

**UJI TOKSISITAS DAN IDENTIFIKASI AWAL GOLONGAN  
SENYAWA AKTIF EKSTRAK METANOL DAN n-HEKSANA  
TERIPANG PASIR (*Holothuria scarba*) KERING  
PANTAI SEKOTONG LOMBOK BARAT**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**AHMAD DODY SETIADI**  
**NIM.09630008**



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

**UJI TOKSISITAS DAN IDENTIFIKASI AWAL GOLONGAN  
SENYAWA AKTIF EKSTRAK METANOL DAN n-HEKSANA  
TERIPANG PASIR (*Holothuria scarba*) KERING  
PANTAI SEKOTONG LOMBOK BARAT**

**SKRIPSI**

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

**Oleh:  
AHMAD DODY SETIADI  
NIM.09630008**

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

**SURAT PERNYATAAN  
ORISINALITAS PENELITIAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Ahamd Dody Setiadi

NIM : 09630008

Fakultas / Jurusan : Sains dan Teknologi/Kimia

Judul Penelitian : Uji Toksisitas dan Identifikasi Awal Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Metanol dan n-Heksana Teripang Pasir (*H.scarba*) Kering Pantai Sekoltong Lombok Barat.

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 ini dan 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, 11 Juli 2014

Yang Membuat Pernyataan

Ahamd Dody Setiadi

NIM. 09630008

**UJI TOKSISITAS DAN IDENTIFIKASI AWAL GOLONGAN  
SENYAWA AKTIF EKSTRAK METANOL DAN n-HEKSANA  
TERIPANG PASIR (*Holothuria scarba*) KERING  
PANTAI SEKOTONG LOMBOK BARAT**

**SKRIPSI**

**Oleh:  
AHMAD DODY SETIADI  
NIM.09630008**

Telah disetujui oleh:  
Malang, 11 Juli 2014

Pembimbing I,

Pembimbing II,

Rachmawati Ningsih, M.Si  
NIP. 19810811 20081 2 010

Dr.H.Munirul Abidin, M.Ag  
NIP. 19720420 200212 1 003

Mengetahui,  
Ketua Jurusan Kimia  
Fakultas Sains dan Teknologi

Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang

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

**UJI TOKSISITAS DAN IDENTIFIKASI AWAL GOLONGAN  
SENYAWA AKTIF EKSTRAK METANOL DAN n-HEKSANA  
TERIPANG PASIR (*Holothuria scarba*) KERING  
PANTAI SEKOTONG LOMBOK BARAT**

**SKRIPSI**

**Oleh:  
AHMAD DODY SETIADI  
NIM.09630008**

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

Malang, 11 Juli 2014

1. Penguji Utama : Elok Kamilah Hayati, M.Si (.....)  
NIP. 19790620 200604 2 002
2. Ketua Penguji : Anik Maunatin, MP (.....)  
NIPT. 201402012412
3. Sekr. Penguji : Rachmawati Ningsih, M.Si (.....)  
NIP. 19810811 20081 2 010
4. Anggota Penguji : Dr.H.Munirul Abidin, M.Ag (.....)  
NIP. 19720420 200212 1 003

Mengetahui dan Mengesahkan  
Ketua Jurusan Kimia

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

# *Motta*

## ***Percayalah***

***Di mana Ada Kemauan, Pasti Ada Jalan..  
Karena Allah Tidak Akan Memberikan  
Cobaan Diluar Kemampuan Hamba-Nya..***



## PERSEMBAHAN

Syukur Alhamdulillah ...

Tiada hentinya kupanjatkan rasa syukur kepada Mu ya Allah atas semua nikmat dan rahmat yang Engkau berikan kepada hamba, sehingga hamba bisa mewujudkan cita-cita dan impian hamba.. iringilah setiap langkah hambamu ini dengan hidayah, kesabaran,kekuatan iman,dan keberkahan. Amin ya rabbalalamin..

*Dengan penuh ketulusan hati kupersembahkan  
hasil karya ini kepada:*

*Ayahanda H. Abdul Wahab & Ibunda Hj. Rohati  
Abangku (M. Erwan Setiawan) & adikku (Alm. Dhea Kholilah)*

*Sebagai tempatku berpangku , berbagi keluh kesah.  
Yang selalu memberikan motivasi,, kasih sayang, keikhlasan,  
perhatian dan do'a yang tiada henti.*

*Terima kasih bapak, mama, abang, ade'.*

## KATA PENGANTAR



Puji syukur Alhamdulillah ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat, hidayah dan kemudahan yang selalu diberikan kepada hamba-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Toksisitas dan Identifikasi Awal Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Metanol dan n-Heksana Teripang Pasir (*H.scarba*) Kering Pantai Sekotong Lombok Barat”, sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Program Studi Kimia, Universitas Islam Maulana Malik Ibrahim Malang.

Sholawat dan salam penulis ucapkan kepada Nabi Muhammad SAW yang menjadi panutan bagi umat didunia. Dialah Nabi akhir zaman, revolusioner dunia, yang membawa umat manusia dari alam kegelapan menuju alam terang benderang yaitu agama Islam.

Dalam menyelesaikan skripsi ini penulis tidak akan berhasil tanpa adanya bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Elok Kamillah Hayati, M.Si. selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Malang.
2. Ibu Racmawati Ningsih, M.Si., Bapak Dr. H.Munirul Abidin., M.Ag dan Bapak Tri Kustono Adi, M.Sc selaku dosen pembimbing yang disela-sela kesibukannya masih dapat meluangkan waktunya untuk memberikan



bimbingan, ilmu, arahan dan dorongan kepada penulis dalam menyusun skripsi ini.

3. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si., Ibu Anik Maunatin, M.P., dan Bapak Dr. H.Munirul Abidin, M.Ag selaku penguji yang banyak memberikan masukan-masukan demi sempurnanya isi skripsi ini.
4. Kedua orang tuaku tercinta, Bapak (H. Abdul Wahab) dan Mama (Hj. Rohati), keberhasilan ini tidak lepas dari kasih sayang, kesabaran dan keikhlasan telah mengasuh, membesarkan, mendidik serta mengalirkan doa-doanya yang tiada henti untuk kebahagiaan anaknya tercintanya baik didunia maupun diakhirat.
5. Abangku Muhammad Erwan Setiawan yang banyak memberikan motivasi dan masukan. Terima kasih juga untuk almarhumah adikku Dhea Kholilah.
6. Laili Indah Arifah, terima kasih atas motivasi, dukungan dan masukannya.
7. Teman-teman Lombok penghuni kos 55A (Bages, Deni Ardiawan, Ican, Awier, Alan lechok, Perconk, Wawan, Unk, Yedi, Aep Yayep, Deniz Black dan Uje), terima kasih atas dukungan dan masukannya serta keceriaan setiap hari.
8. Teman-teman Kimia A dan B (Lutfi, Anwar, Taufik, Ibad, Ali brem, Ali Ust, Shaofi, David, dan yang lain yang tidak disebutkan namanya) terima kasih atas persahabatan kalian selama ini.
9. Teman seperjuangan , Taufik, Alfin, Mifta, Lu'ul, Farid, dan teman-teman yang lain, terima kasih atas bantuannya.
10. Semua pihak yang telah membantu baik secara moril maupun materiil, yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu.

Semoga Allah SWT memberikan balasan yang berlipat ganda kepada mereka semua atas setiap pengorbanan yang telah dilakukan dalam membantu dan meringankan beban penulis selama penelitian hingga selesainya penulisan skripsi ini, amin.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu saran dan kritik yang bersifat membangun sangat penulis harapkan demi sempurnanya skripsi ini. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi penulis pada khususnya dan bagi pembaca pada umumnya dan semoga penulisan skripsi ini mendapatkan ridho dari Allah SWT. Amin.

Malang, 11 Juli 2014

Penulis

## DAFTAR ISI

Cover .....	i
Halaman Judul.....	ii
Pernyataan Orisinalitas .....	iii
Halaman Persetujuan .....	iv
Halaman Pengesahan.....	v
Halaman Persembahan.....	vii
Kata Pengantar .....	viii
Daftar Isi.....	xi
Daftar Tabel .....	xiii
Daftar Gambar.....	xiv
Daftar Lampiran.....	xv
Abstrak .....	xvi
<b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	7
1.3 Tujuan Penelitian .....	7
1.4 Batasan Masalah.....	7
1.5 Manfaat Penelitian.....	8
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>9</b>
2.1 Teripang Pasir ( <i>Holothuria scabra</i> ).....	9
2.2 Ekstraksi Maserasi.....	11
2.3 Larva Udang <i>Artemia salina</i> L .....	12
2.4 Metabolit Sekunder .....	14
2.5 Uji Toksisitas Terhadap Larva Udang ( <i>Artemia Salina</i> Leach).....	16
2.6 Uji Senyawa Aktif Teripang Pasir ( <i>Holothuria scabra</i> ) .....	18
2.6.1 Alkaloid.....	18
2.6.2 Flavonoid .....	21
2.6.3 Triterpenoid.....	22
2.6.4 Steroid .....	24
2.7 Kromatografi Lapis Tipis .....	25
2.8 Pemanfaatan Teripang Dalam Islam .....	26
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>29</b>
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	29
3.2 Alat dan Bahan Penelitian .....	29
3.2.1 Alat Penelitian .....	29
3.2.2 Bahan .....	29
3.3 Rancangan Penelitian .....	30
3.4 Tahapan Penelitian .....	31
3.5 Pelaksanaan Penelitian .....	31
3.5.1 Preparasi Sampel .....	31
3.5.2 Analisis Kadar Air.....	31

3.5.3 Analisis Kadar Garam.....	32
3.5.4 Ekstraksi Maserasi.....	33
3.5.5 Uji Toksisitas dengan Larva Udang <i>Artemia salina</i> Leach .....	34
3.5.5.1 Penetasan Telur .....	34
3.5.5.2 Uji Toksisitas.....	34
3.5.6 Uji Senyawa Aktif dengan Uji Reagen.....	35
3.5.6.1 Uji Flavonoid .....	35
3.5.6.2 Uji Alkaloid .....	36
3.5.6.3 Uji Triterpenoid dan Steroid.....	36
3.5.6.4 Uji Saponin .....	36
3.5.7 Pemisahan Senyawa Aktif Dengan KLT .....	37
3.6 Analisis Data.....	39
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>40</b>
4.1 Analisis Bahan Baku .....	40
4.2 Preparasi sampel.....	42
4.3 Ekstraksi Komponen Senyawa Aktif .....	43
4.4 Uji Toksisitas Menggunakan Larva Udang <i>A.Salina</i> leach.....	46
4.5 Uji Reagen (Uji Fitokimia).....	52
4.6 Kromatografi Lapis Tipis .....	56
4.7 Pemanfaatan Teripang Dalam Islam .....	62
<b>BAB V PENUTUP.....</b>	<b>66</b>
5.1 Kesimpulan .....	66
5.2 Saran .....	66
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>67</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>75</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Hasil rendemen ekstrak metanol dan n-heksana .....	45
Tabel 4.2 Nilai LC <sub>50</sub> ekstrak teripang pada berbagai konsentrasi .....	50
Tabel 4.3 Hasil Pengamatan Uji Fitokimia Senyawa Aktif Ekstrak Metanol Teripang Pasir ( <i>H. Scarba</i> ) .....	53
Tabel 4.4 Hasil KLT senyawa triterpenoid dengan eluen n-butanol : amoniak (6:2) .....	58

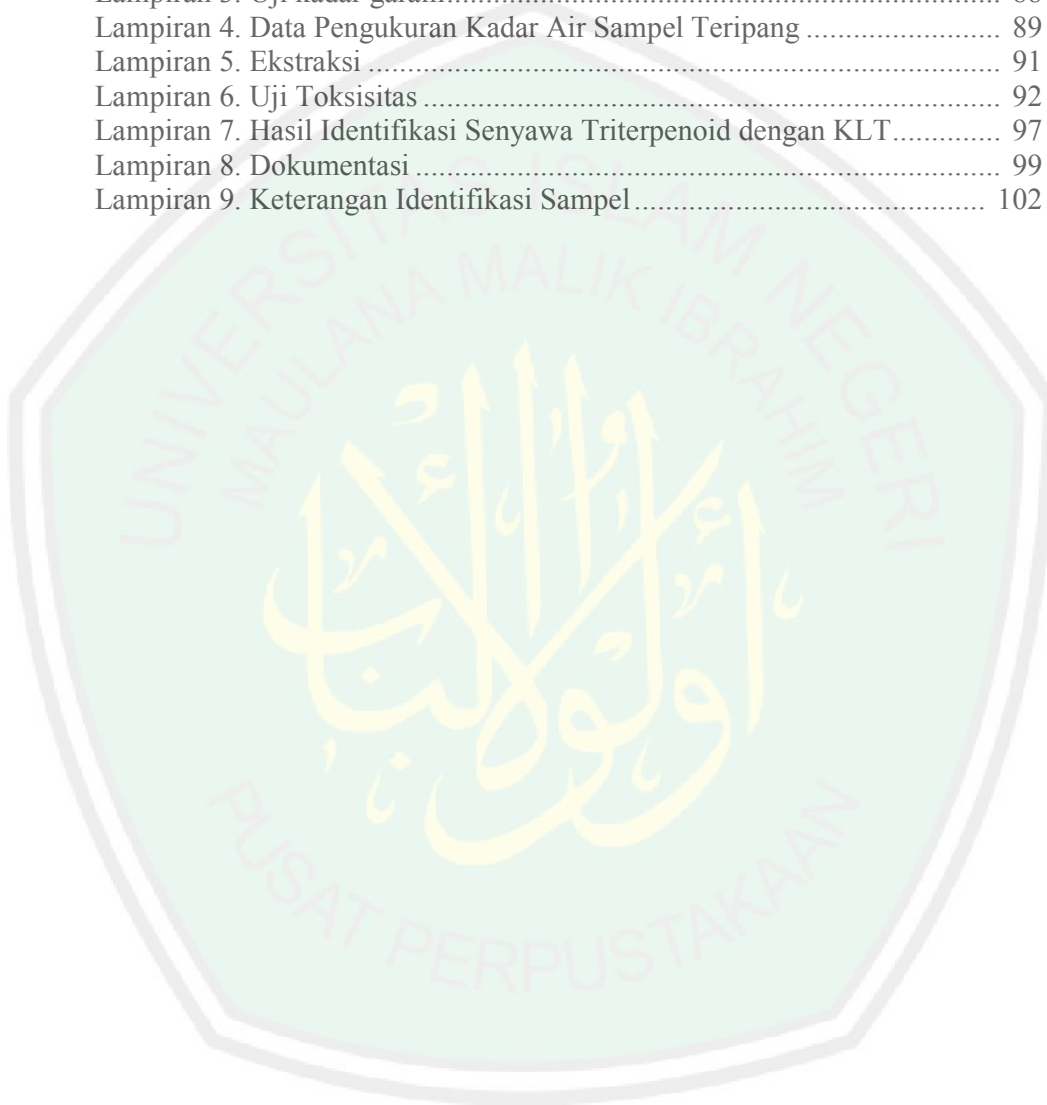


## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Teripang pasir ( <i>H.scabra</i> ) .....	10
Gambar 2.2	Larva udang <i>Artemia salina</i> Leach .....	13
Gambar 2.3	Contoh struktur senyawa alkaloid.....	19
Gambar 2.4	Reaksi dugaan antara alkaloid dengan pereaksi Meyer .....	20
Gambar 2.5	Reaksi dugaan antara alkaloid dengan pereaksi Dragendorff.....	20
Gambar 2.6	Struktur dasar Flavonoid .....	21
Gambar 2.7	Reaksi dugaan antara flavonoid dengan Serbuk Mg dan HCl pekat .....	22
Gambar 2.8	Contoh Struktur Senyawa Triterpenoid.....	22
Gambar 2.9	Reaksi dugaan antara senyawa triterpenoid dengan Liebarmen-Burchard.....	23
Gambar 2.10	Struktur inti senyawa steroid .....	24
Gambar 4.1	Grafik Uji Toksisitas (LC <sub>50</sub> ) Ekstrak Metanol .....	48
Gambar 4.2	Grafik Uji Toksisitas (LC <sub>50</sub> ) Ekstrak n-Heksana .....	49
Gambar 4.3	Dugaan mekanisme reaksi pembentukan warna pada uji terpenoid .....	55
Gambar 4.4	Profil plat hasil KLT ekstrak teripang pasir fraksi metanol Eluen n-butanol:Amoniak (6:2) pada $\lambda$ 366 nm.....	58

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja .....	75
Lampiran 2. Perhitungan dan pembuatan larutan .....	83
Lampiran 3. Uji kadar garam.....	88
Lampiran 4. Data Pengukuran Kadar Air Sampel Teripang .....	89
Lampiran 5. Ekstraksi .....	91
Lampiran 6. Uji Toksisitas .....	92
Lampiran 7. Hasil Identifikasi Senyawa Triterpenoid dengan KLT.....	97
Lampiran 8. Dokumentasi .....	99
Lampiran 9. Keterangan Identifikasi Sampel.....	102



## ABSTRAK

Setiadi, Ahmad Dody. 2014. **Uji Toksisitas Dan Identifikasi Awal Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Metanol dan n-heksana Teripang Pasir (*Holothuria scarba*) Kering Pantai Sekotong Lombok Barat.** Pembimbing I: Rachmawati Ningsih, M.Si, Pembimbing II: Dr.H.Munirul Abidin, M.Ag, Konsultan: Tri Kustono Adi, M.Sc

---

**Kata kunci:** Teripang Pasir (*H.scarba*), BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*), Uji Fitokimia.

Teripang pasir (*H.scarba*) merupakan salah satu biota laut yang dapat dijadikan sebagai sumber senyawa bioaktif. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui tingkat toksisitas ekstrak kasar teripang pasir (*H.scarba*) terhadap larva udang *Artemia salina* leach dan untuk mengetahui senyawa aktif yang terkandung dalam tubuh teripang pasir (*H.scarba*) yang berasal dari pantai Sekotong Lombok Barat.

Proses ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstraksi maserasi dengan dua pelarut yang berbeda yaitu metanol dan n-heksana. Ekstrak pekat yang diperoleh digunakan untuk uji toksisitas dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) dan uji fitokimia dengan reagen. Data kematian *A.salina* Leach dianalisis dengan analisis probit untuk mengetahui nilai  $LC_{50}$  pada masing-masing ekstrak. Ekstrak yang memiliki tingkat toksisitas yang paling tinggi dilanjutkan dengan pemisahan kromatografi lapis tipis (KLT).

Hasil pengujian menunjukkan ekstrak metanol dan n-heksana memiliki nilai  $LC_{50}$  masing-masing sebesar 90,3646 ppm dan 158,401 ppm. Hasil pemisahan KLT pada ekstrak metanol dengan eluen n-butanol:amoniak (6:2) diperoleh 5 spot dengan nilai masing-masing  $R_f$  sebesar 0,15; 0,19; 0,31; 0,51 dan 0,67. Spot yang memiliki nilai  $R_f$  0,31; 0,51 dan 0,67 diduga merupakan senyawa triterpenoid.



## ABSTRACT

Setiadi, Ahmad Dody. 2014. **Toxicity Assay and Preliminary Identification of the Active Compounds of the Methanol and N-Hexane Extracts of Dried Sea Cucumber (*H.scabra*) Collected from Sekotong Coast, West Lombok.** Supervisor I: Rachmawati ningsih, M.Si., Supervisor II: Dr.H. Munirul Abidin, M.Ag., Consultan: Tri Kustono Adi, M.Sc.

---

**Key Word:** Sea Cucumber (*H.scarba*), BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*), *Phytochemical Test*.

Sea cucumbers (*H.scarba*) is a species of marine biota that can be used as a source of bioactive compounds. The purpose of this study was to determine the level of toxicity of extract sea cucumber (*H.scarba*) against larval shrimp *Artemia salina* leach and to determine the active compounds contained in the body of the sea cucumbers (*H.scarba*) derived from Sekotong coast, West Lombok.

Maceration method was applied by using methanol and n-hexane solvents. Extract obtained was used for toxicity tests with BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) method and phytochemical test reagent. The mortality data of *A.salina* Leach was analysed using probit analysis to determine the value of  $LC_{50}$  on each extract. Extracts which have a higher level of toxicity followed by TLC separation.

The results showed that methanol and n-hexane extract indicated  $LC_{50}$  values of 90.3646 ppm and 158,401 ppm. TLC separation results of methanol extract with eluent n-butanol: amoniak (6:2) obtained 5 spot with Rf values are 0,15; 0,19; 0,31; 0,51 and 0,67. Spots with Rf values 0,31; 0.51 and 0.67 are expected as triterpenoids compounds.

### مستخلص البحث

ستيادي ، أحمد دودي. ، عام 2014. اختبار السمية والإكتشاف المبكر للمركبات بالموقع المجموعة الميثانول مقتطفات ون الهكسان الرمال خيار البحر (هلوطريا سكاربا) سينجيجي الجاف الشاطئ في غرب لومبوك. المشرفة الأول : رحمواتينجسيه الماجستير ، المشرف الثاني:الدكتور الحاج منير العابدين الماجستير ، المشرفالاستشاري: تريكونطراعيدي، الماجستير

الكلمات الرئيسية: رمل خيار البحر(هلوطريا سكاربا) ، BSLT ( الماء المالح الروبيان الخطورة اختبار)، اختبار كيمياء العقاقير .

الخيار رمل البحر(هلوطريا سكاربا) هي واحدة من الحياة البحرية التي يمكن استخدامها كمصدر للمركبات الحيوية النشطة. وكان الغرض من هذه الدراسة إلى تحديد مستوى سمية استخراج النفط الخام الرمال خيار البحر(هلوطريا سكاربا) ضد يرقات الأرتيميا الروبيان ساليئا يتش وتحديد المركبات النشطة الواردة في الجسم من خيار البحر الرمل (هلوطريا سكاربا) المستمدة من الشاطئ سينجيجي في غرب لومبوك .

عملية الاستخراج المستخدمة في هذه الدراسة هو استخراج متأكلة مع اثنين من المذيبات مختلفة، وهي الميثانول والهكسان ن. تم استخدام مستخلص تتركز الحصول عليها لاختبارات السمية مع BSLT طريقة (الماء المالح الروبيان الخطورة اختبار) والنباتية اختبار كاشف. وقد تم تحليل بيانات الوفياتاً .ساليئا يتش عن طريق تحليل الاحتمالية لتحديد القيم LC<sub>50</sub> لكل استخراج. استخراج يحتوي على أعلى مستوى من سمية يليه فصل طبقة رقيقة اللوي. (KLT).

والنتائج أظهرت الاختبار استخراج الميثانول ون الهكسين له قيم LC<sub>50</sub>التوالي 90.3646 جزء في المليون و158.401 جزء في المليون. النتائج الفصل KLT من استخراج الميثانول شاطف ن بيوتانول: الأمونيا (6:2) الحصول على 5 نقطة مع القيم الترددات اللاسلكية على التوالي من 0.15; 0.19; 0.31; 0.51 و 0.67. بقعة من الترددات اللاسلكية القيم 0.31; 0.51 و 0.67 هو مركب يشتهه في استخلص.

## BAB I PENDAHULUAN

### 1.1 Latar belakang

Allah telah menciptakan bumi beserta isinya dengan sangat sempurna tidak ada cacat sedikitpun di dalamnya, termasuk manusia, hewan maupun tumbuhan. Allah juga menciptakan lautan beserta isinya dan menjadi sumber daya alam yang tidak pernah habis manfaatnya bagi manusia, di dalam penciptaan alam semesta ini terdapat tanda-tanda kekuasaan Allah bagi orang-orang yang berfikir. Allah berfirman di dalam al Quran surat An Nahl ayat 14 yang berbunyi :

وَهُوَ الَّذِي سَخَّرَ الْبَحْرَ لِتَأْكُلُوا مِنْهُ لَحْمًا طَرِيًّا وَتَسْتَخْرِجُوا مِنْهُ حِلْيَةً  
 تَلْبَسُونَهَا وَتَرَى الْفُلْكَ مَوَاجِرَ فِيهِ وَلِتَبْتَغُوا مِنْ فَضْلِهِ لَعَلَّكُمْ  
 تَشْكُرُونَ ﴿١٤﴾

*“Dan Dia-lah, Allah yang menundukkan lautan (untukmu), agar kamu dapat memakan daripadanya daging yang segar (ikan), dan kamu mengeluarkan dari lautan itu perhiasan yang kamu pakai; dan kamu melihat bahtera berlayar padanya, dan supaya kamu mencari (keuntungan) dari karunia-Nya, dan supaya kamu bersyukur.”*

Di dalam ayat tersebut dijelaskan bahwa Allah menciptakan lautan beserta isinya agar manusia dapat memanfaatkan apa yang ada dilautan dan bersyukur atas apa yang telah Allah berikan kepada manusia. Terdapat banyak kekayaan alam yang ada di lautan seperti ikan, mutiara, terumbu karang, pasir, garam dan masih banyak biota laut yang lainnya.

Indonesia merupakan negara kepulauan yang memiliki daerah lautan yang sangat luas, yang mana seluruh wilayah Indonesia semuanya dikelilingi oleh lautan. Jika dihitung secara matematis, wilayah Indonesia terdiri dari 75% lautan dan 25% daratan, dari data tersebut dapat disimpulkan bahwa Indonesia memiliki potensi alam yang sangat luar biasa yang bisa dikembangkan khususnya dibidang kelautan. Kurangnya pemanfaatan sumber daya alam di sektor kelautan ini menjadi salah satu kekurangan negara kita yang dampaknya belum terlihatnya potensi lautan Indonesia sebagai lautan yang kaya akan sumber daya alam.

Salah satu sumber daya alam yang ada di lautan Indonesia adalah teripang, biota laut yang termasuk ke dalam golongan hewan berkulit duri (*Echinodermata*) ini sangat banyak ditemukan di daerah perairan Indonesia, bahkan hampir diseluruh wilayah Indonesia. Teripang memiliki nilai ekonomis tinggi serta memiliki kandungan gizi yang tinggi yaitu protein 82 %, lemak 1,7 %, kadar air 8,9 %, kadar abu 8,6 %, dan kadar karbohidrat 4,8 % (Martoyo, dkk., 2006).

Salah satu jenis teripang yang banyak ditemui di lautan Indonesia adalah jenis teripang pasir (*Holothuria scabra*) dengan tingkat penyebaran mencapai 38,86 % (Yusron, 2004). Seperti halnya teripang jenis lain, teripang pasir (*Holothuria scabra*) juga memiliki nilai ekonomis yang cukup tinggi, disekitar pantai Sekotong Lombok Barat para nelayan atau warga sekitar menjualnya dengan harga Rp. 15.000-25.000/Kg. Jika tidak dijual masyarakat setempat memanfaatkannya sebagai lauk sehari-hari atau dijadikan kerupuk.

Studi di Cina menunjukkan adanya anti kanker pada saponin dan polisakarida yang terkandung di dalam teripang. Studi modern ini telah membuktikan bahwa teripang dapat digunakan sebagai suatu tonik dan suplemen gizi (Demersal, 2007). Menurut Wibowo, dkk (1997) teripang mengandung bahan bioaktif (antioksidan) yang berfungsi mengurangi kerusakan sel jaringan tubuh, antikanker (Murwani dan Agus, 2003), serta antijamur (Lian, dkk., 2000). Hasil penelitian lain menunjukkan bahwa ekstrak teripang mengandung senyawa steroid yang mempunyai aktifitas biologis aprodisiaka (Kustiariyah, 2006).

Penelitian yang dilakukan Inayah (2012) penggunaan pelarut n-heksana dalam mengekstrak teripang pasir (*H. scabra*), menunjukkan bahwa hasil ekstrak n-heksana memiliki sifat toksisitas dengan nilai  $LC_{50}$  sebesar 189,093 ppm sedangkan pada hasil ekstrak etanol nilai  $LC_{50}$  sebesar 286,031 ppm, begitu pula dengan penelitian Albutana (2011) tentang uji toksisitas ekstrak empat jenis teripang suku *holothuriidae* yang diambil dari pantai kepulauan seribu jakarta diperoleh nilai  $LC_{50}$  51,184 ppm untuk ekstrak n-heksana,  $LC_{50}$  69,684 untuk ekstrak etil asetat dan  $LC_{50}$  50,986 ppm untuk air, sedangkan pada penelitian Narsinh (2004) yang mengekstrak teripang pasir (*H. scabra*) menggunakan pelarut metanol dan petroleum eter menunjukkan ekstrak metanol memiliki nilai  $LC_{50}$  terendah yaitu pada konsentrasi 0,17% sedangkan pada ekstrak petroleum eter nilai  $LC_{50}$  terendah pada konsentrasi 0,33%. Penelitian Nurhayati (2006) yang mengekstrak *Eucheuma alvarezii* menggunakan pelarut metanol dan kloroform menunjukkan nilai  $LC_{50}$  ekstrak *E. Alvarezii* yang terlarut dalam metanol sebesar 23,3346 ppm dan nilai  $LC_{50}$  ekstrak kloroform sebesar 89,7429 ppm. Perbedaan

kualitas lingkungan perairan sebagai habitat organisme teripang dapat mempengaruhi metabolisme teripang tersebut, termasuk senyawa metabolit sekundernya (Ismet, dkk., 2007).

Penelitian ini akan menggunakan sampel teripang pasir (*H. Scabra*) yang diambil di daerah perairan Lombok. Perairan laut di Lombok masih alami dan bersih karena tidak ada pabrik-pabrik atau industri besar yang menimbulkan polusi atau penyemaran di laut, tidak terkecuali di pantai Sekotong dimana letak pantainya yang berada di ujung sebelah barat pulau Lombok sangat jauh dari perkotaan dan tingkat pencemaran lingkungannya sangat kecil, terutama di sektor perairan, sehingga pengambilan sampel di perairan yang berbeda memiliki kemungkinan memberikan kandungan senyawa aktif yang berbeda.

Sampel teripang yang berasal dari pantai sekotong Lombok Barat diharapkan memiliki kualitas metabolit sekunder yang baik karena pantai sekotong masih tergolong bersih dan belum tercemar. Ketersediaan nutrisi serta lingkungan yang baik dapat meningkatkan produksi serta kualitas metabolit primer dari teripang, Nofiani (2008) menjelaskan bahwa dengan meningkatnya produksi metabolit primer maka produksi metabolit sekunder juga akan meningkat.

Ketersedian oksigen, karbon dan fosfat juga mempengaruhi produksi metabolit sekunder pada biota laut (Nofiani. 2008) termasuk teripang. Selain faktor nutrisi yang cukup, pencemaran lingkungan juga dirasa sangat mempengaruhi hasil ekstraksi metabolit sekunder pada sampel. Adanya unsur kimia yang berbahaya (limbah pabrik) pada lingkungan perairan dapat

mempengaruhi kualitas dari metabolit sekunder yang akan diekstraksi, sehingga untuk pemanfaatan lebih lanjut di bidang farmakologi metabolit sekunder dari teripang pasir yang berasal dari pantai sekotong relatif aman untuk digunakan.

Uji toksisitas tahap awal dilakukan untuk mengetahui nilai  $LC_{50}$  (*Lethal Concentration 50*) yang biasanya diujikan terhadap organisme akuatik (Soemirat, 2005). Salah satu organisme yang sesuai untuk mengetahui bioaktivitas senyawa melalui uji toksisitas tahap awal adalah *brine shrimp* (udang laut) dari jenis *Artemia salina* Leach. Larva udang ini merupakan organisme sederhana dari biota laut yang sangat kecil dan mempunyai kepekaan yang cukup tinggi terhadap toksik (Parwati dan Simanjuntak, 1998). Menurut Meyer (1982), metode pengujian BSLT dengan menggunakan *artemia salina* dianggap memiliki korelasi dengan daya sitotoksik senyawa-senyawa antikanker. Metode ini dikenal sebagai metode yang tepat, cepat, murah dan hasilnya dapat dipertanggung jawabkan.

Pengujian senyawa yang memiliki potensi bioaktivitas sebagai antikanker dapat dilakukan dengan pengujian toksisitasnya. Pengujian terhadap kadar toksisitas ekstrak hewan dilakukan dengan mengamati tingkat kematian (mortalitas) yang ditimbulkan oleh ekstrak terhadap larva udang jenis *A.salina* Leach setelah dilakukan pengujian selama 24 jam. Batas aktivitas biologi adalah dengan nilai  $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$  (Meyer, *et al.*, 1982 dalam Lisdawati, 2002). Pengujian dengan *A.salina* merupakan metode yang sederhana namun metoda ini dapat digunakan sebagai indikator sitotoksis dan cukup ideal untuk evaluasi terhadap prosedur fraksinasi (Lisdawati, 2002).

Bioaktivitas hewan sangat dipengaruhi oleh kandungan senyawa kimia yang terdapat di dalamnya, sedangkan untuk mendapatkan senyawa kimia yang bersifat aktif tersebut dipengaruhi oleh metode pemisahan meliputi cara ekstraksi dan pelarut yang digunakan. Pelarut yang sering digunakan dalam proses ekstraksi adalah aseton, etil klorida, etanol, heksana, kloroform dan metanol (Ika, 2010).

Pemilihan pelarut metanol dikarenakan senyawa aktif yang terdapat pada teripang pasir sangat mudah terekstrak oleh pelarut yang sangat polar seperti alkaloid, triterpenoid, saponin dan steroid (Ma'ruf, 2012), berdasarkan hal tersebut, pemisahan senyawa aktif pada penelitian ini dari teripang pasir dilakukan dengan metode ekstraksi maserasi menggunakan pelarut yang memiliki perbedaan kepolaran yaitu metanol dan n-heksana.

Uji toksisitas pada setiap ekstrak teripang pasir (*H.scabra*) dilakukan dengan metode BSLT, sehingga nantinya akan diketahui ekstrak yang memiliki bioaktivitas yang optimal ( $LC_{50}$  paling rendah). Ekstrak yang memiliki aktivitas paling optimal akan diuji golongan senyawa aktif yang terkandung didalamnya dengan menggunakan uji reagen dan kromatografi lapis tipis (KLT). Hasil penelitian ini diharapkan akan diketahui ekstrak yang memiliki potensi bioaktivitas dan golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak teripang pasir pada perairan Lombok.



## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Bagaimana tingkat toksisitas ekstrak metanol dan ekstrak n-heksana teripang pasir (*H.scabra*) dari pantai Sekotong terhadap larva udang *A.salina* Leach?
2. Golongan senyawa aktif apa yang terkandung dalam ekstrak teripang pasir (*H.scabra*) dari pantai Sekotong yang memiliki toksisitas paling optimal?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka tujuan penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui tingkat toksisitas ekstrak metanol dan ekstrak n-heksana teripang pasir (*H.scabra*) dari pantai Sekotong terhadap larva udang *A.salina* Leach.
2. Untuk mengetahui kandungan senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak teripang pasir (*H.scabra*) dari pantai Sekotong yang memiliki toksisitas paling optimal.

## 1.4 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Teripang pasir yang digunakan berasal dari pantai Sekotong Lombok Barat yang sudah dikeringkan.
2. Pelarut yang digunakan adalah Metanol dan n-heksana.
3. Hewan uji toksisitas yang digunakan adalah larva udang *A.salina* Leach.
4. Uji senyawa aktif dilakukan dengan menggunakan uji reagen dan kromatografi

lapis tipis (KLT).

5. Toksisitas diukur dengan metode BSLT.

### 1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat mengenai toksisitas ekstrak teripang pasir (*H.scabra*) terhadap larva udang *A.salina* Leach dan golongan senyawa aktifnya, sehingga dapat dikembangkan dan dimanfaatkan di bidang farmakologi.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Teripang Pasir (*Holothuria scabra*)

Teripang adalah hewan yang tidak bertulang belakang dengan tubuh berbentuk silinder memanjang. Bentuk tersebut menyerupai mentimun sehingga teripang dikenal dengan nama mentimun laut (*sea cucumber*) (Wibowo, dkk., 1997). Teripang dapat ditemukan hampir diseluruh perairan, mulai dari daerah pasang surut yang dangkal sampai perairan yang lebih dalam. Penyebaran teripang di Indonesia sangat luas. Beberapa daerah penyebaran antara lain meliputi perairan pantai Madura, Jawa timur, Bali, Sumba, Lombok, Aceh, Bengkulu, Bangka, Riau dan sekitarnya, Belitung, Kalimantan, Sulawesi, Maluku, Timor, dan kepulauan seribu (Martoyo, 2006).

Teripang umumnya menempati ekosistem terumbu karang dengan perairan yang jernih, bebas dari polusi, air relatif tenang dengan mutu air cukup baik. Habitat yang ideal bagi teripang adalah air laut dengan salinitas 29-33 % yang memiliki kisaran pH 6,5-8,5, kecerahan air 50-150 cm, kandungan oksigen terlarut 4-8 ppm dan suhu air laut 20-25 °C (Wibowo, dkk., 1997).

Tidak semua jenis teripang yang ditemukan di perairan Indonesia mempunyai nilai ekonomis penting. Jenis teripang yang dapat dimakan dan mempunyai nilai ekonomis penting terbatas pada famili Holothuriidae pada genus *Holothuria*, *Muelleria*, dan *Stichopus* (Martoyo, 2006). Secara garis besar klasifikasi dari

beberapa jenis teripang bernilai ekonomi tersebut adalah sebagai berikut (Isharmanto, 2010) :

Kingdom : Animalia  
 Phylum : Echinodermata  
 Sub-filum : Echinozoa  
 Class : Holothuroidea  
 Sub-class : Aspidochirotacea  
 Genus : Holothuria  
 Spesies : *Holothuria scabra*



Gambar 2.1 Teripang pasir (*H.scabra*) (Anonim, 2013)

Zat gizi yang terkandung dalam teripang antara lain protein 6,16%, lemak 0,54%, karbohidrat 6,41% dan kalsium 0,01% (kondisi segar kadar air 86,73%), teripang kering mempunyai kadar protein tinggi yaitu 44-55% dengan kandungan asam amino yang lengkap, dan asam lemak tidak jenuh (EPA dan DHA) yang penting untuk kesehatan jantung. Selain itu teripang juga mengandung fosfor, besi, iodium, natrium, vitamin A dan B (tiamin, riboflavin dan niacin), kolagen, vitamin E, zat-zat

mineral seperti khromium, ferum, kadmium, mangan, nikel, kobalt dan seng (Wibowo *et al.* 1997).

Menurut Nurjanah (2008) menunjukkan bahwa teripang pasir (*Holothuria scabra*) mengandung tiga senyawa steroid yang dominan yaitu  $12\beta$ -hidroxy-20,24-dimethyl-12,18-oxa-25-norscalarane, 12,oleanene-3,16,21,22,28-pentol dan 24-O-(2,4-Di-O-methyl Dxylopyranosyl-(12)-D-xylofuranoside). Pada penelitian Kaswandi, dkk., (2000) menunjukkan bahwa ekstraksi komponen antibakteri dari teripang (*H.acabunda*) cukup efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, *Vibrio amselae*. Hasil penelitian lain menunjukkan bahwa ekstrak teripang mengandung senyawa steroid yang mempunyai aktivitas biologis sebagai aprodisiaka (Kustiariyah, 2006).

## 2.2 Ekstraksi Maserasi

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan substansi dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Maserasi merupakan metode ekstraksi padat cair dimana jika substansi yang diekstraksi terdapat didalam campurannya yang berbentuk padat. Metode ini paling banyak ditemui didalam usaha untuk mengisolasi suatu substansi yang terkandung di dalam suatu bahan alam (Kristanti, 2008) yang mana bertujuan untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. Ekstraksi ini didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut, dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut (Harborne, 1987).

Proses ekstraksi maserasi dilakukan dengan jalan membiarkan padatan terendam dalam suatu pelarut. Ekstraksi menggunakan pelarut dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu *aqueous phase* dan *organic phase*. Ekstraksi *aqueous phase* dilakukan dengan menggunakan pelarut air, sedangkan *organic phase* menggunakan pelarut organik (Mulyono dan Indarsih, 2006).

Prinsip metode ekstraksi menggunakan pelarut organik adalah bahan yang akan diekstrak berkontak langsung dengan pelarut pada waktu tertentu kemudian diikuti dengan pemisahan dari bahan yang telah diekstrak (Houghton dan Raman, 1998). Beberapa peneliti menyarankan bahwa dalam memilih suatu pelarut maka perlu dipertimbangkan karakteristik keseluruhan sistem reaksi, khususnya pertimbangan rentang polaritas substrat dan produk reaksi dan kemungkinan interaksinya dengan pelarut yang digunakan (Yang, *dkk.*, 1994). Suatu senyawa menunjukkan kelarutan yang berbeda-beda dalam pelarut yang berbeda. Bahan dan senyawa kimia akan mudah larut pada pelarut yang relatif sama kepolarannya. Derajat polaritas tergantung pada tahapan dielektrik, makin besar tahapan dielektrik semakin polar pelarut tersebut (Harborne, 1987). Pelarut yang digunakan harus dapat melarutkan zat yang diinginkannya, mempunyai titik didih yang rendah, murah, tidak toksik, dan mudah terbakar (Ketaren, 1986).

### **2.3 Larva Udang *Artemia salina* L.**

Larva udang merupakan spesies perairan sejenis udang primitif. Pertama ditemukan di Lymington, England pada tahun 1755. *Artemia* bisa ditemukan di

pedalaman danau air asin di seluruh dunia, tetapi tidak ditemukan di samudra.

*Artemia* yang dikenal dengan baik dan dikembangkan yaitu dari spesies *A.salina*.



Gambar 2.2 Larva udang *Artemia salina* Leach (Anonim, 2013)

Telur *A.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. Cangkang telur *A.salina* dibagi dalam dua bagian yaitu korion (bagian luar) dan kutikula embrionik (bagian dalam). Lapisan ketiga dinamakan selaput kutikuler luar yang terdapat di antara kedua lapisan tersebut (Anonim, 2013).

Larva udang memiliki klasifikasi sebagai berikut (Bougis, 1979 dalam Farihah, 2008).

Kerajaan : Animalia  
 Divisi : Arthropoda  
 Subdivisi : Crustacea

Kelas : Branchiopoda  
Bangsa : Anostraca  
Suku : Artemiidae  
Marga : *Artemia* L.  
Jenis : *Artemia salina* 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, 15 tergantung pada jumlah hujan dan penguapan yang terjadi. Apabila kadar garam kurang dari 6 % telur *Artemia salina* akan tenggelam sehingga telur tidak bias 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, 2013).

#### 2.4 Metabolit Sekunder

Organisme laut yang mempunyai struktur pergerakan fisik terbatas mampu mengembangkan berbagai sistem mekanisme pertahanan diri mereka dari predatordan harus berkompetisi untuk mendapatkan ruang tumbuh, sinar dan makanan ( Harbone, 1994 ). Banyak organisme laut mengembangkan sistem mekanisme pertahan diri dengan memproduksi toksin atau senyawa bioaktif ( metabolit sekunder ) yang secara fungsional belum diketahui ( Amsler et al., 2001 ).



Metabolit sekunder diturunkan secara biosintetik dari metabolit primer dan umumnya berfungsi untuk mempertahankan diri terhadap keadaan lingkungan yang tidak menyenangkan, terhadap perusakan, serangan dari luar dan sebagainya ( Romimohtarto dan Juwana, 2001 ). Metabolit sekunder pada mulanya diasumsikan sebagai hasil samping atau limbah dari organisme sebagai akibat dari produksi metabolit primer yang berlebihan. Namun seiring dengan perkembangan ilmu pengetahuan, terbukti bahwa metabolit sekunder diproduksi oleh organisme sebagai respon terhadap lingkungannya ( William et al., 1989 dalam Murniasih, 2005 ).

Biota laut yang mempunyai pergerakan fisik terbatas, dalam hal ini adalah gastropoda pada umumnya mampu mengembangkan sistem pertahan diri dengan memproduksi senyawa kimia ( chemical defense ). Senyawa kimia yang dihasilkan oleh invertebrata laut ini biasanya berguna untuk mempertahankan diri dari predator, media kompetisi, mencegah infeksi bakteri hingga mencegah sengatan sinar ultraviolet ( Harper et al., 2001 ).

Metabolit sekunder adalah senyawa yang disintesis oleh makhluk hidup bukan untuk memenuhi kebutuhan dasarnya , akan tetapi digunakan untuk mempertahankan eksistensinya dalam berinteraksi dengan ekosistem ( Sumaryono, 1994 ). Metabolit sekunder dihasilkan oleh organisme untuk melindungi diri dari organisme lain ( predator) dengan cara menghambat ataupun membunuhnya.

Tujuan dari pembentukan metabolit sekunder tetap merupakan sesuatu yang belum banyak diketahui, tetapi banyak ahli berpendapat bahwa metabolit sekunder

merupakan produk detoksikasi dari metabolit yang beracun dan tidak dapat dibuang oleh organisme tersebut ( Mannito, 1981 ).

Pembentukan senyawa bioaktif pada bakteri simbiosis sangat ditentukan oleh prekursor berupa enzim, nutrisi serta hasil simbiosis dengan biota lain yang mengandung senyawa bioaktif seperti Gastropoda, Bivalve, spons dan beberapa jenis biota lain yang memacu pembentukan senyawa bioaktif pada bakteri tersebut ( Scheuer, 1978 ).

### **2.5 Uji Toksisitas Terhadap Larva Udang (*Artemia Salina* Leach)**

Uji toksisitas larva udang *Artemia salina* telah digunakan sejak 1956 untuk berbagai pengamatan bioaktivitas senyawa bahan alam. *Brine Shrimp Lethality Test* (BST) merupakan salah satu metode untuk menguji bahan-bahan yang bersifat toksik dan digunakan sebagai suatu *bioassay* yang pertama untuk penelitian bahan alam. Metode ini menggunakan larva *Artemia salina* Leach sebagai hewan coba. Uji toksisitas dengan metode BST ini merupakan uji toksisitas akut dimana efek toksik dari suatu senyawa ditentukan dalam waktu singkat, yaitu rentang waktu selama 24 jam setelah pemberian dosis uji. Prosedurnya dengan menentukan nilai  $LC_{50}$  dari aktivitas komponen aktif tanaman terhadap larva *Artemia salina* Leach. Suatu ekstrak dikatakan toksik berdasarkan metode BST jika harga  $LC < 1000 \mu\text{g}/\text{ml}$  (Meyer, dkk., 1982).

Penggolongan toksisitas atas dasar jumlah besarnya zat kimia yang diperlukan untuk menimbulkan bahaya untuk harga  $LC_{50}$  dibedakan menjadi (Meyer, *dkk.*, 1982):

- a. Toksik ( $LC_{50} < 1000$  ug/mL).
- b. Tidak toksik ( $LC_{50} > 1000$  ug/mL)

Meyer, *dkk* (1982) menyatakan bahwa senyawa uji dikatakan toksik jika harga  $LC_{50}$  lebih kecil dari 1000  $\mu$ g/mL. Penentuan potensi bioaktif dilakukan dengan membandingkan nilai  $LC_{50}$  masing-masing ekstrak dengan ketentuan McLaughlin (1991):

- $LC_{50} < 30$  ppm ekstrak berpotensi sebagai antikanker (sitotoksik)
- $LC_{50}$  30-200 ppm ekstrak berpotensi sebagai anti mikroba
- $LC_{50}$  200-1000 ppm ekstrak berpotensi sebagai pestisida

Pengujian dengan metode BSLT digunakan untuk identifikasi awal dengan melihat nilai  $LC_{50}$  yang diperoleh pada uji toksisitas, sehingga untuk senyawa-senyawa yang memiliki sifat seperti anti kanker, anti tumor atau antikosidan dapat diketahui dengan nilai  $LC_{50}$ .

Penelitian Carballo *dkk* menunjukkan adanya hubungan yang konsisten antara toksisitas dan letalitas *Brine shrimp* pada ekstrak tanaman. Metode BST dapat dipercaya untuk menguji aktivitas farmakologis dari bahan-bahan alami (Carballo, 2002). Apabila suatu ekstrak tanaman bersifat toksik menurut harga  $LC_{50}$  dengan metode BST, maka tanaman tersebut dapat dikembangkan sebagai obat anti kanker.

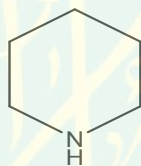
BST merupakan pengujian senyawa secara umum yang dapat mendeteksi beberapa bioaktivitas dalam suatu ekstrak. Bioaktivitas yang dapat dideteksi dari skrining awal dengan metode BST diantaranya adalah antikanker, antitumor, antimalaria, antimikroba, *immunosuppressive*, *antifeedant* dan residu pestisida (Colegate dan Molyneux, 2007). Beberapa kelebihan dari uji bioaktivitas dengan *Brine Shrimp Test* (BST) menggunakan larva udang adalah cepat waktu ujinya, sederhana (tanpa teknik aseptik), murah (tidak perlu serum hewan), jumlah organisme banyak, memenuhi kebutuhan validasi statistik dengan sedikit sampel (Meyer, *dkk.*, 1982).

## **2.6 Uji Senyawa Aktif Teripang Pasir (*Holothuria scabra*)**

### **2.6.1 Alkaloid**

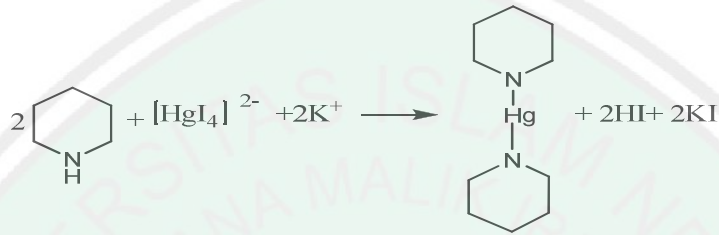
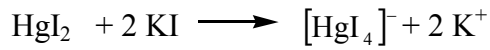
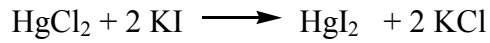
Menurut Robinson (1995), alkaloid telah dikenal selama bertahun-tahun dan telah menarik perhatian terutama karena pengaruh fisiologinya terhadap binatang menyusui dan pemakaiannya dibidang farmasi, tetapi fungsinya dalam tumbuhan hampir sama sekali kabur. Alkaloid tesebar luas di dunia tumbuhan. Berbagai perkiraan menyatakan bahwa persentase jenis tumbuhan yang mengandung alkaloid teletak dalam rentang 15-30 %. Alkaloid sering kali beracun bagi manusia dan banyak yang mempunyai kegiatan fisiologi yang menonjol jadi dapat digunakan secara luas dalam bidang pengobatan. Alkaloid biasanya tanwarna, sering kali bersifat optis aktif, kebanyakan berbentuk kristal tetapi hanya sedikit yang berupa cairan misalnya nikotina pada suhu kamar (Harborne, 1996). Teori yang menyatakan

bahwa alkaloid merupakan bentuk penyimpan nitrogen dalam tumbuhan, sekarang ini tidak lagi diterima (Harborne, 1996). Alkaloid dikenal karena pengaruh fisiologinya terhadap binatang menyusui dan penggunaannya di bidang farmasi. Alkaloid dapat berfungsi sebagai penyimpan nitrogen, dalam pengatur tumbuh seperti merangsang perkecambahan, karena memiliki sifat basa maka dapat mempertahankan keseimbangan basa mineral dalam mempertahankan keseimbangan ion dalam tumbuhan (Robinson, 1995).



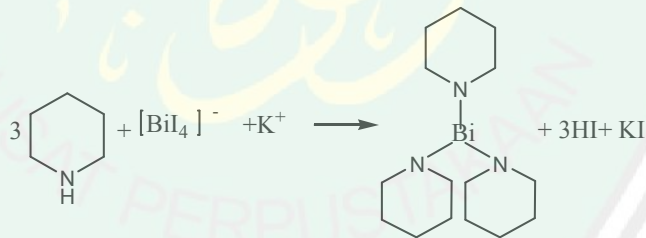
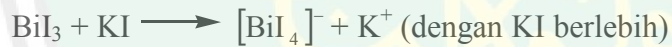
Gambar 2.3 Contoh struktur senyawa alkaloid (Robinson, 1995)

Pelarut atau pereaksi alkaloid biasanya menggunakan kloroform, aseton, amoniak dan metilena klorida. Pereaksi Mayer (kalium tetraiodomerkurat) paling banyak untuk mendeteksi alkaloid karena pereaksi ini mengendapkan hampir semua alkaloid. Pereaksi lain yang sering digunakan seperti pereaksi Wagner (iodium dalam kalium iodida), asam silikotungstat 5 %, asam tanat 5 %, pereaksi Dragendorff (kalium tetraiodobismutat), iodoplatinat dan larutan asam pikrat jenuh (Robinson, 1995). Berikut dugaan reaksi yang terjadi pada alkaloid dengan reagen Mayer dan Dragendroff (Marliana, *et.al.*, 2005).



Kompleks logam dengan Alkaloid  
Endapan putih kekuningan

Gambar 2.4 Reaksi dugaan antara alkaloid dengan pereaksi Meyer (Lutfillah, 2008).

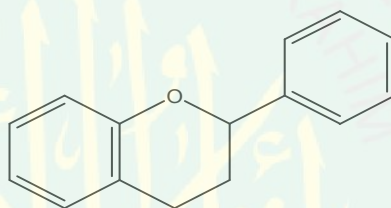


Kompleks Logam dengan  
Alkaloid (Endapan jingga)

Gambar 2.5 Reaksi dugaan antara alkaloid dengan pereaksi Dragendorff (Lutfillah, 2008)

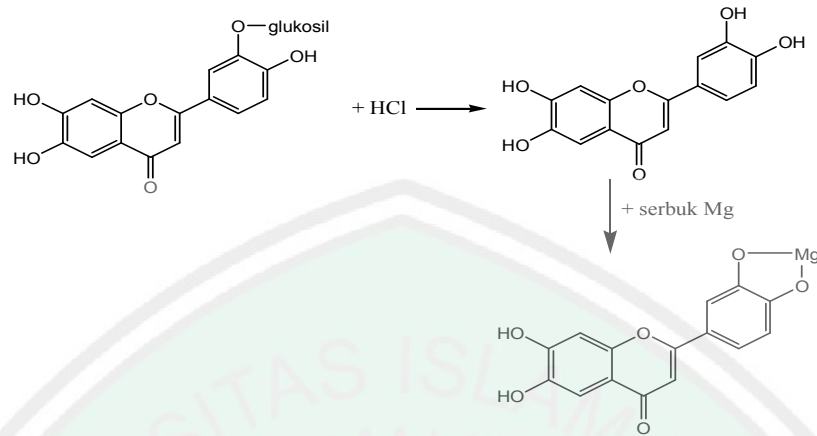
### 2.6.2 Flavanoid

Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar yang ditemukan di alam. Banyaknya senyawa flavonoid ini bukan disebabkan karena banyaknya variasi struktur, akan tetapi lebih disebabkan oleh berbagai tingkat hidroksilasi, alkoksilasi atau glikosilasi pada struktur tersebut. Flavonoid di alam juga sering dijumpai dalam bentuk glikosidanya (Kristanti, 2008).



Gambar 2.6 Struktur dasar Flavanoid (Markham, 1988)

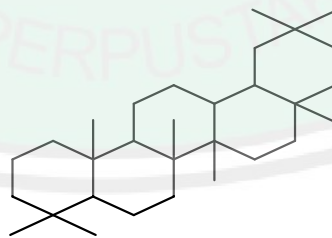
Flavonoid mengandung 15 atom karbon dalam inti dasarnya, yang tersusun dalam konfigurasi  $C_6-C_3-C_6$ , yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh satuan tiga karbon yang dapat atau tak dapat membentuk cincin ketiga. Agar mudah, cincin diberi tanda A, B dan C atom karbon dinomori menurut sistem penomoran yang menggunakan angka biasa untuk cincin A dan C, serta angka beraksen untuk cincin B (Gambar 2.6). Uji flavonoid dilakukan dengan penambahan serbuk Mg dan HCl pekat. Berikut reaksi dugaan antara flavonoid dengan serbuk Mg dan HCl pekat terdapat pada gambar 2.7 :



Gambar 2.7 Reaksi dugaan antara flavonoid dengan serbuk Mg dan HCl pekat (Hidayat, 2004)

### 2.6.3 Triterpenoid

Triterpenoid merupakan komponen tumbuhan yang mempunyai bau dan dapat diisolasi dari bahan nabati dengan penyulingan sebagai minyak atsiri. Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari 6 satuan isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C<sub>30</sub> asiklik yaitu skualena.

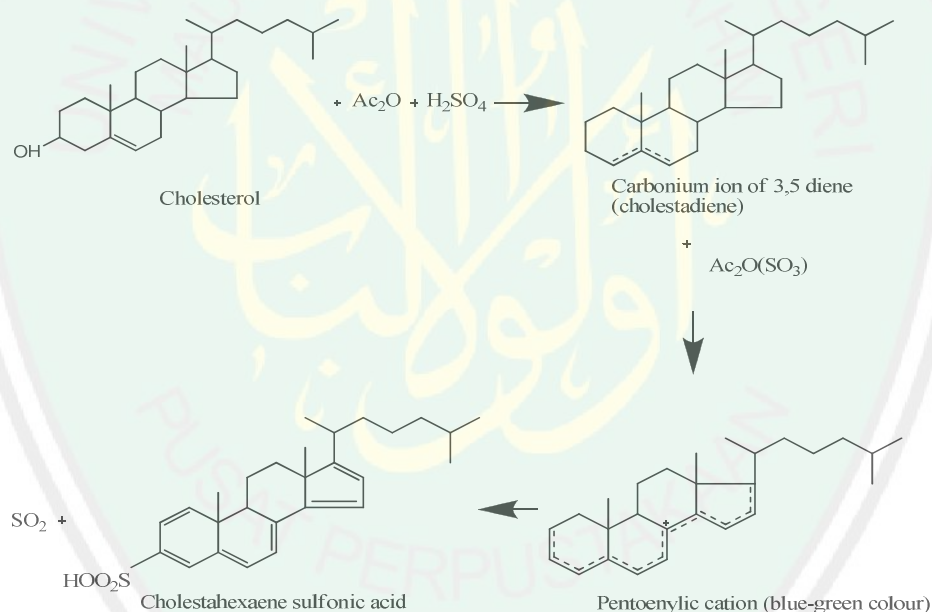


Gambar 2.8 Contoh Struktur Senyawa Triterpenoid (Robinson, 1995)



Senyawa triterpenoid berstruktur siklik yang kebanyakan berupa alkohol, aldehida, atau asam karboksilat (Harborne, 1987). Senyawa ini paling umum ditemukan pada tumbuhan berbiji, bebas dan sebagai glikosida. Triterpenoid yang paling penting dan paling tersebar luas adalah triterpenoid pentasiklik (Robinson, 1995).

Pereaksi Lieberman-Burchard secara umum digunakan untuk mendeteksi triterpenoid menghasilkan warna violet. Berikut reaksi dugaan antara senyawa triterpenoid dengan pereaksi Lieberman-Burchard terdapat pada gambar 2.9:



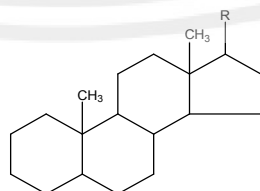
Gambar 2.9 Reaksi dugaan antara senyawa triterpenoid dengan pereaksi Lieberman-Burchard (Burkey, 1974 dalam Mukhlisoh. 2010)

Menurut Harborne (1987), triterpenoid biasanya terdapat dalam daun dan buah, seperti apel dan per, yang berfungsi sebagai pelindung untuk menolak serangga

dan serangan mikroba. Triterpenoid juga terdapat dalam damar, kulit batang dan getah (*Euphorbia*, *Hevea* dan lain-lain). Triterpenoid tertentu dikenal karena rasanya, terutama kepahitannya.

#### 2.6.4 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. Beberapa turunan steroid yang penting ialah steroid alkohol atau sterol. Steroid lain antara lain asam-asam empedu, hormon seks (androgen dan estrogen) dan hormon kortikosteroid (Poedjiadi, 1994). Senyawa steroid terdapat dalam setiap makhluk hidup. 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. Senyawa ini tidak hanya bekerja menolak beberapa serangga tetapi juga menarik beberapa serangga lain (Robinson, 1995).



Gambar 2.10 Struktur inti senyawa steroid (Poedjiadi, 1994)

Reaksi warna yang digunakan untuk uji warna pada steroid adalah dengan reaksi Lieberman-Burchard yang menghasilkan warna hijau biru. Reaksi warna yang lain pada steroid dilakukan dengan Brieskorn dan Briner (asam klorosulfonat dan Sesolvan NK) menghasilkan warna coklat (Robinson, 1995).

### 2.7 Identifikasi Senyawa Aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi menyangkut metode pemisahan yang didasarkan atas distribusi diferensial komponen sampel diantara dua fase. Menurut pengertian ini kromatografi selalu melibatkan dua fase yaitu fase diam (*stationary phase*) dan fase gerak (*mobile phase*). Fase diam dapat berupa padatan atau cairan yang terikat pada permukaan padatan (kertas atau adsorben), sedangkan fase gerak dapat berupa cairan disebut eluen atau pelarut atau gas pembawa yang inert. Gerakan fasa ini mengakibatkan terjadi migrasi diferensial komponen-komponen dalam sampel (Soebagio, 2002).

Kromatografi lapis tipis mirip dengan kromatografi kertas. Bedanya kertas digantikan lembaran kaca atau plastik yang dilapisi dengan lapisan tipis adsorben seperti alumina, silika gel, selulosa atau materi lainnya. Kromatografi lapis tipis lebih bersifat *reproduisibel* (bersifat boleh ulang) dari pada kromatografi kertas (Soebagio, 2002).

Media pemisahanya adalah lapisan dengan ketebalan sekitar 0,1 sampai 0.3 mm. Lempeng yang paling umum digunakan berukuran 8 × 2 inci. Zat padat yang umum digunakan adalah alumina, gel silika dan selulosa (Day dan Underwood, 2001).

Identifikasi dari senyawa-senyawa yang terpisah pada lapisan tipis menggunakan harga Rf. Harga Rf didefinisikan sebagai berikut :

$$\text{Harga Rf} = \frac{\text{Jarak senyawa yang terelusi}}{\text{Jarak pelarut yang mengelusi}} \dots\dots\dots (2.1)$$

Harga-harga Rf untuk senyawa-senyawa murni dapat dibandingkan dengan harga-harga Rf standart. Harga Rf dapat dipengaruhi oleh faktor-faktor yang mempengaruhi gerakan noda dalam KLT diantaranya adalah struktur kimia dari senyawa yang sedang dipisahkan, sifat dari penyerap dan derajat aktivitasnya, jenis eluennya serta jumlah cuplikan yang digunakan tidak terlalu berlebihan (Sastrohamidjojo, 1991).

## 2.8 Pemanfaatan Sumber Daya Laut (Teripang) dalam Pandangan Islam

Teripang merupakan salah satu hewan laut ciptaan Allah Swt. Hewan yang diciptakan Allah SWT memiliki manfaat yang sangat banyak terhadap manusia. al Quran menyebutkan bahwa sejumlah hewan memiliki khasiat untuk mencegah beberapa penyakit. Bahkan hewan laut yang dianggap menjijikkan pun juga mempunyai potensi dalam bidang farmakologi.

Umat Islam diperintahkan dalam al Quran untuk mempelajari setiap kandungan ayatnya. Kita perlu meningkatkan pemahaman mengenai ayat-ayat al Quran, karena di dalamnya terkandung pengetahuan yang banyak terhadap alam semesta. Seperti yang dijelaskan pada QS. al Baqarah ayat 164 berikut ini :

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ وَالْفُلْكِ الَّتِي تَجْرِي فِي الْبَحْرِ  
بِمَا يَنْفَعُ النَّاسَ وَمَا أَنْزَلَ اللَّهُ مِنَ السَّمَاءِ مِنْ مَّاءٍ فَأَحْيَا بِهِ الْأَرْضَ بَعْدَ مَوْتِهَا وَبَثَّ  
فِيهَا مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ وَتَصْرِيفِ الرِّيْحِ وَالسَّحَابِ الْمُسَخَّرِ بَيْنَ السَّمَاءِ وَالْأَرْضِ لَآيَاتٍ  
لِّقَوْمٍ يَعْقِلُونَ ﴿١٦٤﴾

164. Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, silih bergantinya malam dan siang, bahtera yang berlayar di laut membawa apa yang berguna bagi manusia, dan apa yang Allah turunkan dari langit berupa air, lalu dengan air itu Dia hidupan bumi sesudah mati (kering)-nya dan Dia sebarkan di bumi itu segala jenis hewan, dan pengisaran angin dan awan yang dikendalikan antara langit dan bumi; sungguh (terdapat) tanda-tanda (keesaan dan kebesaran Allah) bagi kaum yang memikirkan (QS. al Baqarah: 164).

Betapa besarnya kekuasaan Allah Swt jika kita memikirkannya. Semua yang diciptakanNya tidak ada yang sia-sia, seperti yang ada di lautan. Ciptaan-ciptaan Allah Swt. memiliki maksud yang telah dijelaskan oleh al Quran agar manusia dapat mencari dan mengetahui sebagian dari karunia-Nya. Salah satu contoh nyata adalah teripang laut yang memiliki khasiat sebagai obat. Pada kenyataannya teripang laut merupakan hewan yang menjijikkan dan berlendir, tetapi memiliki banyak khasiat.

Salah satu keutamaan hewan laut yaitu halal untuk dikonsumsi, hal ini didasarkan pada firman Allah surat al Maidah ayat 96 :

أَحْلَلْنَا لَكُمْ صَيْدَ الْبَحْرِ وَطَعَامَهُ، مَتَّعْنَا لَكُمْ<sup>ط</sup> وَلِلسَّيَّارَةِ وَحُرِّمَ عَلَيْكُمْ صَيْدُ الْبَرِّ مَا  
 دُمْتُمْ حُرِّمًا<sup>ظ</sup> وَاتَّقُوا اللَّهَ الَّذِي إِلَيْهِ تُحْشَرُونَ ﴿٩٦﴾

*Dihalalkan bagimu binatang buruan laut[442] dan makanan (yang berasal) dari laut[443] sebagai makanan yang lezat bagimu, dan bagi orang-orang yang dalam perjalanan; dan diharamkan atasmu (menangkap) binatang buruan darat, selama kamu dalam ihram. dan bertakwalah kepada Allah yang kepada-Nyalah kamu akan dikumpulkan (QS. al Maidah: 96).*

*[442] Maksudnya: binatang buruan laut yang diperoleh dengan jalan usaha seperti mengail, memukat dan sebagainya. Termasuk juga dalam pengertian laut disini ialah: sungai, danau, kolam dan sebagainya.*

*[443] Maksudnya: ikan atau binatang laut yang diperoleh dengan mudah, karena telah mati terapung atau terdampar dipantai dan sebagainya.*

Dari ayat diatas dapat dilihat bahwa hewan laut memiliki keutamaan tersendiri, yaitu kehalalannya. Allah SAW memberikan keutamaan terhadap hewan laut bukan tanpa alasan, dan pasti ada aspek-aspek lain yang penting selain kehalalan hewan laut tersebut, diantaranya adalah potensi hewan laut yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat-obatan bagi manusia. Hal ini terbukti setelah dilakukan banyak penelitian ilmiah, salah satunya adalah penelitian tentang teripang pasir. Berdasarkan penelitian tentang manfaat teripang, teripang memiliki banyak manfaat diantaranya adalah sebagai antikanker, antitumor, antioksidan, anti bakteri dan masih banyak lagi manfaat teripang bagi manusia.

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan November-Desember 2013 di Laboratorium Kimia Organik, Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

#### 3.2 Alat dan Bahan

##### 3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah oven, mortar, cawan penguap, timbangan analitik, gelas ukur 100 mL, erlenmeyer 300 mL, pengaduk kaca, aluminium foil, penyaring *buchner*, kertas saring, *rotary evaporator*, beaker glass 100 mL, desikator, corong kaca, termometer, tabung reaksi, pipet tetes, bola hisap, pipet ukur 5 mL, penjepit, bunsen spiritus, lampu UV, *vortex*, *shaker*, labu ukur 10 mL, pipet mikro ukuran 10-100  $\mu\text{L}$ , pipet mikro ukuran 100-1000  $\mu\text{L}$ , aerator dan botol vial.

##### 3.2.2 Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah seluruh bagian teripang pasir (*Holoturia scabra*) yang diperoleh dari pantai Sekotong Lombok. Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah larva udang *Artemia salina*.

Bahan-bahan lain yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: pelarut metanol p.a dan n-heksana p.a, DMSO (dimetil sulfoksida), aquades, asam sulfat,

logam Mg, formaldehid, asam klorida, asam asetat anhidrida, besi (III) klorida heksahidrat, nitrogen, asam asetat glasial, eter, reagen Mayer, reagen Dragendrof, reagen Lieberman-Burchard, amoniak, plat KLT GF<sub>254</sub>, butanol dan etil asetat.

### 3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui pengujian eksperimental diskriptif di laboratorium. Sampel diambil dari seluruh tubuh bagian hewan teripang pasir basah. Sampel diekstraksi dengan 2 pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda yaitu metanol dan n-heksana untuk mengetahui ekstrak yang berpotensi memiliki bioaktivitas dan kandungan golongan senyawa pada masing-masing ekstrak. Ekstrak yang diperoleh dirotary evaporator dan diuapkan sisa pelarutnya menggunakan gas N<sub>2</sub> kemudian dihitung rendemennya. Ekstrak pekat yang dihasilkan akan diuji toksisitasnya untuk mengetahui tingkat toksisitas terhadap larva udang melalui nilai LC<sub>50</sub>. Hasil dari uji toksisitas yang tertinggi dilakukan uji reagen (uji fitokimia) untuk mengidentifikasi senyawa yang terkandung dalam ekstrak teripang pasir. Ekstrak yang menghasilkan golongan senyawa yang positif, dipisahkan senyawa aktifnya menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan eluen terbaik. Langkah terakhir analisis data menggunakan program MINITAB 14.



### 3.4 Tahapan Penelitian

Tahapan dalam pelaksanaan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Uji Taksonomi teripang
2. Analisis kadar air
3. Analisis kadar garam
4. Preparasi sampel
5. Ekstraksi sampel (maserasi)
6. Uji toksisitas dengan larva udang *A.salina* Leach
7. Uji senyawa aktif dengan uji reagen
8. Pemisahan senyawa aktif dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

### 3.5 Pelaksanaan Penelitian

#### 3.5.1 Analisis Kadar Air (AOAC, 1984)

Analisis kadar air dilakukan pada bagian tubuh teripang pasir (*Holothuria scabra*). Sebelumnya cawan dipanaskan dalam oven pada suhu 100 - 105 °C selama 15 menit untuk menghilangkan kadar airnya, kemudian cawan disimpan dalam *vacum* desikator sekitar 10 menit. Cawan tersebut selanjutnya ditimbang dan dilakukan perlakuan yang sama sampai diperoleh berat cawan yang konstan. Sampel teripang pasir basah dimasukkan ke dalam cawan yang telah diketahui berat konstannya. Sampel yang sudah dipotong kecil-kecil diambil 5 gram dan dikeringkan ke dalam oven pada suhu 100 - 105 °C selama 15 menit untuk menghilangkan kadar air dalam tubuh teripang pasir, kemudian sampel disimpan dalam *vacum* desikator selama 10 menit dan ditimbang. Sampel tersebut

dipanaskan kembali dalam oven 15 menit, didinginkan dalam *vacum* desikator dan ditimbang kembali. Perlakuan ini diulangi sampai berat konstan. Kadar air dalam tubuh teripang pasir dihitung menggunakan rumus berikut :

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

Keterangan: a = berat konstan cawan kosong

b = berat cawan + sampel sebelum dikeringkan

c = berat konstan cawan + sampel setelah dikeringkan

$$\text{Faktor koreksi} = \frac{100 \%}{100 \% - \text{kadar air}} \dots\dots\dots(3.2)$$

$$\% \text{ Kadar air terkoreksi} = \text{Kadar air} - \text{faktor koreksi} \dots\dots\dots(3.3)$$

Analisis kadar air dilakukan sampai kadar air pada sampel mencapai 7% - 10%.

### 3.5.2 Uji Kadar Garam

Teripang pasir basah ditimbang sebanyak 300 gr. Diekstrak menggunakan aquades panas 1800 mL, didiamkan selama  $\pm$  1 menit, kemudian disaring dengan kertas saring. Hasil yang diperoleh diteteskan pada prisma pembaca pada salinometer ATAGO PAL-06. Garam dalam larutan tersebut diukur sebagai konsentrasi kepekatan.

### 3.5.3 Preparasi Sampel

Preparasi sampel teripang pasir yaitu dengan mengambil teripang pasir basah yang masih segar  $\pm$ 8000 gram yang diambil dari petani teripang pantai Sekotong Lombok. Teripang kemudian dicuci, dipotong kecil-kecil, dikeringkan dan dihaluskan dengan menggunakan blender.

### 3.5.4 Ekstraksi Sampel (maserasi)

Ekstraksi komponen aktif dilakukan dengan cara ekstraksi maserasi /perendaman dengan pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda yaitu metanol p.a dan n-heksana p.a. Teripang pasir kering yang telah dihaluskan ditimbang 100 gram kemudian diekstraksi secara maserasi menggunakan 300 mL pelarut metanol p.a selama 24 jam, kemudian dishaker selama 5 jam dengan kecepatan 150 rpm. Selanjutnya, ampas direndam kembali sampai filtrat yang didapat bening. Filtrat disaring dari ampasnya menggunakan *vacum buchner*, filtrat yang diperoleh digabungkan.

Teripang pasir kering yang telah dihaluskan ditimbang 100 gram kemudian diekstraksi secara maserasi menggunakan 300 mL pelarut n-heksana p.a selama 24 jam, kemudian dishaker selama 5 jam dengan kecepatan 150 rpm. Selanjutnya, ampas direndam kembali sampai filtrat yang didapat bening. Filtrat disaring dari ampasnya menggunakan *vacum buchner*, filtrat yang diperoleh digabungkan.

Ekstrak metanol dan n-heksana yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan diuapkan sisa pelarutnya menggunakan gas N<sub>2</sub> sampai diperoleh ekstrak pekat metanol dan n-heksana. Selanjutnya masing-masing ekstrak yang diperoleh dihitung rendemennya menggunakan rumus sebagai berikut (Khopkar, 2003) :

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat sampel}} \times 100 \% \dots\dots\dots(3.4)$$

Ekstrak kasar metanol dan n-heksana yang diperoleh selanjutnya diuji toksisitasnya dengan menggunakan larva udang *A.salina* Leach. dan uji senyawa aktif dengan uji reagen dan KLT terhadap ekstrak yang memiliki nilai  $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$  atau paling aktif dari hasil uji toksisitas.

### **3.5.5 Uji Toksisitas dengan Larva Udang *Artemia salina* Leach**

#### **3.5.5.1 Penetasan Telur**

250 mL air laut dimasukkan dalam botol penetasan, dimasukkan 2,5 mg telur *A.salina* Leach. Selanjutnya dimaserasi dan telur akan menetas dalam waktu  $\pm 48$  jam dan siap digunakan sebagai target uji toksisitas.

#### **3.5.5.2 Uji Toksisitas**

Perlakuan uji toksisitas dilakukan sebanyak 3 kali ulangan pada masing-masing ekstrak sampel. Botol disiapkan untuk pengujian, masing-masing ekstrak membutuhkan 15 botol dan 3 botol sebagai kontrol. Ekstrak kental metanol dan n-heksana ditimbang sebanyak 100 mg dan dilarutkan dengan menggunakan pelarutnya masing-masing sebanyak 10 mL. Larutan yang diperoleh selanjutnya dipipet masing-masing sebanyak 500  $\mu\text{L}$ , 250  $\mu\text{L}$ , 150  $\mu\text{L}$ , 100  $\mu\text{L}$ , 50  $\mu\text{L}$  dan 25  $\mu\text{L}$ , kemudian dimasukkan ke dalam botol vial dan pelarutnya diuapkan hingga kering. Selanjutnya dimasukkan 100  $\mu\text{L}$  dimetil sulfoksida, setetes larutan ragi roti, 2 mL air laut, kemudian dikocok sampai ekstrak dapat larut dalam air laut. Larutan dipindahkan dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan air laut sampai volumenya menjadi 10 mL kemudian dihomogenkan, sehingga konsentrasi masing-masing larutan menjadi 500, 250, 150, 100, 50 dan 25 ppm, selanjutnya dimasukkan 10 ekor larva udang *A.salina*.

Kontrol digunakan sebagai pembandingan yang dibuat dengan cara yang sama kecuali penambahan ekstrak, yaitu memasukkan 2 mL air laut, 100  $\mu$ L DMSO, ditambahkan air laut hingga volumenya menjadi 10 mL kemudian dimasukkan 10 ekor larva udang dan setetes larutan ragi roti sebagai sumber makanannya ke dalam botol. Pengamatan dilakukan selama 24 jam terhadap kematian larva udang. Selanjutnya dihitung *survival rate* dari artemia pada masing-masing konsentrasi dan ulangan dalam vial, menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ kematian larva udang } Artemia \text{ salina} = \frac{T - K}{10} \times 100\%$$

Keterangan:

T = jumlah larva uji yang mati

K = jumlah larva kontrol yang mati

% Mortalitas yang didapat digunakan untuk menghitung nilai  $LC_{50}$  (mengetahui tingkat toksisitas ekstrak teripang) yaitu menggunakan program MINITAB. Ekstrak yang memiliki aktivitas paling optimal (nilai  $LC_{50}$  paling rendah) dilakukan uji senyawa aktif untuk mengetahui senyawa apa yang terdapat dalam ekstrak.

### 3.5.6 Uji Senyawa Aktif dengan Uji Reagen

#### 3.5.6.1 Uji Flavonoid

Ekstrak teripang pasir dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian dilarutkan dalam 1-2 mL metanol panas 50 %. Setelah itu ditambah logam Mg dan 0,5 mL HCl pekat. Larutan berwarna merah atau jingga yang terbentuk,

menunjukkan adanya flavonoid.

#### **3.5.6.2 Uji Alkaloid**

Ekstrak teripang pasir dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah 0,5 mL HCl 2 % dan larutan dibagi dalam dua tabung. Tabung I ditambahkan 0,5 mL reagen Dragendroff, tabung II ditambahkan 0,5 mL reagen Meyer. Jika tabung I terbentuk endapan jingga dan pada tabung II terbentuk endapan kekuning-kuningan, menunjukkan adanya alkaloid.

#### **3.5.6.3 Uji Triterpenoid dan Steroid**

Ekstrak teripang pasir dimasukkan dalam tabung reaksi, dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform lalu ditambah dengan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Campuran ini selanjutnya ditambah dengan 1-2 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat melalui dinding tabung tersebut. 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.

#### **3.5.6.4 Uji Saponin**

Sebanyak 500 µL ekstrak metanol dan n-heksana konsentrasi 10.000 ppm dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambah 10 mL air sambil dikocok selama 1 menit, apabila menimbulkan busa ditambahkan 2 tetes HCl 1 N, apabila busa yang terbentuk bisa tetap stabil maka ekstrak positif mengandung saponin.

### 3.5.7 Pemisahan Senyawa Aktif dengan KLT

Uji senyawa aktif dengan KLT dilakukan terhadap golongan senyawa yang positif dari hasil uji senyawa aktif dengan uji reagen. Pemisahan dengan KLT menggunakan plat silika gel F<sub>254</sub> sebagai fase diamnya. Masing-masing plat disiapkan dengan ukuran 1x10 cm setelah diaktivasi selama  $\pm$  15 menit dalam oven suhu 100 °C. Ekstrak teripang pasir ditotolkan pada jarak  $\pm$  1 cm dari tepi bawah plat dengan pipa kapiler, kemudian dikeringkan plat silika gel dan ditotolkan kembali ekstrak teripang pasir dengan menggunakan pipa kapiler sebanyak 1 mL. Perlakuan ini dihentikan sampai dirasa sudah cukup. Kemudian hasil penotolan akan dielusi dengan menggunakan eluen atau fase gerak, elusi dapat dihentikan setelah gerakan fase gerak (eluen) sampai pada garis batas. Pengembangan dan reagen penguji masing-masing golongan senyawa adalah sebagai berikut:

Variasi eluen untuk golongan alkaloid: digunakan eluen (fase gerak) kloroform : etanol (9 : 1) (Ekasari *et al.*, 2005), kloroform : metanol (9,5 : 0,5) (Sriwahyuni, 2010), diklorometana : metanol (1 : 1) (Lusiana, 2009), kloroform : n-heksana = 2 : 1 (Susilaningsih, 2007), dan metanol : kloroform (2 : 8) (Aripin, 2007) dengan penampak noda Dragendroff yang memberikan perubahan warna menjadi jingga.

Variasi eluen yang digunakan untuk golongan Flavonoid: campuran etil asetat dan metanol dengan perbandingan 9 : 1 (Morina, 2007), butanol-asam asetat-air (4 : 1 : 5) (Halimah, 2010), n-heksana: kloroform: etil asetat (9 : 1 : 0,5) (Asih, 2009), Kloroform : Metanol (9 : 1) (Akbar, 2010) dan kloroform : metanol

(3 : 2) (Sukadana, 2010) yang kemudian dengan diuapi uap amoniak akan berwarna biru kehijauan atau memberikan noda-noda dengan warna fluoresensi biru, kuning-hijau, ungu dan biru-ungu yang terpisah dengan baik setelah disinari menggunakan lampu UV 366 nm.

Golongan Tanin: digunakan eluen butanol-asam asetat-air (14 : 1 : 5) (Harborne, 1987), butanol : asam asetat : air (2 : 0,5 : 1,1) (Yulia, 2006), asetat glasial-H<sub>2</sub>O-HCl (30 : 10 : 3) (Nuraini, 2002), n-butanol : asam asetat : air (BAA) (4 : 1 : 5) (Sa'adah *et al.*, 2010), dan n-butanol : asam asetat : air (4 : 1 : 5) (Sidik, 2012). Bercak noda diperiksa dengan sinar UV lalu dengan penyemprot FeCl<sub>3</sub> menghasilkan warna lembayung.

Golongan senyawa Saponin: digunakan eluen kloroform-metanol-air (13 : 7 : 2) (Harborne, 1987), kloroform-metanol-air (20 : 60 : 10) (Kristianingsih, 2005) kloroform-metanol-air (3 : 1 : 0,1) dan kloroform : metanol : air (14 : 6 : 1) (Bogoriani *et al.*, 2007), dan kloroform : aseton (4 : 1) (Suryanti, 2005). Dan ketika ditambah H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 M akan menimbulkan warna ungu-ungu gelap.

Golongan Triterpenoid: digunakan eluen n-heksana : etil asetat (1 : 1), dan kloroform : metanol (10 : 1) (Harborne, 1987), n-heksana dan etil asetat (2 : 8) (Halimah, 2010), kemudian menggunakan eluen atau fase gerak n-heksana : etil asetat (4 : 1) (Ekasari *et al.*, 2005), toluena : etil asetat (7 : 3) (Fitriani, 2011), n-butanol : amoniak (6 : 2) (Juliantoro, 2013) yang menunjukkan warna ungu dan merah keunguan dengan reagen penyemprot Lieberman Burchard.

Noda-noda pada permukaan plat diperiksa di bawah sinar UV pada panjang gelombang 366 nm, kemudian diamati masing-masing hasil nodanya.



Pengembang dan reagen penguji masing-masing golongan senyawa bisa dilihat pada lampiran 1. Bercak noda yang dihasilkan pada masing-masing plat KLT selanjutnya dihitung nilai Rf-nya.

### 3.8 Analisis Data

Data yang diperoleh dibuat dalam bentuk tabel dan grafik, kemudian dideskripsikan hasilnya. Tingkat toksisitas ekstrak teripang dapat diketahui dengan menganalisis  $LC_{50}$  yaitu dengan menghubungkan antara nilai persen kematian larva udang dengan konsentrasi ekstrak teripang pasir. menggunakan analisis probit menggunakan program MINITAB 16 dengan tingkat kepercayaan 95 %.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Analisis Bahan Baku

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah jenis teripang pasir (*Holothuria Scarba*) yang diperoleh dari pantai Sekotong Lombok Barat NTB. Untuk memastikan jenis teripang yang digunakan maka dilakukan uji taksonomi. Uji taksonomi dilakukan di Laboratorium Biologi, Universitas Negeri Mataram untuk mengidentifikasi jenis teripang yang digunakan. Hasil identifikasi pada Lampiran 9 menunjukkan bahwa sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah jenis teripang pasir (*Holothuria Scarba*).

Menurut Rahman (2011) teripang pasir merupakan hewan tidak bertulang belakang dengan tubuh berbentuk silinder memanjang dengan garis oral dan aboral sebagai sumbu yang menghubungkan bagian anterior dan posterior, bentuk tersebut menyerupai mentimun sehingga teripang dikenal dengan nama mentimun laut (*sea cucumber*).

Sebelum proses ekstraksi, sampel teripang hasil pengeringan dianalisis kadar airnya. Kadar air merupakan jumlah air yang terkandung didalam suatu bahan dan ikut menentukan kesegaran dan daya awet suatu bahan. Penentuan kadar pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ketahanan suatu bahan yang disimpan dalam selang waktu yang lama, karena kandungan air tinggi dalam suatu bahan

merupakan medium tumbuh yang baik bagi bakteri dan mikroorganisme (Winarno, 2002).

Analisis kadar air pada penelitian ini menggunakan metode penguapan oven, yaitu mengeluarkan kandungan air dari suatu bahan dengan bantuan panas dan didasarkan atas berat yang hilang. Menurut Hardaji (1993), air yang terikat secara fisik dapat dihilangkan dengan pemanasan pada suhu 100-105 °C.

Pada proses pengovenan, air yang ada pada tubuh teripang merembes hingga terjadi genangan air pada wadah yang digunakan untuk mengoven, hal ini diduga terjadi karena kandungan air yang tinggi pada tubuh teripang. Riani *et al*, (2008) menyatakan bahwa teripang pasir yang diteliti mengandung kadar air sebesar 80,72 %.

Analisis kadar air pada sampel dilakukan dengan 3 kali pengulangan yaitu dengan tujuan agar diperoleh data yang akurat. Selisih berat sebelum dan sesudah pengeringan adalah banyaknya air yang diuapkan (Winarno, 2002). Hasil analisis kadar air menunjukkan bahwa kadar air rata-rata sampel teripang pasir (*H. Scarba*) kering sebesar 5,3 %, berdasarkan hasil tersebut teripang pasir (*H. Scarba*) kering dapat disimpan dalam selang waktu yang cukup lama. Hal ini sesuai dengan Winarno (2002) yang menyatakan bahwa, jika kadar air suatu bahan berkisar antara 3 hingga 7 %, maka kestabilan optimum bahan akan tercapai dan pertumbuhan mikroba dapat dikurangi.

Untuk melengkapi analisis bahan baku dilakukan juga analisis kadar garam dari sampel teripang. Pengukuran kadar garam teripang pasir menggunakan

instrumen salinometer Atago PAL-06S refraktometer. Instrumen tersebut memiliki satuan ppt (*parts per thousand*). Setelah dilakukan uji kadar kadar garam dari sampel teripang pasir (*H. Scarba*) menggunakan instrumen salinometer Atago PAL-06S refraktometer, dapat diketahui bahwa kadar garam dari sampel sebesar 23,4 ppt, dan perhitungan kadar garam dalam sampel ditunjukkan pada Lampiran 3.

Menurut Juwita (2010) media air yang digunakan untuk budidaya benih ranjungan (*Portunus pelagicus* Linn.) memiliki salinitas kurang dari 31 ppt. Liao (1986, dalam Yuniarso. 2006) menyatakan bahwa larva udang windu memiliki sistem osmoregulasi yang sangat efisien pada salinitas antara 5-32 ppt. Menurut Pitoyo (2004) *Artemia salina* akan menetas dalam waktu 24 - 36 jam pada salinitas 15 - 35 ppt. Dari ketiga pernyataan tersebut dapat dikatakan bahwa kadar garam pada sampel tidak mempengaruhi tingkat kematian pada larva udang *Artemia salina* leach.

#### **4.2 Preparasi Sampel**

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah teripang pasir (*Holothuria scabra*) yang masih segar yang diperoleh dari Pantai Sekotong Lombok Barat. Teripang pasir yang digunakan dalam penelitian ini berbentuk bulat, panjang seperti ketimun, dengan punggung abu-abu atau kehitaman berbintik putih atau kuning. Seluruh bagian teripang yang masih segar diambil sebanyak 8 kg.

Untuk mempermudah proses ekstraksi, sampel teripang dibersihkan dan dikeringkan dengan oven dan dihaluskan dengan menggunakan blender. Pemplenderan ini dimaksudkan untuk memperluas permukaan bahan sehingga

mempermudah pada tahap ekstraksi, interaksi antara pelarut pengekstraksi dengan sampel yang diekstraksi menjadi lebih efektif dan hasil ekstrak yang diperoleh maksimal (Sembiring, dkk., 2006). Serbuk dengan penghalusan yang tinggi memungkinkan sel-sel hewan yang rusak juga semakin besar, sehingga memudahkan pengambilan kandungan senyawa secara langsung oleh bahan pelarut. Dari hasil pembレンダーan didapatkan serbuk teripang sebanyak  $\pm 350$  gram. Serbuk inilah yang selanjutnya dimaserasi dengan pelarut metanol dan n-heksana.

#### **4.3 Ekstraksi Komponen Senyawa Aktif**

Ekstraksi merupakan proses pemisahan senyawa campuran dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Prinsip metode ekstraksi adalah didasarkan pada distribusi zat terlarut dengan perbandingan tertentu antara dua pelarut yang tidak saling bercampur, batasannya adalah zat terlarut dapat ditransfer pada jumlah yang berbeda dalam kedua fase pelarut (Khopkar, 1990).

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstraksi maserasi. Maserasi adalah salah satu metode pemisahan senyawa dengan cara perendaman menggunakan pelarut organik pada temperatur ruangan. Proses maserasi sangat menguntungkan dalam isolasi bahan alam karena selain metode yang dilakukan cenderung mudah dan alat yang digunakan tergolong sederhana. Sedangkan kerugian dari ekstraksi maserasi sendiri adalah waktu pengerjaannya lama (Guenther, 1990).

Maserasi sampel dilakukan dengan cara merendam serbuk teripang seberat 100 gram kedalam masing-masing pelarutnya yaitu metanol dan n-heksana. Pemilihan pelarut didasarkan pada tingkat kepolarannya, karena kemampuan pelarut sangat ditentukan oleh kesesuaian tingkat kepolaran bahan yang akan diekstrak dengan pelarut.

Khopkar (1984) menyatakan bahwa senyawa yang bersifat polar hanya dapat larut dalam pelarut polar dan semipolar, dan sebaliknya, senyawa yang bersifat non polar hanya dapat larut dalam pelarut non polar dan semi polar yang dikenal dengan hukum “*like dissolve like*”. Akan tetapi apabila metabolit sekunder yang ada pada tubuh teripang bersifat non polar dan terikat pada glikosida maka metabolit sekunder yang awalnya bersifat non polar akan bersifat polar, Fessenden dan Fessenden (1982) menyatakan bahwa senyawa dalam bentuk glikosida bersifat polar karena adanya senyawaan gula yang banyak mengandung gugus –OH.

Pada proses ekstraksi pengadukannya dibantu dengan *shaker* agar kontak sampel dengan pelarut semakin sering terjadi sehingga proses ekstraksi lebih sempurna. Proses ekstraksi dapat dihentikan apabila warna ampas serbuk teripang telah berubah menjadi lebih pucat atau filtrat berwarna lebih bening, karena filtrat yang berubah warna menjadi bening mengindikasikan bahwa senyawa yang ingin diekstrak telah terekstrak sempurna.

Maserat dipisahkan dengan cara disaring dengan menggunakan corong *Buchner* dan kertas saring untuk memisahkan filtrat dan residunya. Prinsip penyaringan dengan corong *Buchner* adalah suatu metode penyaringan secara

mekanis berdasarkan ukuran molekul, sehingga molekul-molekul yang berukuran lebih besar akan tertahan pada media filter (kertas saring).

Filtrat metanol dan n-heksana diuapkan dengan *vacum rotary evaporator* untuk mendapatkan ekstrak kasar teripang. Prinsip utama *vacum rotary evaporator* adalah adanya penurunan tekanan sehingga pelarut akan menguap 5-10 °C pada suhu dibawah titik didih pelarut yang juga dipercepat oleh putaran dari labu alas bulat (Craig dan Hausman, 1950). Uap yang dihasilkan akan tertarik kedalam kondensor, sehingga dihasilkan pelarutnya kembali.

Penguapan pelarut dengan *rotary evaporator vacum* dihentikan sampai diperoleh ekstrak pekat yaitu ketika tidak ada pelarut yang menetes pada *receiving part* dengan asumsi bahwa sudah tidak ada pelarut yang terdapat pada sampel ekstrak pekat pada ekstrak metanol berwarna kuning dan ekstrak n-heksana berwarna coklat tua. Semakin pekat warna yang dihasilkan mengindikasikan semakin banyaknya komponen senyawa yang terekstrak. Hasil rendemen dari masing-masing ekstrak ditunjukkan pada Tabel 4.3 dengan perhitungan rendemen pada Lampiran 5.

**Tabel 4.1 Hasil rendemen ekstrak metanol dan n-heksana**

<b>Sampel (Ekstrak)</b>	<b>Warna Ekstrak Pekat</b>	<b>Rendemen (%) (b/b)</b>
Metanol	Kuning	13,96
n-heksana	Coklat tua	1,982

Berdasarkan data diatas rendemen ekstrak metanol yang diperoleh sebesar 13,96 % dan n-heksana sebesar 1,982 %. Hasil ekstrak metanol yang lebih besar dari n-heksana ini kemungkinan disebabkan karena pada tubuh teripang pasir banyak

mengandung senyawa polar, selain itu diduga senyawa yang terkandung didalam ekstrak teripang pasir masih berbentuk glikosida, sehingga akan lebih larut kedalam pelarut polar. Keberadaan senyawa-senyawa yang masih berbentuk glikosida sangat mempengaruhi jumlah rendemen hasil ekstraksi, karena umumnya senyawa yang awalnya bersifat non polar apabila terikat pada glikosida maka senyawa tersebut akan terekstrak pada pelarut polar.

#### 4.4 Uji Toksisitas Menggunakan Larva Udang *Artemia salina* Leach

Uji toksisitas dilakukan dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) metode ini digunakan untuk mempelajari toksisitas sampel secara umum dengan menggunakan telur udang (*Artemia salina* Leach) (Meyer, *et al.*). Menurut McLaughlin, *et al.*, (1991) *A.salina* dapat digunakan sebagai hewan uji karena organisme ini dapat bereaksi pada dosis rendah sedangkan senyawa bioaktif dalam dosis rendah berfungsi sebagai farmakologi dan bersifat racun dalam dosis tinggi.

*Brine shrimp lethality test* (BSLT) dapat digunakan sebagai uji pendahuluan pada penelitian yang mengarah pada uji sitotoksik. Toksisitas suatu senyawa dapat diketahui dengan menghitung jumlah kematian *Artemia salina* Leach dengan parameter *lethal concentration 50* (LC<sub>50</sub>). LC<sub>50</sub> merupakan konsentrasi zat yang menyebabkan terjadinya kematian pada 50 % hewan percobaan yaitu larva *Artemia salina* Leach.

Pengujian dengan metode BSLT larva udang yang digunakan berumur 48 jam. Menurut Muaja (2013) karena pada umur 48 jam anggota tubuh larva sudah



lengkap dibandingkan pada saat larva itu menetas, sehingga tingkat kematian larva udang pada uji toksisitas dengan metode BSLT lebih akurat dan tidak dipengaruhi faktor umur larva udang *Artemia salina* Leach, dimana faktor umur larva udang akan mempengaruhi kelengkapan organ tubuh dari larva udang itu sendiri. Fase *Artemia* yang digunakan pada uji toksisitas adalah fase *nauplius* (berumur 48 jam). Karena pada saat itu *Artemia* berada pada fase paling aktif membelah secara mitosis yang identik dengan sel kanker yang juga membelah secara mitosis (Ropiqa, 2009).

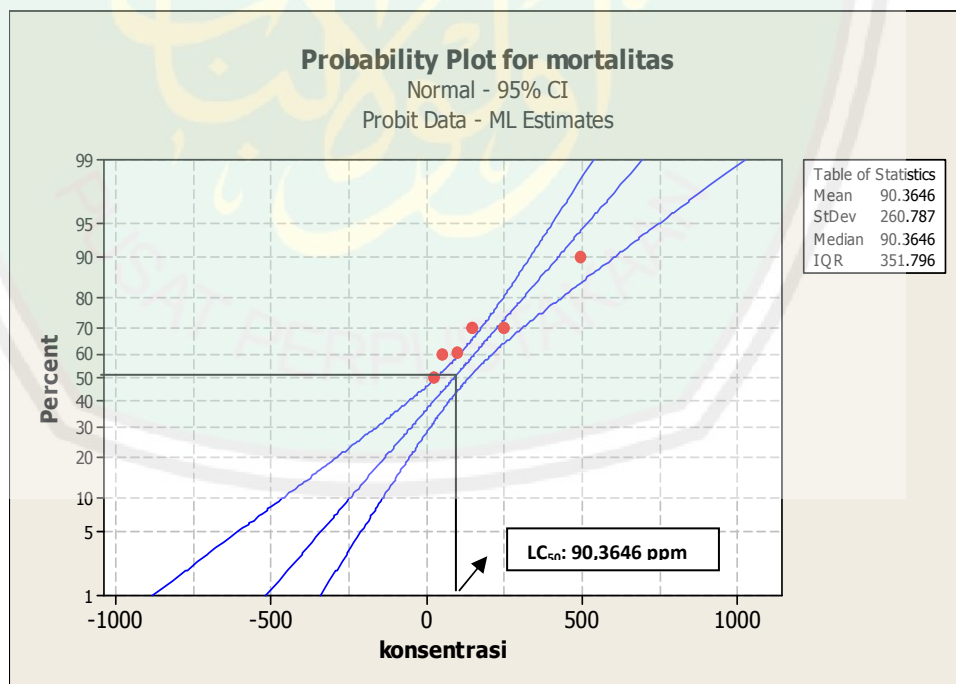
Dalam metode ini larutan ekstrak yang akan digunakan harus larut sempurna dalam air laut, karena air laut merupakan media hidup *Artemia salina* Leach sehingga konsentrasi sampel yang digunakan merupakan konsentrasi yang sebenarnya, dan kematian *Artemia salina* Leach benar-benar disebabkan oleh kandungan senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak teripang pasir (*H. scabra*).

Ekstrak metanol dan n-heksana teripang pasir (*H. Scarba*) tidak dapat larut sempurna dalam air laut dan perlu ditambahkan larutan DMSO (*dimethyl sulfoxide*) untuk melarutkan ekstrak dengan air laut, DMSO merupakan senyawa yang memiliki ujung hidrofilik dan hidrofobik sehingga dapat melarutkan ekstrak dengan air laut.

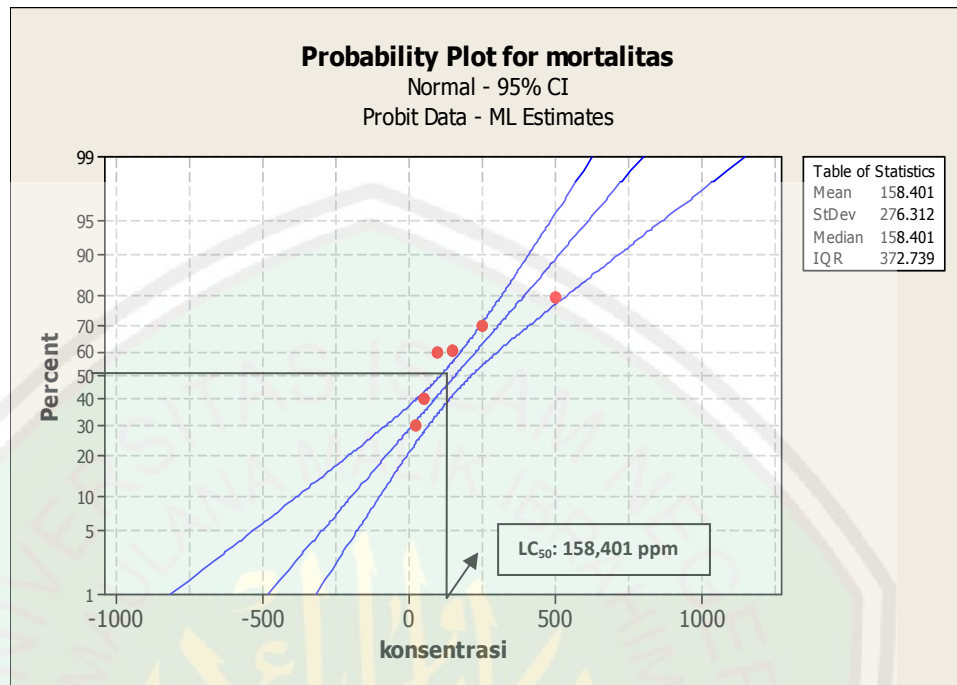
Larutan stok yang digunakan memiliki konsentrasi 10000 ppm. Variasi konsentrasi ekstrak yang digunakan untuk uji toksisitas yaitu 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 250 ppm dan 500 ppm serta dibuat juga kontrolnya 0 ppm yaitu pelarutnya tanpa penambahan ekstrak. Pembuatan variasi konsentrasi pada ekstrak bertujuan untuk mengetahui pengaruh dari beberapa variasi konsentrasi terhadap kematian larva udang, sedangkan pembuatan kontrol bertujuan untuk mengetahui

pengaruh dari DMSO dan bahan yang lainnya terhadap kematian larva udang, sehingga dapat dipastikan kematian larva udang benar-benar disebabkan oleh senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak.

Untuk mendapatkan data yang valid, uji toksisitas dilakukan dengan tiga kali pengulangan. Pengulangan sebanyak tiga kali dianggap dapat menggambarkan tingkat toksisitas dari ekstrak yang digunakan. Hasil dari masing-masing ulangan dapat dijadikan perbandingan sebagai acuan pada tingkan kematian larva udang. Berikut ini kurva hasil analisa dengan program minitab 16 dengan tingkat kepercayaan 95 % ditunjukkan pada Gambar 4.1 dan 4.2.



Gambar 4.1. Grafik Uji Toksisitas (LC<sub>50</sub>) Ekstrak Metanol



Gambar 4.2 Grafik Uji Toksisitas (LC<sub>50</sub>) Ekstrak n-heksana

Kurva mortalitas pada Gambar 4.2 dan 4.3 menunjukkan hubungan antara konsentrasi larutan uji (sumbu X) dan persen mortalitas (sumbu Y). Garis atas (*lower line*) adalah batas bawah yang menunjukkan konsentrasi terendah pada setiap persen mortalitas. Garis tengah (*percentile line*) menunjukkan konsentrasi pada setiap persen mortalitas. Sedangkan garis bawah (*upper line*) adalah batas atas konsentrasi pada setiap persen mortalitas.

Dari kedua kurva diatas dapat dilihat bahwa nilai konsentrasi berbanding lurus dengan persen mortalitas yang artinya bahwa semakin besar nilai konsentrasi maka % mortalitas pada larva udang *Artemia salina* Leach juga semakin besar. Menurut Mayer, dkk (1982) suatu ekstrak menunjukkan aktivitas ketoksikan dalam BSLT jika

ekstrak dapat menyebabkan kematian 50 % hewan uji pada konsentrasi kurang dari 1000 ppm. Dari pernyataan tersebut dapat diketahui bahwa ekstrak metanol dan n-heksana teripang pasir (*H. scarba*) bersifat toksik terhadap larva udang *Artemia salina* Leach karena memiliki nilai  $LC_{50} > 1000$  ppm.

Hasil uji toksisitas dari ekstrak metanol dan n-heksana teripang pasir (*H. scaraba*) pada berbagai konsentrasi ditunjukkan pada Lampiran 4. Terjadi perbedaan jumlah kematian larva udang *Artemia salina* leach pada tiap konsentrasi ekstrak, hal ini menunjukkan bahwa perbedaan konsentrasi mempengaruhi tingkat toksik dari ekstrak.

**Table 4.2 Nilai  $LC_{50}$  ekstrak teripang pada berbagai konsentrasi**

No.	Ekstrak	$LC_{50}$ (ppm)
1	Metanol	90,3646
2	n-heksana	158,401

Ekstrak metanol memiliki tingkat toksisitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak n-heksana. Ada banyak faktor yang mempengaruhi tingkat toksisitas dari kedua ekstrak diatas, diantaranya kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada tubuh teripang pasir, selain itu kepekatan ekstrak yang diperoleh pada proses ekstraksi juga sangat mempengaruhi tingkat toksisitas suatu ekstrak, ini berkaitan dengan banyaknya metabolit sekunder yang terekstrak.

Albutana (2011) yang mengekstrak empat jenis teripang yaitu *A. miliaris*, *H. leucospiola*, *B. argus*, dan *B. marmorata* dengan tiga pelarut yang berbeda yaitu n-heksana, etil asetat dan air menyatakan bahwa metabolit sekunder yang ada pada

tubuh teripang lebih banyak terekstrak pada pelarut polar, dan nilai  $LC_{50}$  yang tertinggi didapatkan pada ekstrak air (pelarut polar) dengan nilai  $LC_{50}$  50,698. Dari pernyataan Albutana (2011) dapat dianalogikan bahwa ekstrak teripang yang diekstrak dengan pelarut polar memiliki tingkat toksisitas lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak pelarut non polar.

Penelitian Narshin (2004) yang mengekstrak teripang pasir (*H. Scarba*) dengan tiga pelarut yang berbeda yaitu petroleum eter, kloroform dan metanol menunjukkan bahwa ekstrak metanol memiliki tingkat bioaktivitas lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak petroleum eter dan kloroform. Narshin (2004) juga menyatakan bioaktivitas paling tinggi ditampilkan oleh ekstrak metanol, dan diduga metanol mampu mengekstrak senyawa aktif yang terdapat pada dinding tubuh teripang. Dinding tubuh teripang yang tebal dan kasar memiliki lapisan epitel dan kolagen dan dilaporkan sangat beracun. Diduga kemampuan pelarut polar (metanol) dalam mengekstrak senyawa aktif dalam tubuh teripang menyebabkan tingkat toksisitas ekstrak metanol lebih tinggi dari pada ekstrak n-heksana.

Penelitian Inayah (2012) yang mengekstrak teripang pasir (*H. scarba*) yang berasal dari pantai kenjeran Surabaya menggunakan pelarut etanol dan n-heksana menunjukkan bahawa ekstrak n-heksana memiliki nilai  $LC_{50}$  sebesar 189,093 ppm sedangkan ekstarak etanol memiliki nilai  $LC_{50}$  sebesar 286,031 ppm ini artinya bahwa ekstrak teripang pasir menggunakan pelarut non polar memiliki tingkat toksisitas lebih tinggi dibandingkan ekstrak menggunakan pelarut polar.

Hasil yang didapatkan oleh Inayah (2012) berbeda dengan hasil yang diperoleh Albutana (2011) dan Narshin (2004) yang mana pada penelitian Inayah (2012) ekstrak n-heksana (non polar) memiliki nilai  $LC_{50}$  yang lebih baik dibandingkan dengan ekstrak etanol (polar) sedangkan penelitian Albutana (2011) dan Narsinh (2004) menunjukkan bahwa ekstrak yang menggunakan pelarut polar memiliki nilai  $LC_{50}$  lebih baik dibandingkan ekstrak dengan pelarut non polar.

Perbedaan tersebut diduga terjadi karena beberapa faktor, diantaranya adalah asal dari teripang yang digunakan, karena ekosistem tiap daerah berbeda-beda, sehingga metabolit sekunder yang ada didalam tubuh teripang juga akan berbeda. Selain itu perlakuan saat preparasi sampel juga dapat mempengaruhi tingkat toksisitas dari ekstrak yang didapatkan.

Dengan nilai  $LC_{50}$  sebesar 90,3646 metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak metanol memiliki potensi sebagai *immuno stimulant* bagi tubuh, ini sesuai dengan pernyataan Subagus (2011) yang menyatakan bahwa nilai  $LC_{50}$  yang tidak terlalu kecil (50-500 ppm) dinyatakan kurang sifat sitotoksiknya namun senyawa bioaktif dapat memiliki aktivitas yang lain seperti *immuno stimulant* yaitu mampu merangsang tubuh untuk menaikkan system imun sehingga tubuh dapat melakukan penyembuhan terhadap diri sendiri.

#### **4.5 Uji Reagen (Uji Fitokimia)**

Hasil uji toksisitas menunjukkan dari kedua ekstrak teripang pasir yang memiliki nilai  $LC_{50}$  yang lebih rendah yaitu pada ekstrak metanol. Ekstrak metanol

ini kemudian diuji reagen untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak metanol. Untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalam ekstrak metanol teripang pasir (*H. Scarba*) perlu dilakukan uji reagen atau uji fitokimia.

Hasil uji reagen ekstrak metanol teripang pasir (*H. Scarba*) menunjukkan bahwa ekstrak teripang pasir dalam metanol mengandung senyawa golongan triterpenoid. Adanya golongan senyawa triterpenoid dalam ekstrak metanol teripang pasir (*H. Scarba*) sesuai dengan penelitian yang dilakukan Murray, Ana P, dkk (2001) yang menyatakan bahwa isolasi teripang jenis *Psolus patagonicus* memiliki kandungan triterpenoid glikosida. Berikut adalah hasil uji fitokimia dari ekstrak metanol p.a teripang pasir (*H. Scarba*) yang ditunjukkan pada Table 4.5 berikut :

**Tabel 4.3 Hasil Pengamatan Uji Fitokimia Senyawa Aktif Ekstrak Metanol Teripang Pasir (*H. Scarba*)**

Golongan Senyawa	Ekstrak Metanol p.a
Alkaloid	
- Reagen Mayer	-
- Reagen Dragendroff	-
Flavonoid	-
Saponin	-
Steroid	-
Triterpenoid	++

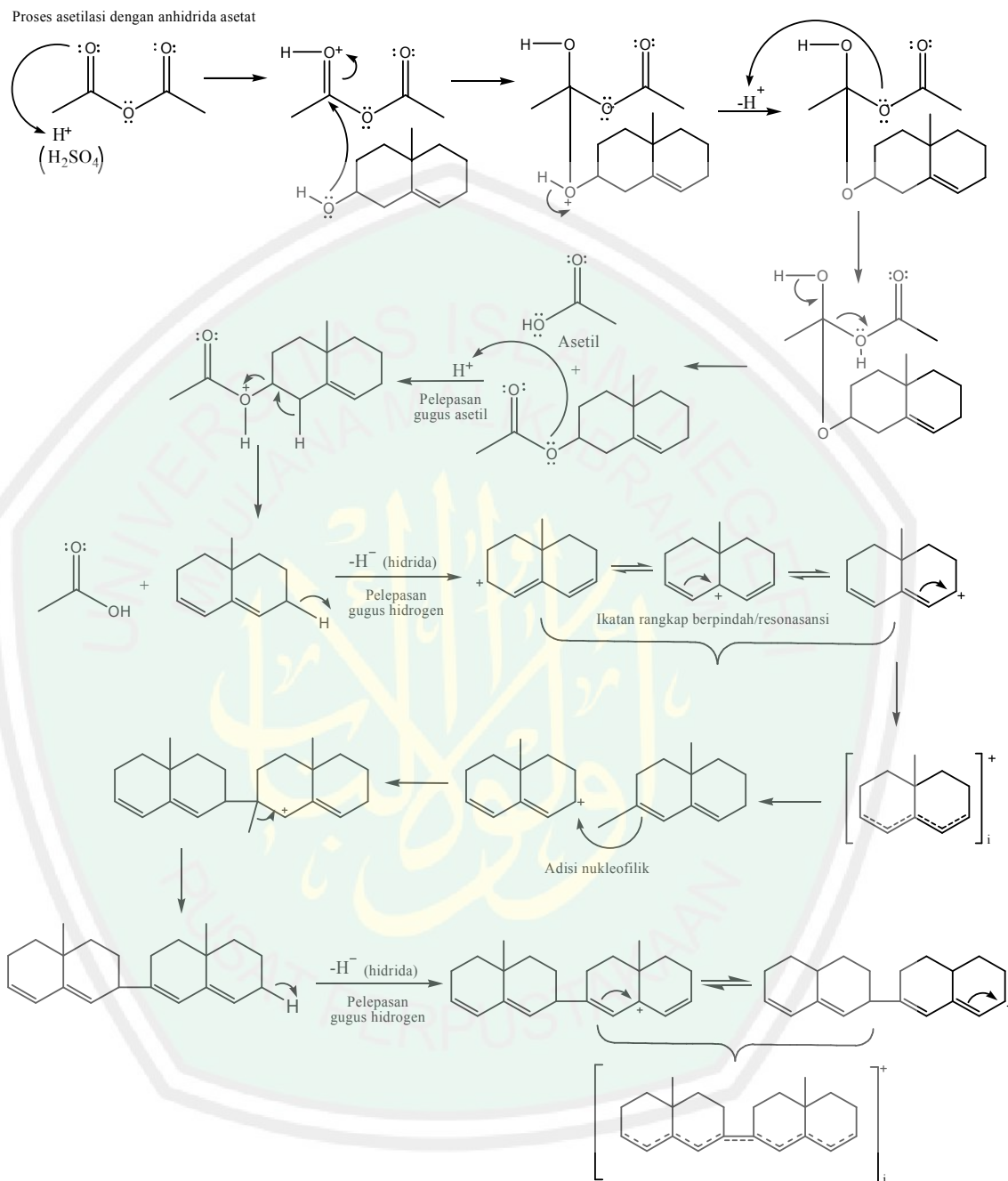
Keterangan : tanda ++ : terkandung senyawa lebih banyak/warna pekat  
tanda - : tidak terkandung senyawa/tidak terbentuk warna

Uji triterpenoid ekstrak metanol teripang pasir (*H. Scarba*) memberikan hasil positif, hal tersebut ditandai dengan terbentuknya cincin kecoklatan pada pembatas dua pelarut ketika ditambahkan reagen Liberman Burchard, sedangkan jika berubah

warna menjadi hijau kebiruan maka ekstrak positif mengandung senyawa steroid, akan tetapi ekstrak teripang pasir tidak mengalami perubahan warna hijau kebiruan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Edeoga (2005) uji triterpenoid menghasilkan nilai positif apabila pada larutan terjadi perubahan warna menjadi coklat kemerah-merahan, sedangkan uji steroid menghasilkan nilai positif apabila dalam larutan terjadi perubahan warna menjadi biru hijau.

Uji fitokimia senyawa triterpenoid dapat dilakukan dengan menggunakan Pereaksi Liberman Burchard. Siadi (2012) menjelaskan terbentuknya warna merah-ungu dan cincin kecoklatan pada pengujian senyawa triterpenoid. Reaksi ini diawali dengan proses asetilasi gugus hidroksil menggunakan anhidrida asetat. Gugus asetil yang terbentuk pada proses ini merupakan gugus pergi yang baik dan akan lepas, kemudian membentuk ikatan rangkap. Selanjutnya terjadi pelepasan gugus hidrogen beserta elektronnya yang mengakibatkan ikatan rangkap berpindah. Senyawa yang terbentuk mengalami resonansi karbokation. Adanya serangan karbokation menyebabkan adisi elektrofilik dengan diikuti pelepasan hidrogen. Akibat pelepasan gugus hidrogen ini, senyawa akan mengalami perpanjangan konjugasi yang akan memunculkan warna pada ekstrak. Dugaan mekanisme reaksi terbentuknya warna pada uji terpenoid dengan reagen Lieberman Buchard ditunjukkan pada gambar berikut.





Ikatan rangkap berpindah/resonansi menyebabkan terjadinya perpanjangan konjugasi. Adanya perpanjangan konjugasi menyebabkan terbentuknya warna pada ekstrak.

Gambar 4.3 Dugaan mekanisme reaksi pembentukan warna pada uji terpenoid (Siadi, 2012)

Pada ekstrak kasar metanol teripang pasir (*Holothuria Scarba*), diduga senyawa triterpenoid terdapat dalam bentuk glikosidanya (bersifat polar). Adanya gugus –OH yang banyak, menyebabkan glikosida triterpenoid lebih banyak terekstrak pada pelarut polar (metanol). Ma'ruf (2012) yang mengekstrak teripang pasir (*H. scarba*) dengan pelarut metanol menyatakan ekstrak metanol positif mengandung saponin, steroid dan triterpenoid.

Hasil uji reagen yang menunjukkan bahwa ekstrak metanol teripang pasir (*H. Scarba*) positif mengandung golongan senyawa triterpenoid kemudian dilanjutkan dengan pemisahan senyawa aktif menggunakan KLT.

#### 4.6 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Hasil uji fitokimia dengan menggunakan reagen menunjukkan bahwa ekstrak metanol teripang pasir (*H.Scarba*) positif mengandung senyawa triterpenoid. Ekstrak yang memiliki nilai positif ini selanjutnya dipisahkan senyawa aktifnya dengan KLT dengan menggunakan beberapa variasi eluen. KLT merupakan suatu metode pemisahan suatu senyawa berdasarkan perbedaan distribusi dua fasa yaitu fasa diam dan fasa gerak. Fase diam pada plat yang digunakan terbuat dari silika gel dengan ukuran 1cm x 10 cm GF<sub>254</sub> (Merck). Sebelum digunakan, Plat KLT silika GF<sub>254</sub> diaktifasi pada suhu 105°C selama ± 30 menit untuk menghilangkan air yang terdapat pada plat (Sastrohamidjojo, 2007).

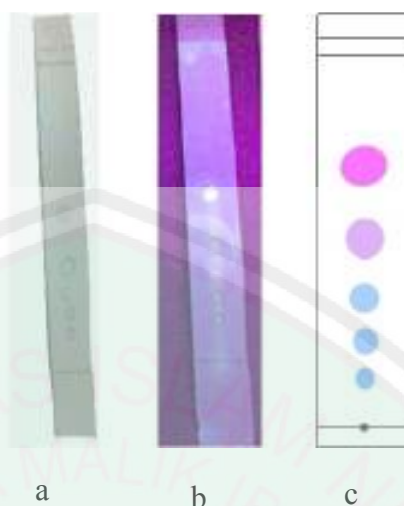
Penotolan ekstrak kasar dilakukan pada jarak ± 1 cm dari bawah plat KLT dengan menggunakan pipa kapiler. Elusi dilakukan apabila noda pada plat telah

kering dengan cara meletakkan plat secara vertikal dengan posisi sedikit miring di dalam bejana pengembang. Bejana pengembang ini berisi campuran eluen yang sesuai untuk senyawa yang akan dipisahkan yang sudah terjenuhkan. Plat KLT yang telah dimasukkan dalam bejana pengembang dibiarkan sampai terjadi pemisahan (Sastrohamidjojo, 2007).

Pemisahan senyawa aktif dengan KLT ini bertujuan untuk mencari eluen terbaik dalam pemisahan senyawa triterpenoid. Pemisahan yang baik ditandai dengan banyaknya spot yang dihasilkan. Menurut Markham (1988) pemisahan yang bagus adalah pemisahan yang menghasilkan komponen senyawa yang banyak, nodanya bagus tidak berekor, dan pemisahan noda-nodanya jelas.

Spot yang dihasilkan selanjutnya dideteksi dengan pereaksi sesuai golongan senyawanya, kemudian diamati di bawah lampu UV dengan menggunakan panjang 366 nm. Pengamatan yang dilakukan dibawah lampu UV pada panjang gelombang 366 nm terlihat beberapa pemisahan komponen senyawa aktif sebagai bercak yang berfluorosensi terang dengan warna spot berbeda di atas *background* gelap yang dapat diamati.

Hasil pemisahan ekstrak metanol teripang pasir dengan menggunakan metode KLT analitik menggunakan beberapa variasi eluen, diantara beberapa variasi eluen yang digunakan, eluen menggunakan n-butanol : amoniak (6 : 2) menghasilkan 5 buah spot yang cukup baik (tidak berekor). Hasil pemisahan dengan metode KLT analitik dapat dilihat pada Gambar 4.4 dan Tabel 4.4 berikut :



Gambar 4.4 Profil plat hasil KLT ekstrak teripang pasir fraksi metanol eluen *n*-butanol : amoniak (6:2) pada  $\lambda$  366 nm

Keterangan:

- (a) Hasil elusi setelah disemprot reagen Lieberman-Burchard  
 (b) Hasil pengamatan sinar UV pada  $\lambda$  366 nm setelah disemprot reagen Lieberman-Burchard  
 (c) Gambar hasil pengamatan

Tabel 4.4 Hasil KLT senyawa triterpenoid dengan eluen *n*-butanol : amoniak (6:2)

N o.	Rf tiap noda	Warna noda dengan sinar UV 366 nm sebelum disemprot reagen Dragendorf	Warna noda dengan sinar UV 366 nm setelah disemprot reagen Dragendorf	Dugaan Senyawa
1	0,15	Biru	Biru	
2	0,19	Kuning	Biru	
3	0,31	Biru	Biru	Triterpenoid
4	0,51	Biru	Biru kehijauan	Triterpenoid
5	0,67	Biru	Biru kemerahan	Triterpenoid

Pengamatan plat dilakukan dibawah sinar UV pada panjang gelombang 366 nm baik sebelum atau sesudah disemprot dengan pereaksi Lieberman Buchard (LB). Penampakan noda pada  $\lambda$  366 nm terjadi karena noda terlihat terang pada lampu UV  $\lambda$  366 nm sedangkan silika gel tidak berfluorosensi pada lampu UV  $\lambda$  366 nm.

Timbulnya warna pada noda disebabkan karena adanya interaksi antara sinar UV dengan gugus kromofor yang terikat pada auksokrom yang ada pada noda. Kromofor merupakan senyawa organik yang memiliki ikatan rangkap terkonjugasi yang dapat menyerap warna sedangkan auksokrom adalah gugus fungsional yang memiliki elektron bebas yang apabila terikat pada kromofor menyebabkan terjadinya pergeseran panjang gelombang.

Fluorosensi cahaya yang nampak merupakan emisi cahaya yang dipancarkan oleh komponen tersebut ketika elektron tereksitasi dari tingkat energi dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi kemudian kembali ke keadaan semula dengan melepaskan energi (Sudjadi, 1988).

Berdasarkan hasil pemisahan KLT analitik dihasilkan 5 spot yang baik, setiap spot memiliki nilai Rf yang berbeda-beda. Nilai Rf hasil pemisahan dengan KLT analitik berturut-turut yaitu 0,15, 0,19, 0,31, 0,51 dan 0,67. Nilai Rf berbeda-beda terkait dengan sifat eluen yang digunakan yakni n-butanol : amoniak (6:2) yang bersifat polar. Noda dengan Rf terbesar (0,67) menunjukkan adanya senyawaan yang bersifat kurang polar dibandingkan noda pada Rf lebih kecil (0,51-0,15). Noda ini bersifat kurang polar karena lebih tertahan kuat pada fase gerak yang bersifat kurang polar bila dibandingkan dengan fase diamnya atau memiliki nilai koefisien distribusi senyawa  $C_{stasiner} > C_{mobile}$ , sedangkan noda yang mempunyai Rf terendah (0,15) menunjukkan adanya senyawaan yang bersifat lebih polar dibandingkan noda

pada Rf yang lebih besar. Noda ini bersifat lebih polar karena lebih terikat kuat pada fase diamnya.

Adanya gugus -OH pada triterpenoid yang bersifat polar sangat mempengaruhi hasil pemisahan, analit yang bersifat polar akan berinteraksi kuat dengan fase diamnya yang bersifat polar sehingga akan mencegah interaksi antara analit dengan fase gerak yang bersifat kurang polar. Pengaruh interaksi kuat antara fase diam (plat KLT) dengan analit (triterpenoid) menyebabkan analit lebih tertahan pada fase diamnya. Sehingga dapat diasumsikan bahwa spot yang memiliki nilai Rf yang lebih tinggi memiliki tingkat kepolaran yang lebih kecil dibandingkan dengan spot yang memiliki nilai Rf yang lebih rendah.

Berdasarkan penelitian Bawa (2009) Golongan senyawa triterpenoid hasil KLT setelah disemprot dengan reagen Lieberman-Burchard ditunjukkan dengan terbentuknya bercak noda hijau tua sampai ungu tua. Penelitian yang dilakukan Astuti (2008) menunjukkan hasil positif triterpenoid dengan nilai Rf 0,67 dengan spot berwarna ungu kehijauan. Beberapa spot yang terbentuk spot dengan nilai Rf 0,67, 0,51 dan 0,31 diduga merupakan golongan senyawa triterpenoid.

Kematian larva udang pada uji toksisitas diduga disebabkan oleh adanya senyawa triterpenoid pada ekstrak metanol teripang pasair, menurut Cahyadi, (2009), senyawa alkaoid, flavonoid dan triterpenoid pada kadar tertentu memiliki potensi toksisitas akut serta dapat menyebabkan kematian larva udang *Artemia salina* Leach.

Golongan senyawa terpenoid diantaranya triterpenoid mempunyai daya polaritas sama dengan golongan fenol, mekanisme kerja dari senyawa terpenoid juga

sama dengan mekanisme kerja dari senyawa fenol yaitu mengganggu proses transportasi ion penting ke dalam sel bakteri. Terpenoid mampu berikatan dengan lemak dan karbohidrat yang akan menyebabkan permeabilitas dinding sel bakteri MRSA (*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*) terganggu (Nursal,1997).

Mekanisme kematian larva berhubungan dengan fungsi metabolit sekunder, dalam tubuh teripang yang dapat menghambat daya makan larva (antifedant). Cara kerja senyawa-senyawa tersebut adalah dengan bertindak sebagai *stomach poisoning* atau racun perut, oleh karena itu bila senyawa ini masuk ke dalam tubuh larva, alat pencernaannya akan terganggu. Selain itu, senyawa ini menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva yang mengakibatkan larva gagal mendapatkan stimulus rasa sehingga tidak mampu mengenali makanannya, akibatnya larva mati kelaparan (Suharjono, 2010).

Kartikasari (2010) melaporkan bahwa mortalitas *Artemia salina* Leach diduga disebabkan oleh senyawa triterpenoid sebagai senyawa toksik. Senyawa triterpenoid bisa masuk melalui membran sel *Artemia salina* Leach secara difusi. Masuknya senyawa tersebut dapat merusak permeabilitas membran dan mengganggu proses biokimiawi *Artemia salina* Leach, akibatnya *Artemia salina* akan mati.

Farouk et al. (2007), yang menyatakan bahwa metabolit sekunder dalam teripang pasir (*H. scabra*) yang berpotensi sebagai senyawa antibakteri adalah golongan atau turunan dari senyawa terpenoid, diantaranya saponin, steroid, dan triterpenoid. Golongan senyawa tersebut memiliki polisakarida sehingga dapat menembus membran sel bakteri, sehingga sel tersebut rusak.

#### 4.7 Pemanfaatan Teripang Dalam Islam

Allah SWT telah menciptakan bumi beserta isinya dengan sangat sempurna. Laut merupakan salah satu ciptaan Allah yang sangat bermanfaat bagi manusia, Allah banyak menyebutkan tentang keutamaan laut didalam al Quran diantaranya adalah Firman Allah didalam surat Faathir ayat 12 yang berbunyi :

وَمَا يَسْتَوِي الْبَحْرَانِ هَذَا عَذْبٌ فُرَاتٌ سَائِغٌ شَرَابُهُ وَهَذَا مِلْحٌ أُجَاجٌ وَمِن كُلِّ تَأْكُلُونَ لَحْمًا طَرِيًّا وَتَسْتَخْرِجُونَ حِلْيَةً تَلْبَسُونَهَا وَتَرَى الْفَلَكَ فِيهِ مَوَازِيرَ لَتَبْتَغُوا مِنْ فَضْلِهِ ۗ وَلِعَلَّكُمْ تَشْكُرُونَ ﴿١٢﴾

*Dan tiada sama (antara) dua laut; yang ini tawar, segar, sedap diminum dan yang lain asin lagi pahit. dan dari masing-masing laut itu kamu dapat memakan daging yang segar dan kamu dapat mengeluarkan perhiasan yang dapat kamu memakainya, dan pada masing-masingnya kamu Lihat kapal-kapal berlayar membelah laut supaya kamu dapat mencari karunia-Nya dan supaya kamu bersyukur (QS. Faathir: 12).*

Ayat diatas menjelaskan tentang manfaat laut bagi manusia diantaranya adalah hewan laut yang bisa dimanfaatkan manusia untuk dikonsumsi, selain itu Allah juga menjelaskan bahwa didalam laut terdapat sumber perhiasan yang dapat digunakan manusia. Pada akhir ayat Allah menyuruh kita untuk mencari karunia-Nya yang terdapat dilautan.

Allah berfirman didalam surat Yunus ayat 57 :

دَعْوَاهُمْ فِيهَا سُبْحَانَكَ اللَّهُمَّ وَتَحِيَّتُهُمْ فِيهَا سَلَامٌ ۗ وَأٰخِرُ دَعْوَاهُمْ اَنْ الْحَمْدُ لِلّٰهِ رَبِّ الْعٰلَمِيْنَ ﴿٥٧﴾



*Hai manusia, sesungguhnya telah datang kepadamu pelajaran dari Tuhanmu dan penyembuhan bagi penyakit-penyakit (yang berada) dalam dada dan petunjuk serta rahmat bagi orang-orang yang beriman. (QS Yunus : 57)*

Rasulullah saw. Memerintahkan umatnya untuk berobat dengan menggunakan obat yang halal dan melarang menggunakan obat yang haram. “Diriwayatkan dari Abu Ad Darda’, ia berkata: Rasulullah SAW bersabda: “Sesungguhnya Allah ta’ala tidak membuat penyakit (melainkan) dengan obatnya, dan Allah ta’ala membuat obat untuk setiap penyakit. Karena itu hendaklah kamu berobat dan jangan berobat dengan yang haram” (H.R. Abu Ad Darda’).

Dari ayat dan hadits diatas dijelaskan bahwa setiap penyakit yang diturunkan Allah memiliki obat, karena Allah tidak menurunkan penyakit, melainkan Dia menurunkan pula obatnya, manusia mengetahui obatnya karena ilmunya dan tidak tahu karena kebodohnya “, sekarang tergantung manusia bagaimana berfikir, bersikap dan bertindak. Akan tetapi kadang ilmu yang dimiliki manusia tidak dapat menjangkau, kecuali apabila kita mendapatkan petunjuk-Nya.

Allah juga berfirman dalam surat Ali Imran ayat 191 yang berbunyi ;

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ  
وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): "Ya Tuhan Kami, Tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha suci Engkau, Maka peliharalah Kami dari siksa neraka. (QS Ali Imran : 191)

Penciptaan bumi serta isinya merupakan pelajaran bagi manusia supaya bisa mempelajari dan memahami bagaimana sebenarnya Allah SWT mencoba mengajari manusia untuk bisa mengenal lebih dekat siapa tuhanNya, dari penciptaan hewan yang kecil, sampai gunung yang tinggi, dan perlu kita ketahui bahwa segala sesuatu yang diciptakan Allah SWT tidak ada yang sia-sia, sehingga dari semua itu kita dapat mempelajari serta memanfaatkannya baik untuk kebutuhan di dunia maupun untuk menambah keimanan kita.

Teripang pasir merupakan salah satu hewan laut yang diciptakan Allah untuk manusia, teripang memiliki banyak manfaat bagi tubuh manusia, kandungan gizi dari teripang juga sangat tinggi. Penelitian-penelitian tentang teripang telah membuktikan bahwa teripang dapat dimanfaatkan dalam bidang farmakologi.

Hasil dari penelitian yang telah dilakukan menyatakan bahwa teripang pasir yang berasal dari pantai Sekotong Lombok Barat memiliki nilai  $LC_{50}$  sebesar 90,3646 ppm sehingga ekstrak teripang dapat dimanfaatkan sebagai *immuno stimulant* bagi tubuh manusia. Selain itu teripang pasir juga memiliki banyak manfaat. Berdasarkan penelitian tentang manfaat teripang, teripang memiliki banyak manfaat diantaranya adalah sebagai antikanker, antitumor, antioksidan, anti bakteri dan masih banyak lagi manfaat teripang bagi manusia.

Islam tidak mengajarkan kita untuk melakukan pengobatan yang mengandung nilai kemusyrikan dan penggunaan bahan-bahan yang diharamkan. Teripang adalah salah satu hewan laut yang halal untuk dikonsumsi, sehingga penggunaan teripang sebagai bahan baku obat tidak melanggar syariat. Kehalalan teripang didasarkan pada

hadits Rosulullah yang artinya "*Laut itu suci airnya dan halal bangkainya.*" (Sahih; HR. Daraqutni: 538). Rosulullah juga bersabda yang artinya "*dihalalkan untuk kalian 2 bangkai dan 2 darah. Adapun 2 bangkai yaitu ikan dan belalang, sedang 2 darah yaitu hati dan limpa.*" (Shahih. Lihat Takhrijnya dalam Al-Furqan hal 27 edisi 4/Th.11).

Dengan adanya penelitian tentang manfaat dari teripang pasir seharusnya keimanan manusia semakin bertambah, karena Allah SWT telah menunjukkan kekuasaan serta kasih sayang-Nya kepada manusia melalui salah satu ciptaan-Nya. Sesungguhnya segala sesuatu yang diciptakan Allah merupakan tanda kebesaran Allah, dan ini dapat dilihat oleh orang-orang yang berfikir dan memiliki keimanan yang tinggi.

## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **5.1 Kesimpulan**

1. Ekstrak metanol dan n-heksana teripang pasir (*H. Scarba*) memberikan efek toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach, dengan nilai LC<sub>50</sub> masing-masing sebesar 90,3646 ppm dan 158,401 ppm.
2. Kandungan golongan senyawa yang terdapat dalam ekstrak metanol teripang pasir (*H.Scarba*) yang berasal dari pantai Sekotong Lombok Barat adalah golongan senyawa triterpenoid.

#### **5.2 Saran**

1. Pemilihan jenis pelarut organik sebagai pengekstrak dapat direkomendasikan dalam upaya pengembangan potensi bioaktivitas teripang pasir (*H. Scarba*) sehingga dapat menghasilkan tingkat toksik yang lebih baik.

## DAFTAR PUSTAKA

- Akbar, Hendra Rizki. 2010. Isolasi dan Identifikasi Golongan Flavonoid Daun Dandang Gendis (*Clinacanthus nutans*) Berpotensi Sebagai Antioksidan. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Albuntana, A., Yasman, Wardhana, dan Wisnu. 2001. Uji Toksisitas Ekstrak Empat Jenis Teripang Suku Holothuridae Dari Pulau Penjaliran Timur, Kepulauan Seribu, Jakarta, Menggunakan *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Anonimous. 2013. Cleaner shrimp larva. <http://www.norbertwu.com/nwp/storycode>. diakses tanggal 31 Maret 2013.
- Aripin, S. 2007. Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Bunga Angsret (*Spathoda campanulata* Beauv) dan Uji Aktivitasnya Sebagai Antioksidan. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya.
- Artika IM, Safithri M. 2010. *Diktat Kuliah Struktur dan Fungsi Subseluler*. Bogor: Departemen Biokimia.
- Ashton, N.F. dan McDemott, C. 2004. Chemical Extraction of Non Reacting Solites. Willey Interscience. Jhon Wiley and Sons. New York.
- Asih, I. A. R. Astiti. 2009. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Isoflavon dari Kacang Kedelai (*Glycine max*). *Jurnal Kimia*. Volume 3, Nomor 1: 33-40.
- Bawa, A., Putra, B., dan Laila, I. 2007. *Penentuan pH Optimum Isolasi Karaginan dari Rumput Laut Jenis Eucheuma cottoni*. Bali: Jurusan Kimia Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan dan Alam Universitas Udayana.
- Burke, R.W. 1974. Mechanisms Of The Liebermann-Burchard and Zak Color Reactions For Cholestrol. *jurnal*. Washington. Clinical Chemistry.
- Carballo JL, Hernandez-Inda ZL, Perez P, Garcia-Gravaloz MD. Comparison between two brine shrimp assays to detect in vitro cytotoxicity in marine natural products. *BMC Biotechnology*. 2002;2:1472-6570.
- Colegate, S. M. dan Molyneux, R. J. 2007. *Bioactive Natural Products: Determination, Isolation and Structural Determination Second Edition*. Prancis: CRC Press.

- Craig LC, Gregory JD and Hausmann W. 1950. Versatile Laboratory Concentration device. *Anal. Chem.* 22:1462.
- Damersal. 2007. Tripang geliat potensi dari timur laut. *Artikel perikanan laut*. Tanggal akses 31 maret 2013. <http://www.dkp.go.id/>.
- Day dan Underwood. 2001. *Analisis Kimia kualitatif*. Jakarta: Erlangga.
- Dyah N, Nurlita A, Rachmat F. 2006. Uji Toksisitas Ekstrak *Eucheuma Alvarezii* Terhadap *Artemia Salina* Sebagai Study Pendahuluan Potensi Antikanker. *Akta Kimindo Vol. 2* :41-46
- Edeoga, H.O.D. E. Okwu, and B.O Mbaebie. 2005. Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology Vol. 4* (7).
- Ekasari, W., Widyawaruyanti, A. dan Hafid, A. F. 2005. Uji Antimalaria Hasil Fraksinasi Ekstrak Kloroform Daun *Siamea* pada Mencit Terinfeksi *Plasmodium berghei*. *Laporan Penelitian* Tidak Diterbitkan. Surabaya: Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.
- Farouk, A. E. Faizal, A.H.G, dan Ridzwan B.H. 2007. New Bacterial Species Isolated from Malaysian Sea Cucumber with Optimized Secreted Antibacterial Activity. [*American Journal of Biochemistry and Biotechnology*]. 64-69 hlm.
- Fessenden dan Fessenden. 1997. *Kimia Organik Edisi Ketiga*. Diterjemahkan oleh Alyosius Hadyana Pudjaatmaka. Jakarta: Erlangga.
- Fitriani, A., Winarti, L., Muslichah, S. dan Nuri. 2011. Uji Antiinflamasi Ekstrak Metanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav*) Pada Tikus Putih. *Majalah Obat Tradisional*. Volume 16, Nomor 1: 34-42.
- Gritter, R. J. 1991. Pengantar Kromatografi Edisi Kedua. Terjemahan Kokasih Padmawinata. Bandung: Penerbit ITB
- Guether, E. 1987. *Minyak Atsiri*. Jakarta :Universitas Jakarta.
- Halimah, N. 2010. Uji Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica L.*) Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach. Skripsi Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Harborne, J. B. 1996. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: Penerbit ITB.

- Harborne, JB. 1987. *Phytochemical methods*. Ed ke-2. New York: Chapman and Hall
- Hardajii, W. 1993. *Ilmu Analitik Dasar*. Jakarta : PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Hermawan, Tri, Juwita dan L. Sulwartiwi. 2010. Teknik Pemeliharaan Benih Ranjungan (*Portunus pelagicus* Linn.) di Balai besar Pengembangan budidaya Air Payau jepara Kabupaten Jepara provinsi Jawa Tengah. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan* Vol. 2, No. 1.
- 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.
- Houghton, PJ; Raman, A. 1998. *Laboratory Handbook for the Fractionation of Natural Extracts*. London: Chapman and Hall.
- Inayah, Nurul. 2012. Uji toksisitas dan Identifikasi awal golongan senyawa aktif ekstrak etanol dan n-heksana teripang pasir kering pantai kenjeran Surabaya. *Skripsi tidak diterbitkan*. Fakultas Sains dan Teknologi UIN Malang.
- Indrayani, L., H. Soetjipto, dan L. Sihasale. 2006. Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* L.)
- Ismet, M.S., Soedhama, D., dan Aktani, U. 2007. Penapisan senyawa bioaktif spons *Aaptos aaptos* dan *Petrosia* sp. Dari lokasi yang berbeda. *Konferensi sains dan perikanan Indonesia*. IPB Dramaga.
- Kaswandi M.A., Lian H.H., Nurzakiah S., Ridzwan B.H., Ujang S., Samsudin M.W., Jasnizat S and Ali AM. 2000. Crystal Saponin From Three Sea Cucumber Genus and Their Potential As Antibacterial Agents. 9th *Scientific Conference Electron Microscopic Society*. 12-14 Nov. 2000, Kota Bharu, Kelantan. 273—276
- Ketaren, S. 1986. *Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan*. Jakarta: UI Press.
- Khopkar, S.M. 1990. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: Penerbit UI-Press.
- Kristanti, A.N.; Aminah, N.S.; Tanjung, M.; Kurniai, B. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Universitas Airlangga.

- Kristianingsih. 2005. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Triterpenoid dari Akar Tanaman Kedondong Laut (*Polyscias frut icosia*). *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya.
- Kustiariyah. 2006. Isolasi dan Uji Aktivitas Biologis Senyawa dari Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) Sebagai Aproksida Alami. Thesis. *Sekolah Pasca Sarjana*. Bogor: Insitut Pertanian Bogor.
- Lian H.H, Weng S.N, Ji S.M, Choi S, Jang S, and Lee S.K. 2003. A ginsenoside-Rh1, a component of ginseng saponin, activities astrogen receptor in human breast carcinoma MCF-7 cells. *J of Steroid Biochem. And Mol. Biol.* 84:463-468.
- Lisdawati, V. 2002. Berdasar Uji Penapsisan Farmakologi pada Buah Mahkota Dewa. *Skripsi diterbitkan*. Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada: Yogyakarta.
- Lusiana, Helen. 2009. Isolasi dan Uji *Plasmodium* Secara *In Vitro* Senyawa Alkaloid dari *Albertisia papuana* BECC. *Tesis*. Bandung: Sekolah Pascasarjana ITB Bogor.
- Lutfillah, M. 2008. Karakterisasi Senyawa Alkaloid Hasil Isolasi dari Kulit Batang Angset (*Spathoda campanulata* Beauv) serta Uji Aktivitasnya Sebagai Antibakteri secara In-Vitro. *Skripsi tidak diterbitkan*. Jurusan Kimia FMIPA UNIBRAW. Malang.
- Ma'ruf, Farid. 2012. Uji Bioaktivitas Ekstrak Teripang Pasir (*H. scarba*) Terhadap Bakteri *Pseudomonas Aeruginosa* dan *Bacillus cereus*. *Jurnal Perikanan*. Vol 1. No 2.
- Markham, K.R. 1988. *Techniques of Flavonoid Identification*. Diterjemahkan oleh Padmaninata, Kosasih. Bandung: ITB.
- Marliana, S.D., V. Suryanti dan Suyono. 2005. The Phytochemical Screenings an Thin Layer Chromatography Analysis of Chemical Compounds in Ethanol Extract of Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.). Jurusan Biologi. Fakultas MIPA Universitas Negeri Surakarta. *Jurnal Biofarmasi*, Vol. 3(1): 26-31. ISSN: 1693 – 2242.
- Martoyo J, Aji N dan Winanto T. 2006. *Budidaya Teripang*. Jakarta: Penebar Swadaya



- McLaughlin J.L, Chang C-J, Smith D.L. Bench top bioassays for the discovery of bioactive natural products An update. In: Atta-ur-Rahman, ed. *Studies in Natural Products Chemistry*. Amsterdam: Elsevier; 1991;9:388–409.
- Meyer, B.N., N.R. Ferrighni, J.E. Putnam, L.B. Jacobson, D.E. Nichols and J.L. McLaughlin, 1982. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituent. *Planta Medica*. 45 : 31-34.
- Miller J.N. 2000. *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*, 4<sup>th</sup> ed. Harlow: Prentice. Hall.
- Morina, Adfa. 2007. Isolasi Senyawa Aktif Berkhasiat Sitotoksik Dari Daun Kemuning (*Murraya Panicullata* L. Jack). *Jurnal Gradien*. Volume 3, Nomor 2: 262-266.
- Muaja, Arter. Dkk. 2013. Uji Toksisitas Dengan Metode BSLT dan Analisa Kandungan Fitokimia Ekstrak Daun Soyogik (*Saurauia bracteosa* DC) dengan metode Soxhletasi. Vol 2. 115-118. *Jurnal MIPA UNSRAT*
- Mukhlisoh, W. 2010. Pengaruh Ekstrak Tunggal Dan Gabungan Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn) Terhadap Efektivitas Antibakteri Secara In Vitro. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Mulyono, P.; Indarsih, H. 2006. Studi kesetimbangan ekstraksi asam laktat dalam air dengan pelarut murni. *Media Teknik.*, Vol. 1: 41-49.
- Muwarni, Retno dan Agus T. *Peneliti Undip Temukan Senyawa Antikanker*. Departemen Perikanan dan Kelautan.
- Nimah, S. dan Widodo. F. 2012. Uji Bioaktivitas Ekstrak Teripang Pasir (*H. scarba*) Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus cereus*. *Jurnal Perikanan*, Volume 1, Nomor 2.
- Nofiani, Risa. 2008. Urgensi dan Mekanisme Biosintesis Metabolit Sekunder Mikroba Laut. *Jurnal natur Indonesia*. 120-125 No 2.
- Nurjannah. 2008. Identifikasi Steroid Teripang Pasir (*H.scabra*) dan Pemanfaatannya Sebagai Sumber Steroid Alami. Disertasi. *Sekolah Pasca Sarjana*. Bogor: Insitut Pertanian Bogor.

- Nursal. 1997. *Pengaruh Ekstrak Akar Acanthusilicifolius Terhadap Pertumbuhan Bakteri Vibriosp.* Prosiding Seminar Nasional VI EkosistemMangrove. Pekanbaru 15-18 September 1997;273-277
- Parwati, T. dan P. Simanjuntak, 1998. Daya toksik beberapa tumbuhan obat tradisional Indonesia asal Nusa Tenggara Barat. *Journal Biologi Indonesia.* 11(3) : 118-125.
- Pitoyo, Ahmad. 2004. [perikanan-nusantara.blogspot.com/artemia.html](http://perikanan-nusantara.blogspot.com/artemia.html) diakses pada Maret 2009.
- Poedjiadi, A. dan F. M. T. Supriyanti. 1994. *Dasar-Dasar Biokimia.* Jakarta: UI Press.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi.* Bandung: ITB.
- Ropiqa, M. 2009. *Uji Ketoksikan (LC<sub>50</sub>) Ekstrak Etanol Daun Ekor Kucing (Acalypha hispida Burm.f) terhadap Larva Udang Artemia salina Leach dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT).* Jurnal. Pontianak: Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Tanjungpura.
- Sa'adah, L., Hayati, E.K. dan Fasyah, G. 2010. Fraksinasi dan Identifikasi Senyawa Tanin Pada Daun Blimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*). *Jurnal Kimia.* Volume 4, Nomor 2: 193-200.
- Sastrohamidjojo, H. 2001. *Spektroskopi.* Yogyakarta: Liberty.
- Sembiring, B.B., Ma'mun dan Ginting. 2006. Pengaruh kehalusan bahan dan lama ekstraksi terhadap mutu ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb.*). *Bul. Litro.* Vol.17, No.53 – 58.
- Setyowati, S. 2009. *Unit Corn Mill.* [www.chem-is-try.org](http://www.chem-is-try.org). diakses pada tanggal 20 februari 2014.
- Siadi,K. 2012. *Ekstrak Bungkil biji jarak Pagar (Jatropha curcas) sebagai Biopestida yang Efektif dengan Penambahan Larutan NaCl.* Jurnal. Semarang: Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang. *Jurnal MIPA 35(1) ISSN 0215-9945.*
- Sidik, Kosasih P dan Soediro, Soetarna. 2012. Analgetika. Dalam : *Penapisan Farmakologi Pengujian Fitofarmaka dan Pengujian Klinik.* Jakarta: Yayasan Pengembangan Bahan Obat Alami Phyto Medica.
- Soebagio, dkk. 2002. *Kimia Analitik II.* Malang: Universitas Negeri Malang

- Soemirat, J. 2005. *Toksikologi Lingkungan*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Sriwahyuni, Ika. 2010. Uji Fitokimia Tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* L.) dengan Variasi Pelarut dan Uji Toksisitas Menggunakan Brine Shrimp (*Artemia salina* Leach). *Tugas Akhir* Tidak Diterbitkan. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Suryanti, V., Martiana, S.M dan Kristinawati, D. 2005. Komponen Kimia Buah Pare Belut (*Trichosanthes anguina* L.). *Jurnal Alchemy*. Volume 4, Nomor 2: 28-34.
- Susilaningsih, Ratna. 2007. Isolasi, Identifikasi dan Uji Toksisitas Senyawa Alkaloid Fraksi Etil Asetat Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia galanga*). *Tugas Akhir* Tidak Diterbitkan.
- Thakur, Thakur. And Pandit, Reena. 2004. Mosquito Larvacidal of Some Extracts Obtained from the Marine Organism-prawn and Sea Cucumber. *Indian journal of Marine sciences*. Vol 33. PP 303-306.
- Wibowo, S. Yunizal, *et al.* 1997. Teknologi Penanganan dan Pengolahan Teripang (*Holothuriadea*). Jakarta: IPPL Slipi.
- Winarno FG. 2002. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama
- Yang, B.K., Kuo, S.J., Hariyadi, P. dan Parkin, K.L. 1994. Solvent uibility for lipase-mediated acyl-transfer and esterification reactions reaction in microaqueous milieu is related to substrate and product polarities. *Enzyme microb. Technol*, 16: 577-583.
- Yulia, Rita. 2006. Kandungan Tanin dan Potensi Anti *Strepcoccus mutans* Daun Teh Var. *Assamica* Pada Berbagai Tahap Pengolahan. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Yuniarso, Tommy. 2006. Peningkatan kelangsungan hidup, pertumbuhan, dan daya tahan udang windu (*penaeus monodon* fab.) stadium pl 7 –pl 20 setelah pemberian silase artemia yang telah diperkaya dengan silase ikan. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Surakarta : FMIPA Universitas Sebelas Maret.
- Yusron, M. dan M. Januwati. 2004. Pengaruh kondisi agroekologi ter-hadap produksi dan mutu simplisia sambiloto (*Andrographis panicu-lata*). *Prosiding Seminar Nasional XXVI Tumbuhan Obat Indonesia* : 211-216.

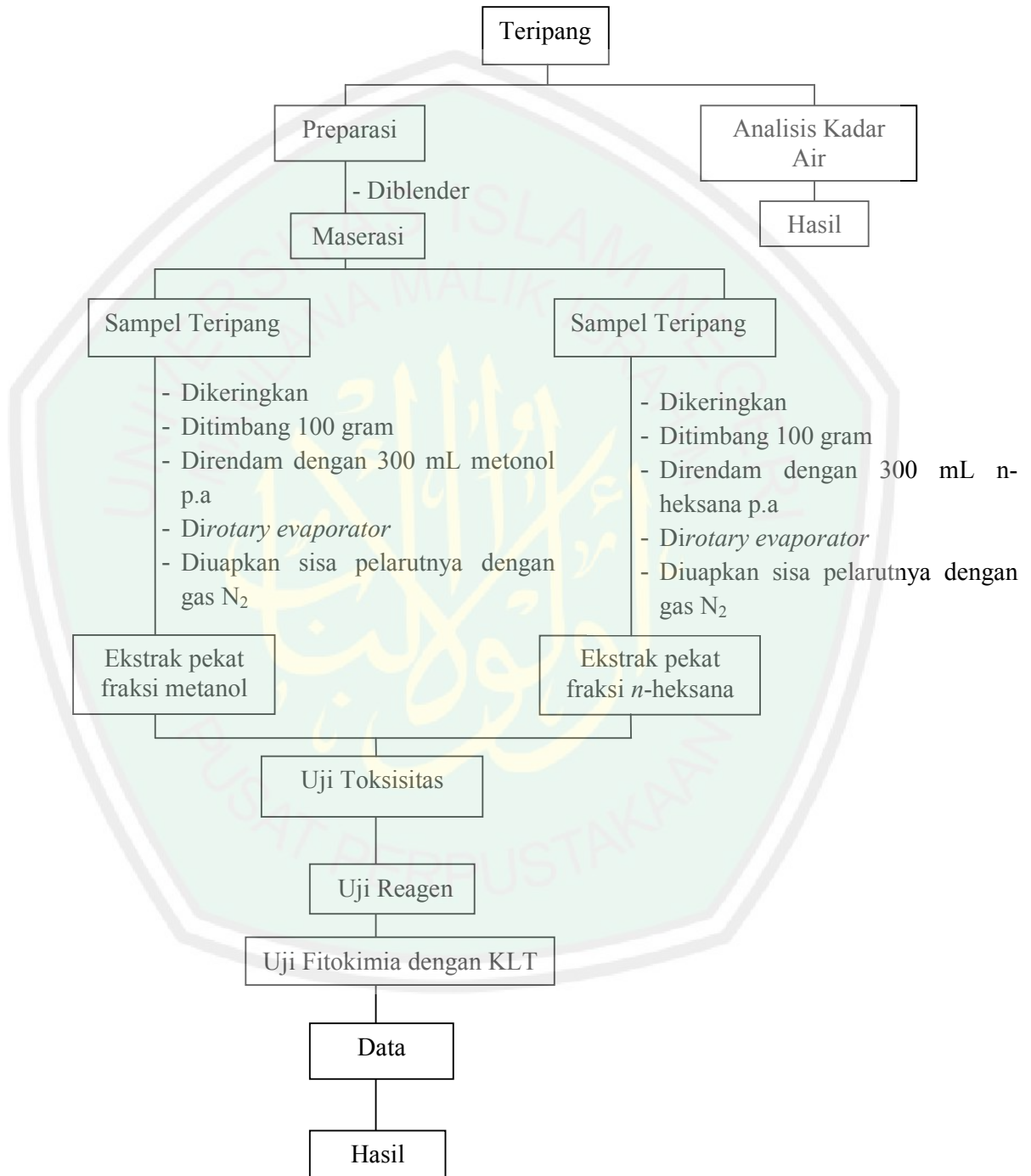
- Wafa, J. Ali. 2012. Penentuan Kapasitas Antioksidan Dan Kandungan Fenolik Total Ekstrak Kasra Teripang Pasir (*H. scraba*) Dari Pantai Kenjeran Surabaya. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang : Fakultas Sains dan Teknologi UIN Malang
- Wahyuno, Subagus. 2011. Evaluasi Bioaktivitas Tanaman Obat Koleksi Kalimantan Tengah. *Jurnal Fakultas Farmasi, UGM*.



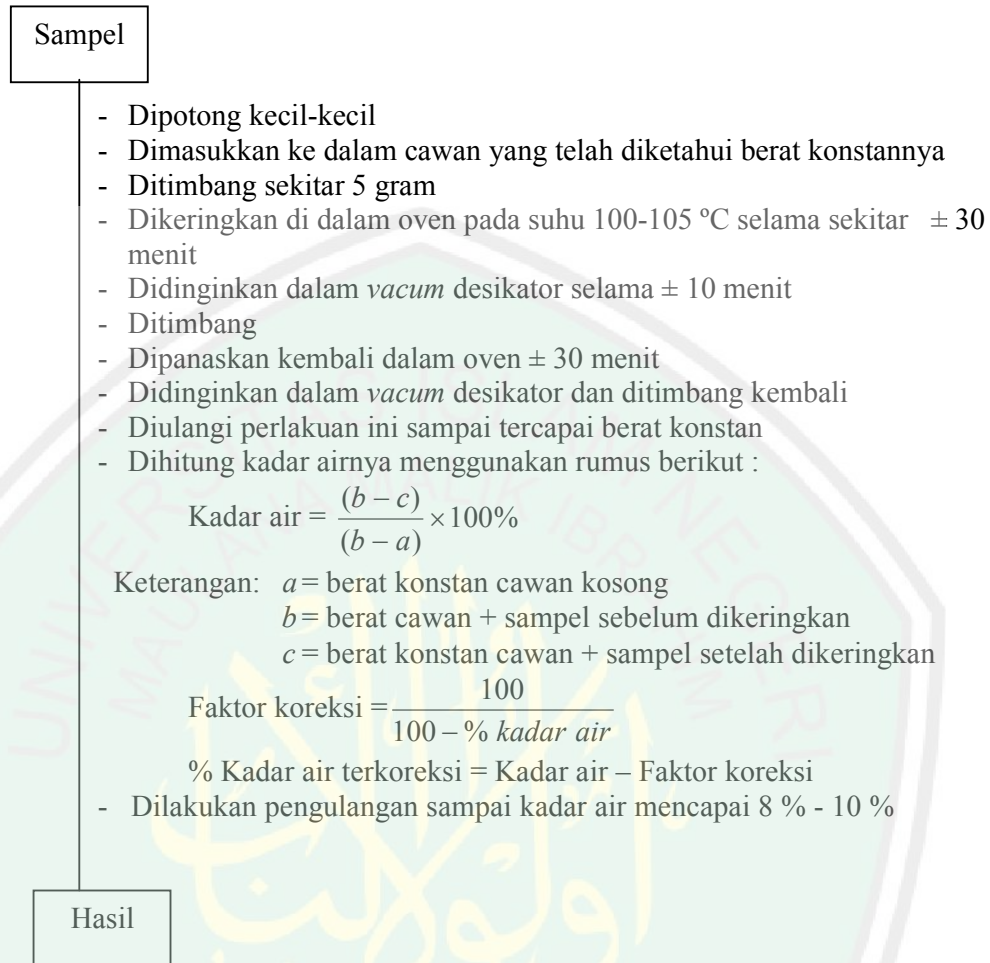
LAMPIRAN 1 Skema Kerja

L.1.1 Skema Penelitian

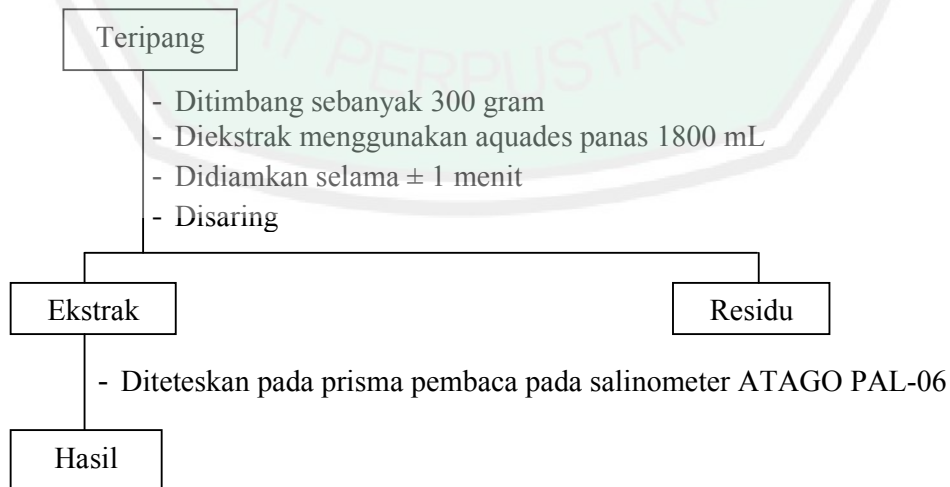
• Rancangan Penelitian



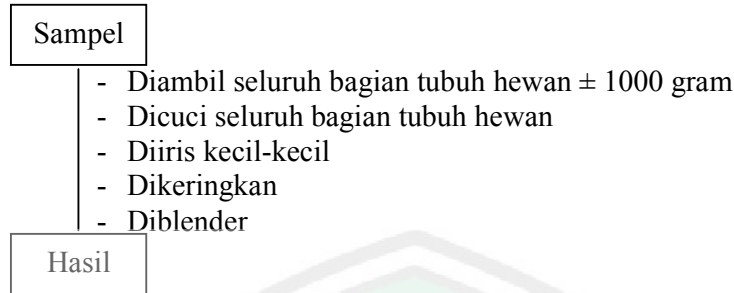
### L.1.2 Analisis Kadar Air (AOAC, 1984)



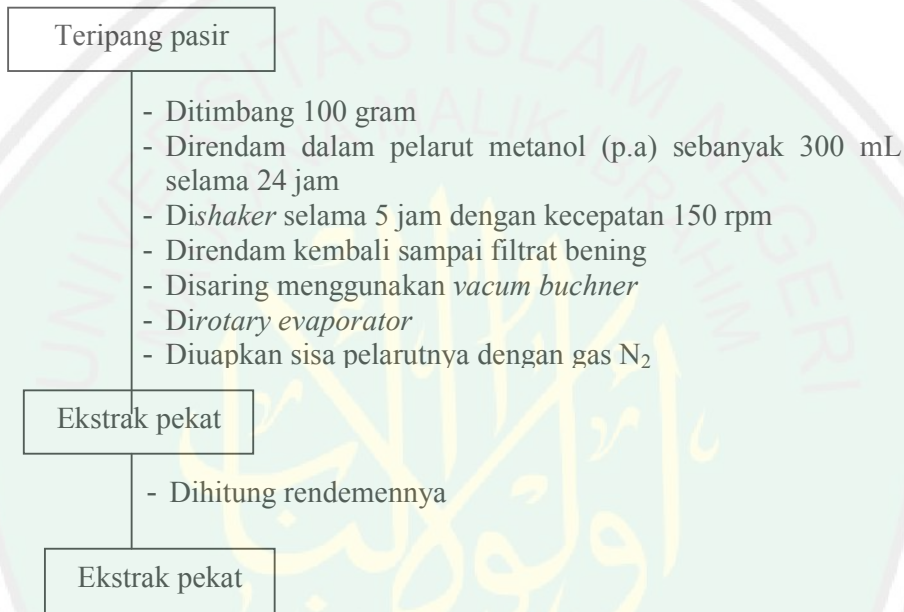
### L.1.3 Analisis Kadar Garam



### L.1.4 Preparasi Sampel



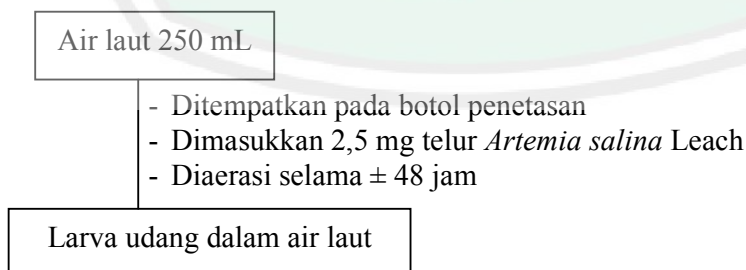
### L.1.5 Ekstraksi Komponen Aktif



Catatan : dilakukan perlakuan yang sama untuk pelarut *n*-heksana

### L.1.6 Uji Toksisitas dengan Larva Udang *Artemia salina* Leach

#### L.1.6.1 Penetasan Telur



### L.1.6.2 Uji Toksisitas

100 mg ekstrak pekat metanol dan n-heksana

- dilarutkan dengan menggunakan 10 mL pelarutnya masing-masing
- dipipet masing-masing larutan sebanyak 500  $\mu$ L, 250  $\mu$ L, 150  $\mu$ L, 100  $\mu$ L, 50  $\mu$ L 25  $\mu$ L dan 0  $\mu$ L sehingga terbentuk larutan ekstrak dengan konsentrasi 500 ppm, 250 ppm, 150 ppm, 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm dan larutan kontrol
- dimasukkan ke dalam botol vial
- diuapkan pelarutnya sampai kering
- dimasukkan 100  $\mu$ L dimetil sulfoksida, 0,5 mL larutan ragi roti, dan 2 mL air laut
- dikocok hingga ekstraknya larut
- dimasukkan 10 ekor larva udangnya
- ditambahkan air laut sampai volumenya menjadi 10 mL
- diamati kematian larva udang setelah 24 jam
- Perlakuan dilakukan pengulangan masing-masing sampel sebanyak 3 kali
- dianalisis datanya untuk mencari  $LC_{50}$

Hasil

### L.1.7 Uji Kandungan Senyawa Aktif dengan Uji Reagen

#### 1. Uji Alkaloid

Ekstrak sampel

- Dimasukkan dalam tabung reaksi
- Ditambahkan 0,5 mL HCl 2 %
- Dibagi larutannya dalam dua tabung

Larutan pada tabung I

Larutan pada tabung II

- Ditambahkan 0,5 mL reagen Dragendorff

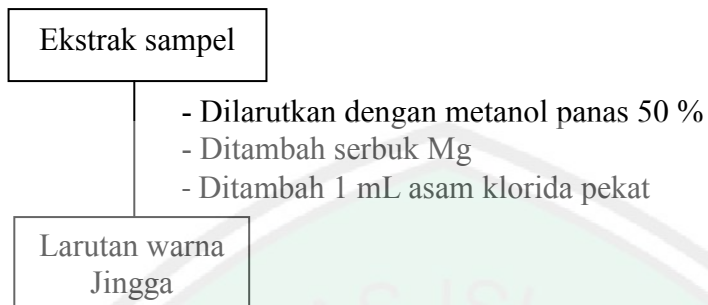
- Ditambahkan 0,5 mL reagen Mayer

Endapan jingga

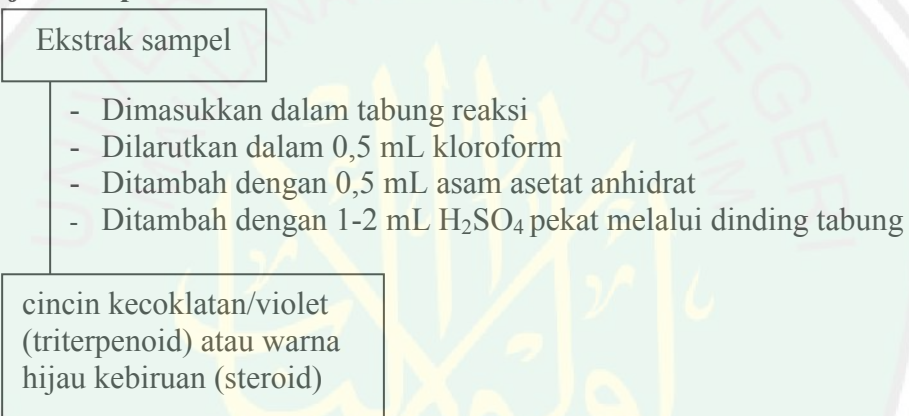
Endapan kekuning-kuningan



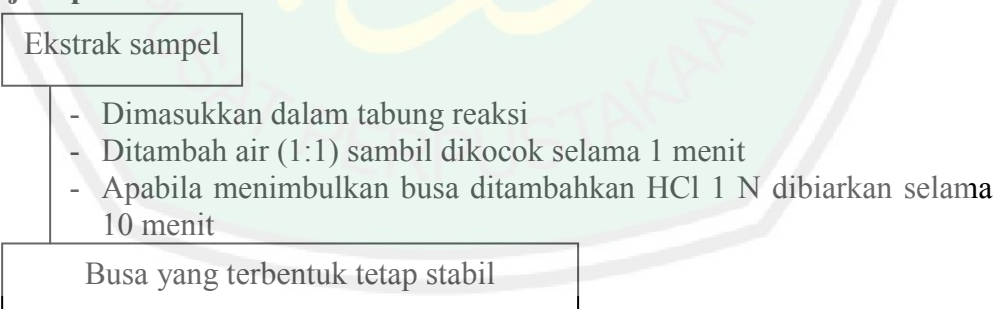
### 3. Uji Flavonoid



### 4. Uji Triterpenoid/Steroid

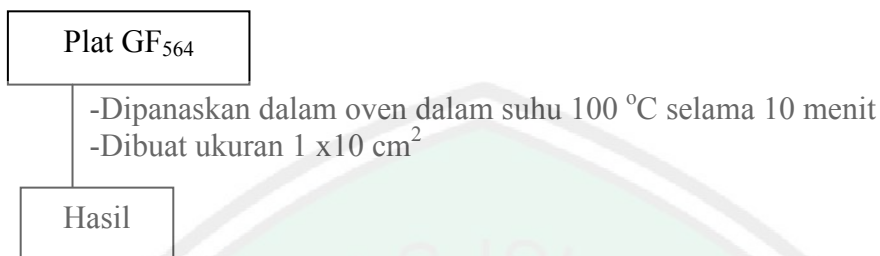


### 5. Uji Saponin



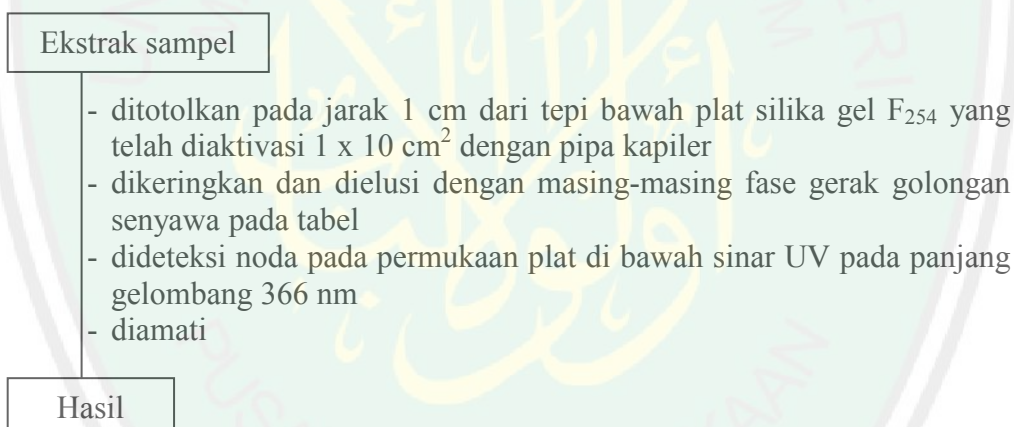
## L.1.8 Uji Senyawa Aktif dengan KLT

### L.1.8.1 Aktifasi plat



### L.1.8.2 Kromatografi Lapis Tipis

Uji senyawa aktif dengan KLT dilakukan terhadap golongan senyawa yang positif dari hasil uji senyawa aktif dengan uji reagen.



Tabel L.1.1 Jenis-jenis fasa gerak dan pendeteksi untuk metabolit sekunder pada uji KLT

Golongan Senyawa	Fasa Gerak	Pendeteksi	Hasil Warna Noda
Alkaloid	1. Kloroform- metanol (9,5:0,5) 2. kloroform- metanol (9:1) 3. kloroform-n-heksana (2:1) 4. metanol-kloroform (2:8)	pereaksi Dragendorff	jingga

	5. diklorometana - metanol (1 : 1)		
Flavonoid	1. etil asetat-metanol (9:1) 2. butanol-asam asetat-aquades (4:1:5) 3. n-heksana-kloroform-etil asetat (9:1:0,5) 4. kloroform-metanol (9:1) 5. kloroform-metanol (3:2)	diuapi uap amonia	biru kehijauan
Saponin	1. kloroform-metanol-air (13:7:2) 2. kloroform-metanol-air (3:1:0,1) 3. kloroform-metanol-air (20:60:10) 4. kloroform-metanol-air (14: 6:1) 5. kloroform-aseton (4:1)	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0,1 M	ungu-ungu gelap
Triterpenoid	1. n-heksana-etil asetat (1:1) 2. kloroform-metanol (10:1) 3. n-heksana-etil asetat (2:8) 4. n-heksana-etil asetat (4:1) 5. toluena-etil asetat (7:3)	pereaksi Liebermann-Burchard	– merah ungu (violet) – ungu tua – hijau-biru
Steroid	1. sikloheksanaa:etil asetat (1:1) 2. n-heksanaa:etil asetat (7:3)	pereaksi Liebermann-Burchard	hijau kebiruan

## ✓ Eluen tambahan triterpenoid

No.	Fase Gerak	Pendeteksi	Hasil Warna Noda
1.	n-heksana : kloroform (1:1)	Lieberman-Burchard	Merah ungu
2.	n-heksana : etil asetat (1:1)	Lieberman-Burchard	Merah ungu
3.	n-heksana : aseton (7:3)	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 10% dalam metanol	Biru keunguan sampai coklat
4.	n-heksana : kloroform (2:1)	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 10% dalam metanol	Merah ungu
5.	Metanol : kloroform (7:3)	Lieberman-Burchard	Ungu muda
6.	Metanol : kloroform (5:2)	Lieberman-Burchard	Merah ungu
7.	Metanol : kloroform (1:2)	Lieberman-Burchard	Merah ungu
8.	n-heksan : etil asetat (12:1)	Lieberman-Burchard	Ungu dan ungu kemerahan
9.	n-heksana : etil asetat (7:3)	Lieberman-Burchard	Hijau kebiruan
10.	Metanol : kloroform : air (60:20:4)	Lieberman-Burchard	Ungu muda
11.	Metanol : etanol : air (60:30:10)	Lieberman-Burchard	Ungu muda
12.	<i>n</i> -butanol : NH <sub>4</sub> OH (4:1)	Lieberman-Burchard	Ungu dan ungu kemerahan

## LAMPIRAN 2. Perhitungan dan Pembuatan Reagen dan Larutan

### L.2.1 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.2.2 Pembuatan Reagen Dragendorff

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

Larutan II. 6 gram KI dalam 10 mL  $\text{H}_2\text{O}$ .

Cara pembuatannya adalah larutan I dibuat dengan 0,6 gram  $\text{Bi}(\text{NH}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  yang dilarutkan ke dalam 2 mL HCl pekat dan 10 mL aquades dan larutan II dibuat dengan 6 gram KI yang dilarutkan ke dalam 10 mL aquades. Kedua larutan tersebut dicampur dengan 7 mL HCl pekat dan 15 mL  $\text{H}_2\text{O}$  (Wagner, 2001: 359-364).

### L. 2. 3 Pembuatan Reagen Mayer

Larutan I.  $\text{HgCl}_2$  1,358 g dalam aquades 60 mL

Larutan II. KI 5 g dalam aquades 10 mL

Cara pembuatannya adalah larutan I dibuat dengan  $\text{HgCl}_2$  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: 71).

#### L.2.4 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: 359-364).

#### L.2.5 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  $\pm$  5 mL aquades. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

#### L. 2.6 Perhitungan Konsentrasi Larutan Ekstrak Untuk Uji Toksisitas

##### a. Pembuatan larutan stok dari ekstrak teripang pasir:

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

larutan stok 10000 ppm = mg/L dalam 10 mL pelarutnya

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

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

$$\text{mg} = 100 \text{ mg}$$

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

**b. Pembuatan larutan ekstrak 500 ppm**

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

$$V_1 \cdot 10000 \text{ ppm} = 10 \text{ mL} \times 500 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{5000 \text{ mL}}{10000}$$

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

$$= 500 \mu\text{L}$$

Jadi, larutan ekstrak 500 ppm dibuat dengan 500  $\mu\text{L}$  larutan stok yang dilarutkan dalam 10 mL air laut.

**c. Pembuatan larutan ekstrak 250 ppm**

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

$$V_1 \cdot 10000 \text{ ppm} = 10 \text{ mL} \times 250 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{2500 \text{ mL}}{10000}$$

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

$$= 250 \mu\text{L}$$

Jadi, larutan ekstrak 250 ppm dibuat dengan 2500  $\mu\text{L}$  larutan stok yang dilarutkan dalam 10 mL air laut.

**d. Pembuatan larutan ekstrak 150 ppm**

$$V_1.M_1 = V_2.M_2$$

$$V_1. 10000 \text{ ppm} = 10 \text{ mL} \times 150 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{1500 \text{ mL}}{10000}$$

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

$$= 150 \mu\text{L}$$

Jadi, larutan ekstrak 150 ppm dibuat dengan 150  $\mu\text{L}$  larutan stok yang dilarutkan dalam 10 mL air laut.

**e. Pembuatan larutan ekstrak 100 ppm**

$$V_1.M_1 = V_2.M_2$$

$$V_1. 10000 \text{ ppm} = 10 \text{ mL} \times 100 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{1000 \text{ mL}}{10000}$$

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

$$= 100 \mu\text{L}$$

Jadi, larutan ekstrak 250 ppm dibuat dengan 250  $\mu\text{L}$  larutan stok yang dilarutkan dalam 10 mL air laut.

**f. Pembuatan larutan ekstrak 50 ppm**

$$V_1.M_1 = V_2.M_2$$

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

$$V_1 = \frac{500 \text{ mL}}{10000}$$

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

$$= 50 \mu\text{L}$$

Jadi, larutan ekstrak 50 ppm dibuat dengan 50  $\mu\text{L}$  larutan stok yang



dilarutkan dalam 10 mL air laut.

**g. Pembuatan larutan ekstrak 25 ppm**

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

$$V_1 \cdot 10000 \text{ ppm} = 10 \text{ mL} \times 25 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{250 \text{ mL}}{10000}$$

$$V_1 = 0,025 \text{ mL}$$

$$= 25 \text{ } \mu\text{L}$$

Jadi, larutan ekstrak 25 ppm dibuat dengan 25  $\mu\text{L}$  larutan stok yang dilarutkan dalam 10 mL air laut.



### LAMPIRAN 3. Uji Kadar Garam

#### Uji Kadar Garam

Sampel	Kadar garam (‰)					Rata-rata (‰)
	UL 1	UL 2	UL 3	UL 4	UL 5	
Teripang pasir	23	23	24	24	23	23,4

Berat teripang = 300 gr

Volume pelarut = 1800 mL = 1,8 L

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar Garam dalam sampel (‰)} &= \frac{UL\ 1 + UL\ 2 + UL\ 3 + UL\ 4 + UL\ 5}{\text{Jumlah UL}} \\
 &= \frac{117}{5} \\
 &= 23,4\ ‰
 \end{aligned}$$

#### LAMPIRAN 4 . Data Pengukuran Kadar Air Sampel Teripang

Tabel L.4.1 Kadar air sampel teripang

Sampel	Cawan (gr)	Sampel (gr)	Cawan + Sampel stlh dioven (gr)	Kadar Air terkoreksi (%)	Rata-rata Kadar air (%)
Ulangan I	22,739	5,018	27,441	5,12	
Ulangan II	22,743	5,029	27,435	5,04	5,3 %
Ulangan III	22,738	5,013	27,405	5,77	

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

Keterangan:  $a$  = berat konstan cawan kosong

$b$  = berat cawan + sampel sebelum dikeringkan

$c$  = berat konstan cawan + sampel setelah dikeringkan

$$\text{Faktor Koreksi} = \frac{100}{100 - \% \text{ kadar air}}$$

Kadar Air Terkoreksi = Kadar Air – Faktor Koreksi

##### Ulangan I

$$\begin{aligned} \text{Kadar Air} &= \frac{27,757 \text{ g} - 27,441 \text{ g}}{27,757 \text{ g} - 22,739 \text{ g}} \times 100 \% \\ &= \frac{0,316 \text{ g}}{5,018 \text{ g}} \times 100 \% \\ &= 6,2 \% \end{aligned}$$

$$\text{Faktor koreksi} = \frac{100}{100 - 6,2} = 1,075$$

$$\text{Kadar Air Terkoreksi} = 6,2 \% - 1,075 \% = 5,12 \%$$

**Ulangan II**

$$\begin{aligned} \text{Kadar Air} &= \frac{27,742 \text{ g} - 27,435 \text{ g}}{27,742 \text{ g} - 22,743 \text{ g}} \times 100 \% \\ &= \frac{0,307 \text{ g}}{5,029 \text{ g}} \times 100 \% \\ &= 6,1 \% \end{aligned}$$

$$\text{Faktor koreksi} = \frac{100}{100 - 6,1} = 1,06$$

$$\text{Kadar Air Terkoreksi} = 6,1 \% - 1,06 \% = 5,04 \%$$

**Ulangan III**

$$\begin{aligned} \text{Kadar Air} &= \frac{27,748 \text{ g} - 27,405 \text{ g}}{27,748 \text{ g} - 22,738 \text{ g}} \times 100 \% \\ &= \frac{0,343 \text{ g}}{5,01 \text{ g}} \times 100 \% \\ &= 6,84 \% \end{aligned}$$

$$\text{Faktor koreksi} = \frac{100}{100 - 6,84} = 1,07$$

$$\text{Kadar Air Terkoreksi} = 6,84 \% - 1,07 \% = 5,77 \%$$

## LAMPIRAN 5. EKSTRAKSI

### Perhitungan Rendemen

- ❖ Rendemen Ekstrak Metanol

Berat botol kosong = 16,501

Berat botol + ekstrak = 30,4608

$$\begin{aligned} \text{Berat ekstrak} &= (\text{Berat ekstrak} + \text{Berat botol kosong}) - \text{Berat botol kosong} \\ &= 30,4608 - 16,501 \\ &= 13,9598 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak pekat}}{\text{berat sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{13,9598 \text{ gr}}{100 \text{ gr}} \times 100\% \\ &= 13,95 \% \text{ (b/b)} \end{aligned}$$

- ❖ Rendemen Ekstrak n- heksana

Berat botol kosong = 17,4431

Berat botol + ekstrak = 19,4252

$$\begin{aligned} \text{Berat ekstrak} &= (\text{Berat ekstrak} + \text{Berat botol kosong}) - \text{Berat botol kosong} \\ &= 19,4252 - 17,4431 \\ &= 1,9821 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak pekat}}{\text{berat sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{1,9821 \text{ gr}}{100 \text{ gr}} \times 100\% \\ &= 1,98 \% \text{ (b/b)} \end{aligned}$$

## LAMPIRAN 6. UJI TOKSISITAS

### 1. Data Uji Toksisitas Ekstrak Metanol

No.	Konsentrasi (ppm)	Jumlah Larva udang yang mati			Modus
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
1	0	0	0	0	0
2	25	5	5	4	5
3	50	6	3	6	6
4	100	6	6	4	6
5	150	7	7	4	7
6	250	7	8	7	7
7	500	9	9	9	9

Keterangan :

Modus : Nilai yang sering muncul (larva udang yang mati)

No.	Konsentrasi (ppm)	Jumlah Larva uji	Larva uji yang mati	% Mortalitas	Mortalitas
1	0	30	0	0	0
2	25	30	5	50	15
3	50	30	6	60	18
4	100	30	6	60	18
5	150	30	7	70	21
6	250	30	7	70	21
7	500	30	9	90	27

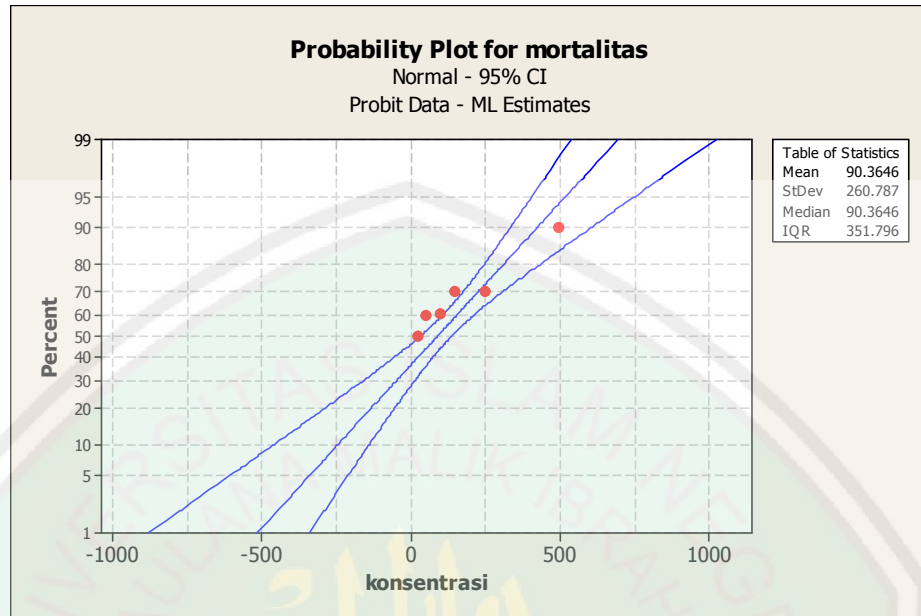
Keterangan:

$$\% \text{ Mortalitas} : \frac{T - K}{10} \times 100\%$$

Dengan, T = jumlah larva uji yang mati

K= jumlah larva kontrol yang mati (Konsentrasi 0 ppm)

Mortalitas : % Mortalitas x Jumlah hewan uji



Gambar L.5.1 Grafik Uji Toksisitas (LC<sub>50</sub>) Ekstrak Metanol

22-Feb 23:32:17

Welcome to Minitab, press F1 for help.

**Probit Analysis: mortalitas, jumlah hewan versus konsentrasi**

Distribution: Normal

Response Information

Variable	Value	Count
mortalitas	Event	120
	Non-event	90
jumlah hewan	Total	210

Estimation Method: Maximum Likelihood

Regression Table

Variable	Coef	Standard Error	Z	P
Constant	-0.346508	0.126758	-2.73	0.006
konsentrasi	0.0038346	0.0007072	5.42	0.000
Natural Response	0			

Log-Likelihood = -125.032

Goodness-of-Fit Tests

Method	Chi-Square	DF	P
Pearson	25.0650	5	0.000
Deviance	34.9044	5	0.000

Tolerance Distribution

Parameter Estimates

Parameter	Estimate	Standard Error	95.0% Normal CI	
			Lower	Upper
Mean	90.3646	24.8012	41.7552	138.974
StDev	260.787	48.0971	181.676	374.346

Table of Percentiles

Percent	Percentile	Standard Error	95.0% Fiducial CI	
			Lower	Upper
1	-516.316	120.319	-882.947	-341.835
2	-445.226	107.505	-772.197	-289.035
3	-400.121	99.4145	-702.008	-255.456
4	-366.191	93.3552	-649.261	-230.143
5	-338.591	88.4467	-606.395	-209.512
6	-315.100	84.2858	-569.943	-191.918
7	-294.502	80.6524	-538.012	-176.463
8	-276.059	77.4126	-509.448	-162.597
9	-259.286	74.4786	-483.496	-149.962
10	-243.847	71.7898	-459.630	-138.307
20	-129.119	52.3375	-283.353	-50.6396
30	-46.3921	39.4180	-158.514	14.8441
40	24.2950	30.1618	-55.6350	74.5887
50	90.3646	24.8012	33.1138	137.840
60	156.434	24.8481	109.001	213.953
70	227.121	30.8015	176.172	309.406
80	309.848	42.0496	245.198	430.703
90	424.576	60.6229	334.659	605.186
91	440.016	63.2466	346.445	628.921
92	456.789	66.1178	359.206	654.748
93	475.231	69.2970	373.193	683.190
94	495.829	72.8713	388.767	715.003
95	519.321	76.9741	406.477	751.339
96	546.920	81.8247	427.223	794.089
97	580.851	87.8250	452.653	846.719
98	625.955	95.8524	486.357	916.783
99	697.045	108.594	539.302	1027.39



## 2. Data Uji Toksisitas Ekstrak n- heksana

No.	Konsentrasi (ppm)	Jumlah Larva udang yang mati			Modus
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
1	0	0	0	0	0
2	25	3	1	3	3
3	50	4	1	4	4
4	100	6	6	4	6
5	150	6	6	6	6
6	250	7	5	7	7
7	500	8	8	5	8

Keterangan :

Modus : Nilai yang sering muncul (larva udang yang mati)

No.	Konsentrasi (ppm)	Jumlah Larva uji	Larva uji yang mati	% Mortalitas	Mortalitas
1	0	30	0	0	0
2	25	30	3	30	9
3	50	30	4	40	12
4	100	30	6	60	18
5	150	30	6	60	18
6	250	30	7	70	21
7	500	30	8	80	24

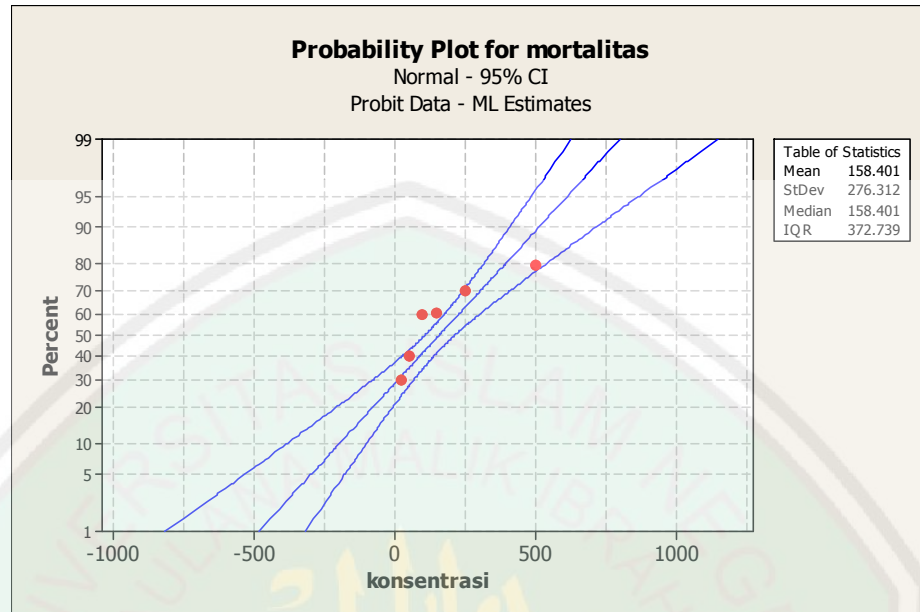
Keterangan:

$$\% \text{ Mortalitas} : \frac{T - K}{10} \times 100\%$$

Dengan, T = jumlah larva uji yang mati

K= jumlah larva kontrol yang mati (Konsentrasi 0 ppm)

Mortalitas : % Mortalitas x Jumlah hewan uji



Gambar L.5.2 Grafik Uji Toksisitas ( $LC_{50}$ ) Ekstrak n- heksana

22-Feb 23:43:22

Welcome to Minitab, press F1 for help.

### Probit Analysis: mortalitas, jumlah hewan versus konsentrasi

Distribution: Normal

Response Information

Variable	Value	Count
mortalitas	Event	102
	Non-event	108
jumlah hewan	Total	210

Estimation Method: Maximum Likelihood

Regression Table

Variable	Coef	Standard Error	Z	P
Constant	-0.573270	0.127613	-4.49	0.000
konsentrasi	0.0036191	0.0006325	5.72	0.000

Natural

Response 0

Log-Likelihood = -126.628

Goodness-of-Fit Tests

Method	Chi-Square	DF	P
Pearson	21.1806	5	0.001
Deviance	28.7855	5	0.000

Tolerance Distribution

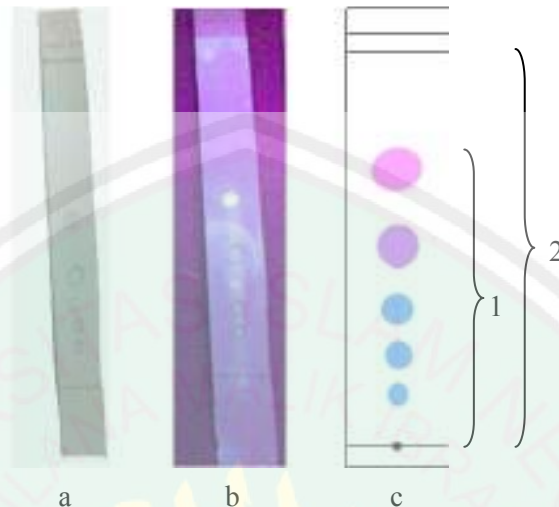
Parameter Estimates

Parameter	Estimate	Standard Error	95.0% Normal CI	
			Lower	Upper
Mean	158.401	25.4960	108.430	208.372
StDev	276.312	48.2937	196.167	389.199

## Table of Percentiles

Percent	Percentile	Standard Error	95.0% Fiducial CI	
			Lower	Upper
1	-484.396	112.113	-815.683	-319.271
2	-409.074	99.3322	-701.871	-262.411
3	-361.284	91.2799	-629.772	-226.222
4	-325.334	85.2606	-575.611	-198.924
5	-296.091	80.3942	-531.615	-176.659
6	-271.201	76.2772	-494.217	-157.658
7	-249.377	72.6899	-461.472	-140.953
8	-229.837	69.4984	-432.193	-125.955
9	-212.065	66.6151	-405.604	-112.276
10	-195.707	63.9794	-381.165	-99.6471
20	-74.1487	45.2527	-201.312	-4.06221
30	13.5031	33.6599	-75.6044	68.8405
40	88.3984	26.8925	24.9418	138.000
50	158.401	25.4960	107.538	214.023
60	228.404	29.6020	177.239	302.941
70	303.299	38.0766	242.612	407.273
80	390.951	50.5599	313.639	534.856
90	512.509	69.7687	408.243	715.691
91	528.868	72.4406	420.799	740.202
92	546.639	75.3588	434.408	766.861
93	566.180	78.5842	449.338	796.208
94	588.003	82.2046	465.977	829.019
95	612.894	86.3541	484.913	866.482
96	642.136	91.2531	507.113	910.543
97	678.087	97.3057	534.346	964.770
98	725.876	105.393	570.464	1036.94
99	801.198	118.215	627.242	1150.83

### LAMPIRAN 7. Hasil Identifikasi Senyawa Triterpenoid dengan KLT



Gambar L.8 Hasil Pemisahan senyawa Triterpenoid dengan KLT  
(Keterangan; 1: Jarak yang ditempuh senyawa; 2: Jarak yang ditempuh eluen)

#### Perhitungan Nilai Rf

Eluen n-butanol : amoniak (6 : 2)

$$\text{Nilai Rf} = \frac{\text{Jarak yang ditempuh senyawa}}{\text{Jarak yang ditempuh eluen}}$$

Jarak elusi = 8 cm

✓ Spot 1 = 0,15 cm

$$\text{Nilai Rf} = \frac{1,2}{8}$$

✓ Spot 2 = 0,19 cm

$$\text{Nilai Rf} = \frac{1,52}{8}$$

✓ Spot 3 = 0,31 cm

$$\text{Nilai Rf} = \frac{2,48}{8}$$

✓ Spot 4 = 0,51 cm

$$\text{Nilai Rf} = \frac{4,12}{8}$$

✓ Spot 5 = 0,67 cm

$$\text{Nilai Rf} = \frac{5,43}{8}$$

## LAMPIRAN 8 DOKUMENTASI

### 1. Uji Kadar Air



Pengovenan sampel



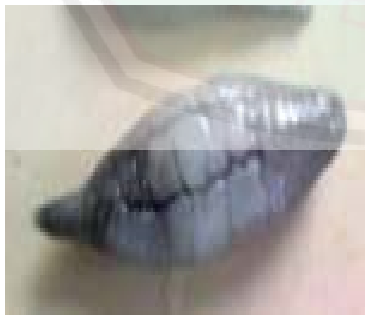
Penimbangan sampel

### 2. Uji Kadar Garam



salinometer Atago PAL-06S  
refraktometer

### 3. Preparasi Sampel



Teripang pasir segar



Sampel diblender

#### 4. Ekstraksi



Proses Ekstarksi maserasi  
dengan pelarut metanol  
dan n-heksana

Ekstrak kasar metanol  
dan n-heksana setelah  
disaring



Ekstrak Pekat n-heksana  
(gelap) dan Ekstak pekat  
Metanol (Kuning)

#### 5. Uji Toksisitas



Penetasan Larva Udang  
Artemia Salina Leach



Uji Toksisitas dengan  
Ekstarak metanol dan n-  
heksana

## 6. Uji Fitokimia

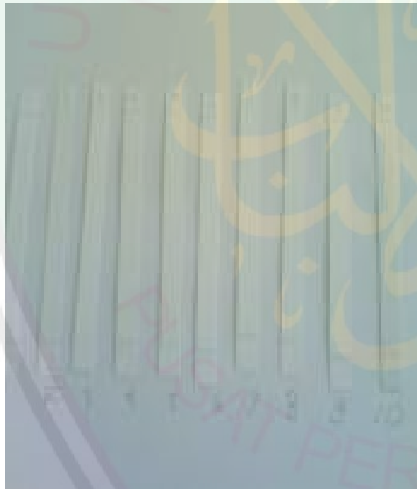


Uji Triterpenoid (+)



Uji Saponin (-)

## 7. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)



Plat KLT setelah dielusi



Hasil KLT dibawah sinar  
UV dengan  $\lambda$  366 nm