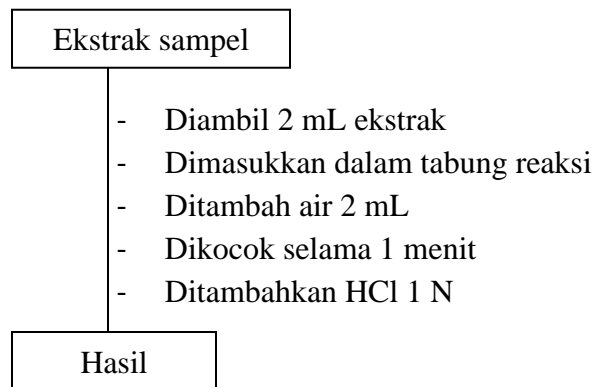
6.2 Uji Flavonoid



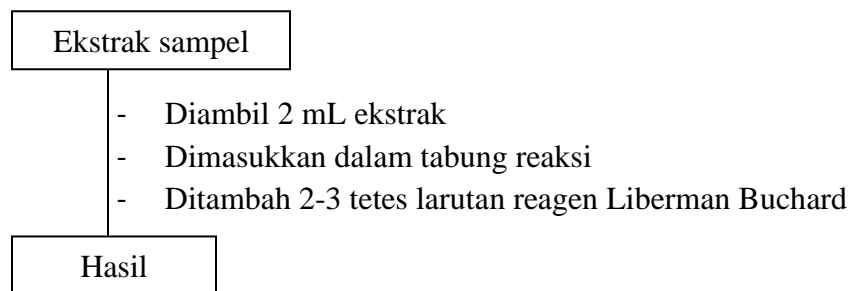
6.3 Uji Tanin



6.4 Uji Saponin



6.5 Uji Steroid/Triterpenoid



Lampiran 3. Perhitungan

3.1 Pembuatan Reagen

1. Pembuatan Larutan HCl 2N dalam 50 mL

$$\begin{aligned}
 \text{Densitas} &= 1,19 \text{ gr/mL} \\
 \text{Konsentrasi} &= 37\% \\
 \text{Volume} &= 50 \text{ mL} \\
 \text{Mr HCl} &= 36,42 \text{ gr/mol} \\
 2 \text{ N} &\sim 2\text{M} \\
 \text{Molaritas HCl} &= n \times \text{Molaritas} \\
 &= \frac{1 \times 37\% \times 1,19 \text{ gr/mL}}{36,42 \text{ g/mol}} \\
 &= 12,09 \text{ N}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 V_1 &= \frac{V_2 \times N_2}{N_1} \\
 &= \frac{50 \text{ mL} \times 2 \text{ N}}{12,09} = 8,27
 \end{aligned}$$

Jadi untuk membuat larutan HCl 2N sebanyak 50 mL dibutuhkan HCl 37% sebanyak 8,27 mL

2. Pembuatan etanol 50%

$$\begin{aligned}
 M \times V_1 &= M \times V_2 \\
 96\% \times V_1 &= 50\% \times 10 \text{ mL} \\
 V_1 &= 5,21 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

Jadi, untuk membuat etanol 50% diambil etanol 96% sebanyak 5,21 mL kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Selanjutnya ditambahkan akuades sampai tanda batas.

3. Pembuatan larutan FeCl₃ 1% (b/v)

$$\text{FeCl}_3 \text{ 1\%} = \frac{1 \text{ gr}}{100 \text{ mL}} \text{ (1 gram dalam 100 mL)}$$

4. Reagen Mayer

- a. 1,358 g HgCl₂ dalam 60 mL akuades
- b. KI 5 mg dalam 10 mL akuades

Larutan a dituangkan ke dalam larutan b, diencerkan dengan akuades sampai 100 mL (HAM, 2006).

5. Reagen Dragendorff

$\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ sebanyak 8 gr dilarutkan dalam 50 mL HNO_3 pekat dan KI sebanyak 27,2 gr dilarutkan dalam 50 mL akuades, kedua larutan dicampur dan jika terbentuk endapan disaring, kemudian disimpan dalam botol coklat (HAM, 2006).

3.2 Perhitungan Konsentrasi Larutan Ekstrak untuk Uji Toksisitas

1. Pembuatan larutan stok 10000 ppm ekstrak daun salam

$$\text{Ppm} = \text{mg/L}$$

$$\begin{aligned} \text{Mg} &= \text{ppm} \times \text{L} \text{ (jika dibuat larutan stok } 10 \text{ mL} = 10^{-3}\text{L)} \\ &= 10000 \text{ ppm} \times 10 \times 10^{-3}\text{L} = 100 \text{ mg} \end{aligned}$$

Jadi, larutan stok 10000 ppm pada masing-masing ekstrak dibuat dengan dilarutkan 100 mg sampel ke dalam 10 mL masing-masing pelarutnya.

2. Pembuatan larutan ekstrak 10 ppm

$$V_1 M_1 = V_2 M_2$$

$$V_1 \cdot 10000 = 10 \times 10^{-3}\text{L} \times 10 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 0,1 \text{ L} \times \text{ppm}/10^4 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 0,00001 \text{ L} = 0,01 \text{ mL} = 10 \mu\text{L}$$

Jadi, untuk membuat 10 mL larutan ekstrak 10 ppm diperlukan larutan stok 10000 ppm sebanyak 0,01 mL.

3. Pembuatan larutan ekstrak 100 ppm

$$V_1 M_1 = V_2 M_2$$

$$V_1 \cdot 10000 = 10 \times 10^{-3}\text{L} \times 100 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 1 \text{ L} \times \text{ppm}/10^4 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 0,0001 \text{ L} = 0,1 \text{ mL} = 100 \mu\text{L}$$

Jadi, untuk membuat 10 mL larutan ekstrak 100 ppm diperlukan larutan stok 10000 ppm sebanyak 0,1 mL.

4. Pembuatan larutan ekstrak 250 ppm

$$V_1 M_1 = V_2 M_2$$

$$V_1 \cdot 10000 = 10 \times 10^{-3}\text{L} \times 250 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 2,5 \text{ L} \times \text{ppm}/10^4 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 0,0025 \text{ L} = 0,25 \text{ mL} = 250 \mu\text{L}$$

Jadi, untuk membuat 10 mL larutan ekstrak 250 ppm diperlukan larutan stok 10000 ppm sebanyak 0,25 mL.

5. Pembuatan larutan ekstrak 500 ppm

$$V_1 M_1 = V_2 M_2$$

$$V_1 \cdot 10000 = 10 \times 10^{-3} \text{L} \times 500 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 5 \text{ L} \times \text{ppm}/10^4 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 0,0005 \text{ L} = 0,5 \text{ mL} = 500 \mu\text{L}$$

Jadi, untuk membuat 10 mL larutan ekstrak 500 ppm diperlukan larutan stok 10000 ppm sebanyak 0,5 mL.

6. Pembuatan larutan ekstrak 1000 ppm

$$V_1 M_1 = V_2 M_2$$

$$V_1 \cdot 10000 = 10 \times 10^{-3} \text{L} \times 1000 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 10 \text{ L} \times \text{ppm}/10^4 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 0,001 \text{ L} = 1 \text{ mL} = 1000 \mu\text{L}$$

Jadi, untuk membuat 10 mL larutan ekstrak 1000 ppm diperlukan larutan stok 10000 ppm sebanyak 1 mL.

Lampiran 4. Data Pengamatan dan Hasil Perhitungan**4.1 Data Hasil Uji Fitokimia**

Tabel 4.1 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Daun Salam

No.	Golongan Senyawa aktif	Etanol	Etil Asetat	N-Heksana
1.	Flavonoid	+	+	+
2.	Saponin	+	-	-
3.	Tanin	+	+	-
4.	Alkaloid			
	a Meyer	-	-	-
	b Dragendorff	-	+	+
5.	Triterpenoid	-	-	+

Keterangan : Tanda + = terkandung senyawa

Tanda - = tidak terkandung senyawa

4.2 Data Hasil Uji Toksisitas

Tabel 4.2 Hasil uji toksisitas daun salam dari berbagai pelarut

Konsentrasi (ppm)	Ekstrak Etanol		Ekstrak Etil Asetat		Ekstrak <i>N</i> -Heksana	
	Total kematian	% Mortalitas	Total kematian	% Mortalitas	Total kematian	% Mortalitas
0*	0	0	0	0	0	0
0**	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0
10	1	5	1	5	2	10
100	2	10	2	10	3	15
250	7	35	3	15	4	20
500	8	40	4	20	8	40
1000	13	65	6	30	15	75

Keterangan :
 0 = Kontrol tanpa isolat
 0* = Kontrol Pelarut
 0** = Kontrol DMSO

Tabel 4.3 Hasil uji toksisitas ekstrak daun salam pada berbagai pelarut

Ekstrak	LC ₅₀ (ppm)	Kategori
Etanol	708,23	Toksik
Etil Asetat	1258,79	Tidak toksik
<i>N</i>-Heksana	629,58	Toksik

4.3 Perhitungan Uji Toksisitas

Nilai % Mortalitas dan mortalitas dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ Mortalitas} = \frac{\text{jumlah larva mati}}{\text{jumlah larva dalam 1 vial}} \times 100\%$$

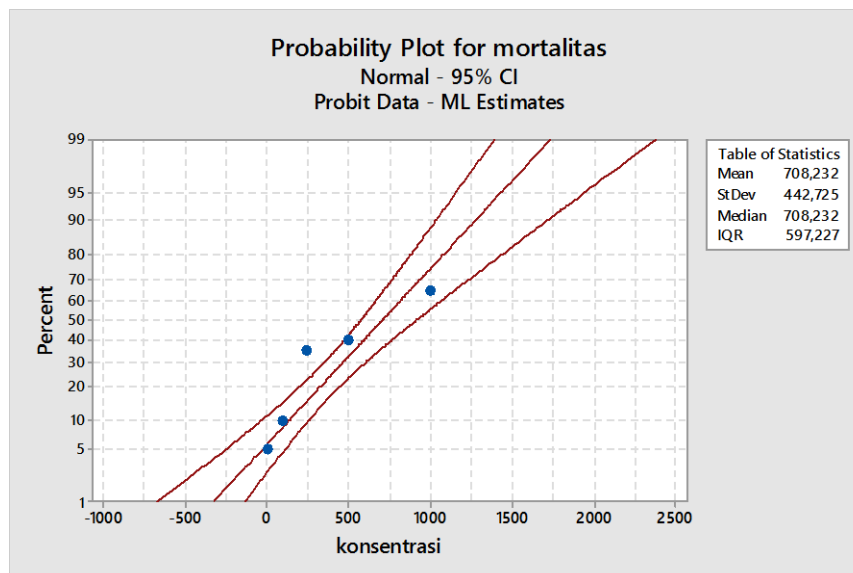
$$\text{Mortalitas} = \frac{\% \text{ mortalitas}}{100} \times \text{jumlah hewan uji (20)}$$

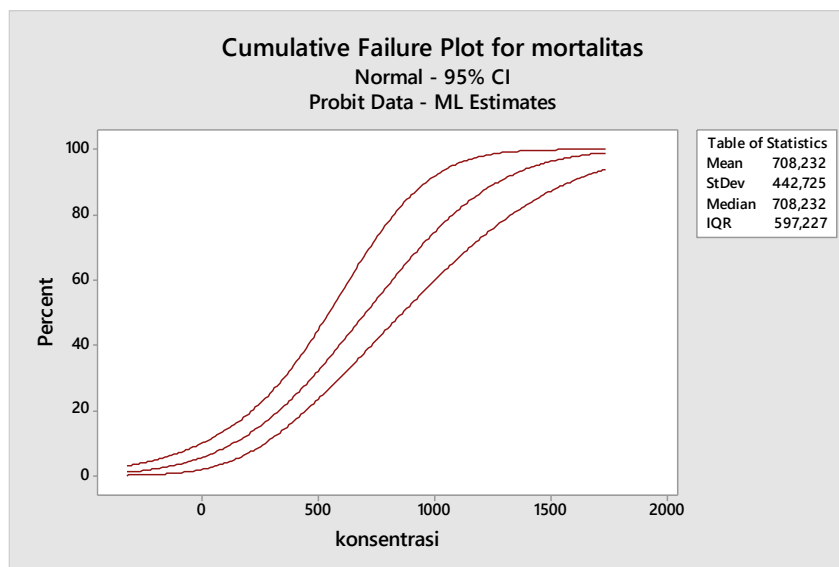
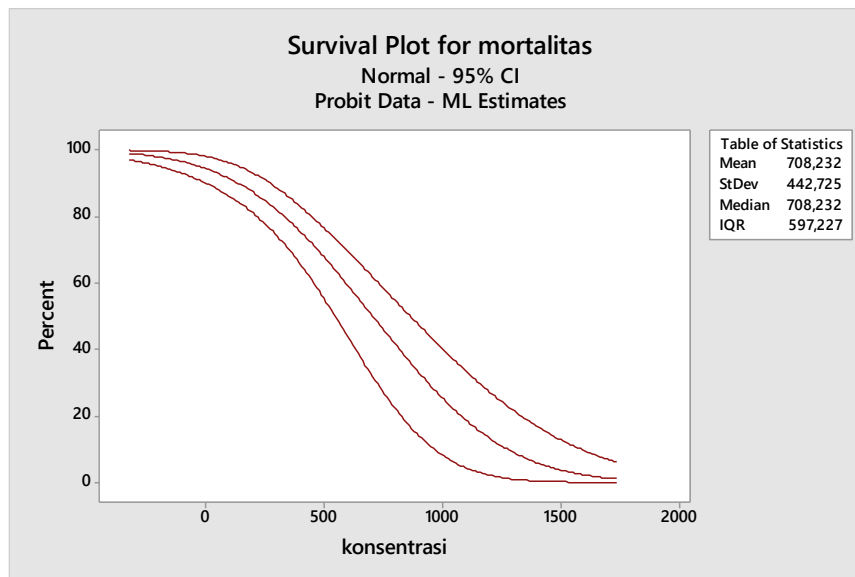
Tabel 4.4 Hasil Uji Toksisitas dari Berbagai pelarut

Konsentrasi (ppm)	Etanol		Etil Asetat		N-Heksana	
	I	II	I	II	I	II
0*	0	0	0	0	0	0
0**	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0
10	1	0	0	1	1	1
100	1	1	1	1	1	2
250	3	4	2	1	2	2
500	4	4	2	2	4	4
1000	6	7	3	3	8	7

1. Ekstrak Etanol

Konsentrasi (ppm)	Jumlah larva mati	Mortalitas (%)	Mortalitas
0*	0	0	0
0**	0	0	0
0	0	0	0
10	1	5	1
100	2	10	2
250	7	35	7
500	8	40	8
1000	13	65	13





Probit Analysis: mortalitas; N versus konsentrasi

Distribution: Normal

Response Information

Variable	Value	Count
mortalitas	Event	31
	Non-event	129
N	Total	160

Estimation Method: Maximum Likelihood

Regression Table

Variable	Coef	Standard Error	Z	P
Constant	-1,59971	0,186533	-8,58	0,000
konsentrasi Natural Response	0,0022587 0	0,0003623	6,23	0,000

Log-Likelihood = -56,420

Goodness-of-Fit Tests

Method	Chi-Square	DF	P
Pearson	11,3582	4	0,023
Deviance	13,1800	4	0,010

Tolerance Distribution

Parameter Estimates

Parameter	Estimate	Standard Error	95,0% Normal CI	
			Lower	Upper
Mean	708,232	80,6592	550,143	866,321
StDev	442,725	71,0178	323,290	606,284

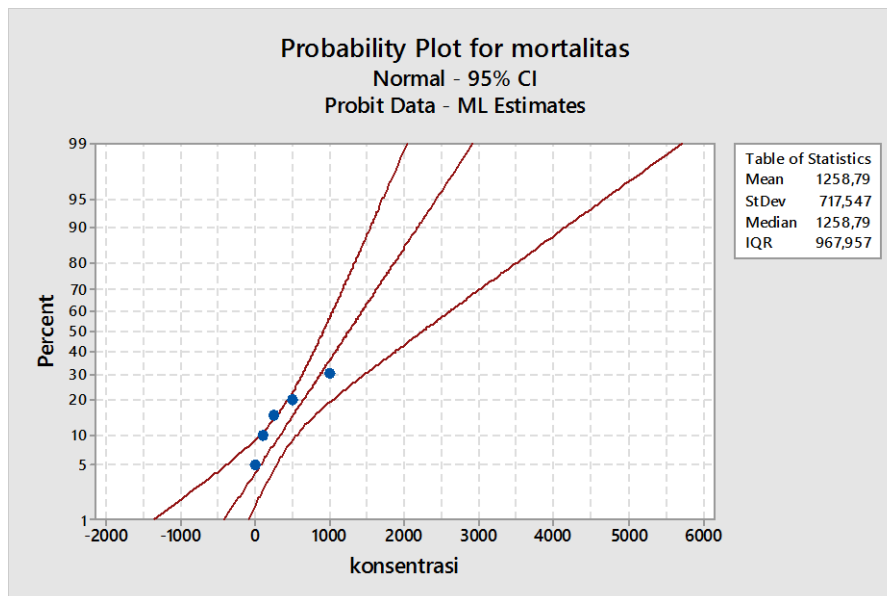
Table of Percentiles

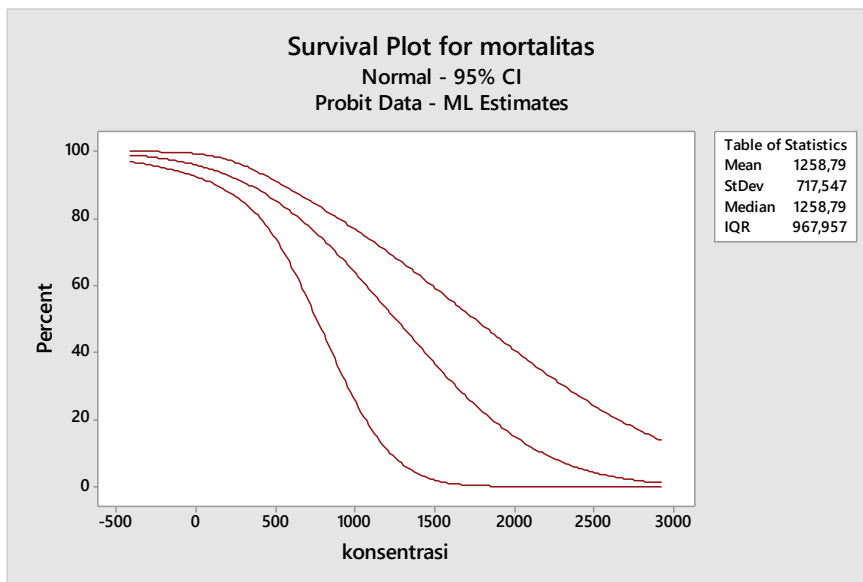
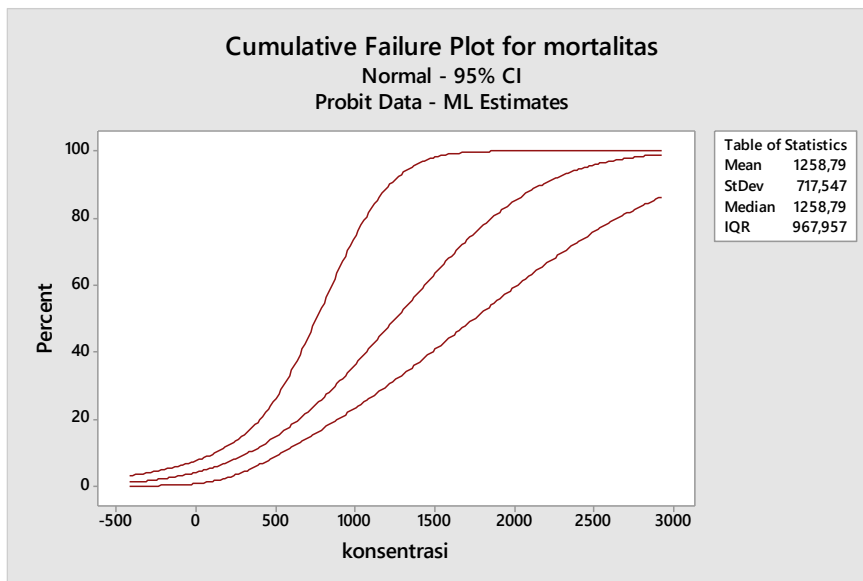
Percent	Percentile	Standard Error	95,0% Fiducial CI	
			Lower	Upper
1	-321,701	124,452	-664,469	-129,082
2	-201,014	107,759	-493,771	-31,9316
3	-124,443	97,6801	-386,516	30,7554
4	-66,8410	90,4578	-306,577	78,6567
5	-19,9863	84,8722	-242,157	118,224
6	19,8944	80,3662	-187,848	152,426
7	54,8620	76,6371	-140,701	182,885
8	86,1713	73,5011	-98,9215	210,593
9	114,646	70,8379	-61,3327	236,200
10	140,857	68,5641	-27,1191	260,158
20	335,625	58,7642	211,287	454,016
30	476,066	61,3583	361,205	615,791
40	596,069	69,5364	475,830	767,496
50	708,232	80,6592	575,338	916,921
60	820,395	93,9359	670,258	1070,93
70	940,397	109,640	768,691	1238,83
80	1080,84	129,242	881,383	1437,83
90	1275,61	157,726	1035,04	1716,44
91	1301,82	161,637	1055,56	1754,09
92	1330,29	165,902	1077,83	1795,02
93	1361,60	170,610	1102,27	1840,06
94	1396,57	175,888	1129,53	1890,41
95	1436,45	181,933	1160,56	1947,88
96	1483,30	189,064	1196,97	2015,47
97	1540,91	197,869	1241,65	2098,62

98	1617,48	209,632	1300,93	2209,29
99	1738,16	228,284	1394,15	2383,92

2. EkstrakEtylAsetat

Konsentrasi (ppm)	Jumlah larva mati	Mortalitas (%)	Mortalitas
0*	0	0	0
0**	0	0	0
0	0	0	0
10	1	5	1
100	2	10	2
250	3	15	3
500	4	20	4
1000	6	30	6





Distribution: Normal

Response Information

Variable	Value	Count
mortalitas	Event	16
	Non-event	144
N	Total	160

Estimation Method: Maximum Likelihood

Regression Table

Variable	Coef	Standard Error	Z	P
Constant	-1,75429	0,208189	-8,43	0,000
konsentrasi Natural Response	0,0013936 0	0,0003723	3,74	0,000

Log-Likelihood = -44,872

Goodness-of-Fit Tests

Method	Chi-Square	DF	P
Pearson	5,52093	4	0,238
Deviance	7,44106	4	0,114

Tolerance Distribution

Parameter Estimates

Parameter	Estimate	Standard Error	95,0% Normal CI	
			Lower	Upper
Mean	1258,79	252,575	763,750	1753,83
StDev	717,547	191,664	425,095	1211,20

Table of Percentiles

Percent	Percentile	Standard Error	95,0% Fiducial CI	
			Lower	Upper
1	-410,476	240,161	-1347,18	-84,6313
2	-214,873	194,494	-950,247	57,3427
3	-90,7698	167,526	-702,853	151,870
4	2,58854	148,893	-520,593	226,825
5	78,5283	135,243	-376,016	291,471
6	143,165	125,051	-256,621	350,158
7	199,839	117,483	-155,631	405,311
8	250,583	112,016	-68,9183	458,407
9	296,733	108,285	6,27574	510,362
10	339,215	106,008	71,9553	561,724
20	654,886	125,211	447,826	1055,57
30	882,506	166,442	640,997	1489,52
40	1077,00	209,369	787,658	1878,71
50	1258,79	252,575	917,954	2249,27
60	1440,58	297,438	1044,75	2623,32
70	1635,07	346,540	1178,12	3025,81
80	1862,69	404,910	1332,37	3498,69
90	2178,36	486,844	1544,29	4156,47
91	2220,84	497,931	1572,69	4245,12
92	2266,99	509,989	1603,52	4341,44
93	2317,74	523,261	1637,38	4447,38
94	2374,41	538,101	1675,17	4565,74
95	2439,05	555,046	1718,23	4700,76
96	2514,99	574,978	1768,77	4859,45
97	2608,35	599,514	1830,84	5054,59
98	2732,45	632,179	1913,25	5314,10
99	2928,05	683,759	2042,95	5723,30

Distribution: Normal

Response Information

Variable	Value	Count
mortalitas	Event	16
	Non-event	144
N	Total	160

Estimation Method: Maximum Likelihood

Regression Table

Variable	Coef	Standard Error	Z	P
Constant	-1,75429	0,208189	-8,43	0,000
konsentrasi	0,0013936	0,0003723	3,74	0,000
Natural Response	0			

Log-Likelihood = -44,872

Goodness-of-Fit Tests

Method	Chi-Square	DF	P
Pearson	5,52093	4	0,238
Deviance	7,44106	4	0,114

Tolerance Distribution

Parameter Estimates

Parameter	Estimate	Standard Error	95,0% Normal CI	
			Lower	Upper
Mean	1258,79	252,575	763,750	1753,83
StDev	717,547	191,664	425,095	1211,20

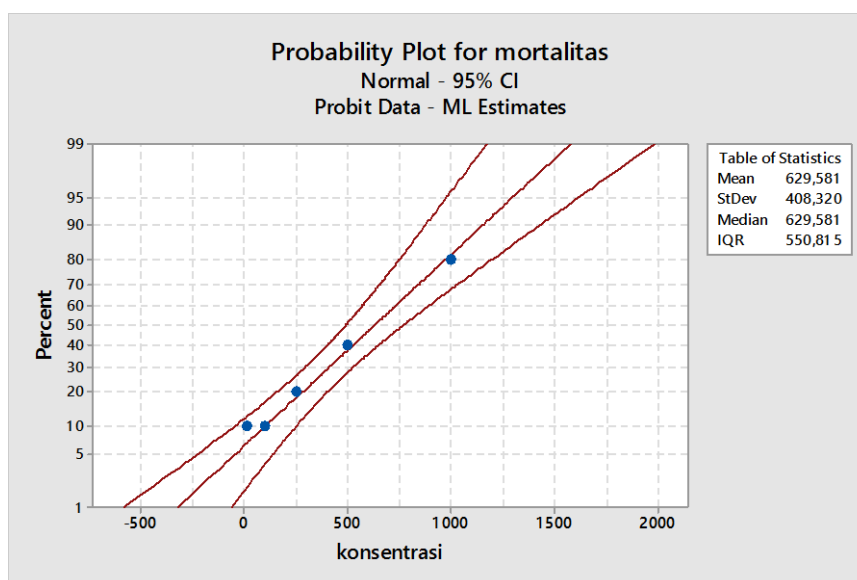
Table of Percentiles

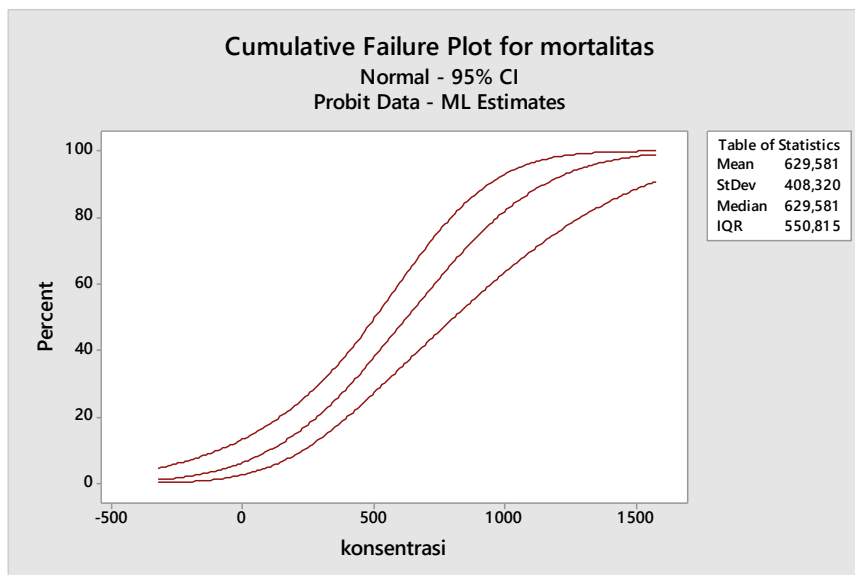
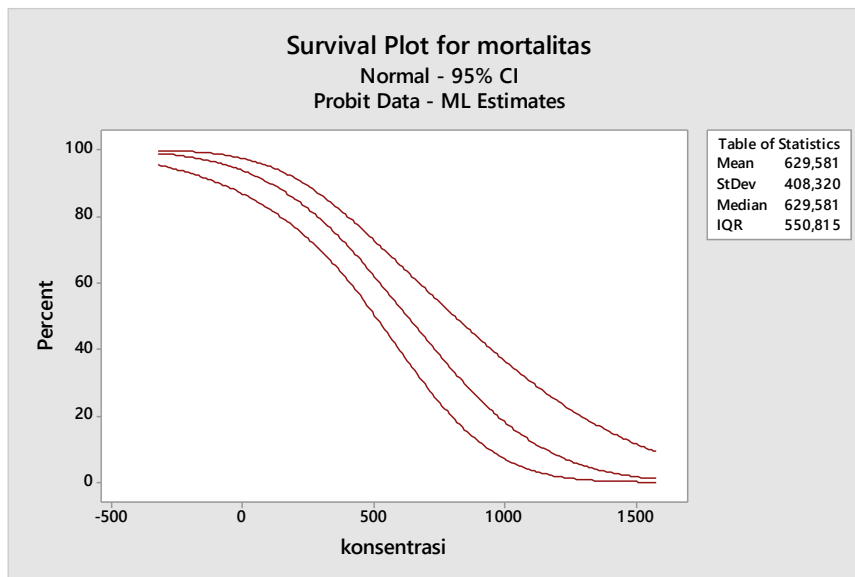
Percent	Percentile	Standard Error	95,0% Fiducial CI	
			Lower	Upper
1	-410,476	240,161	-1347,18	-84,6313
2	-214,873	194,494	-950,247	57,3427
3	-90,7698	167,526	-702,853	151,870
4	2,58854	148,893	-520,593	226,825
5	78,5283	135,243	-376,016	291,471
6	143,165	125,051	-256,621	350,158
7	199,839	117,483	-155,631	405,311
8	250,583	112,016	-68,9183	458,407
9	296,733	108,285	6,27574	510,362
10	339,215	106,008	71,9553	561,724
20	654,886	125,211	447,826	1055,57
30	882,506	166,442	640,997	1489,52
40	1077,00	209,369	787,658	1878,71

50	1258,79	252,575	917,954	2249,27
60	1440,58	297,438	1044,75	2623,32
70	1635,07	346,540	1178,12	3025,81
80	1862,69	404,910	1332,37	3498,69
90	2178,36	486,844	1544,29	4156,47
91	2220,84	497,931	1572,69	4245,12
92	2266,99	509,989	1603,52	4341,44
93	2317,74	523,261	1637,38	4447,38
94	2374,41	538,101	1675,17	4565,74
95	2439,05	555,046	1718,23	4700,76
96	2514,99	574,978	1768,77	4859,45
97	2608,35	599,514	1830,84	5054,59
98	2732,45	632,179	1913,25	5314,10
99	2928,05	683,759	2042,95	5723,30

3. Ekstrak N-Heksana

Konsentrasi (ppm)	Jumlah larva mati	Mortalitas (%)	Mortalitas
0*	0	0	0
0**	0	0	0
0	0	0	0
10	2	10	2
100	3	15	3
250	4	20	4
500	8	40	8
1000	15	75	15





Probit Analysis: mortalitas; N versus konsentrasi

Distribution: Normal

Response Information

Variable	Value	Count
mortalitas	Event	32
	Non-event	88
N	Total	120

Estimation Method: Maximum Likelihood

Regression Table

Variable	Coef	Standard Error	Z	P
Constant	-1,54188	0,215643	-7,15	0,000
konsentrasi Natural Response	0,0024491	0,0004106	5,96	0,000
	0			

Log-Likelihood = -48,014

Goodness-of-Fit Tests

Method	Chi-Square	DF	P
Pearson	1,90010	4	0,754
Deviance	3,06949	4	0,546

Tolerance Distribution

Parameter Estimates

Parameter	Estimate	Standard Error	95,0% Normal CI	
			Lower	Upper
Mean	629,581	71,2254	489,982	769,180
StDev	408,320	68,4642	293,952	567,184

Table of Percentiles

Percent	Percentile	Standard Error	95,0% Normal CI	
			Lower	Upper
1	-320,312	132,931	-580,852	-59,7726
2	-209,005	116,491	-437,323	19,3140
3	-138,384	106,442	-347,006	70,2385
4	-85,2582	99,1432	-279,575	109,059
5	-42,0447	93,4124	-225,130	141,040
6	-5,26330	88,7093	-179,130	168,604
7	26,9868	84,7403	-139,101	193,075
8	55,8630	81,3274	-103,536	215,262
9	82,1247	78,3544	-71,4471	235,696
10	106,299	75,7409	-42,1508	254,748
20	285,931	61,4277	165,535	406,327
30	415,458	59,0211	299,779	531,137
40	526,135	63,1128	402,436	649,833
50	629,581	71,2254	489,982	769,180
60	733,028	82,2471	571,826	894,229
70	843,704	96,1281	655,296	1032,11
80	973,231	114,075	749,649	1196,81
90	1152,86	140,734	877,029	1428,70
91	1177,04	144,426	893,968	1460,11
92	1203,30	148,458	912,327	1494,27
93	1232,18	152,915	932,468	1531,88
94	1264,43	157,919	954,910	1573,94
95	1301,21	163,658	980,443	1621,97
96	1344,42	170,438	1010,37	1678,47
97	1397,55	178,824	1047,06	1748,04
98	1468,17	190,045	1095,68	1840,65
99	1579,47	207,871	1172,05	1986,89

Probit Analysis: mortalitas; N versus konsentrasi

Distribution: Normal

Response Information

Variable	Value	Count
mortalitas	Event	30
	Non-event	90
N	Total	120

Estimation Method: Maximum Likelihood

Regression Table

Variable	Coef	Standard Error	Z	P
Constant	-1,33052	0,200398	-6,64	0,000
konsentrasi	0,0017574	0,0003702	4,75	0,000
Natural Response	0			

Log-Likelihood = -55,303

Goodness-of-Fit Tests

Method	Chi-Square	DF	P
Pearson	4,71861	4	0,317
Deviance	6,32315	4	0,176

Tolerance Distribution

Parameter Estimates

Parameter	Estimate	Standard Error	95,0% Normal CI	
			Lower	Upper
Mean	757,110	108,073	545,291	968,930
StDev	569,035	119,864	376,563	859,885

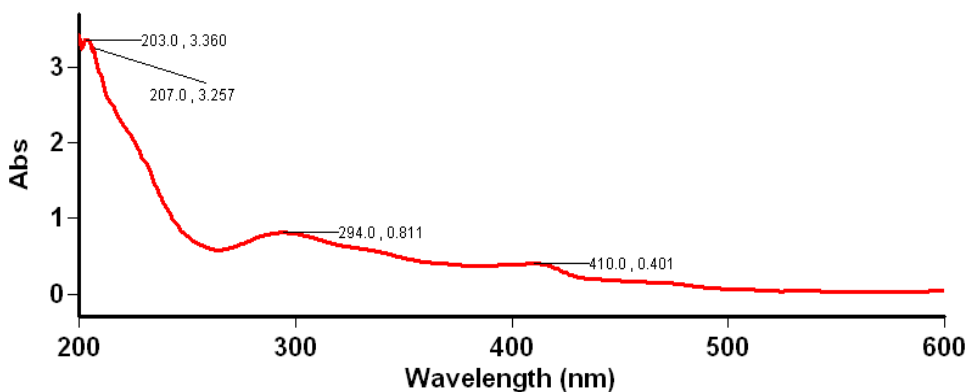
Table of Percentiles

Percent	Percentile	Standard Error	95,0% Normal CI	
			Lower	Upper
1	-566,663	217,437	-992,831	-140,495
2	-411,544	187,253	-778,553	-44,5353
3	-313,127	168,585	-643,546	17,2930
4	-239,091	154,887	-542,665	64,4826
5	-178,869	144,031	-461,164	103,426
6	-127,610	135,041	-392,286	137,066
7	-82,6661	127,391	-332,348	167,015
8	-42,4243	120,759	-279,108	194,260
9	-5,82594	114,939	-231,102	219,450

10	27,8629	109,787	-187,317	243,042
20	278,199	81,2740	118,905	437,493
30	458,708	78,2817	305,279	612,138
40	612,947	89,5044	437,522	788,372
50	757,110	108,073	545,291	968,930
60	901,274	131,122	644,280	1158,27
70	1055,51	158,536	744,788	1366,24
80	1236,02	192,634	858,466	1613,58
90	1486,36	241,867	1012,31	1960,41
91	1520,05	248,603	1032,79	2007,30
92	1556,65	255,942	1055,01	2058,28
93	1596,89	264,035	1079,39	2114,39
94	1641,83	273,103	1106,56	2177,10
95	1693,09	283,476	1137,49	2248,69
96	1753,31	295,701	1173,75	2332,88
97	1827,35	310,782	1218,23	2436,47
98	1925,77	330,903	1277,21	2574,32
99	2080,88	362,755	1369,90	2791,87

Lampiran 5. Hasil Uji Spektrofotometer UV-Vis

5.1 Lamdha Maks Ekstrak Etanol Daun Salam



Scan Analysis Report

Report Time : Fri 22 Feb 12:17:01 AM 2008

Method:

Batch: D:\Anis\Lamdha Maks Sebelum Hidrolisis Etanol Encer (18-06-2021).DSW

Software version: 3.00(339)

Operator: Rika

Sample Name: Sebelum Hidrolisis Etanol

Collection Time 2/22/2008 12:17:05 AM

Peak Table

Peak Style

Peak Threshold

Range

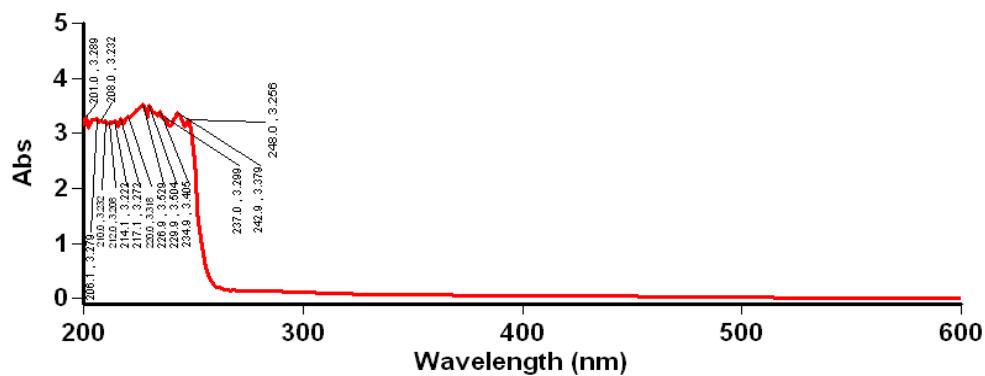
Peaks

0.0100

799.9nm to 200.0nm

Wavelength (nm)	Abs
410.0	0.401
294.0	0.811
207.0	3.257
203.0	3.360

5.2 Lamdha Maks Ekstrak Etil Asetat Daun Salam



Scan Analysis Report

Report Time : Mon 28 Jun 03:21:40 PM 2021

Method:

Batch: D:\Anis\Lamdha Maks Sebelum Hidrolisis Etil Asetat Ulang (28-06-2021).DSW

Software version: 3.00(339)

Operator: Rika

Sample Name: Etil Asetat Sebelum Hidrolisis

Collection Time 6/28/2021 3:22:13 PM

Peak Table

Peak Style

Peak Threshold

Range

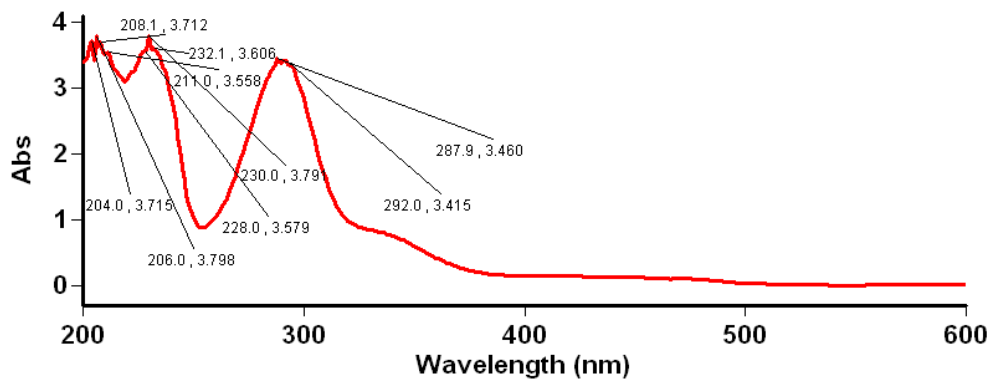
Peaks

0.0100

800.0nm to 199.9nm

Wavelength (nm)	Abs
666.9	0.031
289.0	0.340
248.0	3.448
242.9	3.616
240.0	3.345
237.0	3.591
234.9	3.812
231.0	3.790
229.0	3.775
226.9	4.141
221.0	3.593
218.9	3.507
214.1	3.506
212.0	3.474
208.0	3.648
205.0	3.530
201.0	3.405

5.3 Lamdha Maks Ekstrakn-Heksana Asetat Daun Salam



Scan Analysis Report

Report Time : Fri 18 Jun 10:32:50 AM 2021

Method:

Batch: D:\Anis\Lamdha Maks Sebelum Hidrolisis n-Heksana (18-06-2021).DSW

Software version: 3.00 (339)

Operator: Rika

Sample Name: Sebelum Hidrolisis n-Heksana

Collection Time 6/18/2021 10:33:24 AM

Peak Table

Peak Style

Peak Threshold

Range

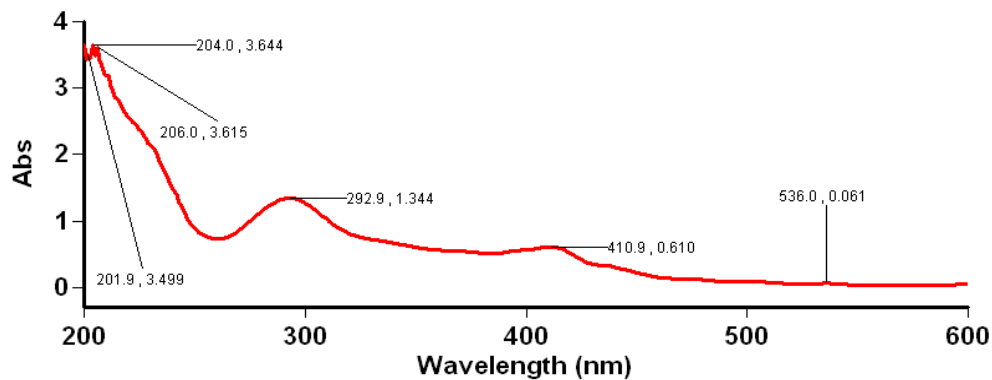
Peaks

0.0100

799.9nm to 200.0nm

Wavelength (nm)	Abs
669.0	0.034
292.0	3.415
287.9	3.460
232.1	3.606
230.0	3.791
228.0	3.579
211.0	3.558
208.1	3.712
206.0	3.798
204.0	3.715

5.4 Lamdha Maks EkstrakEtanol Daun Salam Sesudah Hidrolisis



Scan Analysis Report

Report Time : Fri 18 Jun 10:26:10 AM 2021
 Method:
 Batch: D:\Anis\Lamdha Maks Hidrolisis Etanol (18-06-2021).DSW
 Software version: 3.00(339)
 Operator: Rika

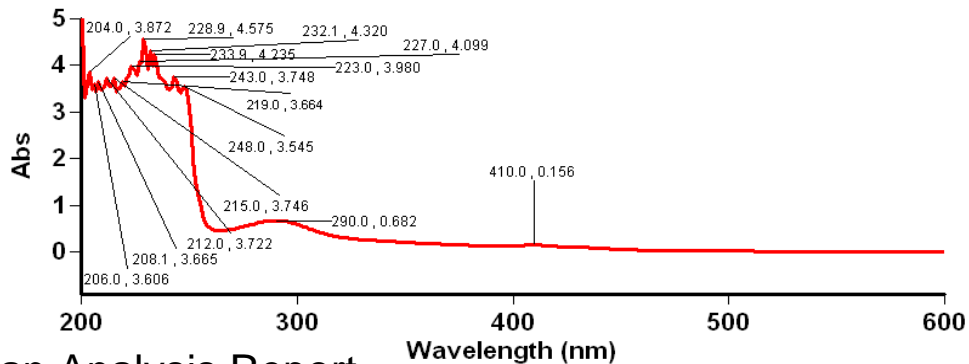
Sample Name: Hidrolisis Etanol

Collection Time 6/18/2021 10:26:16 AM

Peak Table
 Peak Style Peaks
 Peak Threshold 0.0100
 Range 799.9nm to 200.0nm

Wavelength (nm)	Abs
665.0	0.214
606.9	0.060
536.0	0.061
410.9	0.610
292.9	1.344
206.0	3.615
204.0	3.644
201.9	3.499

5.5 Lamdha Maks EkstrakEtil AsetatSalam Sesudah Hidrolisis



Scan Analysis Report

Report Time : Fri 18 Jun 10:41:00 AM 2021
 Method:
 Batch: D:\Anis\Lamdha Maks Hidrolisis Etil Asetat (18-06-2021).DSW
 Software version: 3.00(339)
 Operator: Rika

Sample Name: Hidrolisis Etil Asetat

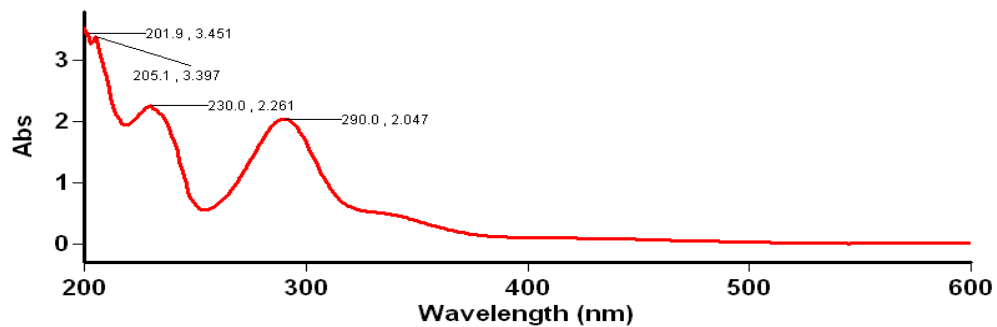
Collection Time 6/18/2021 10:41:06 AM

Peak Table
 Peak Style Peaks
 Peak Threshold 0.0100

Range 799.9nm to 200.0nm

Wavelength (nm)	Abs
666.0	0.043
410.0	0.156
290.0	0.682
248.0	3.545
243.0	3.748
233.9	4.235
232.1	4.320
228.9	4.575
227.0	4.099
223.0	3.980
219.0	3.664
215.0	3.746
212.0	3.722
208.1	3.665
206.0	3.606
204.0	3.872

5.6 Lamdha Maks Ekstrakn-HeksanaSalam Sesudah Hidrolisis



Scan Analysis Report

Report Time : Fri 18 Jun 10:35:32 AM 2021
 Method:
 Batch: D:\Anis\Lamdha Maks Hidrolisis n-Heksana (18-06-2021).DSW
 Software version: 3.00(339)
 Operator: Rika

Sample Name: Hidrolisis n-Heksana

Collection Time 6/18/2021 10:35:37 AM

Peak Table
 Peak Style Peaks
 Peak Threshold 0.0100
 Range 799.9nm to 200.0nm

Wavelength (nm)	Abs
669.0	0.026
290.0	2.047
230.0	2.261
205.1	3.397
201.9	3.451

Lampiran 6. Dokumentasi
Dokumen Penelitian



Serbuk daun salam



Proses ekstraksi ultrasonik



Penyaringan dengan *corong buchner*



Filtrat ekstraksi ultrasonik



Hasil ekstrak daun salam



Hasil ekstrak sesudah hidrolisis



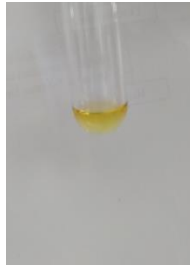
Uji toksisitas



Hasil positif uji flavonoid



Hasil positif uji saponin



Hasil positif uji tanin



Hasil positif uji alkaloid

Hasil positif uji triterpenoid