

**UJI TOKSISITAS SENYAWA AKTIF HASIL EKSTRAK AIR, DAN
FRAKSINASI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT, ETANOL RIMPANG
JERINGAU (*Acorus Calamus* L.) DENGAN METODE BSLT (*Brine Shrimp
Lethality Test*) MENGGUNAKAN EKSTRAKSI SONIKASI**

SKRIPSI

**Oleh :
FINKA INDAH ENDIARTIN
NIM. 19630032**



**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2023**

**UJI TOKSISITAS SENYAWA AKTIF HASIL EKSTRAK AIR, DAN
FRAKSINASI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT, ETANOL RIMPANG
JERINGAU (*Acorus Calamus* L.) DENGAN METODE BSLT (*Brine Shrimp
Lethality Test*) MENGGUNAKAN EKSTRAKSI SONIKASI**

SKRIPSI

**Oleh:
FINKA INDAH ENDIARTIN
NIM.19630032**

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

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2023**

LEMBAR PENGESAHAN


UJI TOKSISITAS SENYAWA AKTIF HASIL EKSTRAK AIR, DAN FRAKSINASI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT, ETANOL RIMPANG JERINGAU (*Acorus Calamus* L.) DENGAN METODE BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) MENGGUNAKAN EKSTRAKSI SONIKASI

SKRIPSI


Oleh :
FINKA INDAH ENDIARTIN
NIM. 19630032

Telah Diperiksa dan Disetujui:

Pembimbing I


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

Pembimbing II


Ahmad Hanapi, M.Sc
NIDT. 19851225 201608011 069

Mengetahui,
Ketua Program Studi Kimia

Rachmayanti Anzsin, M.Si
NIP. 19840101 200801 2 010

**UJI TOKSISITAS SENYAWA AKTIF HASIL EKSTRAK AIR, DAN
FRAKSINASI N-HEKSANA, ETIL ASETAT, ETANOL RIMPANG
JERINGAU (*Acorus Calamus* L.) DENGAN METODE BSLT (*Brine Shrimp
Lethality Test*) MENGGUNAKAN EKSTRAKSI SONIKASI**

SKRIPSI

Oleh:
FINKA INDAH ENDIARTIN
NIM.19630032

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

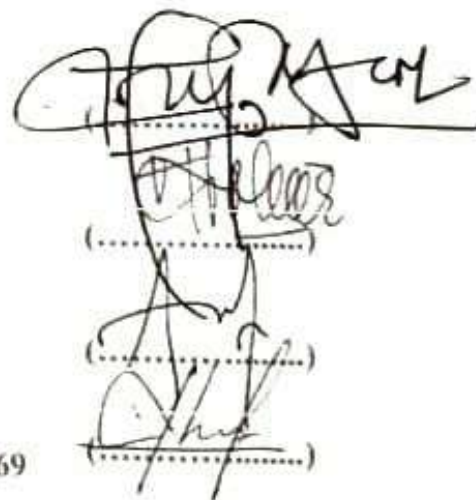
Tanggal: 12 Desember 2023

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

Ketua Penguji : Nur Aini, M.Si
NIP. 19840608201903 2 009

Sekretaris Penguji : Dr. Suci Amalia, M.Sc
NIP. 19821104 200901 2 0027

Anggota Penguji : Ahmad Hanapi, M.Sc
NIDT. 19851225 201608011 069



Mengesahkan,
Ketua Program Studi Kimia



Saya yang bertanda tangan di bawah ini

Nama : Finka Indah Endiartin
NIM : 19630032
Program Studi : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Uji Toksisitas Senyawa Aktif Hasil Ekstrak Air, Dan Fraksinasi *n*-heksana, Etil asetat, etanol Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) Dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) Menggunakan Ekstraksi Sonikasi

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

Malang, 12 Desember 2023

Yang membuat pernyataan,



Finka Indah Endiartin
NIM. 19630032

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillah *robbil alamin*, puji syukur saya ucapkan kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan ridho-Nya kepada saya dalam mengerjakan tugas akhir ini, sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini dengan lancar walaupun terdapat beberapa kendala tetapi dapat terselesaikan dengan baik. Skripsi ini saya persembahkan untuk:

Kedua orang tua saya, Bapak Romadlon dan Ibu Niswati yang senantiasa memanjatkan do'a terbaik untuk anaknya, memberikan dukungan baik material maupun non-material terbaik untuk saya. Beserta kakak saya Nindar Risalatul Muhimmah yang selalu memberikan semangat, menjadi tempat cerita dan juga mendoakan saya. Bapak, Ibu, kakak semoga sehat selalu, diberikan umur panjang, dan diberikan kedamaian terus untuk keluarga kita agar selalu utuh dan selalu disampingku setiap aku melangkah.

Para dosen dan seluruh laboran Program Studi Kimia UIN Malang khususnya Ibu Dr. Suci Amalia, M.Sc, Bapak Ahmad Hanapi, M.Sc, Bapak Dr. Anton Prasetyo, M.Si, Ibu Nur Aini, M.Si. selaku pembimbing serta penguji. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si selaku dosen wali dan Bapak A. Ghanaim Fasya, M.Si. Saya ucapkan terimakasih atas bimbingan, masukan dan saran dalam penelitian dan penulisan skripsi ini. Tak lupa juga terima kasih kepada Pak abi yang sudah banyak memberikan saya ilmu baru dan membantu saya selama penelitian.

Selanjutnya, saya ucapkan terima kasih untuk teman-teman seperjuangan di pondok Bustanul Qur'an yang selalu memberi semangat dan support. Kepada teman seperjuangan dan seangkatan kimia tim hokya-hokya yang selalu memberi tempat untuk saya bercerita dan berkeluh kesah. Kepada kakak tingkat tim penelitian salak yang membersamai saya pada saat penelitian di laboratorium, dan tak lupa juga kepada kakak-kakak tingkat yang lain, yang membantu karakterisasi sampel, membantu dalam menyusun pembahasan skripsi, dan selalu memberi semangat agar terus melanjutkan perjuangan ini, saya ucapkan terima kasih dan mohon maaf jika sering merepotkan. Semoga kita selalu dalam lindungan Allah SWT, diberikan Kesehatan dan bisa bertemu lagi.

Terakhir kepada Finka Indah Endiartin yang hebat sudah bisa bertahan dan menyelesaikan sampai detik ini. Terima kasih, telah mau berjuang melewati segala permasalahan dan rintangan walaupun sering tumbang dan diwarnai dengan tangisan, tetapi tetap bertahan hingga saat ini terselesaikannya tugas akhir. Semoga untuk kedepannya selalu kuat dan dapat memberikan kebahagiaan untuk kedua orang tua, keluarga dan juga orang lain.

MOTTO

لَا يُكَلِّفُ اللَّهُ نَفْسًا إِلَّا وُسْعَهَا

“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya”

فَإِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا

“Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan”

“Orang lain tidak akan pernah bisa mengerti struggle dan masa sulit yang kita alami, yang mereka tahu hanyalah bagian succes stories. Berjuanglah untuk diri sendiri dan tetaplah bermanfaat bagi sekeliling hingga kelak kita akan bangga dengan apa yang telah kita lakukan”

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan atas kehadiran Allah SWT yang telah memberikan segala rahmat dan nikmatnya berupa kesehatan, kesempatan, serta kesabaran, sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini yang berjudul **“Uji Toksisitas Senyawa Aktif Hasil Ekstrak Air, Dan Fraksinasi *n*-Heksana, Etil Asetat, Etanol Rimpang Jeringau (*Acorus Calamus L.*) Dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) Menggunakan Ekstraksi Sonikasi”** dengan semaksimal mungkin. Sholawat dan salam tidak lupa selalu tercurah limpahkan kepada Nabi Muhammad SAW yang telah menyampaikan petunjuk dan menunjukkan jalan yakni agama Islam. Semoga kelak kita termasuk umat yang mendapatkan syafaatnya, Aamiin. Penyusun juga mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. M. Zainuddin, MA selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Ibu Dr. Sri Harini, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si, selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Dr. Suci Amalia, M.Sc selaku Dosen pembimbing I yang telah meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan, arahan serta nasihat.
5. Bapak Ahmad Hanapi, M.Sc selaku Dosen pembimbing II yang telah meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan, arahan serta nasihat.

6. Segenap Bapak/Ibu dosen serta pegawai di Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan akses sarana guna keberlangsungan penyusunan laporan penelitian ini.
7. Kedua Orang tua tercinta serta keluarga yang telah memberikan perhatian, nasihat, do'a, dukungan baik moril maupun materil yang tak mungkin terbalaskan.
8. Ustadz dan Ustadzah pengasuh Rumah Tahfidz Bustanul Qur'an yang telah terus-menerus menyemangati dan sambung do'a kepada semua santri-santrinya
9. Teman-teman yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu serta semua pihak yang telah membantu memberikan semangat.

Penyusun menyadari banyaknya kekurangan dalam penyusunan skripsi ini. Untuk itu, penyusun dengan lapang hati mengharapkan kritik dan saran untuk perbaikan dalam penyusunan selanjutnya. Terlepas dari segala kekurangan, semoga hasil penelitian ini dapat memberikan informasi dan kontribusi positif serta bermanfaat bagi kita semua, Aamiin.

Malang. 12 Desember 2023

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	I
LEMBAR PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	v
MOTTO	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
ABSTRAK	xiv
ABSTRACT	xv
ملخص البحث	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Batasan Masalah.....	6
1.5 Manfaat Penelitian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	9
2.1 Tumbuhan Jeringau (<i>Acorus calamus</i> L.)	9
2.1.1 Morfologi Tumbuhan Jeringau	9
2.1.2 Senyawa Metabolit Sekunder	8
2.1.3 Manfaat Tanaman Jeringau.....	9
2.2 Metode Ekstraksi Sonikasi (Ultrasonik).....	10
2.3 Hidrolisis Partisi	13
2.5 Uji Toksisitas Menggunakan Metode BSLT	15
2.5.1 Hewan Uji (<i>Artemia salina</i> Leach).....	15
2.5.2 Pengujian Toksisitas Rimpang Jeringau (<i>Acorus calamus</i> L.)	16
2.6 Identifikasi Senyawa Aktif Menggunakan Spektroskopi UV-Vis.....	17
2.7 Identifikasi Senyawa Aktif Menggunakan Spektroskopi FTIR	18
BAB III METODE PENELITIAN	20
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	20
3.2 Alat dan Bahan	20
3.2.1 Alat	20
3.2.2 Bahan	20
3.3 Rancangan Penelitian	20
3.4 Tahapan Penelitian	21
3.5 Cara Kerja.....	22
3.5.1 Preparasi Sampel	22
3.5.2 Analisis Kadar Air	22
3.5.3 Ekstraksi Sampel Menggunakan Metode Sonikasi (<i>ultrasonic</i>).....	22
3.5.4 Hidrolisis dan Partisi	23
3.6 Pengujian Toksisitas Menggunakan Metode BSLT	24
3.6.1 Penyiapan Larva <i>Artemia salina</i> Leach.....	24
3.6.2 Uji Toksisitas.....	24
3.7 Identifikasi Spektroskopi UV-Vis	26

3.8 Identifikasi Spektroskopi FTIR	26
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	29
4.1 Preparasi Sampel	29
4.2 Ekstraksi Sonikasi Rimpang Jeringau (<i>Acorus calamus</i> L.)	30
4.3 Hidrolisis dan Partisi	31
4.4 Hasil Identifikasi Senyawa Menggunakan Spektroskopi UV-Vis	33
4.5 Hasil Identifikasi Senyawa Menggunakan Spektroskopi FTIR	35
4.6 Pengujian Toksisitas Menggunakan Metode BSLT	40
4.6.1 Penetasan Larva Udang <i>Artemia salina</i> Leach.....	40
4.6.2 Uji Toksisitas.....	40
4.7 Pemanfaatan Rimpang Jeringau (<i>Acorus calamus</i> L.) dalam Perspektif Islam	44
BAB V PENUTUP	47
5.1 Kesimpulan.....	47
5.2 Saran.....	47
DAFTAR PUSTAKA	48

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian	54
Lampiran 2. Skema Kerja	55
Lampiran 3. Perhitungan Reagen dan Larutan.....	59
Lampiran 4. Data Perhitungan Rendemen	62
Lampiran 5. Data Uji Toksisitas Rimpang Jeringau (<i>Acorus calamus</i> L.)	65
Lampiran 6. Hasil Spektra UV-Vis Ekstrak Pekat Air dan Masing-Masing Fraksi	77
Lampiran 7. Hasil Spektra FTIR Ekstrak Pekat Air dan Masing-Masing Fraksi .	81
Lampiran 8. Dokumentasi Penelitian.....	83
Lampiran 9. Struktur Senyawa Komponen Minyak Atsiri	86
Lampiran 10. Nilai Indeks Polaritas Pelarut	87

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tumbuhan jeringau (<i>Acorus calamus</i> L.)	8
Gambar 2.2 Morfologi tumbuhan jeringau	8
Gambar 2.3 (a) Pengaturan ultrasonik tipe batch; (b) komponen-komponen yaitu, generator, transduser, amplifier dan probe; (c) Urutan transformasi energi	11
Gambar 2.4 Skema proses kavitasi akustik	12
Gambar 2.5 Dugaan reaksi hidrolisis ikatan o-glikosida	14
Gambar 2.6 Larva udang (<i>Artemia salina</i> L.)	16
Gambar 4.1 Ekstrak pekat air rimpang jeringau	30
Gambar 4.2 Dugaan reaksi hidrolisis ikatan o-glikosida	31
Gambar 4.3 Proses hidrolisis (a), hasil hidrolisis (b)	32
Gambar 4.4 Spektra UV-Vis ekstrak pekat air dan masing-masing fraksi	34
Gambar 4.5 Spektra FTIR ekstrak pekat air dan masing-masing fraksi	36

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Penelitian terdahulu tentang rimpang jeringau	10
Tabel 2.2 Pengujian toksisitas rimpang jeringau	17
Tabel 3.1 Data kematian larva udang uji toksisitas seluruh pengulangan	25
Tabel 3.2 Data mortalitas larva udang (<i>Artemia salina</i> Leach)	26
Tabel 3.3 Data pengolahan LC_{50} pada <i>software minitab 19</i>	27
Tabel 4.1 Data hasil rendemen fraksi	32
Tabel 4.2 Hasil spektrum FTIR ekstrak pekat air dan masing-masing fraksi	39
Tabel 4.3 Hasil uji toksisitas ekstrak pekat air dan masing-masing fraksi	41
Tabel 4.4 Nilai LC_{50} ekstrak pekat air dan masing-masing fraksi	42

ABSTRAK

Endiartin, Finka Indah. 2023. **Uji Toksisitas Senyawa Aktif Hasil Ekstrak Air, Dan Fraksinasi *n*-Heksana, Etil asetat, Etanol Rimpang Jeringau (*Acorus Calamus* L.) Dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) Menggunakan Ekstraksi Sonikasi**. Skripsi Jurusan Kimia, Fakultas sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I : Dr. Suci Amalia M.Sc, Pembimbing II: Ahmad Hanapi M,Sc

Kata kunci : Rimpang Jeringau, Ekstraksi Sonikasi, Fraksinasi, Toksisitas, Metode BSLT

Jeringau merupakan salah satu jenis tumbuhan yang dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat tradisional terutama bagian rimpangnya. Rimpang Jeringau banyak mengandung senyawa aktif. Penelitian ini dilakukan uji toksisitas menggunakan metode BSLT pada rimpang Jeringau yang diekstrak menggunakan air dan metode sonikasi dengan perbandingan 1:10 (*b/v*) dan dipartisi dengan variasi pelarut yaitu *n*-heksana, etil asetat, etanol. Identifikasi menggunakan spektroskopi UV-Vis dan FTIR. Hasil penelitian didapatkan rendemen sebesar 11,126%, diduga positif golongan alkaloid, flavonoid, tanin, terpenoid dan steroid serta diperkuat dengan hasil spektroskopi UV-Vis serapan panjang gelombang sebesar 300, 283, 266 dan 250 nm dengan transisi elektron π - π^* dan n - π^* serapan panjang gelombang 204, 205, dan 206 nm dengan transisi elektron π - π^* . Uji toksisitas pada ekstrak pekat air, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, fraksi etanol dihasilkan nilai LC_{50} berturut-turut 297,457; 156,557; 182,7923; 298,842 ppm. Data spektra FTIR rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) terlihat adanya serapan gugus N-H, O-H, -CH₃, -CH₂, C=O, C=C, C-O, dan C-N.

ABSTRACT

Endiartin, Finka Indah. 2023. **Toxicity Test of Active Compounds Resulted from Water Extract, and Fractionation of *n*-Hexane, Ethyl Acetate, Ethanol of Jeringau (*Acorus Calamus L.*) Rhizome Using the BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) Method Using Sonication Extraction** thesis for the Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor I : Dr. Suci Amalia M.Sc, Supervisor II: Ahmad Hanapi M,Sc

Keywords : Jeringau Rhizome, Sonication Extraction, Fractions, Toxicity, BSLT method.

Jeringau is a type of plant that is used by the community as traditional medicine, especially the rhizome. Jeringau rhizomes contain many active compounds. This research carried out a toxicity test using the BSLT method on Jeringau rhizomes which were extracted using water and the sonication method with a ratio of 1:10 (w/v) and partitioned with varying concentrations, namely *n*-hexane, ethyl acetate, ethanol. Identification using UV-Vis and FTIR spectroscopy. The results of the research obtained a yield of 11.126%, suspected positive group for the alkaloid, flavonoid, tannin, terpenoid and steroid groups and were strengthened by the results of UV-Vis spectroscopy with wavelength absorption of 300, 283, 266 and 250 nm with electron transitions π - π^* and n - π^* absorption of wavelengths 204, 205, and 206 nm with electron transitions π - π^* . Toxicity tests on water concentrated extract, *n*-hexane fraction, ethyl acetate fraction, ethanol fraction resulted in LC_{50} values of 297,457 respectively; 156,557; 182.7923; 298,842 ppm. FTIR spectrum data of Jeringau rhizomes (*Acorus calamus L.*) shows the absorption of N-H, O-H, -CH₃, -CH₂, C=O, C=C, C-O, and C-N groups.

ملخص البحث

إنديارتين, فينكا اينداه. ٢٠٢٣. اختبار السمية للمركبات النشطة الناتجة عن استخراج المياه، وتكسير ن- .
(BSLT هكسان، إيثيل أسيتات، إيثانول جيرينجاو (أكوروس كالاموس ل) الريزوم باستخدام طريقة
اختبار فنك الروبيان الصناعي) باستخدام أطروحة استخلاص سونيكيشن لقسم الكيمياء، كلية العلوم
والتكنولوجيا، جامعة مولانا الإسلامية الحكومية مالك إبراهيم مالانج. المشرف الأول : د. سوسي أماليا
M، Sc. المشرف الثاني: أحمد هانا بي، M.Sc.

الكلمات المفتاحية : جيرينجاو رايوم ، استخراج سونيكيشن ، المواد الكيميائية النباتية ، الكسور ، السمية ، طريقة
بسلت .

جيرينجاو هو نوع من النباتات التي يستخدمها المجتمع كالتب التقليدي، وخاصة الجذور تحتوي
جذور جيرينجاو على العديد من المركبات النشطة. أجرى هذا البحث اختبار السمية باستخدام طريقة
على جذور جيرينجاو والتي تم استخراجها باستخدام الماء وطريقة صوتنة بنسبة 1:10 BSLT
هكسان، أسيتات الإيثيل، الإيثانول. تم إجراء- π وتقسيمها بتركيزات متفاوتة، وهي (w/v)
الفحص الأولي عن طريق الاختبارات الكيميائية النباتية التي تم دعمها عن طريق تحديد الهوية باستخدام
،%نتائج البحث حصلت على عائد 11.126 FTIR. الأشعة فوق البنفسجية-فيس والتحليل الطيفي
اختبارات كيميائية نباتية إيجابية للقلويد، مجموعات الفلافونويد والتربينويد وتم تعزيزها بنتائج التحليل
الطيفي للأشعة فوق البنفسجية مع امتصاص الطول الموجي 283 و266 نانومتر مع انتقالات الإلكترون
امتصاص الأطوال $n-\pi^*$ و $\pi-\pi^*$ امتصاص الطول الموجي 208 نانومتر مع انتقالات الإلكترون. $n-\pi^*$
أدت اختبارات السمية على $\pi-\pi^*$ الموجية 204 و205 و206 نانومتر مع انتقالات الإلكترون
المستخلص المركز للماء، وجزء الهكسان ن، وجزء أسيتات الإيثيل، وجزء الإيثانول إلى قيم
البالغة 297,457 على التوالي؛ 156,557؛ 182,7923؛ 298,842 جزء في المليون. تُظهر LC_{50}
O-H، و N-H امتصاص مجموعات (*Acorus calamus* L.) لجذور جيرينجاو FTIR بيانات طيف
و C-N، و C-O، و C=C، و C=O، و CH₂، و CH₃ و

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Negara Indonesia merupakan salah satu negara *megabiodiversitas* dan beriklim tropis, yang memiliki keanekaragaman hayati cukup tinggi, seperti tumbuhan, hewan, dan mikroorganisme. Salah satu keanekaragaman hayati yang memiliki manfaat yaitu tumbuhan, kurang lebih terdapat 30.000 spesies tumbuh-tumbuhan yang merupakan tumbuhan obat dan rempah-rempah (Kusuma, 2021). Pemanfaatan dari keanekaragaman tumbuhan oleh masyarakat Indonesia sendiri mencapai angka 1.000 jenis tumbuhan, yang mana dimanfaatkan dari sebagai sayur, bumbu rempah, hingga obat herbal (Romadhoni, 2020).

Dalam Islam secara implisit kita diperintahkan untuk menelaah secara mendalam kepada ayat-ayat kauniyah yang terkait tumbuh-tumbuhan dengan berbagai macam jenis dan manfaat yang berbeda pada setiap jenisnya sebagaimana yang dijelaskan dalam al-Qur'an surah Thaha ayat 53 sebagai berikut:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَوَسَّلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِّنْ ثُبَاتٍ شَتَّىٰ

Artinya: “(Tuhan) yang telah menjadikan bumi sebagai hamparan bagimu, dan menjadikan jalan-jalan di atasnya bagimu, dan yang menurunkan air (hujan) dari langit.” Kemudian Kami tumbuhkan dengannya (air hujan itu) berjenis-jenis aneka macam tumbuh-tumbuhan.” (Q.S Thaha 53:20)

Ayat di atas dapat ditafsirkan “Allah menurunkan air dari langit, dan menumbuhkan dengannya berbagai jenis tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam” merupakan bagian dari hidayah Allah SWT kepada manusia dan binatang

guna memanfaatkan buah-buahan dan tumbuh-tumbuhan untuk kelanjutan hidupnya. Dalam firman-Nya “Dia yang telah menjadikan bagi kamu bumi sebagai hamparan”. Terjemahan ayat tersebut bertujuan mengisyaratkan bahwa begitu banyak tumbuhan yang diciptakan oleh Allah SWT, dengan bermacam-macam jenis bentuk dan rasanya (Shihab, 2002).

Jeringau merupakan satu dari bermacam-macam jenis tumbuh-tumbuhan yang pastinya memiliki banyak sekali manfaat. Jeringau dapat dimanfaatkan dari daun hingga rimpangnya. Biasanya, masyarakat Indonesia memanfaatkan tumbuhan jeringau untuk obat tradisional (Yulia & Setiyabudi, 2021). Beberapa manfaat atau aktivitas farmakologi dari rimpang jeringau di antaranya sebagai antifungal (Susanti, 2016), antimikroba (Romadhoni, 2020), antiinflamasi (Safrina, dkk., 2018), antidiabetes (Umamaheshwari & Rekha, 2018). Manfaat tumbuhan ini telah dijelaskan sebagaimana firman Allah Swt dalam al-Qur’an surat asy Syu’ara ayat 7:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya: “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, betapa banyak kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam pasangan (tumbuh-tumbuhan) yang baik?” (Q.S asy Syu’ara 7:26)

Kata *ila* pada awal ayat ini “*awalam yara ila al-ardb* apakah mereka tidak melihat ke bumi, merupakan suatu kata yang mengandung makna *batas terakhir*. Ia berfungsi memperluas arah pandangan hingga batas akhir, dengan demikian ayat ini mengundang manusia untuk mengarahkan pandangan hingga batas kemampuannya memandang sampai mencakup seantero bumi, dengan aneka tanah

dan tumbuhannya dan aneka keajaiban yang terhampar pada tumbuh-tumbuhannya (Shihab, 2002).

Pemanfaatan tumbuhan jeringau untuk pengobatan tradisional sebaiknya kita mengetahui senyawa aktif atau senyawa metabolit sekunder apa yang terkandung, sehingga dapat berpotensi untuk pengobatan. Jeringau memiliki banyak senyawa aktif seperti flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, steroid, dan terpenoid. Hal ini sebagaimana yang telah tertera pada penelitian terdahulu, yaitu senyawa flavonoid, saponin dan triterpenoid (Fithrony, 2021), senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, dan terpenoid (Kusuma, 2021), senyawa terpenoid (Fauziah, dkk., 2017). Untuk mendapatkan senyawa metabolit sekunder dalam rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) dapat dilakukan dengan ekstraksi (pemisahan). Ekstraksi yang banyak digunakan untuk memisahkan dan memiliki banyak keunggulan dibanding ekstraksi lainnya adalah ekstraksi sonikasi. Metode sonikasi merupakan metode ekstraksi yang memanfaatkan gelombang ultrasonik dengan frekuensi lebih dari 20 KHz. Metode ini memiliki keunggulan dari metode lain, yaitu kecepatan saat ekstraksi, lebih aman, lebih mudah, dapat mempersingkat waktu ekstraksi dan juga dapat meningkatkan hasil ekstraksi (Fithrony, 2021).

Penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Hasan (2015) proses pemisahan senyawa metabolit sekunder dari rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) menggunakan metode ekstraksi maserasi. Menggunakan variasi pelarut berdasarkan tingkat kepolarannya dengan perbandingan 1:4 (pelarut:sampel) didapatkan rendemen pada pelarut etanol sebesar 7,8%, kemudian pada pelarut kloroform sebesar 3,3%, dan pada pelarut *n*-heksana sebesar 2,4%. Kemajuan zaman yang mendukung pembaharuan metode ekstraksi simplisia. Ekstraksi

sonikasi pada sampel tumbuhan Jeringau merupakan salah satu pembaharuan metode. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Fithrony (2021) menggunakan ekstraksi sonikasi pada sampel rimpang Jeringau dengan perbandingan 1:10, pelarut berupa etanol dan lama waktu ekstraksi 30 menit dan frekuensi 20 KHz dan didapatkan rendemen sebesar 16,67%.

Hasil ekstraksi dilanjutkan dengan proses hidrolisis dan partisi. Proses hidrolisis bertujuan untuk memecah antara glikon dan aglikon yang terhubung pada ikatan glikosida. Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak merupakan senyawa aglikon sehingga perlu dipecah untuk mendapatkan hasil yang lebih spesifik (Fasya, dkk., 2018). Ekstrak pekat yang didapatkan saat proses ekstraksi masih terdapat senyawa pengotor yang terkandung di dalamnya. Sehingga, perlu dilakukan proses pemisahan menggunakan metode fraksinasi. Metode fraksinasi memiliki prinsip perbedaan sifat partisi cair-cair berdasarkan sifat kepolaran senyawa aktif. Senyawa aktif ada pada ekstrak akan terpisah ke dalam pelarut yang memiliki sifat kepolaran yang sama (Ningsih, dkk., 2016).

Uji toksisitas merupakan tahapan skrining awal untuk mengetahui tingkatan toksik atau racun yang dapat menyebabkan gangguan fungsi pada tubuh suatu organisme. Sehingga, diharapkan pengujian ini dapat mengetahui seberapa dosis yang dibutuhkan dalam proses pengobatan. Salah satu metode awal yang sering digunakan untuk mengamati toksisitas senyawa yang terdapat pada tumbuhan atau bahan alam adalah metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) (Supriat, 2023). Berdasarkan penelitian sebelumnya yang menguji tingkat toksisitas dari rimpang Jeringau yaitu Kusuma (2021), menggunakan sampel ekstrak kasar rimpang Jeringau dengan variasi pelarut saat ekstraksi dan menghasilkan uji toksisitas

menggunakan metode BSLT dari ekstrak air sebesar 120,334 ppm, ekstrak metanol sebesar 160,337 ppm, ekstrak etanol sebesar 49,2807 ppm, ekstrak etil asetat sebesar 46,9831 ppm.

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

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah yang akan dikaji dalam penelitian sebagai berikut :

- a. Bagaimana toksisitas dari ekstrak rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) dan fraksi terhadap larva udang *Artemia salina leach* menggunakan metode BSLT?
- b. Bagaimana hasil analisis UV-Vis dan FTIR pada ekstrak rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) dan fraksinasinya?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dilakukannya penelitian ini adalah sebagai berikut :

- a. Untuk mengetahui toksisitas dari ekstrak rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) dan hasil fraksi terhadap larva *Artemia salina leach* menggunakan metode BSLT.
- b. Untuk mengetahui hasil analisis UV-Vis dan FTIR pada ekstrak rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) dan fraksinya.

1.4 Batasan Masalah

Adapun batasan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

- a. Sampel yang digunakan adalah rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.)
- b. Metode ekstraksi yang digunakan merupakan metode sonikasi (ultrasonik)
- c. Pelarut yang digunakan pada saat ekstraksi adalah air (*aquades*)
- d. Pengujian toksisitas menggunakan metode BSLT

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi salah satu sumber informasi bagi peneliti, mahasiswa, sampai masyarakat umum tentang manfaat tumbuhan Jeringau (*Acorus calamus* L.) terhadap toksisitas dengan menggunakan metode uji BSLT. Manfaat lain yang diharapkan adalah dapat mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak serta fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan etanol rimpang tumbuhan Jeringau (*Acorus calamus* L.)

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tumbuhan Jeringau (*Acorus calamus* L.)

2.1.1 Morfologi Tumbuhan Jeringau

Tumbuhan Jeringau (*Acorus calamus* L.) merupakan salah satu tumbuhan air yang banyak dijumpai di pinggiran rawa-rawa sungai ataupun daerah yang tergenang air. Tanaman ini banyak ditanam atau dibudidayakan dengan cara menanam di daerah comberan, di halaman atau di sekeliling rumah. Diperkirakan tumbuhan ini asli berasal dari anak benua India dan menyebar ke berbagai penjuru dunia dengan melalui perdagangan rempah-rempah. Di benua Amerika tumbuhan Jeringau (*Acorus calamus* L.) dipertukarkan dengan kerabatnya yang asli dari *Acorus americanus* (Hasan, 2015). Tumbuhan Jeringau ditampilkan pada Gambar 2.1.

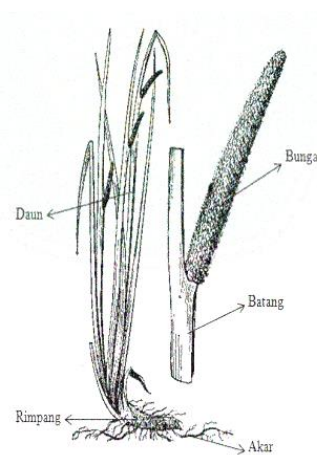
Menurut Umamaheshwari dan Rekha (2018), tumbuhan Jeringau dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i>
Super divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Liliopsida</i>
Subclass	: <i>Arecida</i>
Ordo	: <i>Arales</i>
Famili	: <i>Acoraceae</i>
Spesies	: <i>Acorus calamus</i> L.



Gambar 2.1 Tumbuhan jeringau (*Acorus calamus* L.) (Umamaheshwari Rekha, 2018)

Tumbuhan Jeringau (*Acorus calamus* L.) tergolong pada jenis tumbuhan herbal yang memiliki bentuk yang mirip dengan rumput dan juga mirip dengan daun pandan, tetapi ukurannya relatif lebih runcing dan tinggi sekitar 75 cm dengan daun dan rimpang yang memiliki aroma yang kuat. Daun dari tumbuhan ini memiliki bentuk lanset, ujung runcing, tepi rata, dan memiliki warna hijau. Bunga majemuk berbentuk bonggol memiliki panjang sekitar 20-25 cm terletak di ketiak daun dan berwarna putih. Tumbuhan Jeringau memiliki akar berbentuk serabut dan batang basah yang berbentuk rimpang, berwarna putih kotor (kardinan, 2004; Muchtaromah, 2014). Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Morfologi tumbuhan jeringau (Hasan, 2015)

2.1.2 Senyawa Metabolit Sekunder

Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa kimia yang mempunyai kemampuan bioaktifitas dan memiliki fungsi sebagai pelindung tumbuhan tersebut dari gangguan hama atau penyakit bagi tumbuhan itu sendiri dan lingkungannya. Kandungan senyawa metabolit sekunder dapat dikelompokkan sebagai alkaloid, triterpenoid atau steroid, flavonoid, fenolik, saponin (Fauziah, dkk., 2017). Rimpang Jeringau memiliki banyak sekali kandungan senyawa aktif metabolit sekunder. Ciri khas dari tumbuhan Jeringau ini salah satunya adalah memiliki bau yang menyengat, ciri khas tersebut berasal dari minyak kalamus yang mudah menguap. Selain minyak kalamus, masih banyak senyawa lain yang terkandung dalam rimpang Jeringau yaitu saponin, polifenol, flavonoid, gula, kolin, dan amilum (Amiriza, 2015).

2.1.3 Manfaat Tanaman Jeringau

Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) di Eropa biasanya digunakan sebagai karminatif, spasmolitik, dan diaforetik. Secara tradisional, rimpang Jeringau dapat dimanfaatkan untuk membangkitkan nafsu makan, menanggulangi rasa mulas, nifas, penenang, pencernaan, radang lambung, kurap, (obat luar), sakit kepala, anti inflamasi, maag, diare, disentri, asma, cacingan, dan dapat meningkatkan kadar trombosit pada penderita demam berdarah. Ekstrak alkohol Jeringau sangat bermanfaat sebagai antibakteri, dan ekstrak air dapat menurunkan kadar lipid darah dengan senyawa bioaktif α -asarone dan β -asarone, ekstrak tersebut juga memiliki aktivitas sebagai analgesik dan neuroprotektif, serta pada ekstrak metanol Jeringau juga memiliki manfaat yaitu sebagai antidiabetes. Selain itu masih banyak lagi manfaat-manfaat dari rimpang Jeringau seperti antioksidan, antibakteri, antijamur,

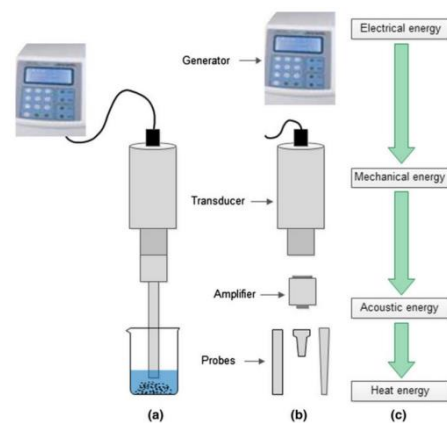
antimikroba dan juga toksisitas (Umamaheshwari & Rekha, 2018). Ekstrak etil asetat rimpang Jeringau juga memiliki manfaat atau aktivitas farmakologi yaitu dapat menyebabkan mortalitas pada kutu. Berikut beberapa penelitian terdahulu mengenai manfaat dari rimpang Jeringau disajikan pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Penelitian terdahulu tentang rimpang jeringau

Aktivitas Farmakologi	Hasil Penelitian	Referensi
Nefroprotektor	Efektif sebagai nefroprotektor adalah 250 mg/KgBB	(Yustria, dkk., 2001)
Antioksidan dan Antifungi	Zona hambat yang terbesar adalah nystatin; 17,68 mm dan yang terkecil yaitu dengan pelarut etanol 70%; 0,77 mm.	(Hasan, 2015)
Antimikroba	Hasil uji zona hambat nanopartikel kombinasi tertinggi secara berurutan yaitu <i>S.aureus</i> (25,43 ± 1,25 mm), <i>E.coli</i> (10,32 ± 1,2 mm) dan <i>C.albinas</i> (13,77 ± 0,68 mm), nilai KHM pada konsentrasi 1,25% dan nilai KBM pada konsentrasi 2,5% terhadap <i>S.aureus</i> dan 5% terhadap <i>E.coli</i> .	(Romadhoni, 2020)
Antiinflamasi	Aktivitas antiinflamasi 450 mg/KgBB dan dayanya sebesar 34,20%.	(Safrina, dkk., 2018)
Antiasma	Aktivitas bronkolidator, secara signifikan menghambat penyempitan bronkus	(Saxena & Saxena, 2014)
Antidiare dan antidiabetes	Fraksi digunakan untuk pelepasan insulin atau aksi penghambatan alfa-glukosidase. karenanya memiliki potensi besar untuk pengobatan diabetes. Hasil yang diperoleh menetapkan khasiat ekstrak metanol sebagai agen antidiare	(Umamaheshwari & Rekha, 2018)

2.2 Metode Ekstraksi Sonikasi (Ultrasonik)

Metode ultrasonik atau yang biasa dikenal dengan *Utrasound-Assisted Extraction* (UAE) merupakan teknik ekstraksi yang cepat, lebih sedikit mengkonsumsi energi, dan memungkinkan pengurangan pelarut, sehingga menghasilkan produk yang murni dan hasil yang lebih tinggi (Ardianti & Kusnadi, 2014). Ekstraksi sonikasi atau ekstraksi ultrasonik merupakan metode yang memanfaatkan gelombang bunyi pada frekuensi 20-500 kHz yang bertransmisi pada medium cair yang memiliki efek gerakan vibrasi pada molekul yang melewatinya. Metode ini diterapkan untuk mengekstrak komponen makanan seperti komponen aroma, antioksidan, pigmen, dan antibakteri. Ekstraksi ini dapat terlihat dari aktivitas biologis, secara umum yaitu efek mekanik, efek kavitasi, dan efek termal yang memiliki pengaruh yang signifikan (Guo, dkk., 2022)

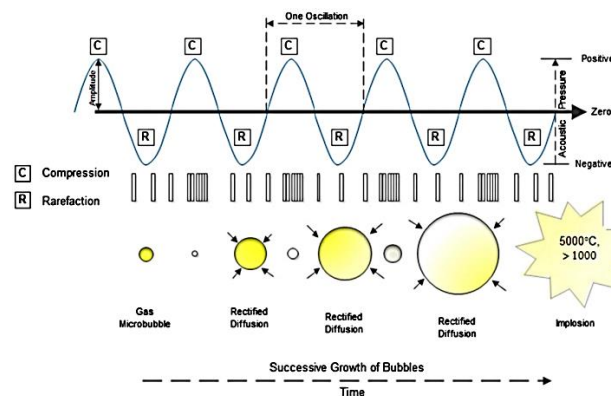


Gambar 2.3 (a) Pengaturan ultrasonik tipe *batch*; (b) komponen-komponen yaitu, generator, transduser, *amplifier* dan *probe*; (c) Urutan transformasi energi (Abbas dkk., 2013)

Peralatan ekstraksi ultrasonik yang paling umum digunakan untuk produksi emulsi sub-mikron adalah sistem *probe*, seperti yang terdapat pada Gambar 2.3 yaitu terdiri dari generator, konverter ultrasonik atau transduser, tanduk logam dan *probe*. Generator menghasilkan gelombang listrik tertentu, sedangkan transduser

ultrasonik terdiri dari bahan piezoelektrik yang mengubah osilasi listrik menjadi getaran mekanis. Getaran mekanis yang dihasilkan diperkuat dengan bantuan tanduk logam lalu disebarkan melalui *probe* dalam bentuk gelombang akustik (kavitasi akustik) (Abbas dkk., 2013).

Metode ekstraksi ultrasonik memiliki 2 prinsip utama, yaitu proses kavitasi, dan mekanik dapat meningkatkan efisiensi dan mengurangi lamanya waktu ekstraksi (Ince, dkk., 2013). Efek kavitasi merupakan efek yang disebabkan oleh gelombang ultrasonik, saat ditembakkan pada medium cair dan menyebabkan terbentuknya gelembung-gelembung. Gelembung ini dapat pecah di dekat dinding sel, sehingga terbentuk gelombang kejut dengan pancaran cairan yang menyebabkan dinding sel pecah dan membuat komponen aktif keluar dan bercampur dengan pelarut (Cravotto & Cintas, 2006). Skema kavitasi akustik ditampilkan pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Skema proses kavitasi akustik (Abbas, dkk., 2013)

Keunggulan dari penggunaan teknologi ultrasonik pada proses ekstraksi ultrasonik ini yaitu tidak membutuhkan penambahan kimia lain, prosesnya mudah

dan cepat, tidak memerlukan biaya yang mahal, dan prosesnya tidak mengakibatkan perubahan yang signifikan pada struktur kimia dan senyawa-senyawa yang terkandung pada bahan-bahan yang diekstrak (Prasetyo, 2018). Selain itu, metode ekstraksi ultrasonik ini juga lebih efisien dan dapat meningkatkan 20-40% hasil ekstraksi dengan menggunakan metode ekstraksi ultrasonik dibandingkan dengan ekstraksi lainnya (Karina, 2015).

Pembaharuan ini merupakan salah satu anugerah dari yang maha kuasa untuk ciptaan-Nya. Dalam pandangan Islam manusia dianggap makhluk paling sempurna karena memiliki kemampuan intelegensi dan daya nalar sehingga dapat berbuat, bertindak untuk membuat perubahan ataupun pembaharuan dengan maksud pengembangan. Kemampuan manusia sebagai makhluk yang paling sempurna ini telah dijelaskan sebagaimana firman Allah dalam al-Qur'an surat at-Tin ayat 4.

لَقَدْ خَلَقْنَا الْإِنْسَانَ فِي أَحْسَنِ تَقْوِيمٍ)4

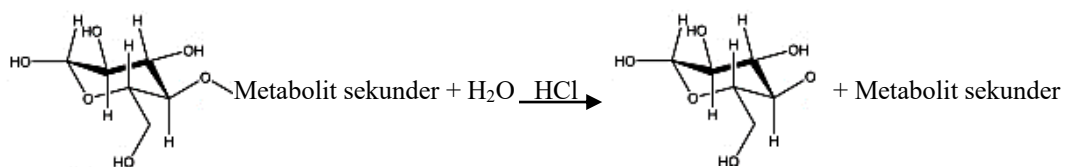
Artinya :*“Sesungguhnya kami telah menciptakan manusia dalam bentuk yang sebaik-baiknya (dan berkelengkapan sesuai dengan keadaanya)”*.(Q.S At-Tin:4)

Kata (تَقْوِيمٍ) *taqwim* diartikan sebagai *menjadikan sesuatu memiliki qiwam* yakni bentuk fisik yang pas dengan fungsinya. ar-Raghib al-Ashfahani, pakar bahasa al-Qur'an, memandang kata *taqwim* di sini sebagai isyarat tentang keistimewaan manusia dibanding binatang, yaitu akal, pemahaman, dan bentuk fisiknya yang tegak dan lurus. Jadi, kalimat *ahsani taqwim* berarti bentuk fisik dan psikis yang sebaik-baiknya (Shihab, 2002).

2.3 Hidrolisis Partisi

Hidrolisis merupakan reaksi antara senyawa dan air dengan membentuk reaksi kesetimbangan. Selain bereaksi, peran air adalah sebagai medium reaksi sedangkan senyawanya dapat berupa senyawa anorganik maupun senyawa organik (Mardiyah, dkk., 2014). Reaksi hidrolisis merupakan suatu proses pemutusan ikatan glikosida yang terjadi menggunakan media air sehingga menghasilkan senyawa yang sederhana. Glikosida merupakan senyawa yang memiliki 2 gugus senyawa utama, yaitu gugus gula (glikon) memiliki sifat polar, dan gugus non gula (aglikon) memiliki sifat polar hingga non polar. Sehingga proses hidrolisis ini bertujuan untuk memutuskan ikatan senyawa glikon dan aglikonnya, dengan memutus ikatan glikosida maka akan menyebabkan senyawa tersebut lebih polar (Fithrony, 2021).

Menurut (Rahmawati, 2017), reaksi hidrolisis menggunakan air berjalan lambat, sehingga diperlukan katalis untuk mempercepat reaksi. Katalisator yang sering digunakan adalah HCl atau H₂SO₄ yang merupakan asam kuat (Fasya, dkk., 2018). HCl sering digunakan dalam reaksi hidrolisis air karena dapat melepaskan (H⁺) secara sempurna. Semakin banyak proton yang terionisasi, maka dihasilkan pemutusan ikatan glikosida yang optimal (Fithrony, 2021). Dugaan reaksi hidrolisis ditampilkan pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Dugaan reaksi hidrolisis ikatan o-glikosida (Mardiyah, dkk., 2014)

Reaksi hidrolisis yang sangat lambat menggunakan air dibantu oleh katalisator asam HCl. Penggunaan HCl lebih sering dibandingkan dengan H₂SO₄ karena HCl lebih reaktif daripada H₂SO₄ serta HCl akan menghasilkan garam yang

tidak berbahaya yaitu NaCl dibanding H₂SO₄. Setelah proses pemecahan ikatan glikosida antara glikon dan aglikon dilakukan penetralan menggunakan natrium bikarbonat (NaHCO₃). Glikosida perlu dilakukan penetralan karena memiliki sifat stabil pada saat kondisi netral (Fithrony, 2021). Berikut Reaksi penetralan menggunakan natrium bikarbonat (NaHCO₃) ditampilkan pada persamaan (2.1).



Proses selanjutnya adalah proses partisi yang dilakukan bertujuan untuk ekstraksi lebih lanjut dengan harapan mendapatkan ekstrak yang lebih murni. Prinsip yang digunakan pada proses partisi adalah perbedaan distribusi suatu zat terhadap dua fase pelarut yang berbeda atau tidak saling campur yang disebabkan oleh tingkat kepolaran yang berbeda (Mardiyah, dkk., 2014).

2.5 Uji Toksisitas Menggunakan Metode BSLT

2.5.1 Hewan Uji (*Artemia salina* Leach)

Artemia merupakan salah satu jenis pakan alami hidup laut. Telur *artemia* yang baru menetas merupakan jenis pakan awal bagi larva patin hingga umur 7 hari, yang mana kandungan proteinnya cukup tinggi yaitu sekitar 55%. *Artemia* merupakan salah satu golongan zooplankton yang hidup sebagai planktonik yaitu melayang dalam air (Harli, 2016). *Artemia* merupakan pakan awal lanjutan yang diberikan setelah larva berusia di atas 10 hari (>D10), seperti yang ditampilkan pada Gambar 2.6. Terpilih sebagai pakan awal bagi larva karena memiliki ukuran yang kecil, gerakannya lambat, mudah dicerna, mudah ditingkatkan nilai gizinya dengan

pengkayaan, sangat disukai oleh larva dan mudah dibudidayakan secara massal (Noerbaeti, 2010).

Menurut (Harli, 2016) hewan uji *Artemia salina* Leach dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Filum	: <i>Arthropoda</i>
Class	: <i>Crustaceae</i>
Subclass	: <i>Branchiopoda</i>
Bangsa	: <i>Anostraca</i>
Famili	: <i>Artemidae</i>
Suku	: <i>Artemia</i>
Jenis	: <i>Artemia salina</i> Leach



Gambar 2.6 Larva udang (*Artemia salina* L.) (Sari, 2022)

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

Toksisitas merupakan kemampuan bahan sediaan untuk memberikan efek racun. Pengujian toksisitas pada suatu bahan yang digunakan sebagai obat yang berfungsi untuk menentukan faktor risiko serta ambang batas konsumsi dan dijadikan acuan pada saat diujikan pada manusia. Salah satu metode awal yang sering digunakan untuk mengamati toksisitas adalah metode BSLT. Metode BSLT merupakan salah satu metode uji toksisitas yang banyak digunakan dalam

penelusuran senyawa aktif yang bersifat toksik dari bahan alam (Supriat, 2023). Kategori toksisitas pada suatu senyawa dikatakan toksik jika harga $LC_{50} < 1000$ ppm dan bersifat non toksik apabila nilai $LC_{50} > 1000$ ppm seperti yang terdapat pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2 Pengujian toksisitas rimpang jeringau

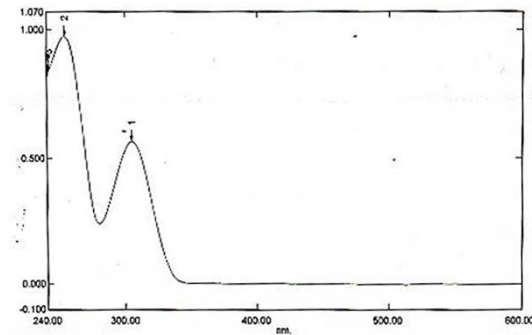
No.	Nilai LC_{50} (ppm)	Kategori Toksisitas	Potensi
1.	<30	Sangat Toksik	Antikanker. atau antitumor
2.	30-1000	Toksik	Antibakteri
3.	>1000	Non Toksik	Pestisida

Menurut Kusuma (2021), melakukan pengujian toksisitas ekstrak rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.). Menggunakan metode BSLT dengan variasi pelarut, didapatkan hasil nilai LC_{50} pada ekstrak air 120,334 ppm, ekstrak metanol 160,337 ppm, ekstrak etanol 49,2807 ppm dan ekstrak etil asetat 46,9831 ppm.

2.6 Identifikasi Senyawa Aktif Menggunakan Spektroskopi UV-Vis

Spektroskopi UV-Vis merupakan salah satu jenis spektroskopi yang digunakan untuk pengukuran serapan cahaya pada daerah ultraviolet (200-350 nm) dan sinar tampak (350-800 nm) dan hasil fraksi ekstrak digunakan untuk mengetahui panjang gelombang maksimalnya. Panjang gelombang maksimal yang terdapat pada sampel ekstrak akan diidentifikasi transisi elektron yang terjadi di dalam sampel akibat cahaya yang ditembakkan pada sampel. Prinsip kerja berdasarkan transisi tingkat energi dari rendah ke tinggi atau dinamakan eksitasi akibat penyerapan sinar UV-Vis oleh molekul. Transisi tersebut dapat dibedakan menjadi 2 yaitu antar orbital anti ikatan (*anti bonding*) dan ikatan (*bonding*).

Berdasarkan transisi tersebut kita dapat mengetahui perbedaan energi antara orbital yang sama dengan panjang gelombang yang diserap detektor (Fithrony, 2021). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Muhridja (2016) spektrumnya ditunjukkan pada Gambar 2.7.



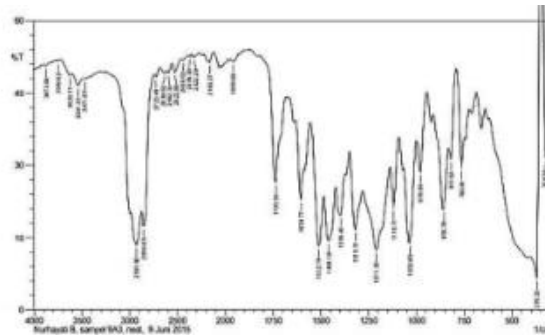
Gambar 2.7 Spektrum UV-Vis isolat dari pelarut *n*-heksana (Muhridja, 2016)

Rimpang Jeringau dalam pelarut *n*-heksana berdasarkan spektrum pada Gambar 2.7 dapat diketahui bahwa terdapat 2 pita serapan. Pita pertama memiliki serapan panjang gelombang maksimum 304,78 nm dan nilai absorbansinya 0,564. Sedangkan pada pita kedua menghasilkan panjang gelombang maksimum sebesar 253,76 nm dan nilai absorbansinya 0,973 (Muhridja, 2016).

2.7 Identifikasi Senyawa Aktif Menggunakan Spektroskopi FTIR

Spektroskopi FTIR merupakan suatu teknik pengukuran yang memanfaatkan radiasi sinar inframerah. Prinsip pengukuran menggunakan spektroskopi FTIR yaitu interaksi antara energi dengan materi. Sinar inframerah ditembakkan pada celah sampel, kemudian diserap oleh sampel sehingga menghasilkan gerak vibrasi. Selanjutnya ditransmisikan melalui permukaan sampel. Sinar inframerah yang lolos ke detektor akan direkam dan menghasilkan puncak spektrum. Daerah serapan

FTIR dibagi menjadi 3 bagian yaitu daerah jauh pada daerah $14.000-4000\text{ cm}^{-1}$. Kemudian daerah $4000-400\text{ cm}^{-1}$ yaitu daerah transisi energi vibrasi dari molekul yang dapat memberikan informasi gugus-gugus fungsional. Serta daerah pada $400-10\text{ cm}^{-1}$ yang digunakan untuk analisis molekul dengan atom berat. Hasil identifikasi senyawa isolat rimpang Jeringau yang dilakukan oleh Muhridja (2016) ditunjukkan pada Gambar 2.8.



Gambar 2.8 Spektrum FTIR pada rimpang jeringau (Muhridja, 2016)

Berdasarkan Gambar 2.8 yang dihasilkan pada isolat rimpang Jeringau didapatkan serapan oleh gugus O-H pada bilangan gelombang $3348,42\text{ cm}^{-1}$. Kemudian juga terdapat serapan pada bilangan gelombang $2931,80\text{ cm}^{-1}$. Serapan pada daerah $1728,22\text{ cm}^{-1}$ oleh gugus C=O. Selain itu juga terdapat serapan oleh gugus C=C aromatik pada daerah $1604,77\text{ cm}^{-1}$. Gugus C-O juga terdeteksi pada daerah $1211,30\text{ cm}^{-1}$. Serapan lainnya yang dihasilkan pada daerah $1319,31\text{ cm}^{-1}$ oleh vibrasi gugus C-H.

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli-September 2023 di Laboratorium Organik, Laboratorium Analitik dan Instrumen Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat gelas laboratorium, oven, corong *buchner*, *magnetic stirrer*, *hotplate*, *freeze dryer*, lemari asap, *ultrasonic processor Qsonica*, neraca analitik, spektroskopi UV-Vis, spektroskopi Fourier Transform Infrared (FTIR), ayakan 90 mesh, *aluminium foil*, botol vial, desikator, aerator dan *aquarium* kaca.

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian adalah rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.), aquades, etanol *p.a*, etil asetat *p.a*, *n*-heksana *p.a*, HCl 2N, HCl 1 N, HCl 2%, natrium bikarbonat (NaHCO₃), KBr, ragi roti, air laut, dimetil sulfoksida (DMSO), dan telur larva udang *Artemia salina* Leach.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat deskriptif kualitatif menyajikan data dan hasil sesuai yang didapatkan. Penelitian ini menggunakan pembaharuan metode sonikasi

(*ultrasonic*) pada sampel Jeringau (*Acorus calamus* L.), dengan variasi fraksi. Penelitian dilakukan dengan tahapan sebagai berikut: preparasi sampel dengan cara dikeringkan dan dihaluskan kemudian diayak menggunakan *mesh* ukuran 90. Kemudian dilakukan analisis kadar air dan dilanjutkan ekstraksi menggunakan metode ekstraksi sonikasi (*ultrasonic*) pelarut air dengan perbandingan pelarut 1:10 (30 g sampel: 300 mL pelarut). Tahapan selanjutnya adalah proses hidrolisis menggunakan HCl 2N dan dinetralkan menggunakan natrium bikarbonat (NaHCO_3), Hasil hidrolisis ekstrak pekat air dipartisi menggunakan variasi pelarut *n*-heksana, etil asetat, dan etanol masing-masing sebanyak 15 mL dengan 3 kali pengulangan. kemudian hasil partisi dipekatkan. Tahapan selanjutnya dilakukan uji toksisitas menggunakan metode BSLT dengan konsentrasi uji 5, 15, 25, 50, dan 100 ppm. Tahapan selanjutnya identifikasi senyawa menggunakan spektroskopi UV-Vis dengan rentang 200-800 nm dan spektroskopi FTIR dengan rentang bilangan gelombang 4000-400 cm^{-1} . Tahap terakhir analisis data.

3.4 Tahapan Penelitian

Tahapan-tahapan yang dilakukan dalam penelitian ini sebagai berikut:

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

3.5 Cara Kerja

3.5.1 Preparasi Sampel

Preparasi sampel dilakukan pada sampel rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.). Proses pemilihan sampel dilakukan dengan cara mengambil secara acak dari berbagai akar. Diambil sebanyak 6,29 Kg, Kemudian dibersihkan dengan cara dicuci menggunakan air hingga bersih. Kemudian dipotong menjadi bagian kecil-kecil. Selanjutnya dioven dengan suhu 50°C dan dihaluskan, kemudian diayak menggunakan *mesh* ukuran 90 di Unit Pelaksana Teknis Materia Medika Kota Batu, Jawa Timur.

3.5.2 Analisis Kadar Air

Analisis kadar air pada rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) mula-mula dioven cawan kosong hingga diperoleh berat konstan. Kemudian diambil sampel rimpang Jeringau sebanyak 1 g. Setelah itu dipanaskan dengan oven pada suhu 105°C selama 1 jam. Kemudian dimasukkan ke dalam desikator selama 10 menit lalu ditimbang. Kemudian dilakukan pemanasan kembali dengan oven pada suhu 105°C selama ± 15 menit dan didinginkan di dalam desikator selama ± 10 menit, lalu ditimbang kembali. Perlakuan dilakukan secara berulang hingga didapatkan berat konstan. Kadar air dapat dihitung menggunakan persamaan 3.1.

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

dengan a adalah berat konstan cawan kosong, b adalah berat cawan dengan sampel sebelum dioven, c merupakan berat konstan cawan dengan sampel setelah dioven.

3.5.3 Ekstraksi Sampel Menggunakan Metode Sonikasi (*ultrasonic*)

Ekstraksi sampel Jeringau (*Acorus calamus* L.) menggunakan metode sonikasi (*ultrasonic*) *probe* yang diawali dengan ditimbang sebanyak 30 g simplisia Jeringau (*Acorus calamus* L.) yang didapatkan pada tahap preparasi dimasukkan ke dalam *beaker glass*. Kemudian ditambahkan dengan pelarut air. Perbandingan sampel dan pelarut 1:10 (30 g sampel : 300 mL pelarut) kemudian ditempatkan pada tempat *ultrasonic probe* dan diekstraksi selama 30 menit dengan suhu kamar menggunakan frekuensi 47 kHz. Ekstrak air disaring menggunakan corong *buchner* dan dipekatkan menggunakan *freeze dryer* dengan suhu -55°C . Kemudian dihitung rendemennya dengan persamaan (3.2).

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

3.5.4 Hidrolisis dan Partisi

Hidrolisis ekstrak pekat rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) dilakukan dengan cara ditimbang ekstrak sebanyak 3 gram. Selanjutnya ditambahkan 6 mL HCl 2N ke dalam ekstrak pekat perbandingan 1:2 (ekstrak pekat : HCl 2N). Proses hidrolisis dilakukan selama 1 jam dengan *magnetic stirrer* di atas *hot plate* pada suhu ruang. Lalu ditambahkan natrium bikarbonat (NaHCO_3) hingga didapatkan pH netral.

Partisi ekstrak pekat hasil hidrolisis dengan menambahkan pelarut *n*-heksana, etil asetat, dan etanol. Pertama ditambahkan pelarut *n*-heksana sebanyak 15 mL, dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Kemudian diambil fase organik (fraksi *n*-heksana) dan dipekatkan. Fase air ditambahkan dengan pelarut etil asetat sebanyak 15 mL di dalam corong pisah, kemudian dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Diambil fase organik (fraksi etil asetat) dan dipekatkan. Fase air ditambahkan

dengan pelarut etanol sebanyak 15 mL di dalam corong pisah, kemudian dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Diambil fase organik (etanol), selanjutnya dipekatkan kemudian ditimbang dan dihitung rendemennya dengan persamaan 3.3.

$$\%Rendemen = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat sampel}} \times 100\% \dots \dots \dots (3.3)$$

3.6 Pengujian Toksisitas Menggunakan Metode BSLT

3.6.1 Penyiapan Larva *Artemia salina* Leach

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

3.6.2 Uji Toksisitas

Uji toksisitas dilakukan pada ekstrak dan fraksi air, *n*-heksana, etil asetat, dan etanol. Ekstrak hasil partisi diambil 10 mg dan dilarutkan dalam pelarutnya sebanyak 10 mL. Kemudian didapatkan larutan stok dengan konsentrasi 1000 ppm, selanjutnya diencerkan menggunakan variasi konsentrasi 5, 15, 25, 50 dan 100 ppm. Masing-masing konsentrasi dilakukan pengulangan sebanyak 5 kali. Larutan uji dimasukkan ke dalam botol vial dan diuapkan pelarutnya. Selanjutnya ditambahkan dimetil sulfoksida (DMSO) sebanyak 100 μ L, dan setetes larutan ragi roti, serta air laut 2 mL kemudian dilakukan pengocokan menggunakan *vortex*. Ditambahkan 10 ekor larva udang *Artemia salina* Leach dan air laut hingga volumenya 10 mL. Pengujian pada larutan kontrol digunakan dengan DMSO dan pelarut. Dipipet

pelarut sebanyak 100 μ L kemudian diuapkan hingga kering, ditambahkan 100 μ L DMSO. Setelah itu ditambahkan 1 tetes larutan ragi roti, dan ditambahkan air laut 2 mL dan dikocok menggunakan *vortex*. Ditambahkan 10 ekor larva udang *Artemia salina* Leach dan ditambahkan air laut hingga volumenya 10 mL. Pengamatan dilakukan selama 24 jam terhadap kematian larva udang *Artemia salina* Leach. Data kematian larva setiap konsentrasi dibuatkan dalam bentuk tabel seperti Tabel 3.1 dan Tabel 3.2 sebelum dilakukan analisis untuk mengetahui nilai LC_{50} . Rumus untuk mendapatkan % mortalitas ditampilkan pada persamaan 3.4 dan untuk mendapatkan mortalitas maka dihitung dengan persamaan 3.5.

$$\% \text{ Mortalitas} = \frac{\text{Modus (jumlah larva yang mati)}}{\text{Jumlah larva uji (10 ekor)}} \times 100\% \dots \dots \dots (3.4)$$

$$\text{Mortalitas} = \% \text{ Mortalitas} \times \text{Jumlah keseluruhan larva udang (50)} \dots \dots \dots (3.5)$$

Tabel 3.1 Data kematian larva udang uji toksisitas seluruh pengulangan

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

Tabel 3.2 Data mortalitas larva udang (*Artemia salina* Leach)

Konsentrasi (ppm)	Jumlah hewan uji (Ekor)	%Mortalitas	Mortalitas
		0*	

0**			
5			
15			
25			
50			
100			

3.7 Identifikasi Spektroskopi UV-Vis

Hasil yang diperoleh dari ekstrak dan fraksi rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) akan diidentifikasi menggunakan spektroskopi UV-Vis dengan ditambahkan 5 mL sampel dengan pelarut masing-masing. Kemudian dilakukan pengocokan menggunakan *vortex* hingga larut. Dimasukkan dalam kuvet dan diukur atau dianalisis menggunakan spektroskopi UV-Vis menggunakan panjang gelombang 200-800 nm.

3.8 Identifikasi Spektroskopi FTIR

Hasil yang diperoleh dari ekstrak dan fraksi rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) diidentifikasi menggunakan spektroskopi FTIR merk varian tipe FT 1000. Dengan mencampurkan sedikit KBr kemudian digerus menggunakan mortar dan alu. Setelah dicampurkan secara merata kemudian *di press* dengan tekanan 80 torr selama 10 menit. Sehingga dihasilkan lempeng yang berisikan campuran sampel dan KBr. Kemudian diidentifikasi dengan instrumen spektroskopi FTIR pada rentang bilangan gelombang 4000-400 cm^{-1} .

3.9 Analisis Data

Hasil data identifikasi UV-Vis dan FTIR dari ekstrak pekat air dan masing-masing fraksi diolah menggunakan *software Origin* pada *windows*. Data tersebut menginterpretasikan identifikasi senyawa yang terkandung dalam masing-masing fraksi rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.). Analisis hasil pengujian toksisitas rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) menggunakan metode BSLT didapatkan data jumlah kematian larva udang *Artemia salina* Leach tiap konsentrasi dan dihitung nilai LC_{50} menggunakan program analisis probit dengan *software minitab 19*. Data yang diperlukan untuk mengolah nilai LC_{50} *software minitab 19* ditampilkan pada Tabel 3.3.

Tabel 3.3 Data pengolahan LC_{50} pada *software minitab 19*

Mortalitas	Konsentrasi (ppm)	Ulangan	N
M1	0*	U1-5	50
M2	0**	U1-5	50
M3	5	U1-5	50
M4	15	U1-5	50
M5	25	U1-5	50
M6	50	U1-5	50
M7	100	U1-5	50

Berdasarkan Tabel 3.3 data yang diperlukan untuk diolah terdiri dari konsentrasi (ppm), mortalitas, dan N (jumlah hewan uji). Proses analisis dilakukan dengan tahap awal klik panel “stat” kemudian klik “*realibity/survival*,” kemudian klik “*analysis*” sehingga akan muncul tampilan probit analisis. Selanjutnya masukkan data, klik panel “*Estimate*”, pada tampilan ini “*Estimate percentile for these additional percents*” diisi dengan 50, pada “*Confidence level*” diisi 95, pada bagian “*Confedence interval*” pilih *Two-sided*. Kemudian , klik “OK” dan otomatis hasil analisis probit akan muncul. Adapun persamaan dasar probit yaitu terdapat pada persamaan 3.6 dan 3.7.

$$y = a + b \dots \dots \dots (3.6)$$

$$x = \frac{y - b}{a} \dots \dots \dots (3.7)$$

dengan, y adalah nilai probit kematian hewan uji (LC_{50}), a adalah konstan (y -*intercept*), b adalah konsentrasi (*slope*/kemiringan regresi), x merupakan logaritma konsentrasi uji.

Nilai LC_{50} diperoleh dari:

$$Y_{50} = a + bx_{50} \dots \dots \dots (3.8)$$

$$x_{50} = \frac{y_{50} - b}{a} \dots \dots \dots (3.9)$$

$$LC_{50} = \text{antilog} (X_{50} - I) \dots \dots \dots (3.10)$$

Menurut Retnani (2023) nilai LC_{50} diperoleh dari persamaan garis lurus tersebut dengan memasukkan nilai 5 (nilai probit dari 50% kematian hewan uji) sebagai y dan x yang merupakan konsentrasi yang dibutuhkan untuk mematikan larva udang pada persentase tertentu dengan nilai log konsentrasi. Nilai LC_{50} dapat dihitung dan diperoleh dari nilai antilog nilai x .

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel

Proses preparasi sampel diawali dengan pencucian rimpang Jeringau (*Acorus calamus L.*) sebanyak 6,29 kg dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran dan tanah yang masih melekat. Kemudian sampel dipotong kecil-kecil untuk memudahkan proses pengeringan (Sudrajad, 2004). Kemudian pengeringan menggunakan oven suhu 50°C dan penyerbukan. Pengeringan menggunakan oven dapat diperoleh simplisia dengan kadar air yang rendah dan rendemen yang paling tinggi. Pengeringan menggunakan oven lebih efektif dibandingkan dengan pengeringan sinar matahari langsung dan kering dengan angin (Winangsih, dkk., 2013) dan menurut Tambun (2016) pengecilan ukuran (penyerbukan) bertujuan untuk memperluas permukaan sampel sehingga memudahkan proses penetrasi pelarut ke dalam sampel. Hasil serbuk dari preparasi sampel diperoleh sebesar 1,54 kg dengan rendemen 25,5% (Perhitungan L.4.1).

Hasil preparasi yang diperoleh selanjutnya dilakukan analisis kadar air untuk menentukan kualitas dan ketahanan sampel terhadap kerusakan yang mungkin terjadi. Semakin besar kadar air pada sampel, maka semakin besar pula kemungkinan kerusakan yang terjadi yang dapat disebabkan oleh mikroba perusak dan aktivitas biologis lainnya (Daud, 2019). Menurut Fatimah (2020) analisis kadar air dilakukan menggunakan metode *thermogravimetric* dengan prinsip penguapan air dengan pemanasan. Hasil yang diperoleh dari analisis kadar air dari sampel rimpang Jeringau (*Acorus calamus L.*) sebesar 6,90% (Perhitungan L.4.2). Hasil analisis kadar air memenuhi standart BPOM (2019) bahwa batas kadar air untuk

sediaan non cair adalah 10%. Kadar air yang diperoleh lebih baik daripada kadar air pada penelitian Fithrony (202) yaitu sebesar 10,90%, pada penelitian Kusuma (2021) sebesar 10,97%, dan pada penelitian Hasan (2015) sebesar 19,9%. Kandungan kadar air semakin rendah, maka akan semakin maksimal penarikan senyawa aktif oleh pelarut, hal ini dikarenakan hilangnya halangan air pada sampel.

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

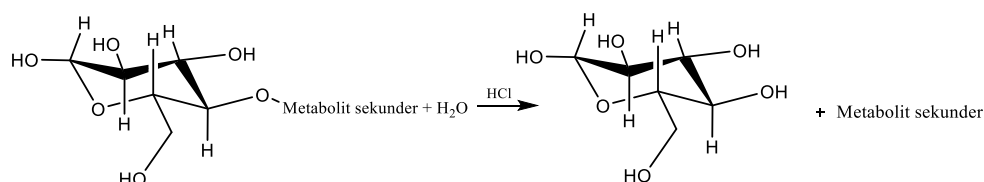
Ekstraksi sampel rimpang Jeringau dalam penelitian ini dilakukan dengan metode sonikasi, yakni modifikasi dari metode ekstraksi maserasi. Ekstraksi dilakukan menggunakan pelarut air dengan perbandingan 1:10. Penggunaan pelarut air yang memiliki sifat polar bertujuan memaksimalkan proses ekstraksi, karena senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada sampel umumnya terikat pada gugus glikosida yang mudah larut dalam pelarut polar. Hasil ekstraksi rimpang Jeringau (*Acorus calamus L.*) menggunakan pelarut air didapatkan rendemen sebesar 11,126%, (Perhitungan L.4.3). Hasil ekstrak pekat berwarna coklat kehitaman ditampilkan pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Ekstrak pekat air rimpang jeringau

4.3 Hidrolisis dan Partisi

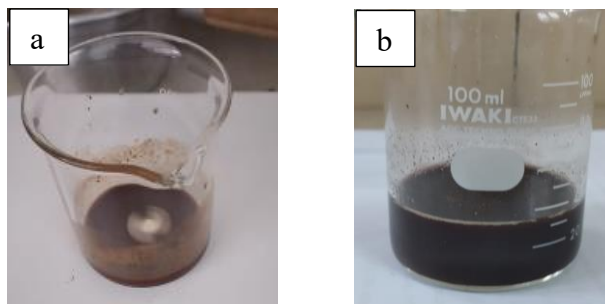
Senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam ekstrak rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) masih dalam bentuk ikatan glikosida yakni antara komponen gula (glikon) dan metabolit sekunder (aglikon) yang harus diputus melalui proses hidrolisis. Proses hidrolisis didapatkan glikon (gugus gula) bersifat polar dan aglikon (non gula) bersifat non polar (Mardiyah, dkk., 2014). Hidrolisis dilakukan dengan penambahan asam kuat berupa HCl sebagai katalis untuk mempercepat proses reaksi hidrolisis dan disertai pengadukan selama 1 jam. Dugaan reaksi hidrolisis ditunjukkan pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2 Dugaan reaksi hidrolisis ikatan o-glikosida (Mardiyah, dkk., 2014)

Reaksi pemutusan ikatan glikosida bersifat *reversible*, sehingga dilakukan penetralan dengan cara penambahan natrium bikarbonat (NaHCO_3) yang menghasilkan gelembung-gelembung busa menunjukkan adanya gas CO_2 akibat reaksi antara HCl dan NaHCO_3 (Wati, 2020). Penetralan menggunakan natrium bikarbonat NaHCO_3 bertujuan untuk menghentikan reaksi agar tidak terbentuk kembali ikatan glikosida antara ikatan gula dan non gula. Penambahan natrium bikarbonat dilakukan hingga gelembung-gelembung busa berhenti terbentuk yang menandakan berhentinya reaksi penetralan. Hasil yang diperoleh berupa larutan

berwarna coklat pekat dengan tanpa adanya gelembung-gelembung busa yang ditunjukkan pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3 Proses hidrolisis (a), hasil hidrolisis (b)

Hasil hidrolisis (Hidrolisat) ekstrak pekat air selanjutnya dilakukan partisi dengan 3 pelarut yang memiliki kepolaran berbeda yang bertujuan untuk melarutkan senyawa aktif yang lebih spesifik sesuai dengan pelarutnya, hal ini sesuai dengan prinsip kelarutan yaitu *like-dissolve like*. Hidrolisat pertama dipartisi menggunakan pelarut *n*-heksana yang bersifat non polar, selanjutnya dipartisi menggunakan pelarut etil asetat yang bersifat semi polar. Kemudian dilanjutkan partisi menggunakan pelarut etanol yang bersifat polar. Hasil partisi diperoleh 2 lapisan yang berbeda, lapisan atas merupakan fasa organik dan lapisan bawah fasa air. Terbentuknya 2 lapisan dalam proses partisi disebabkan adanya perbedaan massa jenis dari masing-masing pelarut. Nilai rendemen hasil fraksi ditunjukkan pada Tabel 4.1.

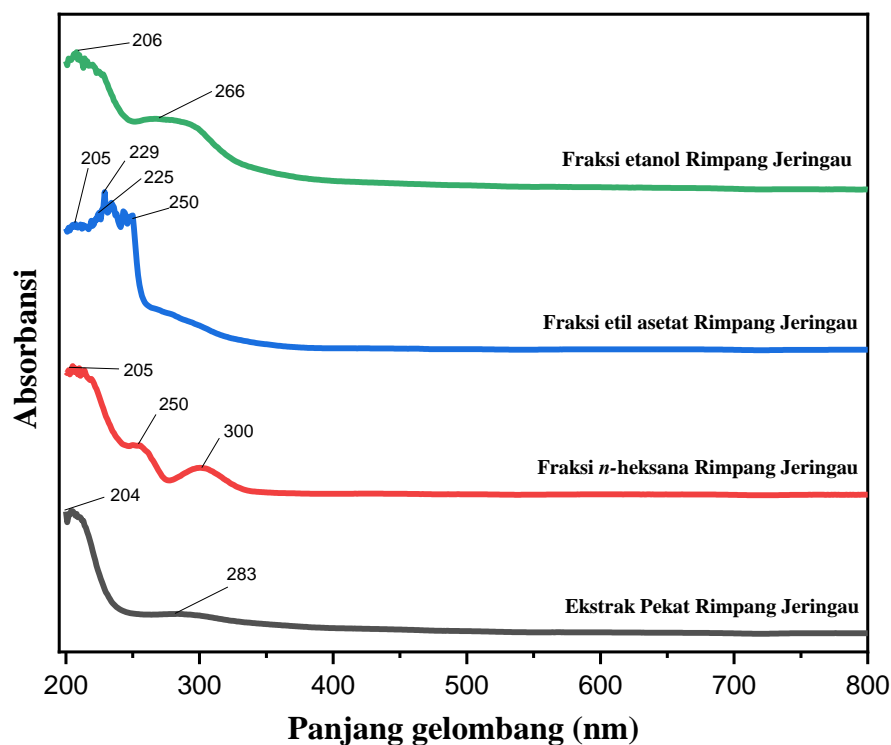
Tabel 4.1 Data hasil rendemen fraksi

Fraksi	Warna	Berat	Rendemen (%)
<i>n</i> -Heksana	Kuning kehijauan	0,6031	20,10%
Etil asetat	Kuning kecoklatan	0,1743	5,81%
Etanol	Coklat kehitaman	2,0215	67,38%

Berdasarkan data hasil rendemen fraksi pada Tabel 4.1 rendemen dari fraksi etil asetat lebih rendah dibandingkan dengan rendemen hasil fraksi *n*-heksana dan fraksi etanol. Hidrolisis ekstrak pekat air didapatkan hasil yaitu putusnya ikatan glikosida (ikatan antara glikon dan aglikon), yang mana glikon (gugus gula) bersifat polar sedangkan aglikon (gugus non gula) bersifat non polar. Hidrolisat dipartisi pertama menggunakan pelarut *n*-heksana yang memiliki sifat non polar dan menarik gugus-gugus yang bersifat non polar, sedangkan etil asetat digunakan pada partisi tahap kedua setelah penggunaan pelarut *n*-heksana. Dimana gugus non polar telah banyak tertarik pada pelarut *n*-heksana, mengingat etil asetat memiliki sifat semi polar yang dapat menarik gugus non polar dan juga gugus polar, tetapi cenderung lebih mudah menarik gugus non polar. Hal ini yang menyebabkan rendemen etil asetat lebih rendah dibandingkan dengan rendemen fraksi lainnya.

4.4 Hasil Identifikasi Senyawa Menggunakan Spektroskopi UV-Vis

Identifikasi senyawa menggunakan spektroskopi UV-Vis dilakukan pada ekstrak pekat air, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi etanol dengan rentang panjang gelombang 200-800 nm. Identifikasi dilakukan dengan menganalisis hasil berupa panjang gelombang maksimum sehingga didapatkan beberapa informasi jenis kromofor dan juga dugaan senyawa yang terkandung. Hasil identifikasi senyawa menggunakan spektroskopi UV-Vis ditampilkan pada Gambar 4.4.



Gambar 4.4 Spektra UV-Vis ekstrak pekat air dan masing-masing fraksi

Hasil identifikasi senyawa pada Gambar 4.4 spektra UV-Vis didapatkan panjang gelombang maksimum pada ekstrak dan masing-masing fraksi. Berdasarkan prinsip kelarutan yaitu *like-dissolve like*, dimana senyawa aktif larut lebih spesifik sesuai kepolaran pelarutnya. Kepolaran pelarutnya dapat dilihat dari nilai indeks polaritas (Lampiran 10), yang mana semakin tinggi nilai indeks polaritas maka akan semakin polar suatu pelrut. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa pada ekstrak pekat air dan masing-masing fraksi dihasilkan panjang gelombang maksimum yakni pada daerah 204-206 nm dengan transisi elektron $\pi-\pi^*$ yang mengakibatkan adanya kromofor berupa ikatan rangkap $C=C$ yang terkonjugasi (Creswell, 1982). Serapan berbeda terdapat pada hasil fraksi etil asetat yang menghasilkan daerah serapan 229 nm. Menurut Zetra dan Prasetya, (2007) serapan maksimum pada panjang gelombang 229 nm dengan transisi elektron $\pi-\pi^*$

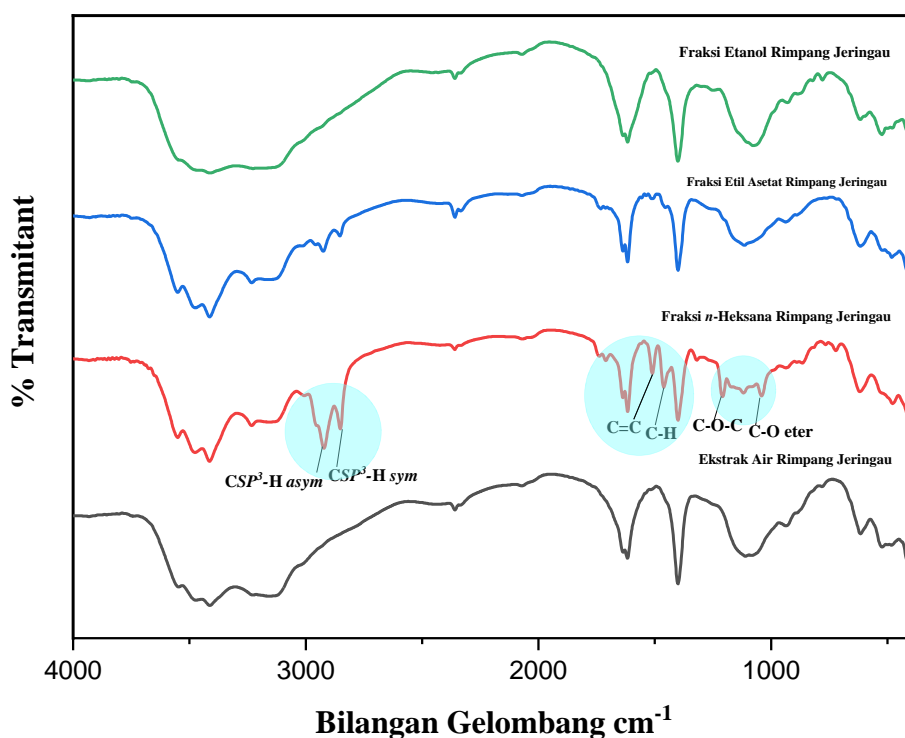
yang menyebabkan kromofor berupa ikatan rangkap terkonjugasi. Hasil serapan lainnya adalah pada panjang gelombang 250 nm (fraksi *n*-heksana dan fraksi etil asetat), 266 nm (fraksi etanol), serta 283 nm (ekstrak pekat air). Pada hasil fraksi *n*-heksana terdapat puncak baru yang berbeda dengan spektrum lainnya, yaitu daerah serapan panjang gelombang 300 nm. Menurut Sastrohamidjojo (1991) daerah serapan pita II sebesar 210-285 nm yang terdapat transisi elektron $\pi-\pi^*$ yang menunjukkan serapan khas ikatan rangkap C=C terkonjugasi. sedangkan daerah serapan pita I sebesar 300-560 nm terjadi transisi elektron $n-\pi^*$ yang menunjukkan adanya kromofor tunggal ikatan C=O,

Berdasarkan analisis spektrum UV-Vis pada Gambar 4.4 dapat dinyatakan bahwa fraksi *n*-heksana memiliki hasil panjang gelombang yang berbeda dengan ekstrak pekat air, fraksi etil asetat maupun fraksi etanol. Munculnya panjang gelombang baru yang berbeda mengindikasikan adanya senyawa yang berbeda dengan lainnya. Perbedaan ini terjadi karena pelarut *n*-heksana memiliki sifat non polar yang berbeda dengan pelarut lainnya. Hal ini sesuai dengan prinsip kelarutan senyawa terhadap pelarutnya, yakni *like-dissolve like* dimana senyawa aktif larut lebih spesifik sesuai kepolaran pelarutnya.

4.5 Hasil Identifikasi Senyawa Menggunakan Spektroskopi FTIR

Identifikasi menggunakan spektroskopi FTIR bertujuan untuk mengetahui gugus fungsi pada senyawa yang terkandung pada rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.). spektroskopi FTIR akan menunjukkan spektrum hasil dari presentase pada panjang gelombang tertentu. Gugus fungsi memiliki ikatan dan tipe yang berbeda, sehingga setiap gugus fungsi memiliki nilai serapan bilangan gelombang

yang berbeda. Identifikasi dilakukan pada rentang bilangan gelombang 4000-400 cm^{-1} . Hasil spektrum IR yang diperoleh ditampilkan pada Gambar 4.5.



Gambar 4.5 Spektra FTIR ekstrak pekat air dan masing-masing fraksi

Gambar 4.5 menunjukkan bahwa ekstrak pekat air dan masing-masing fraksi terdapat kesamaan sekaligus perbedaan daerah serapan. Fraksi *n*-heksana dan fraksi etil asetat yang terlihat berbeda dengan ekstrak pekat air dan fraksi etanol. Hasil identifikasi pada fraksi *n*-heksana dan etil asetat sendiri memiliki perbedaan. Hal ini diduga karena adanya perbedaan tingkat kepolaran pada masing-masing pelarut, sehingga memiliki perbedaan dalam menarik senyawa aktif yang sesuai dengan prinsip kelarutan yakni *like-dissolve like*, serapan gugus fungsi ditampilkan pada Tabel 4.2. Berdasarkan Gambar 4.5 gugus O-H *stretching* pada daerah 3546-3551 cm^{-1} mengalami tumpang tindih dengan gugus fungsi N-H dari amina pada daerah 3412-3476 cm^{-1} yang terdapat dua puncak mengindikasikan adanya gugus

N-H₂, dan didukung dengan adanya serapan C-N amina alifatik pada daerah 1637-1639 cm⁻¹. Merujuk hasil UV-Vis rimpang Jeringau diduga mengandung senyawa alkaloid. Menurut Van Dong (1993) alkaloid yang terdapat pada tumbuhan Jeringau yaitu alkaloid indol jenis *gramine*.

Adanya serapan gugus C=O *stretching* yang didukung dengan adanya serapan kuat gugus C=C aromatik pada daerah 1617-1618 cm⁻¹ dan C-O *stretching* daerah serapan (1041-1083 cm⁻¹) serta C-H aromatik pada daerah serapan (722-781 cm⁻¹) yang jika merujuk pada hasil UV-Vis diduga mengandung senyawa Flavonoid. Menurut penelitian Dewi, dkk., (2017) adanya senyawa flavonoid pada sampel menunjukkan serapan khas -OH, C-O alkohol, C-H dan C=C aromatik sebagai gugus yang khas kromofor dari senyawa flavonoid dalam ikatan terkonjugasi, C=O dan C-H alifatik yang merupakan gugus khas senyawa flavonoid. Adanya serapan gugus C=O *stretching*, C=C aromatik, yang diperkuat dengan adanya serapan gugus C-H alifatik sehingga mengindikasikan adanya gugus geminal yaitu gugus metil (-CH₃) dan metilena (-CH₂) yang diduga mengandung senyawa terpenoid (Astuti, dkk., 2017).

Perbedaan spektra bilangan gelombang terjadi pada serapan 3233 dan 3232 cm⁻¹ yang mengindikasikan adanya gugus OH *stretching* asimetrik (Widiyarti, 2009). Selanjutnya terjadi serapan baru pada gugus Csp³-H pada daerah (2852-2929 cm⁻¹), C=C aromatik (1510 cm⁻¹), C-H pada CH₃ *bending* (1461 cm⁻¹), dan 1319 cm⁻¹ gugus C-O *stretching* fenol, serta pada daerah 1209 cm⁻¹ gugus C-O-C *stretching*. Adanya serapan baru pada fraksi *n*-heksana yang mengindikasikan adanya gugus baru dan diduga mengandung senyawa baru pada golongan terpenoid dan steroid seperti minyak atsiri (Lampiran 9). Menurut Sutomo, dkk., (2019) isolasi senyawa

terpenoid dari fraksi *n*-heksana didapatkan hasil FTIR serapan tajam pada bilangan gelombang $1465,90\text{ cm}^{-1}$ dan $1381,03\text{ cm}^{-1}$ yang menandakan adanya gugus CH_2 dan CH_3 *bending*, dan didukung dengan hasil isolat steroid dari fraksi *n*-heksana pada penelitian Fasya, dkk., (2019) yang mendapatkan hasil identifikasi FTIR pada serapan bilangan gelombang 1460 cm^{-1} dan $1383,5\text{ cm}^{-1}$ (gugus geminal dimetil) yang merupakan serapan khas dari senyawa steroid dan terpenoid. Selain itu, tidak menutup kemungkinan terdapat senyawa lain yang terkandung pada fraksi rimpang Jeringau salah satunya minyak atsiri (Sya'diyah, dkk., 2014).

Hasil analisis spektrum FTIR didapatkan beberapa serapan baru dan berbeda pada fraksi *n*-heksana. Merujuk pada hasil spektrum UV-Vis yang mana juga dihasilkan panjang gelombang berbeda pada fraksi *n*-heksana. Adanya serapan baru mengindikasikan adanya gugus baru dan dimungkinkan terdapat senyawa baru yang diduga berupa golongan senyawa terpenoid dan steroid. Golongan senyawa terpenoid dan steroid cenderung larut pada pelarut non polar, hal ini menjadi penyebab mengapa serapan gugus yang mengindikasikan golongan senyawa terpenoid dan steroid pada fraksi *n*-heksana lebih tajam dari pada lainnya. Hasil ini sesuai berdasarkan prinsip kelarutan senyawa terhadap pelarutnya, yakni *like-dissolve like* dimana senyawa aktif larut sesuai kepolaran pelarutnya.

Tabel 4.2 Hasil spektrum FTIR ekstrak pekat air dan masing-masing fraksi

Bilangan gelombang				Pustaka(Socrates,1994)	Gugus Fungsi
Ekstrak pekat air	Fraksi <i>n</i> - heksana	Fraksi etil asetat	Fraksi etanol		
3546	3551	3550	3549		O-H <i>stretching</i>
3473	3476	3475	3463	3580-3200	N-H <i>stretching</i>
3412	3414	3413	3412		
-	3233	3232	-	3224	O-H <i>stretching sym</i>
3150	3158	3163	3169	3100-3000	Csp ² -H <i>stretching</i>
-	2922	2925	-	2940-2915	Csp ³ -H <i>stretching asym</i>
-	2852	2854	-	2870-2840	Csp ³ -H <i>stretching sym</i>
2359	2360	2359	2359	2349	O=C=O <i>stretching</i>
2071	2069	2071	2071	2000-1900	<i>overtone aromatic</i>
-	1739	1732	-	1745-1715	C=O <i>stretching</i>
1637	1639	1637	1639	1680-1630	C-N amina alifatik
1618	1617	1617	1617	1625-1590	
-	1510	-	-	1525-1470	C=C aromatik
-	1461	-	-	1480-1440	C-H pada CH ₃ <i>bending</i>
1400	1400	1400	1400	1420-1400	C-H pada CH ₂ <i>bending</i>
-	1319	-	-	1360-1300	C-O <i>stretching</i> fenol
-	1209	-	-	1260-1180	C-O-C <i>stretching</i>
1118	1119	1115	-	1125-1085	C-O <i>stretching alkohol sekunder</i>
1083	1041	-	1077	1300-1000	C-O <i>stretching eter</i>
936	937	937	930	1000-800	C-H <i>bending</i> (alkena)
781	722	-	779	900-650	C-H aromatik
616	619	616	617	600-420	C-H <i>bending (out of plane)</i>
523	478	481	524		

4.6 Pengujian Toksisitas Menggunakan Metode BSLT

4.6.1 Penetasan Larva Udang *Artemia salina* Leach

Sebelum uji toksisitas dilakukan, larva udang *Artemia salina* Leach terlebih dahulu ditetaskan. Penetasan telur larva udang *Artemia salina* Leach menggunakan air laut diberi aerator dan cahaya lampu selama 48 jam. Aerator bertujuan untuk menstabilkan kandungan oksigen terlarut dalam air agar larva udang tidak kekurangan oksigen, jika kekurangan oksigen dapat menyebabkan kematian pada larva udang *Artemia salina* Leach. Pemberian cahaya lampu bertujuan menerangi wadah dan media air yang dibutuhkan untuk merangsang pengaktifan kembali telur (embrio) yang efektif setelah telur terhidrasi. Larva udang *Artemia salina* Leach yang siap digunakan yaitu yang sudah berumur 48 jam, dikarenakan pada tahap ini organ larva udang sudah terbentuk dengan lengkap, salah satunya adalah yang digunakan untuk minum air laut yang telah bercampur dengan ekstrak pekat air ataupun fraksi rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) dengan berbagai senyawa yang terkandung (Khasanah, 2018).

4.6.2 Uji Toksisitas

Uji toksisitas merupakan skrining awal untuk mengetahui kemampuan sediaan bahan atau senyawa yang terkandung dari bahan tertentu dan dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan, antibakteri, antialergi ataupun antikanker berdasarkan nilai LC_{50} yang diperoleh. Uji toksisitas pada penelitian ini dilakukan dengan metode BSLT. Sampel yang dilakukan pengujian adalah ekstrak pekat air, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi etanol dari rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) dengan variasi konsentrasi 5, 15, 25, 50, dan 100 ppm serta dilakukan pengulangan sebanyak 5x. Pelarut yang digunakan diupkan terlebih dahulu dengan

tujuan agar larva udang *Artemia salina* Leach mati disebabkan senyawa yang terkandung dalam ekstrak ataupun fraksi bukan disebabkan oleh pelarut. Penambahan DMSO yang merupakan surfaktan untuk melarutkan senyawa terhadap air laut. DMSO memiliki struktur ikatan S=O bersifat polar yang akan berinteraksi dengan senyawa polar dan dua alkil CH₃ bersifat non polar yang akan berinteraksi dengan senyawa non polar. Penambahan larutan ragi yang digunakan sebagai makanan dari larva udang *Artemia salina* Leach agar larva udang tidak mati karena kekurangan makanan. Pengamatan kematian larva udang *Artemia salina* Leach dilakukan setelah 1x24 jam. Hasil uji toksisitas ekstrak pekat air dan masing-masing fraksi ditampilkan pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Hasil uji toksisitas ekstrak pekat air dan masing-masing fraksi

Konsentrasi (ppm)	Modus larva udang yang mati			
	Ekstrak pekat air	Fraksi <i>n</i> - heksana	Fraksi etil asetat	Fraksi etanol
0*	0	0	0	0
0**	0	0	0	0
5	0	0	1	0
15	1	0	3	1
25	1	2	5	1
50	1	3	6	2
100	2	8	7	2

Keterangan: 0* kontrol pelarut
0** kontrol DMSO

Berdasarkan Tabel 4.3 diperoleh nilai modus kematian larva udang *Artemia salina* Leach pada kontrol, ekstrak pekat air dan masing-masing fraksi. Pengujian masing-masing dilakukan pengulangan sebanyak 5 kali. Hasil uji larutan kontrol tidak ada kematian larva udang *Artemia salina* Leach. Pada ekstrak pekat air dan fraksi etanol kematian hewan uji dimulai dari konsentrasi 15-100 ppm, pada fraksi *n*-heksana kematian hewan uji dimulai dari konsentrasi 25-100 ppm. Sedangkan

pada fraksi etil asetat kematian hewan uji dimulai dari konsentrasi 5-100 ppm. Data modus yang terdapat pada Tabel 4.3 dapat digunakan untuk menentukan nilai mortalitas dan dilanjutkan dengan penentuan LC_{50} . Nilai LC_{50} yang dihasilkan dari uji toksisitas rimpang Jeringau ditampilkan pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Nilai LC_{50} ekstrak pekat air dan masing-masing fraksi

Sampel	Nilai LC_{50} (ppm)
Ekstrak pekat air	297,457
Fraksi <i>n</i> -heksana	156,557
Fraksi etil asetat	182,793
Fraksi etanol	298,842

Berdasarkan Tabel 4.6 diperoleh nilai LC_{50} ekstrak pekat air sebesar 297,457 ppm, fraksi *n*-heksana sebesar 156,557 ppm, fraksi etil asetat sebesar 182,793 ppm, dan pada fraksi etanol sebesar 298,842 ppm. Menurut Suwandi dan Supriyanto (2018) yang telah melakukan uji toksisitas ekstrak kasar, *n*-heksana dan metanol rimpang Jeringau diperoleh nilai LC_{50} sebesar 128,2921 dan 241,7169 ppm. Penelitian Kusuma (2021) uji toksisitas yang dilakukan pada ekstrak metanol dan etanol rimpang Jeringau diperoleh nilai LC_{50} sebesar 120,334 ppm dan 160,337 ppm yang berpotensi sebagai antibakteri. Hal ini menunjukkan bahwa hasil uji toksisitas pada ekstrak air lebih rendah (dengan nilai LC_{50} lebih tinggi) dibandingkan dengan pelarut organik. Nilai LC_{50} kemampuan suatu senyawa yang dapat menyebabkan kematian 50% dari hewan uji. Berdasarkan kategori tingkat toksisitas pada Tabel 2.2 hasil toksisitas pada penelitian ini dikategorikan toksik dan berpotensi sebagai antibakteri yaitu pada rentang nilai LC_{50} 30-1000 ppm.

Menurut Kurniawan dan Ropiqa (2021) kematian larva udang *Artemia salina* Leach disebabkan oleh senyawa yang terkandung pada rimpang Jeringau

(*Acorus calamus* L.) sebagai *antifeedant* atau menghambat daya makan larva udang *Artemia salina* Leach. Mekanisme senyawa rimpang Jeringau dalam mematikan hewan uji yaitu bertindak sebagai *stomach poisoning* (racun perut) yang dapat merusak sistem pencernaan pada larva udang *Artemia salina* Leach. Selain itu, senyawa yang terkandung dalam rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) dapat menghambat sistem reseptor pada indera perasa sehingga dapat menyebabkan larva udang *Artemia salina* Leach gagal mendapatkan stimulan rasa dan tidak dapat mengenali makanannya.

Fraksi *n*-heksana menghasilkan nilai LC_{50} sebesar 156,557 ppm lebih toksik dibandingkan dengan ekstrak pekat air, fraksi etil asetat dan fraksi etanol. Hasil ini didukung oleh hasil identifikasi spektroskopi UV-Vis yang menghasilkan panjang gelombang 300 nm dengan transisi elektron $n-\pi^*$ yang mengakibatkan adanya gugus karbonil C=O dan diperkuat dengan hasil FTIR yang terdapat gugus hidroksil OH pada daerah 3551 cm^{-1} dan gugus karbonil C=O pada daerah 1739 cm^{-1} . Sedangkan fraksi etanol memiliki nilai LC_{50} sebesar 298,842 ppm lebih tidak toksik dibandingkan dengan ekstrak pekat air, fraksi *n*-heksana dan fraksi etil asetat. Hasil ini didukung dengan adanya identifikasi UV-Vis yang tidak mengalami transisi elektron $n-\pi^*$ yang akibatnya tidak adanya kromofor C=O, dan diperkuat dengan identifikasi FTIR yang hanya gugus hidroksil OH pada daerah 3547 cm^{-1} namun tidak terdapat serapan karbonil.

Senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada rimpang Jeringau menghambat enzim RNA *polymerase* yang mengakibatkan tidak terjadinya proses sintesis protein (Birndorf, dkk., 1975). Menurut Rio, dkk., (2016) gugus fungsi yang terdapat pada rimpang jeringau dapat memecah interaksi hidrofobik, ikatan

hidrogen dan ikatan garam pada protein seperti gugus karbonil dan gugus hidroksil, sehingga dapat menyebabkan denaturasi protein. Denaturasi protein dapat menyebabkan terganggunya proses *transport* ion oleh Na^+/K^+ , sehingga dapat mengakibatkan tidak terkendalinya proses pemasukan ion Na^+ dan pengeluaran ion K^+ serta mengakibatkan kematian pada larva udang *Artemia Salina* Leach karena pembengkakan hingga pecahnya sel.

Berdasarkan hasil identifikasi spektroskopi UV-Vis dan FTIR dapat diduga bahwa rimpang Jeringau mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, steroid dan terpenoid. Selain itu juga terdapat kemungkinan senyawa lain salah satu kandungan senyawa lain adalah minyak atsiri yang penyusun terbesarnya adalah senyawa β -asarone dari hasil identifikasi spektrum FTIR. Perbedaan senyawa aktif yang terbaca antara ekstrak pekat air dan masing-masing fraksinya dikarenakan pada ekstrak pekat air masih mengandung banyak senyawa dan juga karbohidrat yang menyebabkan total kandungan senyawa yang sama antara ekstrak dan fraksi berbeda. Perbedaan nilai LC_{50} yang dihasilkan oleh fraksi *n*-heksana, dan etil asetat dimungkinkan dengan kandungan senyawa yang sama namun total kandungannya berbeda. Selain itu di dalam masing-masing fraksi masih terdapat gabungan beberapa senyawa yang dapat memberikan efek berbeda-beda terhadap hewan uji. Efek tersebut dapat berupa efek antagonis (saling berlawanan) bisa menurunkan kemampuan toksiknya, efek sinergis (saling mendukung) bisa meningkatkan kemampuan toksiknya, atau netral (Trianto, dkk., 2004).

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

Tumbuhan dan manusia memiliki keterkaitan dalam kehidupan. Tumbuhan merupakan salah satu makhluk ciptaan Allah SWT yang memiliki banyak manfaat

bagi manusia. Allah menciptakan makhluk hidup di dunia ini dari yang terkecil hingga terbesar tidak ada yang sia-sia, salah satunya tumbuhan Jeringau (*Acorus calamus* L.) yang diciptakan untuk dimanfaatkan sebaik-baiknya sehingga dapat bermanfaat bagi makhluk hidup lain. Manfaat yang dihasilkan oleh tumbuhan ini telah dijelaskan sebagaimana firman Allah Swt, dalam al-Qur'an surat Luqman ayat 10.

خَلَقَ السَّمَوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرَوْنَهَا وَالْأَرْضِ رُوْسِي أَنْ نَمِيدَ بِكُمْ وَبَثَّ فِيهَا مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ ۗ وَأَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya: “Dia menciptakan langit tanpa tiang yang kamu melihatnya dan dia meletakkan gunung-gunung (dipermukaan) bumi supaya bumi itu tidak menggoyangkan kamu; dan memperkembang biakkan padanya segala macam jenis binatang. Dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik”(Q.S Luqman:10)

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

Manfaat tersebut tidak terlepas dengan apa yang terkandung pada rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.). Penelitian ini didapatkan hasil bahwa rimpang Jeringau mengandung Sedangkan pada fraksi etanol mengandung senyawa

alkaloid, flavonoid, tanin, steroid dan terpenoid. Pada penelitian ini juga telah menguji toksisitas rimpang Jeringau ekstrak pekat air, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi etanol. Nilai LC_{50} masing-masing sampel uji berturut-turut didapatkan 297,475; 156,557; 182,793; 298,842 ppm yang menggambarkan bioaktivitas rimpang Jeringau dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri. Allah Swt menciptakan suatu penyakit pasti ada obatnya, salah satu obat adalah dari tumbuhan Jeringau (*Acorus calamus* L.) ini. Penelitian ini dapat memberi informasi kepada masyarakat tentang potensi tanaman obat, sehingga bermanfaat bagi kehidupan yang mana menjadi salah satu bentuk bersyukur dengan kekuasaan-Nya. Bersyukur atas segala nikmat-Nya telah dijelaskan dalam firman-Nya al-Qur'an surat Al-Baqarah ayat 152.

فَاذْكُرُونِي أَذْكُرْكُمْ وَاشْكُرُوا لِي وَلَا تَكْفُرُونِ

Artinya:”*Karena itu,ingatlah kamu kepada-Ku niscaya aku ingat (pula) kepadamu, dan bersyukurlah kepada-Ku dan janganlah kamu mengingkari (nikmat-Ku)*”(Q.S Al-Baqarah :152)

Ayat di atas ditafsirkan bahwa demikian limpahan karunia-Nya *karena itu, ingatlah kamu kepada-Ku* dengan lisan, pikiran, hati, dan anggota badan. Jika itu semua kamu lakukan *niscaya aku ingat pula kepada kamu*. Sehingga aku akan selalu bersama kamu saat suka dan dukamu *dan bersyukurlah kepada-Ku niscaya Ku tambah nikmat dan jangan kamu ingkari* agar siksa-Ku tidak menimpamu (Shihab, 2002).

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diperoleh kesimpulan bahwa:

- a. Hasil uji toksisitas ekstrak dan masing-masing fraksi rimpang Jeringau tergolong toksik yaitu dengan nilai LC_{50} sebesar 297,457; 156,557; 182,793; 298,842 berturut-turut untuk ekstrak pekat air, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi etanol.
- b. Hasil identifikasi spektroskopi UV-Vis menunjukkan serapan panjang gelombang 283, dan 204 nm (ekstrak pekat air). 205, 250 dan 300 nm (fraksi *n*-heksana), 205, 229, dan 250 nm (fraksi etil asetat), 206 dan 266 nm (fraksi etanol). Hasil identifikasi spektroskopi FTIR pada ekstrak pekat air menghasilkan gugus fungsi OH *stretching*, N-H *stretching*, C=C aromatik, C-H alkena, C-O *stretching* alkohol, CH₂ *stretching*, Csp³H *stretching*, C-N amina. Fraksi *n*-heksana menghasilkan gugus fungsi C=C aromatik, OH *stretching*, , CH₂ *stretching*, Csp³H *stretching* C-O-C *stretching*. Fraksi etil asetat menghasilkan gugus fungsi C=C aromatik, OH *stretching*, CH₂ *stretching*, Csp³H *stretching*. Sedangkan pada fraksi etanol menghasilkan serapan gugus fungsi OH *stretching*, C-H alkena, C=C aromatik, C-O *stretching* alkohol, CH₂ *stretching*, Csp³H *stretching*.

5.2 Saran

Perlu dilakukan isolasi senyawa pada fraksi *n*-heksana sebagai hasil terbaik pada toksisitas dan diidentifikasi menggunakan LC-MS.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, Shabbar., Khizar Hayat., Karangwa, Eric., Bashari, Mohanad., & Zhang, Xiaoming. (2013). An Overview of Ultrasound-Assisted Food-Grade Nanoemulsions. *Food Engineering Reviews*, 5(3), 139–157.
- Astuti, Maria Dewi., Kuntorini, Evi Mintowati., & Wisuda, Farah Eka Putri. (2014). Isolasi dan Identifikasi Terpenoid dari Fraksi *n*-Butanol Herba Lampasau (*Diplazium esculentum* Swartz). *Jurnal Kimia Valensi*, 4(1), 20-24.
- Astuti, M. D., Sriwinarti, T., & Mustikasari, K. (2017). Isolation And Identification Of Terpenoid Compounds From *n*-Hexana Extract Of Permot Plant Bracts (*Passiflora foetida* L). *Jurnal Sains Dan Terapan Kimia*, 11(2),80.
- Amiriza, Nika Ayu. (2015). Pengaruh Ekstrak Rimpang Dringo (*Acorus calamus* L.) Terhadap Respon Antifeedant *Crocidolomia pavonana* F. *Skripsi*. Universitas Jember. Jember.
- Ardianti, Anik., & Joni Kusnadi. (2014). Ekstraksi Antibakteri Dari Daun Berenuk (*Crescentia cujete* Linn.) Menggunakan Metode Ultrasonik. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 2(2), 28–35.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia (BPOM RI). (2019). Peraturan Badan pengawas Obat dan Makanan Nomor 17 tentang *Persyaratan Mutu Suplemen Kesehatan*. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- Baidowi, Ahmad. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan dan Identifikasi Awal Golongan Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Kasar Metanol dan *n*-Heksana Teripang *Holothuria atra* Pantai Wedi Ireng Banyuwangi. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Birndorf, H., Dalesio, J., Bagshaw, J. 1975. DNA-dependent RNA-polymerases from *Artemia* embryos Characterization of Polymerases I and II from Naupilus Larvae. *Development Biology*, 45(35), 29-35.
- Cravotto, Giancarlo., & Pedro Cintas. (2006). Power ultrasound in organic synthesis: Moving cavitation chemistry from academia to innovative and large-scale applications. *Chemical Society Reviews*, 35(2), 180–196.
- Creswell, C.J. 1982. *Analisa Spektrum Senyawa organik Edisi ke-2*. Bandung: ITB
- Daud, Ahmad., Suriati., & Nuzulyanti. (2019). kajian Penerapan Faktor yang Mempengaruhi Akurasi Penentuan Kadar Air Metode Thermogravimetri. *Jurnal Lutjanus*, 24(2): 11-16.
- Dewi, Ni Wayan Rika Kumara., Gunawan, I Wayan., & Puspawati, Ni Made. (2017). Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Antioksidan Golongan Flavonoid Dari Ekstrak Etil Asetat Daun Pranajiwa (*Euchresta horsfieldii* Lesch Benn.). *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry)*, 5(1), 26.
- Effendi, Violetta Prisca., & Widjanarko, Simon Bambang. (2014). Distilasi dan Karakterisasi Minyak Atsiri Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) dengan

- Kajian Lama Waktu Distilasi dan Rasio Bahan: Pelarut. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 2(2), 1-8.
- Effendy. (2007). *Perspektif Baru Kimia Koordinasi*. Malang: Bayumedia Publishing.
- Fasya, Ahmad Ghanaim., Purwanto, Bagas., Ulya, Lulu'atul Hamidatu., Ahmad, Mujahidin. (2019). Aktivitas Antioksidan Isolat Steroid Hasil Kromatografi Lapis tipis dari Fraksi *n*-heksana *Hydrilla verticillata*. *Alchemy*, 8:1 23-24
- Fasya, Ahmad Ghanaim., Dinasti, Riska Anike., Shofiyah, Muharromatus., Rahmawati, Laili. Maghfiroh., Millati, Nuria, Safitri, Dany Aulia, Handoko, S., Hanapi, Ahmad., & Ningsih, Rahmawati. (2018). Ekstraksi, Hidrolisis dan Partisi Metabolit Sekunder dari Mikroalga *Chlorella sp.* *Alchemy*, 5(1), 5.
- Fatimah, Fitri. (2020). Uji Toksisitas Senyawa Steroid Hasil Kromatografi Kolom Basah fraksi *n*-Butanol Ekstrak Metanol *Eucheuma cottoni* Dari Perairan Wongsorejo Banyuwangi. *skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Fauziah, Eka Donna., Bialangi, Nurhayati., & Musa, Weny. J. A. (2017). Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Aktif Terhadap Mortalitas Kutu Beras dari Ekstrak Etil Asetat Rimpang Jeringau (*Acorus calamus L.*). *Jurnal Entropi*, 12(1), 25–32.
- Fithrony, Arief Hadiyan. (2021). Uji Toksisitas dan Identifikasi Senyawa Aktif Fraksi Air, *n*-Heksana, dan Etil Asetat Hasil Hidrolisis Ekstrak Etanol Rimpang Jeringau (*Acorus calamus L.*) Ekstraksi Sonikasi. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Guo, Lina., Na Kong., Xinyan Zhang., & Haile Ma. (2022). Multimode ultrasonic extraction of polysaccharides from maca (*Lepidium meyenii*): Optimization, purification, and in vitro immunoregulatory activity. *Ultrasonics Sonochemistry*, 88(301).
- Harizon,., Pujiastuti, B., Kurnia, D., Sumiarsa, D., Supratman, U., & Shiono, Y. (2015). Kuersetin Dan Kuersetin-3-O-Glukosida Dari Kulit Batang *Sonneratia Alba* (Lythraceae). *Jurnal Kimia Valensi*. 1(1).
- Harli, Safitri Ainun. (2016). Uji Toksisitas ekstrak Etanol Daun Pedang-Pedang (*sansevieria trifasciata Prain*) Terhadap Larva Udang (*Artemia salina Leach*) dengan menggunakan metode Brine shrimp lethality test (BSLT). *Skripsi*. Makasar: Universitas Islam Negeri Alaudin Makasar.
- Hartini, V. A., Anam, K., & Cahyoni, B. (2012). Isolasi Senyawa Triterpenoid dari Daun Ketapang Kecncana (*Terminalia Muelleri Benth*) dan Uji Aktivitas Sitotoksik dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Journal Kimia Sains dan Aplikasi*. 15(2): 47-52.
- Hasan, Muhammad Nur. (2015). Pengaruh Ekstrak Rimpang Jeringau (*Acorus Calamus L.*) Dalam Beberapa Pelarut Organik Terhadap Aktivitas

- Antioksidan Dan Antifungi Secara In Vitro. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Ince, Alev Emine., Serpil Şahin., & Servet Gulum Sumnu. (2013). Extraction of phenolic compounds from melissa using microwave and ultrasound. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 37(1), 69–75.
- Karina, Zita Puti. (2015). Ekstraksi senyawa antioksidan daun sirsak (*Annona muricata* L.) dengan metode ultrasonik (kajian jenis pelarut dan umur daun). *Skripsi*. Malang: Universitas Brawijaya Malang.
- Kementrian Agama Republik Indonesia (KEMENAG RI). (2006). *Al-Qur'an dan Terjemahannya*. Bandung: Dipenogoro.
- Khasanah, Nur Fitriana. (2018) Uji Toksisitas Senyawa Aktif Fraksi *n*-Heksna Kloroform, dan *n*-Butanol *hydrilla verticillata* Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol dari Perairan Danau Ranu Pasuruan. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Kristanti, Alfinda Novi., Aminah, Nanik Siti., Tanjung, Mulyadi., & Kurniadi, Bambang. (2008). *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Kurniawan, Hadi., dan Ropiqa, Meri. 2021. Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Ekor Kucing (*Acalypha hispida* Burm.f.) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Journal Syifa Science and Clinical Research*, 3(2),52-62.
- Kusuma, faskho akbar. (2021). Uji Toksisitas Dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Pada Rimpang Jeringau (*Acorus Calamus* L.) Hasil Ekstraksi Ultrasonik Variasi Pelarut. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Mardiyah, Ulfaul., Fasya, Ahmad Ghanaim., Fauziyah, Begum., & Amalia, S. (2014). Ekstraksi, Uji Aktivitas Antioksidan Dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Alga Merah *Eucheuma Spinosum* Dari Perairan Banyuwangi. *Alchemy*, 3(1).9-46
- Masrihanah, A. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Ultrasonik Air, Metanol, Etanol, Etil Asetat Dan Petroleum Eter Daun Katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr). *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Muhridja, Melisa., Bialangi, Nurhayati., & Musa, Weny. J. (2016). Isolasi dan karakterisasi senyawa aktif repellent nyamuk dari ekstrak rimpang jeringau. *Jurnal Entropi*, 2(11), 176–184.
- Ningsih, Dian Riana., Zufahir., & Kartika, Dwi. (2016). Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Serta Uji Aktivitas Ekstrak Daun Sirsak Sebagai Antibakteri. *Jurnal Molekul*, 2(11), 1–38.

- Noerbaeti, Evri. (2010). Uji Toksisitas Ekstrak Daun Bakau *Sonneratia alba* Terhadap *Artemia*. *Jurnal Kesehatan Ikan Dan Lingkungan*, 1988, 94–101.
- Nugrahani, Rizki., Andayani, Yayuk., dan Hakim, Aliefman. 2016. Skrining Fitokimia dari Ekstrak Buah Buncis (*Phaseolus vulgaris* L) dalam Sediaan Serbuk. *Jurnal Penelitian Pendidikan Ilmu Pengetahuan Alam*, 2(1), 97103.
- Prasetyo, Ferry Yuda. (2018). Ekstraksi Minyak Atsiri dari Bunga Cengkeh dengan Menggunakan Metode Ultrasonik. *Jurnal Teknik Kimia UMS*, Surakarta: Universitas Muhammadiyah. Surakarta, 1–13.
- Rahmawati, Y. D. (2017). Variasi Eluen pada Pemisahan Senyawa triterpenoid dan Steroid Alga Merah *Eucheuma spinosum* Menggunakan Kromatografi Kolom Basah. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Rio, Budi Syahputra., Nursal., dan Wulandari, Sri. 2016. Uji Toksisitas Ekstrak Kulit Batang Rengas (*Gluta renghas*) Terhadap Larva Udang *Artemia salina* untuk Pengembangan Modul Pembelajaran pada Konsep Keseimbangan Lingkungan Kelas X SMA. *Jurnal Online Mahasiswa Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan*, 3(1), 1-12.
- Romadhoni, Nur Rohmah Tria. (2020). Uji Aktivitas Antimikroba Nanopartikel Kombinasi *Allium Sativum* Linn., *Curcuma Mangga* Val. Dan *Acorus Calamus* L. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Safrina, Nina., Susanti, Ressi., & Sari, Rafika. (2018). Uji Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Rimpang Jeringau Merah (*Acorus* Sp .) terhadap Radang Kaki Tikus Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Karagenan. *Jurnal Farmasi*, 45(6), 409–413.
- Santos, Hugo Miguel., Lodeiro, Carlos., Martinez, Capelo., & Luis, Jose. (2009). *The powe of Ultrasonic Analytical Applications*. Germany: Willey-Verlag Chemie Publisher. 1-16.
- Sari, Bunga Surya Eka. (2022). Uji Toksisitas dan Identifikasi Senyawa Metabolit sekunder Hasil Ekstraksi Ultrasonik Etanol, Etil asetat, dan *n*-heksana daun kersen (*Muntingia calabura* L.). *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Sastrohamidjojo. (1991). *Spektroskopi*. Yogyakarta: Liberty
- Saxena, P., & Saxena, P. (2014). In-Vitro and in-Vivo Evaluation of Anti Asthmatic Activity of Rhizomes Extract of *Acorus Calamus* (Linn.) in Guinea Pigs. *Research Journal of Pharmaceutical Sciences ISSN* 3(5), 2319–2555.
- Shihab, M. Quraish. (2002). Tafsir al-Mishbah Jilid 10. *Lentera Hati*. Jakarta, (10), 547.
- Shihab, Quraish. (2002). Tafsir al-Mishbah. *Lentera Hati*. Jakarta, 317–318.

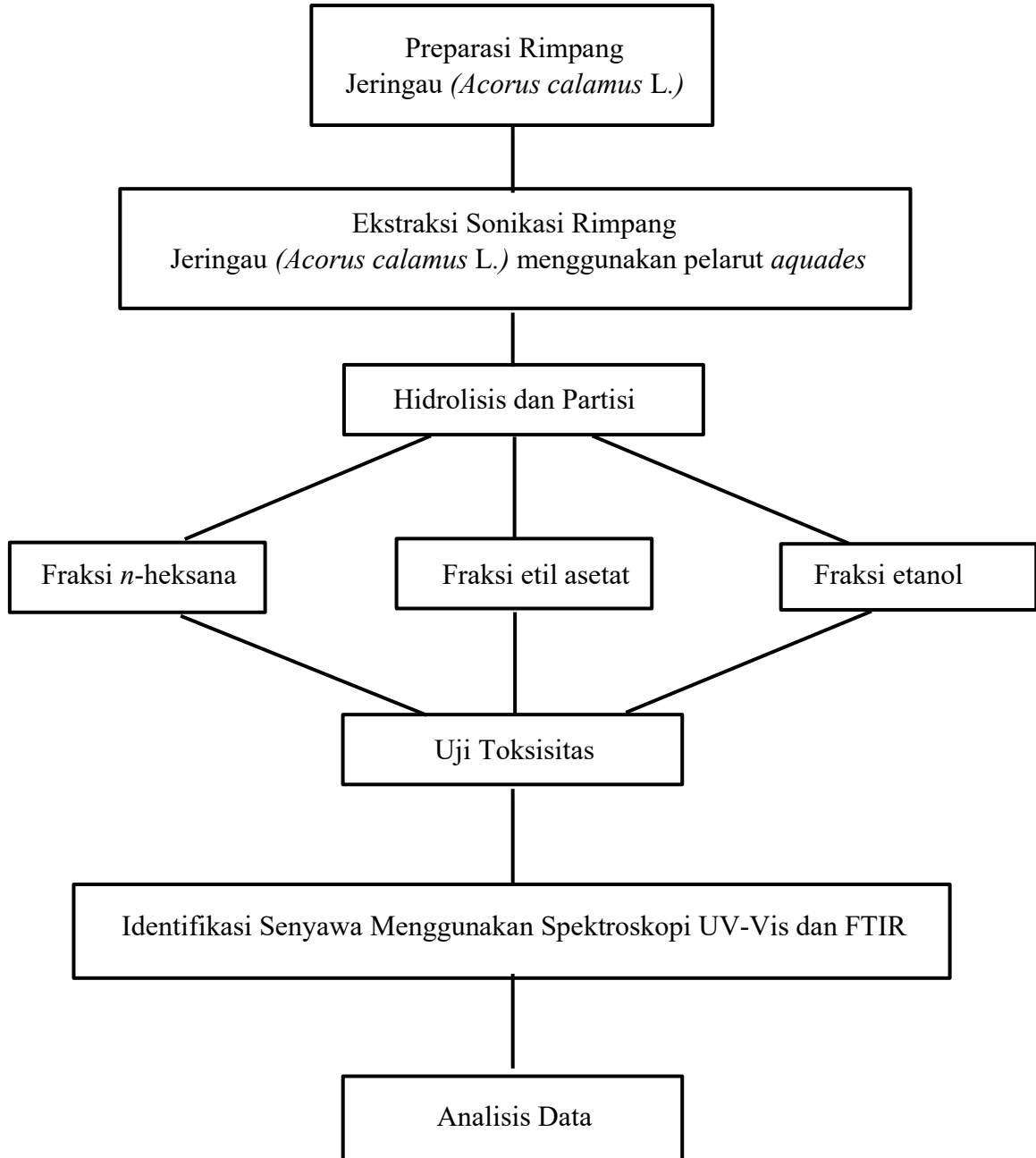
- Sudrajad, Heru. (2004). Pengaruh Ketebalan Irisan dan Lama Perebusan (*Blancing*) Terhadap Gambar Makroskopis Kadar Minyak Atsiri Simplisia Dringo (*Acorus calamus* L.). *Artikel Media Litbang Kesehatan*, 14(4): 41-44.
- Supriat, Hamidah Sri., Muhammad Hidayat., Sandra Lewa., & Muhammad Yusuf Simbal. (2023). Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Biji Buah Bintaro (*Cerbera manghas* L) Terhadap Larva *Artemia salina* Leach. Denga Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Jurnal Farmasi*. Manado: Universitas Muhammadiyah Manado.
- Susanti, Nurlaili. (2016). Aktivitas Antimikroba Ekstrak Rimpang Jeringau (*Acorus calamus*) Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*. *Jurnal Biodjati*, 1(1), 55.
- Sutomo., Buih, Putri Helena Junjung., Arnida. (2020). Isolasi Senyawa Terpenoid dari Fraksi *n*-heksana Daun Bilaran Tapah (*Argyrea nervosa* (Burm F.)) Asal Kalimantan Selatan. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 7(2) 12-17.
- Sya'diyah, Siti., Waris, Risda., Najib, Ahmad. 2014. Upaya Isolasi β -asaron pada Ekstrak *n*-Heksana Rimpang Dringo (*Acorus calamus* L.) Asal Kabupaten Pinrang. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 1(1), 6-13.
- Tambun, R., Limbong, Harry P., Pinem, C., & Manurung, E. (2016). Pengaruh Ukuran Partikel Waktu dan Suhu pada Ekstraksi Fenol dari Lengkuas Merah. *Jurnal Teknik Kimia Usu*, 4(4): 53-56.
- Trianto, Agus., HAS, Yan Yan., Ambariyanto, Mirnwani, Retno. 2004. Uji Toksisitas Ekstrak Gorgonian *Isis hippuris* Terhadap *Nauplius Artemia salina*. *Jurnal Ilmu Kelautan*, 9(2), 61-66.
- Umamaheshwari, N., & Rekha, A. (2018). Sweet flag: (*Acarus calamus*)-An incredible medicinal herb. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(6), 15–22.
- Van Dong N., (1993). *The Medical Plants of Vietnam*. Cambodia and Laos. Vietnam N.V.D. Press.
- Wati, Vivi Septya. (2020). Uji Toksisitas Isolat Steroid Hasil KLTP Fraksi Etil Asetat dan Petroleum Eter *hydrilla verticillata*. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Widiyarti, Galuh., Muhammad Hanafi dan Wahyudi Priyono Soewarso. (2009). Study on The Synthesis of Monolaurin as Antibacterial Agent Againts. *Journal Chemistry Indonesian*. 9 (1), 99-106.
- Winangsih., Prihastanti, E., & Parman, S. (2013). Pengaruh Metode Pengeringan Terhadap Kualitas Simplisia Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum* L.). *Buletin Anatomi dan Fisiologi*, 21 (1): 19-25.
- Yulia, N., & Setiyabudi, L. (2021). Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Jeringau dan Brotowali terhadap *Streptococcus pyogenes*. *Prosiding Seminar Nasional*, 36–41.
- Yustria, M., Susanti, R., & Purwanti, N. U. (2001). Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Rimpang Jeringau Merah (*Acorus* Sp.) Sebagai Nefroprotektor Pada Tikus

Putih Galur Wistar Yang Diinduksi Parasetamol Dosis Toksik. *Jurnal Farmasi*, 1–7.

Zetra, Y. & P. Prasetya. 2007. Isolasi Senyawa α -Amirin dari Tumbuhan *Beilschmiedia roxburghiana* (Medang) dan Uji Bioaktivitasnya. *Akta Kimindo*. 3(1): 27-32.

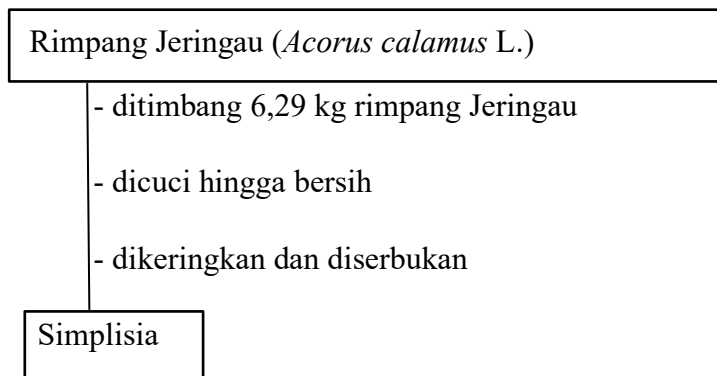
LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian

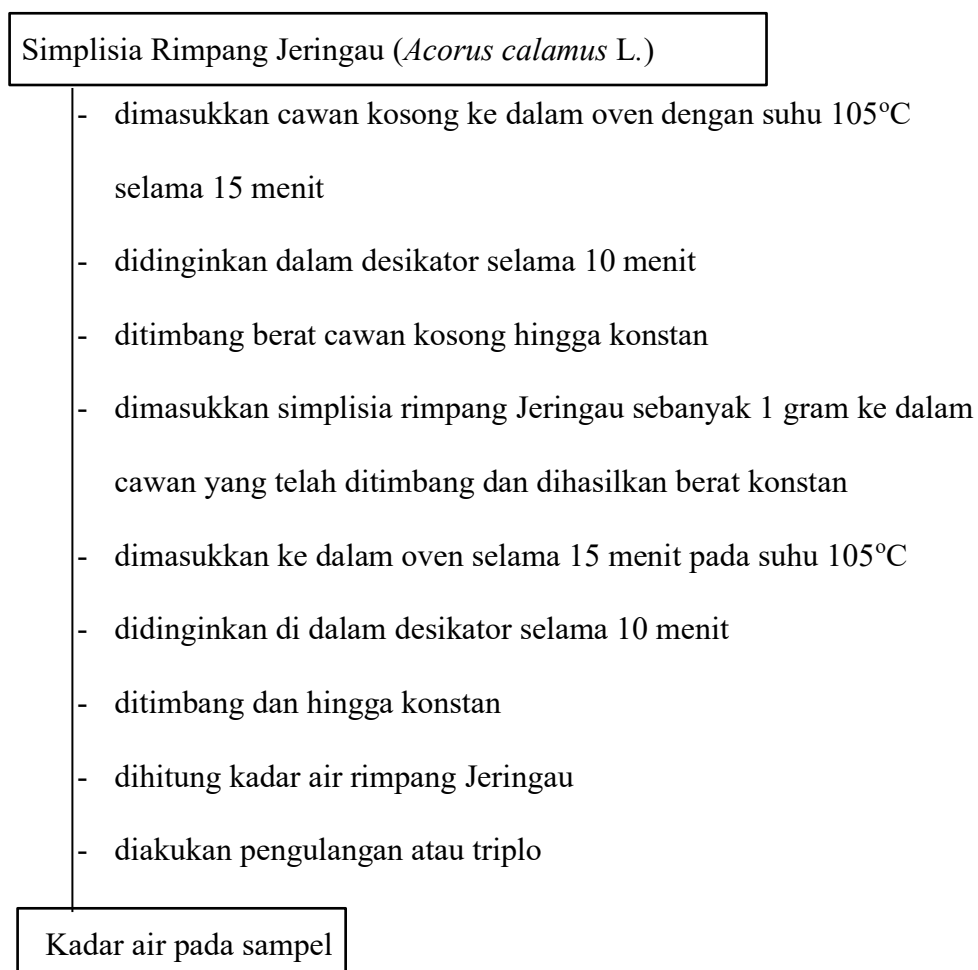


Lampiran 2. Skema Kerja

L.2.1 Preparasi Sampel



L.2.2 Analisis Kadar Air



L.2.3 Ekstraksi Sonikasi (Ultrasonik)

Simplisia Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.)

- ditimbang sebanyak 30 g
- dilarutkan 30 g sampel rimpang Jeringau ke dalam 300 mL air
- diekstraksi menggunakan alat ultrasonik *probe* selama 30 menit dengan frekuensi 47 kH
- di *freeze drying* menggunakan suhu -55°C
- ditimbang hasil ekstrak sampel
- dihitung nilai rendemennya

Ekstrak pekat air

L.2.4 Hidrolisis dan Partisi

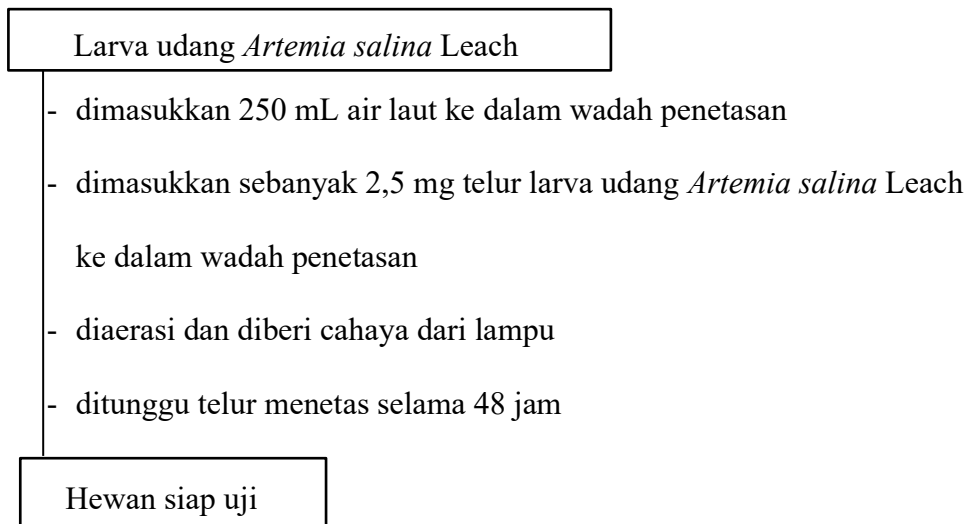
Ekstrak Rimpang Jeringau Pekat

- ditimbang sebanyak 3 g dan dimasukkan ke dalam *beaker glass*
- ditambahkan dengan HCl 2N sebanyak 6 mL
- *distirer* menggunakan *hot plate* pada suhu ruang selama 1 jam
- ditambahkan dengan natrium bikarbonat hingga pH netral
- dipartisi secara bertingkat hidrolisat menggunakan pelarut *n*-heksana, etil asetat dan etanol sebanyak 15 mL dan dilakukan triplo
- diberi label pada setiap fraksi dan dipekatkan
- ditimbang dan dihitung rendemennya

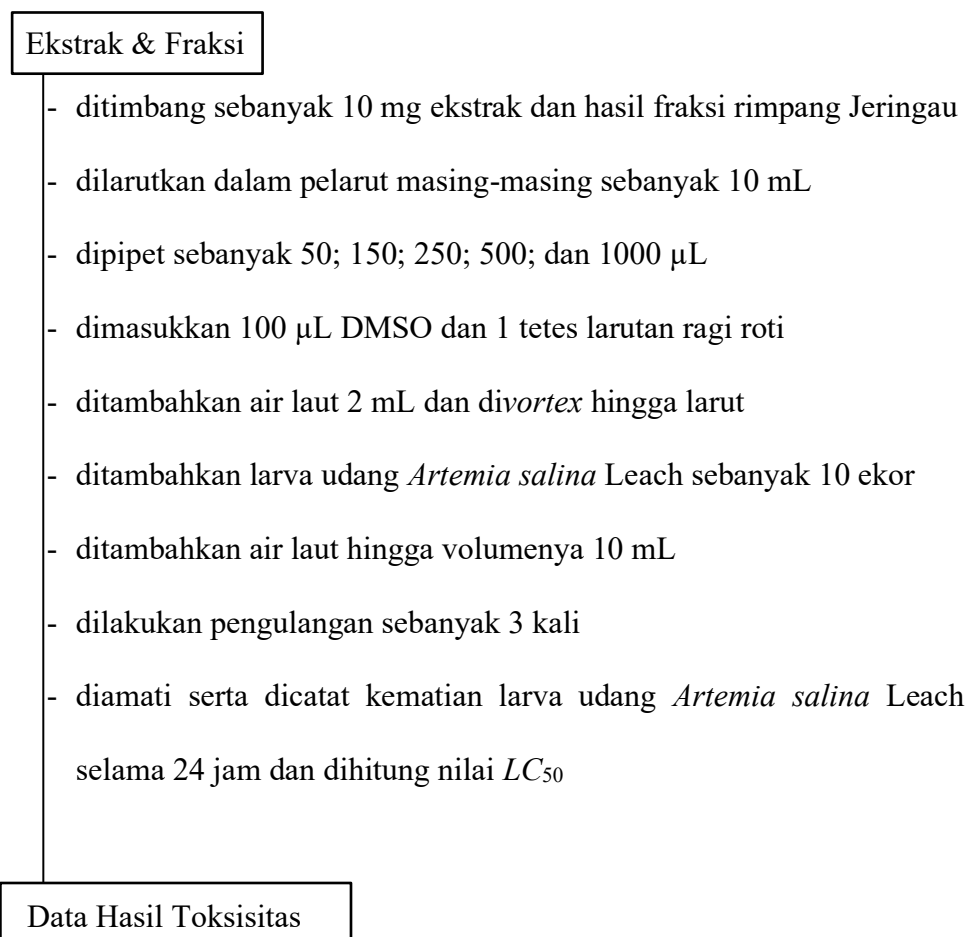
Fraksi

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

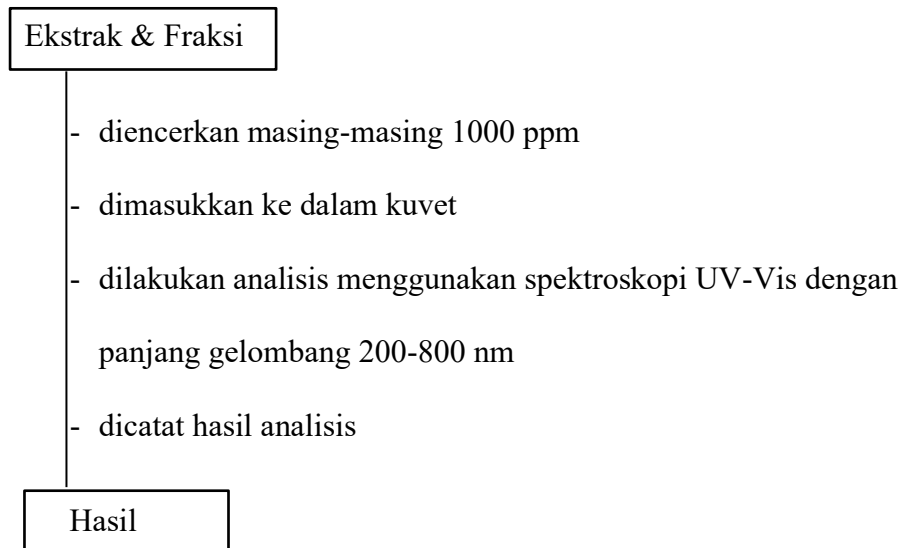
L.2.5.1 Penetasan Larva Udang



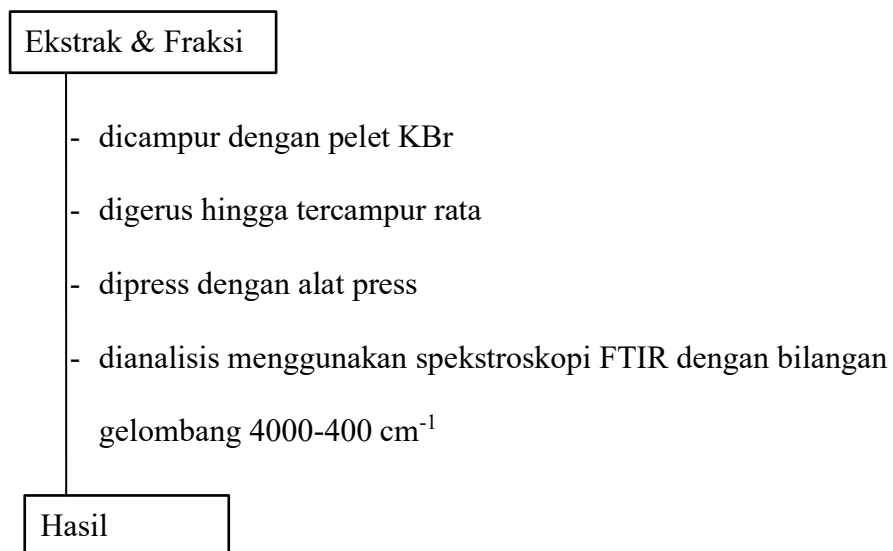
L.2.5.2 Uji Toksisitas



L.2.7 Identifikasi Menggunakan Spektroskopi UV-Vis



L.2.8 Identifikasi Menggunakan Spektroskopi FTIR



Lampiran 3. Perhitungan Reagen dan Larutan

L.3.1 Pembuatan HCl 2 N

Diketahui :

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

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

$$\text{Mr HCl} = 36,46 \text{ g/mol}$$

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

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

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

$$N \text{ HCl} = \frac{0,37 \times 1190 \text{ g/L}}{36,46 \text{ g/mol}}$$

$$N \text{ HCl} = 12,08 \text{ N}$$

$$\text{Pengenceran: } N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

$$12,09 \text{ N} \times V_1 = 2 \text{ N} \times 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = 16,6 \text{ mL}$$

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

L.3.2 Pembuatan Larutan HCl 1 N

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$12,06 \text{ N} \times V_1 = 1 \text{ N} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{10}{12,07}$$

$$V_1 = 0,83 \text{ mL}$$

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

L.3.3 Pembuatan Larutan NaHCO₃ 5% (b/v)

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

L.3.4 Pembuatan Larutan Stok Uji Toksisitas

L.3.4.1 Pembuatan Larutan stok 1000 ppm Ekstrak Rimpang Jeringau

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

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

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

a. Pembuatan larutan 5 ppm

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

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

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

$$V_1 = 0,005 \text{ mL}$$

b. Pembuatan larutan 15 ppm

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 \times 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ mL} \times 15 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{150 \text{ mL ppm}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 0,15 \text{ mL}$$

c. Pembuatan larutan 25 ppm

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 \times 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ mL} \times 25 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{250 \text{ mL ppm}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 0,25 \text{ mL}$$

d. Pembuatan larutan 50 ppm

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 \times 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ mL} \times 50 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{500 \text{ mL ppm}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ mL}$$

e. Pembuatan larutan 100 ppm

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

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

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

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

Lampiran 4. Data Perhitungan Rendemen

L.4.1 Yield Sampel Kering Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.)

Berat basah = 6,04 kg

Berat sampel serbuk kering = 1,54 kg

$$\begin{aligned} \text{Yield} &= \frac{(\text{Berat sampel basah})\text{g}}{(\text{Berat sampel serbuk kering})\text{g}} \times 100\% \\ &= \frac{(6,04)\text{g}}{(1,54)\text{g}} \times 100\% \\ &= 25,5\% \end{aligned}$$

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

Tabel Data berat cawan komjjsong

Ulangan	Berat Cawan Kosong (g)				Berat Cawan Konstan (g)	
	Cawan	Sebelum dioven	P1	P2		P3
C1		72,3030	72,3003	72,3019	72,2999	72,3007
C2		54,9322	54,9298	54,9297	54,9268	54,9287
C3		58,0241	58,0228	58,0228	58,0215	58,0223

Keterangan: C = Cawan, P = Ulangan

Tabel Data berat cawan + sampel

Ulangan	Berat Cawan Kosong (g)				Berat Cawan Konstan (g)	
	Cawan	Sebelum dioven	P1	P2		P3
C1		73,3007	73,2383	73,2266	73,2233	73,2294
C2		55,9287	55,8756	55,8604	55,8504	55,8621
C3		59,0223	58,9648	58,9504	58,9439	58,9530

Keterangan: C = cawan, P = Ulangan

1. Kadar air sampel pada cawan C1

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{(\text{berat cawan+sampel sebelum dioven})-(\text{berat cawan+sampel sesudah dioven})}{(\text{berat cawan+sampel sebelum dioven})-(\text{berat cawan kosong})} \times 100\% \\ &= \frac{(73,3007-73,2294)\text{g}}{(73,3007-72,3007)\text{g}} \times 100\% \end{aligned}$$

$$= \frac{(0,0713)\text{g}}{(1)\text{g}} \times 100\%$$

$$= 7,13\%$$

2. Kadar air sampel pada cawan C2

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

$$= \frac{(55,9287-55,8621)\text{g}}{(55,9287-549287)\text{g}} \times 100\%$$

$$= \frac{(0,0666)\text{g}}{(1)\text{g}} \times 100\%$$

$$= 6,66\%$$

3. Kadar air sampel pada cawan C3

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

$$= \frac{(59,0223-58,9530)\text{g}}{(59,0223-58,0223)\text{g}} \times 100\%$$

$$= \frac{(0,0693)\text{g}}{(1)\text{g}} \times 100\%$$

$$= 6,93\%$$

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

$$= \frac{(7,13\%+6,66\%+6,93\%)}{(3)} \times 100\%$$

$$= 6,90\%$$

L.4.3 Perhitungan Rendemen Ekstraksi Soniksi Rimpang Jeringau (*Acorus Calamus L.*)

Tabel L.4 Data Hasil ekstraksi menggunakan pelarut Akuades

Berat sampel (g)	Berat Wadah (g)	Berat Wadah + Ekstrak Pekat (g)	Berat Ekstrak pekat (g)
30	159,8101	163,1479	3,3378
30	168,3567	171,0428	2,6861

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

$$= \frac{(3,3378)\text{g}}{30\text{g}} \times 100\%$$

$$= 11,126\%$$

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

$$= \frac{(2,6861)\text{g}}{30\text{g}} \times 100\%$$

$$= 8,953\% \text{ (serbuk)}$$

L.4.4 Yield Hasil partisi ekstrak pekat air rimpang Jeringau

Tabel L.4 Data hasil partisi

Fraksi	Berat Ekstrak Etanol (g)	Berat Wadah (g)	Berat Wadah + Fraksi pekat (g)	Berat Fraksi pekat (g)
<i>n</i> -Heksana	3	92,1369	92,7400	0,6031
Etil Asetat	3	90,7621	90,9364	0,1743
Air	3	92,0129	94,0344	2,0215

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

$$= \frac{0,6031 \text{ g}}{3 \text{ g}} \times 100\%$$

$$= 20,10\%$$

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

$$= \frac{0,1743 \text{ g}}{3 \text{ g}} \times 100\%$$

$$= 5,81\%$$

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

$$= \frac{2,0215 \text{ g}}{3 \text{ g}} \times 100\%$$

$$= 67,38\%$$

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

L.5.1 Hasil Uji Toksisitas Ekstrak pekat air

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

Keterangan: 0* kontrol pelarut

0** kontrol DMSO

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

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

Keterangan: 0* kontrol pelarut

0** kontrol DMSO

Mortalitas = % mortalitas x jumlah hewan uji

EKSTRAK JERINGAU

Probit Analysis: Mortalitas; Jumlah hewan uji versus konsentrasi

Distribution: Normal

Response Information

Variable	Value	Count
Mortalitas	Event	18
	Non-event	1732
Jumlah hewan uji	Total	1750

Estimation Method: Maximum Likelihood

Regression Table

Variable	Coef	Standard Error	Z	P
Constant	-2,69674	0,154394	-17,47	0,000
konsentrasi	0,0090660	0,0023144	3,92	0,000
Natural Response	0			

Log-Likelihood = -92,598

Goodness-of-Fit Tests

Method	Chi-Square	DF	P
Pearson	6,41504	4	0,170
Deviance	8,36382	4	0,079

Tolerance Distribution

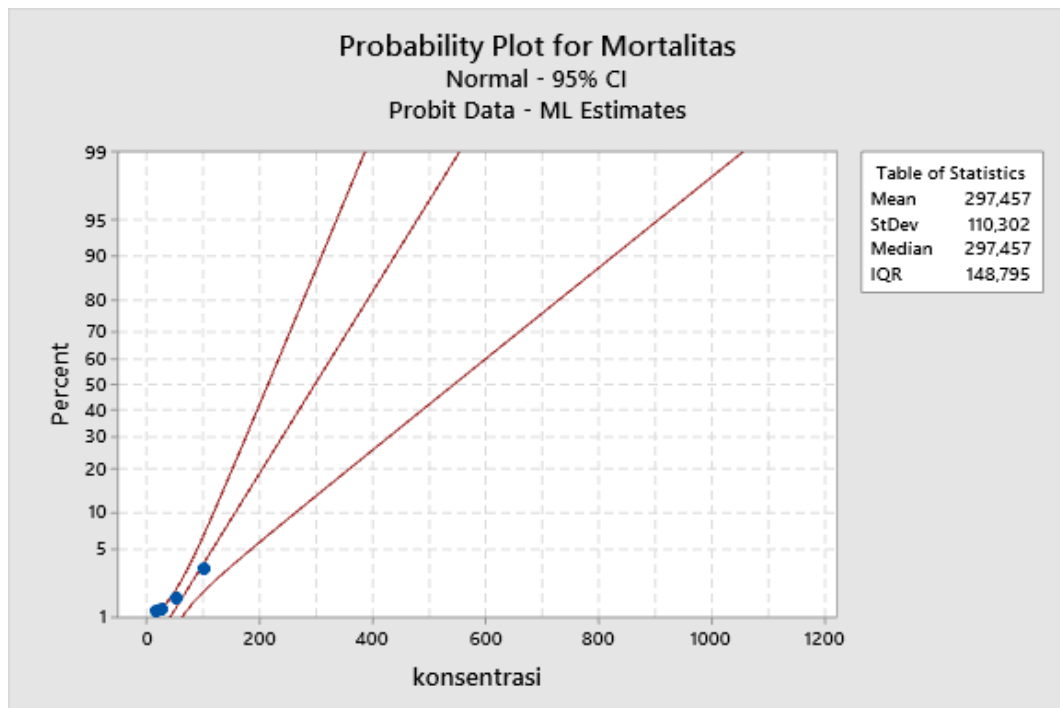
Parameter Estimates

Parameter	Estimate	Standard Error	95,0% Lower	95,0% Upper
Mean	297,457	63,1787	173,629	421,285
StDev	110,302	28,1581	66,8788	181,920

Table of Percentiles

Percent	Percentile	Standard Error	95,0% Fiducial Lower	95,0% Fiducial Upper
1	40,8555	10,7342	12,0660	61,3643
2	70,9238	11,2051	50,7825	102,867
3	90,0012	13,8999	68,4993	136,046
4	104,352	16,5941	80,1582	162,674
5	116,026	19,0261	89,0886	184,888
6	125,962	21,2066	96,4462	204,038
7	134,674	23,1781	102,769	220,958
8	142,474	24,9794	108,354	236,184
9	149,569	26,6411	113,384	250,080
10	156,099	28,1869	117,981	262,906
20	204,624	39,9802	151,511	358,836
30	239,614	48,6676	175,317	428,379

40	269,512	56,1515	195,538	487,923
50	297,457	63,1787	214,373	543,641
60	325,402	70,2274	233,166	599,401
70	355,299	77,7859	253,239	659,092
80	390,290	86,6483	276,698	728,983
90	438,815	98,9597	309,190	825,951
91	445,345	100,618	313,560	839,003
92	452,439	102,420	318,307	853,183
93	460,240	104,401	323,525	868,775
94	468,952	106,615	329,353	886,191
95	478,888	109,140	335,998	906,054
96	490,562	112,107	343,804	929,392
97	504,913	115,756	353,398	958,084
98	523,990	120,607	366,149	996,229
99	554,058	128,257	386,242	1056,36



L.5.2 Hasil Uji Toksisitas Fraksi *n*-heksana

Konsentrasi (ppm)	Jumlah larva yang mati (Ekor)					Modus	%Mortalitas
	I	II	III	IV	V		
0*	0	0	0	0	0	0	0
0**	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0
15	0	0	0	0	0	0	0
25	0	2	2	2	3	2	20
50	3	3	2	3	2	3	30
100	8	8	8	7	8	8	80

Keterangan: 0* kontrol pelarut

0** kontrol DMSO

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

Konsentrasi (ppm)	Jumlah hewan uji (Ekor)	%Mortalitas	Mortalitas
0*	50	0	0
0**	50	0	0
5	50	0	0
15	50	0	0
25	50	20	10
50	50	30	15
100	50	80	40

Keterangan: 0* kontrol pelarut

0** kontrol DMSO

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

Probit Analysis: Mortalitas; Jumlah hewan uji versus konsentrasi

Distribution: Normal

Response Information

Variable	Value	Count
Mortalitas	Event	61
	Non-event	1689
Jumlah hewan uji	Total	1750

Estimation Method: Maximum Likelihood

Regression Table

Variable	Coef	Standard Error	Z	P
Constant	-2,62757	0,128415	-20,46	0,000
konsentrasi	0,0167835	0,0017287	9,71	0,000
Natural Response	0			

Log-Likelihood = -207,962

Goodness-of-Fit Tests

Method	Chi-Square	DF	P
Pearson	17,0875	4	0,002
Deviance	19,7449	4	0,001

Tolerance Distribution

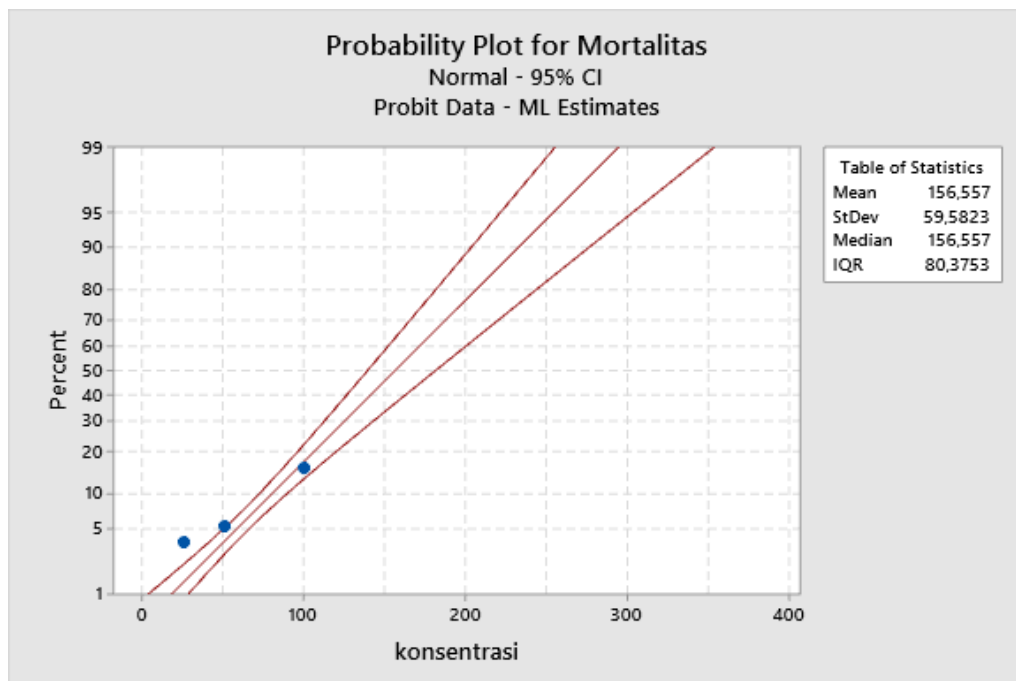
Parameter Estimates

Parameter	Estimate	Standard Error	95,0% Normal CI	
			Lower	Upper
Mean	156,557	10,3418	136,287	176,826
StDev	59,5823	6,13682	48,6907	72,9103

Table of Percentiles

Percent	Percentile	Standard Error	95,0% Fiducial CI	
			Lower	Upper
1	17,9475	6,14012	3,56341	28,4438
2	34,1896	4,97309	22,9051	42,9664
3	44,4947	4,40512	34,8255	52,5316
4	52,2468	4,10891	43,5230	59,9970
5	58,5525	3,97141	50,3832	66,2841
6	63,9197	3,93587	56,0525	71,8052
7	68,6257	3,96831	60,8907	76,7787
8	72,8393	4,04671	65,1200	81,3348
9	76,6714	4,15625	68,8868	85,5579
10	80,1989	4,28683	72,2924	89,5069
20	106,411	5,90246	96,2750	120,176
30	125,312	7,46692	112,759	143,099
40	141,462	8,92366	126,604	162,926

50	156,557	10,3418	139,433	181,570
60	171,652	11,7944	152,194	200,282
70	187,802	13,3740	165,796	220,352
80	206,702	15,2452	181,670	243,885
90	232,915	17,8671	203,633	276,574
91	236,442	18,2217	206,585	280,976
92	240,274	18,6072	209,791	285,760
93	244,488	19,0316	213,316	291,020
94	249,194	19,5061	217,252	296,896
95	254,561	20,0479	221,739	303,599
96	260,867	20,6851	227,010	311,476
97	268,619	21,4695	233,487	321,161
98	278,924	22,5137	242,095	334,039
99	295,166	24,1626	255,656	354,342



L.5.3 Hasil Uji Toksisitas Fraksi Etil Asetat

Konsentrasi (ppm)	Jumlah larva yang mati (Ekor)					Modus	%Mortalitas
	I	II	III	IV	V		
0*	0	0	0	0	0	0	0
0**	0	0	0	0	0	0	0
5	1	1	0	1	1	1	10
15	3	3	3	2	2	3	30
25	5	5	6	5	6	5	50
50	5	6	6	5	6	6	60
100	7	8	7	7	9	7	70

Keterangan: 0* kontrol pelarut

0** kontrol DMSO

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

Konsentrasi (ppm)	Jumlah hewan uji (Ekor)	%Mortalitas	Mortalitas
0*	50	0	0
0**	50	0	0
5	50	10	5
15	50	30	15
25	50	50	25
50	50	60	30
100	50	70	35

Keterangan: 0* kontrol pelarut

0** kontrol DMSO

Mortalitas = % mortalitas x jumlah hewan uji

Probit Analysis: Mortalitas; Jumlah hewan uji versus konsentrasi

Distribution: Normal

Response Information

Variable	Value	Count
Mortalitas	Event	110
	Non-event	1640
Jumlah hewan uji	Total	1750

Estimation Method: Maximum Likelihood

Regression Table

Variable	Coef	Standard Error	Z	P
Constant	-1,93247	0,0751099	-25,73	0,000
konsentrasi	0,0105719	0,0012795	8,26	0,000
Natural Response	0			

Log-Likelihood = -376,837

Goodness-of-Fit Tests

Method	Chi-Square	DF	P
Pearson	42,6552	4	0,000
Deviance	50,8990	4	0,000

Tolerance Distribution

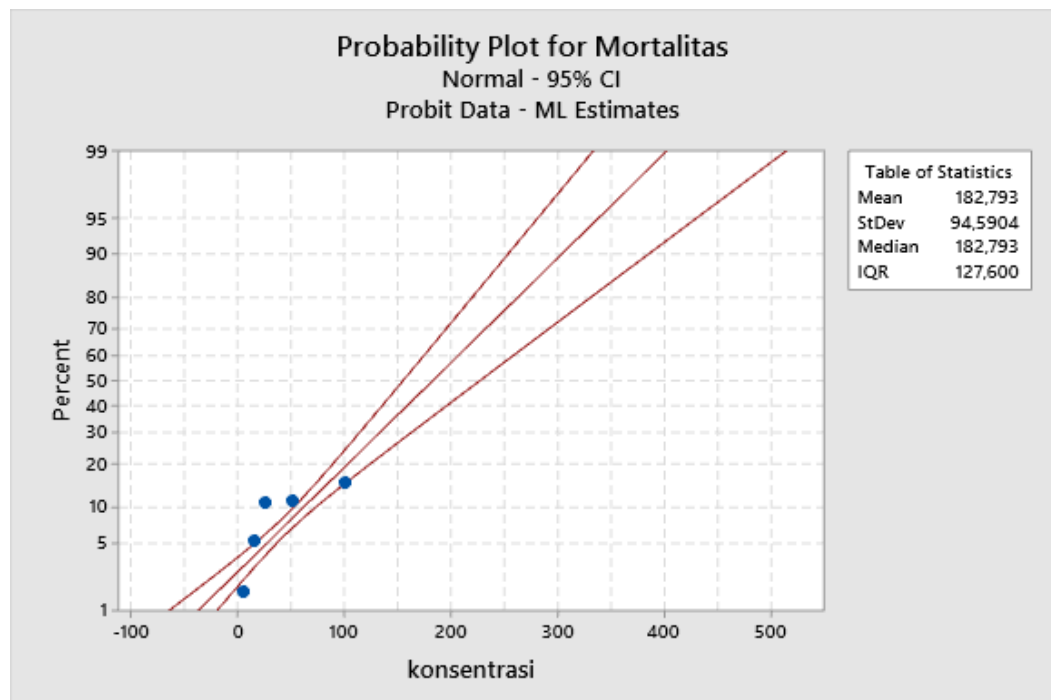
Parameter Estimates

Parameter	Estimate	Standard Error	95,0% Normal CI	
			Lower	Upper
Mean	182,793	17,4070	148,676	216,910
StDev	94,5904	11,4479	74,6156	119,913

Table of Percentiles

Percent	Percentile	Standard Error	95,0% Fiducial CI	
			Lower	Upper
1	-37,2569	10,9128	-64,6627	-19,5688
2	-11,4717	8,20185	-31,6708	2,08453
3	4,88825	6,67020	-11,1182	16,2026
4	17,1952	5,70294	3,96448	27,2012
5	27,2059	5,10499	15,8410	36,5399
6	35,7266	4,78257	25,5568	44,8816
7	43,1976	4,67202	33,7094	52,5618
8	49,8870	4,72011	40,6948	59,7528
9	55,9707	4,88143	46,7969	66,5436
10	61,5708	5,11981	52,2232	72,9852
20	103,184	8,52680	89,1399	124,257
30	133,190	11,7349	114,231	162,756
40	158,829	14,6338	135,357	195,966
50	182,793	17,4070	154,976	227,132

60	206,757	20,2160	174,525	258,369
70	232,397	23,2461	195,392	291,838
80	262,403	26,8135	219,771	331,049
90	304,016	31,7849	253,533	385,475
91	309,616	32,4554	258,073	392,803
92	315,700	33,1842	263,005	400,764
93	322,389	33,9859	268,428	409,518
94	329,860	34,8818	274,483	419,296
95	338,381	35,9040	281,387	430,448
96	348,391	37,1056	289,498	443,553
97	360,698	38,5836	299,468	459,664
98	377,058	40,5498	312,718	481,085
99	402,843	43,6512	333,598	514,851



L.5.4 Hasil Uji Toksisitas Fraksi Etanol

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

Keterangan: 0* kontrol pelarut

0** kontrol DMSO

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

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

Keterangan: 0* kontrol pelarut

0** kontrol DMSO

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

Probit Analysis: Mortalitas; Jumlah hewan uji versus konsentrasi

Distribution: Normal

Response Information

Variable	Value	Count
Mortalitas	Event	26
	Non-event	1724
Jumlah hewan uji	Total	1750

Estimation Method: Maximum Likelihood

Regression Table

Variable	Coef	Standard Error	Z	P
Constant	-2,50844	0,127689	-19,64	0,000
konsentrasi	0,0083938	0,0020259	4,14	0,000
Natural Response	0			

Log-Likelihood = -126,830

Goodness-of-Fit Tests

Method	Chi-Square	DF	P
Pearson	11,6925	4	0,020
Deviance	15,3015	4	0,004

Tolerance Distribution

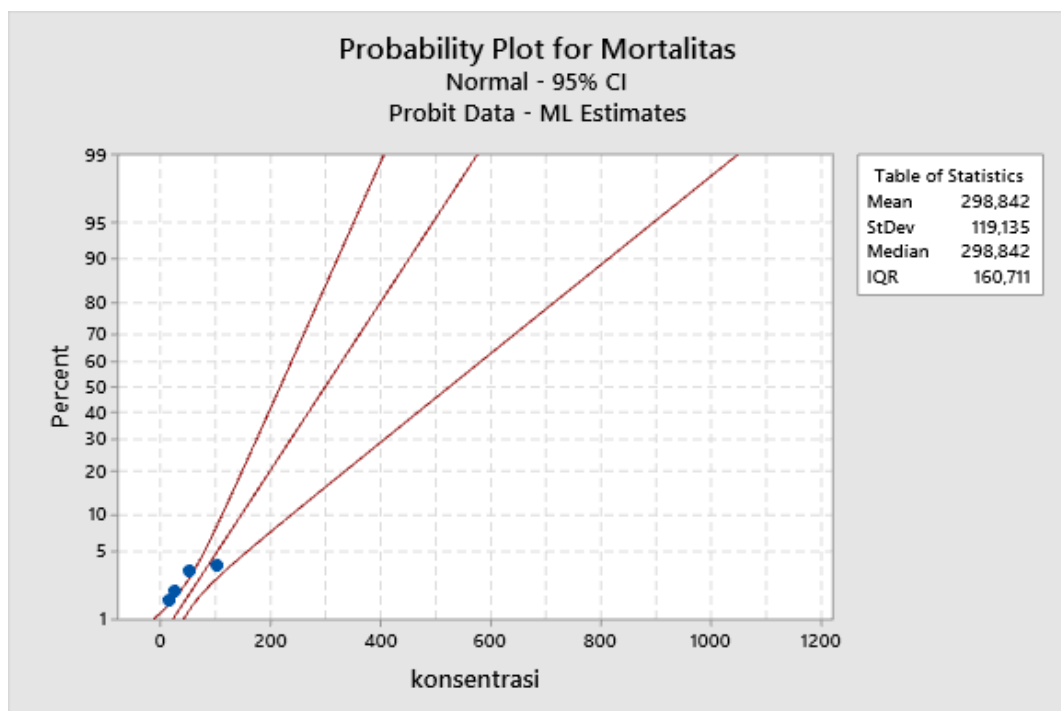
Parameter Estimates

Parameter	Estimate	Standard Error	95,0% Normal CI	
			Lower	Upper
Mean	298,842	61,0510	179,185	418,500
StDev	119,135	28,7545	74,2322	191,199

Table of Percentiles

Percent	Percentile	Standard Error	95,0% Fiducial CI	
			Lower	Upper
1	21,6932	11,6160	-13,2004	40,8306
2	54,1692	9,64253	34,1517	77,1564
3	74,7743	11,4051	55,7633	108,636
4	90,2746	13,8052	69,2344	135,103
5	102,883	16,1384	79,2954	157,528
6	113,615	18,2895	87,4908	176,984
7	123,024	20,2603	94,4934	194,226
8	131,449	22,0740	100,660	209,769
9	139,112	23,7544	106,203	223,968
10	146,165	25,3220	111,262	237,082
20	198,576	37,3422	148,098	335,289
30	236,368	46,2186	174,238	406,524
40	268,660	53,8681	196,445	467,520
50	298,842	61,0510	217,135	524,598

60	329,025	68,2555	237,783	581,719
70	361,317	75,9805	259,840	642,865
80	399,109	85,0372	285,623	714,457
90	451,520	97,6173	321,340	813,782
91	458,573	99,3116	326,144	827,152
92	466,235	101,153	331,362	841,676
93	474,661	103,177	337,099	857,648
94	484,070	105,439	343,506	875,486
95	494,802	108,018	350,812	895,831
96	507,410	111,050	359,394	919,736
97	522,910	114,778	369,943	949,125
98	543,515	119,734	383,963	988,196
99	575,992	127,549	406,056	1049,78

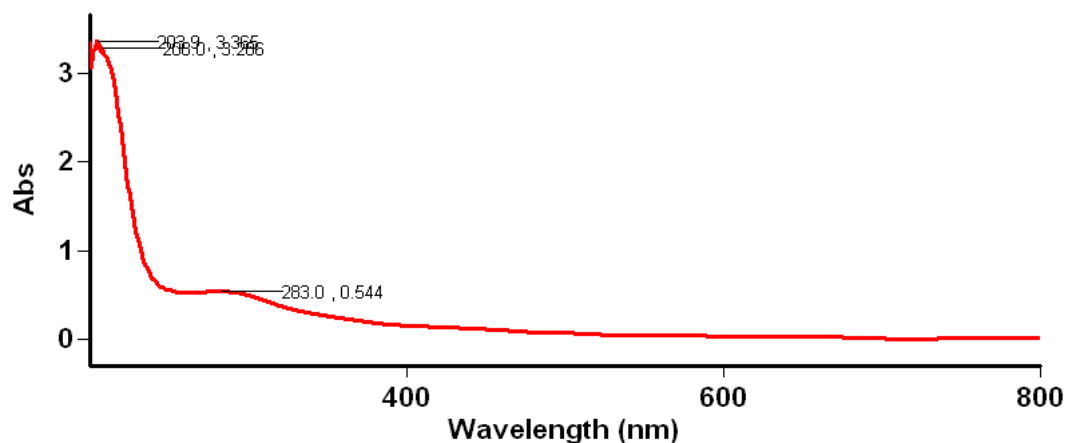


Lampiran 6. Hasil Spektra UV-Vis Ekstrak Pekat Air dan Masing-Masing Fraksi

L.6.1 Spektra Ekstrak Pekat Air Rimpang Jeringau

Lamdha Maks Ekstrak Kasar Jeringau

Tanggal Analisa : 11 Oktober 2023



Scan Analysis Report

Report Time : Wed 11 Oct 10:16:15 AM 2023

Method:

Batch: D:\Mahasiswa On Going\Finka\Lamdha Maks Ekstrak Kasar Jeringau (11-10-2023).DSW

Software version: 3.00 (339)

Operator: Rika

Sample Name: Ekstrak Kasar Jeringau

Collection Time 10/11/2023 10:16:21 AM

Peak Table

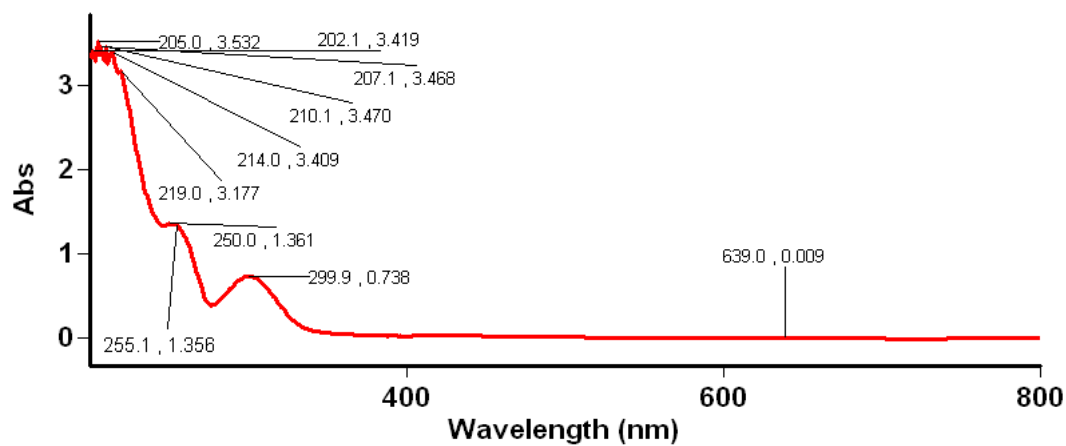
Peak Style	Peaks
Peak Threshold	0.0100
Range	800.0nm to 200.0nm
Wavelength (nm)	Abs

283.0	0.544
208.0	3.286
203.9	3.365

L.6.2 Spektra Fraksi *n*-Heksana Rimpang Jeringau

Lamdha Maks Fraksi *n*-Heksana Jeringau

Tanggal Analisa : 11 Oktober 2023



Scan Analysis Report

Report Time : Wed 11 Oct 10:18:30 AM 2023

Method:

Batch: D:\Mahasiswa On Going\Finka\Lamdha Maks Fraksi *n*-Heksana Jeringau (11-10-2023).DSW

Software version: 3.00 (339)

Operator: Rika

Sample Name: Fraksi *n*-Heksana Jeringau

Collection Time 10/11/2023 10:18:54 AM

Peak Table

Peak Style Peaks

Peak Threshold 0.0100

Range 800.0nm to 200.0nm

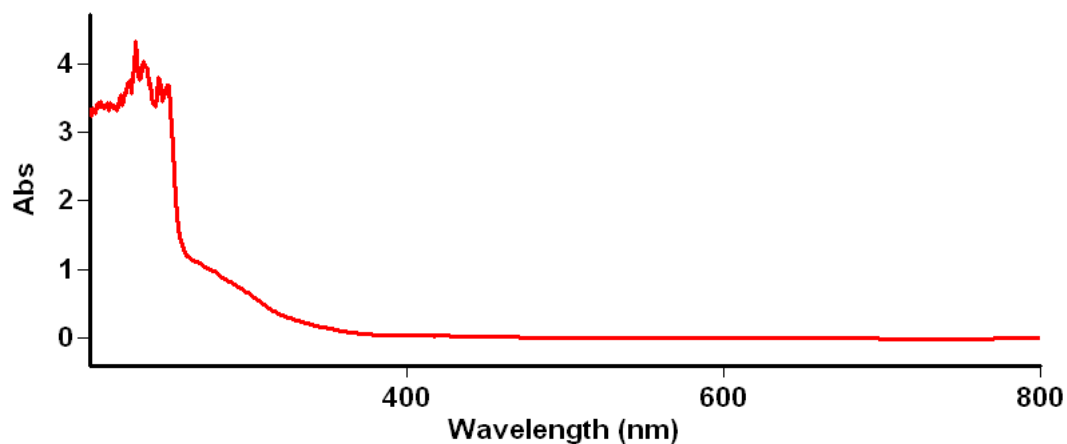
Wavelength (nm) Abs

639.0	0.009
299.9	0.738
255.1	1.356
250.0	1.361
219.0	3.177
214.0	3.409
210.1	3.470
207.1	3.468
205.0	3.532
202.1	3.419

L.6.3 Spektra Fraksi Etil Asetat Rimpang Jeringau

Lamdha Maks Fraksi EA Jeringau

Tanggal Analisa : 11 Oktober 2023



Scan Analysis Report

Report Time : Wed 11 Oct 10:22:05 AM 2023

Method:

Batch: D:\Mahasiswa On Going\Finka\Lamdha Maks Fraksi EA Jeringau (11-10-2023).DSW

Software version: 3.00 (339)

Operator: Rika

Sample Name: Fraksi EA Jeringau

Collection Time 10/11/2023 10:22:29 AM

Peak Table

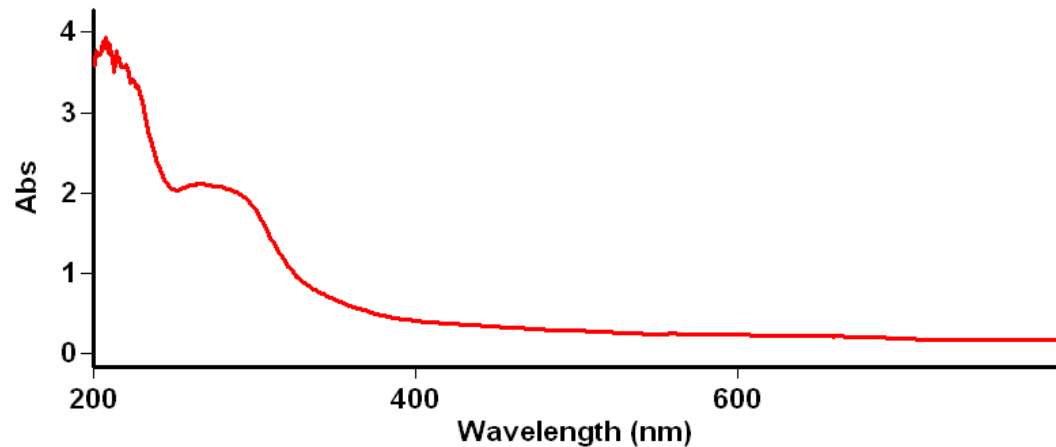
Peak Style	Peaks
Peak Threshold	0.0100
Range	800.0nm to 200.0nm
Wavelength (nm)	Abs

626.0	0.010
250.0	3.685
243.0	3.795
238.0	3.727
234.1	4.031
229.0	4.323
225.0	3.763
222.0	3.579
219.0	3.539
214.9	3.387
213.0	3.420
211.0	3.437
207.1	3.451
205.0	3.425
202.1	3.346

L.6.4 Spektra Etanol Rimpang Jeringau

Lamdha Maks Fraksi Etanol Jeringau

Tanggal Analisa : 26 September 2023



Scan Analysis Report

Report Time : Fri 15 Sep 02:21:25 PM 2023

Method:

Batch: D:\Mahasiswa On Going\Finka\Lamdha Maks Fraksi Etanol Jeringau (15-09-2023) .DSW

Software version: 3.00 (339)

Operator: Rika

Sample Name: Fraksi Etanol Jeringau

Collection Time 9/15/2023 2:21:31 PM

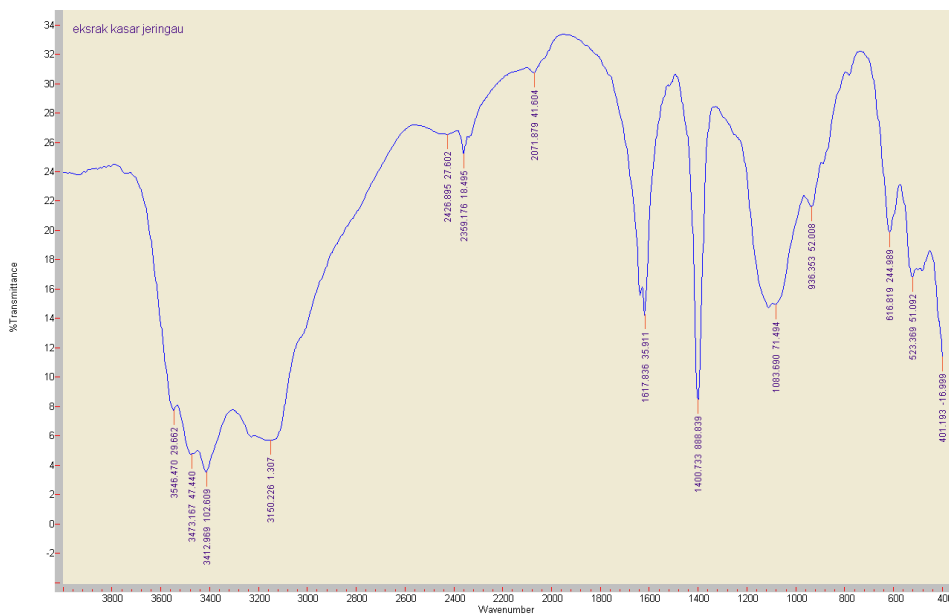
Peak Table

Peak Style	Peaks
Peak Threshold	0.0100
Range	800.0nm to 199.9nm
Wavelength (nm)	Abs

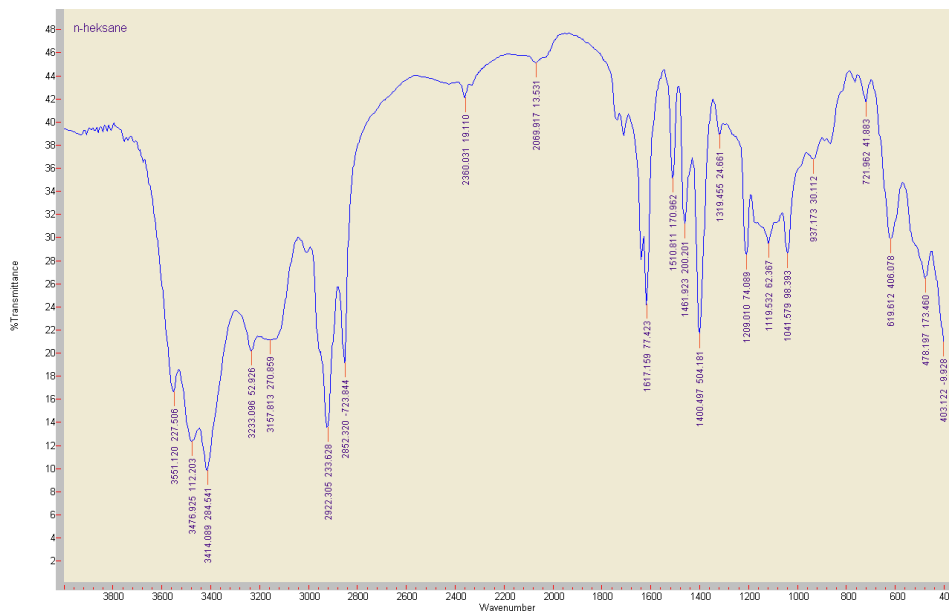
266.0	2.110
228.0	3.328
224.0	3.410
220.0	3.597
216.0	3.692
213.9	3.770
210.0	3.861
208.0	3.940
206.1	3.887
202.0	3.766

Lampiran 7. Hasil Spektra FTIR Ekstrak Peekat Air dan Masing-Masing Fraksi

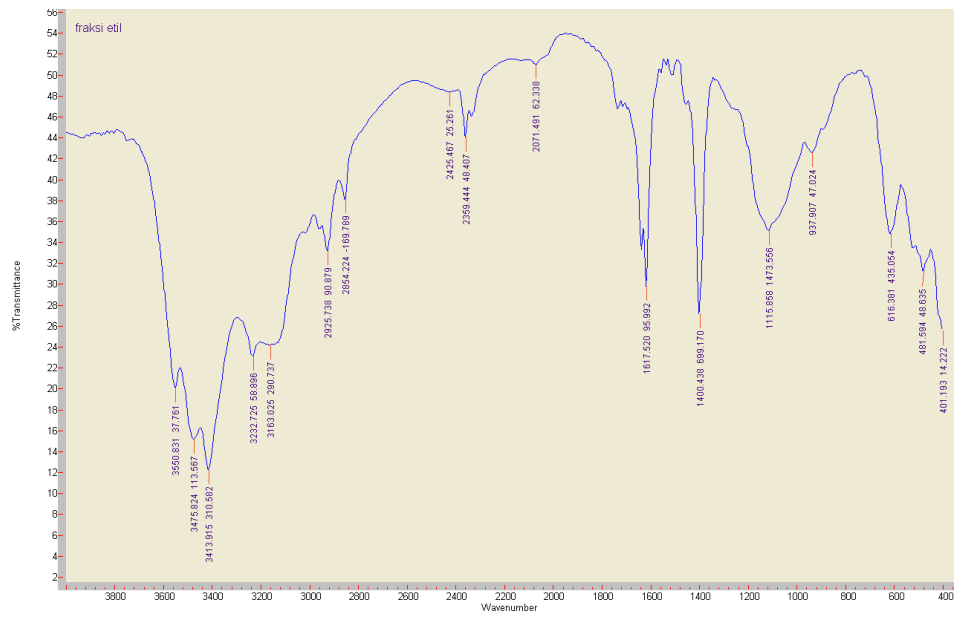
L.7.1 Spektra Ekstrak Peekat Air Rimpang Jeringau



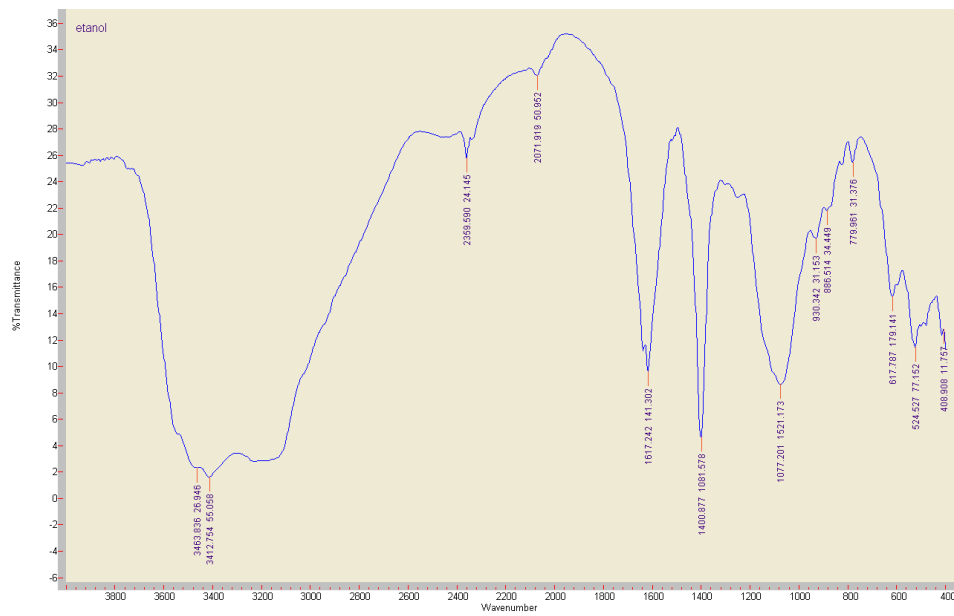
L.7.2 Spektra Fraksi *n*-Heksana



L.7.3 Spektra Fraksi Etil Asetat



L.7.4 Spektra Fraksi Etanol



Lampiran 8. Dokumentasi Penelitian

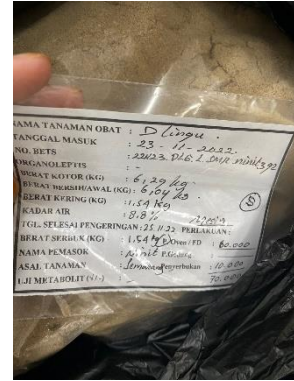
L.8.1 Preparasi Sampel



Sampel Jeringau



Pencucian sampel



penyerbukan sampel

L.8.2 Analisis Kadar Air



Pengovenan cawan kosong



Desikator cawan kosong



Pengovenan cawan+sampel



Desikator cawan + sampel



Penimbangan cawan + sampel

L.9.3 Ekstraksi Sonikasi



Penyiapan sampel 30 g



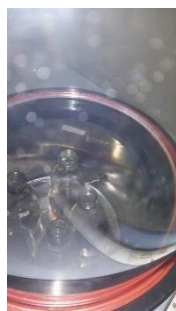
Proses pelarutan



Proses ekstraksi sonikasi



Proses penyaringan



Proses pemekatan



Hasil ekstrak pekat

L.8.4 Hidrolisis dan Partisi



Penimbangan ekstrak



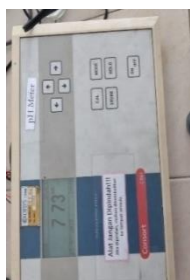
Penambahan HCl 2 N



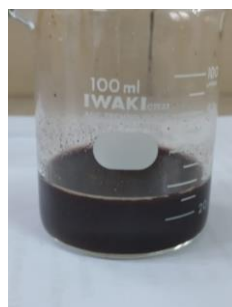
Proses hidrolisis



Sampel dalam keadaan asam



Sampel keadaan netral



Hasil hidrolisis



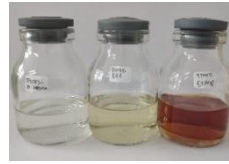
Partisi dengan *n*-heksana



Partisi dengan etil asetat



Partisi dengan etanol



Hasil partisi

L.8.5 Uji Toksisitas



Proses aerasi



Hasil pembuatan larutan stok



Pelabelan botol vial uji



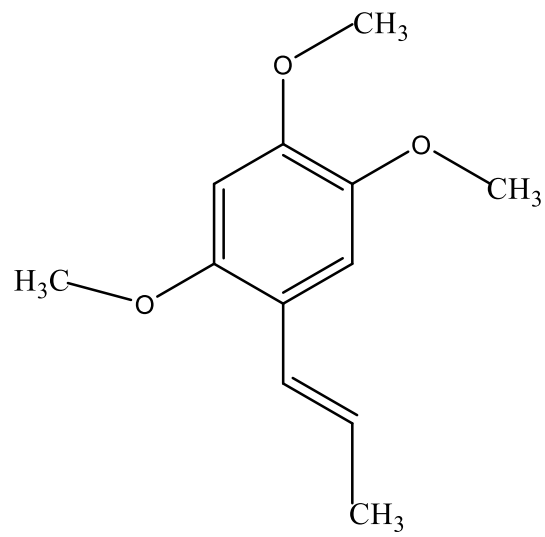
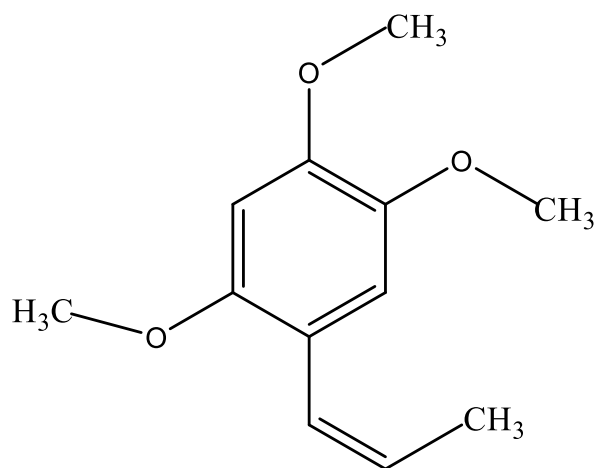
Vortex larutan



Proses memasukkan hewan uji



Proses uji toksisitas

Lampiran 9. Struktur Senyawa Komponen Minyak AtsiriStruktur α -asaroneStruktur β -asarone

Lampiran 10. Nilai Indeks Polaritas Pelarut

Solvents	$t_{mp}/^{\circ}\text{C}^{(c)}$	$t_{bp}/^{\circ}\text{C}^{(d)}$	$\epsilon_r^{(e)}$	$\mu \cdot 10^{30}/\text{Cm}^3$	$n_D^{20(g)}$	$E_T^{N(h)}$
(1) Water	0.0	100.0	78.36	6.2	1.3330	1.000
(2) 1,2-Ethandiol ⁽ⁱ⁾	-12.6	197.5	37.70	7.7	1.4318	0.790
(3) Formamide	2.55	210.5	109.50	11.2	1.4475	0.775
(4) Methanol ^(b)	-97.7	64.5	32.66	9.6	1.3284	0.762
(5) <i>N</i> -Methylformamide	-3.8	200	182.40	12.9	1.4319	0.722
(6) Diethylene glycol	-7.8	245.7	31.69 (20 °C)	7.7	1.4475	0.713
(7) Triethylene glycol	-4.3	288.0	23.69 (20 °C)	10.0	1.4558	0.682
(8) Tetraethylene glycol	-6.2	327.3	19.7	10.8	1.4577	0.664
(9) 2-Methoxyethanol	-85.1	124.6	16.93	6.8	1.4021	0.657
(10) <i>N</i> -Methylacetamide ^(b)	30.6	206.7	191.3 (32 °C)	12.8	1.4253 (35 °C)	0.657
(11) Ethanol ^(b)	-114.5	78.3	24.55	5.5	1.3614	0.654
(12) 2-Aminoethanol	10.5	170.9	37.72	7.6	1.4545	0.651
(13) Acetic acid	16.7	117.9	6.17 (20 °C)	5.6	1.3719	0.648
(14) 1-Propanol ^(m)	-126.2	97.2	20.45	5.5	1.3856	0.617
(15) Benzyl alcohol	-15.3	205.4	12.7	5.5	1.5404	0.608
(16) 1-Butanol	-88.6	117.7	17.51	5.8	1.3993	0.586
(17) 1-Pentanol	-78.2	138.0	13.9	5.7	1.4100	0.568
(18) 3-Methyl-1-butanol	-117.2	130.5	15.19	6.1	1.4072	0.565
(19) 2-Methyl-1-propanol	-108.2	107.9	17.93	6.0	1.3959	0.552
(20) 2-Propanol ^(m)	-88.0	82.2	19.92	5.5	1.3772	0.546
(21) Cyclohexanol	25.15	161.1	15.0	6.2	1.4648 (25 °C)	0.509
(22) 2-Butanol	-114.7	99.5	16.56	5.5	1.3971	0.506
(23) 2-Pentanol	-50	119.0	13.71	5.5	1.4064	0.488
(24) Nitromethane ⁽ⁿ⁾	-28.55	101.2	35.87	12.0	1.3819	0.481
(25) Propylene carbonate ^(b)	-54.5	241.7	64.92	16.5	1.4215	0.472
(26) 3-Pentanol	-8	115.3	13.35	5.5	1.4104	0.463
(27) Acetonitrile ^(b)	-43.8	81.6	35.94	13.0	1.3441	0.460
(28) Dimethyl sulfoxide ^(b)	18.5	189.0	46.45	13.5	1.4793	0.444
(29) Aniline	-6.0	184.4	6.98	5.0	1.5863	0.420
(30) Sulfolane ^(b)	28.45	287.3	43.3 (30 °C)	16.0	1.4816 (30 °C)	0.410
(31) Acetic anhydride	-73.1	140.0	20.63	9.4	1.3904	0.407
(32) Propanenitrile	-92.8	97.3	28.26	13.4	1.3658	0.398
(33) 2-Methyl-2-propanol ^(m)	25.6	82.3	12.47	5.5	1.3877	0.389
(34) <i>N,N</i> -Dimethylformamide (DMF) ^(b)	-60.4	153.1	36.71	12.7	1.4305	0.386

Solvents	$t_{mp}/^{\circ}\text{C}^{(s)}$	$t_{bp}/^{\circ}\text{C}^{(d)}$	$\epsilon_r^{(e)}$	$\mu \cdot 10^{30}/\text{Cm}^3$	$n_D^{20\#}$	$E_T^{N(b)}$
(35) <i>N,N</i> -Dimethylacetamide (DMAC)	-20.1	166.1	37.78	12.4	1.4384	0.377
(36) 1,3-Dimethylimidazolidin-2-one, (DMEU) ^(a)	-8.2	225.5	37.60	13.6	1.4707 (25 °C)	0.364
(37) 1-Methylpyrrolidin-2-one ^(b)	-24.4	202	32.2	13.6	1.4700	0.355
(38) Acetone ^(a)	-94.7	56.1	20.56	9.0	1.3587	0.355
(39) 1,3-Dimethyl-2-oxohexahydropyrimidine (DMPU) ^(a)	-23.8	246.5	36.12	14.1	1.4881 (25 °C)	0.352
(40) 1,2-Diaminoethane ^(b)	11.3	116.9	12.9	6.3	1.4568	0.349
(41) Cyanobenzene ^(a)	-12.7	191.1	25.20	13.9	1.5282	0.333
(42) 1,2-Dichloroethane ^(a)	-35.7	83.5	10.36	6.1	1.4448	0.327
(43) 2-Butanone	-86.7	79.6	18.11	9.2	1.3788	0.327
(44) Nitrobenzene	5.8	210.9	34.78	14.0	1.5562	0.324
(45) 2-Pentanone	-76.9	102.3	15.38 (20 °C)	9.0	1.3908	0.321
(46) 2-Methyl-2-butanol	-8.8	102.0	5.78	5.7	1.4050	0.318
(47) Morpholine	-4.8	129.0	7.42	5.2	1.4542	0.318
(48) Tetramethylurea ^(a)	-1.2	175.3	23.60	11.6	1.4493 (25 °C)	0.315
(49) Hexamethylphosphoric triamide (HMPT) ^(b)	7.3	233	29.30	18.5	1.4588	0.315
(50) 3-Methyl-2-butanone	-92.2	94.9	15.87 (30 °C)	9.2	1.3880	0.315
(51) Dichloromethane ^(a)	-94.9	39.6	8.93	3.8	1.4242	0.309
(52) Acetophenone	19.7	202.0	17.39	9.8	1.5342	0.306
(53) Pyridine ^(b)	-41.5	115.3	12.91	7.9	1.5102	0.302
(54) Cyclohexanone	-32.1	155.7	15.50	10.3	1.4510	0.281
(55) 4-Methyl-2-pentanone	-84.2	117.5	13.11 (20 °C)	9.0	1.3958	0.269
(56) 1,1-Dichloroethane ^(a)	-97.0	57.4	10.0 (18 °C)	6.1	1.4164	0.269
(57) Quinoline	-14.9	237.2	8.95	7.3	1.6273	0.269
(58) 3-Pentanone	-39.0	102.0	17.00 (20 °C)	9.4	1.3923	0.265
(59) Trichloromethane	-63.6	61.2	4.89	3.8	1.4459	0.259
(60) 3,3-Dimethyl-2-butanone	-52.5	105.9	12.60	9.2	1.3952	0.256
(61) Methyl acetate	-98.1	56.9	6.68	5.6	1.3614	0.253
(62) Triethylene glycol dimethyl ether	-45	216	7.6	7.4	1.4224	0.253
(63) 2,4-Dimethyl-3-pentanone	-69.0	125.3	17.2 (20 °C)	9.1	1.3999	0.247
(64) Diethylene glycol dimethyl ether	-64.0	162.0	5.8	6.6	1.4078	0.244
(65) 1,2-Dimethoxyethane ^(a)	-69.2	84.6	7.20	5.7	1.3796	0.231
(66) Ethyl acetate	-83.6	77.2	6.02	5.9	1.3724	0.228
(67) 1,2-Dichlorobenzene	-17.1	180.5	9.93	8.3	1.5515	0.225
(68) 2,6-Dimethyl-4-heptanone	-46.0	168.2	9.91 (20 °C)	8.9	1.4122	0.225
(69) Diethylene glycol diethyl ether	-44.3	188.9	5.70	6.6	1.4115	0.210

Solvents	$t_{mp}/^{\circ}\text{C}^{(e)}$	$t_{bp}/^{\circ}\text{C}^{(d)}$	$\epsilon_r^{(e)}$	$\mu \cdot 10^{30}/\text{Cm}^{\text{D}}$	$n_D^{20^{\circ}\text{g}}$	$E_T^{N(b)}$
(70) Tetrahydrofuran ^{a)}	-108.4	66.0	7.58	5.8	1.4072	0.207
(71) Methoxybenzene	-37.5	153.7	4.33	4.2	1.5170	0.198
(72) Fluorobenzene	-42.2	84.8	5.42	4.9	1.4684 (15 °C)	0.194
(73) 1,1-Dichloroethene	-122.6	31.6	4.82 (20 °C)	4.3	1.4247	0.194
(74) Chlorobenzene	-45.6	131.7	5.62	5.6	1.5248	0.188
(75) Diethyl carbonate	-43.0	126.9	2.82 (20 °C)	3.0	1.3837	0.185
(76) Bromobenzene	-30.9	156.0	5.40	5.2	1.5568	0.182
(77) Ethoxybenzene	-29.6	169.9	4.22 (20 °C)	4.5	1.5074	0.182
(78) Iodobenzene	-31.4	188.4	4.49 (20 °C)	4.7	1.6200	0.170
(79) 1,1,1-Trichloroethane	-30.4	74.1	7.25 (20 °C)	5.7	1.4380	0.170
(80) 1,4-Dioxane ^{a)}	11.8	101.3	2.21	1.5	1.4224	0.164
(81) Trichloroethene	-86.4	87.2	3.42 (16 °C)	2.7	1.4773	0.160
(82) Piperidine	-10.5	106.3	5.8 (20 °C)	4.0	1.4525	0.148
(83) Diethylamine	-49.8	55.5	3.78	4.0	1.3846	0.145
(84) Diphenyl ether	26.9	258.1	3.60	3.9	1.5763 (30 °C)	0.142
(85) <i>t</i> -Butyl methyl ether	-108.6	55.2	4.5 (20 °C)	4.1	1.3690	0.124
(86) Diethyl ether	-116.3	34.5	4.20	3.8	1.3524	0.117
(87) Benzene ^{b)}	5.6	80.1	2.27	0.0	1.5011	0.111
(88) Di- <i>n</i> -propyl ether	-123.2	90.1	3.39 (26 °C)	4.4	1.3805	0.102
(89) Toluene ^{b)}	-95.0	110.6	2.38	1.0	1.4969	0.099
(90) 1,4-Dimethylbenzene	13.3	138.4	2.27 (20 °C)	0.0	1.4958	0.074
(91) Di- <i>n</i> -butyl ether	-95.2	140.3	3.08 (20 °C)	3.9	1.3992	0.071
(92) Carbon disulfide ^{a)}	-111.6	46.3	2.64 (20 °C)	0.0	1.6275	0.065
(93) Tetrachloromethane	-22.9	76.7	2.24	0.0	1.4602	0.052
(94) Triethylamine	-114.7	88.9	2.42 (20 °C)	2.2	1.4010	0.043
(95) Tri- <i>n</i> -butylamine	-70.0	214.1	2.29	2.6	1.4291	0.043
(96) <i>cis</i> -Decahydronaphthalene	-43.1	195.8	2.20 (20 °C)	0.0	1.4810	0.015
(97) <i>n</i> -Heptane	-90.6	98.5	1.92 (20 °C)	0.0	1.3876	0.012
(98) <i>n</i> -Hexane	-95.4	68.7	1.88	0.0	1.3749	0.009
(99) <i>n</i> -Pentane	-129.8	36.1	1.84 (20 °C)	0.0	1.3575	0.009
(100) Cyclohexane	6.8	80.8	2.02 (20 °C)	0.0	1.4262	0.006