

UJI TOKSISITAS EKSTRAK DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) TERHADAP LARVA UDANG *Artemia salina* Leach DENGAN METODE BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BSLT)

SKRIPSI

**Oleh:
Nur Jazilah
NIM.07630048**



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK
IBRAHIM MALANG
2014**

UJI TOKSISITAS EKSTRAK DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) TERHADAP LARVA UDANG *Artemia salina* Leach DENGAN METODE BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BSLT)

SKRIPSI

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

Oleh:

**NUR JAZILAH
NIM. 07630048**

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN) MAULANA MALIK
IBRAHIM MALANG
2014**

SURAT PERNYATAAN ORISINIL PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nur Jazilah
NIM : 07630048
Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/Kimia
Judul Penelitian : Uji Toksisitas Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cardifiola* (Ten) Steenis) Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa hasil penelitian saya ini tidak terdapat unsur-unsur penjiplakan karya penelitian atau karya ilmiah yang pernah dilakukan atau dibuat oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah atau disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata hasil penelitian ini terbukti terdapat unsur-unsur jiplakan, maka saya bersedia untuk mempertanggung jawabkan, serta diproses sesuai peraturan yang berlaku.

Malang, 04 Juli 2014

Yang Membuat Pernyataan,

Nur Jazilah
NIM. 07630048

UJI TOKSISITAS EKSTRAK DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) TERHADAP LARVA UDANG *Artemia salina* Leach DENGAN METODE BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BSLT)

SKRIPSI

Oleh:
Nur Jazilah
NIM.07630048

Telah disetujui oleh:

Pembimbing Utama

Pembimbing Agama

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

Ahmad Abtokhi, M.Pd
NIP.19761003 200312 1 004

Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang

Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP.1979020 200604 2 002

UJI TOKSISITAS EKSTRAK DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) TERHADAP LARVA UDANG *Artemia salina* Leach DENGAN METODE BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BSLT)

SKRIPSI

Oleh:
Nur Jazilah
NIM.07630048

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

Malang,

Susunan Dewan Penguji	Tanda Tangan
1. Penguji Utama : Tri Kustono Adi, M.Sc NIP. 19710311 200312 1 002	()
2. Ketua : Ahamad Hanapi, M.Sc NIPT. 20140201 1 422	()
3. Sekretari : A. Ghanaim Fasya, M.Si NIP. 19820616 200604 1 002	()
4. Anggota : Ahmad Abtokhi, M.Pd NIP. 19761003 200312 1 004	()

**Mengetahui dan Mengesahkan,
Ketua Jurusan Kimia**

Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 1979020 200604 2 002

HALAMAN PESEMBAHAN

Ananda persembahkan karya kecil ini:

Sebagai rasa syukur atas kehadiran Illahi Robbi yang telah memberikan segala rahmat, taufiq, hidayah serta inayah-Nya; kepada junjungan Nabi Muhammad SAW yang telah menuntun umatnya mencari sebuah kebenaran hakiki.

Ibuda tercinta Nursi'ah dan Ayahanda tersayang Khundori. Engkaulah Malaikatku yang dikirim Allah, Sungguh jasa-jasamu tak akan terbalas oleh apapun, ananda haturkan banyak terima kasih atas semuanya.

Doa tulus yang kau kepada ananda seperti air yang tak pernah berhenti yang terus mengalir, pengorbanan, motivasi, kesabaran, ketabahan dan tetes air mata dalam keheningan malam dalam setiap do'anya yang terlalu mustahil untuk dinilai, walaupun jauh, engkaulah sebaik-baik panutan meski tidak selalu sempurna.

Keluarga besarku khususnya kakak, mbak dan adikku tersayang (M. Isa, Zumrotun, Aisyah Nur 'Aqilah, Nailil Magfiroh dan Faizah) Terimakasih atas Kebersamaan, dukungan, doa, kasih sayang, dan perhatian kalian yang menjadikanku kuat menghadapi segala kesulitan.

“Om Rose” terimakasih atas segala dukunganmu yg secara tak langsung memberikan semangat tersendiri buatku, semoga engkau menjadi yang terbaik.

Keluarga besar Kimia (Bpk-Ibu Dosen dan Staf), Terimakasih atas Doa, bimbingan, Kasih sayang yang telah berkenan mendidik ananda sehingga ananda bisa seperti saat ini, dapat menyelesaikan Skripsi dan mendapatkan Ilmu Yang Bermanfaat.

Pak Ghanaim, terimakasih atas kesabaran serta segala pengertiannya selama membimbing dan dalam mengiringi perjalananku di kampus ini.

Teman-teman angkatan '07 semoga kita tetap menjaga silaturahmi selamanya.

Indah n' Mila terimakasih atas kebersamaannya selama ini, kalian berdua akan selalu jadi sahabat TeloQ. Wilda enkau sahabat seperjuangan yang tak pernah lelah menemaniku. Kini perjuangan panjang yang telah kita lalui telah menui hasil akhirnya. Petualangan baru telah menati kita wil.

“Pantang menyerah untuk mengapai cita-cita”

Rekan-rekan diLab (Dinar, Zahra, Putri, Ferry, Ihya', Alfin, As'ad dan Wilda lagi) terimakasih atas motivasi, sharing, semangat dan kerjasamanya.

Kelauraga besarku dimalang, keluarga Joyo Suko (k' Mimin, Chibon, k' Neli, Maonk, k' Bagus, k' Jazil, k' Duki, Nungma, Khifa, Erli, Chusnul, Ainun, Fujo dan Faiz)

Serta keluarga Asrama Wargadinata (nenk Opik, mb' Icha, Ningrum, d' Phi2, mb' Ifa, Maya, mb' Elli, mb' Cun, Fitri, Mifta, Mira, Erika, Ariani, Bella, Qut, Ika, Atus, Dj, Lauren, Hani dan Lila) terimakasih atas kebersamaan, canda tawa, pengalaman dan semangat yang kalian berikan takkan pernah tergantikan.

Kakak”ku yang sekarang menempati sanggar tercinta RACANA PRAMUKA UIN MALIKI Malang, sekarang sanggar itu jadi rumah kedua kalian, rawat ia baik” jangan sampai ternodai oleh apapun itu, berat hati untuk meninggalkan kalian. Karena kalianlah aku masih tetap bersemangat.

Meski aku sudah jarang lagi menginjakkan kakiku kesanggar tapi aku harap selalu diberi kabar keadaan Racana maupun kegiatan”nya. Aku akan selalu menunggu kabar untuk pendakian.

**“SATYAKU KUDHAMAKAN DHARMAKU
KUBHAKTIKAN”**

MOTTO

وَعَسَىٰ أَنْ تُحِبُّوا شَيْئًا وَهُوَ شَرٌّ لَّكُمْ ۗ وَاللَّهُ يَعْلَمُ وَأَنْتُمْ لَا تَعْلَمُونَ ﴿٢١٦﴾

“boleh Jadi kamu membenci sesuatu, Padahal ia Amat baik bagimu, dan boleh Jadi (pula) kamu menyukai sesuatu, Padahal ia Amat buruk bagimu; Allah mengetahui, sedang kamu tidak mengetahui.”

(QS. al-Baqarah, 2: 216)

خير الناس انفعهم الناس

“sebaik-baik manusia adalah yang bermanfaat bagi sesama”

my life my adventurer

KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Alhamdulillah, Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayahnya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul **"Uji Toksisitas Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality (BSLT)"** dapat terselesaikan. Sholawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada manusia paling sempurna yakni baginda Rasulullah yang telah menjadi suri tauladan bagi kita semua.

Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada semua pihak yang telah memberikan kontribusi baik dukungan moral maupun spiritual demi suksesnya penyusunan skripsi ini, antara lain:

1. Prof. Dr. Mudjia Rahardjo selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang beserta stafnya.
2. Dr. Hj. Bayyinatul M, drh, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Maulana Maliki Ibrahim Malang.
3. Elok Kamilah Hayati, M.Si selaku Ketua Jurusan Kimia dan semua dosen Kimia, terimakasih telah memberikan ilmunya dan segala waktunya untuk *sharing* dan masukan, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan lancar.
4. A. Ghanaim Fasya, M.Si dan Ahmad Abtokhi, M.Pd selaku dosen pembimbing, serta Rachmawati Ningsih, M.Si selaku dosen konsultan,

terimakasih atas kesediaan dan keikhlasannya meluangkan waktu untuk membimbing, mengarahkan, memberi motivasi penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

5. Tri Kustono Adi, M.Sc dan Ahmad Hanapi, M.Sc selaku dosen penguji, terimakasih atas kesediaan dan keikhlasannya meluangkan waktu untuk menguji, membimbing, mengarahkan, dan memberi motivasi penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
6. Segenap Dosen Fakultas Sains dan Teknologi yang telah banyak memberikan ilmunya kepada kami.
7. Seluruh staf Laboratorium dan Administrasi Jurusan Kimia atas seluruh bantuan selama penyelesaian skripsi ini.
8. Kedua orang tuaku dan seluruh keluarga besar yang penuh kasih sayang dan senantiasa memberikan dukungan, semangat dan do'anya.
9. Teman-teman kimia teruntuk angkatan 2007 yang telah berbagi kebersamaannya selama ini dalam senang maupun susah sehingga tetap terjaga persaudaraan.
10. Teman-teman seperjuangan di Laboratorium semoga hasil penelitian kita dapat bermanfaat untuk masyarakat. Tetap semangat pantang menyerah.
11. Keluarga besar UKM PRAMUKA Unit UIN Maliki Malang, keluarga Joyo Suko dan keluarga besar Asrama Wargadinata yang telah memberikan banyak pengalaman dan membagi kebersamaan sehingga terasa persaudaan kita selamanya.

12. Semua rekan-rekan dan semua pihak yang tak dapat penulis sebutkan satu persatu atas segala bantuanya kepada penulis.

Semoga Allah SWT memberikan balasan kebaikan dunia dan akhirat, atas segala bantuan yang telah diberikan kepada penulis, amin

Dalam penulisan skripsi ini, penulis menyadari sepenuhnya bahwasanya masih banyak kekurangan-kekurangan dan masih jauh dari kesempurnaan. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi penulis khususnya dan pembaca pada umumnya terutama dalam bidang kimia, amin.

Malang, 04 Juli 2014

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman Judul	ii
Halaman Orisinalitas.....	iii
Halaman Persetujuan	iv
Halaman Pengesahan.....	v
Halaman Persembahan.....	vi
Motto	viii
Kata Pengantar	ix
Daftra Isi	xii
Daftar Gambar	xiv
Daftar Tabel.....	xv
Daftar Lampiran	xvi
Abstrak.....	xvii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	7
1.3 Tujuan Penelitian	7
1.4 Batasan Masalah.....	8
1.5 Manfaat Penelitian	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Pemanfaatan Tanaman Obat dalam Perspektif Islam.....	9
2.2 Tanaman Binahong (<i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis)	12
2.3 Ekstraksi Senyawa Aktif	16
2.4 Uji Toksisitas Terhadap Larva Udang (<i>Artemia salina</i> Leach).....	20
2.5 Uji Fitokimia Senyawa Aktif Daun Binahong	25
2.5.1 Alkoloid.....	25
2.5.2 Flavonoid.....	26
2.5.3 Tanin.....	27
2.5.4 Triterpenoid	28
2.5.5 Steroid	30
2.5.6 Saponin.....	31
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	33
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	33
3.2.1 Alat Penelitian	33
3.2.2 Bahan Penelitian.....	33
3.3 Tahapan-tahapan Penelitian	34
3.4 Pelaksanaan Penelitian	34
3.4.1 Analisa Kadar Air.....	34
3.4.2 Preparasi Sampel	35
3.4.3 Ekstraksi Senyawa Aktif dengan Metode Maserasi	35
3.4.4 Uji Toksisitas dengan Larva Udang <i>Artemia salina</i> Leach	36

3.4.4.1 Penetasan Telur.....	36
3.4.4.2 Uji Toksisitas	37
3.4.5 Uji Fitokimia dengan Uji Reagen.....	38
3.4.5.1 Uji Alkoloid	38
3.4.5.2 Uji Flavonoid	38
3.4.5.3 Uji Tanin	39
3.4.5.3.1 Uji dengan FeCl ₃	39
3.4.5.3.2 Uji dengan Larutan Gelatin.....	39
3.4.5.4 Uji Saponin	39
3.4.5.5 Uji Triterpenoid dan Steroid	39
3.5 Analisis Data	40
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Analisis Kadar Air.....	41
4.2 Preparasi Sampel.....	42
4.3 Ekstraksi Maserasi	43
4.4 Uji Toksisitas Menggunakan Larva Udang <i>Artemia salina</i> Leach	46
4.4.1 Penetasan Telur	46
4.4.2 Uji Toksisitas	48
4.5 Uji Fitokimia dengan Reagen	51
4.5.1 Uji Alkoloid	53
4.5.2 Uji Flavonoid	54
4.5.3 Uji Tanin	56
4.5.4 Uji Saponin	59
4.5.5 Uji Triterpenoid dan Steroid	60
4.6 Pemanfaatan Hasil Penelitian Tanaman Obat dalam Perspektif Islam	61
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	67
5.2 Saran.....	67
DAFTAR PUSTAKA	68
LAMPIRAN-LAMPIRAN	75

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman Binahong	16
Gambar 2.2 Kista <i>Artemia Salina</i>	22
Gambar 2.3 <i>Artemia salina</i>	23
Gambar 2.4 Struktur Inti Senyawa Alkoloid	26
Gambar 2.5 Struktur Senyawa Flavonoid	27
Gambar 2.6 Struktur Senyawa Triterpenoid	29
Gambar 2.7 Struktur Inti Senyawa Steroid	30
Gambar 2.8 Struktur Inti Senyawa Saponin.....	32
Gambar 4.1 Siklus Penetasan <i>Artemia salina</i> L.....	47
Gambar 4.2 Kurva Mortalitas Larva Udang <i>Artemia salina</i> L. Ekstrak n-heksana	49
Gambar 4.3 Kurva Mortalitas Larva Udang <i>Artemia salina</i> L. Ekstrak Etil asetat.....	49
Gambar 4.4 Kurva Mortalitas Larva Udang <i>Artemia salina</i> L. Ekstrak Etanol	50
Gambar 4.5 Reaksi Dugaan antara Alkoloid dengan Pereaksi Dragendoff	54
Gambar 4.6 Reaksi Dugaan antara Alkoloid dengan pereaksi Mayer	54
Gambar 4.7 Reaksi Dugaan antara Flavonoid dengan Serbuk Mg dan HCl Pekat	55
Gambar 4.8 Reaksi Dugaan antara Tanin dengan $FeCl_3$	57
Gambar 4.9 Reaksi Dugaan antara Tanin dengan Gelatin	59

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Hasil Maserasi Serbuk Daun Binahong (<i>Anredera cordifolia</i> (Ten) Steenis)	45
Tabel 4.2 Hasil Nilai LC ₅₀ pada Masing-masing Ekstrak.....	51
Tabel 4.3 Hasil Pengamatan Uji Fitokimia dengan Reagen Ekstrak Etanol.....	52



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Skema Kerja	75
Lampiran 2 Perhitungan Konsentrasi Larutan Ekstrak Untuk Uji Toksisitas...	80
Lampiran 3 Perhitungan dan Pembuatan Reagen dan Larutan	83
Lampiran 4 Data Pengukuran Kadar Air Sampel Daun Binahong	86
Lampiran 5 Perhitungan Rendemen.....	88
Lampiran 6 Data Kematian Larva dan Perhitungan LC ₅₀ Uji Toksisitas Masing-masing Ekstrak	89
Lampiran 7 Dokumentasi Penelitian.....	98



ABSTRAK

Jazilah, Nur. 2014. **UJI TOKSISITAS EKSTRAK DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) TERHADAP LARVA UDANG *Artemia salina* Leach DENGAN METODE BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BSLT).** Pembimbing I: Ahmad Ghanaim Fasya, M.Si. Pembimbing II: Ahmad Abtokhi, M.Pd. Konsultan: Rachmawati Ningsih, M.Si

Kata Kunci: Binahong, *Artemia salina* Leach, Uji Toksisitas dan BSLT.

Daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) adalah bagian dari tanaman obat potensial yang dapat mengatasi berbagai jenis penyakit termasuk sebagai obat antikanker. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk: (1) Mengetahui tingkat toksisitas masing-masing ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dalam tiap pelarut n-heksana, etil asetat dan etanol terhadap tingkat mortalitas larva udang *Artemia salina* Leach. (2) Mengetahui golongan senyawa yang terdapat dalam ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dengan toksisitas yang terbaik.

Penelitian dilakukan dengan mengekstraksi sampel dengan pelarut n-heksana yang dilanjutkan dengan pelarut etil asetat dan etanol. Ekstrak pekat yang diperoleh digunakan untuk uji toksisitas terhadap larva udang BSLT dan uji fitokimia dengan reagen. Data kematian *Artemia salina* dianalisis dengan analisis probit untuk mengetahui nilai LC_{50} .

Hasil dari penelitian menunjukkan pada masing-masing ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) memiliki tingkat toksisitas terhadap larva udang *Artemia salina* Leach, ditunjukkan dengan nilai $LC_{50} < 1000$ ppm. Tingkat toksisitas ekstrak etanol, ekstrak etil asetat dan ekstrak n-heksana yaitu dengan nilai LC_{50} sebesar 7,35702 ppm, 106,992 ppm dan 175,800 ppm. Pada ekstrak etanol dilakukan uji fitokimia dengan reagen yaitu adanya golongan senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, triterpenoid/steroid dan saponin. Golongan senyawa-senyawa tersebut yang menunjukkan adanya potensi bioaktivitas terhadap larva udang *Artemia salina* Leach.

ABSTRACT

Jazilah, Nur. 2014. **TOXICITY TEST EXTRACT BINAHONG LEAF (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) AGAINST *Artemia salina* Leach USING Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)**. Supervisor I: A. Ghanaim Fasya, M.Sc. Supervisor II: Ahmad Abtokhi, M.Pd. Consultant: Rachmawati Ningsih, M.Si

Key word: *Anredera cordifolia* (Ten) Steenis, *Artemia salina* Leach, Toxicity Test and BSLT.

Binahong leaf (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) is part of a drugs plants potency that can cure many kind of illnes include as drug anticancer. This risset have whit the goal for: (1) To know toxicity level of each extract binahong leaf (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) in each solvent n-hexane, ethyl acetate and ethanol for level mortality larva shrimp *Artemia salina* Leach. (2) To Know a level of compounds that there are into extract binahong leaf (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) with the best toxicity.

The rised have done by extracting sample with solvent n-hexane by next wiht solvent ethyl acetate and ethanol. Concentrated extract that got in used to exam toxicity for shrimp larva BSLT and phytochemical test reagent. Mortality *artemia salina* by with probit analysis to know value of LC₅₀.

The result from this risset show on each extract binahong leaf (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) have level of toxicity on shrimp larva *Artemia salina* Leach, show with value LC₅₀ <1000 ppm. The level of toxicity extract ethanol, extract ethyl acetate and n-hexane extract is an value LC₅₀ a lot 7.35702 ppm, 106.992 ppm and 175.800 ppm. Into ethanol extract have done phytochemical test reagent there are leve alkaloids, flavonoids, tannins, triterpenoin/steroids and saponins. Lavel of that compounds show there are potency bioactivity on shrimp larva *Artemia salina* Leach.

المستخلص

جزيله, نور. 2014. إختبار إستدقاق سم ورق بيناهونج (*Anredera cordifolia* (Ten.)

(Steenis) للارفا الجمباري *Artemia salina* Leach بطريقة الإختبار

السمي (BSLT). المشرف الأول: أحمد غنائيم فاشا الماجستير. المشرف

الثاني: أحمد أبطاحي الماجستير. مر شد: رحموتي نفسه الماجستير.

الكلمات الرئيسية : بيناهونج، لارفا الجمباري، الإختبار السمي، BSLT

ورق بيناهونج (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) هو من مزروعات

الطبية القوة التي يسيطر على أنواع الآم منها لمعالجة ألم سرطان. أما أهداف هذا البحث الأول لمعرفة درجة السم في استدقاق ورق بيناهونج (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis)

في مذاب هسكسانا، إيتيل أستاتات و إيتانول لدرجة موت لارفا الجمباري *Artemia salina* Leach. الثاني، لمعرفة مجموعة مواد كيميائية في استدقاق ورق بيناهونج (*Anredera*

cordifolia (Ten) Steenis) بأيد السم.

يبحث هذا البحث باستدقاق العينة بمذاب ن-هيكسانا و تستمر بمذاب إيتيل إيستات و إيتانول. و يستخدم الإستدقاق الحائر لإختبار السمي للارفا الجمباري و الإختبار النباتية للملون.

تحلل بيانات الموات للارفا الجمباري *Artemia salina* Leach بتحليل روييت لمعرفة قيمة LC_{50} .

تدل نتيجة هذا البحث على لكل إستدقاق ورق بيناهونج (*Anredera cordifolia*

(Ten) Steenis) درجة السم للارفا الجمباري. الدليل بقيمة LC_{50} أقل من

1000 فقم. درجة السمي لإستدقاق إيتانول، إستدقاق إيتيل أستاتات و إستدقاق هيكسانا هو

بقيمة LC_{50} على 35702،7 فقم، 106، 992 فقم، و 800،175 فقم. يختبر استدقاق

إيتانول بالملون إختبارا نباتيا هو مجموعة مركب ألكالويد، فلانوييد، ستيروييد و سافونين. وتلك

مجموعة المركب يدل أن محتمل النشاط الحيوي للارفا الجمباري *Artemia salina* Leach.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Indonesia merupakan negara kepulauan yang kaya akan keragaman hayati. Kekayaan hayati yang dimiliki Indonesia berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai sumber tanaman obat, insektisida alami, minyak, makanan, dan barang-barang lainnya. Tanaman obat sudah digunakan oleh masyarakat, sebelum ditemukan obat sintetis. Bagian tanaman yang digunakan dapat diambil dari berbagai bagian mulai dari daun, batang, akar, rimpang, buah, maupun bunganya. Tanaman tertentu digunakan sebagai obat tradisional oleh masyarakat karena memiliki khasiat yang terbukti secara empiris dan tanpa efek samping.

Tanaman mempunyai kandungan senyawa kimia yang kompleks dan beragam. Kandungan senyawa tersebut dapat dikelompokkan menjadi senyawa metabolit primer dan senyawa metabolit sekunder. Senyawa metabolit primer merupakan senyawa hasil metabolisme yang digunakan untuk mempertahankan kelangsungan hidup suatu organisme. Biasanya berupa molekul besar seperti karbohidrat, lemak, protein, dan asam nukleat. Sedangkan senyawa metabolit sekunder merupakan molekul kecil hasil metabolisme yang dihasilkan secara terbatas oleh organisme. Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan pada tanaman sangat beragam antara tanaman satu dengan yang lain. Pada umumnya senyawa metabolit sekunder mempunyai bioaktivitas yang spesifik dan berfungsi juga sebagai pertahanan terhadap hama atau untuk melawan penyakit. Selain itu, telah ditemukan antibiotika yang berasal dari kandungan senyawa tanaman.

Tanaman merupakan sumber yang sangat penting untuk menemukan antimikroba (Rangasamy dkk., 2007).

Dalam perkembangan ilmu pengetahuan seperti saat ini, ternyata memang banyak tumbuhan yang terbukti secara ilmiah bisa mengobati berbagai penyakit. Allah telah menciptakan makhluknya di bumi ini meliputi manusia, hewan dan tumbuhan. Tumbuhan yang telah disediakan Allah sangat banyak dan memiliki manfaat yang cukup banyak agar manusia selalu mengingat akan kekuasaan Allah, sebagaimana firman Allah dalam surat asy Syu'ara' ayat 7 yang berbunyi (al Qur'an dan terjemahnya):

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

“Dan Apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?” (QS. asy Syu'ara' : 7)

Berdasarkan ayat tersebut Allah telah menumbuhkan dari bermacam-macam tumbuhan yang baik untuk makhluk-Nya yaitu tumbuhan yang bermanfaat. Manfaat tumbuhan salah satunya digunakan sebagai tanaman obat, seperti halnya sabda Nabi Muhammad SAW dalam HR. Ibnu Majah berikut:

مَا أَنْزَلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً....

" Allah tidak menciptakan suatu penyakit tanpa menciptakan pula obat untuknya.." (HR. Ibnu Majah).

Hadits di atas menunjukkan bahwa betapa adilnya Allah yang memberikan suatu penyakit beserta penawarnya (obat). Salah satu tanaman yang memiliki potensi sebagai obat adalah tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) atau dalam bahasa Tiongkok dikenal dengan nama *Dheng San Chi* adalah tanaman

obat, asli dari Amerika Selatan. Tanaman ini telah dikenal memiliki khasiat penyembuhan yang luar biasa selain itu, digunakan sebagai obat tradisional (Setiaji, 2009).

Bagian tanaman binahong yang bermanfaat sebagai obat pada umumnya adalah rhizome, akar dan daun. Penelitian mengenai aktivitas antibakteri daun binahong dan kandungan metabolit sekundernya pernah dilakukan, bahwa dalam simplisia daun binahong terkandung senyawa alkaloid, polifenol, dan saponin (Annisa, 2007).

Kandungan metabolit sekunder dalam binahong yang mempunyai aktivitas sebagai antioksidan dan antimikroba/antibiotik sangat baik dipakai sebagai bahan baku untuk obat tradisional. Steroid dari saponin dapat digunakan sebagai preparat hormon seksual, kortiko steroid, dan derivat dari steroid (Manitto P, 1992). Menurut Manoi (2009) zat bioaktif yang ada pada tanaman binahong dapat membantu proses penyembuhan penyakit-penyakit degeneratif seperti kerusakan ginjal, diabetes, pembengkakan jantung, stroke, wasir dan asam urat. Dalam penelitian lain tanaman binahong dapat mengobati penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri, bahkan ekstrak daun dan umbi binahong dapat mengobati infeksi penyakit kelamin seperti penyakit syphilis (Tshikalange, 2005). Tanaman binahong mengandung fenol, flavonoid, saponin, triterpenoid, steroid dan alkaloid (Astuti dkk., 2011). Secara umum jumlah kandungan fenol (termasuk flavonoid) yang dominan, akan menunjukkan adanya aktivitas dari senyawa fitokimia yang berfungsi menghancurkan mikroba terutama pada kelompok bakteri gram positif (Rios dan Rico, 2005). Diet dengan menggunakan senyawa aktif fenol dan

flavonoid dapat mengobati kanker. Flavonoid mempunyai fungsi sebagai antioksidan yang berfungsi sebagai pereduksi radikal bebas, selain itu juga mempunyai peranan penting dalam menghambat mikroba atau sebagai antibiotik (Resi dan Surgani, 2009). Adapun efek antiproliferatif dari kandungan total fenol dan flavonoid tanaman binahong adalah melindungi tubuh terhadap berbagai penyakit seperti infeksi oleh kuman, kanker, penyakit jantung koroner, diabetes, penyakit infeksi ginjal, dan stroke (Astuti dkk., 2011).

Pada penelitian Ani dkk. (2012) pengobatan luka infeksi *Staphylococcus* dengan pemberian ekstrak daun binahong, kandungan bahan aktif daun binahong akan bereaksi dengan bakteri tersebut sehingga mempercepat kesembuhan luka pada mencit. Hal ini disebabkan pertumbuhan dan perkembangbiakan bakteri terhambat, sehingga terhambatnya perkembangan mikroba akan berpengaruh terhadap perkembangan kerusakan jaringan. Menurut Noorhamdani (2010) makin tinggi konsentrasi ekstrak daun binahong maka makin rendah tingkat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan ekstrak daun binahong terbukti memiliki efek sebagai antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. Menurut Tshikalange *et al.*, (2005) ekstrak air akar binahong dengan dosis 50 mg/ml memiliki daya hambat terhadap bakteri Gram-positif (*B.pumilus*, *B.subtilis* dan *S.aureus*) serta bakteri Gram-negatif (*Enterobacter cloacae*, *E.coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Serratia marcescens*, dan *Enterobacter aerogenes*) pada dosis 60 mg/mL, tetapi tidak pada bakteri *B.sereus*.

Efek antibakteri daun binahong terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* diperkirakan diperankan oleh zat-zat aktif yang larut dalam methanol 96 %, sebab

metode ekstraksi pada penelitian ini menggunakan pelarut methanol 96 %. Diperkirakan zat-zat yang larut dalam methanol 96 % adalah flavonoid, saponin dan tannin. Aktivitas flavonoid ini disebabkan oleh kemampuannya untuk membentuk kompleks dengan protein ekstra seluler dan terlarut, dan dengan dinding sel. Flavonoid yang bersifat lipofolik mungkin juga akan merusak membrane sel mikroba. Rusaknya membran dan dinding sel akan menyebabkan metabolit penting di dalam sel akan keluar, akibatnya terjadi kematian sel. Saponin memiliki efek sebagai antibakteri, sehingga dapat merusak membran sitoplasma yang kemungkinan mempunyai efek yang sinergis maupun adiktif dengan tanin dalam merusak permeabilitas sel bakteri itu sendiri (Noorhamdani dkk., 2010).

Rachmawati (2007) telah melakukan skrining fitokimia daun Binahong (*Anredera Cordifolia (Ten.) Steenis*) dengan melakukan maserasi terhadap serbuk kering daun dengan menggunakan pelarut n-heksana dan metanol didapatkan kandungan kimia berupa saponin triterpenoid, flavanoid dan minyak atsiri. Rochani (2009) juga melakukan ekstraksi dengan cara maserasi daun binahong dengan menggunakan pelarut petroleum eter, etil asetat dan etanol, setelah dilakukan uji tabung ditemukan kandungan alkaloid, saponin dan flavanoid, sedangkan pada analisis secara KLT ditemukan senyawa alkaloid, saponin dan flavanoid.

Dalam ekstraksi pelarut yang sering digunakan adalah etanol dikarenakan sifatnya yang polar, etanol juga terkenal sebagai pelarut yang baik untuk pemisahan. Cheryl dkk (2013) menyimpulkan bahwa ekstrak etanol daun Kucing-

kucingan (*Acalypha indica* L.) dosis 3,15 g/kg bb, 6,3 g/kg bb, 12,6 g/kg bb memiliki efek menurunkan kadar gula darah tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi sukrosa. Dita (2010) menyatakan bahwa besar potensi ekstrak ethanol buah anggur untuk membunuh larva *Artemia salina* termasuk dalam kategori *practically non-toxic*, karena konsentrasinya > 100 µg/ml.

Etil asetat merupakan pelarut semi polar dan dapat melarutkan senyawa semipolar pada dinding sel seperti aglikon flavanoid (Harbone, 1987). Konstanta dielektrikum etil asetat adalah 6,02 (Burdick dan Jackson, 2010). Etil asetat didapat dengan cara destilasi lambat campuran etil alkohol, asam asetat dan asam sulfat, merupakan cairan tidak berwarna, seperti aseton dan mudah terbakar. Telah diujikan bahwa ekstrak etil asetat daun ceremai mempunyai aktivitas sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dan mempunyai aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* dengan zona hambatan 20 mm, 15 mm dan 18 mm.

Menurut Masroh (2010) dari hasil analisis probit ekstrak daun pecut kuda terhadap larva udang menunjukkan bahwa ekstrak heksana dari daun pecut kuda bersifat toksik. Bila dibandingkan dengan $K_2Cr_2O_7$ dengan nilai LC_{50} sebesar 20–40 ppm (Colgate dkk dalam Indrayani, 2006) sebagai kontrol positif, toksisitas fraksi heksana masih lebih lemah, namun demikian fraksi heksana tetap dianggap toksik karena memiliki nilai LC_{50} kurang dari 1000 ppm.

Berdasarkan latar belakang di atas maka penelitian ini bertujuan untuk menguji toksisitas ekstrak daun binahong *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis dengan menggunakan sampel dari daun binahong. Pemisahan senyawa aktif

dilakukan dengan metode ekstraksi maserasi menggunakan pelarut yang berbeda seperti n-heksana, etil asetat dan etanol yang memiliki perbedaan kepolaran. Untuk mengetahui potensi ekstrak yang bersifat aktif dilakukan pengujian bioaktivitasnya dengan uji toksisitas terhadap larva udang *Artemia salina* (metode *Brine Shrimp Lethality Test*). Menurut Meyer (1982) dalam Indrayani (2006) metode pengujian BSLT dengan menggunakan *Artemia salina* dianggap memiliki korelasi dengan daya sitotoksik senyawa-senyawa antikanker, sehingga sering dilakukan untuk skrining awal pencarian senyawa antikanker. Metode ini dikenal sebagai metode yang cepat, mudah, murah dan hasilnya dapat dipertanggungjawabkan. Hasil penelitian ini diharapkan akan diketahui ekstrak dan golongan senyawa yang memiliki potensi bioaktivitas untuk dapat dilakukan pengujian lebih lanjut.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka dapat diambil rumusan masalah sebagai berikut:

1. Bagaimana tingkat toksisitas masing-masing ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) dalam tiap pelarut n-heksana, etil asetat dan etanol terhadap tingkat mortalitas larva udang *Artemia salina* Leach?
2. Golongan senyawa apakah yang terdapat dalam ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) dengan toksisitas yang terbaik?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengetahui tingkat toksisitas masing-masing ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) dalam tiap pelarut n-heksana, etil asetat dan etanol terhadap tingkat mortalitas larva udang *Artemia salina* Leach.
2. Mengetahui golongan senyawa yang terdapat dalam ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) dengan toksisitas yang terbaik.

1.4 Batasan Masalah

Adapun batasan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Sampel yang digunakan adalah daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) basah yang diperoleh dari daerah Telogomas Dinoyo Malang, Jawa Timur.
2. Variasi pelarut yang digunakan adalah pelarut n-heksana, etil asetat dan etanol.
3. Hewan uji toksisitas yang digunakan adalah larva udang *Artemia salina* Leach.

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai golongan senyawa aktif yang terkandung dalam daun binahong dan pemanfaatannya untuk menghambat perkembangan sel kanker.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pemanfaatan Tanaman Obat dalam Perspektif Islam

Sejak Allah menciptakan Adam, manusia telah berusaha mengetahui jenis tumbuh-tumbuhan dan rumput-rumputan serta cara pengobatan terhadap berbagai penyakit yang menimpa manusia. Tanaman obat dalam Sunah Nabi sangat banyak, diantaranya adalah jinten hitam, biji seledri, lidah buaya, bidara, biji sawi, seledri air dan masih banyak yang tanaman-tanaman lainnya, salah satunya adalah tanaman binahong.

Umat Islam diperintahkan dalam al-Qur'an untuk mempelajari setiap kandungan ayatnya. Kita perlu meningkatkan pemahaman mengenai ayat-ayat al-Qur'an, karena di dalamnya terkandung pengetahuan yang banyak terhadap alam semesta. Sebagaimana firman Allah dalam surat al-Jaatsiyah ayat 13 yaitu:

وَسَخَّرَ لَكُمْ مَّا فِي السَّمَوَاتِ وَمَا فِي الْأَرْضِ جَمِيعًا مِّنْهُ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ
يَتَفَكَّرُونَ ﴿١٣﴾

“Dan Dia telah menundukkan untukmu apa yang di langit dan apa yang di bumi semuanya, (sebagai rahmat) daripada-Nya. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang berfikir.”

Ayat di atas menjelaskan bahwa penundukan tersebut secara potensial terlaksana melalui hukum-hukum alam yang ditetapkan Allah dan kemampuan yang dianugerahkan kepada manusia. Manusia berpotensi mengetahui rahasia alam raya dan mengantarkan manusia untuk memanfaatkan alam yang telah

ditundukkan oleh Allah. Segala nikmat ini merupakan bukti kekuasaan Allah bagi kaum yang memikirkan, mengkajinya dan melakukan penelitian ilmiah (Shihab, 2002).

Usaha manusia dalam memanfaatkan fakta-fakta ilmiah mengenai fenomena alam merupakan wujud dari amanat kekhalifahan yang diamanatkan oleh Allah atas bumi ini. Pemanfaatan tanaman yang ditumbuhkan Allah sebagai tanaman obat merupakan salah satu cara mengemban tugas sebagai khalifah. Sebagaimana firman Allah dalam surat al-An'am ayat 99 yaitu (Pasya, 2004):

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرِجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِن طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِّنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَبِهٍ ۗ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ ۗ إِنَّ فِي ذَٰلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ ﴿٩٩﴾

“Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan Maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang korma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman.”

Ayat tersebut mengingatkan kita tentang adanya tanda-tanda kekuasaan Allah dalam dunia tumbuh-tumbuhan yang penuh dengan tanda-tanda keagungan dan keperkasaan-Nya. Semua jenis tumbuhan makan dan tumbuh dari air, sinar, karbon, oksigen, hidrogen, nitrogen, fosforus, sulfur, kalium, kalsium, magnesium dan besi. Tanah, unsur makanan dan air yang sama dapat menumbuhkan biji-biji

yang sangat kecil menjadi ribuan jenis tumbuhan dan buah-buahan dengan aneka ragam bentuk, warna, bau dan rasa. Kekuasaan Allah dalam tumbuh-tumbuhan terlihat pada modifikasi tumbuh-tumbuhan sesuai dengan berbagai kondisi lingkungan. Semua tumbuhan memiliki susunan dan bentuk luar yang berbeda dengan tumbuhan lain. Setiap tanaman yang ditumbuhkan oleh Allah tentunya memiliki kegunaan yang berbeda-beda. Tanaman padi dapat digunakan sebagai sumber makanan pokok dan begitu juga tanaman yang bisa dimanfaatkan sebagai tanaman obat, seperti penggunaan tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis).

Ayat-ayat al-Qur'an diperuntukkan bagi manusia secara total baik lafazh, makna, petunjuk dan informasinya. Allah menyuruh kita untuk terus-menerus mempelajarinya, menelaah keterangan dan tujuan dalam firman-Nya, sehingga kita bisa mendapatkan kejelasan ilmu pengetahuan darinya dan kita mendapat petunjuk untuk menentukan langkah-langkah penelitian dan tujuannya. Allah telah berfirman dalam surat al-Furqaan ayat 2, yaitu:

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

“Yang kepunyaan-Nya-lah kerajaan langit dan bumi, dan Dia tidak mempunyai anak, dan tidak ada sekutu baginya dalam kekuasaan(Nya), dan Dia telah menciptakan segala sesuatu, dan Dia menetapkan ukuran-ukurannya dengan serapi-rapinya[1053].”

[1053] Maksudnya: segala sesuatu yang dijadikan Tuhan diberi-Nya perlengkapan-perengkapan dan persiapan-persiapan, sesuai dengan naluri, sifat-sifat dan fungsinya masing-masing dalam hidup.

Ayat di atas menjelaskan kepada kita akan tujuan penelitian, studi dan usaha memahami berbagai fenomena di dalam kehidupan ini. Berdasarkan langkah tersebut ilmu pengetahuan modern meneguhkan bahwa semua makhluk terbentuk berdasarkan aturan penciptaan-Nya dan segala perkembangan yang terjadi menempati sistem aturan yang teliti dan pasti yang tidak dapat diketahui kecuali Allah. Tumbuhan maupun binatang, masing-masing terbagi menjadi filum, klas dan spesies yang berbeda-beda, yang memiliki kelengkapan sifat yang bertingkat-tingkat. Semua berjalan sesuai aturan dan sistem yang pasti dan teliti, sehingga menunjukkan keagungan dan kekuasaan Sang Pencipta (Mahran, 2006).

2.2 Tanaman Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)

Tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) adalah tanaman obat potensial yang dapat mengatasi berbagai jenis penyakit. Tanaman ini berasal dari dataran Cina dengan nama asalnya adalah *Dheng shan chi*. Di Indonesia tanaman ini belum banyak dikenal, sedangkan di Vietnam tanaman ini merupakan suatu makanan wajib bagi masyarakat di sana. Binahong tumbuh menjalar dan panjangnya dapat mencapai 5 meter, berbatang lunak berbentuk silindris dan pada ketiak daun terdapat seperti umbi yang bertekstur kasar. Daunnya tunggal dan mempunyai tangkai pendek, bersusun berselang-seling dan berbentuk jantung. Panjang daun antara 5-10 cm dan mempunyai lebar antara 3-7 cm. Seluruh bagian tanaman binahong dapat dimanfaatkan, mulai dari akar, batang, daun, umbi dan bunganya (Manoi dkk., 2009).

Secara khusus seluruh bagian-bagian tumbuhan binahong bisa dipergunakan sebagai pengobatan untuk menyembuhkan berbagai penyakit, misalnya biji binahong dapat dipergunakan untuk penyembuhan diabetes, pembengkakan liver, dan radang usus, sementara daun binahong dimanfaatkan untuk reumatik dan penyembuhan luka infeksi. Pada penelitian yang meneliti tentang kandungan daun-daun tanaman menjelaskan bahwa dalam daun binahong terdapat aktivitas antioksidan dan total fenol yang cukup tinggi. Daun binahong diketahui mempunyai kandungan *asam oleanolik*. *Asam oleanolik* merupakan golongan *triterpenoid*, selain itu terdapat pula *saponin*, *flavanoid*, dan *alkaloid* (Setiaji, 2009).

Klasifikasi dari tanaman binahong adalah sebagai berikut:

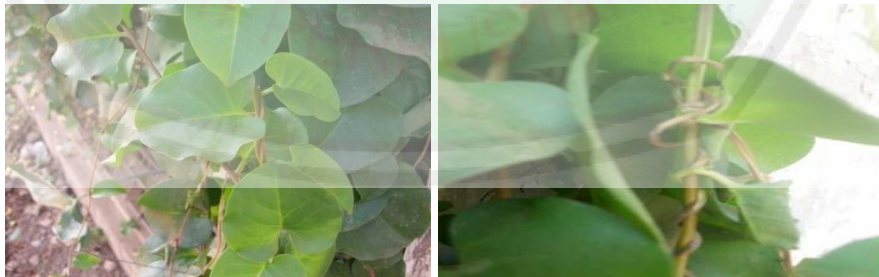
Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta (berpembuluh)
Superdivisio	: Spermatophyta (menghasilkan biji)
Divisio	: Magnoliophyta (berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
Subkelas	: Hamamelidae
Ordo	: Caryophyllales
Familia	: Basellaceae
Genus	: Anredera
Species	: <i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis

Tanaman binahong berdaun tunggal, bertangkai sangat pendek (*subsessile*), pertulangan menyirip, tersusun berseling, berwarna hijau muda, berbentuk jantung (*cordata*), memiliki panjang sekitar 5-10 cm dan lebar sekitar 3-7 cm, helaian daun tipis lemas, ujung runcing, pangkal berbelah, tepi rata atau bergelombang, dan permukaan halus dan licin (Gambar 2.1a). Tanaman binahong memiliki rhizoma. Rhizoma adalah batang beserta daun yang terdapat di dalam tanah, bercabang-cabang dan tumbuh mendatar, dari ujungnya dapat tumbuh tunas

yang muncul di atas tanah dan dapat merupakan suatu tumbuhan baru. Rhizoma adalah penjelmaan dari batang dan bukan akar, yang memiliki ciri-ciri sebagai berikut:

- 1) Beruas-ruas, berbuku-buku, akar tidak pernah bersifat demikian.
- 2) Berdaun, tetapi daunnya telah menjelma menjadi sisik-sisik.
- 3) Mempunyai kuncup-kuncup.
- 4) Tumbuhnya tidak ke pusat bumi atau air, terkadang tumbuh ke atas, muncul di atas tanah.

Menurut Setiaji (2009) rhizoma berfungsi sebagai alat perkembangbiakan dan tempat penimbunan zat-zat cadangan makanan (Gambar 2.1b). Tanaman binahong memiliki bunga majemuk berbentuk tandan atau malai panjang, bertangkai panjang, muncul di ketiak daun, mahkota berwarna putih sampai krem berjumlah lima helai tidak berlekatan, panjang helai mahkota sekitar 0,5–1 cm dan memiliki bau yang harum (Gambar 2.1c). Tanaman binahong mempunyai akar tunggang yang berdaging lunak dan berwarna coklat kotor (Gambar 2.1d).



a

b



c d
Gambar 2.1 a. Daun Binahong b. Batang Binahong c. Bunga Binahong dan d. Akar Binahong (Mufid, 2010)

Manfaat tanaman ini sangat besar dalam dunia pengobatan, secara empiris binahong dapat menyembuhkan berbagai jenis penyakit. Dalam pengobatan, bagian tanaman yang digunakan dapat berasal dari akar, batang, daun, dan bunga maupun umbi yang menempel pada ketiak daun. Tanaman ini dikenal dengan sebutan *Madeira Vine* dipercaya memiliki kandungan antioksidan tinggi dan antivirus. Tanaman ini masih diteliti meski dalam lingkup terbatas. Percobaan pada tikus yang disuntik dengan bahan ekstrak dari binahong dapat meningkatkan daya tahan tubuh, peningkatan agresivitas tikus dan tidak mudah sakit. Beberapa penyakit yang dapat disembuhkan dengan menggunakan tanaman ini adalah: kerusakan ginjal, diabetes, pembengkakan jantung, muntah darah, tifus, stroke, wasir, reumatik, pemulihan pasca operasi, pemulihan pasca melahirkan, menyembuhkan segala luka dalam dan khitanan, radang usus, melancarkan dan menormalkan peredaran dan tekanan darah, sembelit, sesak napas, sariawan berat, pusing-pusing, sakit perut, menurunkan panas tinggi, menyuburkan kandungan, maag, asam urat, keputihan, pembengkakan hati, meningkatkan vitalitas dan daya tahan tubuh, (Manoi, 2009).

Rachmawati (2007) dalam Mufid (2010) telah melakukan skrining fitokimia daun Binahong (*Anredera Cordifolia* (Ten.) Steenis dengan melakukan maserasi terhadap serbuk kering daun dengan menggunakan pelarut n-heksana dan metanol didapatkan kandungan kimia berupa saponin triterpenoid, flavanoid dan minyak atsiri. Rochani (2009) melakukan ekstraksi dengan cara maserasi daun binahong dengan menggunakan pelarut petroleum eter, etil asetat dan etanol, setelah dilakukan uji tabung ditemukan kandungan alkaloid, saponin dan flavanoid, sedangkan pada analisis secara KLT ditemukan senyawa alkaloid, saponin dan flavanoid. Setiaji (2009) telah melakukan ekstraksi pada rhizome binahong dengan pelarut etil asetat, petroleum eter, dan etanol 70 % di dapatkan senyawa alkaloid, saponin, flavonoid dan polifenol. Pada ekstrak dengan pelarut etil asetat pada konsentrasi 2 % dapat membunuh bakteri *Staphylococcus aureus*. Selain itu juga dijelaskan (Uchida, *et al.*, 2003) bahwa di dalam daun binahong terdapat aktifitas antioksidan, asam askorbat dan total fenol yang cukup tinggi.

2.3 Ekstraksi Senyawa Aktif

Ekstraksi merupakan proses pemisahan senyawa campuran dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Ekstraksi digunakan untuk mengisolasi produk alam dari jaringan asli kering tumbuh-tumbuhan. Produk alam volatil diisolasi dengan cara distilasi uap, sedangkan produk non volatil diisolasi dengan cara perendaman atau maserasi dalam satu pelarut (Vogel, 1989 dalam Kusnaeni 2008). Secara umum ekstraksi senyawa metabolit sekunder menggunakan metode maserasi dengan pelarut polar atau metanol. Pada prinsipnya metode maserasi

adalah terdapat waktu kontak yang cukup antara pelarut dengan bahan yang diekstrak, namun jarang sekali mencapai pemisahan yang sempurna karena senyawa yang sama bisa terdapat dalam beberapa fraksi. Hasil maserasi maksimal biasanya dilakukan dengan maserasi menggunakan sederetan pelarut atau metode Charauxs- Paris yaitu metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang berbeda kepolaran, dimana ekstrak pekat pelarut polar diekstraksi kembali dengan pelarut semipolar dan pelarut non polar (Kusnaeni, 2008).

Pemilihan pelarut untuk ekstraksi harus mempertimbangkan banyak faktor. Pelarut harus memenuhi syarat-syarat sebagai berikut: murah dan mudah diperoleh, stabil fisika dan kimia, bereaksi netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, selektif dan tidak mempengaruhi zat berkhasiat. Pemilihan pelarut untuk proses maserasi akan memberikan efektifitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam dalam pelarut tersebut. Secara umum pelarut-pelarut golongan alkohol merupakan pelarut yang paling banyak digunakan dalam proses isolasi senyawa organik bahan alam, karena dapat melarutkan seluruh senyawa metabolit sekunder (Lenny, 2006).

Maserasi merupakan cara yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk sampel dalam pelarut. Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat-zat aktif sehingga zat aktif akan larut. Adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel, maka larutan yang pekat di desak keluar. Keuntungan cara ekstraksi ini, adalah cara pengerjaan atau peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan.

Sedangkan kerugiannya adalah waktu pengerjaannya lama dan ekstraksi kurang sempurna (Ahmad 2006).

Sifat kelarutan zat didasarkan pada teori *like dissolves like*, zat yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar dan zat yang bersifat nonpolar akan larut dalam pelarut nonpolar (Khopkar, 2003). Pelarut yang sering digunakan dalam proses ekstraksi adalah aseton, etil klorida, etanol, heksana, isopropil alkohol dan metanol. Ekstraksi pada penelitian ini dilakukan secara berturut-turut mulai dari pelarut polar, semi polar dan nonpolar untuk mendapatkan kandungan kimia (golongan senyawa metabolit sekunder) yang dimiliki tanaman bianahong berdasarkan tingkat kepolaran pelarut tersebut.

Pelarut yang digunakan pada penelitian ini yaitu n-heksana, etil asetat dan metanol yang didasarkan pada pemilihan variasi pelarut yang sesuai. Pelarut-pelarut tersebut memiliki titik didih yang cukup rendah agar pelarut dapat mudah diuapkan tanpa menggunakan suhu yang tinggi, bersifat inert, dapat melarutkan senyawaan yang sesuai dengan cukup cepat serta memiliki harga yang terjangkau (Guenther, 1987). Kelarutan terhadap air dari pelarut-pelarut tersebut juga semakin tinggi dengan semakin tingginya tingkat kepolarannya.

Ekstraksi pelarut yang sering digunakan adalah metanol dikarenakan sifatnya yang polar, metanol juga terkenal sebagai pelarut yang baik untuk pemisaan. Cheryl dkk (2013) menyimpulkan bahwa ekstrak etanol daun Kucing-kucingan (*Acalypha indica* L.) dosis 3,15 g/kg bb, 6,3 g/kg bb, 12,6 g/kg bb memiliki efek menurunkan kadar gula darah tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi sukrosa. Dita (2010) menyatakan bahwa besar potensi ekstrak ethanol

buah anggur untuk membunuh larva *Artemia salina* termasuk dalam kategori *practically non-toxic*, karena konsentrasinya $> 100 \mu\text{g/ml}$.

Etil asetat merupakan pelarut semi polar dan dapat melarutkan senyawa semipolar pada dinding sel seperti aglikon flavanoid (Harbone, 1987). Konstanta dielektrikum etil asetat adalah 6,02 (Burdick dan Jackson, 2010). Etil asetat didapat dengan cara destilasi lambat campuran etil alkohol, asam asetat dan asam sulfat, merupakan cairan tidak berwarna, seperti aseton dan mudah terbakar. Telah diujikan bahwa ekstrak etil asetat daun ceremai mempunyai aktivitas sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dan mempunyai aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* dengan zona hambatan 20 mm, 15 mm dan 18 mm.

Menurut Masroh (2010) dari hasil analisis probit ekstrak daun pecut kuda terhadap larva udang menunjukkan bahwa ekstrak heksana dari daun pecut kuda bersifat toksik. Bila dibandingkan dengan $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ dengan nilai LC_{50} sebesar 20–40 ppm (Colgate dkk dalam Indrayani, 2006) sebagai kontrol positif, toksisitas fraksi heksana masih lebih lemah, namun demikian fraksi heksana tetap dianggap toksik karena memiliki nilai LC_{50} kurang dari 1000 ppm.

Kepolaran suatu pelarut menunjukkan tingkat kelarutan pelarut air ataupun pelarut organik terhadap suatu bahan. Kepolaran ini timbul dari perbedaan dua kutub (*pole*) kelarutan. Kecenderungan suatu bahan yang lebih larut dalam air disebut polar dan sebaliknya yang cenderung lebih larut dalam pelarut organik disebut nonpolar. Secara fisika, tingkat polaritas ini dapat ditunjukkan dengan lebih pasti melalui pengukuran konstanta dielektrikum (D) suatu pelarut. Semakin

besar konstanta dielektrikum suatu pelarut disebut semakin polar (Sudarmadji dkk., 2003).

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

Toksisitas menurut ilmu kimia adalah kerusakan yang ditimbulkan oleh suatu bentuk aksi kimia yang mempunyai bentuk dan variasi yang luas. Asam-asam kuat atau alkalis yang mengalami kontak langsung dengan organ mata, kulit dan atau saluran pencernaan, dapat mengakibatkan kerusakan pada jaringan dan bahkan kematian pada sel-sel (Palar, 1994).

Uji toksisitas larva udang *Artemia salina* telah digunakan sejak 1956 untuk berbagai pengamatan bioaktivitas senyawa bahan alam. Uji toksisitas larva udang memang tidak spesifik untuk antitumor, tetapi kemampuannya untuk mendeteksi 14 dari 24 *Ettphorbiaceae* yang aktif terhadap uji leukimia *in vivo* mencit dan mendeteksi 2 dari 6 ekstrak *Euphorbiaceae* yang aktif terhadap uji karsinoma nasofaring. Hal ini memungkinkan uji toksisitas larva udang dapat digunakan sebagai uji penapisan senyawa bioaktif tahap awal dari rangkaian uji toksisitas untuk mendapatkan dosis yang aman bagi manusia. Beberapa kelebihan dari uji bioaktivitas dengan *Brine Shrim Lethality Test* (BSLT) menggunakan larva udang adalah waktu uji yang relatif cepat, sederhana (tanpa teknik aseptik), murah (tidak perlu serum hewan), jumlah organisme banyak, memenuhi kebutuhan validasi statistik dengan sedikit sampel (Meyer, 1982).

BSLT merupakan pengujian senyawa secara umum yang dapat mendeteksi beberapa bioaktivitas dalam suatu ekstrak. Bioaktivitas yang dapat dideteksi dari

skrining awal dengan metode BSLT diantaranya adalah antikanker, antitumor, antimalaria, antimikroba, *immunosuppressive*, *antifeedant* dan residu pestisida (Colegate dan Molyneux, 2007).

Dalam uji ini diamati tingkat mortalitas larva udang yang disebabkan oleh ekstrak tumbuhan. Senyawa yang aktif akan menghasilkan tingkat mortalitas yang tinggi. Data yang diperoleh akan diolah untuk mendapatkan nilai LC_{50} (*Lethal Concentration 50 %*) pada tingkat kepercayaan 95 % dengan menggunakan *Probit Analysis Method*. LC_{50} (Median Lethal Concentration) yaitu konsentrasi yang menyebabkan kematian sebanyak 50 % dari organisme uji yang dapat diestimasi dengan grafik dan perhitungan, pada suatu waktu pengamatan tertentu, misalnya LC_{50} 48 jam, LC_{50} 96 jam sampai waktu hidup hewan uji. Penggunaan LC_{50} dimaksudkan untuk pengujian ketoksikan dengan perlakuan terhadap hewan coba secara inhalasi atau menggunakan media air. Kematian pada hewan percobaan digunakan sebagai pedoman untuk memperkirakan dosis kematian pada manusia.

Larva udang memiliki klasifikasi sebagai berikut (Anonim, 2008):

Kerajaan	: Animalia
Divisi	: Arthropoda
Subdivisi	: Crustacea
Kelas	: Branchiopoda
Bangsa	: Anostraca
Suku	: Artemiidae
Marga	: Artemia L.
Jenis	: <i>Artemia salina</i> Leach

Artemia merupakan kelompok udang-udangan dari *phylum Arthropoda*. *Artemia* hidup di danau-danau garam (berair asin) yang ada di seluruh dunia. Udang ini toleran terhadap selang salinitas yang sangat luas, mulai dari nyaris tawar hingga jenuh garam. Secara alamiah salinitas danau dimana mereka hidup

sangat bervariasi, tergantung pada jumlah hujan dan penguapan yang terjadi. Apabila kadar garam kurang dari 6 % telur *Artemia salina* akan tenggelam sehingga telur tidak bisa menetas, hal ini biasanya terjadi apabila air tawar banyak masuk ke dalam danau dimusim penghujan. Sedangkan apabila kadar garam lebih dari 25 % telur akan tetap berada dalam kondisi tersuspensi, sehingga dapat menetas dengan normal (Anonim, 2014).



Gambar 2.2 Kista *Artemia salina* (Anonim, 2014)

Telur *Artemia salina* atau *cyste* berbentuk bulat berlekuk dalam keadaan kering dan bulat penuh dalam keadaan basah. Warnanya coklat yang diselubungi oleh cangkang yang tebal dan kuat. Cangkang ini berguna untuk melindungi embrio terhadap pengaruh kekeringan, benturan keras, sinar ultraviolet dan mempermudah pengapungan. Telur dapat mengadsorpsi air, jika tersinari oleh sinar matahari atau pada suhu sekitar 26–28 °C maka akan menetas setelah 24–48 jam tergantung pada kondisi lingkungan. *Artemia salina* yang baru menetas disebut dengan naupli (larva) yang memiliki ukuran 0,25 mm (0,01 inci) (Anonim, 2014).



Gambar 2.3 *Artemia salina* (Anonim, 2014)

Artemia salina mengalami puberitas selama 8–14 hari dan akan hidup selama 4-5 minggu tergantung pada konsentrasi garam, terlalu banyak garam maka harapan hidup akan berkurang. Hewan ini dapat tumbuh dan berkembang pada air garam. Larutan air garam dapat dibuat dengan melarutkan 30 g garam ke dalam 1 L air. Banyak orang menggunakan garam biasa untuk membuat medianya tanpa adanya penambahan iodium dan zat kimia lainnya karena dapat memperburuk pertumbuhannya. Air laut merupakan media pertumbuhan yang lebih baik. Pembiakan *Artemia* dapat dilakukan melalui perkawinan antara *Artemia* jantan dan betina, tetapi *Artemia salina* juga memiliki sifat *partenogenesis* sehingga *Artemia* betina dapat berkembangbiak tanpa perkawinan. *Artemia* betina dapat mempunyai keturunan sekitar 300 setiap 4 hari. Makanan *Artemia* berupa bubuk alga ataupun ragi (Anonim, 2014).

Dalam pemeliharaan *Artemia salina* makanan yang diberikan adalah: katul, padi, tepung beras, tepung terigu, tepung kedelai dan ragi. *Artemia* hanya dapat menelan makanan yang berukuran kecil yaitu kurang dari 50 mikron. Apabila makanan lebih besar dari ukuran itu, makanan tidak akan tertelan karena *Artemia* mengambil makanan dengan jalan menelannya bulat-bulat. Makanan yang akan ditelan itu dikumpulkan dulu ke depan mulut dengan menggerak

gerakkan kakinya. Gerakan kaki dilakukan terus-menerus hingga makanan akan terus bergerak masuk ke dalam mulutnya. Selain untuk mengambil makanan, kakinya berfungsi sebagai alat untuk bergerak dan bernafas (Mudjiman, 2006 dalam Farihah, 2008).

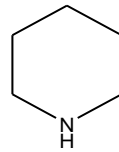
Siklus hidup *Artemia* bisa dimulai dari saat menetasnya kista atau telur. Setelah 15–20 jam pada suhu 25 °C kista akan menetas menjadi embrio. Dalam waktu beberapa jam embrio ini masih akan tetap menempel pada kulit kista. Pada fase ini embrio akan menyelesaikan perkembangannya kemudian berubah menjadi naupli yang sudah bisa berenang bebas. Pada awalnya naupli akan berwarna orange kecoklatan akibat masih mengandung kuning telur (Anonim, 2014). *Artemia salina* sering digunakan sebagai hewan uji toksisitas. Telur *Artemia salina* dapat bertahan dalam kondisi kering dan dapat disimpan cukup lama. Telur ini bila diberi air laut pada suhu 23 °C maka ia akan menetas dalam 1–2 hari dan dapat langsung digunakan dalam uji toksisitas. Uji toksisitas pada hewan uji dimaksudkan untuk ekstrapolasi hasil terhadap manusia untuk mencari dosis yang aman. Parameter yang digunakan dalam uji ini adalah efek toksikan (respon) terhadap hewan uji yang dapat dilihat hanya berupa immobilisasi ke dalam tiap tabung berisi konsentrasi toksikan yang berbeda dimasukkan 10 ekor hewan uji, disertai dengan tabung kontrol. Immobilisasi ini sudah dianggap sebagai kematian untuk hewan uji seperti *Artemia salina*. LC₅₀ diperoleh dengan ekstrapolasi kurva (Soemirat, 2005).

2.5 Uji Fitokimia Senyawa Aktif Daun Binahong

Uji fitokimia merupakan pengujian kandungan senyawa-senyawa di dalam tumbuhan. Tumbuhan umumnya mengandung senyawa aktif dalam bentuk metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin, alkaloid, triterpenoid, steroid, saponin, dan lain-lain. Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa kimia yang umumnya mempunyai kemampuan bioaktivitas dan berfungsi sebagai pelindung tumbuhan tersebut dari gangguan hama penyakit untuk tumbuhan itu sendiri atau lingkungannya (Lenny, 2006).

2.5.1 Alkaloid

Alkaloid merupakan golongan zat tumbuhan sekunder yang terbesar. Alkaloid mencakup senyawa bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen, yang biasanya dalam bentuk gabungan, sebagai bagian dari sistem siklik. Alkaloid sering bersifat racun bagi manusia dan banyak yang mempunyai kegiatan fisiologi yang menonjol, sehingga dapat digunakan secara luas dalam bidang pengobatan. Alkaloid sering kali bersifat optis aktif, kebanyakan berbentuk kristal tetapi hanya sedikit yang berupa cairan (misalnya nikotina) (Harbone, 1987). Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Hampir seluruh senyawa alkaloid berasal dari tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan. Semua alkaloid mengandung paling sedikit satu atom nitrogen yang biasanya bersifat basa dan dalam sebagian besar atom nitrogen ini merupakan bagian dari cincin heterosiklik (Lenny, 2006).



Gambar 2.4 Contoh Struktur Senyawa Alkaloid (Robinson, 1995)

Pada penelitian Sumaryanto (2009) alkaloid diekstraksi menggunakan pelarut polar (etanol) dan dapat digunakan sebagai antibakteri. Menurut Lutfillah (2008) eluen terbaik untuk pemisahan alkaloid dengan KLT dari hasil isolat kulit batang angret adalah campuran metanol-kloroform (0,5:9,5) dengan pereaksi Dragendorff yang menghasilkan 8 noda yang memiliki Rf antara 0,22–0,85 dengan 5 noda berwarna biru, 2 noda berwarna kuning dan 1 noda berwarna merah setelah disinari dengan lampu UV.

Fungsi alkaloid dalam tumbuhan masih sangat kabur, meskipun masing-masing senyawa telah dinyatakan terlibat sebagai pengatur tumbuh. Teori yang menyatakan bahwa alkaloid merupakan bentuk penyimpanan nitrogen dalam tumbuhan, sekarang ini tidak lagi diterima (Harborne, 1996).

2.5.2 Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa polar yang umumnya mudah larut dalam pelarut polar seperti etanol, menthanol, butanol, aseton, dan lain-lain. (Markham,1988). Flavonoid dalam tumbuhan terikat pada gula sebagai glikosida dan aglikon flavanoid, Gula yang terikat pada flavanoid mudah larut dalam air (Harbone,1996). Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol, senyawa fenol mempunyai sifat efektif yang dapat menghambat pertumbuhan virus, bakteri dan jamur. Nurachman (2002) menambahkan bahwa senyawa-

senyawa flavanoid umumnya bersifat antioksidan dan banyak yang telah digunakan sebagai salah satu komponen bahan baku obat-obatan. Senyawa flavanoid dan turunannya memiliki dua fungsi fisiologi tertentu, yaitu sebagai bahan kimia untuk mengatasi serangan penyakit (sebagai antimikroba) dan anti virus bagi tanaman. Ditambahkan oleh De Padua, *et al.*, (1999) bahwa flavanoid mempunyai bermacam-macam efek yaitu, efek anti tumor, anti HIV, immunostimulant, analgesik, antiradang, antifungal, antidiare, antihepatotoksik, antihiperqlikemik dan sebagai vasolidator.



Gambar 2.5 Struktur Inti Senyawa Flavanoid (Robinson, 1995)

Flavanoid termasuk dalam golongan senyawa fenol yang memiliki banyak gugus –OH dengan adanya perbedaan keelektronegatifan yang tinggi, sehingga sifatnya polar. Golongan senyawa ini mudah terekstrak dalam pelarut etanol yang memiliki sifat polar karena adanya gugus hidroksil, sehingga dapat terbentuk ikatan hidrogen. Purwaningsih (2003) mengisolasi senyawa flavanoid dari biji kacang tunggak dengan pelarut metanol menghasilkan ekstrak berwarna kuning. Praptiwi, dkk. (2007) dalam penelitiannya tentang antimalaria ekstrak ki pahit menunjukkan adanya senyawa flavanoid dari fraksi diklorometana.

2.5.3 Tanin

Tanin adalah senyawa polifenol yang memiliki berat molekul antara 500–3000 dalton yang diduga berperan sebagai antibakteri, dikarenakan dapat

membentuk kompleks dengan protein dan interaksi hidrofobik (Makkar, 1998). Menurut Deny (2007) dalam penelitiannya menjelaskan bahwa tanin dapat diekstrak dari bagian-bagian tumbuhan tertentu dengan menggunakan pelarut. Pelarut yang umum adalah aseton, etanol, maupun metanol dan secara komersial tanin dapat diekstraksi dengan menggunakan pelarut air tetapi yang paling efektif untuk mengekstrak tanin dari kulit kayu dapat digunakan larutan air dengan etanol atau aseton dengan perbandingan 1:1.

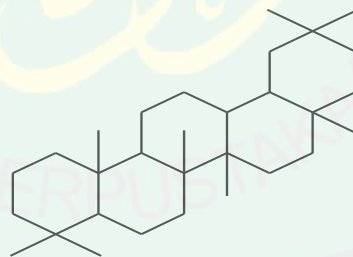
Tanin terkondensasi terdapat dalam paku-pakuan, gimnospermae dan angiospermae, terutama pada jenis tumbuh-tumbuhan berkayu. Tanin terhidrolisis penyebarannya terbatas pada tumbuhan berkeping dua (Harbone, 1984). Tanin memiliki aktivitas antibakteri, secara garis besar mekanismenya adalah dengan merusak membran sel bakteri, senyawa astringent tanin dapat menginduksi pembentukan ikatan senyawa kompleks terhadap enzim atau substrat mikroba dan pembentukan suatu ikatan kompleks tanin terhadap ion logam yang dapat menambah daya toksisitas tanin itu sendiri. (Akiyama, *et al.*, 2001). Ajizah (2004) telah menjelaskan tentang aktivitas antibakteri senyawa tanin adalah dengan cara mengerutkan dinding sel atau membran sel, sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri. Akibat terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati.

2.5.4 Triterpenoid

Triterpenoid merupakan komponen tumbuhan yang mempunyai bau dan dapat diisolasi dari bahan nabati dengan penyulingan sebagai minyak atsiri

(Lenny, 2006). Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari 6 satuan isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C₃₀ asiklik yaitu skualena. Senyawa ini berstruktur siklik yang kebanyakan berupa alkohol, aldehida, atau asam karboksilat (Harborne, 1987).

Terpenoid banyak ditemukan dalam tumbuhan tingkat tinggi sebagai minyak atsiri yang memberi bau harum dan bau khas pada tumbuhan dan bunga. Selain itu terpenoid juga terdapat dalam jamur, invertebrata laut dan feromon serangga. Sebagian besar terpenoid ditemukan dalam bentuk glikosida atau glikosil ester. Terpenoid dari tumbuhan biasanya digunakan sebagai senyawa aromatik yang menyebabkan bau pada *eucalyptus*, pemberi rasa pada kayu manis, cengkeh, jahe dan pemberi warna kuning pada bunga. Terpenoid tumbuhan mempunyai manfaat penting sebagai obat tradisional, anti bakteri, anti jamur dan gangguan kesehatan (Thomson, 2004).

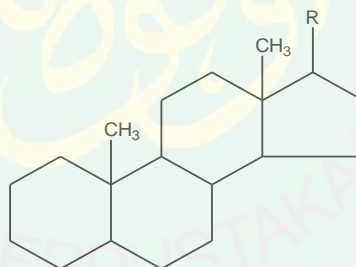


Gambar 2.6 Contoh Struktur Senyawa Triterpenoid (Robinson, 1995)

Soemiarti (2009) melakukan isolasi akar tanaman *garcinia* menggunakan pelarut diklorometana, hasil uji fitokimia menunjukkan adanya senyawa triterpenoid. Bawa (2009) mengisolasi senyawa triterpenoid dari daging buah pare menggunakan pelarut metanol.

2.5.5 Steroid

Steroid merupakan golongan lipid yang diturunkan dari senyawa jenuh yang dinamakan siklopentanoperhidrofenantrena, yang memiliki inti dengan 3 cincin sikloheksana terpadu dan 1 cincin siklopentana yang tergabung pada ujung cincin sikloheksana tersebut (Poedjiadi, 1994). Steroid tersusun dari isoprenisopren dari rantai panjang hidrokarbon yang menyebabkan sifatnya non-polar. Beberapa senyawaan steroid mengandung gugus $-OH$ yang sering disebut dengan sterol, sehingga sifatnya yang cenderung lebih polar. Beberapa turunan steroid yang penting ialah steroid alkohol atau sterol. Steroid yang ditemukan dalam jaringan tumbuhan disebut fitosterol, sedangkan yang ditemukan dalam jaringan hewan disebut kolesterol. Beberapa senyawa ini jika terdapat dalam tumbuhan akan dapat berperan menjadi pelindung.



Gambar 2.7 Struktur Inti Senyawa Steroid (Poedjiadi, 1994)

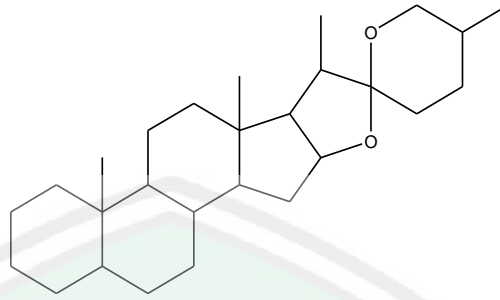
Arfianti (2008) dalam penelitiannya mengekstrak senyawa steroid dari buah mahkota dewa dengan pelarut etanol. Purwatiningsih (2003) melakukan penelitian terhadap tanaman *Fagraea racemosa jacc ex wall* menggunakan ekstraksi bertahap dengan pelarut petroleum eter, kloroform, dan metanol. Hasil uji fitokimia menunjukkan adanya senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, sterolterpenoid dan tanin. Hasil pemantauan dengan metoda KLT pada isolat spon

laut memperlihatkan pemisahan noda yang sangat baik menggunakan fase gerak n-heksana: etil asetat (7:3) dengan lampu UV₂₅₄. Isolat diduga termasuk golongan steroid karena hasil uji dengan pereaksi metanol/H₂SO₄ 10 % berwarna merah muda dan pereaksi Liebermann-Burchard berwarna hijau, sedangkan dengan vanilin asam sulfat berwarna hijau kebiruan (Handayani dkk., 2008).

2.5.6 Saponin

Saponin dibedakan sebagai saponin triterpenoid dan saponin steroid. Saponin triterpenoid umumnya tersusun dari sistem cincin oleanana atau ursana. Glikosidanya mengandung 1-6 unit monosakarida (Glukosa, Galaktosa, Ramnosa) dan aglikonnya disebut sapogenin, mengandung satu atau dua gugus karboksil. Kedua senyawa ini memiliki hubungan glikosidik pada atom C-3 dan memiliki asal usul biogenetika yang sama lewat asam mevalonat dan satuan-satuan isoprenoid (Louis, 2004).

Saponin berasal dari bahasa latin *sapo* yang berarti sabun, karena sifatnya menyerupai sabun. Saponin adalah senyawa aktif yang memiliki permukaan kuat, menimbulkan busa jika dikocok dengan air dan pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah. Saponin dalam larutan yang sangat encer dapat sebagai racun ikan, selain itu saponin juga berpotensi sebagai antimikroba, sehingga dapat digunakan sebagai bahan baku sintesis hormon steroid. Kadar saponin yang sangat kecil pun mampu melumpuhkan fungsi pernafasan dari insang (Gunawan, 2004).



Gambar 2.8 Struktur Inti Senyawa Saponin (Robinson, 1995)

Menurut Gunawan (2004) saponin mempunyai rasa pahit, dapat mengadsorpsi Ca dan Si dan membawanya dalam saluran pencernaan. Saponin bila terhidrolisis akan menghasilkan aglikon yang disebut sapogenin. Ini merupakan suatu senyawa yang mudah dikristalkan lewat asetilasi sehingga dapat dimurnikan dan dipelajari lebih lanjut. Saponin yang berpotensi keras atau beracun seringkali disebut saptotoksin. Saponin memiliki berat molekul tinggi sehingga menjadikan upaya isolasi untuk mendapatkan saponin yang murni menemui banyak kesulitan. Lutfillah (2008) dalam penelitiannya menunjukkan adanya senyawa saponin dari ekstrak tanaman angret dengan pelarut etanol.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu Dan Tempat Penelitian.

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April-Mei 2014 di Laboratorium Kimia Analitik Jurusan Kimia UIN MALIKI Malang.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat Penelitian

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

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis), etanol, etil asetat dan n-heksana, asam sulfat, logam Mg, Formaldehid, asam klorida, asam asetat anhidrida, reagen mayer, asam asetat glasial, reagen Dragendrof, reagen Lieberman-Burchard, larutan gelatin, kertas saring, aluminium foil, larva udang (*Artemia salina* Leach), dimetil sulfoksida (DMSO), ragi roto dan air laut.

3.3 Tahapan-tahapan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tahapan-tahapan sebagai berikut:

1. Uji kadar air.
2. Preparasi sampel.
3. Ekstraksi senyawa aktif dengan maserasi.
4. Uji toksisitas dengan larva udang *Artemia salina* Leach.
5. Uji fitokimia

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Analisis Kadar Air

Analisis kadar air dilakukan dengan metode *thermografi* yaitu dengan pemanasan. Analisis ini yang dilakukan yaitu menggunakan daun binahong sebanyak 3 kali pengulangan. Cawan yang digunakan dipanaskan dahulu dalam oven pada suhu 100–105°C sekitar 15 menit untuk menghilangkan kadar airnya, kemudian disimpan cawan dalam desikator sekitar 10 menit. Cawan tersebut selanjutnya ditimbang dan dilakukan perlakuan yang sama sampai diperoleh berat cawan yang konstan. Sampel dipotong kecil-kecil, ditimbang sebanyak 5 g dan dimasukkan ke dalam cawan yang telah diketahui beratnya, selanjutnya dikeringkan di dalam oven pada suhu 100–105°C selama sekitar 1 jam. Sampel kering didinginkan dalam desikator dan ditimbang. Sampel dipanaskan kembali dalam oven \pm 20 menit pada suhu yang sama, didinginkan dalam desikator dan ditimbang kembali. Perlakuan ini diulangi sampai tercapai berat konstan. Kadar air dihitung menggunakan rumus pada lampiran 1.

3.4.2 Preparasi Sampel

Sebanyak 1 Kg daun binahong dicuci bersih, diiris kecil-kecil dan dikeringkan dalam oven dengan suhu 37–40 °C selama 1–2 jam kemudian dijemur sampai diperoleh berat konstan (kering). Daun binahong yang kering kemudian dihaluskan menjadi serbuk dan diayak dengan ukuran 60 *mesh*, hasil yang diperoleh digunakan sebagai sampel penelitian.

3.4.3 Ekstraksi Senyawa Aktif dengan Metode Maserasi

Ekstraksi komponen aktif dilakukan dengan cara ekstraksi maserasi/perendaman dengan pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda yaitu n-heksana, etil asetat dan metanol. Serbuk daun binahong ditimbang sebanyak 50 g direndam dengan n-heksana sebanyak 150 mL dan dimaserasi selama 24 jam dengan pengocokan selama 3 jam menggunakan *Shaker*, kemudian disaring dan ampas yang diperoleh dimaserasi kembali dengan pelarut dan perlakuan yang sama sampai tiga kali pengulangan sehingga diperoleh filtrat yang warnanya pucat. Selanjutnya disaring dan ampas dikeringkan agar terbebas dari pelarut n-heksana. Ketiga filtrat yang diperoleh selanjutnya digabung menjadi satu.

Ampas yang telah kering dimaserasi kembali menggunakan 150 mL pelarut etil asetat selama 24 jam dengan pengocokan selama 3 jam menggunakan *Shaker*, kemudian disaring dan ampas yang diperoleh dimaserasi kembali dengan pelarut dan perlakuan yang sama sampai tiga kali pengulangan sehingga diperoleh filtrat yang warnanya pucat. Selanjutnya disaring dan ampas dikeringkan agar terbebas dari pelarut etil asetat. Ketiga filtrat yang diperoleh selanjutnya digabung menjadi satu.

Ampas yang telah kering dimaserasi kembali menggunakan 150 mL pelarut etanol selama 24 jam dengan pengocokan selama 3 jam menggunakan *Shaker*, kemudian disaring dan ampas yang diperoleh dimaserasi kembali dengan pelarut dan perlakuan yang sama sampai tiga kali pengulangan sehingga diperoleh filtrat yang warnanya pucat. Selanjutnya disaring dan ampas dikeringkan agar terbebas dari pelarut etanol. Ketiga filtrat yang diperoleh selanjutnya digabung menjadi satu.

Ketiga ekstrak yang diperoleh dipisahkan dengan *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak pekat n-heksana, etil asetat dan etanol. Ketiga ekstrak pekat yang diperoleh selanjutnya diuji toksisitasnya dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach dan diuji fitokimia dengan uji reagen terhadap ekstrak yang memiliki nilai $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$ dari hasil uji toksisitas.

3.4.4 Uji Toksisitas dengan Larva Udang *Artemia salina* Leach

3.4.4.1 Penetasan Telur

Disiapkan bejana untuk penetasan telur udang. Di satu ruang dalam bejana tersebut diletakkan lampu untuk menghangatkan suhu dalam penetasan, sedangkan di ruang sebelahnya diberi air laut. Kedalam air laut dimasukkan \pm 50–100 mg telur udang untuk ditetaskan. Pada bagian telur ditutup dengan aluminium foil, dan lampu dinyalakan selama 24–48 jam untuk menetas telur. Larva udang diambil untuk dilakukan pengujian. Persiapan larutan sampel yang akan diuji. Ekstrak yang akan diuji dibuat dalam konsentrasi 5, 10, 15, 20, 25, 50,

75 dan 100 ppm dalam air laut. Bila sampel tidak larut ditambahkan 2 tetes DMSO.

3.4.4.2 Uji Toksisitas

Perlakuan uji toksisitas dilakukan sebanyak 3 kali ulangan pada masing-masing ekstrak sampel. Botol disiapkan untuk pengujian, masing-masing ekstrak membutuhkan 8 botol dan 3 botol sebagai kontrol. Ekstrak kental n-heksana, etil asetat, dan etanol ditimbang sebanyak 100 mg dan dilarutkan dengan menggunakan pelarutnya masing-masing sebanyak 10 mL untuk membuat larutan stok 10.000 ppm. Dari larutan stok tersebut kemudian dipipet sesuai dengan konsentrasinya, sehingga konsentrasinya masing-masing larutan menjadi 5, 10, 15, 20, 25, 50, 75 dan 100 ppm. dimasukkan ke dalam botol dan pelarutnya dibiarkan selama 24 jam. Selanjutnya dimasukkan 100 μ L dimetil sulfoksida (DMSO), 2 mL air laut dan 10 ekor larva udang. Kemudian ditambahkan air laut sampai volumenya menjadi 10 mL.

Kontrol dibuat dengan dimasukkan 2 mL air laut, 100 μ L dimetil sulfoksida, 10 ekor larva udang dan setetes larutan ragi roti ke dalam botol, kemudian ditambahkan air laut sampai volumenya menjadi 10 mL. Pengamatan dilakukan selama 24 jam terhadap kematian larva udang. Selanjutnya dihitung mortalitas dengan cara: akumulasi mati dibagi jumlah akumulasi hidup dan mati (total) dikali 100 %. Grafik dibuat dengan log konsentrasi sebagai sumbu x terhadap mortalitas sebagai sumbu y. Nilai LC_{50} merupakan konsentrasi dimana zat menyebabkan kematian 50 % yang diperoleh dengan memakai persamaan

regresi linier $y = a + bx$. Suatu zat dikatakan aktif atau toksik bila nilai $LC_{50} < 1000$ ppm untuk ekstrak dan < 30 ppm untuk suatu senyawa (Juniarti dkk., 2009).

3.4.5 Uji Fitokimia dengan Uji Reagen

Uji fitokimia kandungan senyawa aktif dengan uji reagen dari ekstrak pekat etil asetat, diklorometana dan petroleum eter dari tanaman anting-anting dilarutkan dengan sedikit masing-masing pelarutnya. Kemudian dilakukan terhadap uji alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid dan steroid.

3.4.5.1 Uji Alkaloid

Ekstrak daun binahong dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah 0,5 mL HCl 2 % dan larutan dibagi dalam dua tabung. Tabung I ditambahkan 2–3 tetes reagen Dragendorff, tabung II ditambahkan 2–3 tetes reagen Mayer. Jika tabung I terbentuk endapan jingga dan pada tabung II terbentuk endapan kekuning-kuningan, menunjukkan adanya alkaloid.

3.4.5.2 Uji Flavonoid

Ekstrak daun binahong dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian dilarutkan dalam 1–2 mL metanol panas 50 %. Setelah itu ditambah logam Mg dan 4–5 tetes HCl pekat. Larutan berwarna merah atau jingga yang terbentuk, menunjukkan adanya flavonoid.

3.4.5.3 Uji Tanin

3.4.5.3.1 Uji dengan FeCl₃

Ekstrak daun binahong ditambahkan dengan 2–3 tetes larutan FeCl₃ 1 %. Jika larutan menghasilkan warna hijau kehitaman atau biru tinta, maka bahan tersebut mengandung tanin.

3.4.5.3.2 Uji dengan Larutan Gelatin

Ekstrak daun binahong dimasukkan dalam tabung reaksi ditambah dengan larutan gelatin. Jika terbentuk endapan putih, menunjukkan adanya tanin.

3.4.5.4 Uji Saponin

Ekstrak daun binahong dimasukkan dalam tabung reaksi ditambah 10 mL air sambil dikocok selama 1 menit, apabila menimbulkan busa ditambahkan 2 tetes HCl 1 N, bila busa yang terbentuk bisa tetap stabil maka ekstrak positif mengandung saponin.

3.4.5.5 Uji Triterpenoid dan Steroid

Ekstrak daun binahong dimasukkan dalam tabung reaksi, dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform lalu dipanaskan dan didinginkan. Diambil 1 mL dan dimasukkan dalam tabung reaksi lalu ditetaskan pereaksi Liebermann-burchard. Jika hasil yang diperoleh berupa cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut menunjukkan adanya triterpenoid, sedangkan jika terbentuk warna hijau kebiruan menunjukkan adanya steroid.

3.5 Analisis Data

Data uji toksisitas dianalisis untuk menguji adanya pengaruh atau perbedaan antara perlakuan konsentrasi ekstrak daun binahong terhadap pertumbuhan *Artemia Salina* Leach. Data yang diperoleh dibuat dalam bentuk tabel dan grafik, kemudian dideskripsikan hasilnya. Tingkat toksisitas larva udang *Artemia salina* Leach dapat diketahui dengan melakukan uji LC₅₀ menggunakan program MINITAB 14.



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Analisis Kadar Air

Pengukuran kadar air ini dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali untuk memperoleh keakuratan data. Sampel daun binahong dipotong kecil-kecil agar luas permukaannya semakin besar, sehingga dapat mempercepat proses pengeringan dan tercapainya berat konstan yang menunjukkan air yang terdapat dalam tanaman telah teruapkan secara maksimal. Data perhitungan kadar air sampel daun binahong ditunjukkan pada lampiran 4 dan nilai pengukuran kadar air pada daun binahong didapatkan rata-rata 79,9311 %.

Kandungan air dalam bagian daun cukup tinggi disebabkan karena stomata di bagian daun merupakan pusat terjadinya fotosintesis yang kaya akan kandungan air, yang mana air akan bereaksi dengan karbondioksida yang dapat menghasilkan energi dan oksigen yang akan dikeluarkan saat respirasi (Kimball, 1983).

Penentuan kadar air ini sangat penting karena jumlah kadar air yang terkandung dalam suatu sampel akan berpengaruh pada stabilitas dan kualitas sampel. Kandungan air dalam sampel akan mempengaruhi proses ekstraksi senyawa aktif. Semakin rendah kadar air dalam suatu sampel, maka pelarut akan semakin mudah untuk mengekstrak senyawa aktif dalam sampel sehingga kandungan senyawa yang dihasilkan semakin banyak.

4.2 Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah bagian daun binahong yang segar. Sampel daun binahong dicuci bersih untuk menghilangkan kotoran yang berupa debu atau kotoran lainnya yang dapat mengganggu dalam proses ekstraksi kemudian dikeringanginkan agar sisa air hasil pencucian dapat kering. Kemudian dipotong kecil-kecil daun binahong untuk memperbesar luas permukaan, sehingga mudah mempercepat proses pengeringan dan proses penggilingan sampel menjadi serbuk. Dikeringkan sampel dalam oven pada suhu 37–40 °C selama \pm 24 jam. Pengeringan dimaksudkan untuk mengurangi kadar air dan mencegah tumbuhnya jamur, dengan tujuan sampel daun binahong dapat disimpan lebih lama dan tidak rusak, sehingga komposisi kimianya tidak mudah mengalami perubahan.

Daun binahong kering berwarna hijau kecoklatan dihaluskan menjadi serbuk menggunakan blender, sehingga diperoleh serbuk sampel berwarna hijau dan memiliki bau seperti daun pacar, fungsi sampel dihaluskan menjadi serbuk agar dalam proses pemisahan dihasilkan ekstrak yang maksimal, disamping itu mempermudah proses ekstraksi. Pengayakan serbuk menggunakan ayakan dengan ukuran 60 *mesh*, dikarenakan apabila semakin kecil bentuk sampel maka semakin besar luas permukaan yang diperoleh, sehingga dalam proses ekstraksi semakin efektif. Serbuk dengan penghalusan yang tinggi kemungkinan sel-sel yang rusak juga semakin besar, sehingga memudahkan pengambilan bahan kandungan langsung oleh bahan pelarut (Octavia, 2009). Hasil yang diperoleh kemudian digunakan sebagai sampel penelitian.

4.3 Ekstraksi Maserasi

Serbuk sampel ditimbang sebanyak 50 g, kemudian diekstraksi dengan variasi pelarut berdasarkan kepolarannya agar senyawa yang terkandung dalam daun binahong ini dapat terekstrak ke dalam pelarut berdasarkan tingkat kepolarannya tersebut. Ekstraksi yang digunakan yaitu ekstraksi maserasi karena pengerjaannya cukup sederhana.

Prinsip utama dalam maserasi sampel ini adalah mengekstrak senyawa aktif yang dapat larut dalam pelarut berdasarkan tingkat kepolaran masing-masing pelarutnya atau dikenal dengan istilah *like dissolves like*. Senyawa polar akan terekstrak dalam pelarut etanol, senyawa semipolar akan terekstrak dalam pelarut etil asetat dan senyawa nonpolar akan terekstrak dalam pelarut n-heksana. Ampas hasil penyaringan akhir masing-masing pelarut dikeringanginkan untuk menguapkan pelarut sebelumnya agar tidak mengganggu dalam proses ekstraksi dengan pelarut yang berbeda tingkat kepolarannya.

Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk sampel selama 24 jam ke dalam pelarutnya. Proses pengadukan dibantu dengan *shaker* selama 3 jam untuk mempercepat proses ekstraksinya karena kecepatan pengadukannya dapat dilakukan secara konstan. Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung senyawa aktif. Senyawa aktif akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan senyawa aktif di dalam dan di luar sel, maka cairan hipertonis akan masuk ke cairan yang hipertonis sehingga terjadi keseimbangan. Pengadukan diperlukan untuk meratakan konsentrasi larutan di luar serbuk sampel sehingga tetap terjaga adanya derajat perbedaan

konsentrasi yang sekecil-kecilnya antara larutan di dalam dan di luar sel (Baraja, 2008).

Perendaman sampel dilakukan dalam waktu 24 jam dengan pelarut n-heksana sebanyak 150 mL, pengadukan dibantu *shaker* selama 3 jam untuk mempercepat kelarutan senyawa ke dalam pelarutnya. Tahap selanjutnya dilakukan pengantian pelarut yang sama pada setiap harinya sampai diperoleh filtrat yang berwarna pucat. Perubahan filtrat yang diperoleh dari warna hijau tua pekat hingga berwarna hijau pucat sebagaimana pada Tabel 4.2.

Ampas hasil penyaringan dimaserasi kembali dengan pelarut etil asetat sampai diperoleh filtrat yang berwarna pucat seperti proses maserasi dengan pelarut n-heksana sampai diperoleh filtrat yang warnanya pucat. Filtrat yang diperoleh hasil maserasi dengan etil asetat yaitu berwarna hijau kecoklatan pekat hingga hijau kecoklatan pucat, sedangkan hasil dari maserasi etanol filtratnya berwarna hijau kecoklatan pekat hingga hijau kuning pucat sebagaimana pada Table 4.2. Ekstraksi dihentikan sampai filtrat berwarna pucat, diharapkan senyawa-senyawa yang memiliki kepolaran yang sesuai dengan masing-masing pelarut itu dapat terekstrak secara maksimal.

Filtrat hasil dari maserasi masing-masing pelarut yang diperoleh selanjutnya diuapkan pelarutnya dengan *rotary evaporator vaccum* untuk mendapatkan ekstrak pekat yang akan digunakan untuk pengujian selanjutnya. Suhu penguapan masing-masing pelarut pada ekstrak diatur berdasarkan suhu titik didihnya. Adanya tekanan yang diberikan oleh pompa vakum pada rangkaian *rotari evaporator vaccum* maka pelarut dapat menguap lebih dahulu dibawa titik didihnya.

Penguapan pelarut dengan *rotari evaporator vaccum* dihentikan sampai diperoleh ekstrak yang cukup pekat, selanjutnya pelarut yang masih ada dalam ekstrak diuapkan dalam desikator vakum. Hasil ekstraksi ditunjukkan pada Tabel 4.1 dengan perhitungan pada Lampiran 5.

Tabel 4.1 Hasil maserasi serbuk daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis)

Pelarut	Volume pada filtrat (mL)	Perubahan warna filtrat	Warna ekstrak pekat	Berat ekstrak pekat (g)
n-heksana	86	Hijau tua pekat menjadi hijau pucat	Kuning kehijauan	1,2183
Etil asetat	125	Hijau kecoklatan menjadi hijau kecoklatan pucat	Hijau tua kecoklatan	0,9178
Etanol	168	Hijau kecoklatan menjadi hijau kekuningan pucat	Hijau tua	1,1296

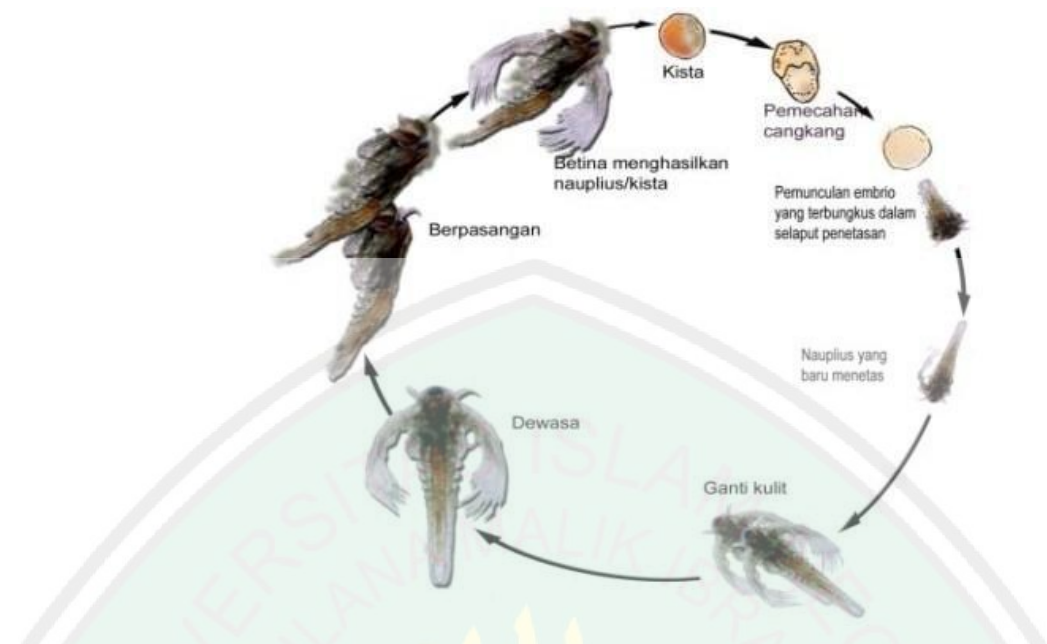
Berdasarkan Tabel 4.1 dapat diketahui bahwa berat ekstrak pekat n-heksana dan ekstrak pekat etanol menunjukkan nilai yang hampir sama besarnya, hal ini menunjukkan bahwa kandungan senyawa-senyawa non polar dan polar dalam daun binahong lebih besar daripada senyawa-senyawa semipolar. Hasil ekstrak pekat yang diperoleh pada masing-masing pelarut digunakan untuk uji selanjutnya, yaitu uji toksisitas dengan menggunakan *Artemia salina* Leach dan uji fitokimia dengan menggunakan reagen.

4.4 Uji Toksisitas Menggunakan Larva Udang *Artemia salina* Leach

Uji toksisitas terhadap larva udang *Artemia salina* Leach atau *Brine shrimp Lethality Test* (BSLT) dapat digunakan sebagai uji pendahuluan pada penelitian yang mengarah pada uji sitotoksik. Korelasi antara uji toksisitas akut ini dengan uji sitotoksik adalah jika mortalitas terhadap *Artemia salina* Leach yang ditimbulkan memiliki harga $LC_{50} < 100 \mu\text{g/mL}$. Parameter yang ditunjukkan untuk menunjukkan adanya aktivitas biologi pada suatu senyawa pada *Artemia salina* Leach adalah kematiannya (Meyer *et al.*, 1982 dalam Farihan, 2006).

4.4.1 Penetasan Telur

Penetasan telur dilakukan dengan memasukkan telur *Artemia salina* Leach ke dalam air laut sambil diaerasi untuk mengontakkan dengan udara selama 48 jam. Proses penetasan *Artemia salina* Leach ada beberapa tahap yaitu tahap hidrasi, pecahnya cangkang dan tahap payung atau tahap pengeluaran. Tahap hidrasi terjadi penyerapan air sehingga telur yang diawetkan dalam bentuk kering tersebut akan menjadi bulat dan aktif bermetabolisme. Tahap selanjut yaitu tahap pecahnya cangkang yang disusul dengan tahap pecahnya payung yang terjadi beberapa saat sebelum naupil (larva) keluar dari cangkang sebagaimana pada Gambar 4.1. (Isnansyoto dan Kurniastuty, 1995 dalam Farihin, 2008).



Gambar 4.1 Siklus penetasan *Artemia salina* L. (Anonymous, 2014)

Artemia yang baru menetas disebut dengan nauplius. Nauplius berwarna orange, berbentuk bulat lonjong dengan panjang sekitar 400 mikron, lebar sekitar 170 mikron, dan berat 0,002 mg. Ukuran-ukuran tersebut sangat tergantung berdasarkan strainnya. Nauplius mempunyai sepasang antenulla dan sepasang antenna. Antenulla berukuran lebih kecil dan pendek dibandingkan dengan antenna. Selain itu, diantara antenulla terdapat bintik mata yang disebut dengan ocellus. Sepasang mandibula rudimenter terdapat di belakang antenna. Sedangkan labrum (semacam mulut) terdapat di bagian ventral.

Masing-masing larutan ekstrak n-heksana, etil asetat dan etanol dibuat dengan konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm dan 100 ppm serta sebagai kontrol yaitu 0 ppm yaitu pelarutnya tanpa penambahan ekstrak. Sepuluh larva udang *Artemia salina* Leach digunakan sebagai hewan uji toksisitas dalam setiap konsentrasi masing-masing ekstrak.

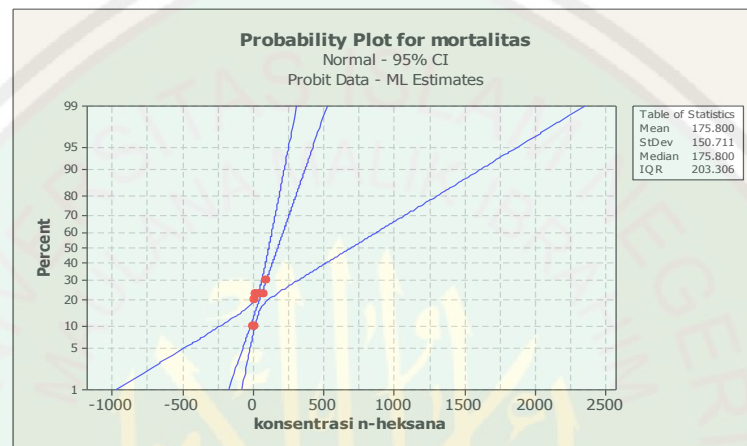
Perlakuan uji toksisitas ini dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan untuk mendapatkan keakuratan data.

4.4.2 Uji Toksisitas

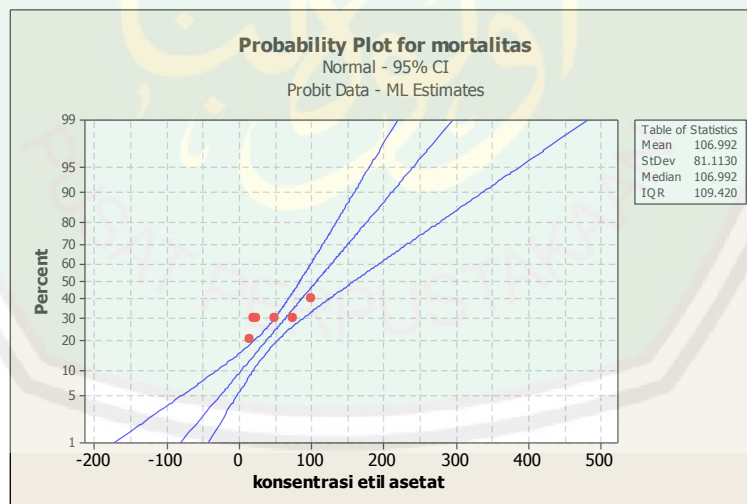
Perlakuan uji toksisitas dilakukan 3 kali pengulangan pada masing-masing ekstrak sampel. Larutan uji dibuat dari larutan stok 10000 ppm dengan mengambil 5 μL , 10 μL , 15 μL , 20 μL , 25 μL , 50 μL , 75 μL dan 100 μL masing ekstrak ke dalam botol vial. Selanjut pelarut masing-masing ekstrak diuapkan sampai kering dalam desikator agar kematian larva tidak dipegaruhi pelarutnya. Setelah pelarutnya mengering, ditambahkan dengan 100 μL DMSO (dimetil sukfoksida) dan sedikit air laut kemudian dilarutkan sampai ekstraknya larut seluruhnya. Pelarutan ekstrak dengan air laut sering menimbulkan masalah karena adanya perbedaan tingkat kepolaran, ekstrak tidak mampu larut dengan air laut sehingga digunakan DMSO untuk melarutkannya. DMSO digunakan sebagai sulfaktan karena ekstrak tidak dapat larut dalam air laut. Surfaktan merupakan senyawa yang memiliki ujung hidrofilik dan hidrofobik sehingga dapat melarutkan ekstrak dengan air laut.

Ekstrak yang telah larut dengan air laut selanjutnya dipindahkan dalam labu ukur 10 mL. Larva udang *Artemia salina* Leach selanjutnya dimasukkan sebanyak 10 ekor ke dalam labu ukur yang berisi ekstrak yang telah larut dengan air laut. Kemudian ditambahkan 1 tetes larutan ragi roti dan ditambahkan dengan air laut sampai tanda batas. Ragi roti merupakan makanan untuk artemia, dibuat dalam bentuk larutan karena artemia hanya dapat menelan makanan yang berukuran kecil yaitu kurang dari 50 mikron dan artemia akan menelan makanannya

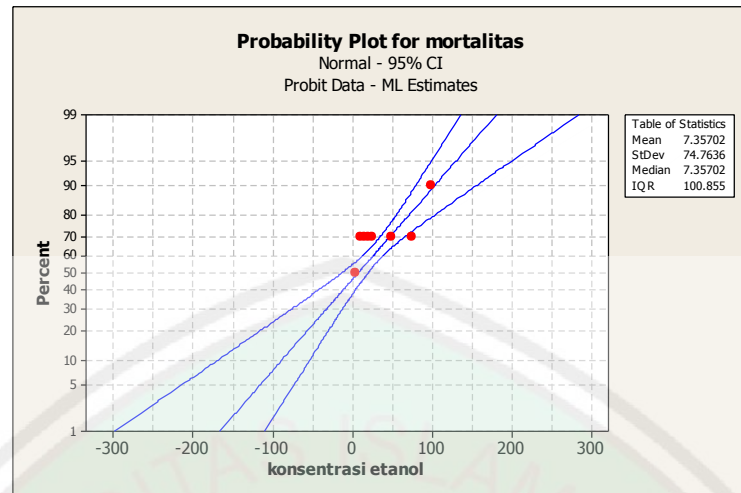
secara langsung. Kontrol dibuat dengan cara yang sama yaitu dengan membuat larutan yang sama kecuali penambahan ekstrak. Hasil uji toksisitas ketiga ekstrak dan hasil analisa dengan program Minitab 14 dengan tingkat kepercayaan 95 % serta Tabel data kematian larva dapat dilihat pada Lampiran 6. Kurva mortalitas larva udang dapat dilihat pada Gambar 4.2, 4.3 dan 4.4.



Gambar 4.2 Kurva mortalitas larva udang *Artemia salina* Leach ekstrak n-heksana



Gambar 4.3 Kurva mortalitas larva udang *Artemia salina* Leach ekstrak etil asetat



Gambar 4.4 Kurva mortalitas larva udang *Artemia salina* Leach ekstrak etanol

Gambar 4.2, 4.3 dan 4.4 tersebut menunjukkan bahwa semakin besar nilai konsentrasi masing-masing ekstrak maka mortalitas terhadap *Artemia* juga semakin besar. Daerah di sebelah kanan kurva menunjukkan presentasi kematian *Artemia* sedangkan daerah di sebelah kiri kurva menunjukkan presentasi *Artemia* yang masih bertahan hidup pada masing-masing konsentrasi ekstrak pelarut. Kurva sebelah kanan menunjukkan kurva dari nilai *lower*, kurva tengah menunjukkan kurva *perctile* dan sebelah kiri menunjukkan kurva *upper*. Adanya penambahan masing-masing ekstrak meyebabkan kematian *Artemia* yang mengalami disorientasi gerak (geraknya tidak beraturan). Hal ini membuktikan adanya sifat toksik dari masing-masing ekstrak daun binahong dengan adanya kematian pada hewan uji *Artemia*. Dan berdasarkan kurva di atas, ketiga ekstrak n-heksana, etil asetat dan etanol, masing-masing diperoleh nilai LC_{50} sebesar 175,800 ppm, 106,992 ppm dan 7,35702 ppm yang dapat dilihat dari median pada masing-masing kurva di atas. Hasil LC_{50} ketiga ekstrak tersebut menunjukkan bahwa tingkat toksisitas senyawa dalam ekstrak etanol lebih besar daripada ekstrak n-heksana dan ekstrak etil asetat dan dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil Nilai LC₅₀ pada Masing-masing Ekstrak

Sampel ekstrak	Nilai LC ₅₀ (ppm)
n-heksana	175,800
etil asetat	106,992
etanol	7,35702

Meyer (1982) dalam Farihan (2006) melaporkan bahwa suatu ekstrak menunjukkan aktivitas ketoksikan dalam BSLT jika ekstrak dapat menyebabkan kematian 50 % hewan uji pada konsentrasi kurang dari 1000 ppm. Pernyataan di atas menunjukkan ketiga ekstrak daun binahong bersifat toksik terhadap *Artemia* karena memiliki nilai LC₅₀ < 1000 ppm.

Hasil LC₅₀ ketiga ekstrak tersebut menunjukkan bahwa tingkat toksisitas senyawa dalam ekstrak etanol > ekstrak etil asetat > ekstrak n-heksana. Ketoksikan ekstrak etanol lebih toksik daripada ekstrak n-heksana dan etil asetat dikarenakan kandungan senyawa yang terdapat pada ekstrak etanol merupakan senyawa-senyawa yang mempunyai peran penting sebagai antimikroba/antibiotik. Selanjutnya hasil ekstrak yang mempunyai kandungan toksik yang tinggi diuji fitokimianya.

4.5 Uji Fitokimia dengan Reagen

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif pada tanaman. Pada penelitian ini pengujian dilakukan dengan cara pengambilan sedikit sampel dari ekstrak etanol pada tabung reaksi, lalu ditambahkan reagen sesuai dengan senyawa yang akan diidentifikasi. Uji fitokimia dilakukan terhadap golongan senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, triterpenoid/steroid dan saponin.

Tabel 4.3 Hasil pengamatan uji fitokimia terhadap Ekstrak etanol

Golongan Senyawa	Ekstrak Etanol
Alkaloid	++
Flavonoid	++
Tanin	+
Triterpenoid/Steroid	+
Saponin	++

Keterangan : tanda ++ : terkandung senyawa lebih banyak/warna pekat
 tanda + : terkandung senyawa/warna muda

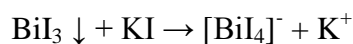
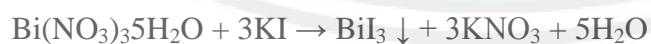
Hasil identifikasi senyawa aktif berdasarkan uji fitokimia dengan menggunakan reagen menunjukkan ketoksikan disebabkan adanya senyawa aktif golongan alkaloid, flavonoid, tanin, triterpenoid/steroid dan saponin. Pada daun binahong kandungan metabolit sekunder yang tinggi adalah flavonoid, alkaloid dan saponin. Kandungan senyawa ini mempunyai aktifitas sebagai antioksidan dan antimikroba/antibiotik, sehingga sangat baik dipakai bahan baku untuk obat tradisional. Flavonoid mempunyai fungsi sebagai antioksidan yang berfungsi sebagai pereduksi radikal bebas, selain itu juga mempunyai peranan penting dalam menghambat mikroba atau sebagai antibiotik. Secara umum jumlah kandungan flavonoid yang dominan, akan menunjukkan adanya aktifitas dari senyawa fitokimia yang berfungsi menghancurkan mikroba terutama pada kelompok bakteri gram positif (Rios dan Rico, 2005). Adapun efek antiproliferatif dari kandungan total fenol dan flavonoid adalah melindungi tubuh terhadap berbagai penyakit seperti infeksi oleh kuman, kanker, penyakit jantung koroner, diabetes, penyakit infeksi ginjal dan strok (Astuti dkk, 2011).

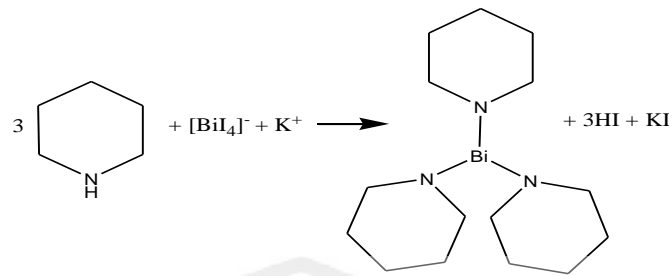
Golongan senyawa kimia yang terdapat dalam tanaman berkaitan dengan aktivitas biologis suatu tanaman. Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan

terhadap ekstrak dari seluruh bagian tanaman binahong yang memiliki senyawa fitokimia alkaloid, flavonoid, fenol, triterpenoid/steroid dan saponin yang mempunyai peran penting sebagai antimikroba/antibiotika (Astuti, 2011). Ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) memiliki kapasitas sebagai antioksidan. Sampel kering memiliki total antioksidan sebesar 3,68 mmol/100 g dan pada sampel segar sebesar 4,25 mmol/100 g (Widya dkk, 2013). Tyas dkk. (2013) menyatakan bahwa jenis asam fenolat yang terkandung dalam ekstrak etanol daun binahong diduga merupakan *p*-kumarat. Uji aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol dan isolat B (asam *p*-kumarat) menunjukkan nilai LC₅₀ masing-masing sebesar 866,8983 mg/L dan 1263,3333 mg/L.

4.5.1 Uji Alkaloid

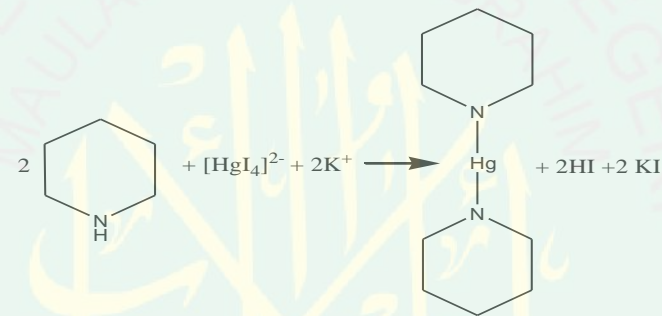
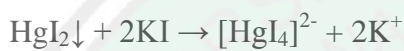
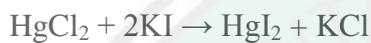
Uji adanya senyawa alkaloid dengan cara memasukkan sedikit ekstrak sampel pada tabung reaksi, kemudian ditambahkan HCl. Tujuan penambahan HCl adalah karena alkaloid bersifat basa sehingga biasanya diekstrak dengan pelarut yang bersifat asam. Bukti kualitatif untuk menunjukkan adanya alkaloid dapat diperoleh dengan menggunakan reagen Dragendorff dan Mayer. Reaksi dugaan yang terjadi pada uji alkaloid adalah sebagaimana pada reaksi berikut:





Kompleks logam dengan alkaloid (endapan jingga)

Gambar 4.5 Reaksi dugaan antara alkaloid dengan pereaksi Dragendorff (Lutfillah 2008 dalam Halimah, 2010)



Kompleks logam dengan alkaloid (endapan kekuning-kuningan)

Gambar 4.6 Reaksi dugaan antara alkaloid dengan pereaksi Mayer (Lutfillah 2008 dalam Halimah, 2010)

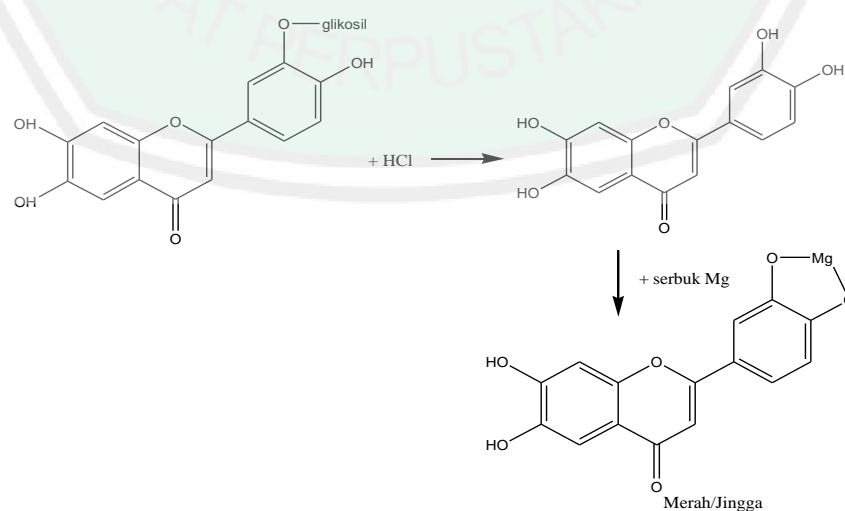
Uji hasil alkaloid pada penelitian ekstrak etanol positif mengadung senyawa alkaloid karena terbentuknya endapan jingga ketika ditambahkan reagen Dragendorff. Endapan terbentuk karena adanya pembentukan kompleks antara ion logam dari pereaksi yang digunakan dengan senyawa alkaloid.

4.5.2 Flavonoid

Uji flavonoid dilakukan dengan mengambil sedikit sampel, dilarutkan dengan metanol 50 % panas kemudian ditambahkan logam Mg dan HCl pekat. Penambahan HCl pekat dalam uji flavonoid digunakan untuk menghidrolisis

flavonoid menjadi aglikonnya, yaitu dengan manghidrolisis O-glikosil. Glikosil akan tergantikan oleh H^+ dari asam karena sifatnya yang elektrofilik. Flavonoid biasanya terdapat flavonoid O-glikosida. Senyawa tersebut mengandung satu gugus hidroksil flavonoid (atau lebih) terikat pada satu gula (atau lebih) dengan ikatan hemiasetal (reaksi antara gugus aldehid dan alkohol) yang tidak tahan asam (Markham, 1998).

Suatu glikosida akan terurai kembali atas komponen-komponennya menghasilkan gula dan alkohol yang sebanding ketika flavonoid dihidrolisis oleh asam. Alkohol yang dihasilkan disebut aglikon, sehingga dengan penambahan HCl pekat dapat menghidrolisis flavonoid dan glikosida terurai kembali. Residu gula dari glikosida flavonoid adalah glukosa, ranmosa, galaktosa dan gentiobiosa sehingga glikosa tersebut masing-masing disebut dengan glukosida, ramnosida, galaktosida dan gentiobiosa (Lenny, 2006). Reduksi dengan Mg dan HCl pekat ini menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna merah atau jingga pada flavonol, flavonon, flavononol dan xanton (Robinson, 1995). Ekstrak etanol menghasilkan larutan berwarna jingga.



Gambar 4.7 Reaksi dugaan antara flavonoid dengan serbuk Mg HCl pekat (Hidayat, 2004)

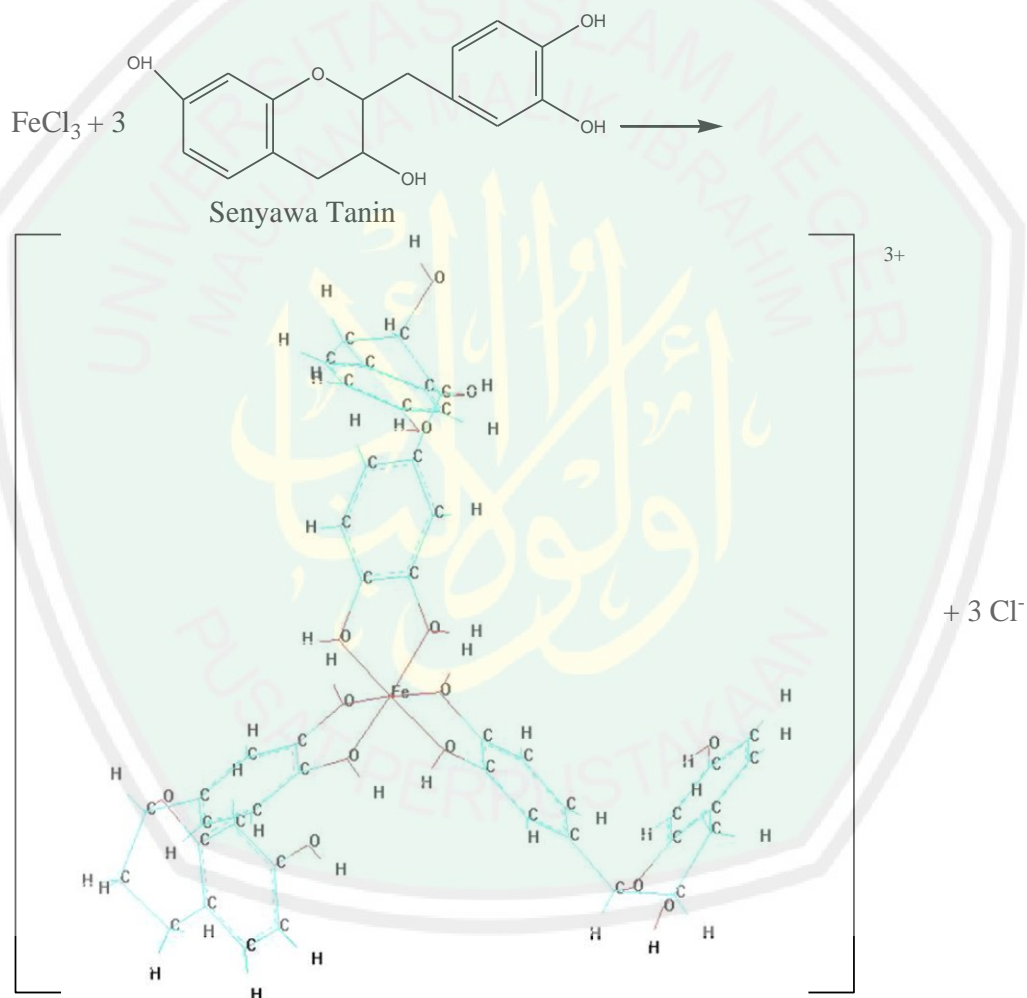
Flavonoid sering menjadi senyawa pereduksi yang baik untuk menghambat banyak reaksi oksidasi, baik secara enzimatik maupun non enzimatik, sehingga flavonoid merupakan suatu antioksidan yang berperan dalam penghambatan pertumbuhan sel kanker. Senyawa antioksidan akan menetralkan radikal bebas yang merupakan salah satu penyebab kanker (Lisdawati, 2002).

Flavonoid adalah komponen fenolik yang terdapat dalam buah-buahan, sayur-sayuran yang bertindak sebagai penumpang yang baik terhadap radikal hidroksil dan superoksida, dengan melindungi lipid membran terhadap reaksi oksidasi yang merusak (Robinson, 1995). Mekanisme kerja antioksidan memiliki dua fungsi. Fungsi pertama merupakan fungsi utama dari antioksidan yaitu sebagai pemberi atom hidrogen. Fungsi kedua merupakan fungsi sekunder antioksidan, yaitu memperlambat laju autooksidasi dengan berbagai mekanisme diluar mekanisme pemutusan rantai autooksidasi dengan pengubahan radikal lipida ke bentuk lebih stabil (Gordon, 1993 dalam Jati, 2008).

4.5.3 Tanin

Uji fitokimia senyawa tanin dalam penelitian ini yaitu dengan menambahkan ekstrak dengan larutan FeCl_3 hasil positifnya membentuk warna hijau kehitaman. Terjadinya pembentukan warna ini disebabkan karena terbentuknya senyawa kompleks antara logam Fe dan tanin. Senyawa kompleks terbentuk karena adanya ikatan kovalen koordinasi antara ion/atom logam dengan atom non logam (Effendy, 2007). Uji fitokimia dengan menggunakan FeCl_3 digunakan untuk menentukan apakah suatu sampel mengandung gugus fenol. Dengan adanya gugus fenol ditunjukkan dengan warna hijau kehitaman atau biru

tinta, sehingga apabila uji fitokimia dengan FeCl_3 memberikan hasil positif dimungkinkan dalam suatu sampel terdapat suatu senyawa fenol dan dimungkinkan salah satunya adalah tanin karena tanin merupakan senyawa polifenol. Terbentuknya warna hijau kehitaman atau biru tinta pada ekstrak setelah ditambahkan dengan FeCl_3 karena tanin akan membentuk senyawa kompleks dengan FeCl_3 .



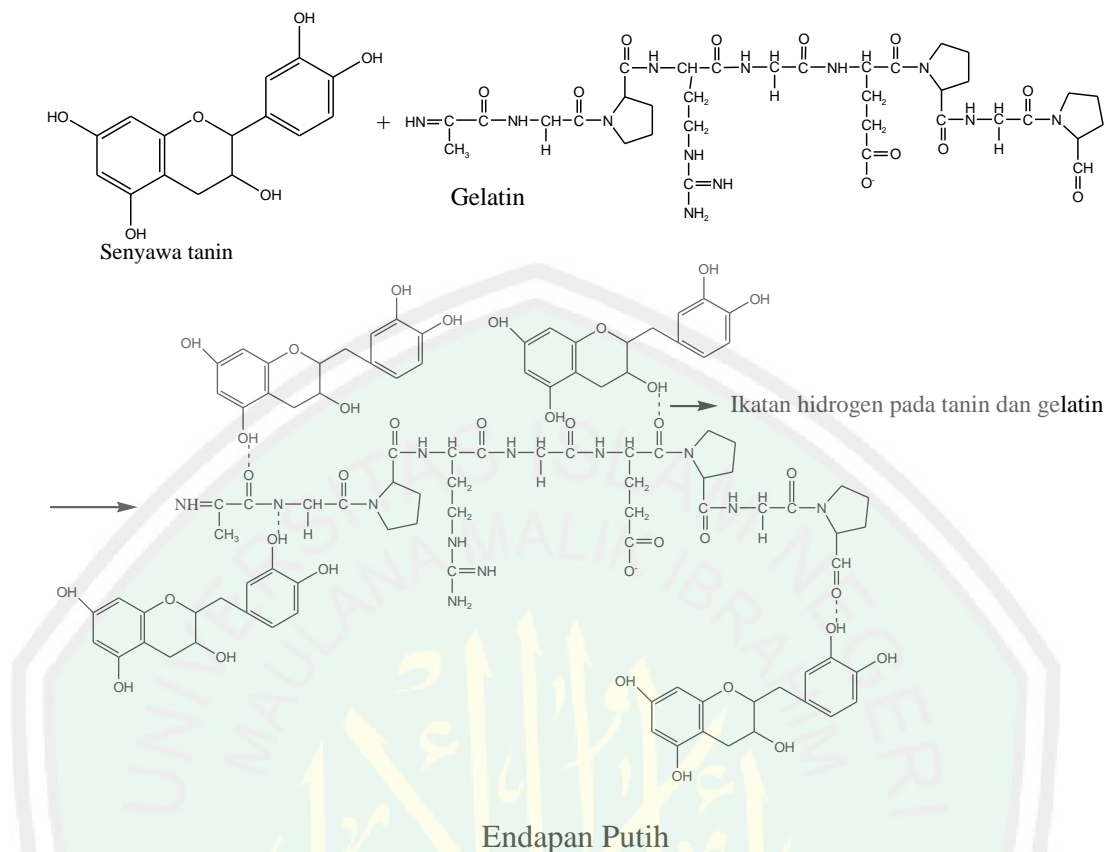
Hijau Kehitaman

Gambar 4.8 Reaksi dugaan antara senyawa tanin dengan FeCl_3 (Halimah, 2010)

Kecenderungan Fe dalam pembentukan senyawa kompleks dapat mengikat 6 pasang elektron bebas. Ion Fe^{3+} dalam senyawa kompleks akan terhibridisasi membentuk d^2sp^3 , sehingga akan terisi oleh 6 pasang elektron bebas atom O pada

tanin. Kestabilan dapat tercapai jika tolakan antara ligan pada 3 tanin minimal. Hal ini terjadi jika 3 tanin tersebut posisinya dijauhkan (Effendy, 2007). Berdasarkan uji fitokimia pada ekstrak etanol yang digunakan menghasilkan larutan berwarna hijau kehitaman dengan penambahan FeCl_3 .

Pengujian tanin tidak hanya dengan FeCl_3 1 % tetapi juga dengan menambahkan larutan gelatin yaitu terbentuknya endapan putih pada ekstrak maka senyawa tersebut mengandung tanin. Uji fitokimia dengan menggunakan larutan gelatin untuk memperkuat dugaan adanya senyawa tanin dalam ekstrak suatu tanaman. Harborne (1987) menyebutkan bahwa semua tanin menimbulkan endapan sedikit atau banyak jika ditambahkan dengan gelatin. Gelatin mengandung senyawa protein sehingga terbentuk senyawa tanin-protein, dikarenakan adanya ikatan hidrogen antara tanin dengan protein pada gelatin sehingga dapat terbentuk endapan putih (Lemmens dan Soetjipto, 1991). Ikatan hidrogen terjadi apabila atom H terikat oleh dua atom lain atau lebih (pada umumnya hanya dua atom) yang memiliki keelektronegatifan tinggi seperti atom N, O dan F (Effendy, 2006). Atom hidrogen dari gugus hidroksil pada tanin membentuk ikatan hidrogen dengan atom O dan atom N pada struktur gelatin. Pada penelitian ekstrak etanol terdapat sedikit endapan putih.



Gambar 4.9 Reaksi dugaan antara tanin dan gelatin (Lemmens dan Soetjipto, 1991 dalam Halimah, 2010)

4.5.4 Saponin

Pengujian saponin dilakukan dengan uji busa yaitu dengan penambahan air ke dalam ekstrak kemudian dikocok selama 1 menit. Adanya saponin ditunjukkan oleh timbulnya busa dengan ketinggian 1–10 cm yang bertahan selama 10 menit. Busa yang ditimbulkan saponin dikarenakan adanya kombinasi struktur senyawa penyusunnya yaitu rantai sapogenin nonpolar dan rantai samping polar yang larut dalam air (hidrofilik) dan senyawa yang larut dalam pelarut nonpolar (hidrofobik) sebagai surfaktan yang dapat menurunkan tegangan permukaan (Kristianingsih, 2005). Hasil pengujian pada ekstrak etanol menunjukkan adanya saponin.

4.5.5 Triterpenoid/Steroid

Uji fitokimia senyawa triterpenoid akan terbentuk cincin kecoklatan pada perbatasan dua pelarut yang merupakan hasil positif dengan menambahkan reagen Lieberman Burchard dengan meneteskan melalui dindingnya, sedangkan steroid akan menghasilkan warna hijau kebiruan (Robinson, 1995). Senyawa triterpenoid/steroid akan mengalami dihidrasi dengan penambahan asam kaut dan pembentuka garam yang memberikan sejumlah reaksi warna. Penambahan kloroform dilakukan untuk melarutkan senyawa ini karena larut baik dalam kloroform dan tidak mengandung molekul air. Asam asetat anhidrat digunakan untuk membentuk turunan asetil di dalam kloroform.

Jika dalam larutan uji terdapat air maka asetat anhidrat akan berubah menjadi asam asetat sebelum reaksi berjalan dan turunan asetil tidak akan terbentuk. Ekstrak etanol menunjukkan adanya triterpenoid karena terbentuknya cincin coklat setelah ditetesi asam sulfat pekat lewat dinding tabungnya dan juga menunjukkan adanya steroid karena terbentuk warna hijau kebiruan pada larutannya.

Senyawa triterpenoid berstruktur siklik yang berupa alkohol, aldehid atau asam karboksilat. Senyawa ini memiliki gugus $-OH$ yang menyebabkan sifatnya menjadi polar, sehingga dapat terekstrak dalam etanol. Harborne (1987) menyebutkan bahwa senyawa triterpenoid dapat diekstrak menggunakan metanol panas. Metanol bersifat polar memiliki konstanta dielektrikum 33,6 sedangkan etanol juga bersifat polar dengan konstanta dielektrikum 24,3 (Sudarmadji, 2003). Berdasarkan pendekatan tingkat kepolaran kedua pelarut ini maka triterpenoid dapat terlarut dalam pelarut etanol.

Senyawa steroid kebanyakan mengandung gugus –OH yang sering disebut dengan sterol, sehingga dengan adanya substituen gugus hidroksil yang terikat pada rantai hidrokarbon maka sifatnya cenderung semi polar. Sifat semi polar ini menyebabkan steroid dapat terekstrak dalam pelarut etanol dikarenakan adanya penambahan larutan kloroform (semi polar) yang memiliki konstanta dielektrikum sebesar 4,81 yang dapat larut dalam pelarut etanol.

Golongan senyawa steroid yang memiliki bentuk bebas dan terikat pada glikosida, contohnya fitosterol, sitosterol, stigmasterol dan kampesterol, selain itu karena keelektronegatifan dari atom O lebih besar dari atom C sehingga menyebabkan elektron dari atom C lebih tertarik pada atom O dan menyebabkan steroid dapat terekstrak pada pelarut polar seperti etanol (Harbone, 1987). Senyawa triterpenoid juga memiliki gugus OH yang menyebabkan sifatnya menjadi polar, sehingga dapat terekstrak dalam pelarut etanol. Reaksi dugaan antara senyawa triterpenoid/steroid dengan pereaksi Lieberman-burchard adalah berupa reaksi esterifikasi. Reaksi tersebut terjadi antara alkohol (kolesterol) dengan asam karboksilat (asam asetat anhidrida yang merupakan salah satu kandungan senyawa dari reagen Lieberman-burchard) dan menghasilkan senyawa ester (triterpenoid/steroid).

4.6 Pemanfaatan Hasil Penelitian Tanaman Obat dalam Perspektif Islam

Allah menumbuhkan tumbuh-tumbuhan yang indah, hijau dan banyak memberi manfaat serta kenikmatan kepada manusia. Banyak ayat Al-Qur'an yang mengajak untuk berfikir dan menyelidiki tumbuh-tumbuhan agar mendapat manfaat yang lebih banyak. Allah berfirman dalam surat an-Nahl ayat 11:

يُنْبِتُ لَكُمْ بِهِ الزَّرْعَ وَالزَّيْتُونَ وَالنَّخِيلَ وَالْأَعْنَابَ وَمِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ ﴿١١﴾

“Dia menumbuhkan bagi kamu dengan air hujan itu tanam-tanaman; zaitun, korma, anggur dan segala macam buah-buahan. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar ada tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang memikirkan” (QS. An-Nahl: 11).

Ayat ini menyebutkan beberapa tanaman yang ditumbuhkan Allah dari yang paling cepat layu, yang paling panjang usianya dan paling banyak manfaatnya seperti zaitun, kurma dan anggur (Shihab, 2002). Kaum yang memikirkan akan tanda-tanda kekuasaan-Nya tentu akan dapat mengambil pelajaran dan manfaat terhadap segala ciptaan-Nya. Sebagaimana memanfaatkan tanaman binahong sebagai tanaman obat.

Manusia sebagai makhluk yang berakal mempunyai tugas, kewajiban dan tanggung jawab terhadap alam sekitarnya. Hal ini dijelaskan dalam firman Allah surat Az-zumar ayat 9:

قُلْ هَلْ يَسْتَوِي الَّذِينَ يَعْلَمُونَ وَالَّذِينَ لَا يَعْلَمُونَ إِنَّمَا يَتَذَكَّرُ أُولُو الْأَلْبَابِ ﴿٩﴾

“.....Katakanlah: "Adakah sama orang-orang yang mengetahui dengan orang-orang yang tidak mengetahui?" Sesungguhnya orang yang berakallah yang dapat menerima pelajaran.” (QS. Az-zumur: 9).

Rasulullah telah memberi petunjuk tentang cara mengobati diri beliau sendiri, keluarganya dan para sahabat yaitu menggunakan jenis obat yang tidak ada campuran kimia. Pengobatan Nabi menggunakan tiga jenis obat yaitu obat almiyah, obat ilahiyah dan kombinasi obat almiyah dan ilahiyah. Pengobatannya berdasarkan wahyu Allah tentang apa manfaat dan yang tidak berbahaya, misalnya melakukan pengobatan dengan tumbuh-tumbuhan. Pemanfaatan

tanaman sebagai obat merupakan salah satu saran untuk mengambil pelajaran dan memikirkan tentang kekuasaan Allah dan meneladani cara pengobatan Nabi.

Tanaman binahong merupakan salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat. Hal ini telah dibuktikan dengan hasil penelitian uji toksisitas dan uji fitokimia ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) terhadap larva udang *Artemia salina* Leach ini. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak daun binahong mempunyai potensi bioaktivitas sebagai tanaman obat dengan ditunjukkan oleh nilai $LC_{50} < 1000$ ppm pada masing-masing ekstrak n-heksana, etil asetat dan etanol. Potensi bioaktivitas yang dimiliki tanaman binahong ini dapat digunakan sebagai acuan bahwa tanaman ini berpotensi di bidang farmakologi sebagai tanaman obat, sebagaimana Rasulullah telah menggunakan tanaman-tanaman herbal sebagai obat.

Penjelasan tersebut didukung oleh firman Allah dalam surat asy syu'ara ayat 7 dengan penjelasan kata *ila* pada awal kata ini merupakan kata yang mengandung makna batas akhir. Ia berfungsi memperluas arah pandang hingga batas akhir, dengan demikian ayat ini mengandung manusia untuk mengarahkan pandangannya hingga batas kemampuannya, dengan aneka tanah dan tumbuhannya dan aneka keajaiban yang terhampar pada tumbuh-tumbuhan.

Kata *zauj* berarti *pasangan*. Pasangan yang dimaksud ayat ini adalah pasangan tumbuh-tumbuhan, karena tumbuhan muncul dicelah-celah tanah yang terhampar dibumi, dengan demikian ayat ini mengisyaratkan bahwa tumbuh-tumbuhan memiliki pasangan (benang sari dan putik) guna pertumbuhan dan perkembangannya. Kata *karim* antara lain digunakan untuk menggambarkan segala sesuatu yang baik bagi setiap objek yang disifatinya. Tumbuhan yang baik, adalah

yang subur dan bermanfaat (Shihab, 2002). Berdasarkan firman Allah tersebut, jelas bahwa Allah menciptakan bumi yang di dalamnya banyak terdapat tumbuhan yang baik, yang dapat dimanfaatkan oleh makhluk hidup, diantara tumbuhan tersebut salah satunya adalah tanaman binahong.

Pemanfaatan tanaman binahong sebagai obat merupakan upaya untuk mengikutu sunah Nabi. Kita dianjurkan untuk mengamalkannya, sesuai sabda Rasulullah SAW: *Dari Usamah bin Syarik berkata, “Bahwa saya pernah berada di sisi Rasulullah, lalu datang sekelompok arab badui. Mereka berkata, “Wahai Rasulullah, apakah kami bisa berobat?” Nabi menjawab, “ Wahai para hambah Allah carilah obat karena sesungguhnya Allah tidak penciptakan suatu penyakit tanpa menciptakan obatnya, selain satu penyakit saja.” Mereka bertanya: “Penyakit apakah itu?” jawab Beliau: “Penyakit usia tua.”* (HR. Ahmad) (Muhammad, 2007).

Rasulullah telah bersabda: *“Sesungguhnya Allah tidak menciptakan suatu penyakit, kecuali Dia menurunkan obat penyembuhannya; obat penyakit diketahui bagi yang mengetahui dan tidak diketahui bagi oarang jahil.”* (Muhammad, 2007). Hadits-hadits tersebut berlaku umum untuk semua jenis penyakit. Nabi Muhammad SAW memosisikan kedudukan antara obat dan penyakit saling berlawanan. Jadi setiap penyakit memiliki lawan yaitu obat. Sehingga berdasarkan hadits tersebut maka untuk mendapatkan obat dari suatu penyakit maka kita harus berusaha dan berpikir dari apa yang telah diwahyukan Allah sebagai petunjuk bagi kehidupan.

Kekuasaan Allah dalam tumbuh-tumbuhan terlihat pada modifikasi tumbuh-tumbuhan sesuai dengan berbagai kondisi lingkungan. Semua tumbuhan

memiliki susunan dan bentuk luar yang berbeda dengan tumbuhan lain. Setiap tanaman yang ditumbuhkan oleh Allah tentunya memiliki kegunaan yang berbeda-beda. Tanaman padi dapat digunakan sebagai sumber tanaman pokok dan begitu juga tanaman yang bisa dimanfaatkan sebagai tanaman obat, seperti penggunaan tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis).

Ayat-ayat al-Qur'an diperuntukkan bagi manusia secara total baik lafazh, makna, petunjuk dan informasi. Allah menyuruh kita untuk terus-menerus mempelajarinya, menelaah keterangan dan tujuan dalam firman-Nya, sehingga kita bisa mendapatkan kejelasan ilmu pengetahuan darinya dan kita mendapatkan petunjuk untuk menentukan langkah-langkah penelitian dan tujuannya. Sebagaimana firman Allah dalam QS. Al-Hijr ayat 19:

وَالْأَرْضَ مَدَدْنَاهَا وَأَلْقَيْنَا فِيهَا رَوَاسِيَ وَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ شَيْءٍ مَّوْزُونٍ ﴿١٩﴾

“Dan Kami telah menghamparkan bumi dan menjadikan padanya gunung-gunung dan Kami tumbuhkan padanya segala sesuatu menurut ukuran.” (QS. Al-Hijr: 19).

Allah telah menciptakan bumi menjaga keseimbangannya dengan gunung-gunung yang kokoh ditempatnya. Juga mengirimkan air hujan ketanah. Maka, terbukalah kehidupan tanah dengan tanaman yang seimbang secara teliti dan tepat. Ilmu pengetahuan modern menetapkan bahwa setiap tumbuh-tumbuhan telah terukur unsur-unsurnya dalam kadar tertentu. Suatu unsur selalu berbeda antara tanaman satu dengan tanaman yang lainnya dengan cara penyerapan nutrisi dari akar yang terhujam ditanah kemudian dibawah ke batang , dahan, daun dan bunga. Alqur'an mengemukakan beberapa ayat seputar penciptaan dan simbol-simbol kebesaran Allah dimuka bumi. Mengawali dengan bumi Alqur'an mengatakkn: “Dan kami telah menghamparkan bumi”. Istilah bahasa arab, *madd*, asanya

berarti ‘perluasan dan penyebaran’. Yang paling memungkinkan adalah bahwa ia merujuk pada bagian-bagian bumi yang muncul dari dalam air. “*dan menjadikan padanya gunung-gunung yang kokoh*”, kata *rawasi* yang berarti tetap, tak bergerak, atau menunjang, yang menunjukkan bahwa bukan hanya bersifat tetap, gunung-gunung juga berfungsi sebagai pilar penyangga kerak bumi agar tetap kokoh sekaligus menunjang kelestarian hidup manusia. Kemudian menunjukkan faktor yang paling penting dalam kehidupan manusia serta semua makhluk hidup lain, seperti tanaman-tanaman, ayat alQur’an diatas mengatakan: “*dan kami tumbuhkan didalamnya segala sesuatu menurut ukuran*”.

Alangkah indahnyanya dan jelasnya penafsiran terhadap kata Arab, *mauzun* yang berasal dari kata *wazn* (bobot). Kata ini merujuk pada kuantitas segala sesuatu. Dikatan dalam *Mufrodat* karya Imam Raghīb, “Bobot adalah pengetahuan mengenai kuantitas sesuatu”. Kata dalam ayat ini menunjukkan pada pemeliharaan secara eksak atas perhitungan dan ukuran-ukuran yang menjubkan, yang terdapat pada semua bagian tumbuh-tumbuhan, seperti batang, cabang, daun, lapisan-lapisan, biji serta buah, yang masing-masingnya mempunyai partikel tertentu (Imani, 2005).

Penjelasan tentang segala sesuatu akan baik jika sesuai dengan kadarnya yang didukung dengan hadits Nabi Muhammad SAW (Farooqi, 2005) “*Setiap penyakit ada obatnya, ketika obat yang diberikan tepat, penyakit itu disembuhkan dengan izin Allah yang Maha Kuasa*” (HR. Muslim).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Masing-masing ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) memiliki tingkat toksisitas terhadap larva udang *Artemia salina* Leach, ditunjukkan dengan nilai $LC_{50} < 1000$ ppm. Tingkat toksisitas ekstrak etanol $>$ ekstrak etil asetat $>$ ekstrak n-heksana yaitu dengan nilai LC_{50} sebesar 7,35702 ppm, 106,992 ppm dan 175,800 ppm.
2. Uji fitokimia pada ekstrak etanol golongan senyawa yang menunjukkan keberadaan golongan senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, triterpenoid/steroid dan saponin.

5.2 Saran

1. Hasil uji pendahuluan dengan metode BSLT menunjukkan dalam ketiga variasi ekstrak pelarut daun binahong memiliki potensi bioaktivitas, sehingga perlu dilakukan pengujian bioaktivitas lebih lanjut terhadap tanaman ini.
2. Jika akan dilakukan penelitian selanjutnya untuk mengetahui masing-masing senyawanya perlu dilakukan uji KLTP dengan penacarian eluen yang terbaik.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2014. *Artemia salina*. <http://animaldiversity.ummz.umich.edu/site/account/information/Artemia-Salina.html> (diakses pada tanggal 25 Februari 2014).
- Ahmad, M. 2006. Anti Inflammatory Activities of *Nigella Sativa* Linn. (kalogi, black seed). <http://lailanurhayati.Multiply.com/jurnal> (diakses pada tanggal 13 nov 2007).
- Ajizah, A. 2004. Sensitivitas *Salmonella Typhimurium* Terhadap Ekstrak Daun *Psidium Guajava* L. *Bioscientie*, VOL 1 NO.1: 31-8.
- Akiyama, H. F., dan K. Iwatsuki, T. 2001. Antibacterial Action Of Several Tennis Against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemoterapy*. Vol. 48: 487-91.
- Annisa, N. 2007. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Air Daun Binahong (*Anredera candens* (L) Mor) Terhadap Bakteri *Klebsiella pneumonia* Dan *Bacillus substilis* ATCC 6633 Beserta Skrining Fitokimia Dengan Uji Tabung. Skripsi Tidak Diterbitkan Yogyakarta : Fakultas Farmasi UGM Yogyakarta.
- Ani U., Krihariyani D., dan Mutiarawati D.T. 2011. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia*)(Ten)steenis Terhadap Kesembuhan Luka Infeksi *Staphylococcus aureus* Pada Mencit. *Jurnal* Surabaya: Jurusan Analis Kesehatan. Poltekkes Kemenkes.
- Arfianti, N. 2008. *Aktivitas Insulinotropik Ekstrak Etanol Buah Mahkota Dewa Secara In Vitro*. Bogor: Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Astuti SM, Mimi SAM, Retno ABM. dan Awalludin R. 2011.a. Determination of Saponin Compound from *Anredera cordifolia* (Ten) Steenis (Binahong) to potential treatment for several deseases. *Journal of Agricultural Science*, Canadian Center of Science and Education. Vol 3.No 4, December, 2011 pp 224 -232.
- Baraja, M. 2008. Uji Toksisitas Ekstrak Daun *Ficus elastica* Nois ex Blume terhadap *Artemia salina* Leach dan Profil Kromatografi Lapis Tipis. *Skripsi* Diterbitkan. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Bawa, I, G, A, G. 2009. Isolasi dan Identifikasi Golongan Senyawa Toksik dari Daging Buah Pare (*momordica charantia* l.). *Jurnal Kimia*. Bukit

- Jimbaran: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana. Burdick and Jackson, 2010. Dielectric Constants. http://macro.lsu.edu/howto/solvents/Dielectric_Constant.htm (diakses pada tanggal 08 Januari 2010).
- Colegate, S. M, dan Molyneux, R. J. 2007. *Bioactive Natural Products: Determination, Isolation and Structural Determination Second Edition*. Prancis: CRC Press.
- Deny. 2007. Pemanfaatan Tannin Sebagai Perikat. *Jurnal Penelitian*. Fakultas Teknologi Pertanian Bogor.
- De padua. 1999. *Senyawa Kimia*. [Http://www.tempo.co.id/medica/arsip/122002/art-3.htm](http://www.tempo.co.id/medica/arsip/122002/art-3.htm) (diakses pada tanggal 30 Mei 2009).
- Dhanarti, L., 2000, *Isolasi dan Identifikasi Senyawa-senyawa Flavonoid dari Rimpang Temu Putih (Curcuma zedoria Rosc.)*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya.
- Effendy. 2006. *Teori VSEPR Kepolaran dan Gaya Antarmolekul Edisi 2*. Malang: Bayumedia Publishing.
- Effendy. 2007. *Perspektif Baru Senyawa Koordinasi Jilid 1*. Malang: Bayumedia Publishing.
- Fariyah. 2006. Uji Toksisitas Ekstrak Daun *Ficus benjamina* L terhadap *Artemia salina* Leach dan Profil Kromatografi Lapis Tipis. *Skripsi* Diterbitkan. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Farooqi, M. I. H. 2005. *Terapi Herbal Cara Islam; Manfaat Tumbuhan Menurut Al-Qur'an dan Sunah Nabi*. Diterjemahkan oleh Ahmad Y. Samantho, Jakarta: Penerbit Hikmah (PT Mizan Publika).
- Guether, E. 1987. *Minyak Atsiri*. Jilid I. Diterjemahkan oleh Ketaren S. Jakarta: Universitas Jakarta.
- Gunawan, D. dan Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*. Jakarta: Penerbit Swadaya.
- Halimah, N. 2010. Uji Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* Linn) Terhadap Larva Udang (*Artemia salina* Leach). *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Handayani D., N. Sayuti dan Dachriyanus. 2008. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Antibakteri Epioksi Sterol dari Spon Laut *Petrosia nigrans*,

Asal Sumatera Barat. *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi-II 2008*. Lampung: Universitas Lampung.

- Harborne J.B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Bandung: Penerbit ITB.
- Hidayat, M. B. C. 2004. Identifikasi Senyawa Flavonoid Hasil Isolasi dari Propolis Lebah Madu *Apis mellifera* dan Uji Aktivitasnya sebagai Antijamur *Candida albicans*. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya.
- Imani, A.K.Q. 2005. *Tafsir Nurul Quran Sebuah Tafsir Sederhana Menuju Cahaya Al-Qur'an*, vol. 8. Penerjemah Salman Nano, Jakarta : Penerbit Al-Huda.
- Indrayani, L. 2006. *Skrining Fitokimia Dan Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pecut Kuda (Stachytarpheta jamaicensis L.Vahl) Terhadap Larva Udang Artemia salina Leach*. Fakultas Sains dan Matematika: Universitas Kristen Satya Wacana Salatiga.
- Jati, S. H. 2008. Efek Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Daun Salam (*Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp.) Pada Hati Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Karbon Tetraklorida (CCl₄). *Skripsi diterbitkan*. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Juniarti, Delvi O., dan Yuhernita. 2009. Kandungan Senyawa Kimia, Uji Toksisitas (*Brine Shrimp Lethality Test*) Dan Antioksidan (*1,1-diphenyl-2-pikrilhidrazil*) Dari Ekstrak Daun Saga (*Abrus precatorius* L.). *Jurnal Kimia*. Jakarta: Fakultas Kedokteran. Universitas YARSI.
- Khunifi M. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong *Anredera cordifolia*(Ten) Steenis Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: Jurusan Biologi. *Fakultas Saint dan Teknologi*. UIN MALIKI Malang.
- Kimball, J. W. 1983. *Biologi Umum Jilid 1*. Jakarta: Erlangga.
- Kristianingsih. 2005. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Triterpenoid dari Akar Tanaman Kedondong Laut (*Polyscias fruticosa*). *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya.
- Kusnaeni, V. 2008. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Fraksi n-Heksana dari ekstrak kulit batang Angsret (*Spathoda campanulata Beauv*). *Skripsi*

- Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia. *Fakultas MIPA Universitas Brawijaya*.
- Lemmens, R. H. M. J. and Soetjipto, W. 1991. *Dye and Tannin- Production Plants*. Netherlands: Pudos Wagengen.
- Lenny, S. 2006. Uji Bioaktifitas Kandungan Kimia Utama Puding Merah dengan Metode Brine Shrimp. *Jurnal*. Medan: USU.
- Lisdawati, V. 2002. Berdasar Uji Penapsisan Farmakologi pada Buah Mahkota Dewa. *Jurnal*. Fakultas Kedokteran. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada.
- Louis, F.G. 2004. *Saponin Glicosides* .Georges luis @friedli.com, <http://www.friedli.com/herbsphytochem.glycosides.html> (diakses pada tanggal 7 Juni 2008).
- Lutfillah, M. 2008. Karakterisasi Senyawa Alkaloid Hasil Isolasi dari Kulit Batang Angsret (*Spathoda campanulata* Beauv) Serta Uji Aktivitasnya Sebagai Antibakteri Secara In Vitro. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia. *Fakultas MIPA Universitas Brawijaya*.
- Manitto P. 1992. *Biosintesis Produk Alami*. Penerjemah Koen Sumardiyah. Semarang: IKIP Press. Hal. 70-79.
- Manoi, F. 2009. *Binahong (Anredera cordifolia)(Ten) Steenis Sebagai Obat*. *Jurnal Warta Penelitian Dan Pengembangan Tanaman Industri*. Volume 15 Nomor 1:3.
- Makkar, H.P.S dan Becker, K. 1998. *Do Tannins In Leaves Of Trees And Shrubs From African And Himalayan Regions Differ In Level And Acactivity?* *Argoforestry systems*. Hal 59-68.
- Markham, K.R.1998. *Cara mengidentifikasi flavanoid*. Bandung: penerbit ITB.
- Masroh L. F. 2010. Isolasi Senyawa Aktif dan Uji Toksisitas Ekstark Heksana Daun Pecut Kuda (*Stachytharpheta jamaicensis* L.Vahl). *skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia UIN MALIKI Malang.
- Meyer, B.N., Ferrigni, N.R., Putnam, J.E., Jacobsen, L.B., Nichols, D.E., dan McLaughin, J.L., 1982, Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituent, *Planta Medica*. 45:31-34.
- Muhammad, M. H. M. 2007. *Mu'jizat Kedokteran Nabi*. Jakarta: Qultum Media.

- Noorhamdani As, R. Setyohadi dan Akmal F. Y.U. 2010. Uji Efektifitas Skstrak Daun Bianahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steensi) Sebagai Antimikroba Terhadap Bakteri *Klebsiella Pneumoniae* Secara In Vitro. *Jurnal kedokteran*. Malang: FK Universitas Brawijaya.
- Nurachman, Z. 2002. Artoindonesianin Untuk Antitumor. <http://www.chem-istrri> (diakses pada tanggal 1 april 2009).
- Palar, H. 1994. *Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Praptiwi, Harapini, M., dan Chairul. 2007. Uji Aktivitas Antimalaria Secara In-Vivo Ekstrak Ki Pahit (*Picrasma javanica*) Pada Mencit Yang Diinfeksi *Plasmodium berghei*. *Jurnal*. Bogor: Bidang Botani, Puslit Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, 16911.
- Poedjiadi, A. dan F. M. T. Supriyanti. 1994. *Dasar-Dasar Biokimia*. Jakarta: UI Press.
- Purwaningsih, Y. 2003. Isolasi dan Identifikasi senyawa flavonoid dari Biji Kacang Tunggak (*Vigna unguiculata* L. Walp). *Skripsi Tidak Diterbitkan* Malang: Jurusan Kimia. Fakultas MIPA Universitas Brawijaya.
- Purwatiningsih, S. 2003. Studi Aktivitas dan Kandungan Kimia Tanaman *fagraea Racemosa* Jack ex wall. *Abstrak Penelitian*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Rachmawati, S. 2007. *Studi Makroskopi, Dan Skrining Fitokimia Daun Anredera Cordifolia* (Ten.) Steenis. *Skripsi Tidak Diterbitkan* Surabaya: Fakultas Farmasi UNAIR Surabaya.
- Rangasamy O, Raelison G. Fransisco E, Rakoloiriana K, Chenk, Suzane UR, Jullie OL, Ammenah GF. dan Anwar HS. 2007. Screening for Anti Infective Properties of Several Medicinal Plants of The Mauritian Flora. *Journal of Ethnopharmacology* Vol 109 issue 2, pp 331-337.
- Resi AW. dan Surgani A. 2009. *Flavonoida (Quercetin) dalam Makalah Kimia Organik, Program S.2. Kimia*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Hassanudin Indonesia. Hal. 4-7.
- Rios JL. dan Rico MC. 2005. *Medicinal Plants and Antimicrobial Activity*. Respective paper.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Senyawa Organik Tumbuhan Tinggi*. Diterjemahkan oleh Prof. Dr. Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB.

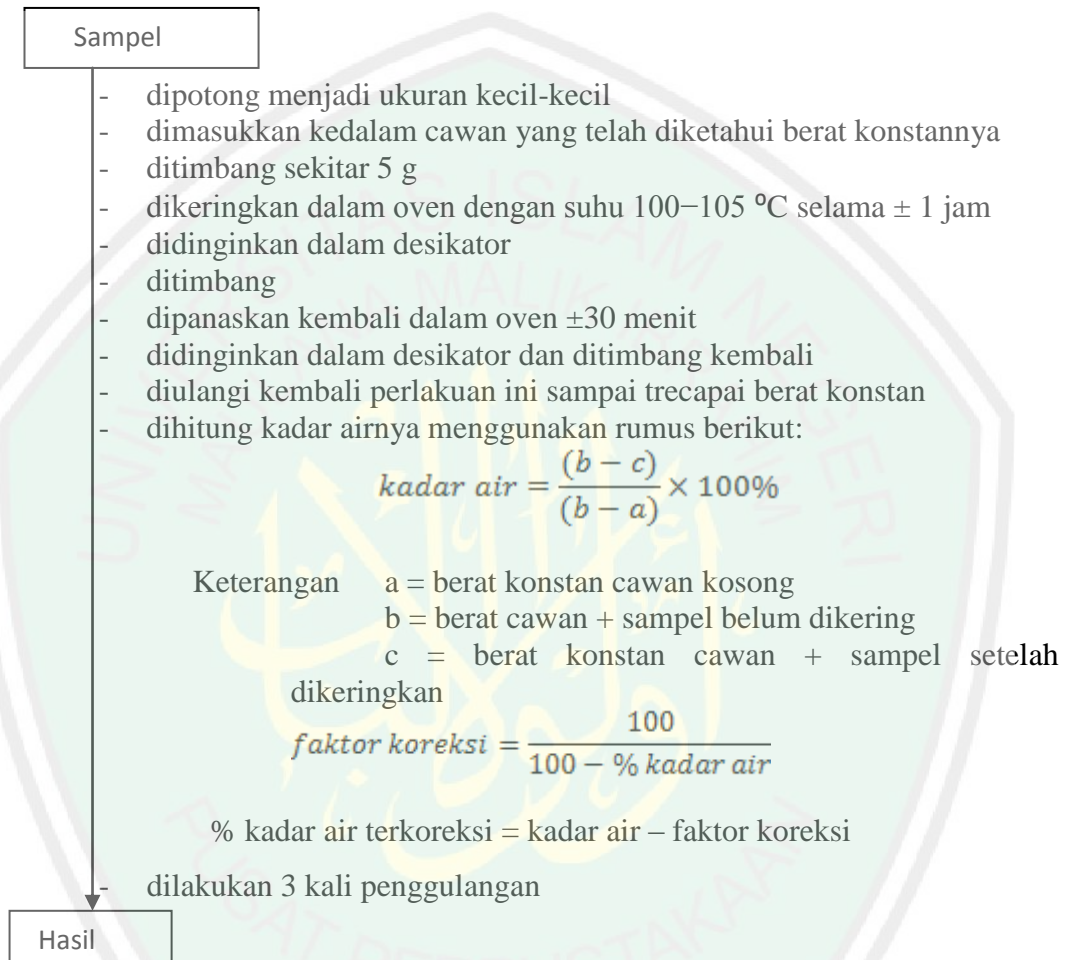
- Rochani, N. 2009. *Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Daun Binahong (Anredera cordifolia (Tenore) Steenis) Terhadap Candida albicans Serta Skrining Fitokimianya*. Skripsi Tidak Diterbitkan. Surakarta :Fakultas Farmasi UMS Surakarta.
- Selawi W., Max R. J.R dan Citraningtyas G. 2013. Kandungan Flavonoid dan Kapsitas Antioksidan Total Ekstark Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia (Ten)steenis*). *Jurnal Manado: Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado*.
- Setiaji, A. 2009. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Petroleum Eter, Etil Asetat Dan Etanol 70% Rhizoma Binahong (Anredera cordifolia (Tenore) Steenis) Terhadap Staphylococcus aureus ATCC 25923 Dan Escherichia coli ATCC 11229 Serta Skrining Fitokimianya*. Skripsi Tidak Diterbitkan. Surakarta : Fakultas Farmasi UMS Surakarta.
- Shihab, Q. 2002. *Tafsir Al-Mishbah Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Qur'an Vol.7,8 dan 10*. Jakarta: Penerbit Lentera Hati.
- Soemiati, A., Kosela, S., Hanafi, M., dan Harrison, L.J. 2010. Senyawa Triterpenoid dan Asam 3-hidroksi-isonikotinat dari Ekstrak Diklorometana Akar *Garcinia picrorrhiza* MIQ. *Jurnal Jakarta: Jurusan Farmasi Universitas Indonesia*.
- Soemirat, J. 2005. *Toksikologi Lingkungan*. Yogyakarta: UGM Press.
- Sudarmadji, S., B. Haryono dan Suhardi. 2003. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty.
- Sumaryanto, A. 2009. Isolasi Karakterisasi Senyawa Alkaloid Dari Kulit Batang Tanaman Angsret (*Spathoda campanulata* Beauv) Serta Uji Aktivitas Biologisnya Dengan Metode Uji Brine Shrimp. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Jurusan Kimia. *Fakultas MIPA*. Malang: Universitas Brawijaya.
- Surayya, L., 2000, *Isolasi dan Identifikasi Senyawa-senyawa Flavonoid dari Biji Kapas (Gossypium Sp.)*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya.
- Thomson, R.H. 1993. *The Chemistri Of Natural Producst*. 2 Edition, chapman and hall ltd.glasgow,UK.
- Tshikalange TE, Meyer JJM. dan Husein AA. 2005. Antimicrobial Activity, Toxicity and The Isolation of A Bioactive Compound from Plants Used to Treat Sexually Transmitted Diseases, *Journal of Ethno Pharmacology* 96, pp 515-519.

- Tyas A.Y., Fachriyah E., dan Kusrini D. 2013. Identifikasih Asam Fenolat dari Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia (Ten)steenis*) dan Uji Aktivitas Antioksidan. *Jurnal Semarang : Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Universitas Diponegoro*.
- Uchida, S. 2003. Production of a digital map of the hazardous conditions of soil erosion for the sloping lands of West Java, Indonesia using geographic information systems (GIS). JIRCAS. Indonesia. Diakses Tanggal 31 Mei 2009.
- Vogel. 1978. *Text Book Of Practical Organic Chemistry, 4th Edition*. London: Longman Group Limited.
- Winarno, F. G. 2002. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.

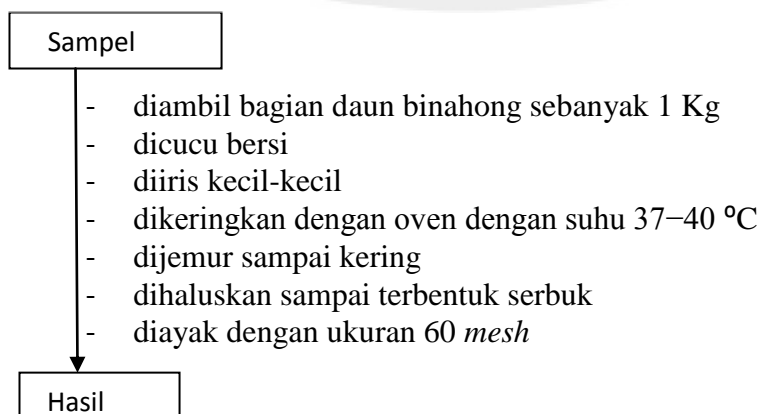


LAMPIRAN 1. Skema Kerja

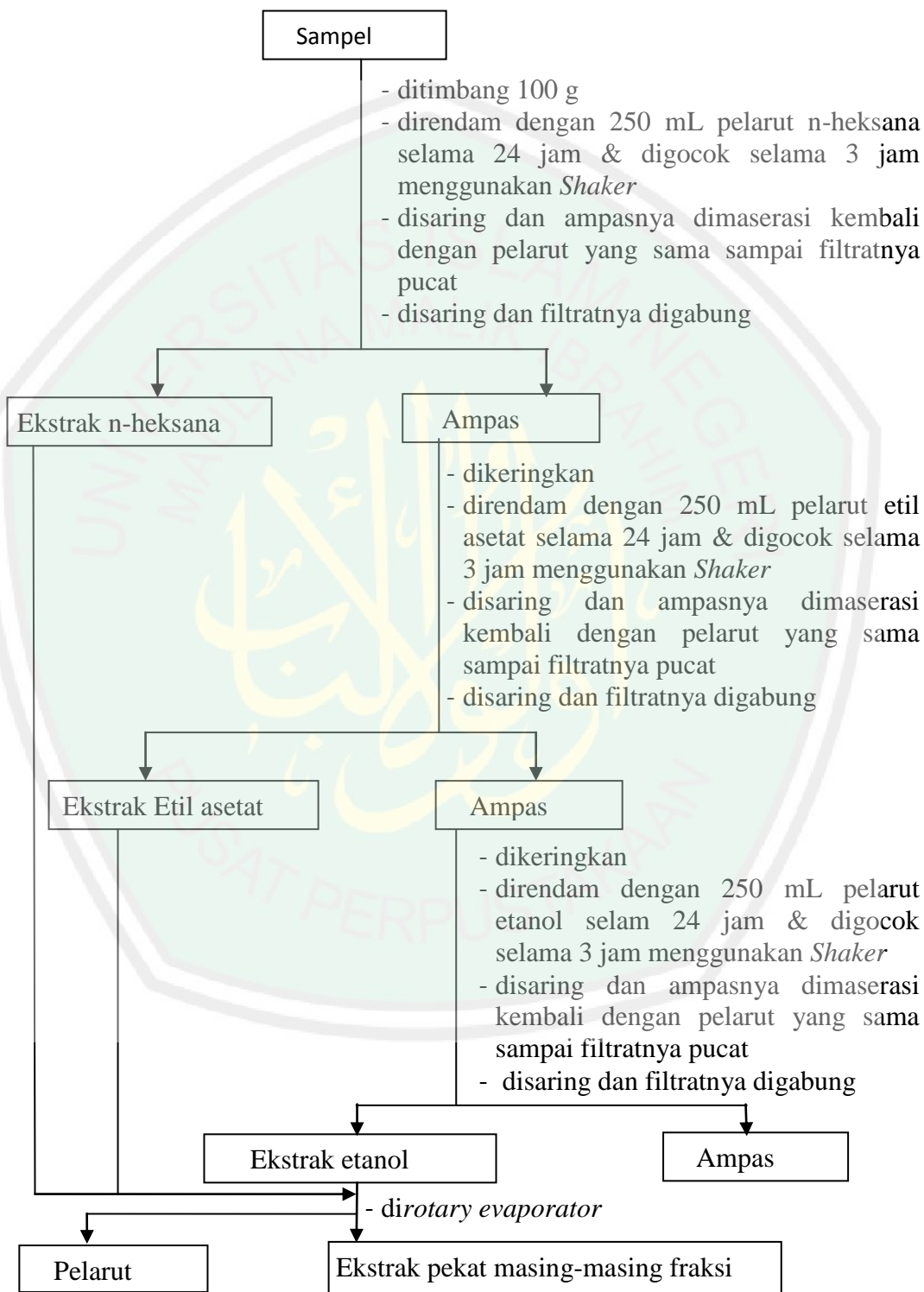
L. 1. 1 Analisa Kadar Air



L. 1. 2 Preparasi Sampel

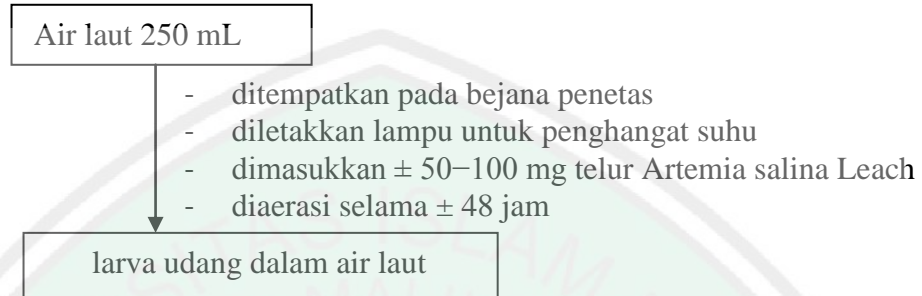


L. 1. 3 Ekstraksi Senyawa Aktif dengan Metode Maserasi

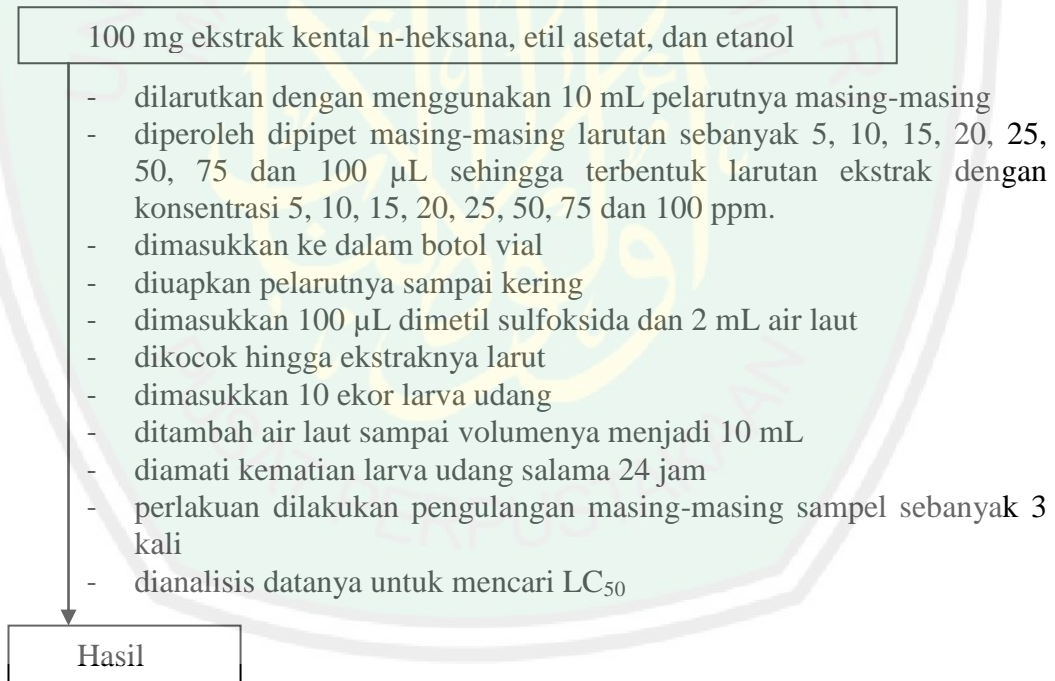


L. 1. 4 Uji Toksisitas dengan Udang Larva *Artemia salina* Leach

L. 1. 4. 1 Penetasan Telur



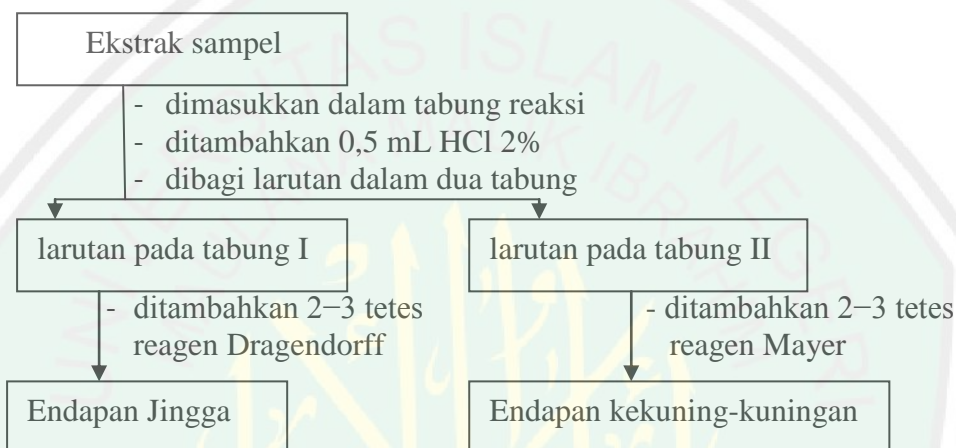
L. 1. 4. 2 Uji Toksisitas



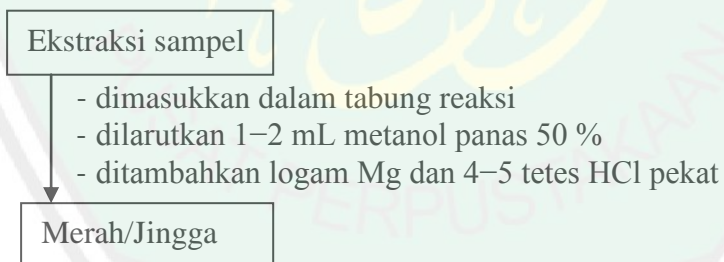
L. 1. 5 Uji Fitokimia dengan Uji Reagen

Uji fitokimia kandungan senyawa aktif dengan uji reagen dari ekstrak toksisitas dari daun binahong dilarutkan dengan sedikit pelarutnya, kemudian dilakukan untuk uji alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan triterpenoid/steroid.

L. 1. 5. 1 Uji Alkaloid

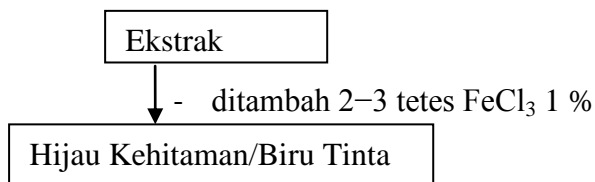


L. 1. 5. 2 Uji Flavonoid

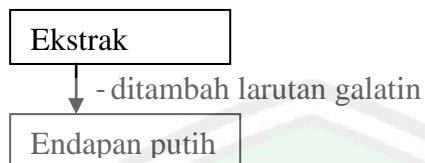


L. 1. 5. 3 Uji Tanin

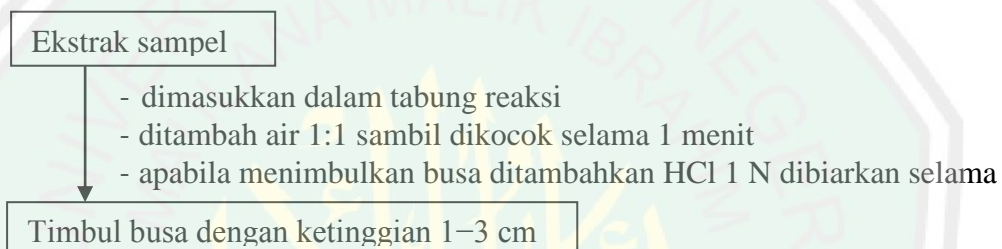
L. 1. 5. 3. 1 Uji dengan FeCl₃



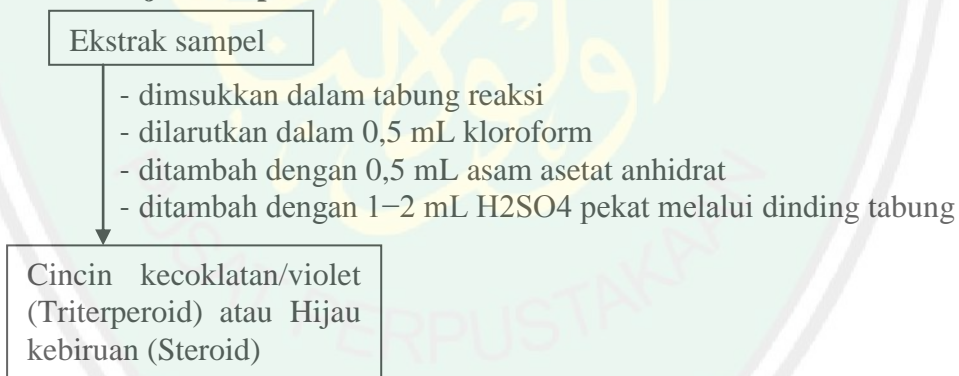
L. 1. 5. 3. 2 Uji dengan Larutan Galatin



L. 1. 5. 4 Uji Saponin



L. 1. 5. 7 Uji Triterpenoid/Steroid



LAMPIRAN 2. Perhitungan Konsentrasi Larutan Ekstrak untuk Uji Toksisitas

L. 2. 1 Pembuatan larutan stok 10000 ppm ekstrak daun binahong

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

$$\text{mg} = \text{ppm} \cdot \text{L} \text{ (jika dibuat larutan stok } 1 \text{ mL} = 10^{-3} \text{ L)}$$

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

Jadi, larutan stok 10000 ppm pada masing-masing ekstrak dibuat dengan dilarutkan 10 mg sampel ke dalam 1 mL masing-masing pelarutnya.

L. 2. 2 Pembuatan larutan ekstrak 5 ppm

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \cdot 10000 \text{ ppm} = 10 \cdot 10^{-3} \text{ L} \cdot 5 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 0,05 \text{ L} \cdot \text{ppm} / 10^4 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 0,05 \cdot 10^{-4} \text{ L} = 5 \mu\text{L}$$

Jadi, larutan ekstrak 5 ppm dibuat dengan 5 μL larutan stok yang dilarutkan dalam 10 mL air laut.

L. 2. 3 Pembuatan larutan ekstrak 10 ppm

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

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

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

$$V_1 = 0,1 \cdot 10^{-4} \text{ L} = 10 \mu\text{L}$$

Jadi, larutan ekstrak 10 ppm dibuat dengan 10 μL larutan stok yang dilarutkan dalam 10 mL air laut.

L. 2. 4 Pembuatan larutan ekstrak 15 ppm

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \cdot 10000 \text{ ppm} = 10 \cdot 10^{-3} \text{ L} \cdot 15 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 0,15 \text{ L} \cdot \text{ppm} / 10^4 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 0,15 \cdot 10^{-4} \text{ L} = 15 \mu\text{L}$$

Jadi, larutan ekstrak 15 ppm dibuat dengan 15 μL larutan stok yang dilarutkan dalam 10 mL air laut.

L. 2. 5 Pembuatan larutan ekstrak 20 ppm

$$\begin{aligned} V_1.M_1 &= V_2.M_2 \\ V_1. 10000 \text{ ppm} &= 10. 10^{-3} \text{ L}.20 \text{ ppm} \\ V_1 &= 0,2 \text{ L.ppm}/10^4 \text{ ppm} \\ V_1 &= 0,2. 10^{-4} \text{ L} = 20 \mu\text{L} \end{aligned}$$

Jadi, larutan ekstrak 20 ppm dibuat dengan 20 μL larutan stok yang dilarutkan dalam 10 mL air laut.

L. 2. 6 Pembuatan larutan ekstrak 25 ppm

$$\begin{aligned} V_1.M_1 &= V_2.M_2 \\ V_1. 10000 \text{ ppm} &= 10. 10^{-3} \text{ L}.25 \text{ ppm} \\ V_1 &= 0,25 \text{ L.ppm}/10^4 \text{ ppm} \\ V_1 &= 0,25. 10^{-4} \text{ L} = 25 \mu\text{L} \end{aligned}$$

Jadi, larutan ekstrak 25 ppm dibuat dengan 25 μL larutan stok yang dilarutkan dalam 10 mL air laut.

L. 2. 7 Pembuatan larutan ekstrak 50 ppm

$$\begin{aligned} V_1.M_1 &= V_2.M_2 \\ V_1. 10000 \text{ ppm} &= 10. 10^{-3} \text{ L}.50 \text{ ppm} \\ V_1 &= 0,5 \text{ L.ppm}/10^4 \text{ ppm} \\ V_1 &= 0,5. 10^{-4} \text{ L} = 50 \mu\text{L} \end{aligned}$$

Jadi, larutan ekstrak 50 ppm dibuat dengan 50 μL larutan stok yang dilarutkan dalam 10 mL air laut.

L. 2. 8 Pembuatan larutan ekstrak 75 ppm

$$\begin{aligned} V_1.M_1 &= V_2.M_2 \\ V_1. 10000 \text{ ppm} &= 10. 10^{-3} \text{ L}.75 \text{ ppm} \\ V_1 &= 0,75 \text{ L.ppm}/10^4 \text{ ppm} \end{aligned}$$

$$V_1 = 0,75 \cdot 10^{-4} \text{ L} = 75 \mu\text{L}$$

Jadi, larutan ekstrak 75 ppm dibuat dengan 75 μL larutan stok yang dilarutkan dalam 10 mL air laut.

L. 2.9 Pembuatan larutan ekstrak 100 ppm

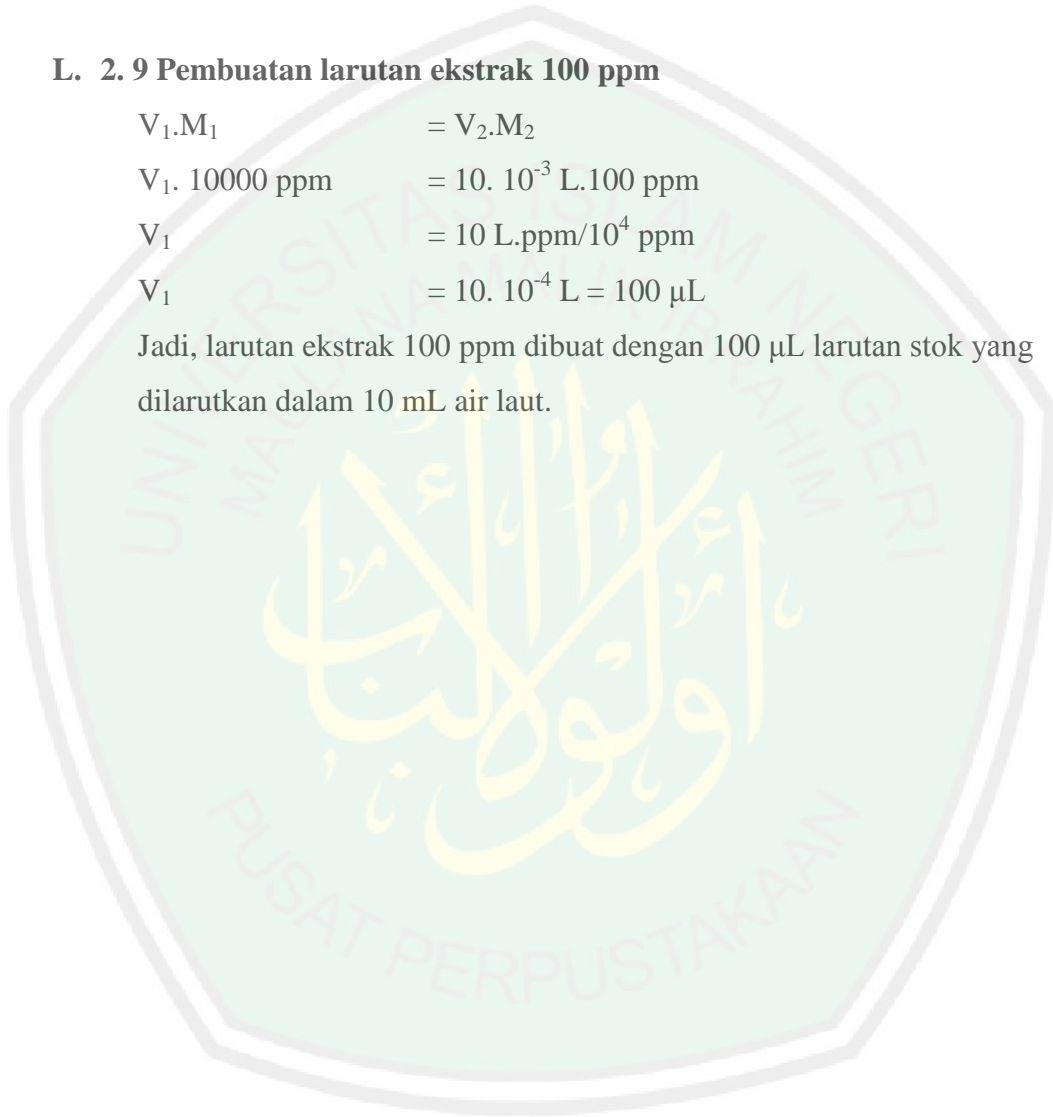
$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

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

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

$$V_1 = 10 \cdot 10^{-4} \text{ L} = 100 \mu\text{L}$$

Jadi, larutan ekstrak 100 ppm dibuat dengan 100 μL larutan stok yang dilarutkan dalam 10 mL air laut.



LAMPIRAN 3. Perhitungan dan Pembuatan Reagen dan Larutan

L. 3.1 Pembuatan larutan HCl 1 N

$$\begin{aligned}
 \text{BJ HCl pekat} &= 1,19 \text{ g/mL} = 1190 \text{ g/L} \\
 \text{Konsentrasi} &= 37 \% \\
 \text{BM HCl} &= 36,42 \text{ g/mol} \\
 n &= 1 \text{ (jumlah mol ion H}^+\text{)} \\
 \text{Normalitas HCl} &= n \times \text{Molaritas HCl} \\
 &= 1 \times \frac{37\% \times \text{BJ HCl}}{\text{BM HCl pekat}} \\
 &= \frac{37\% \times 1190 \text{ g/L}}{36,42 \text{ g/mol}} = 12,09 \text{ N}
 \end{aligned}$$

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

$$12,09 \text{ N} \times V_1 = 1 \text{ N} \times 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = 8,27 \text{ mL} = 8,3 \text{ mL}$$

Cara pembuatannya adalah diambil larutan HCl pekat 37 % sebanyak 8,3 mL, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 100 mL yang berisi \pm 15 mL aquades. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

L. 3.2 Pembuatan HCl 2 %

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

$$37 \% \times V_1 = 2 \% \times 10 \text{ mL}$$

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

Cara pembuatannya adalah dipipet larutan HCl pekat 37 % sebanyak 0,5 mL kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL yang berisi \pm 5 mL aquades. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

L. 3.3 Pembuatan Reagen Dragendorff

Larutan I. 0,6 g $\text{Bi}(\text{NH}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dalam 2 mL HCl pekat dan 10 mL H_2O .

Larutan II. 6 g KI dalam 10 mL H_2O .

Cara pembuatannya adalah larutan I dibuat dengan 0,6 g $\text{Bi}(\text{NH}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ yang dilarutkan ke dalam 2 mL HCl pekat dan 10 mL aquades dan larutan II dibuat dengan 6 g KI yang dilarutkan ke dalam 10 mL aquades. Kedua larutan tersebut dicampur dengan 7 mL HCl pekat dan 15 mL H_2O (Wagner, 2001).

L. 3.4 Pembuatan Reagen Mayer

Larutan I. HgCl_2 1,358 g dalam aquades 60 mL

Larutan II. KI 5 g dalam aquades 10 mL

Cara pembuatannya adalah larutan I dibuat dengan HgCl_2 1,358 g yang dilarutkan dengan aquades 60 mL dan larutan II dibuat dengan KI 5 g yang dilarutkan dengan aquades 10 mL. Larutan I dituangkan ke dalam larutan II, diencerkan dengan aquades sampai tanda batas pada labu ukur 100 mL (Manan, 2006).

L. 3.5 Pembuatan reagen Lieberman-Burchard

Asam sulfat pekat 5 mL

Anhidrida asetat 5 mL

Etanol absolut 50 mL

Cara pembuatannya adalah asam sulfat pekat 5 mL dan anhidrida asetat 5 mL dicampur ke dalam etanol absolut 50 mL, kemudian didinginkan dalam lemari pendingin. Penggunaan reagen ini digunakan langsung setelah pembuatan (Wagner, 2001).

L. 3.6 Pembuatan metanol 50%

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

$$99,8 \% \times V_1 = 50 \% \times 10 \text{ mL}$$

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

Cara pembuatannya adalah diambil larutan metanol 99,8 % sebanyak 5 mL kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL yang berisi ± 5 mL aquades. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

L. 3. 7 Pembuatan FeCl3 1%

$$\% \text{ konsentrasi} = \frac{\text{g terlarut}}{\text{g terlarut} + \text{g pelarut}} \times 100\%$$

$$\text{g terlarut} + \text{g pelarut} = \frac{\text{g terlarut}}{\% \text{ konsentrasi}} \times 100\%$$

$$1 \text{ g} + \text{g pelarut} = \frac{1 \text{ g}}{1\%} \times 100\%$$

$$\text{g pelarut} = 100 \text{ g} - 1 \text{ g} = 99 \text{ g}$$

$$\text{volume pelarut} = \frac{\text{g pelarut}}{\text{BJ pelarut}} = \frac{99 \text{ g}}{1 \text{ g/mL}} = 99 \text{ mL}$$

Cara pembuatannya adalah ditimbang serbuk $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ sebanyak 1 g kemudian dilarutkan dengan 99 mL aquades.

L. 3. 8 Pembuatan NH3 10%

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

$$50\% \times V_1 = 10\% \times 10 \text{ mL}$$

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

Cara pembuatannya adalah diambil larutan NH_3 50% sebanyak 2 mL, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL yang berisi ± 5 mL aquades. Ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

L. 3. 9 Pembuatan Larutan Gelatin

Cara pembuatannya adalah 2,5 g serbuk gelatin dicampur dengan 50 mL larutan garam NaCl jenuh, kemudian dipanaskan sampai gelatin larut seluruhnya. Setelah dingin, ditambah larutan garam NaCl jenuh dalam labu ukur 100 mL sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen (Sudarmadji, 2007).

Lampiran 4. Data Pengukuran Kadar Air Sampel Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis)

1. Data Penukuran Kadar Air Sampel Daun Bianhong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis)

Berat Cawan Kosong (g)	Sampel		
	A1	A2	A3
Ulangan 1	55,3413	75,1439	65,4519
Ulangan 2	55,3413	75,1439	65,4519
Ulangan 3	55,3413	75,1439	65,4519
Rata-rata	55,3413	75,1439	65,4519

Berat Cawan Kosong (g) + Sampel (g)	Sampel		
	A1	A2	A3
Sampel Basah	60,3864	80,1692	70,5174
Ulangan 1	56,7150	76,3651	66,4564
Ulangan 2	56,2511	75,8531	66,0559
Ulangan 3	55,9533	75,6760	65,9164
Ulangan 4	55,5452	75,3675	65,8254
Ulangan 5	55,5435	75,3598	65,7451
Ulangan 6	55,5431	75,3425	65,6559
Ulangan 7	55,5431	75,3419	65,6559
Rata-rata	55,8705	75,6151	65,9015

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

Keterangan : a = berat konstan cawan kosong

b = berat cawan + sampel basah

c = berat konstan cawan + sampel kering

$$\text{faktor koreksi} = \frac{100}{100 - \% \text{kadar air}}$$

% kadar air terkoreksi = kadar air-faktor koreksi

$$1) \text{ kadar air } A1 = \frac{(60,3864 - 55,8705)}{(60,3864 - 55,3413)} \times 100\% = \frac{(4,5159)}{(5,0451)} \times 100\%$$

$$= 89,51\%$$

$$\text{faktor koreksi} = \frac{100}{100 - 89,51} = 9,5329$$

$$\% \text{ kadar air terkoreksi} = 89,51 \% - 9,5329 \% = 79,9771 \%$$

$$2) \text{ kadar air } A2 = \frac{(80,1692 - 75,6151)}{(80,1692 - 75,1439)} \times 100\% = \frac{(4,5541)}{(5,0253)} \times 100\%$$

$$= 90,6234\%$$

$$\text{faktor koreksi} = \frac{100}{100 - 90,6234} = 10,6648$$

$$\% \text{ kadar air terkoreksi} = 90,6234 \% - 10,6648 \% = 79,9586 \%$$

$$3) \text{ kadar air } A3 = \frac{(70,5174 - 65,9015)}{(70,5174 - 65,4519)} \times 100\% = \frac{(4,6159)}{(5,0655)} \times 100\%$$

$$= 91,1243\%$$

$$\text{faktor koreksi} = \frac{100}{100 - 91,1243} = 11,2667$$

$$\% \text{ kadar air terkoreksi} = 91,1243 \% - 11,2667 \% = 79,8576 \%$$

Lampiran 5. Perhitungan Rendemen

1. Ekstrak n-heksana

$$\begin{aligned}
 \text{Berat botol kosong} &= 50,3190 \text{ g} \\
 \text{Berat botol kosong + ekstrak pekat} &= 51,5373 \text{ g} \\
 \text{Berat ekstrak pekat} &= (\text{Berat botol kosong} + \text{ekstrak} \\
 \text{pekat}) - \text{Berat botol kosong} &= 51,5373 \text{ g} - 50,3190 \text{ g} = 1,2183 \text{ g} \\
 \text{Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak pekat}}{\text{berat sampel}} \times 100 \% = \frac{1,2183 \text{ g}}{50 \text{ g}} \times 100 \% \\
 &= 2,4366 \% (b/b)
 \end{aligned}$$

2. Ekstrak Etil Asetat

$$\begin{aligned}
 \text{Berat botol kosong} &= 65,5539 \text{ g} \\
 \text{Berat botol kosong + ekstrak pekat} &= 66,4717 \text{ g} \\
 \text{Berat ekstrak pekat} &= (\text{Berat botol kosong} + \text{ekstrak} \\
 \text{pekat}) - \text{Berat botol kosong} &= 66,4717 \text{ g} - 65,5539 \text{ g} = 0,9178 \text{ g} \\
 \text{Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak pekat}}{\text{berat sampel}} \times 100 \% = \frac{0,9178 \text{ g}}{50 \text{ g}} \times 100 \% \\
 &= 1,8356 \% (b/b)
 \end{aligned}$$

3. Ekstrak Etanol

$$\begin{aligned}
 \text{Berat botol kosong} &= 56,9159 \text{ g} \\
 \text{Berat botol kosong + ekstrak pekat} &= 58,0455 \text{ g} \\
 \text{Berat ekstrak pekat} &= (\text{Berat botol kosong} + \text{ekstrak} \\
 \text{pekat}) - \text{Berat botol kosong} &= 58,0455 \text{ g} - 56,9159 \text{ g} = 1,1296 \text{ g} \\
 \text{Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak pekat}}{\text{berat sampel}} \times 100 \% = \frac{1,1296 \text{ g}}{50 \text{ g}} \times 100 \% \\
 &= 2,2592 \% (b/b)
 \end{aligned}$$

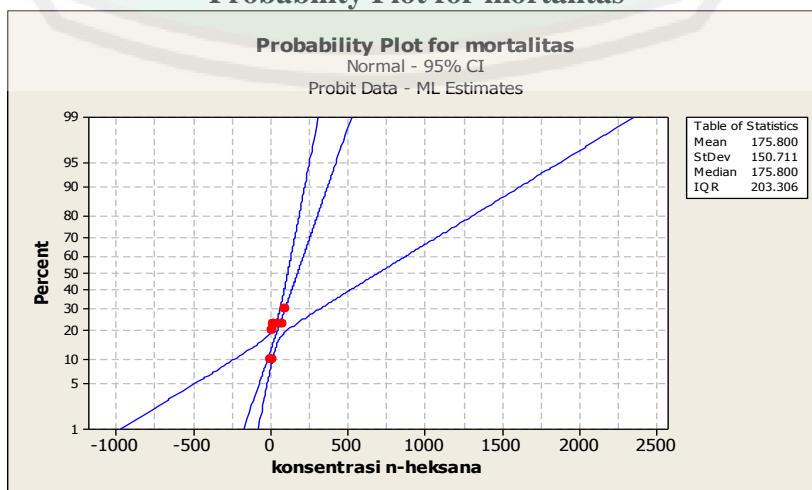
Lampiran 6. Data Kematian Larva dan Perhitungan LC₅₀ Uji Toksisitas masing-masing Ekstrak

1. Ekstrak n-heksana

No	Konsentrasi n-heksana (ppm)	Ulangan			Modus	% Mortalitas	Mortalitas	LC ₅₀
		1	2	3				
1	0	0	1	0	0	0	175,800	
2	5	0	1	2	1	10		
3	10	1	1	2	1	10		
4	15	0	2	2	2	20		
5	20	1	3	3	3	30		
6	25	3	2	1	2	20		
7	50	2	2	2	2	20		
8	75	1	2	2	2	20		
9	100	3	3	3	3	30		

Konsentrasi n-heksana (ppm)	Jumlah Hewan Uji	Mortalitas
0	30	0
5	30	3
10	30	3
15	30	6
20	30	9
25	30	6
50	30	6
75	30	6
100	30	9

Probability Plot for mortalitas



Probit Analysis: mortalitas, hewan uji versus konsentrasi n-heksana

Distribution: Normal

Response Information

Variable	Value	Count
mortalitas	Success	48
	Failure	222
hewan uji	Total	270

Estimation Method: Maximum Likelihood

Regression Table

Variable	Standard		Z	P
	Coef	Error		
Constant	-1.16647	0.136297	-8.56	0.000
konsentrasi n-heksana	0.0066352	0.0026727	2.48	0.013
Natural Response	0			

Log-Likelihood = -123.303

Goodness-of-Fit Tests

Method	Chi-Square	DF	P
Pearson	11.5514	7	0.116
Deviance	14.1949	7	0.048

Tolerance Distribution

Parameter Estimates

Parameter	Estimate	Standard Error	95.0% Normal CI	
			Lower	Upper
Mean	175.800	57.0961	63.8934	287.706
StDev	150.711	60.7079	68.4339	331.907

Table of Percentiles

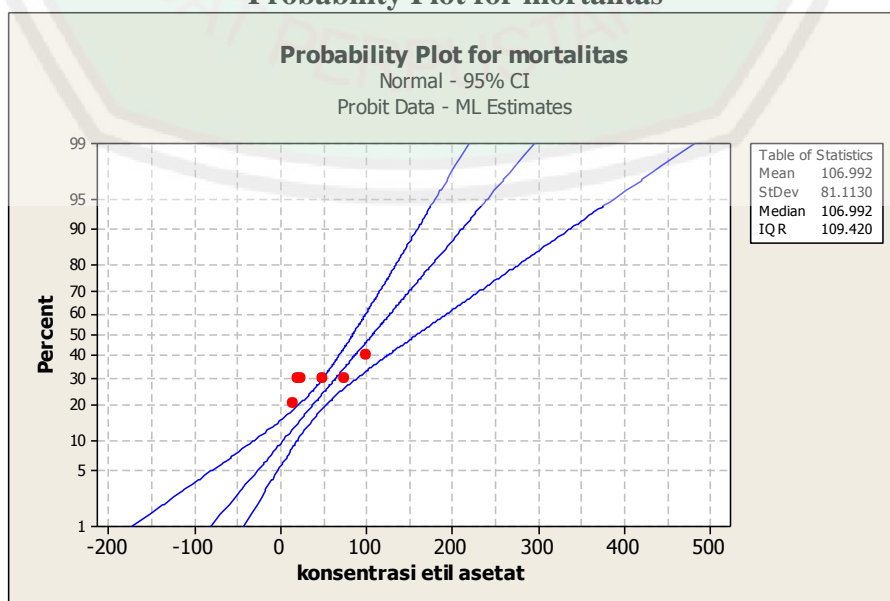
	Standard	95.0% Fiducial CI		
Percent	Percentile	Error	Lower	Upper
1	-174.806	86.8581	-975.618	-78.7348
2	-133.722	70.5620	-780.954	-55.2739
3	-107.656	60.2941	-657.592	-40.2436
4	-88.0474	52.6303	-564.915	-28.8127
5	-72.0973	46.4544	-489.651	-19.3933
6	-58.5213	41.2577	-425.717	-11.2481
7	-46.6178	36.7662	-369.802	-3.96477
8	-35.9596	32.8175	-319.900	2.72034
9	-26.2664	29.3105	-274.712	8.99645
10	-17.3438	26.1820	-233.360	15.0171
20	48.9584	14.3075	17.7742	115.900
30	96.7669	27.2618	63.4251	324.078
40	137.618	42.3201	89.2404	515.150
50	175.800	57.0961	111.808	695.303
60	213.982	72.1251	133.848	875.982
70	254.832	88.3385	157.156	1069.56
80	302.641	107.407	184.247	1296.30
90	368.943	133.941	221.639	1610.92
91	377.866	137.517	226.661	1653.27
92	387.559	141.403	232.115	1699.29
93	398.217	145.677	238.109	1749.88
94	410.121	150.451	244.801	1806.39
95	423.697	155.898	252.430	1870.84
96	439.647	162.299	261.390	1946.56
97	459.255	170.171	272.400	2039.66
98	485.322	180.639	287.028	2163.42
99	526.405	197.145	310.072	2358.50

2. Ekstrak Etil Asetat

No	Konsentrasi Etil asetat (ppm)	Ulangan			Modus	% Mortalitas	Mortalitas	LC ₅₀
		1	2	3				
1	0	0	0	0	0	0	106,992	
2	5	0	1	0	0	0		
3	10	0	0	0	0	0		
4	15	2	2	0	2	6		
5	20	3	4	3	3	9		
6	25	3	3	3	3	9		
7	50	3	3	3	3	9		
8	75	3	4	3	3	9		
9	100	4	4	4	4	12		

Konsentrasi Etil Asetat (ppm)	Jumlah Hewan Uji	Mortalitas
0	30	0
5	30	0
10	30	0
15	30	3
20	30	9
25	30	9
50	30	9
75	30	9
100	30	12

Probability Plot for mortalitas



Probit Analysis: mortalitas, hewan uji versus konsentrasi etil asetat

Distribution: Normal

Response Information

Variable	Value	Count
mortalitas	Success	54
	Failure	216
hewan uji	Total	270

Estimation Method: Maximum Likelihood

Regression Table

Variable	Standard		Z	P
	Coef	Error		
Constant	-1.31905	0.142428	-9.26	0.000
konsentrasi etil asetat	0.0123285	0.0026599	4.64	0.000
Natural Response	0			

Log-Likelihood = -124.158

Goodness-of-Fit Tests

Method	Chi-Square	DF	P
Pearson	24.1701	7	0.001
Deviance	31.3040	7	0.000

Tolerance Distribution

Parameter Estimates

Parameter	Estimate	Standard Error	95.0% Normal CI	
			Lower	Upper
Mean	106.992	15.9498	75.7308	138.253
StDev	81.1130	17.5001	53.1428	123.804

Table of Percentiles

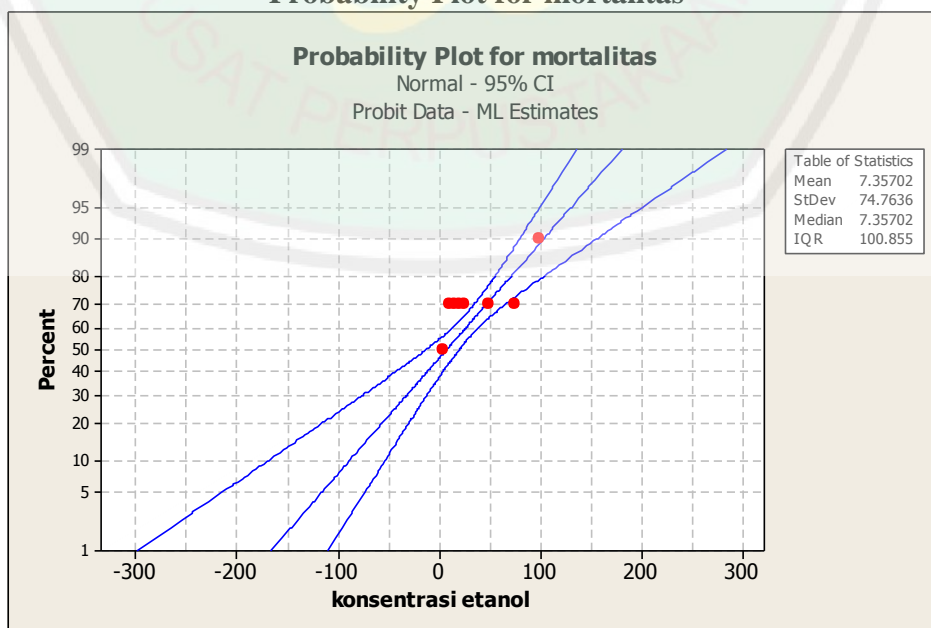
	Standard	95.0% Fiducial CI		
Percent	Percentile	Error	Lower	Upper
1	-81.7052	27.5457	-173.827	-43.1751
2	-59.5938	22.9828	-135.927	-27.2234
3	-45.5649	20.1378	-111.981	-17.0020
4	-35.0115	18.0366	-94.0466	-9.23346
5	-26.4271	16.3621	-79.5296	-2.84322
6	-19.1205	14.9699	-67.2417	2.66422
7	-12.7140	13.7818	-56.5361	7.56160
8	-6.97769	12.7513	-47.0210	12.0171
9	-1.76078	11.8486	-38.4414	16.1433
10	3.04139	11.0539	-30.6229	20.0204
20	38.7254	7.36078	22.2223	54.0835
30	64.4562	8.87132	49.6506	89.3222
40	86.4421	12.1854	68.1353	124.384
50	106.992	15.9498	83.9435	158.625
60	127.542	19.9906	99.1746	193.442
70	149.528	24.4649	115.162	231.001
80	175.258	29.8071	133.660	275.170
90	210.942	37.3171	159.112	336.627
91	215.744	38.3335	162.526	344.909
92	220.961	39.4388	166.232	353.908
93	226.698	40.6554	170.305	363.806
94	233.104	42.0157	174.850	374.863
95	240.411	43.5687	180.032	387.478
96	248.995	45.3954	186.115	402.302
97	259.549	47.6437	193.588	420.531
98	273.578	50.6365	203.514	444.772
99	295.689	55.3609	219.145	482.994

3. Ekstrak Etanol

No	Konsentrasi Etanol (ppm)	Ulangan			Modus	% Mortalitas	Mortalitas	LC ₅₀
		1	2	3				
1	0	1	0	0	0	0	7,35702	
2	5	5	4	6	5	15		
3	10	5	7	7	7	21		
4	15	5	7	7	7	21		
5	20	4	7	7	7	21		
6	25	6	7	7	7	21		
7	50	5	7	7	7	21		
8	75	7	6	7	7	21		
9	100	9	8	9	9	27		

Konsentrasi Etanol (ppm)	Jumlah Hewan Uji	Mortalitas
0	30	0
5	30	15
10	30	21
15	30	21
20	30	21
25	30	21
50	30	21
75	30	21
100	30	27

Probability Plot for mortalitas



Probit Analysis: mortalitas, hewan uji versus konsentrasi etanol

Distribution: Normal

Response Information

Variable	Value	Count
mortalitas	Success	168
	Failure	102
hewan uji	Total	270

Estimation Method: Maximum Likelihood

Regression Table

Variable	Standard		Z	P
	Coef	Error		
Constant	-0.0984037	0.112594	-0.87	0.382
konsentrasi etanol	0.0133755	0.0027476	4.87	0.000
Natural Response	0			

Log-Likelihood = -165.863

Goodness-of-Fit Tests

Method	Chi-Square	DF	P
Pearson	39.2597	7	0.000
Deviance	50.7218	7	0.000

Tolerance Distribution

Parameter Estimates

Parameter	Estimate	Standard Error	95.0% Normal CI	
			Lower	Upper
Mean	7.35702	7.43555	-7.21639	21.9304
StDev	74.7636	15.3579	49.9847	111.826

Table of Percentiles

Standard 95.0% Fiducial CI

Percent	Percentile	Error	Lower	Upper
1	-166.569	40.5704	-299.089	-109.626
2	-146.189	36.4351	-265.074	-94.9950
3	-133.258	33.8179	-243.505	-85.6992
4	-123.531	31.8534	-227.288	-78.6979
5	-115.618	30.2586	-214.103	-72.9964
6	-108.884	28.9039	-202.886	-68.1383
7	-102.978	27.7184	-193.055	-63.8740
8	-97.6912	26.6591	-184.258	-60.0517
9	-92.8827	25.6976	-176.260	-56.5716
10	-88.4564	24.8144	-168.902	-53.3645
20	-55.5657	18.3310	-114.385	-29.3743
30	-31.8491	13.8194	-75.4031	-11.7465
40	-11.5841	10.2295	-42.6419	3.86290
50	7.35702	7.43555	-13.2346	19.6665
60	26.2982	6.01739	12.9283	38.7145
70	46.5631	7.02305	34.5799	65.4335
80	70.2797	10.4253	54.5882	102.035
90	103.170	16.4188	79.5768	155.554
91	107.597	17.2685	82.8512	162.844
92	112.405	18.1980	86.3952	170.778
93	117.693	19.2268	90.2786	179.515
94	123.598	20.3828	94.6015	189.287
95	130.332	21.7088	99.5167	200.447
96	138.245	23.2753	105.274	213.575
97	147.972	25.2113	112.332	229.735
98	160.903	27.7985	121.688	251.245
99	181.283	31.8993	136.387	285.192

Lampiran 7. Dokumentasi Penelitian

1. Analisis kadar air



Gambar 1. Daun binahong segar



Gambar 2. Daun binahong kering yang sudah dipotong kecil-kecil

2. Preparasi sampel



Gambar 3. Penghalusan sampel dengan Blender



Gambar 4. Sampel yang sudah dihaluskan

3. Ekstraksi maserasi



Gambar 5. Pengocokan sampel dengan Shaker



Gambar 6. Maserasi dengan menggunakan pelarut n-heksana



Gambar 7. Maserasi dengan pelarut etil asetat



Gambar 8. Maserasi dengan pelarut etanol



Gambar 9. Penyaringan filtra dengan corong *Buchner*



Gambar 10. *Rotary evaporator*



Gambar 11. Ekstrak pekat dari n-heksana, etil asetat dan etanol

4. Uji Toksisitas

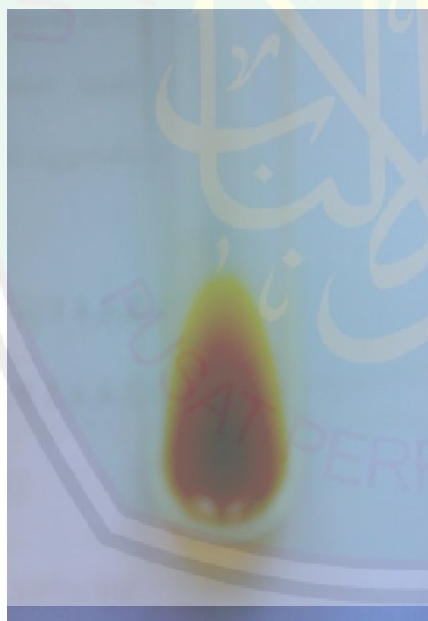


Gambar 12. Larva Udang *Artemia salina* Leach



Gambar 13. Pengujian Toksisitas

5. Uji Fitokimia



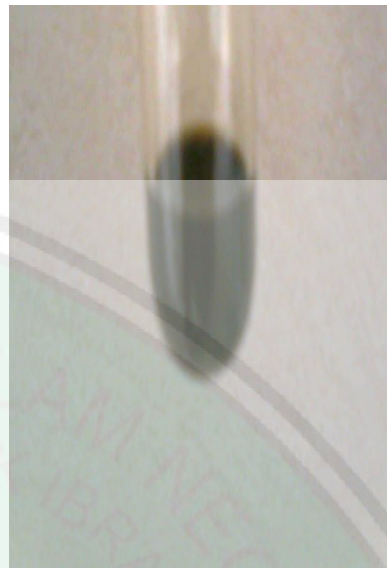
Gambar 14. Uji Alkoloid (R. Dragendorff)



Gambar 15. Uji Alkoloid (R. Mayer)



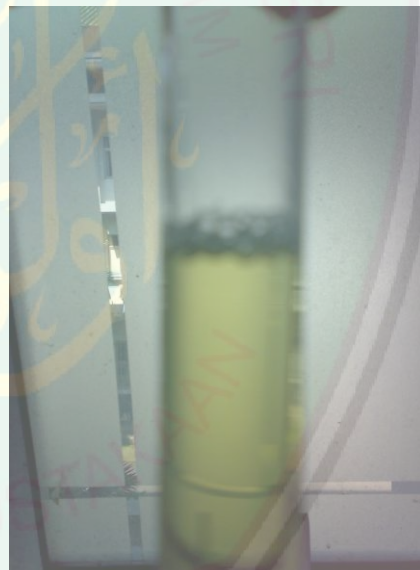
Gambar 16. Uji Flavonoid



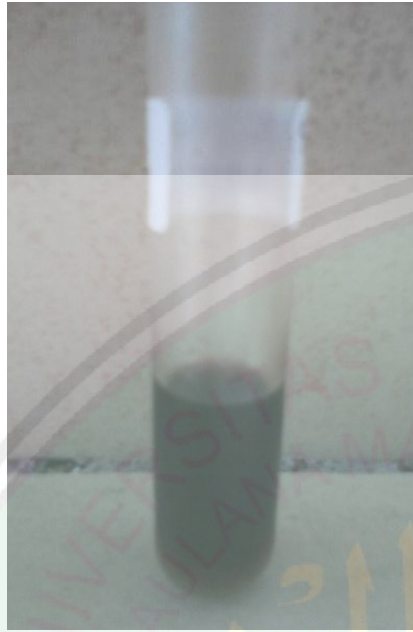
Gambar 17. Uji Tanin (FeCl_3)



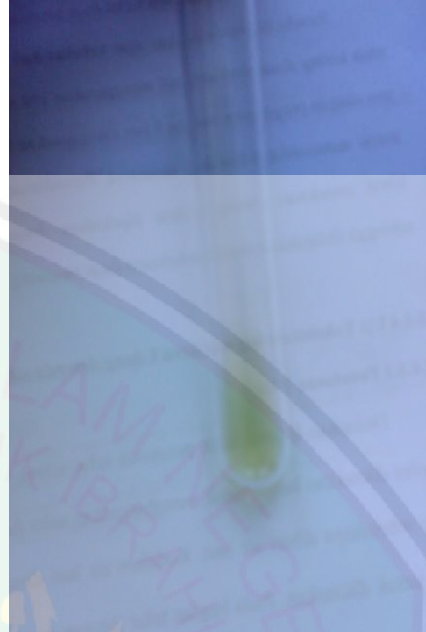
Gambar 18. Uji Tanin (Gelatin)



Gambar 19. Uji Saponin



Gambar 20. Uji Triterpenoid



Gambar 21. Uji Steroid

