

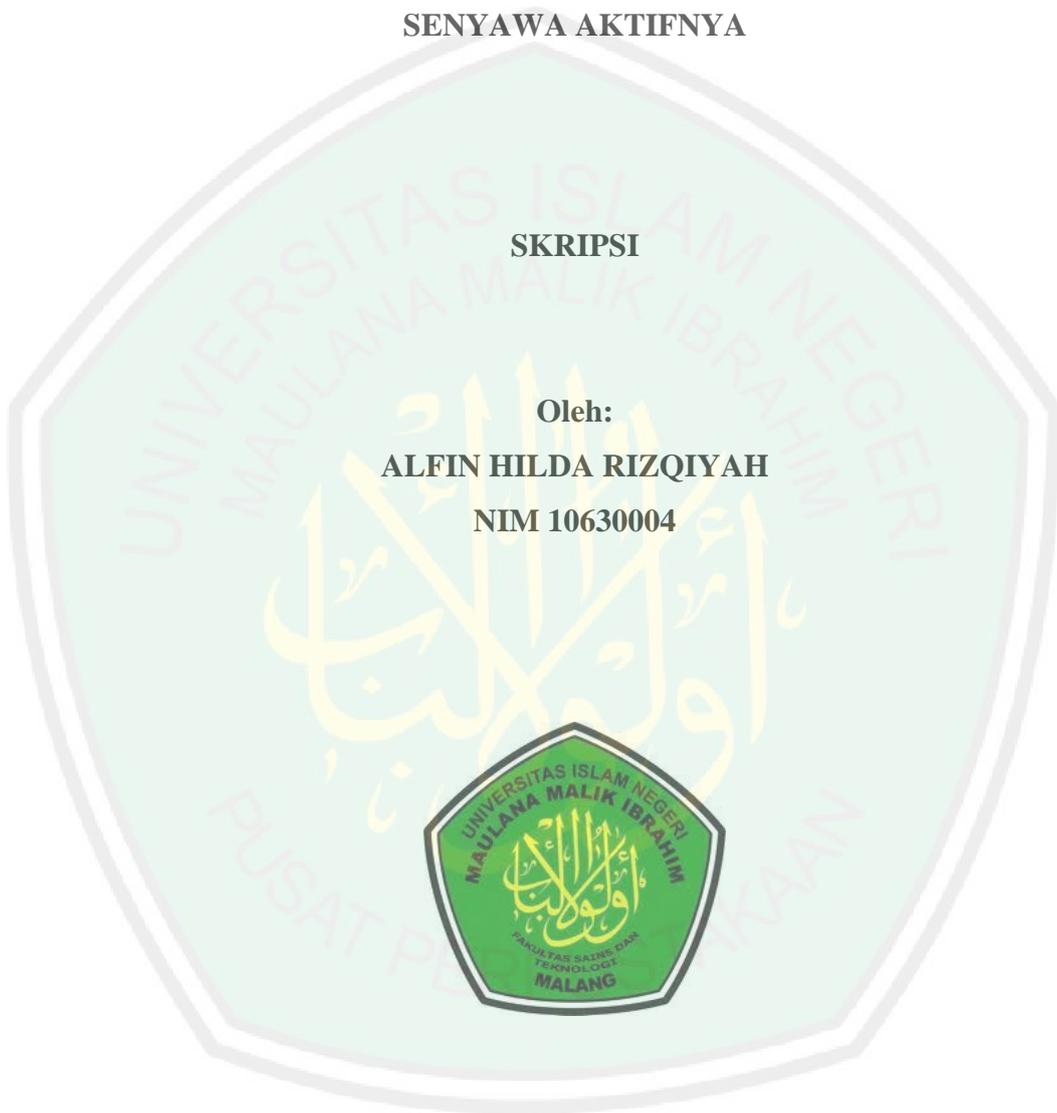
**UJI SITOTOKSIK AKAR RUMPUT BAMBU  
(*Lophatherum gracile B.*) DENGAN VARIASI PELARUT MELALUI  
METODE BSLT DAN IDENTIFIKASI GOLONGAN  
SENYAWA AKTIFNYA**

**SKRIPSI**

Oleh:

**ALFIN HILDA RIZQIYAH**

**NIM 10630004**



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

**2014**

**UJI SITOTOKSIK AKAR RUMPUT BAMBU  
(*Lophatherum gracile* B.) DENGAN VARIASI PELARUT MELALUI  
METODE BSLT DAN IDENTIFIKASI GOLONGAN  
SENYAWA AKTIFNYA**

**SKRIPSI**

**Diajukan Kepada:**

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

**Oleh:**

**ALFIN HILDA RIZQIYAH  
NIM. 10630004**

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

**UJI SITOTOKSIK AKAR RUMPUT BAMBU  
(*Lophatherum gracile* B.) DENGAN VARIASI PELARUT MELALUI  
METODE BSLT DAN IDENTIFIKASI GOLONGAN  
SENYAWA AKTIFNYA**

**SKRIPSI**

**Oleh:**

**ALFIN HILDA RIZQIYAH  
NIM. 10630004**

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:  
Tanggal: 9 Juni 2014

Pembimbing I

Pembimbing II

Elok Kamilah Hayati, M.Si  
NIP. 19790620 200604 2002

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 SITOTOKSIK AKAR RUMPUT BAMBU  
(*Lophatherum gracile* B.) DENGAN VARIASI PELARUT MELALUI  
METODE BSLT DAN IDENTIFIKASI GOLONGAN  
SENYAWA AKTIFNYA**

**SKRIPSI**

**Oleh:**

**ALFIN HILDA RIZQIYAH  
NIM. 10630004**

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

Tanggal: 9 Juni 2014

Penguji Utama	: SuciAmalia, M.Sc NIP. 19821104 200901 2 007	( ..... )
Ketua Penguji	: Akyunul Jannah, MP NIP. 19750410 200501 2 009	( ..... )
Sekretaris Penguji	: Elok Kamilah Hayati, M.Si NIP. 19790620 200604 2 002	( ..... )
Anggota Penguji	: Dr. Munirul Abidin, M.Ag NIP. 19720420 200212 1 003	( ..... )

Mengesahkan,  
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

## LEMBAR PERSEMBAHAN

*Alhamdulillahirobbil'alamiin*

Sungguh.. atas kehendak Allah semua ini terwujud, tiada kekuatan kecuali dengan pertolongan Allah. Dengan senantiasa memanjatkan puji syukur atas rahmat dan ridho Allah *SWT* beserta Nabi Muhammad *SAW* sehingga karya ini dapat terselesaikan dan semoga bermanfaat bagi sesama. *Amiin..*

*Ku Persembahkan Buah Karya Ini Untuk;*

*Ayah dan Ibu.. Terimah kasih atas ketulusan engkau.. yang telah sabar memberi kasih sayang tiada batas untukku. Kenakalan, kelalaian, kesalahan, telah sangat banyak ku lakukan. Namun selalu senyum tulus yang engkau berikan serta lantunan do'a malam yang selalu engkau panjatkan untuk ku..*

*Rasanya beribu maaf dariku tak kan cukup untuk semua khilaf itu Lembaran-lembaran ini.. bagian kecil bukti kasihku untuk engkau. Semua ini takkan pernah terwujud tanpa kehebatan dari cahaya kasih sayang engkau I love U.. Ayah -Ibu...*

*Untuk kakakku yang hebat, terimahkasih atas nasehat yang telah engkau berikan.. dan untuk seseorang yang terlahir dengan nama M. Ichya'Uddin terimahkasih sudah mengisi ruang di kehidupanku menjadi penyemangat, pelipur lara, dan pelangi dengan warna-warni yang begitu indah..*

*Tak lupa.. terimahkasih ku ucapkan kepada sahabat-sahabatku (Miftah, fidho, dan desy) dan teman-teman seperjuanganku (selina, kholida, selvi, fina, aiminudin, very, aris, riski, laila, khoir, dll dalam perjuangan penelitian). Kakaku yang cerewet (hesty). Teman-teman PPP. AlSikamah Al-Fathimiyyah terspesial dan tercinta "kamar H" dengan semangat kalian aku bisa melihat dunia lebih bermakna..*



Chemistry 2010 love you all

## **MOTTO**

**خَيْرُ النَّاسِ أَنْفَعُهُمُ لِلنَّاسِ**

**SEBAIK-BAIK MANUSIA ADALAH YANG BERMANFAAT BAGI MANUSIA LAINNYA  
(HR. THABRANI DAN DARUQUTHNI)**

**“JANGANLAH SEKALI-KALI KAMU MEREMEHKAN KEBAIKAN SEDIKITPUN.  
MESKIPUN HANYA DENGAN WAJAH BERSERI SAAT BERTEMU DENGAN  
SAUDARAMU”**

**(HR. MUSLIM DARI ABU DZAR Ra.)**

**SURAT PERNYATAAN  
ORISINALITAS PENELITIAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Alfin Hilda Rizqiyah

NIM : 10630004

Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/Kimia

Judul Penelitian : Uji Sitotoksik Akar Rumpun Bambu (*Lophatherum Gracile*  
*B.*) dengan Variasi Pelarut Melalui Metode BSLT dan  
Identifikasi Golongan Senyawa Aktifnya.

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, 25 Juni 2014

Yang Membuat Pernyataan,

Alfin Hilda Rizqiyah

NIM. 10630004

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah Maha Besar Allah SWT. segala puji syukur ke hadirat Allah Swt. yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi dengan judul **“Uji Sitotoksik Akar Rumput Bambu (*Lophatherum gracile B.*) Dengan Variasi Pelarut Melalui Metode Bslt Dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktifnya”**.

Shalawat serta salam semoga senantiasa tercurahkan kepada guru besar kita, Rasulullah SAW beserta keluarga, para sahabat, dan pengikutnya yang istiqomah hingga akhir zaman. Skripsi ini merupakan salah satu syarat menyelesaikan program S-1 (Strata-1) di Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

Tersusunnya skripsi ini tidak lepas dari bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, baik secara langsung maupun tidak langsung. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih terutama kepada:

1. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si, selaku Pembimbing.
2. Ibu Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt, selaku Konsultan.
3. Bapak Dr. H.Munirul Abidin, M.Ag, selaku Pembimbing Agama.
4. Ibu Suci Amalia, M.Sc, selaku Penguji Utama.
5. Ibu Akyunul Jannah, S.Si., MP, selaku Ketua Penguji.

Atas bimbingan, pengarahan, dan nasehat serta segala bantuannya kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini. Penulisan skripsi ini tidak luput dari bantuan semua pihak, baik secara langsung maupun tidak langsung. Oleh karena

itu, penulis dengan penuh kesungguhan dan kerendahan hati, menghaturkan terima kasih kepada:

1. Ayah dan Ibu tercinta, yang telah membesarkan, mendidik, merawat dan senantiasa mencurahkan segalanya baik tenaga, dukungan maupun iringan do'a dengan penuh ketulusan.
2. Bapak Prof. Dr. Mudjia Rahardjo, M. Si, selaku Rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Bayyinatul Muchtaromah, drh. M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si selaku Ketua Jurusan Kimia, UIN Maliki Malang yang telah memberikan arahan dan nasehat kepada penulis.
5. Para Dosen Pengajar di Jurusan Kimia yang telah memberikan bimbingan dan membagi ilmunya kepada penulis selama berada di UIN Maliki Malang.
6. Seluruh staf Laboratorium dan Administrasi Jurusan Kimia atas seluruh bantuan dan sumbangan pemikiran selama penyelesaian skripsi ini.
7. Teman-teman angkatan 2010 yang telah berbagi kebersamaannya selama ini dalam senang maupun susah sehingga tetap terjaga persaudaraan kita.
8. Kakak-kakak dan adik-adik keluarga besar kimia tetap semangat dan terus semangat, tidak ada kesulitan yang tak dapat diatasi. Semoga ilmu kita dapat bermanfaat untuk masyarakat.
9. Ibu Syafi' dan Abah Yahya selaku pengasuh Pondok Pesantren Al-Hikmah Al-Fathimiyyah yang telah memberikan dukungan dan do'a.

10. Teman-teman AHAF kamar H yang telah berbagi kebersamaannya selama ini dalam senang maupun susah sehingga tetap terjaga persaudaraan kita.
11. Semua rekan-rekan dan semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu atas segala bantuannya kepada penulis.

Penulis menyadari adanya kekurangan dan keterbatasan dalam skripsi ini. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun dari semua pihak demi penyempurnaan skripsi ini. Akhir kata, penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Malang, 4 April 2014

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL</b>	
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>i</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>iv</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>vii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>viii</b>
<b>DAFTAR PERSAMAAN</b> .....	<b>ix</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>x</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>xi</b>
<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 Pemanfaatan Tanaman dalam Perspektif Islam .....	9
2.2 Rumpun bambu ( <i>Lophaterum gracile Brogn</i> ) .....	12
2.3 Kandungan Kimia Rumpun bambu ( <i>Lophaterum gracile Brogn</i> ).....	14
2.4 Larva Udang <i>Artemia salina</i> Leach .....	15
2.5 Uji Sitotoksik dengan Metode BSLT .....	17
2.6 Metode Pemisahan .....	21
2.6.1 Ekstraksi Senyawa Aktif .....	21
2.6.1.1 Ekstraksi.....	21
2.6.1.2 Maserasi (Padat-Cair).....	21
2.6.2 Identifikasi Senyawa Aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis .....	23
2.7 Senyawa Kimia Metabolit Sekunder pada Tanaman .....	27
2.7.1 Alkaloid .....	27
2.7.2 Flavonoid .....	30
2.7.3 Triterpenoid.....	33
2.7.4 Steroid .....	37
2.7.5 Saponin.....	39
2.7.6 Tanin .....	41
2.7.6.1 Tanin Terkondensasi .....	42
2.7.6.2 Terhidrolisis .....	42
2.8 Analisis Probit.....	44
<b>BAB III METODE PENELITIAN</b> .....	<b>46</b>
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	46
3.2 Alat dan Bahan Penelitian .....	46
3.2.1 Alat.....	46
3.2.1.1 Preparasi Sampel Analisis Kadar Air .....	46
3.2.1.2 Analisis Kadar Air .....	46

3.2.1.3 Ekstraksi Senyawa Aktif dengan Maserasi .....	46
3.2.1.4 Uji Sitotoksik dengan BSLT .....	47
3.2.1.5 Uji Fitokimia .....	47
3.2.1.6 Pemisahan Ekstrak Aktif dengan KLT .....	47
3.2.2 Bahan .....	47
3.2.2.1 Ekstraksi Senyawa Aktif dengan Maserasi .....	47
3.2.2.2 Uji Sitoksisitas dengan BSLT .....	47
3.2.2.3 Uji Fitokimia .....	48
3.3 Rancangan Penelitian .....	48
3.4 Tahapan Penelitian .....	50
3.5 Pelaksanaan Penelitian .....	50
3.5.1 Persiapan Sampel .....	50
3.5.2 Analisis Kadar Air .....	51
3.5.3 Ekstraksi Senyawa aktif dengan Maserasi .....	51
3.5.4 Uji Sitotoksik dengan Larva Udang <i>Artemia salina</i> Leach .....	52
3.5.4.1 Penetasan Telur .....	52
3.5.4.2 Uji Sitotoksik .....	53
3.5.5 Uji Fitokimia dengan Uji Reagen .....	54
3.5.5.1 Uji Alkaloid .....	55
3.5.5.2 Uji Flavonoid .....	55
3.5.5.3 Uji Triterpenoid dan Steroid .....	56
3.5.5.4 Uji Saponin .....	56
3.5.5.4 Uji Tanin .....	56
3.5.5.4.1 Uji dengan $FeCl_3$ .....	56
3.5.5.4.2 Uji dengan Larutan Gelatin .....	57
3.5.6 Uji Senyawa Aktif dengan KLT .....	57
3.6 Analisis Data .....	61
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>62</b>
4.1 Determinasi Tanaman .....	62
4.2 Preparasi Sampel .....	63
4.3 Analisis Kadar Air .....	63
4.4 Ekstraksi Maserasi .....	65
4.5 Uji Sitotoksik Terhadap Hewan Uji <i>Artemia salina</i> Leach. ....	67
4.6 Uji Kandungan Golongan Senyawa Aktif dengan Reagen .....	74
4.6.1 Steroid .....	77
4.7 Pemisahan Senyawa Aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Analitik (KLTA) .....	79
4.8 Pemanfaatan Akar Rumput Bambu dalam Perspektif Agama Islam .....	84
<b>BAB V PENUTUP .....</b>	<b>91</b>
5.1 Kesimpulan .....	91
5.2 Saran .....	91
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>92</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>101</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Deret eluotropik berdasarkan efek elusi.....	24
Tabel 4.1 Kadar Air Akar Rumput Bambu ( <i>Lophatherum gracile</i> B.).....	64
Tabel 4.2 Penggunaan Pelarut pada Ekstraksi Maserasi .....	66
Tabel 4.3 Hasil Maserasi Ekstrak Pekat Akar Rumput Bambu .....	67
Tabel 4.4 Nilai LC <sub>50</sub> Masing-masing Ekstrak Akar Rumput Bambu .....	72
Tabel 4.5 Hasil Uji Kandungan senyawa metabolit Sekunder.....	75
Tabel 4.6 Data Penampakan Noda Senyawa Steroid dari 5 Variasi Eluen .....	80
Tabel 4.7 Data Penampakan Noda Senyawa Steroid Eluen Terbaik .....	82



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Rumput Bambu ( <i>Lophaterum gracile</i> Brong).....	13
Gambar 2.2 Larva Udang <i>Artemia salina</i> Leach .....	16
Gambar 2.3 Struktur Senyawa Alkaloid .....	27
Gambar 2.4 Contoh Perkiraan Reaksi Alkaloid Uji Meyer .....	28
Gambar 2.5 Contoh Perkiraan Reaksi Alkaloid Uji Dragendroff .....	28
Gambar 2.6 Struktur Inti Senyawa Flavonoid .....	31
Gambar 2.7 Contoh Struktur Senyawa Triterpenoid.....	34
Gambar 2.8 Contoh Dugaan Reaksi Pembentukan Triterpenoid.....	34
Gambar 2.9 Contoh Struktur Inti Steroid.....	37
Gambar 2.10 Struktur Inti Senyawa Saponin.....	29
Gambar 2.11 Contoh Reaksi Hidrolisi Saponin Dalam Air.....	40
Gambar 2.12 Contoh Struktur Senyawa Tanin .....	42
Gambar 2.13 Contoh Pembentukan Reaksi Tanin Dengan Gelatin.....	43
Gambar 4.1 Rumput Bambu ( <i>Lophaterum gracile</i> Brong).....	62
Gambar 4.2 Kurva Mortalitas Pada Ekstrak Kasar N-Heksana .....	69
Gambar 4.3 Kurva Mortalitas Pada Ekstrak Kasar Kloroform .....	70
Gambar 4.4 Kurva Mortalitas Pada Ekstrak Kasar Etanol 80% .....	70
Gambar 4.5 Reaksi Steroid dengan reagen Liebermenn-Burchard.....	78
Gambar 4.6 Hasil Penampakan Noda Senyawa Steroid Ekstrak Kloroform....	81

## DAFTAR PERSAMAAN

Persamaan 2.1 Harga Rf .....	26
Persamaan 2.2 Rumus Persentase Larva.....	44
Persamaan 2.3 Persamaan Garis Angka Probit .....	44
Persamaan 3.1 Kadar Air .....	51
Persamaan 3.2 Faktor Koreksi .....	51
Persamaan 3.3 Rumus Persentase Mortalitas.....	54



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Diagram Alir Penelitian .....	101
Lampiran 2. Skema Kerja .....	102
Lampiran 3. Perhitungan dan Pembuatan Reagen dan Larutan .....	108
Lampiran 4. Perhitungan Konsentrasi Larutan Uji Sitotoksik.....	112
Lampiran 5. Alokasi Waktu Penelitian .....	116
Lampiran 6. Perhitungan Kadar Air.....	117
Lampiran 7. Perhitungan Rendemen.....	123
Lampiran 8. Perhitungan Manual LC <sub>50</sub> Ekstrak Akar Rumput Bambu .....	124
Lampiran 9. Analisis Probit LC <sub>50</sub> .....	129
Lampiran 10. Dokumentasi Penelitian .....	135



## ABSTRAK

Rizqiyah, A. H. 2014. **Uji Sitotoksik Ekstrak Akar Rumput Bambu (*Lophatherum gracile* B) Dengan Variasi Pelarut Melalui Metode BSLT dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktifnya**. Skripsi. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing 1: Elok Kamilah Hayati, M.Si; Pembimbing Agama: Dr. H. Munirul Abidin, M. Ag; Konsultan: Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt

---

**Kata Kunci:** Akar rumput bambu (*Lophatherum gracile* B), sitotoksik, *Artemia salina* Leach, uji reagen, KLTA

Rumput bambu (*Lophatherum gracile* B) merupakan tanaman gulma yang diduga memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder steroid, sehingga berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai tanaman obat herbal. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui tingkat sitotoksik ekstrak kasar akar rumput bambu (*Lophatherum gracile* B.) terhadap larva udang *Artemia salina* Leach dengan nilai LC<sub>50</sub> dan kandungan golongan senyawa ekstrak akar rumput bambu yang mempunyai tingkat sitotoksik yang tertinggi. Sehingga penelitian ini dapat meningkatkan nilai guna dari tanaman gulma.

Metode perolehan ekstrak kasar yang digunakan adalah ekstraksi maserasi bertingkat dengan pelarut n-heksana, kloroform, dan etanol 80%. Ketiga ekstrak diuji bioaktivitasnya menggunakan uji sitotoksik dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) terhadap hewan uji larva udang *Artemia salina* Leach. Tingkat sitotoksik ditunjukkan dengan nilai LC<sub>50</sub> yang diperoleh dari analisis probit. Ketiga ekstrak kasar dilanjutkan dengan uji golongan senyawa menggunakan uji fitokimia dengan reagen. Golongan yang positif dalam uji fitokimia dipisahkan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT), dengan variasi pelarut n-heksana:etil asetat (4,5:0,5), n-heksana:etil asetat (7:3), n-heksana:etil asetat (8:2), n-heksana:etil asetat (6:4) dan n-heksana:aseton (7:3).

Nilai LC<sub>50</sub> ekstrak n-heksana, kloroform, dan etanol 80% berturut-turut adalah 81,61 ppm, 57,31 ppm, dan 88,42 ppm, dari ketiga ekstrak tersebut yang memiliki tingkat sitotoksik tertinggi adalah ekstrak kloroform. Berdasarkan uji fitokimia dan KLT menunjukkan golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak kloroform adalah steroid dengan eluen terbaik n-heksana:aseton (7:3) menghasilkan 7 noda dengan nilai Rf 0,30; 0,45; 0,50; 0,67; 0,72; 0,8; dan 0,96 yang menghasilkan warna noda ungu.

## ABSTRACT

Rizqiyah, A.H. 2014. **Cytotoxic Test of Bamboo Grass Roots Extract (*Lophatherum gracile* B) with Variation of Solvent using BSLT Method and identification of its active Compound.** Thesis. Department of Chemistry Faculty of science and technology State Islamic University of Malang Maulana Malik Ibrahim. adviser 1: Elok Kamilah Hayati, M.Si; religion adviser: Dr. H. Munirul Abidin, M. Ag; consultant: Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt

---

**Keywords:** Bamboo grass roots (*Lophatherum gracile* B), cytotoxic, *Artemia salina* Leach, KLTA

Bamboo grass (*Lophatherum gracile* B) is a weed plant which can live in Indonesia and has known as plant pest with no benefits. This research is aimed to find out the level of cytotoxicity of rough bamboo grass roots (*Lophatherum gracile* b.) extract using LC<sub>50</sub> value of shrimp *Artemia salina* Leach larvae and to identify the active compound of the extract that has highest level of cytotoxicity.

Maceration extraction with variation of solvent (n-hexane, chloroform, and ethanol 80%) was used to obtain the rough extract. The bioactivity of obtained extracts against *Artemia salina* L. larvae was carried out using BSLT method. Cytotoxic levels was determined by LC<sub>50</sub> value which was obtained from probit analysis. Identification of active compound in extracts was performed by using some reagent. Identified compound were separated using thin-layer chromatography (TLC) with variation of eluent (n-hexane: ethyl acetate (0.5: 4.5), n-hexane: ethyl acetate (7: 3), n-hexane: ethyl acetate (8: 2), n-hexane: ethyl acetate (6: 4) and n-hexane: acetone (7: 3))

The highest LC<sub>50</sub> values was rendered by chloroform extract. LC<sub>50</sub> values of n-hexane, chloroform, and 80% ethanol extracts of the sample were 81,61 ppm, 57,31 ppm, and 88,42 ppm, respectively. The active compound in chloroform extract that was identified by reagent and TCL is classified as steroid. Separation using TLC with eluent n-hexane: acetone (7: 3) as the best eluent showed 7 stains with R<sub>f</sub> 0.30; 0.45; 0.50; 0.67; 0.72; 0,8 and 0,96. The color of the stains is purple.

## مستخلص البحث

رزقية ، هجرية ، الساعة ٢٠١٤ . السامة للخلايا اختبار الخيزران العشب الجذر استخراج ( الناحل لوفاتيروم ب) مع وجود اختلافات المذيبات خلال BSLT الطريقة وتحديد مجمع بنشاط المجموعة . البحث . القسم الكيمياء، الكلية العلمية والتكنولوجيا التابعة الجامعة الحكمة الإسلامية مولانا مالك إبراهيم مالانج. المشرف ١: الأنيق كميلى هياتي الماجستير ؛ المشرف الدينية : الدكتاير الحاج منير العابدين الماجستير ؛ المستشار : ربيعة المطيعة الماجستير الشقة

**الكلمات الرئيسية:** جذور العشب الخيزران ( الناحل لوفاتيروم ب) ، السامة للخلايا، الأرتيميا ساليينا يتش، الكواشف الاختبار، KLTA

العشب الخيزران ( الناحل لوفاتيروم ب) ويزعم أن النبات يحتوي على الأعشاب الضارة من المركبات الثانوية المنشطات، وبالتالي يحتمل أن تستخدم النباتات الطبية العشبية. وكان الغرض من هذه الدراسة إلى تحديد مستوى السامة للخلايا استخراج النفط الخام من جذور العشب الخيزران ( الناحل لوفاتيروم ب ) ضد الأرتيميا ساليينا يتش يرقات الجمبري مع القيم LC50 ومحتوى الطبقات من استخراج مركب من الخيزران الشعبية التي لديها أعلى مستويات السامة للخلايا. ذلك أن هذا البحث يمكن أن تزيد من قيمة المحصول إلى الأعشاب الضارة.

تم طبقة استخراج النفط الخام طريقة الشراء التي تستخدمها استخراج النقع المذيبات ن الهكسان، الكلوروفورم، والايثانول ٨٠٪. جميع مقتطفات ثلاثة اختبار النشاط الحيوي باستخدام BSLT طرق الاختبار السامة للخلايا (الماء المالح الروبيان الخطورة اختبار) لاختبار الحيوانات اليرقات الأرتيميا ساليينا الروبيان ليتش. مستويات السامة للخلايا يتبين من القيم LC50 تم الحصول عليها من تحليل الاحتمالية. يتبع استخراج النفط الخام من خلال اختبار ثالث باستخدام مجموعة من المركبات النباتية اختبار مع كاشف. اختبار مجموعة إيجابية في فصل النباتية باستخدام طبقة رقيقة اللوني (TLC) ، مع اختلاف ن الهكسان: خلات الإيثيل (٤،٥:٠،٥)، ن الهكسان: خلات الإيثيل (٧:٣)، ن الهكسان: خلات الإيثيل (٨:٢)، ن الهكسان: خلات الإيثيل (٦:٤) و n - الهكسان: الأستيون (٧:٣) .

القيمة LC50 للاستخراج ن الهكسان، الكلوروفورم، والايثانول ٨٠٪، على التوالي، ٨١.٦١ جزء من المليون، ٥٧.٣١ جزء من المليون، و ٨٨.٤٢ جزء في المليون، من مقتطفات الثلاث التي لديها أعلى مستويات السامة للخلايا استخراج الكلوروفورم. على أساس الاختبار الكيمائي النباتي و TLC أظهرت أن هذا الصنف من المركبات الواردة في مستخرج الكلوروفورم هو أفضل الستيرويد مع الهكسان شاطف: الأستيون (٧:٣) أسفرت عن ٧ نقاط مع القيم بعلي من ٠.٣٠ ؛ ٠.٤٥ ؛ ٠.٥٠ ؛ ٠.٦٧ ؛ ٠.٧٢ ؛ ٠.٨ ؛ ٠.٩٦ والتي تنتج اللون الأرجواني وصمة عار.

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Alam dengan segala isinya ini adalah ciptaan Allah SWT. Semua yang diciptakan di muka bumi ini merupakan tanda-tanda kebesaran dan keagungan Allah SWT, agar makhluk ciptaan-Nya senantiasa tunduk dan patuh kepada-Nya. Sesungguhnya Allah tidak akan menciptakan sesuatu tanpa makna dan arti. Akan tetapi, Allah menciptakan setiap sesuatu dengan hikmah-hikmah tertentu. Sebagaimana yang terkandung dalam hadits berikut (diriwayatkan oleh Ahmad, Ibnu Majah, dan Al-Hakim):

إِنَّ اللَّهَ لَمْ يَنْزِلْ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً، عِلْمَهُ مَنْ عِلِمَهُ وَجَهْلَهُ مَنْ جَهْلَهُ

*“Sesungguhnya Allah tidaklah menurunkan sebuah penyakit melainkan menurunkan pula obatnya. Obat itu diketahui oleh orang yang bisa mengetahuinya dan tidak diketahui oleh orang yang tidak bisa mengetahuinya.”* (HR. Ahmad, Ibnu Majah, dan Al-Hakim) (Fattah, 2010).

Dalam hadist yang diriwayatkan oleh Ahmad, Ibnu Majah, dan Al-Hakim tersebut menunjukkan bahwa betapa adilnya Allah yang telah memberikan suatu penyakit beserta obat penawarnya dan penyakit tersebut akan sembuh dengan seizin Allah. Ungkapan hadist ini memberikan penguatan manusia agar mengambil pelajaran bahwa sesungguhnya Allah SWT telah menciptakan berbagai macam tumbuh-tumbuhan agar manusia berfikir dan mengkaji objek alam natural disekitarnya dan mampu menemukan keajaiban Allah SWT, sebagai upaya untuk menemukan obat-obatan yang berasal dari tanaman, salah satunya

adalah rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) yang diambil manfaatnya sebagai obat antikanker. Sehingga ilmu pengetahuan dapat mengantarkan manusia agar senantiasa tunduk dan patuh kepada-Nya.

Rumput-rumputan dan tumbuhan inilah yang dipandang sangat penting karena sangat erat kaitannya dengan kesehatan secara umum. Efektivitas rumput-rumputan dan tumbuhan alami tersebut dikarenakan adanya kumpulan komposisi yang terdapat pada sel-selnya, seperti pada bagian akar-akar tumbuhan. Akan tetapi, dalam pengobatan tidak mungkin dihasilkan dari satu komposisi dari komposisi tunggal saja. Untuk itu, perlu dilakukan penelitian lebih banyak dari berbagai jenis tumbuhan (Mahmud, 2007).

Salah satu jenis rumput-rumputan yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan pengobatan adalah rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn). Di masyarakat luas khususnya di pulau Jawa, tanaman ini tidak begitu dikenal sebagai tanaman yang memiliki potensi untuk dimanfaatkan sebagai obat herbal. Hal ini dikarenakan pertumbuhannya dianggap sebagai tanaman rumput-rumputan yang tumbuh liar di berbagai tempat seperti semak-semak yang tidak memiliki manfaat. Akan tetapi, akar rumput bambu ini memiliki sifat dan khasiat tersendiri yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan pengobatan dan pencegahan penyakit-penyakit yang mengerikan, seperti antikanker. Hal ini karena pada bagian akar rumput bambu merupakan bagian tubuh tumbuhan yang berfungsi sebagai penyerap sari-sari makanan dan berperan sebagai sistem pertahanan tubuh tumbuhan, sehingga dimungkinkan senyawa metabolit sekunder banyak terdapat pada bagian ini.

Rumput bambu merupakan rumput menahun, tinggi 40-100 cm, tumbuh liar di tempat rindang yang tidak terlalu kering atau basah dari 200-1.500 m dpl. Batang kecil, panjang, berongga, berambut, warna kuning beralur memanjang. Daun bentuk runcing dan pertulangan sejajar. Akar berbentuk serabut dan menyebar dengan penebalan seperti umbi kecil-kecil berbentuk kerucut serta mempunyai rimpang yang menyerupai kayu.

Menurut Wijayakusuma (2005), seluruh tubuh yaitu akar, batang, dan daun rumput bambu banyak mengandung senyawa-senyawa kimia diantaranya triterpenoid, steroid arundoin, cylidrin, friedelin, beta-sitosterol, stigmasterol, campesterol, dan teraxerol, asam amino dan asam lemak. Seluruh bagian tubuh rumput ini memiliki rasa manis, hambar, dan bersifat dingin.

Rumput bambu jenis lain seperti *Pogonatherum Crinitum* merupakan obat herbal tradisional yang telah lama digunakan dalam mengobati penyakit. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak metanol seluruh bagian tanaman ini menghasilkan sembilan macam flavonoid. Menurut analisis dengan menggunakan HPLC memberikan informasi bahwa ekstrak metanol *Pogonatherum Crinitum* mengandung 0,07% (b/b) senyawa 6-C- $\beta$ -boivinopyranoside, 0,04 (b/b) senyawa 6-trans-(2''-O- $\alpha$ -rhamnopyranosyl) ethenyl-5,7,3',4'-tetrahydroxyflavone, 0,78% (b/b) senyawa luteolin, dan 0,06% (b/b) (Wang, 2008).

Hasil skrining fitokimia beberapa rumput-rumputan yang satu famili tanaman *poaceae* dengan rumput bambu seperti rumput Jeriwit (*Paspalum conjugatum*), Bura-bura (*Panicum repens*), Banta (*Leersia hexandra*), dan Keibar (*Biophytum petersianum*) menunjukkan adanya senyawa metabolit sekunder

seperti alkaloid, saponin, tanin, fenolik, flavonoid, triterpenoid, steroid dan glikosida yang terkandung di dalamnya (Darwati, 2011).

Indonesia memiliki banyak tanaman yang dikenal berkhasiat sebagai obat tradisional. Dari berbagai tanaman itu, perlu dilakukan uji khasiat terhadap bahan aktifnya. Metode BSLT dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* L. sebagai hewan uji merupakan salah satu metode yang banyak digunakan untuk pencarian senyawa antikanker baru yang berasal dari tanaman. Hasil uji sitotoksik dengan metode ini telah terbukti memiliki korelasi dengan daya sitotoksik senyawa antikanker. Metode uji potensi hayati BSLT memiliki beberapa keunggulan diantaranya waktu pelaksanaan cepat, biaya relatif murah, cukup akurat, sederhana, tidak memerlukan teknik aseptis, tidak memerlukan peralatan khusus, dan hanya membutuhkan sedikit sampel uji (Meyer *et al.* 1982).

Penelitian Rahmawati, dkk (2010) menunjukkan bahwa tingkat toksisitas destilat minyak atsiri dari akar tanaman Akar Wangi (*Vetiveria zizanoides*) famili *poaceae* dengan pelarut petroleum eter yang diperoleh dari daerah garut (A) dan gunung Kidul (B) terhadap *Artemia salina* L. memiliki nilai  $LC_{50}$  berturut-turut sebesar 96,82 ppm dan 128,23 ppm.

Salah satu upaya untuk mengoptimalkan pemanfaatan bahan metabolit sekunder dari rumput bambu ini dilakukan penelitian lebih mendalam sebagai obat antikanker dengan variasi pelarut pada proses ekstraksi. Ekstraksi dengan pelarut yang berbeda umumnya dapat mengekstrak jenis golongan yang berbeda pula. Pelarut dipilih berdasarkan tingkat kepolaran dengan tujuan diperoleh pelarut terbaik untuk mengekstrak senyawa metabolit sekunder yang memiliki

aktifitas paling tinggi. Sehingga pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah n-heksana (non polar), kloroform (semi polar) dan etanol 80% (polar).

Metode pemisahan pertama dalam penelitian ini menggunakan ekstraksi maserasi, dimana keuntungan metode maserasi biasanya digunakan untuk mengekstrak jaringan tanaman yang belum diketahui kandungan senyawanya yang kemungkinan bersifat tidak tahan panas sehingga kerusakan komponen tersebut dapat dihindari (Harbone, 1996).

Pengujian fitokimia senyawa metabolit sekunder dilakukan dengan uji KLT analitik pada masing-masing ekstrak n-heksana, kloroform dan etanol 80%. Uji fitokimia ini merupakan uji kualitatif kandungan golongan senyawa aktif pada ekstrak tanaman, sehingga dapat diketahui senyawa yang terkandung didalamnya. (Halimah,2010).

Uji sitotoksik merupakan metode skrining awal dengan BSLT untuk memprediksikan keberadaan senyawa sitotoksik yang diduga berkhasiat sebagai obat anti tumor dan anti kanker. Uji lain seperti uji toksisitas dapat pula dilakukan untuk memprediksikan senyawa aktif, akan tetapi dalam uji ini cenderung digunakan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif secara umum, seperti antimikroba, antidiabetes, antibakteri, antitumor, dan lain-lain.

Uji mortalitas sifat sitotoksik suatu senyawa aktif pada ekstrak sampel dilakukan dengan *Lethal concentration 50%* ( $LC_{50}$ ).  $LC_{50}$  adalah suatu nilai yang menunjukkan zat toksik yang dapat mengakibatkan kematian organisme sampai 50%. Nilai kematian 50% per hari ( $LC_{50}$  dalam unit waktu) ditentukan dengan menggunakan persamaan regresi antar log konsentrasi dan mortalitas (%). Suatu

zat dikatakan aktif sebagai senyawa antikanker (sitotoksik) bila nilai  $LC_{50} < 1000$  ppm (Meyer, *et al.*, 1982).

Kandungan senyawa aktif dan bioaktivitasnya juga dipengaruhi oleh jenis tanaman. Tiap bagian tumbuhan mempunyai senyawa aktif yang berbeda, bahkan preparasi sampel pun mempengaruhi kandungan senyawa yang terbentuk yang juga akan mempengaruhi bioaktivitasnya.

Golongan senyawa kimia dalam tanaman yang berkaitan dengan aktivitas antikanker maupun antioksidan antara lain adalah golongan alkaloid, terpenoid, polifenol, flavonoid, dan senyawa resin, sehingga penelitian ini dilakukan untuk mengetahui adanya senyawa metabolit sekunder dan aktifitasnya pada akar rumput bambu. Pemisahan senyawa aktif dalam akar rumput bambu dilakukan dengan metode ekstraksi maserasi menggunakan pelarut yang memiliki perbedaan kepolaran yaitu n-heksan, kloroform, dan etanol 80 %. Hasil ekstrak dari masing-masing pelarut kemudian dilakukan pengujian senyawa aktif terhadap larva udang *Artemia salina* L. dengan metode BSLT. Untuk ekstrak yang memiliki tingkat sitotoksik paling tinggi (nilai  $LC_{50}$  paling rendah), selanjutnya akan dilakukan pengujian kandungan senyawa aktif metabolit sekunder yang terdapat di dalam akar rumput bambu dengan uji reagen dan KLT analitik dengan menggunakan eluen-eluen. Hasil penelitian ini diharapkan akan diketahui ekstrak dan golongan senyawa yang memiliki potensi sitotoksik paling tinggi dari ekstrak akar rumput bambu untuk dilakukan pengujian lebih lanjut. Sehingga dapat meningkatkan nilai guna akar rumput bambu.

## 1.2 Rumusan Masalah

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

1. Berapakah tingkat sitotoksik ekstrak akar rumput bambu terhadap tingkat mortalitas larva udang *Artemia salina* L. berdasarkan variasi pelarut?
2. Golongan senyawa metabolit sekunder apakah yang terdapat pada akar rumput bambu yang memiliki tingkat sitotoksik paling tinggi terhadap larva udang *Artemia salina* L. berdasarkan variasi pelarut?

## 1.3 Tujuan

1. Untuk mengetahui tingkat sitotoksik ekstrak akar rumput bambu terhadap mortalitas larva udang *Artemia salina* L. berdasarkan variasi pelarut.
2. Untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder apakah yang terdapat pada akar rumput bambu yang memiliki tingkat sitotoksik paling tinggi terhadap larva udang *Artemia salina* L. berdasarkan variasi pelarut.

## 1.4 Batasan Masalah

Adapun batasan masalah dalam penelitian ini yaitu:

1. Sampel yang digunakan adalah akar rumput bambu yang diperoleh dari kota Pasuruan.
2. Maserasi dilakukan dengan ekstraksi akar rumput bambu menggunakan variasi pelarut n-heksan, kloroform dan etanol 80 %.

3. Uji sitotoksik senyawa metabolit sekunder dilakukan terhadap larva udang *Artemia salina* L. dengan metode BSLT. Tingkat sitotoksik ditentukan dengan nilai LC<sub>50</sub>.
4. Uji kandungan senyawa metabolit sekunder dengan menggunakan uji reagen dan kromatografi lapis tipis (KLT) analitik.

### 1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat mengenai pemanfaatan akar rumput bambu terhadap kesehatan dengan dosis tertentu, sekaligus memberikan informasi tentang tingkat sitotoksik sediaan herbal akar rumput bambu terhadap larva udang *Artemia salina* L. Sehingga dapat dimanfaatkan di bidang farmakologi dan dapat digunakan sebagai rujukan pada penelitian tahap selanjutnya, serta dapat meningkatkan nilai guna rumput bambu.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Pemanfaatan Tanaman dalam Perspektif Islam

Keunggulan manusia dan kemampuannya dibidang medis terus berlangsung secara berkesinambungan dalam rangka meringankan beban penyakit dan pengobatannya, sehingga lahirlah para ahli pengobatan di masyarakat sekitarnya. Yang demikian ini manusia telah mampu berfikir dan mengkaji objek alam natural disekitarnya dan mampu menemukan keajaiban ciptaan Allah, sebagai upaya menemukan makanan dan obat-obatan serta pakaian yang digunakan mereka. Seperti dalam firman Allah SWT berikut (QS. Luqman: 20)

أَلَمْ تَرَوْا أَنَّ اللَّهَ سَخَّرَ لَكُمْ مَّا فِي السَّمٰوٰتِ وَمَا فِي الْأَرْضِ وَأَسْبَغَ عَلَيْكُمْ نِعْمَهُ  
ظَهْرَةً وَبَاطِنَةً ۗ وَمِنَ النَّاسِ مَن يُجَادِلُ فِي اللَّهِ بِغَيْرِ عِلْمٍ وَلَا هُدًى وَلَا كِتَابٍ

مُنِيرٍ

*“Tidakkah kamu perhatikan Sesungguhnya Allah Telah menundukkan untuk (kepentingan)mu apa yang di langit dan apa yang di bumi dan menyempurnakan untukmu nikmat-Nya lahir dan batin. dan di antara manusia ada yang membantah tentang (keesaan) Allah tanpa ilmu pengetahuan atau petunjuk dan tanpa Kitab yang memberi penerangan” (QS. Luqman [20]: 20).*

Berdasarkan firman Allah dalam surat Luqman ayat 20 tersebut, dapat diketahui bahwa sesungguhnya Allah SWT telah mengingatkan makhluk-Nya kepada semua apa yang ada dapat dijadikan sebagai nikmat oleh mereka di dunia dan di akhirat. Untuk itu Dia menundukkan untuk mereka semua apa yang ada di

langit dan apa yang ada di bumi, sebagaimana Dia menurunkan hujan dari langit yang airnya untuk manusia, hewan, dan pengairan untuk berbagai macam tumbuhan yang dapat dimanfaatkan kegunaanya, dan Allah SWT telah menyempurnakan nikmat-Nya kepada manusia, baik yang tampak maupun yang tidak tampak.

Sesungguhnya Allah telah menciptakan makhluk-Nya di bumi ini yang meliputi penduduk seluruh dunia baik manusia, hewan maupun tumbuhan. Tumbuhan yang memiliki banyak manfaat telah diciptakan Allah SWT cukup banyak agar manusia dapat berfikir ke-Esaan Allah sebagai penguasa dan pencipta alam semesta, sebagaimana firman Allah dalam berikut (QS. asy Syu'araa: 7)

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

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

Berdasarkan ayat tersebut kata كَرِيمٍ antara lain digunakan untuk menggambarkan segala sesuatu yang baik bagi setiap objek yang disifatinya. Tumbuhan yang baik adalah tumbuhan yang bermanfaat. Manfaat tumbuhan salah satunya digunakan sebagai tanaman obat. Sesungguhnya manusia berpotensi untuk mengetahui rahasia alam raya ini dengan memikirkan, mengkajinya dan melakukan penelitian ilmiah, sehingga dapat mengantarkan manusia untuk memanfaatkan tumbuhan di alam ini yang telah ditundukkan oleh Allah (Shibab, 2002).

Seruan kepada manusia agar berfikir tentang penciptaan apa yang ada di bumi dengan berbagai macam manfaatnya, selalu mengharapakan kepada Allah dengan pujian, doa dan *ibtihal* semacam ini. Maka sesudah ia melihat bukti-bukti yang menunjukkan kepada keindahan hikmah, ia pun luas pengetahuannya tentang alam semesta yang menghubungkan antara manusia dengan Tuhannya.

Sebagaimana dalam firman Allah berikut (Q.S Ali ‘Imran ayat 190-191)

إِن فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَأَخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِأُولِي الْأَلْبَابِ  
 الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ  
 السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ

*“Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang, terdapat tandatanda bagi orang-orang yang berakal. (Yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata), ‘ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha Suci Engkau, maka peliharalah kami dari siksa neraka”* (Q.S Ali ‘Imran [3]:190-191).

Firman Allah dalam surat Ali ‘Imran ayat 190-191 tersebut menjelaskan bahwa Allah mewajibkan kepada umat-Nya (manusia) untuk mempergunakan akal pikirannya untuk memikirkan tentang kejadian langit dan bumi serta rahasia-rahasiannya dan manfaat-manfaat yang terkandung di dalamnya yang menunjukkan pada ilmu yang sempurna. Sebagaimana kata لأُولِي الْأَلْبَابِ (Ulul albab) adalah orang-orang yang mau menggunakan pikirannya, mengambil faedah darinya, hidayah darinya, dan menggambarkan keagungan Allah dan mengingat Allah (bedzikir) dalam setiap keadaan (Shihab, 2002). Sehingga kita sebagai manusia

dianjurkan untuk selalu memikirkan tentang kejadian di langit dan bumi, dalam hal ini melalui pengadaan penelitian, sehingga kita dapat mengetahui kekuasaan Allah SWT.

Penelitian dan eksperimen modern telah membuktikan proses pengobatan alternatif dengan menggunakan nabati dan rumput-rumputan. Ilmuwan Eropa berkesimpulan bahwa nabati dan rumput-rumputan mengandung materi yang efektif sebagai hikmah, karunia, kekuasaan dan ketentuan Allah. Mereka menemukan bahwa obat-obat alternatif besar pengaruhnya yang sangat ampuh terhadap sebagian besar kebutuhan tubuh, baik dalam kondisi sehat maupun sakit. Karena itu, diakhir penelitian mereka menyatakan bahwa pengobatan dengan menggunakan tumbuhan dan rumput-rumputan yang baik setidaknya memiliki empat manfaat dan orientasi yaitu, pengobatan kekebalan tubuh, pengobatan penyembuhan, pengobatan keseimbangan dan pengobatan pendukung (Mahmud, 2007).

Umumnya makhluk-makhluk Allah yang tidak berakal diberikan inspirasi untuk kemaslahatan dirinya, maka manusia sebagai makhluk berakal tentu saja lebih dari itu (Mahmud, 2007). Kenyataan ini menjadi argumentasi kuat bagi medis dan pengobatan, tidak lain semata-mata karena inspirasi dan petunjuk dari pencipta alam beserta isinya.

## **2.2 Rumput Bambu (*Lophatherum gracile Brongn*)**

Rumput Bambu merupakan rumput menahun yang memiliki tinggi 0,5 sampai 1,2 m, bertangkai banyak dengan rimpang pendek bercabang-cabang,

berakar serabut yang tumbuh menjadi umbi-umbi. Tumbuhan ini berada pada ketinggian 1500 m diatas permukaan laut ditempat yang senantiasa rindang, khususnya berada dalam hutan alam. Batang-batangya tegak, mampat tidak berbulu. Daun-daunnya bertangkai jelas, berbangun lanset garis, berurat melintang diantara lidinya yang membujur, lembut, bewarna hijau tua dengan panjang 10-30 cm dan lebarnya 10-55 mm. Bunga majemuknya berupa sebuah malai bertangkai panjang dan terdiri atas bulir-bulir yang panjangnya 1-15 cm (Kusumawati, 2003).



Gambar 2.1 Rumput Bambu (*Lophatherum gracile Brongn*)

Klasifikasi tanaman rumput bambu (*Lophatherum gracile Brongn*) adalah sebagai berikut:

Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Sub Kelas	: Commelilidae
Bangsa	: Cyperales
Suku	: Poaceae
Marga	: Lophatherum
Jenis	: <i>Lophatherum gracile Brongn</i>

Tanaman Rumput Bambu ini, masih banyak tumbuh di hutan tropis di Indonesia. Salah satunya adalah hutan tropis gunung Arjuno yang masih berpotensi sebagai habitat tumbuhnya tanaman Rumput Bambu, tanaman ini

tumbuh liar di semak-semak yang rindang. Dari hasil penelitian eksplorasi keanekaragaman dan kandungan kimia tumbuhan obat di hutan tropis gunung Arjuno menyatakan bahwa tanaman *Lophatherum gracile Brongn* merupakan salah satu dari tiga belas jenis tanaman yang sangat berpotensi untuk digunakan sebagai obat herbal penyembuhan penyakit tertentu, seperti anti-inflamasi maupun antikanker (Kusumawati, 2003).

### 2.3 Kandungan Kimia Rumput Bambu (*Lophatherum gracile Brongn*)

Kandungan pada seluruh bagian tanaman ini antara lain akar, batang, dan daun mengandung triterpenoid dan steroid arundoin, cylindrin, friedelin, beta-sitosterol, stigmasterol, campesterol, taraxerol, asam amino, dan asam lemak. (Wijayakusuma, 2005).

Menurut analisis dengan menggunakan HPLC memberikan informasi bahawa ekstrak metanol Rumput Bambu jenis *Pogonatherum Crinitum* mengandung senyawa flavonoid, diantaranya yaitu 0,07% (b/b) senyawa 6-C- $\beta$ -boivinopyranoside, 0,04 (b/b) senyawa 6-trans-(2''-O- $\alpha$ -rhamnopyranosyl)ethenyl-5,7,3',4'-tetrahydroxyflavone, 0,78% (b/b) senyawa luteolin, dan 0,06% (b/b) yang dapat dimanfaatkan sebagai obat herbal anti-inflamasi (Wang, 2008).

Pada penelitian farmakologi China menyatakan bahwa ekstrak daun *Lophatherum gracile Brongn* mengandung senyawa aktif flavonoid dan tritepena yang dapat dimanfaatkan sebagai antipiretik, diuretik, antibakteri, anti-tumor dan efek hiperglikemia (Jing, 2009).

Hasil penelitaian eksplorasi keanekaragaman dan kandungan kimia tumbuhan obat di hutan tropis gunung Arjuno menyatakan bahwa tanaman *Lophatherum gracile Brongn* memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder golongan steroid atau terpenoid yang terdapat pada akar dengan nilai Rf 0,04 ; 0,12 ; 0,17 ; 0,3. Selain itu tanaman ini juga mengandung senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid yang terdapat pada bagian daun dengan nilai Rf sebesar 0,68 (Kusumawati, 2003).

Beberapa kandungan senyawa metabolit sekunder yang bersifat racun bagi hewan uji dari tanaman satu famili dengan *poaceae* diantaranya adalah saponin, tanin, kuinon, steroid dan triterpenoid yang terkandung dalam ekstrak daun Sereh Wangi (Nadlirah, 2013). Selain itu, senyawa metabolit sekunder juga ditunjukkan pada hasil pemeriksaan fitokimia pada rumput Banta yang mengandung senyawa golongan alkaloid, saponin, tanin, steroid dan glikosida ini sama banyaknya. Kemudian pada rumput Bura-bura dan Jeriwit senyawa yang paling banyak adalah tanin. Sedangkan dalam rumput Keibar selain tanin juga terdapat fenolik, flavonoid, triterpenoid dan glikosida yang sama banyaknya (Darwati, 2011). Menurut (Ruwaida, 2010) kandungan senyawa rumput Mutiara adalah alkaloid, fenolik, terpenoid, *ursolic acid* (golongan triterpenoid). Senyawa-senyawa tersebut sebagian besar di daerah Cina telah banyak digunakan sebagai obat antikanker .

#### **2.4 Larva Udang *Artemia salina* Leach**

Menurut Mudjiman (1983), udang renik asin (*brine shrimp*) atau *Artemia* merupakan udang-udang tingkat rendah yang hidup sebagai zooplankton yang

hidup di perairan-perairan yang berkadar garam tinggi (*salina*), baik yang dekat pantai maupun jauh di pedalaman laut. *Artemia salina* L. diklasifikasikan sebagai berikut.

Filum : *Arthropoda*  
 Kelas : *Crustacea*  
 Subklas : *Branchipoda*  
 Ordo : *Anostraca*  
 Famili : *Artemiidae*  
 Genus : *Artemia*  
 Species : *Artemia salina* Leach.



Gambar 2.2 Larva udang *Artemia salina* Leach (Mudjiman, 1983)

*Artemia salina* L. ditemukan hampir pada seluruh tempat di permukaan perairan di bumi yang memiliki kisaran salinitas 10–20 g/L, hal inilah yang dapat menyebabkannya mudah dibiakkan. Telur *Artemia salina* L. terlihat seperti partikel-partikel kecil berwarna coklat dengan diameter kira-kira 0,20 mm. Telur-telur tersebut memiliki resistensi yang tinggi terhadap kondisi ekstrim dan dapat disimpan dalam waktu yang lama, jika telur-telur tersebut berada dalam keadaan bebas air (Mudjiman, 1983),

Penetasan telur dapat dilakukan dalam wadah bening seperti gelas kimia atau stoples yang diberi bahan plastik, negatif film, atau kaca dengan menggunakan media air laut (*brine = saline*), wadah penetasan dibagi menjadi

dua bagian, yaitu bagian terang dan bagian gelap oleh suatu sekat berlubang. Bagian gelap digunakan untuk meletakkan telur yang akan ditetaskan. Sekat berlubang menjadi jalan untuk larva udang telah lahir untuk bergerak secara alamiah ke arah terang. Selama penetasan, tempat penetasan diberi penerangan dengan cahaya lampu pijar/neon 40-60 watt agar suhu penetasan 25 °C-30 °C tetap terjaga (Harmita, 2006).

## 2.5 Uji Sitotoksik dengan Metode BSLT

Sitotoksik adalah obat yang membunuh ataupun merusakkan sel-sel pengganda. Sitotoksik dipakai sebagai obat kanker serta sebagai penekan kekebalan. Senyawa sitotoksik sendiri merupakan senyawa yang dapat bersifat toksik maupun sebagai obat untuk menghambat dan menghentikan pertumbuhan sel kanker dan sel tumor yang ada di dalam tubuh (Zuhud, 2011).

Uji toksisitas dilakukan untuk mendapatkan data persen kematian. Data yang diperoleh pada uji toksisitas dapat berupa data kuantitatif yang dinyatakan dengan LD<sub>50</sub> atau LC<sub>50</sub>, yaitu data kuantitatif yang diperoleh berupa morfologi efek toksik senyawa uji. Harga LD<sub>50</sub> atau senyawa harus dilaporkan sesuai dengan lamanya hewan uji diamati, bilamana lama pengamatan dilakukan selama 24 jam (Loomis, 1978).

BSLT dilakukan dengan dua tahap. Tahap pertama adalah penetasan telur *Artemia salina* L. dalam air laut atau air laut buatan (kadar garam laut 3,8 %) dan tahap kedua adalah membuat suatu kisaran dosis senyawa atau ekstrak untuk diberikan pada hewan uji *Artemia salina* L. yang telah berumur dua hari, karena

pada umur dua hari larva berada pada keadaan dimana dinding selnya masih dalam kondisi lunak sehingga dengan konsentrasi yang kecil menimbulkan efek yang diinginkan (Loomis, 1978).

Beberapa hal penting yang perlu diperhatikan dalam uji sitotoksik adalah dilakukannya proses aerasi selama 48 jam untuk memberikan oksigen bagi kelangsungan hidup *Artemia salina* L. *Artemia salina* L. yang digunakan sebagai hewan uji adalah yang telah beumur 48 jam, karena pada keadaan ini *Artemia salina* L. berada pada fase *naupli* yakni fase yang paling aktif membelah secara mitosis yang identik dengan sel kanker yang juga membelah secara mitosis (Panjaitan, 2011). Pada pengujian sitotoksik, *Artemia salina* L. perlu diberikan tambahan makan berupa larutan ragi roti untuk kelangsungan hidup hewan uji ini karena setelah menetas larva telah mempunyai mulut, saluran pencernaan dan dubur. Penggunaan ragi roti sebagai makanan ini karena *Artemia salina* L. hanya dapat menelan makanan yang berukuran kecil (kurang dari 50 mikron). Apabila makanan lebih besar dari ukuran tersebut, makanan tidak akan tertelan oleh hewan uji karena *Artemia salina* L. mengambil makanan dengan jalan menelannya bulat-bulat (Mudjiman, 1983).

Apabila pada uji sitotoksik ekstrak tidak dapat larut dengan air larut, maka ditambahkan pelarut dimetil sulfoksida (DMSO). DMSO merupakan cairan tak berwarna, memiliki rumus kimia  $(\text{CH}_3)_2\text{SO}$ , titik lebur  $18,5\text{ }^\circ\text{C}$ , titik didih  $189\text{ }^\circ\text{C}$  dan konstanta dielektrikum 46,68. DMSO termasuk surfaktan yang dapat mekarutkan senyawa polar maupun nonpolar. Penggunaan DMSO sebagai zat yang melarutkan ekstrak dalam air laut yang tidak lebih dari batas ambang ( $50\mu\text{L}$

dalam 5 mL larutan media) tidak bersifat toksik terhadap *Artemia salina* L. (Bulbul dkk, 2011).

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

- a. Sitotoksik ( $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$ ).
- b. Tidak sitotoksik ( $LC_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$ )

Uji toksisitas terhadap larva *Artemia salina* L. dapat dikaitkan sebagai metode isolasi senyawa antikanker dari tumbuhan. Uji ini tidak spesifik untuk antikanker, namun penelitian terdahulu menunjukkan signifikan terhadap beberapa bahan, baik berupa ekstrak tanaman atau aksinya sebagai antikanker. Keuntungan metode BSLT adalah peka, cepat, sederhana, dapat diulang-ulang tanpa terjadi penyimpangan, hal ini memungkinkan penggunaan BSLT sebagai suatu uji praskrining aktivitas biologi. *Artemia salina* L. sebelumnya digunakan dalam bermacam-macam uji hayati, seperti: uji pestisida, polutan, mikotoksin, anestesi, komponen seperti morfin dan kekarasinogen (Meyer, dkk., 1982).

Uji sitotoksik merupakan salah satu pengembangan metode yang digunakan untuk memprediksikan keberadaan senyawa yang bersifat toksik pada sel. Salah satu metode uji sitotoksik adalah *Brine Shrimp Test* (BST) yang dapat digunakan untuk praskrining terhadap senyawa-senyawa yang diduga berkhasiat sebagai antitumor atau antikanker. Nilai  $LC_{50}$  rendah justru memiliki kemampuan sitotoksik yang tinggi karena ekstrak yang digunakan untuk membunuh sel kanker menjadi toksik jumlahnya sedikit.

Metode BSLT ini digunakan dalam penelitian karena dapat digunakan untuk mengetahui adanya efek sitotoksik dan untuk memperoleh hewan uji lebih mudah, harganya murah, telurnya dapat bertahan beberapa tahun bila disimpan ditempat yang kering, mengerjakannya lebih cepat dan sederhana. Disamping itu metode ini telah diuji dan mempunyai korelasi lebih positif dengan metode yang telah biasa digunakan untuk penampisan senyawa antikanker (Widiyati, 2006).

Aktivitas suatu zat aktif yang berpotensi sebagai senyawa antikanker ditunjukkan pada hasil penelitian (Ruwaida, 2010) yang menyatakan bahwa hasil isolasi dari rumput famili *poaceae* yakni Rumput Mutiara fraksi larut etil asetat dari ekstrak klorofom yang dilakukan uji toksisitas terhadap *Artemia salina* L. selama 24 jam menunjukkan nilai  $LC_{50}$  sebesar 55,78 ppm dan 47,76 ppm pada konsentrasi sampel 75 ppm dan 50 ppm.

Aktivitas antibakteri paling baik ditunjukkan oleh minyak atsiri akar wangi (*Vetiveria zizanoides*) dari famili *poaceae* yang memiliki nilai  $LC_{50} < 1000$  ppm. Sampel akar wangi dari daerah Garut (A) dan dari daerah gunung Kidul Yogyakarta (B) diperoleh nilai  $LC_{50}$  dari hewan coba *Artemia salina* L. berturut-turut yaitu 88,30 ppm dan 96,82 ppm (Rahmawati, 2009).

Menurut penelitian Bogoriani, dkk, (2007) uji sitotoksik ekstrak kental metanol dari daun andong dapat dilakukan dengan melarutkannya dalam air dan dipartisi dengan n-heksana, kloroform, dan n-butanol. Hasil uji sitotoksik dengan menggunakan metode BSLT menunjukkan ekstrak ini memiliki nilai  $LC_{50} < 1000$  ppm yaitu 61,09 ppm, sehingga dapat dikatakan ekstrak daun andong memiliki potensi sebagai antitumor.

Hasil penelitian Diastuti (2009) menunjukkan bahwa ekstrak etanol, fraksi kloroform, fraksi etil asetat, dan fraksi kloroform daun *Rhizopora mucronata* memiliki tingkat toksisitas terhadap *Artemia salina* L. ditunjukkan dengan nilai  $LC_{50} < 1000$  ppm. Nilai  $LC_{50}$  masing-masing ekstrak etanol, fraksi kloroform, fraksi etil asetat, dan fraksi kloroform adalah 416,01 ppm, 290,92 ppm, 292,46 ppm, dan 339,97 ppm, sehingga keempat ekstrak tersebut bersifat toksik terhadap *Artemia salina* L.

## **2.6 Metode Pemisahan**

### **2.6.1 Ekstraksi Senyawa Aktif**

#### **2.6.1.1 Ekstraksi**

Ekstraksi adalah metode pemisahan suatu zat berdasarkan perbedaan kelarutannya terhadap dua cairan yang tidak saling larut. Prinsip ekstraksi adalah melarutkan senyawa polar dalam pelarut polar dan senyawa non polar dalam pelarut non polar (*like dissolve like*). Faktor yang mempengaruhi proses ekstraksi adalah persiapan bahan, pemilihan pelarut, dan metode ekstraksi yang meliputi lama ekstraksi, suhu, lama pengadukan, proses penyaringan dan pemekatan. Hal yang harus diperhatikan dalam pemilihan jenis pelarut adalah daya larut, titik didih, sifat toksik, mudah tidaknya terbakar dan sifat korosif terhadap peralatan ekstraksi (Khopkar, 2008).

#### **2.6.1.2 Maserasi (Ekstrak Padat-Cair)**

Metode maserasi biasanya digunakan untuk mengekstrak jaringan tanaman yang belum diketahui kandungan senyawanya yang kemungkinan bersifat tidak tahan panas sehingga kerusakan komponen tersebut dapat dihindari. Kekurangan

dari metode ini adalah diperlukan waktu yang relatif lama dan membutuhkan banyak pelarut (Harborne, 1996).

Maserasi merupakan proses perendaman sampel dalam pelarut organik yang digunakan dalam temperatur ruang. Penekanan utama dalam proses ekstraksi maserasi adalah tersedianya waktu kontak yang cukup lama antara pelarut dan jaringan yang diekstraksi. Proses ini sangat menguntungkan dalam isolasi bahan alam karena dengan perendaman sampel, akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh cairan penyari dengan konsentrasi rendah (proses difusi). Peristiwa tersebut berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Voight, 199).

Penelitian Rita, dkk. (2008) melakukan maserasi menggunakan pelarut n-heksana, kloroform, dan etanol pada daging buah pare untuk mengidentifikasi senyawa yang berpotensi sebagai antitumor. Serbuk daging buah Pare sebanyak 1000 g dan diekstraksi secara maserasi berturut-turut menggunakan pelarut n-heksana 6 L, kloroform 4 L, dan etanol 4 L. Ekstrak pekat yang dihasilkan sebanyak 4,46 g ekstrak n-heksana, 11,68 g ekstrak kloroform, dan 26,09 g ekstrak etanol.

Halimah (2010) melakukan ekstraksi maserasi dengan pelarut etanol, kloroform, dan n-heksana. Ekstraksi dilakukan 3 kali pengulangan pada masing-masing pelarut. Serbuk tanaman Anting-anting sebanyak 60 g diekstraksi dengan

300 mL pelarut etanol selama 24 jam dan *dishaker* selama 5 jam, kemudian disaring dan ampas hasil 3 kali pengulangan tersebut diekstraksi meserasi kembali dengan pelarut kloroform dan dilanjutkan dengan pelarut n-heksana. Rendemen yang dihasilkan untuk pelarut etanol adalah 4,397 %, kloroform 0,876 %, dan n-heksana 0,109 %.

### 2.6.2 Identifikasi Senyawa Aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi adalah suatu teknik pemisahan yang pada dasarnya semua menggunakan dua fase yaitu fase diam dan fase gerak. Pemisahan-pemisahan ini bergantung pada gerakan relatif dari dua fase ini (Sastrohamidjojo, 2007). Prinsip dari pemisahan adalah adanya perbedaan sifat fisik dan kimia dari senyawa yaitu kecenderungan dari molekul untuk melarut dalam cairan (kelarutan), kecenderungan molekul untuk menguap (keatsirian), kecenderungan molekul untuk melekat pada permukaan (adsorpsi, penjerapan).

Fase gerak merupakan medium angkut yang terdiri atas satu atau beberapa pelarut. Ia bergerak didalam fase diam, yaitu suatu lapisan berpori karena ada gaya kapiler yang digunakan hanyalah pelarut bertingkat mutu analitik dan bila diperlukan, sistem pelarut multikomponen ini harus berupa suatu campuran sesederhana mungkin yang terdiri atas maksimal tiga komponen. Pada kromatografi jerat, jenis pelarut dapat dikelompokkan dalam deret eluotropik berdasarkan efek elusinya. Seperti yang ditunjukkan pada Tabel 2.1 berikut:

Tabel 2.1 Deret eluotropik berdasarkan efek elusinya

NO	Pelarut pengembang	Td °C/750 torr	Tetapan dielektrik $\epsilon$ pada 20 °C	Viskositas $C_p$ pada 20 °C
1	n-Heksana	68,7	1,890	0,326
2	Heptana	98,4	1,924	0,409
3	Sikloheksana	81,4	2,023	1,02
4	Karbontetraklorida	76,8	2,238	0,969
5	Benzena	80,1	2,284	0,652
6	Kloroform	61,3	4,806	0,580
7	Eter (dietil eter)	34,6	4,34	0,233
8	Etil asetat	77,1	6,02 <sup>+</sup>	0,455
9	Piridina	115,1	12,3 <sup>+</sup>	0,974
10	Aseton	56,5	20,7 <sup>+</sup>	0,316 <sup>+</sup>
11	etanol	78,5	24,30 <sup>+</sup>	1,2
12	metanol	64,6	33,62	0,597
13	Air	100,0	80,37	1,005

\* Untuk pelarut pengembang tambahan dan berbagai sifatnya, lihat *Biochemistry Handbook* (Berlin-Gottingen-Heidelberg: Springer Verlag, 1964) dan *Handbook of Chemistry and Physics* (40<sup>th</sup> ed., Cleveland Rubber Co., 1959).

+ Pada 25 °C.

Sumber (Stahl, 1985)

Efek elusidasi akan naik dengan naiknya tingkat kepolaran pelarut. Misalnya, n-heksana non polar memiliki efek elusidasi lemah, kloroform cukup kuat dan metanol yang polar memiliki efek elusidasi yang kuat. Tetapan dielektrik memberikan informasi tentang tingkat kepolaran suatu senyawa. Laju rambat

tergantung pada viskositas pelarut dan tentu saja pada stuktur lapisan (Stahl, 1985).

Fase diam dapat berupa serbuk halus yang berfungsi sebagai permukaan penjerap (kromatografi cair-padat). Hampir segala macam serbuk dapat digunakan sebagai penjerap pada KLT seperti penjerap yang paling umum dipakai yaitu silika gel (asam silikat) gel F<sub>254</sub>, alumina (aluminium oksida), kiselgur (tanah diatome) dan selulosa (Gritter, 1991).

Kromatografi lapis tipis dalam pelaksanaannya lebih mudah dan lebih murah dibandingkan dengan kromatografi kolom, peralatan yang digunakan lebih sederhana. Beberapa keuntungan lain dari KLT adalah (Rohman, 2007):

1. Kromatografi lapis tipis banyak digunakan dengan tujuan analisis.
2. Identifikasi pemisahan komponen dapat dilakukan dengan pereaksi warna, fluoresensi, atau dengan radiasi menggunakan sinar ultraviolet.
3. Dapat dilakukan elusi secara mekanik (*ascending*), menurun (*descending*), atau dengan cara elusi 2 dimensi.
4. Ketepatan penentuan kadar akan lebih baik karena komponen yang akan ditentukan merupakan bercak yang tidak bergerak

Lapisan tipis seperti pada plat silika gel F<sub>254</sub> yang digunakan dalam penelitian ini mengandung indikator fluoresensi yang ditambahkan untuk membantu penampakan bercak tanpa warna pada lapisan yang telah dikembangkan. Indikator fluoresensi adalah senyawa yang memancarkan sinar, seperti dengan lampu UV. Jika senyawa pada bercak yang akan ditampakan mengandung ikatan rangkap terkonjugasi atau cincin aromatik berbagai jenis,

sinar UV yang mengeksitasi tidak dapat mencapai indikator fluoresensi dan tidak ada cahaya yang dipancarkan. Hasilnya ialah bercak gelap dengan latar belakang yang bersinar. Cara ini sangat peka dan tidak merusak senyawa yang ditampakkan (Gritter *et al*, 1991).

Bercak pemisahan pada plat KLT umumnya merupakan bercak yang tidak bewarna. Untuk menentukannya dapat dilakukan secara kimia, fisika, maupun biologi. Cara kimia yang biasa digunakan adalah dengan mereaksikan bercak dengan suatu pereaksi melalui cara penyemprotan sehingga bercak menjadi jelas. Mengamati lempeng dibawah lampu ultraviolet yang dipasang pada panjang gelombang emisi 254 nm atau 366 nm untuk menampakkan solut sebagai bercak yang gelap atau bercak yang berfluoresensi terang pada dasar yang berfluoresensi berfluoresensi seragam (Rohman, 2007).

Penggunaan KLT ini adalah untuk menentukan banyaknya komponen dalam campuran, identifikasi senyawa, memantau berjalannya suatu reaksi, dan menentukan efektifitas pemurnian. Analisis secara kualitatif KLT digunakan untuk uji identifikasi senyawa baku. Parameter yang digunakan untuk uji identifikasi adalah nilai  $R_f$  (Rohman, 2007).

Identifikasi dari senyawa-senyawa yang terpisah dari lapisan tipis menggunakan harga  $R_f$ . Harga  $R_f$  didefinisikan sebagai berikut (Sastrohamidjojo, 2007):

$$\text{Harga } R_f = \frac{\text{Jarak yang digerakkan senyawa dari titik asal}}{\text{Jarak yang digerakkan oleh pelarut dari titik asal}} \dots\dots (2.1)$$

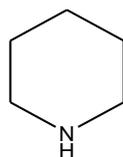
Harga-harga Rf untuk senyawa-senyawa murni dapat dibandingkan dengan harga-harga standart. Harga-harga Rf yang diperoleh hanya berlaku untuk campuran tertentu dari pelarut dan penyerap yang digunakan (Sastrohamidjojo, 2007).

## 2.7 Senyawa Kimia Metabolit Sekunder pada Tanaman

Uji fitokimia merupakan teknik isolasi dan kostitusi senyawa kimia pada tumbuhan berdasarkan perbandingan stuktur senyawa kimianya. Tumbuhan umumnya mengandung senyawa aktif dalam bentuk metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin, alkaloid, triterpenoid, steroid, saponin, dan lain-lain. Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa kimia tanaman dengan molekul kecil yang jumlahnya paling banyak ditemui (Sirait, 2007).

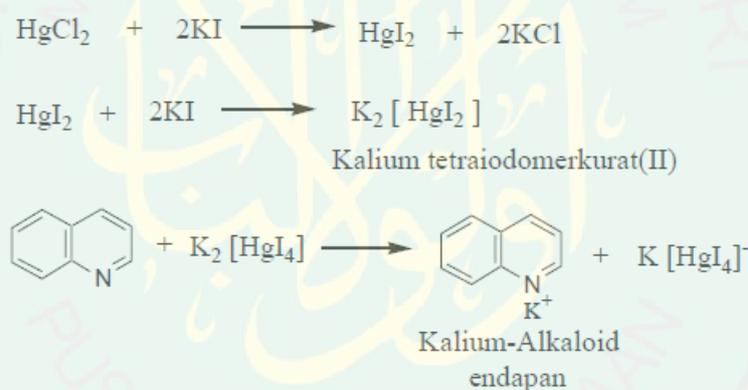
### 2.7.1 Alkaloid

Alkaloid adalah golongan senyawa organik banyak ditemukan hampir di seluruh tumbuh-tumbuhan. Semua alkaloid mengandung paling sedikit satu atom nitrogen yang biasanya bersifat basa dan dalam sebagian besar atom nitrogen ini merupakan bagian dari cincin heterosiklik (Lenny, 2006).

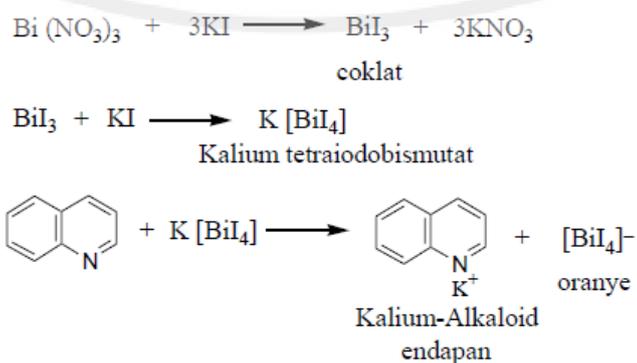


Gambar 2.3 Struktur senyawa Alkaloid (Robinson, 1995)

Kebanyakan alkaloid tidak larut dalam petroleum eter, untuk mengetahui adanya alkaloid dengan menggunakan salah satu pereaksi pengendap alkaloid. Pereaksi sering didasarkan pada kesanggupan alkaloid untuk bergabung dengan logam yang memiliki berat atom tinggi seperti merkuri, bismut, tungsten, atau iod. Pereaksi Mayer mengandung kalium iodida dan merkuri klorida. Pereaksi Dragendorff mengandung bismut nitrat dan merkuri klorida dalam asam nitrit berair (Sastrohamidjojo, 1996). Adapun contoh reaksi dugaan yang terjadi pada uji fitokimia alkaloid adalah:



Gambar 2.4 Contoh perkiraan reaksi Alkaloid uji Meyer (Marliana, 2005)



Gambar 2.5 Contoh perkiraan reaksi Alkaloid uji Dragendorff (Marliana, 2005)

Menurut Harborne (1987), sekitar 5.500 jenis alkaloid telah diketahui dan merupakan golongan zat tumbuhan sekunder yang terbesar. Alkaloid sering bersifat racun yang secara luas banyak digunakan dalam bidang pengobatan. Alkaloid biasanya tanpa warna, seringkali bersifat optis aktif, kebanyakan berbentuk kristal tetapi hanya sedikit yang berupa cairan (misalnya nikotina) pada suhu kamar.

Runadi (2007) menyatakan bahwa pada herbal komfrey analisa kandungan alkaloid dilakukan dengan sistem kromatografi lapis tipis hasil ekstraksi cair-cair dengan menggunakan fase diam silika gel GF<sub>254</sub> dan fase gerak kloroform:metanol (3:2) memberikan bercak newarna kuning dengan Rf sebesar 0,6 dimana pada bercak tersebut menunjukkan hasil yang positif alkaloid.

Meistiani (2001) menyatakan bahwa isolasi dan identifikasi senyawa alkaloid dari akar kuning (*Arcangelia flava* (L) Merr) dilakukan ekstraksi dengan beberapa pelarut tunggal, yaitu n-heksana, kloroform, aseton etil asetat, metanol dan asm asetat. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak alkaloid dari batang akar kuning pada fase air diperoleh rendemen sekiatar 2,52%. Ekstrak alkaloid yang diperoleh menghasilkan 7 fraksi. Fraksi 2 secara kualitatif mengandung alkaloid yang tinggi.

Hasil identifikasi kualitatif kandungan kimia fraksi kloroform daun pepaya (*Carica papaya* L.) yang berpotensi sebagai antikanker pada penelitian (Sukardiman, 2006) adalah golongan alkaloid. Analisis dilakukan dengan KLT dengan menggunakan fase diam silika gel 60 F<sub>254</sub> dan fase gerak campuran kloroform:metanol (5:1) dihasilkan satu noda bewarna merah jingga yang

memiliki Rf sebesar 0,4, noda 2 dan 3 memiliki noda warna coklat jingga dan hijau dengan Rf sebesar 0,78 dan 0,95. Sedangkan menurut Susilaningih (2007) bahwa eluen terbaik untuk pemisahan alkaloid dari Rimpang Lengkuas Merah adalah campuran kloroform:n-heksana (2:1) dan diperoleh 1 noda biru dengan Rf 0,75.

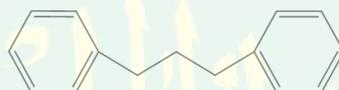
Widi (2007) menyatakan bahwa pada identifikasi senyawa alkaloid dalam batang kayu kuning (*Arcangelisia flava Merr*) yang diekstrak dengan pelarut kloroform dan metanol diperoleh bercak dengan Rf 0,78 pada pemisahan KLT dengan eluen kloroform:metanol (1:4 v/v) dan fasa diam silica gel. Penyemprotan dengan pereaksi dragendroff terhadap bercak tersebut memberikan orange. warna merah bata dibawah UV 336. Artinya positif mengandung senyawa alkaloid.

Pelarut pengembang yang digunakan pada KLT untuk alkaloid pada penelitian (Marlina, dkk, 2005) adalah etil asetat:metanol:air (100:16,5:13,5). Setelah plat disemprot pereaksi Dragendorff timbul noda dengan Rf 0,9 berwarna kuning muda pada pengamatan dengan sinar tampak dan berwarna hijau muda pada UV 366 nm. Artinya terkandung alkaloid pada ekstrak etanol labu siam.

### 2.7.2 Flavonoid

Flavonoid adalah senyawa yang terdiri dari  $C_6 - C_3 - C_6$ . flavonoid umumnya terdapat pada tumbuhan sebagai glikosida. Gugusan gula bersenyawa pada satu cincin atau lebih hidroksil fenolik. Gugus hidroksil tersebut selalu terdapat pada karbon no. 5 dan no. 7 pada cincin A. pada cincin B hidroksil atau alkoksil terdapat pada karbon no.3 dan no. 4. Flavonoid terdapat pada seluruh bagian tanaman, termasuk pada buah, tepung sari dan akar (Sirait, 2007).

Kerangka karbon flavonoid terdiri atas dua gugus C<sub>6</sub> (cincin benzen tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga-karbon. Pengelompokan flavonoid dibedakan berdasarkan cincin heterosiklik-oksigen tambahan dan gugus hidroksil yang tersebar menurut pola yang berlainan pada rantai C<sub>3</sub>, sesuai struktur kimianya yang termasuk flavonoid yaitu flavonol, flavon, flavanon, katekin, antosianidin dan kalkon (Robinson, 1995).



Gambar 2.6 Struktur inti senyawa Flavonoid (Robinson, 1995)

Penggolongan flavonoid dalam jaringan tumbuhan didasarkan pada sifat kelarutannya dan reaksi warna. Mereka dapat diekstraksi dengan etanol 70% dan tetap ada dalam lapisan air setelah ekstrak ini dikocok dengan eter minyak bumi.. Flavonoid berupa senyawa fenol, karena itu warnanya berubah bila ditambah basa atau amonia, jadi mereka mudah dideteksi pada kromatogram. Flavonoid mengandung sistem aromatik yang terkonjugasi dan karena itu menunjukkan pita serapan kuat pada daerah spektrum UV dan spektrum tampak. (Harborne, 1987).

Menurut Koirewoa, dkk (2013) menunjukkan bahwa uji fitokimia senyawa flavonoid pada ekstrak beluntas dengan etanol 96% pa, ketika dipisahkan menggunakan metode KLT dengan fase diam silika gel GF<sub>254</sub> dan fase gerak n-butanol:asam asetat:air (4:1:5) menghasilkan tiga macam noda dengan R<sub>f</sub> pada noda pertama sebesar 0,69. Noda kedua memiliki nilai R<sub>f</sub> sebesar 0,78. Dan noda

ketiga memiliki nilai Rf sebesar 0,89. Warna yang diberikan berturut-turut adalah hujauh muda, merah muda dan hijau.

Penelitian (Suyoso, 2011) menyatakan identifikasi golongan flavonoid ekstrak etanol tanaman anting-anting dengan eluen metanol:kloroform (1:39) menunjukkan 8 noda setelah diuapi amoniak di bawah sinar UV 366 nm. Noda yang menunjukkan adanya flavonoid adalah semua noda kecuali noda ke- 4. Noda ke 1, 2, 7 dan 8 berwarna merah ungu dan noda ke-3, 5, dan 6 berwarna merah muda dengan nilai Rf 0,03-0,79.

Milyasari (2010) menyatakan bahwa identifikasi golongan flavonoid secara KLT dari ekstrak buah Belimbing Wuluh menggunakan eluen metanol-kloroform (1:9) di bawah sinar UV 254 nm menunjukkan 1 noda berwarna lembayung dengan nilai Rf 0,70 selah diuapi dengan amoniak.

Penelitian (Mardisadora, 2010) menunjukkan bahwa isolasi flavonoid (Kuersetin) pada ekstrak metanol kulit kayu mahoni dengan KLT menggunakan fase dian silika F<sub>254</sub> dan fase gerak pelarut metanol dan disinari UV selama 3 kali pengulangan sampel dihasilkan nilai Rf yang sama yaitu 0,8625 serta dihasilkan senyawa flavonoid sebesar 16 mg/100gram sampel.

Sukadana (2009) ekstrak kental air buah belimbing manis diuji kemurniannya secara kromatografi lapis tipis (KLT) pada berbagai fase gerak, n-butanol:asam asetat:air (4:1:5), kloroform:metanol (2:8), n-butanol:kloroform (1:1), metanol:asam asetat:air (3:1:5), dan n-heksana:kloroform:metanol (2:2:1). Hasil uji kemurnian menunjukkan relatif murni secara KLT karena tetap memberikan noda tunggal.

### 2.7.3 Triterpenoid

Triterpenoid adalah senyawa dengan kerangka karbon yang disusun dari 6 unit isoprena dan dibuat secara biosintesis dari skualen, suatu  $C_{30}$  hidrokarbon asilik. Senyawa tersebut mempunyai struktur siklik yang relatif kompleks, kebanyakan merupakan sutau alkohol, aldehid atau asam karboksilat. Untuk tesnya menggunakan pereaksi Liebermann-Burchard yang akan membentuk warna biru hijau untuk sebagian besar triterpen dan sterol (Sirait, 2007).

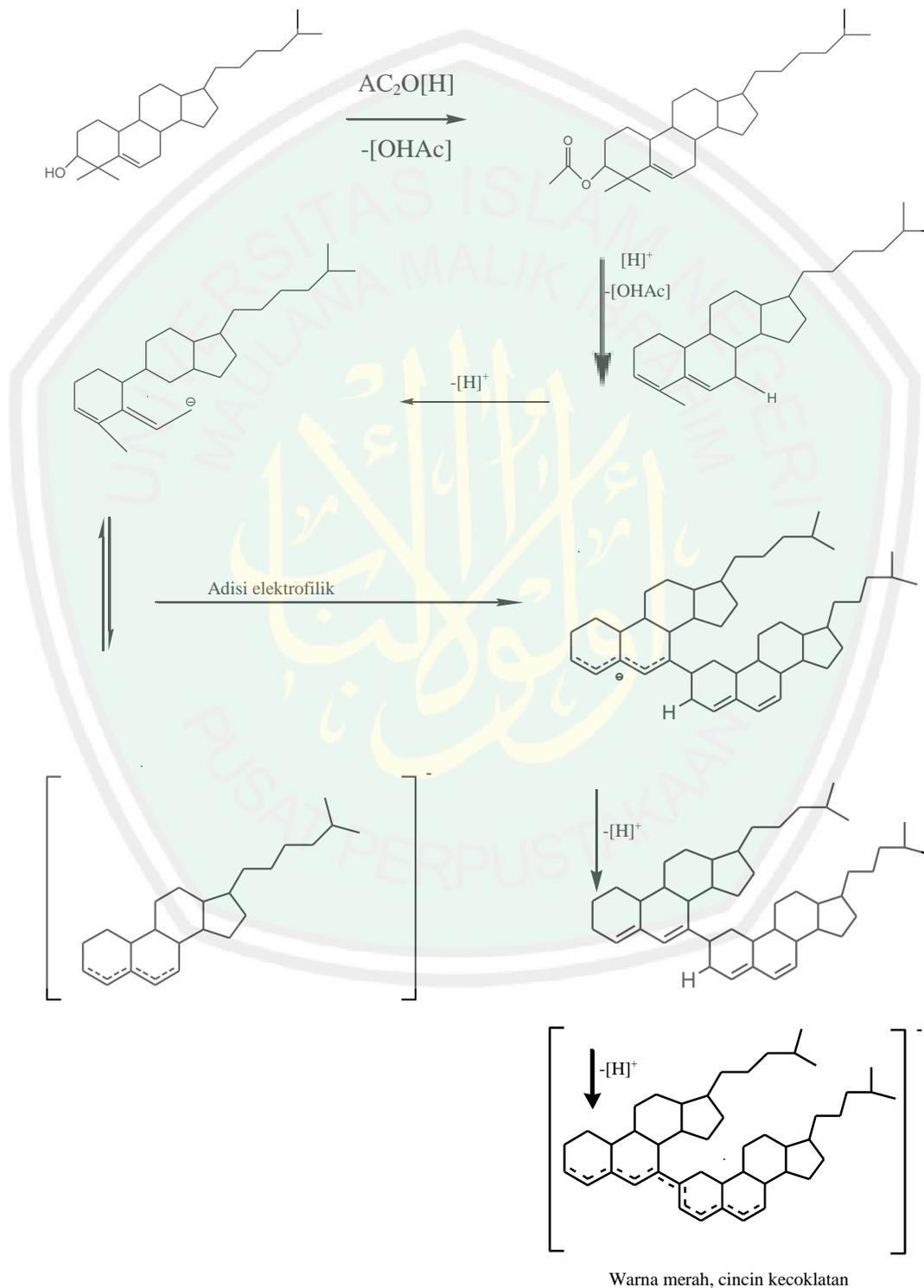
Senyawa ini paling umum ditemukan pada tumbuhan berbiji dan sebagai glikosida. Triterpenoid alkohol monohidroksi dalam tumbuhan tidak bersamaan dengan pigmen, sedangkan triterpenadiol berada bersama-sama dengan karotenoid dan triterpenoid asam dengan flavonoid (Robinson, 1995).



Gambar 2.7 Contoh struktur senyawa Triterpenoid (Robinson, 1995)

Pereaksi Liebermann-Burchard secara umum digunakan untuk mendeteksi triterpenoid menghasilkan warna violet (Harborne, 1987). Pada penelitian (Rita, 2010) uji fitokimia ekstrak n-heksana, kloroform rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe) dengan menggunakan pereaksi Liebermann-Burchard menunjukkan bahwa pada ekstrak n-heksana dan kloroform positif mengandung

senyawa metabolit sekunder golongan triterpenoid. Adapun perkiraan reaksi pembentukan triterpenoid adalah pada gambar 2.8.



Gambar 2.8 Contoh dugaan reaksi pembentukan Triterpenoid (Nasliyana, 2013)

Semua tipe triterpenoid dapat dipastikan dengan prosedur yang sangat mirip, biasanya dengan KLT atau KG. Untuk KLT selalu dilakukan pada lapisan silika gel. Agrentatif KLT digunakan untuk memisahkan triterpenoid berdasarkan jumlah ikatan rangkap terisolasi yang ada dalam molekul (Sirait, 2007). Semua tipe triterpenoid dapat dipastikan dengan prosedur yang sangat mirip, biasanya dengan KLT atau KG. Untuk KLT selalu dilakukan pada lapisan silika gel. Agrentatif KLT digunakan untuk memisahkan triterpenoid berdasarkan jumlah ikatan rangkap terisolasi yang ada dalam molekul (Sirait, 2007).

Santi (2009) menyatakan bahwa dalam penelusuran senyawa sitotoksik pada kulit biji nyamplung (*Calophyllum inophyllum L.*) dapat dilakukan Isolasi dengan maserasi pada kulit biji nyamplung dengan metanol yang disuspensikan ke dalam campuran metanol:air (7:3). Fraksi terbaik dilakukan pemisahan KLT dengan menggunakan berbagai fase gerak yaitu: kloroform:etilasetat (1:1), kloroform:n-heksana (1:2), n-heksana:kloroform (3:7), etilasetat:n-heksana (7:3) dan metanol:etilasetat (7:3) memberikan satu noda.

Gunawan *dkk*, (2008) menggunakan eluen kloroform:methanol (3:7) dengan pereaksi LB untuk memisahkan senyawa triterpenoid dari ekstrak n-heksana Meniran. Diperoleh 4 noda dengan Rf 0,725 bewarna kuning muda menjadi merah muda setelah direaksikan dengan LB, Rf 0,58 bewarna kuning menjadi ungu muda setelah direaksikan dengan LB.

Pada penelitian Halimah (2010) menyatakan bahwa untuk identifikasi golongan teriterpenoid dalam ekstrak etanol dan n-heksana tanaman anting-anting menggunakan eluen n-heksana:etil asetat (2:8) dengan pereaksi penyemprot

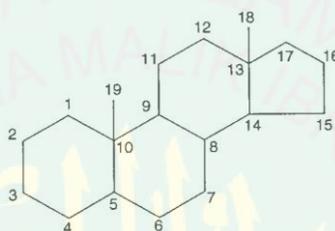
reagen Liebermann Burchard menunjukkan warna merah keunguan, coklat, merah keunguan dan kecoklatan dengan nilai Rf berurutan 0,39; 0,79; 0,80; dan 0,87 pada ekstrak etanol. Sedangkan noda 2 dan 3 ekstrak n-heksana menunjukkan warna merah keunguan dan kecoklatan dengan nilai berturut-turut adalah Rf 0,36 dan 0,82.

Sriwahyuni (2010) menyatakan bahwa identifikasi golongan triterpenoid dari ekstrak diklorometan tanaman anting-anting menggunakan eluen benzena-kloroform (3:7) setelah disemprot reagen Liebermann Burchard di bawah sinar UV 366 nm menunjukkan 5 noda. Namun yang diasumsikan sebagai triterpenoid adalah noda ke-1, 2, 4, dan 5 yang berwarna ungu tua, ungu muda, ungu dan merah keunguan dengan nilai berturut-turut adalah Rf 0,16; 0,5; 0,7; dan 0,76. Sedangkan untuk eluen n-heksana-etil asetat (1:1) menunjukkan 7 noda. Noda ke-1, 2, dan 3 menunjukkan warna ungu tua, noda ke-4 berwarna ungu, noda ke-5 dan 6 berwarna merah muda keunguan dan noda ke-7 berwarna merah tua keunguan dengan nilai Rf 0,12 – 0,79.

Penelitian Reveny (2011), menunjukkan bahwa identifikasi triterpenoid daun Sirih Merah menggunakan fase gerak n-heksana:etil asetat (8:2) diperoleh harga Rf 0,41 dan 0,29 (ungu merah), dengan perbandingan (6:4) diperoleh harga Rf 0,84 dan 0,76 (ungu merah) dengan pereaksi Liebermann Burchard. Gunawan (2003) memisahkan senyawa triterpenoid dari ekstrak kloroform daun Jati Belanda menggunakan eluen n-heksana:etil asetat (2:1) dengan pereaksi LB menghasilkan 12 noda berwarna merah ungu dibawah sinar UV.

### 2.7.4 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 (Poedjiadi, 1994).



Gambar 2.9 Contoh struktur inti Steroid (Poedjiadi, 1994).

Steroid tersusun dari isopren-isopren dari rantai panjang hidrokarbon yang menyebabkan sifatnya non polar. Beberapa senyawaan steroid mengandung gugus  $-OH$  yang sering disebut dengan sterol, sehingga sifatnya yang cenderung lebih polar. Beberapa turunan steroid yang penting ialah steroid alkohol atau sterol. Steroid lain antara lain asam-asam empedu, hormon seks (androgen dan estrogen) dan hormon kortikosteroid. 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).

Reaksi warna yang digunakan untuk uji warna pada steroid adalah dengan reaksi Liebermann-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).

Penelitian Hayati (2012) menyatakan bahwa identifikasi senyawa steroid pada tanaman anting-antig dapat menggunakan KLT dengan eluen heksana:etil asetat (7:3) dan disemprot dengan pereaksi Lieberman-Burchard menunjukkan terbentuknya noda berwarna hijau, biru ungu sampai coklat. Pada sinar UV 366 nm ekstrak etil asetat anting-anting terdapat 9 noda dengan nilai Rf berturut-turut adalah 0,66; 0,11; 0,38; 0,47; 0,56; 0,68; 0,77; 0,8; dan 0,83 dengan warna noda berturut-turut adalah hijau kebiruan, hijau kebiruan, merah muda, hijau, merah muda, ungu tengah biru kehijauan, orange, hijau kebiruan, dan hijau kebiruan muda.

Panambunan (2013) menyatakan bahwa identifikasi golongan senyawa steroid ekstrak diklorometana daun bunga matahari dapat dilakukan dengan menggunakan eluen n-heksana:etil asetat (4,5:0,5). Noda yang tampak setelah disemprot dengan pereaksi LB dan dilakukan pengamatan di bawah sinar UV pada  $\lambda$  366 nm adalah merah (Rf 0,052), biru muda (0,318) dan ungu (Rf 0,529).

Hasil penelitian (Reveny, 2011) skrining fitokimia daun sirih merah (*Piper betle* Linn.) menghasilkan senyawa steroid pada pemisahan KLT setelah disemprot pereaksi LB dengan menggunakan eluen n-heksana:etil asetat (8:2) menghasilkan warna ungu merah dengan Rf 0,41 dan 0,29. Sedangkan pada eluen n-heksana:etil asetat (6:4) menghasilkan warna noda ungu merah yang ditunjukkan pada Rf 0,84 dan 0,76 dibawah sinar UV pada  $\lambda$  366 nm.

Identifikasi kandungan senyawa steroid pada ekstrak n-heksana kulit batang *G.parvifolia falciparum* Miq digunakan KLT dengan menggunakan fase diam silika ge GF<sub>254</sub> dan fase gerak n-heksana:aseton (7:3). Deteksi menggunakan sinar ultraviolet 366 nm menghasilkan penampakan noda sebanyak 6 bercak yang bewarna biru, ungu sampai coklat yang diduga merupakan senyawa steroid (Syamsudin, 2010).

### 2.7.5 Saponin

Saponin termasuk dalam golongan senyawa terpenoid dan bagian dari triterpenoid (diturunkan dari hidrokarbon C<sub>30</sub>) yang memiliki potensi sebagai antimikroba, dapat digunakan sebagai bahan baku sintesis hormon steroid. Dua jenis saponin yang dikenal yaitu glikosida triterpenoid alkohol dan glikosida struktur steroid. Aglikonnya disebut sapogenin, diperoleh dengan hidrolisis dalam asam atau menggunakan enzim (Robinson, 1995).

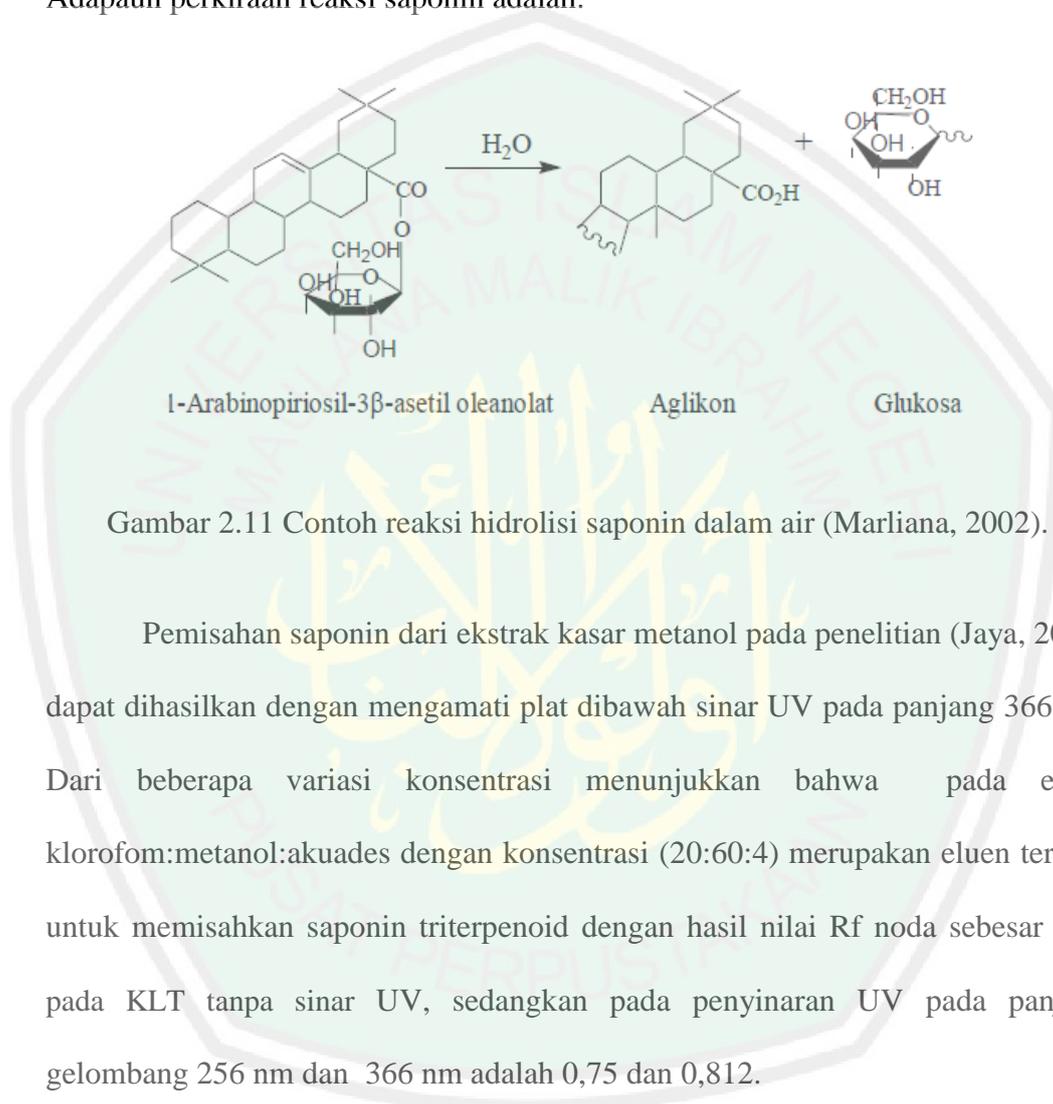


Gambar 2.10 Struktur inti senyawa Saponin (Robinson, 1995)

Pengujian adanya saponin dalam penelitian (Fitriyani, 2011) dapat dilakukan pada ekstrak metanol daun sirih merah sebanyak 0.3g dalam tabung reaksi, ditambah air suling 10mL, dikocok kuat-kuat selama 30 detik. Tes buih mengandung saponin bila terjadi buih yang stabil selama lebih dari 30 menit

dengan tinggi 3 cm di atas permukaan cairan. Hasil Uji buih menghasilkan buih stabil yang menunjukkan adanya saponin dalam ekstrak daun sirihmerah.

Adapaun perkiraan reaksi saponin adalah:



Gambar 2.11 Contoh reaksi hidrolisi saponin dalam air (Marliana, 2002).

Pemisahan saponin dari ekstrak kasar metanol pada penelitian (Jaya, 2010) dapat dihasilkan dengan mengamati plat dibawah sinar UV pada panjang 366 nm. Dari beberapa variasi konsentrasi menunjukkan bahwa pada eluen klorofom:metanol:akuades dengan konsentrasi (20:60:4) merupakan eluen terbaik untuk memisahkan saponin triterpenoid dengan hasil nilai Rf noda sebesar 0,75 pada KLT tanpa sinar UV, sedangkan pada penyinaran UV pada panjang gelombang 256 nm dan 366 nm adalah 0,75 dan 0,812.

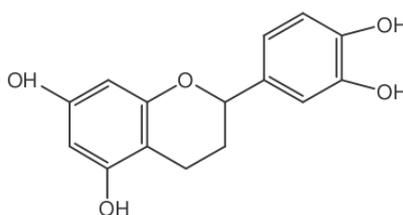
Penelitian Wonohadi *dkk*, (2006) menunjukkan bahwa hasil skrining kandungan kimia secara KLT fraksi etanol ekstrak etanol daun Rimpang Putih Giring menunjukkan adanya golongan saponin yang menggunakan campuran kloroform:metanol:air (64:50:10) dengan penampak noda Lieberman Burchard (110 °C, 5 – 10 menit) dan menghasilkan noda biru (Rf 0,17). (Suharto *dkk*, 2009) mengisolasi senyawa saponin dari ekstrak methanol batang Pisang Ambon

menggunakan eluen kloroform:metanol:air (13:7:2) yang disemprot dengan pereaksi LB menghasilkan noda dengan Rf 0,275-0,375 bewarna hijau pada pengamatan dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm.

Rahayu dan Astitu (2009) mengisolasi saponin dari fraksi n-butanol *Aloe barbadensis* Miller menggunakan eluen butanol:metanol:air (2:4:4) yang disemprot dengan pereaksi LB menghasilkan warna ungu yang dideteksi dibawah sinar UV. (Widriyanti *dkk*, 2005) mengidentifikasi senyawa saponin dari ekstrak etanol daun sirih merah menggunakan eluen kloroform:metanol (95:5) dengan penyemprot pereaksi LB menghasilkan noda dengan Rf 0,65 (biru) dimana Rf pembanding adalah 0,48, 9,61, dan 0,83 pada sinar UV 254 dan 366.

### 2.7.6 Tanin

Tanin merupakan golongan senyawa fenol yang terdapat pada daun, buah yang belum matang, merupakan golongan senyawa aktif tumbuhan yang termasuk golongan flavonoid, mempunyai rasa sepat dan mempunyai kemampuan menyamak kulit. Secara kimia tanin dibagi menjadi dua golongan, yaitu tanin terkondensasi atau tanin katekin dan tanin terhidrolisis atau tanin galat (Robinson, 1995).



Gambar 2.12 Contoh struktur senyawa Tanin (Robinson,1995)

Secara kimia terdapat dua jenis tannin yang tersebar tidak merata dalam dunia tumbuhan yaitu tannin terkondensasi (proantosianidin) dan tanin terhidrolisis (*Hydrolyzable tannin*) (Harbone, 1987).

#### 2.7.6.1 Tanin Terkondensasi

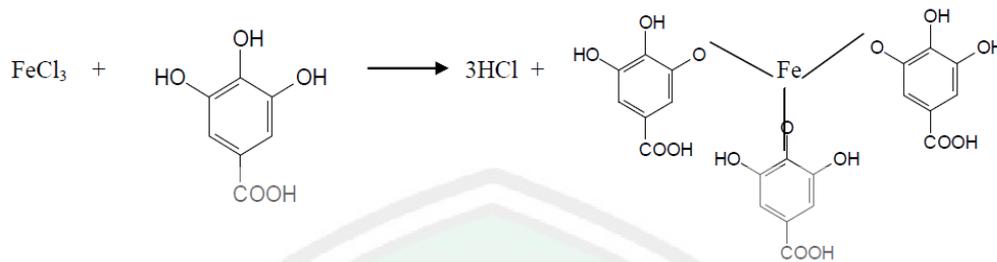
Tannin terkondensasi secara biosintesis dapat dianggap terbentuk dengan cara kondensasi katekin tunggal (galokatekin) yang membentuk senyawa dimer dan kemudian oligomer yang lebih tinggi. Proantosianidin merupakan nama lain dari tanin terkondensasi karena jika direaksikan dengan asam panas, beberapa ikatan karbon penghubung satuan terputus dan dibebaskanlah monomer antosianidin (Harbone, 1987).

Proantosianidin dapat dideteksi langsung dalam jaringan tumbuhan hijau dengan mencelupkan ke dalam HCl 2 M mendidih selama setengah jam. Bila terbentuk warna merah yang dapat diekstraksi dengan amil atau butyl alcohol, maka ini merupakan bukti adanya senyawa tersebut ((Harbone, 1987).

#### 2.7.6.2 Tanin Terhidrolisis

Sifat kimia dari gallotanin adalah berwarna coklat jika terkena cahaya, dengan albumin, tepung gelatin, alkaloid dan garam metalik memberikan endapan yang tidak larut, sedangkan dengan  $\text{FeCl}_3$  memberikan warna biru kehitaman, pada suhu  $215\text{ }^\circ\text{C}$  akan terdekomposisi menjadi pirogalol dan  $\text{CO}_2$  (Tyler, 1947).

Adapun perkiraan reaksi tanin adalah:



Gambar 2.13 Contoh pembentukan reaksi tanin dengan gelatin (Sangi, 2012).

Beberapa penelitian terdahulu menggunakan metode kromatografi kertas untuk deteksi senyawa tanin. Menurut penelitian (Mustikasari dkk, 2010) Identifikasi kandungan ekstrak metanol tanin pada biji kalangkala dapat dilakukan dengan pendidihan air dan penambahan ferikloroda 1%. Hasil terbentuknya warna hijau kebiruan menunjukkan positif mengandung senyawa tanin.

Mangunwardoyo (2009) menyatakan bahwa untuk identifikasi golongan senyawa tanin dari herba meniran dapat dilakukan dengan menggunakan eluen n-heksana:etil asetat (6:4) yang menghasilkan 11 noda, akan tetapi yang menunjukkan positif adanya golongan tanin adalah noda ke- 6 yang berwarna hijau kekuningan dengan nilai Rf sebesar 0,65 dengan pereaksi  $\text{FeCl}_3$ .

Fitriyani (2011) menggunakan campuran eluen kloroform-metanol-air (7:3:0,4) dari ekstrak metanol daun Sirih Merah menghasilkan 1 noda berwarna hitam dengan nilai Rf 0,5. (Yulia, 2006) menyatakan bahwa untuk identifikasi golongan tanin dapat menggunakan campuran eluen n-butanol-asam asetat-air (2:0,5:1,1) dari daun Teh Var. *Assamica* menunjukkan 8 noda yang berwarna lembayung dengan nilai Rf 0.6190 – 0,6548.

Sriwahyuni (2010) menyatakan bahwa identifikasi golongan tanin dari ekstrak etil asetat tanaman anting-anting menggunakan eluen butanol-asam asetat-

air (14:1:5) menunjukkan 2 noda di bawah sinar UV 366 nm yang berwarna ungu (Rf 0,61) dan ungu kehitaman (Rf 0,8) setelah disemprot dengan FeCl<sub>3</sub>. Sedangkan untuk eluen asam asetat glasial-air-HCl pekat (30:10:3) menunjukkan 2 noda yang berwarna ungu kehitaman (Rf 0,4) dan ungu (Rf 0,489).

Menurut Widyowati, dkk, (2010) identifikasi tanin ekstrak metanol daun *Garcinia celebica* L. dapat dilakukan dengan menggunakan fase gerak kloroform : etil asetat:asam formiat (0,5:9,0:0,5) dan penampak noda FeCl<sub>3</sub> diperoleh noda berwarna hitam dengan nilai Rf 0,48 yang positif menunjukkan senyawa tannin.

## 2.8 Analisis Probit

Analisis probit merupakan analisis yang digunakan untuk menghitung nilai LC<sub>50</sub> dari data uji toksik dari suatu senyawa dengan metode BSLT. LC<sub>50</sub> merupakan nilai respon objek yang diteliti oleh adanya stimulus dari hewan uji dengan mengetahui respon berupa mortalitas/kematian. Efek toksik dianalisis dari pengamatan dengan persen kematian melalui rumus berikut (Sangi, 2012).

$$\% \text{ Larva} = \frac{\text{Jumlah larva yang mati}}{\text{Jumlah larva uji}} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (2.2)$$

Dengan mengetahui kematian larva (hewan uji), kemudian dicari angka probit melalui Tabel dan dibuat persamaan garis:

$$Y = BX + A \quad \dots\dots\dots (2.3)$$

Dimana, Y = Log konsentrasi dan X = Angka probit. Dari persamaan tersebut kemudian dihitung nilai LC<sub>50</sub> dengan memasukkan nilai probit (50% kematian).

Minitab menyediakan beberapa pengolahan data untuk melakukan analisis regresi, membuat ANOVA, alat-alat pengendalian statistika *design* eksperimen, peramalan dengan analisis reabilitas, analisis *multivariate* serta menganalisis data kualitatif menggunakan *cross tabulation*. Apabila dibandingkan dengan program statistika lainnya, program minitab telah diakui sebagai program yang akurat dengan akurasi taksiran statistika yang tinggi (95%). Keuntungan minitab adalah dapat digunakan dalam pengolahan data statistik untuk tujuan sosial tau teknik (Iriawan dan Astuti, 2006).



## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian dengan judul “Uji Sitotoksik Akar Rumput Bambu (*Lophatherum gracile B.*) dengan Variasi Pelarut Melalui Metode BSLT dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktifnya” dilakukan pada bulan Nopember 2013 sampai bulan Maret 2014 dan bertempat di Laboratorium Biokimia dan Laboratorium Organik Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

#### **3.2 Alat dan Bahan Penelitian**

##### **3.2.1 Alat**

##### **3.2.1.1 Preparasi Sampel**

Alat-alat yang digunakan proses preparasi sampel diantaranya blender, gunting, dan ayakan 60 mesh.

##### **3.2.1.2 Analisis Kadar Air**

Alat-alat yang digunakan untuk analisis kadar air diantaranya adalah oven, loyang, cawan penguap, desikator, neraca analitik, dan penjepit kayu.

##### **3.2.1.3 Ekstraksi Senyawa Aktif dengan Maserasi**

Alat-alat yang digunakan untuk ekstraksi senyawa aktif dengan maserasi diantaranya neraca analitik, kaca arloji, erlenmeyer 500 mL, *aluminium foil*,

*shaker*, gelas ukur 100 mL, *beaker glass* 100 mL, kertas saring, penyaring *buchner*, *rotary evaporator*, erlenmeyer 500 mL, botol vial, dan desikator.

#### **3.2.1.4 Uji Sitotoksik dengan BSLT**

Alat-alat yang digunakan untuk uji sitotoksik dengan BSLT diantaranya botol vial, spatula, tempat penetetasan larva udang, neraca analitik, *beaker glass* 50 mL, mikropipet ukuran 2–20  $\mu$ L, pipet tetes, *aerator*, lampu dan labu ukur 10 mL.

#### **3.2.1.5 Uji Fitokimia**

Alat-alat yang digunakan uji fitokimia diantaranya tabung rekasi, bola hisap, rak tabung reaksi, pipet tetes, penjepit kayu, *vortex* dan pipet ukur 5 mL.

#### **3.2.1.6 Pemisahan Ekstrak Aktif dengan KLT**

Alat-alat untuk pemisahan ekstrak aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA) menggunakan plat silika gel F<sub>254</sub>, bejana pengembang dan lampu UV.

### **3.2.2 Bahan**

#### **3.2.2.1 Ekstraksi Senyawa Aktif dengan Maserasi**

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah akar rumput bambu, n-heksana p.a, kloroform p.a, dan etanol 80 %.

#### **3.2.2.2 Uji Sitotoksik dengan BSLT**

Bahan-bahan yang digunakan dalam uji sitotoksik dengan BSLT diantaranya larva udang Larva udang *Artemia Salina* L., NaCl, larutan ragi roti, dan aquades.

### 3.3.2.3 Uji Fitokimia

Bahan-bahan yang digunakan untuk uji fitokimia diantaranya aquades, larutan HCl 2 %, larutan metanol 50 %, logam Mg, larutan FeCl<sub>3</sub>, larutan gelatin, reagen Dragendroff, reagen Meyer, pereaksi Lieberman Burchard, larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, larutan formaldehid 3%, dan Na-asetat.

### 3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui pengujian eksperimental di laboratorium. Sampel diambil dari bagian akar dari tanaman rumput bambu kemudian tersebut dicuci bersih untuk menghilangkan kotoran-kotoran yang menempel, ditiriskan dan dipotong kecil-kecil. Tahapan penelitian yang pertama adalah analisis kadar air. Sampel akar rumput bambu segar diambil sebanyak 5 g untuk dianalisis kadar airnya. Kemudian sampel dibuat serbuk menggunakan blender dan diayak dengan ayakan ukuran 60 mesh.

Tahapan penelitian selanjutnya adalah serbuk sampel diambil 60 g untuk diekstraksi maserasi dengan menggunakan 3 pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda yaitu n-heksana p.a, kloroform p.a, dan etanol 80%. Ekstraksi pertama dengan merendam 60 g sampel kedalam pelarut n-heksan p.a 300 mL selama 24 jam, kemudian *dishaker* selama 3 jam. Setelah itu disaring untuk memisahkan antara filtrat dan ampasnya, selanjutnya ampas dikeringkan dari pelarut n-heksana p.a serta dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali dengan perlakuan yang sama. Selanjutnya ampas yang telah kering direndam dan

diekstraksi kembali dengan pelarut kloroform kemudian etanol 80%, dan masing-masing pelarut dilakukan 3 kali pengulangan dengan perlakuan yang sama.

Ekstrak yang diperoleh selanjutnya diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak pekat pada masing-masing pelarut. Kemudian masing-masing ekstrak diuji sitotoksiknya untuk mengetahui tingkat kematian larva udang *Artemia salina* L. melalui nilai  $LC_{50}$  dan uji ini dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali untuk masing-masing ekstrak. Konsentrasi yang digunakan untuk uji sitotoksik ini adalah 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 12,50 ppm, 6,25 ppm, 3,12 ppm, 1,56 ppm, dan 0,78 ppm, 0,39 ppm, dan 0,20 ppm. Serta 0 ppm untuk kontrol negatifnya (Morshed, dkk., 2012).

Tahap penelitian yang selanjutnya adalah uji fitokimia menggunakan ekstrak yang mempunyai nilai sitotoksik paling tinggi (nilai  $LC_{50}$  paling rendah), untuk mengidentifikasi golongan senyawa yang terkandung di dalamnya. Pengujian dengan reagen ini meliputi golongan senyawa alkaloid dengan reagen Dragendorff dan Meyer, flavonoid dengan logam Mg dan larutan HCl pekat, saponin dengan larutan HCl 1 N, triterpenoid/steroid dengan reagen Liebermann Burcahard, dan tanin dengan larutan gelatin serta  $FeCl_3$ .

Pengujian selanjutnya dilakukan dengan KLT berdasarkan kandungan golongan senyawa yang positif dari hasil uji reagen, untuk mendukung hasil identifikasi adanya kandungan golongan senyawanya. Uji KLT ini menggunakan plat silika gel F<sub>254</sub> yang disinari di bawah sinar UV pada panjang gelombang 366 nm.

### 3.4 Tahapan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tahapan-tahapan sebagai berikut:

1. Preparasi sampel
2. Analisis kadar air
3. Ekstraksi senyawa aktif dengan maserasi
4. Uji sitotoksik dengan larva udang *Artemia salina* L.
5. Uji fitokimia senyawa yang aktif dengan uji reagen
6. Pemisahan ekstrak aktif dengan KLTA

### 3.5 Pelaksanaan Penelitian

#### 3.5.1 Preparasi Sampel

Sampel tanaman rumput bambu diambil bagian akarnya, kemudian dicuci bersih, dikeringkan dengan angin-angin. Selanjutnya sampel dipotong kecil-kecil dengan gunting dan dikeringkan dengan metode kering angin. Kemudian sampel kering dihaluskan dengan blender sampai menjadi serbuk dan diayak dengan ayakan 60 mesh. Kemudian hasil serbuk akar rumput bambu yang diperoleh ini digunakan sebagai sampel proses ekstraksi senyawa aktif dengan metode maserasi.

#### 3.5.2 Analisis Kadar Air

Analisis kadar air dilakukan dengan metode *thermografi* yaitu dengan pemanasan dengan metode modifikasi (Modifikasi AOAC 1984, dalam Mokonginta, 2013). Analisis ini dilakukan untuk akar rumput bambu yang dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Cawan yang digunakan dipanaskan

dalam oven pada suhu 100 – 105 °C selama ± 15 menit untuk menghilangkan kadar airnya, kemudian cawan disimpan dalam desikator selama ± 15 menit. Cawan tersebut selanjutnya ditimbang dan dilakukan perlakuan yang sama sampai diperoleh berat cawan yang konstan. Sampel akar rumput bambu dipotong kecil-kecil, sampel ditimbang sebanyak 5 g dan dimasukkan ke dalam cawan yang telah diketahui beratnya, selanjutnya dikeringkan di dalam oven pada suhu 100 – 105 °C selama sekitar 30 menit. Sampel kering didinginkan dalam desikator selama ± 10 menit dan ditimbang. Sampel tersebut dipanaskan kembali dalam oven ± 30 menit pada suhu yang sama, didinginkan dalam desikator dan ditimbang kembali. Perlakuan ini diulangi sampai tercapai berat konstan. Kadar air dalam tanaman dihitung menggunakan rumus berikut:

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

Keterangan: a = berat konstan cawan kosong

b = berat cawan + sampel sebelum dikeringkan

c = berat konstan cawan + sampel setelah dikeringkan

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

% Kadar air terkoreksi = Kadar air – Faktor koreksi

### 3.5.3 Ekstraksi Senyawa Aktif dengan Maserasi

Serbuk akar rumput bambu yang diperoleh dari preparasi dilakukan tahap ekstraksi komponen aktif dengan metode modifikasi dari Rita (2008) menggunakan ekstraksi maserasi/perendaman dengan pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda yaitu n-heksana p.a, kloroform p.a, dan etanol 80%. Ekstraksi dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan pada masing-masing

pelarut yang dimungkinkan kandungan senyawa dari akar rumput bambu sudah banyak terekstrak. Serbuk akar rumput bambu ditimbang sebanyak 60 g, lalu diekstraksi dengan perendaman menggunakan 300 mL pelarut n-heksana p.a selama 24 jam, kemudian *dishaker* selama 3 jam, kemudian disaring dan ampas yang diperoleh dimaserasi kembali dengan pelarut yang sama dan dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan sampai filtratnya berwarna bening. Selanjutnya disaring dan ampasnya dikeringkan pada suhu ruang hingga terbebas dari pelarut n-heksana p.a, sedangkan ketiga filtratnya digabung menjadi satu. Ampas yang terbebas dari pelarut diekstraksi kembali dengan pelarut yang berbeda menggunakan tahap perlakuan yang sama.

Ketiga ekstrak yang diperoleh masing-masing dipekatkan dengan *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak pekat n-heksana, kloroform, dan etanol 80 %. Ketiga ekstrak pekat yang diperoleh selanjutnya diuji sitotoksiknya dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* L. Hasil uji ekstrak yang mempunyai tingkat sitotoksik paling tinggi terhadap larva udang tersebut, maka dilakukan pengujian lebih lanjut yaitu uji fitokimia dengan uji reagen untuk mengetahui golongan senyawa yang terdapat di dalamnya dan uji KLT untuk mendukung hasil identifikasi golongan senyawanya dari uji fitokimia.

### **3.5.4 Uji Sitotoksik dengan Larva Udang *Artemia salina* Leach**

#### **3.5.4.1 Penetasan Telur (Harmita, 2006)**

Air laut sebanyak 250 mL dan dimasukkan dalam botol penetasan dan diberi penerangan dengan cahaya lampu pijar/neon 40-60 watt agar suhu

penetasan 25 °C - 30 °C tetap terjaga. Telur *Artemia salina* L. sebanyak 2,5 mg dimasukkan dalam air laut tersebut. Kemudian diaerasi dalam waktu  $\pm$  48 jam. Sehingga larva udang yang telah menetas siap digunakan sebagai hewan uji dalam uji sitotoksik.

#### 3.5.4.2 Uji Sitotoksik

Perlakuan uji sitotoksik dilakukan 3 kali ulangan pada masing-masing ekstrak sampel. Botol disiapkan untuk pengujian, masing-masing ekstrak membutuhkan 30 botol dan 3 botol sebagai kontrol. Ekstrak kental n-heksana p.a, kloroform p.a, dan etanol 80%, ditimbang sebanyak 10 mg dan dilarutkan dengan menggunakan pelarutnya sebanyak 10 mL untuk membuat larutan stok 1000 ppm. Kemudian dipipet larutan masing-masing sebanyak larutan yang diperoleh selanjutnya dipipet masing-masing dari larutan stok sebanyak 1 mL; 0,5 mL; 0,25 mL; 0,12 mL; 0,062 mL; 0,0312 mL; 0,0156 mL; 0,0078 mL; 0,0039 mL; dan 0,0019 mL (Morshed, 2012). Kemudian dimasukkan kedalam gelas vial dan pelarutnya diuapkan hingga terbebas dari pelarut. Ekstrak dipindahkan kedalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan dimetil sulfoksida sebanyak 100  $\mu$ L, setetes larutan ragi roti, dan ditambahkan air laut sampai mencapai tanda batas 10 mL. Kemudian dikocok sampai ekstrak larut dalam air laut. Larutan dipindahkan ke dalam botol vial dan dimasukkan 10 ekor larva udang *Artemia Salina* L. masing-masing ekstrak.

Kontrol yang digunakan sebagai pembanding dalam penelitian ini adalah Kontrol negatif. Kontrol negatif dibuat dengan dimasukkan 2 mL air laut, 100  $\mu$ L dimetil sulfoksida, dan 1 tetes larutan ragi roti ke dalam gelas vial, kemudian

diaduk hingga larut. Selanjutnya larutan dipindahkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditanda bataskan dengan penambahan air laut sampai volume 10 mL. Selanjutnya larutan dipindahkan ke dalam botol vial dan dimasukkan larva udang *Artemia salina* L. sebanyak 10 ekor.

Pengamatan dilakukan selama 24 jam terhadap kematian larva udang *Artemia salina* L. Parameter pada penelitian ini adalah larva udang yang tidak menunjukkan pergerakan selama 10 menit, tenggealam di dasar botol vial, mengalami gerakan tidak teratur yakni *Artemia salina* L. tetap aktif bergerak tetapi tetap berputar-putar pada satu titik/mati (Nurhayati *dkk*, 2006). Kemudian dihitung larva udang yang mati dengan rumus berikut (Sangi, 2012):

$$\% \text{ mortalitas} = \frac{\text{jumlah artemia yang mati}}{\text{jumlah artemia yang diuji}} \times 100\% \dots\dots\dots(3.3)$$

Selanjutnya angka kematian untuk mencari LC<sub>50</sub> dicari dengan menggunakan grafik persamaan regresi linier dan mensubstitusikan dengan angka probit. Ekstrak yang memiliki tingkat sitotoksik yang paling tinggi (nilai LC<sub>50</sub> paling rendah), kemudian dilakukan fitokimia untuk mengetahui golongan senyawa yang terdapat dalam ekstrak. Sehingga dapat dipisahkan menggunakan metode KLT Analitik.

### 3.5.5 Uji Fitokimia dengan Uji Reagen

Uji fitokimia kandungan golongan senyawa aktif dengan uji reagen dari ekstrak pekat n-heksana p.a, kloroform p.a, dan etanol 80% dari akar rumput

bambu dilakukan pada ekstrak yang memiliki tingkat sitotoksik paling tinggi (memiliki nilai  $LC_{50}$  paling rendah) dilarutkan dengan sedikit masing-masing pelarutnya. Kemudian dilakukan terhadap uji alkaloid, flavonoid, triterpenoid, steroid, saponin, dan tanin.

#### **3.5.5.1 Uji Alkaloid (Mustarichie dkk, 2011)**

Sampel diambil sedikit, ditambah dengan HCl 2 M dan dipanaskan diatas penangas air sambil diaduk, kemudian didinginkan hingga suhu kamar. NaCl serbuk ditambahkan, diaduk dan disaring, kemudian filtrat ditambah HCl 2 M hingga volume tertentu. Filtrat dibagi ke dalam dua tabung reaksi, tabung 1 ditambahkan reagen wagner dan tabung 2 sebagai blangko. Tabung 1 diamati terbentuknya endapan dan dibandingkan dengan tabung 2. Jika tidak terbentuk endapan, bahan tidak mengandung alkaloid dan jika terbentuk endapan bahan mengandung alkaloid.

#### **3.5.5.2 Uji Flavonoid (Indrayani, 2006)**

Ekstrak akar rumput bambu yang memilki tingkat sitotoksik yang paling tinggi diambil sebanyak 2 mg 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. Hasil uji reagen ini selanjutnya digunakan pada tahap uji fitokimia dengan KLT analitik untuk mengidentifikasi golongan flavonoid.

### **3.5.5.3 Uji Triterpenoid dan Steroid (Indrayani, 2006)**

Ekstrak akar rumput bambu yang memiliki tingkat sitotoksik yang paling tinggi diambil sebanyak 2 mg 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. Hasil uji reagen ini selanjutnya digunakan pada tahap uji fitokimia dengan KLT analitik untuk mengidentifikasi golongan triterpenoid maupun steroid.

### **3.5.5.4 Uji Saponin (Halimah, 2010)**

Ekstrak akar rumput bambu yang memiliki tingkat sitotoksik yang paling tinggi diambil sebanyak 2 mg dimasukkan dalam tabung reaksi ditambah air (1:1) sambil dikocok selama 1 menit, apabila menimbulkan busa ditambahkan 2 tetes HCl 1 N dan dibiarkan selama 10 menit, bila busa yang terbentuk bisa tetap stabil maka ekstrak positif mengandung saponin. Hasil uji reagen ini selanjutnya digunakan pada tahap uji fitokimia dengan KLT analitik untuk mengidentifikasi golongan saponin.

### **3.5.5.5 Uji Tanin**

#### **3.5.5.5.1 Uji dengan FeCl<sub>3</sub> (Indrayani, 2006)**

Ekstrak akar rumput bambu sebanyak 2 mg dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan dengan 2-3 tetes larutan FeCl<sub>3</sub> 1 %. Jika larutan

menghasilkan warna hijau kehitaman atau biru tinta, maka bahan tersebut mengandung tanin.

#### **3.5.5.5.2 Uji dengan Larutan Gelatin (Halimah, 2010)**

Ekstrak akar rumput bambu sebanyak 2 mg dimasukkan dalam tabung reaksi ditambah dengan larutan gelatin. Jika terbentuk endapan putih, menunjukkan adanya tanin.

#### **3.5.6 Uji Senyawa Aktif dengan KLTA (Rohman, 2007)**

Hasil uji reagen golongan senyawa yang positif pada masing-masing ekstrak selanjutnya dilakukan identifikasi masing-masing golongan metabolit sekunder dengan uji fitokimia dan menggunakan KLT analitik. Metode modifikasi Sriwahyuni (2010) dilakukan terhadap hasil uji fitokimia dengan uji reagen.

##### **a. Persiapan Plat KLT**

Identifikasi dengan KLT digunakan plat silika gel 60 F<sub>254</sub> dengan ukuran 60 mesh yang mampu berfluoresensi dibawah lampu UV pada panjang gelombang minimum 254 nm. Plat KLT disiapkan dengan dibuat ukuran 1 cm x 10 cm dengan menggunakan pensil, penggaris dan *cutter*. Selanjutnya garis digambar dengan pensil pada bagian bawah plat ( 1cm dari tepi bawah dan 0,5 cm dari tepi atas plat), lalu diberi penandaan pada garis di bagian bawah untuk menunjukkan posisi awal totolan. Plat KLT silica gel GF<sub>254</sub> diaktivasi terlebih dahulu di dalam oven pada suhu 80 °C selama 30 menit untuk menghilangkan air yang terdapat pada plat KLT.

### **b. Persiapan Fase Gerak (Eluen)**

Setiap golongan memiliki campuran fase gerak yang berbeda. Setiap campuran fase gerak dimasukkan ke dalam *great chamber* lalu ditutup rapat dan dilakukan proses penjenuhan selama 20-30 menit. Cara untuk mengetahui eluen sudah jenuh atau belum adalah dengan digunakan kertas saring untuk pemeriksaannya yaitu dengan membasahi kertas saring dengan uap eluen. Penjenuhan ini dilakukan untuk menyamakan tekanan uap pada seluruh bagian bejana pengembang.

### **c. Penotolan Sampel**

Ekstrak pekat akar rumput bambu diambil 0,02 g dan dilarutkan dengan 1,5 mL pelarutnya. Kemudian ditotolkan ekstrak sebanyak 1 $\mu$ L (1-10 totolan) pada jarak 1 cm dari tepi bawah plat dengan menggunakan pipa kapiler. Kemudian dikeringkan dengan *hair dryer*.

### **d. Pengembangan**

Ekstrak yang telah ditotolkan pada plat KLT selanjutnya di elusi dengan masing-masing fase gerak golongan senyawanya. Plat KLT dimasukkan ke dalam *great chamber* yang berisi fase gerak yang telah jenuh, kemudian diletakkan pada jarak setinggi  $\pm 0,5$  cm dari dasar plat KLT, selanjutnya *great chamber* ditutup rapat selama 10 menit hingga fase geraknya mencapai jarak  $\pm 0,5$  cm dari tepi atas plat. Kemudian plat diangkat dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan.

### **e. Identifikasi Noda**

Noda atau bercak yang terbentuk pada plat KLT silika gel F<sub>254</sub> diamati dibawah sinar UV pada panjang gelombang 366 nm, kemudian disemprot dengan

penampak noda, dipanaskan di oven pada suhu 60 °C selama 10 menit, selanjutnya diamati masing-masing noda yang terbentuk. Pengamatan noda meliputi jumlah noda, warna noda dan jarak migrasi noda dari tempat asalnya atau perhitungan nilai Rf.

Adapun eluen pengembang dan reagen penyemprot masing-masing golongan senyawa adalah sebagai berikut:

### **1) Golongan Senyawa Alkaloid:**

Pada penentuan senyawa ini digunakan pengembang fase gerak kloroform:metanol (3:2) (Runadi,2007), fase gerak kloroform:n-heksana (2:1) (Susilaningih, 2007), eluen kloroform:metanol (9:1) dan (9,5:0,5) dan disemprot reagen Dragendorff, (Sriwahyuni, 2010), eluen kloroform-metanol (1:4) dan disemprot reagen Dragendorff (Widi, 2007), eluen etil asetat:metanol:air (100:16,5:13,5) dan disemprot reagen Dragendorff (Marlina, dkk, 2005) dan menggunakan eluen kloroform:metanol (5:1) dan disemprot reagen dragendroff (Sukardiman, 2006).

### **2) Golongan Senyawa Flavonoid:**

Pada penentuan senyawa ini digunakan eluen n-butanol:asam asetat:air (4:1:5) (Koirewoa, 2013), metanol:kloroform (1:39) dengan disemprot amoniak (Suyoso, 2011), metanol:kloroform (1:9) dengan disemprot amoniak (Milyasari, 2010), eluen metanol (Mardisadora, 2010), n-butanol:asam asetat:air (4:1:5), kloroform:metanol (2:8), n-butanol:kloroform (1:1), metanol:asam asetat:air (3:1:5), dan n-heksana:kloroform:metanol (2:2:1) (Sukadana, 2009).

### **3) Golongan Senyawa Triterpenoid:**

Pada penentuan senyawa ini digunakan campuran eluen n-heksana:etil asetat (2:8) disemprom reagen LB (Halimah, 2010), benzena:kloroform (3:7) dan n-heksana:etil asetat (1:1) disemprom reagen LB (Sriwahyuni, 2010), kloroform:metanol (3:7) disemprom reagen LB (Gunawan *dkk*, 2008), dan eluen n-heksana:etil asetat (2:1) dengan disemprom menggunakan reagen LB (Gunawan, 2003), fase gerak n-heksana:etil asetat (8:2) (Reveny (2011), kloroform:etilasetat (1:1), kloroform:n-heksana (1:2), n-heksana:kloroform (3:7) (Santi (2009).

#### **4) Senyawa Steroid:**

Pada penentuan senyawa ini digunakan eluen campuran eluen heksana:etil asetat (4,5:0,5) dengan disemprom reagen LB (Panambunan, 2013), fase gerak heksana:etil asetat (7:3) dengan disemprom dengan pereaksi Lieberman-Burchard (Hayati, 2012), eluen heksana:etil asetat (8:2) dan (6:4) dengan disemprom pereaksi LB (Reveny, 2011), dan dilakukan KLT dengan cairan elusi n-heksana:aseton (7:3) deteksi dengan sinar UV 366 nm (Syamsudin, 2010).

#### **5) Golongan Senyawa Saponin:**

Pada penentuan senyawa ini digunakan eluen kloroform:metanol:air (64:50:10) (Wonohadi, *dkk* 2006), eluen butanol:etanol:air (2:4:4) (Rahayu, 2009), kloroform:metanol:air (13:7:2) dengan disemprom menggunakan reagen LB (Suharto *dkk*, 2009), dan menggunakan eluen kloroform:metanol (95:5) dengan disemprom menggunakan reagen LB (Widriyati *dkk*, 2005) dan fase gerak kloroform:metanol:akuades (20:60:4) (Jaya, 2010).

#### **6) Golongan Senyawa Tanin:**

Pada penentuan ini digunakan eluen campuran fase gerak kloroform:etil asetat:asam formiat (0,5:9,0:0,5) dan penampak noda  $\text{FeCl}_3$  (Widyowati, dkk, 2010), kloroform:metanol:air (7:3:0,4) (Fitriyani, 2011), eluen butanol:asam asetat:air (14:1:5) dan eluen asam asetat glasial:air:HCl pekat (30:10:3) (Sriwahyuni, 2010), n-butanol:asam asetat:air (2:0,5:1,1) (Yulia, 2006), n-heksana:etil asetat (6:4) (Mangunwardoyo, 2009) dengan perekasi  $\text{FeCl}_3$ .

### 3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dibuat dalam bentuk tabel dan grafik, kemudian dideskripsikan hasilnya. Tingkat kematian larva udang *Artemia salina* Leach dapat diketahui dengan melakukan uji  $\text{LC}_{50}$  dengan analisa probit dengan tingkat kepercayaan 95 % untuk masing-masing konsentrasi menjadi 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 12,5 ppm, 6,25 ppm, 3, 12 ppm, 1,56 ppm, 0,78 ppm, 0,39 ppm, 0,20 ppm dan 0 ppm menggunakan program MINITAB 16.

Penggolongan senyawa aktif dapat dilakukan dengan identifikasi hasil uji warna dengan kepekatan warna yang dihasilkan pada masing-masing ekstrak dengan tanda berikut:

1. ++ : terkandung senyawa lebih banyak/warna pekat.
2. + : terkandung senyawa /warna muda.
3. - : tidak terkandung senyawa/tidak terbentuk warna.

Identifikasi kemurnian senyawa aktif dapat diketahui dengan melakukan analisa hasil uji KLT dari pengukuran jarak migrasi dan bentuk bercak noda senyawa pada dua fasa yang berbeda menggunakan parameter harga Rf.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) dilakukan di UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Pasuruan. Hal ini dilakukan untuk memastikan bahwa sampel yang digunakan dalam penelitian ini benar-benar tumbuhan yang dimaksud, sebagai usaha untuk menghindari terjadinya kesalahan pengumpulan bahan atau sampel yang akan berpengaruh pada hasil analisis dan mencegah tercampurnya sampel yang dikoleksi dengan tumbuhan lain. Berdasarkan hasil determinasi tersebut diperoleh bahwa tanaman yang dikoleksi untuk kemudian dijadikan sampel penelitian merupakan bagian dari tanaman rumput rambu (*Lophatherum gracile* Brongn). Sebagaimana pada Gambar 4.1 berikut.



Gambar 4.1 Rumput rambu (*Lophatherum gracile* Brongn).

## 4.2 Preparasi Sampel

Sampel akar rumput rambu dicuci pada air mengalir agar terbebas dari tanah, debu atau pengotor yang menempel pada permukaan sampel. Selanjutnya dikeringkan dengan metode kering angin untuk mengurangi kadar air agar sampel terhindar dari pembusukan mikroba. Tanda sampel benar-benar kering adalah dapat dipatahkan dengan mudah dan tidak dapat digigit (Endrasari, 2013). Sehingga proses pembuatan serbuk sampel mudah untuk dilakukan.

Pembuatan serbuk sampel dilakukan dengan menggunakan ayakan 60 mesh. Ukuran partikel 60 mesh merupakan ukuran yang optimal untuk jenis sampel akar atau rimpang dalam proses ekstraksi (Seming, 2005). Pembuatan simpliasa ini digunakan 500 gram sampel akar rumput bambu basah berwarna coklat kehitaman, dan diperoleh 60 gram serbuk kering akar rumput bambu berwarna coklat muda berukuran 60 mesh dengan rendemen 12 % (b/b).

## 4.3 Analisis Kadar Air

Analisis kadar air dilakukan sebagai usaha untuk mengetahui prosentase kandungan air yang terdapat di dalam sampel dengan cara pengeringan. Prinsipnya adalah menguapkan air yang ada dalam sampel dengan jalan pemanasan menggunakan oven pada suhu 105 °C hingga diperoleh berat konstan (Modifikasi AOAC 1984, dalam Mokonginta 2013). Pemanasan pada suhu di atas titik didih air bertujuan untuk memaksimalkan penguapan air yang ada dalam sampel. Hal ini terkait dengan kemampuan sampel untuk melepaskan air dari permukaannya akan

semakin maksimal dengan suhu udara pengeringan yang tinggi (Histifarina, 2004). Selisih berat sampel sebelum dan sesudah pengeringan menunjukkan banyaknya air yang telah diuapkan. Hasil prosentase kadar air akar rumput bambu pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Kadar air akar rumput rambu (*Lophaterum gracile* Brongn)

Akar rumput bambu ( <i>Lophaterum gracile</i> B.)	Warna	Kadar air %
Sampel basah	Coklat kehitaman	55,96 %
Sampel kering	Coklat muda	7,49 %

Berdasarkan hasil analisis kadar air sampel kering yakni sebesar 7,49 % dapat diketahui bahwa sampel yang dianalisis memiliki kadar air yang cukup baik untuk dilakukan proses ekstraksi secara maksimal. Apabila keberadaan air cukup tinggi akan mempersulit proses ekstraksi. Karena sifat dari senyawa-senyawa metabolit sekunder adalah polar, semipolar dan nonpolar (Farichah, 2010). Disamping itu, keberadaan air juga berpengaruh pada proses pemekatan sampel (ekstrak pekat). Apabila kadar air tinggi maka penguapan pelarut sulit tercapai dengan adanya faktor titik didih pelarut.

Kandungan air dalam sampel mempengaruhi daya sampel tersebut terhadap pertumbuhan mikroba (Terupun, 2011). Mikroorganismenya dapat tumbuh pada sampel berkadar air > 10 % (Cahyono dkk, 2011). Kemudian mempercepat pembusukan dengan reaksi enzimatik yang dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder. Sehingga dimungkinkan senyawa toksik yang dihasilkan bukan dari sampel yang diinginkan melainkan dari hasil penguraian mikroba.

#### 4.4 Ekstraksi Maserasi

Proses ekstraksi akar rumput bambu menggunakan metode maserasi dengan pengadukan (Said, 20010). Prinsipnya adalah mengekstrak senyawa aktif yang dapat larut dalam pelarut berdasarkan tingkat kepolaran masing-masing pelarutnya (*like dissolve like*) (Khopkar, 2008). Metode ini didasarkan pada perendaman sampel didalam pelarut sehingga pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung senyawa aktif. Senyawa aktif akan larut dalam pelarut yang sesuai karena adanya perbedaan konsentrasi antara zat aktif di dalam sel dan di luar sel, sehingga larutan yang berdekatan terdesak keluar. Peristiwa tersebut akan berlangsung terus-menerus sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan yang di luar dengan larutan yang ada dalam sel (Efendi 1986, dalam Nurfadilah 2013).

Proses ekstraksi maserasi dilakukan secara bertingkat dengan menggunakan variasi pelarut (n-heksana, kloroform dan etanol 80%) ( Rita, 2008). Pemilihan variasi pelarut tersebut agar didapatkan rendemen yang besar dengan kandungan senyawa metabolit sekunder yang banyak berdasarkan sifat kepolarannya. Sedangkan pengadukan dalam ekstraksi maserasi sebagai upaya untuk meratakan konsentrasi larutan di luar sel sampel, sehingga dengan pengadukan tersebut tetap terjaga derajat perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam dan di luar sel. Proses filtrasi dilakukan untuk mendapatkan hasil yang maksimal, cepat dan akurat melalui medium berpori. Proses ekstraksi dilakukan dengan pergantian pelarut setiap harinya hingga diperoleh

filtrat yang berwarna bening (Vogel, 1978). Volume masing-masing pelarut yang digunakan pada ekstraksi maserasi ini dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Penggunaan pelarut pada ekstraksi maserasi akar rumput bambu

Ekstrak sampel	Volume Pelarut (mL)	PerubahanWarna Filtrat
n-heksana	900 mL	Kuning menjadi kuning pucat
Kloroform	1200 mL	Hijau tua menjadi hijau pucat
Etanol 80 %	900 mL	Coklat menjadi coklat pucat

Berdasarkan Tabel 4.2 warna bening atau pucat dari filtrat yang diperoleh menunjukkan senyawa aktif terekstrak secara maksimal (Voight, 1995) oleh masing-masing pelarutnya. Dari ketiga ekstrak tersebut, ekstrak kloroform membutuhkan pelarut yang lebih banyak dari pelarut n-heksana ataupun etanol 80 %. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa metabolit sekunder lebih banyak terekstrak pada pelarut kloroform. Filtrat yang diperoleh hasil maserasi kemudian diuapkan secara *vacum* menggunakan penguap putar (*rotary evaporator*) untuk menghilangkan pelarutnya sehingga diperoleh ekstrak pekat kental dengan berat konstan (Harbone, J.B., 1987). Prinsip kerjanya adalah adanya penurunan tekanan dan dipercepatnya putaran labu alas bulat sehingga pelarut akan menguap 5 – 10 °C pada suhu di bawah titik didih pelarut (Vogel, 1978). Proses ini dihentikan ketika pelarut sudah tidak menetes lagi pada labu alas bulat. Ekstrak yang diperoleh berupa padatan berwarna pekat pada masing-masing ekstrak, sebagaimana yang ditunjukkan pada Tabel 4.3. berikut.

Tabel 4.3 Hasil maserasi ekstrak pekat akar rumput bambu

<b>Ekstrak</b>	<b>Warna Ekstrak Pekat</b>	<b>Berat ekstrak Pekat (g)</b>	<b>Rendemen (%)</b>
n-heksana	Kuning	0,17	0,28
Kloroform	Hijau kehitaman	6,64	11,06
Etanol 80%	Coklat Tua	2,77	4,61

Rendemen ekstrak akar rumput bambu merupakan persen zat ekstrak yang dikandung akar rumput bambu. Dari ketiga pelarut tersebut, nilai rendemen ekstrak kloroform lebih besar dibandingkan dengan n-heksana maupun etanol 80%. sebagaimana (Djajanegara dan Wahyundi, 2009) yang menyatakan bahwa pelarut kloroform dapat melarutkan senyawa-senyawa metabolit sekunder, seperti alkaloid, saponin, triterpenoid, steroid dan glikosida yang berpotensi sebagai antikanker.

Penelitian ini membuktikan bahwa penggunaan pelarut kloroform sebagai pelarut dalam memperoleh zat hasil ekstraksi adalah salah satu pemilihan yang tepat. Keberhasilan pelarut kloroform dalam menghasilkan zat hasil ekstraksi terbanyak dari akar rumput bambu menunjukkan senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terkandung lebih banyak bersifat semipolar. Selanjutnya ketiga ekstrak pekat tersebut dilakukan uji sitotoksik terhadap hewan uji *Artemia salina* L. melalui metode BSLT.

#### 4.5 Uji Sitotoksik Terhadap Hewan Uji *Artemia salina* Leach

Uji sitotoksik merupakan metode skrining awal melalui metode BSLT untuk memprediksikan keberadaan senyawa sitotoksik yang diduga berkhasiat sebagai obat antitumor dan antikanker. Prinsipnya adalah penggunaan hewan uji *Artemia salina* L.

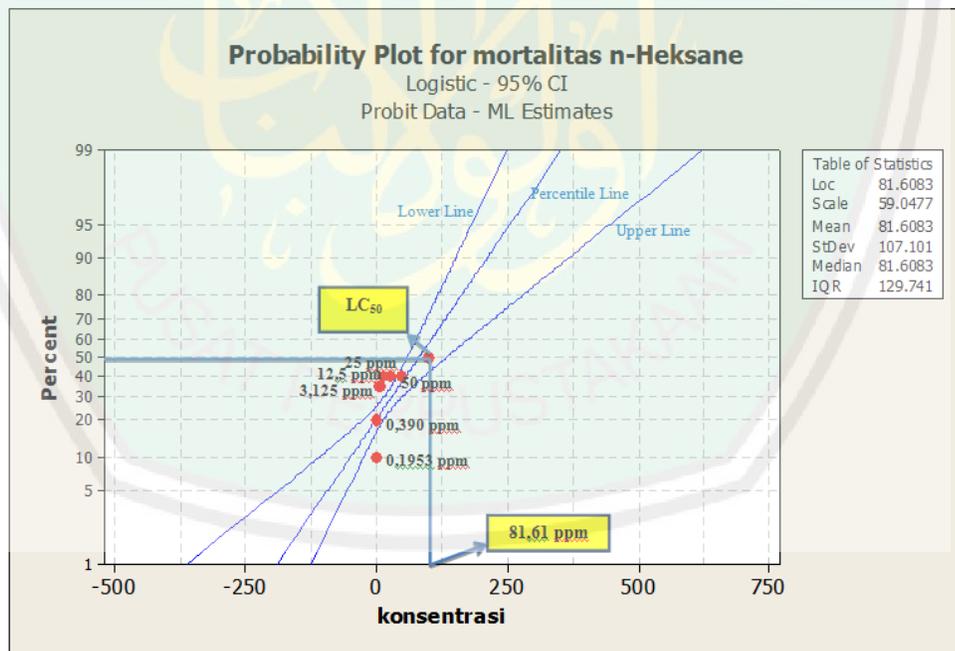
dalam menentukan senyawa bioaktif yang terkandung dalam tanaman dengan menentukan nilai  $LC_{50}$  setelah pemaparan *Artemia salina* L. dalam mediumnya selama 24 jam (Meyer *et. al.*, 1982). Zuhud (2011) menyatakan bahwa nilai  $LC_{50}$  yang rendah justru memiliki kemampuan sitotoksik yang tinggi. Hal ini disebabkan oleh penggunaan ekstrak untuk membunuh sel kanker menjadi toksik dengan jumlah yang sedikit.

Pada penelitian ini, masing-masing larutan ekstrak akar rumput rambu dibuat larutan media dengan variasi konsentrasi 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 12,50 ppm, 6,25 ppm, 3,12 ppm, 1,56 ppm, dan 0,78 ppm, 0,39 ppm, dan 0,20 ppm. Serta 0 ppm untuk kontrol negatifnya (Morshed, dkk., 2012). Pemilihan variasi konsentrasi yang tidak terlalu tinggi ini didasarkan pada penelitian (Jefry, 1998) yang menyatakan bahwa senyawa bioaktif hampir selalu bersifat toksik pada dosis atau konsentrasi yang tinggi. Larutan pengontrol yang digunakan yakni 0\* ppm yang terdiri dari DMSO dan pelarutnya tanpa penambahan ekstrak, 0\*\* ppm yaitu hanya media air laut. Larutan kontrol berfungsi untuk menghilangkan pengaruh lain diluar ekstrak uji.

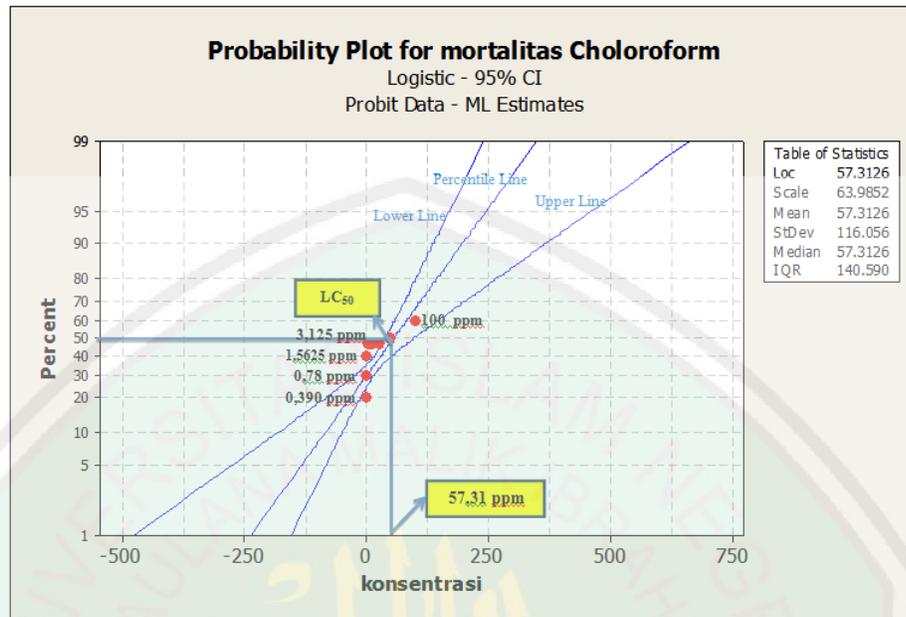
Fase *Artemia salina* L. yang digunakan dalam penelitian ini adalah fase *nauplius*, yakni fase yang paling aktif membelah secara mitosis yang identik dengan sel kanker yang juga membelah secara mitosis (Ropiyo, 2009). Pengamatan dilakukan dengan melihat tanda-tanda kematian *Artemia salina* L., yakni tidak menunjukkan perubahan selama 10 detik, tenggelam di dasar botol vial dan gerakan yang tidak teratur, aktif bergerak akan tetapi hanya berputar-putar pada satu titik.

Setelah diketahui adanya larva yang mati, maka dapat dihitung jumlah *Artemia salina* L. yang hidup.

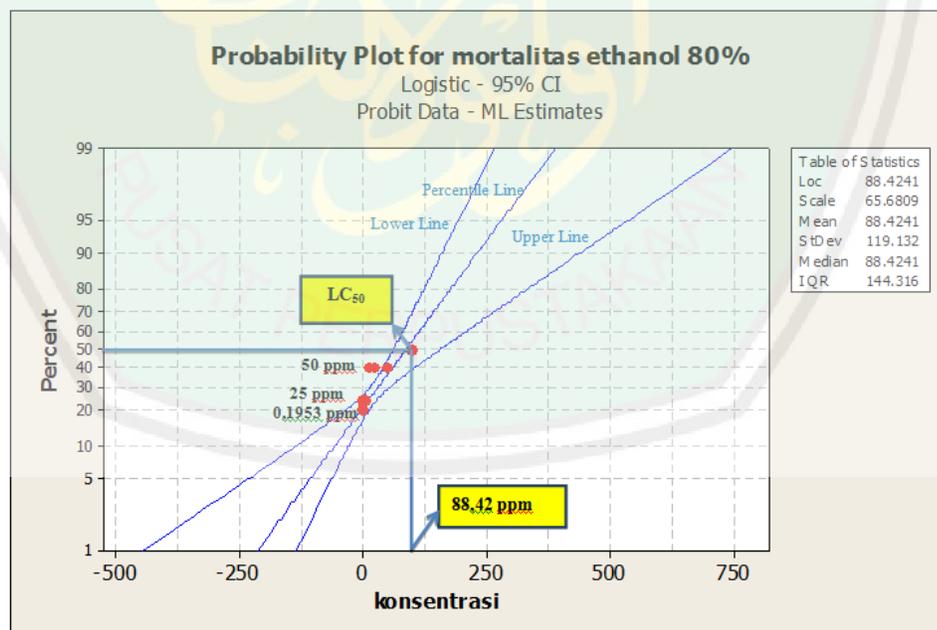
Perhitungan mortalitas masing-masing ekstrak ditunjukkan pada Lampiran 6. Hasil mortalitas ketiga ekstrak kemudian dianalisis menggunakan program Minitab 16 dengan tingkat kepercayaan 95 %. Untuk kurva mortalitas larva udang *Artemia salina* L. terhadap masing-masing ekstrak akar rumput bambu ditunjukkan pada Gambar 4.2, 4.3 dan 4.4. Selanjutnya ekstrak yang bersifat sitotoksik paling tinggi ( $LC_{50}$  terendah), akan dilanjutkan uji reagen untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam akar rumput rambu.



Gambar 4.2 Kurva mortalitas larva udang *Artemia salina* L. ekstrak kasar n-heksana dengan nilai  $LC_{50} = 81,61$  ppm.



Gambar 4.3 Kurva mortalitas larva undang *Artemia salina* L. ekstrak kasar kloroform dengan nilai  $LC_{50} = 57,31$  ppm.



Gambar 4.4 Kurva mortalitas larva undang *Artemia salina* L. ekstrak kasar etanol 80% dengan nilai  $LC_{50} = 88,42$  ppm.

Analisis probit dengan program Minitab 16 dilakukan untuk mengkalkulasi rata-rata pola mortalitas dan konsentrasi untuk mendapatkan nilai  $LC_{50}$  secara statistika dengan tingkat kesalahan ( $\alpha$ ) = 0,05. Kurva mortalitas yang dihasilkan pada Gambar 4.2, 4.3 dan 4.4 menunjukkan hubungan antara konsentrasi larutan uji (sumbu X) dan persen mortalitas (sumbu Y). Menurut (Nasliyana, 2010) pada masing-masing kurva terdapat tiga garis yakni garis *Lower line* atau garis atas merupakan batas bawah yang menunjukkan konsentrasi terendah pada setiap persen mortalitas. *Percentile line* atau garis tengah menunjukkan konsentrasi pada setiap mortalitas yang memiliki hubungan linier antara konsentrasi dengan persen mortalitas. Sedangkan *upper line* atau garis bawah menunjukkan batas atas konsentrasi pada setiap persen mortalitas.

Berdasarkan ketiga kurva di atas, plot yang berada pada garis *Percentile line* dan tepat pada garis 50 % menunjukkan bahwa dengan konsentrasi tertentu telah mampu menyebabkan persen kematian sebesar 50 % dari jumlah populasi hewan uji *Artemia salina* L. Sehingga ekstrak dengan konsentrasi tersebut memiliki potensi sebagai obat antikanker. Sedangkan plot yang berada di atas garis *lower line* menunjukkan bahwa konsentrasi tersebut terlalu rendah untuk menyebabkan persen kematian yang seharusnya. Begitu pula, plot yang berada di bawah garis *upper line* menunjukkan bahwa konsentrasi tersebut terlalu tinggi untuk menyebabkan persen kematian yang seharusnya.

Adapun beberapa plot konsentrasi yang tidak muncul pada kurva disebabkan oleh data yang dimasukkan pada program ini diharapkan memiliki hubungan regresi linier. Penurunan mortalitas dengan semakin tingginya konsentrasi ekstrak kasar ini

diduga karena ekstrak kasar masih banyak mengandung senyawa-senyawa yang bekerja saling kontraproduktif satu sama lain (Fahri, 2010). Berdasarkan kurva mortalitas masing-masing ekstrak pelarut, diperoleh nilai  $LC_{50}$  sebagaimana pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Nilai  $LC_{50}$  masing-masing ekstrak akar rumput bambu

Ekstrak	Nilai $LC_{50}$ (ppm)
n-heksana	81,61 ppm
Kloroform	57,31 ppm
Etanol 80%	88,42 ppm

Berdasarkan nilai  $LC_{50}$  dari masing-masing ekstrak akar rumput bambu, dapat diketahui bahwa semua ekstrak bersifat sitotoksik. Sebagaimana penelitian (Meyer, dkk., 1982) menyatakan bahwa senyawa dari ekstrak kasar yang memiliki nilai  $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$  terhadap *Artemia salina* L. bersifat sitotoksik. Ketiga hasil uji ekstrak akar rumput bambu yang memiliki potensi tertinggi sebagai obat antikanker adalah ekstrak pelarut kloroform dengan nilai  $LC_{50}$  paling rendah. Tingkat sitotoksik tersebut memberikan makna terhadap potensi aktivitasnya sebagai senyawa antikanker. Sebagaimana (Zuhud, 2011) menyatakan Nilai  $LC_{50}$  rendah memiliki kemampuan sitotoksik yang semakin tinggi karena ekstrak yang digunakan untuk membunuh sel kanker menjadi toksik jumlahnya sedikit.

Persentase mortalitas *Artemia salina* L. oleh efek sitotoksik ekstrak kloroform (semipolar) memperlihatkan nilai  $LC_{50}$  paling sitotok sebesar 57,31 ppm. Hal ini disebabkan senyawa-senyawa nonpolar yang terlarut dalam ekstrak kloroform

memiliki ukuran partikel yang lebih kecil sehingga lebih mudah untuk masuk dalam membran sel melalui daerah ekor (tail) yang bersifat hidrofobik (Fahri, 2010). Begitu pula, senyawa-senyawa polar yang terlarut dalam ekstrak kloroform yang memiliki ukuran lebih kecil akan lebih mudah untuk masuk ke dalam membran sel melalui daerah kepala (head) yang bersifat hidrofilik. Sehingga senyawa yang bersifat polar maupun nonpolar dari ekstrak kloroform dapat mengakibatkan sel lebih mudah mengalami kerusakan atau kematian pada proses difusi.

Mekanisme proses difusi terjadi akibat kecenderungan suatu substansi yang bergerak dari konsentrasi tinggi menuju konsentrasi yang lebih rendah. Molekul-molekul kecil ekstrak akan diselubungi oleh air disekitar sel, sehingga dapat berdifusi ke dalam hidrokarbon membran. kemudian masuk ke dalam sel dan selubung air akan dilepas kembali. Hal ini mengakibatkan senyawa aktif dari ketiga ekstrak tersebut menyebabkan kerusakan atau kematian *Artemia salina* L. lebih cepat.

Pelarut nonpolar hanya dapat melarutkan senyawa nonpolar sehingga pelarut polar tidak dapat bercampur dengan pelarut nonpolar di dalam phospholipid bilayer. Sedangkan pelarut polar tidak dapat masuk ke dalam membran sel lipid tanpa bantuan dari protein pembawa (*carrier*) (prashant, *et al.*, 2009, dalam fahri 2010). Sehingga tidak semua molekul dapat berdifusi memasuki membran sel. Hal ini dipengaruhi oleh ukuran dan sifat kepolaran molekul zat aktif dari ekstrak.

Penggunaan pelarut kontrol baik penambahan DMSO, pelarut masing-masing ekstrak maupun air laut tidak menunjukkan adanya kematian *Artemia salina* L. sebagaimana pada Lampiran 6. Penggunaan DMSO sebagai zat yang melarutkan

ekstrak dalam air laut yang tidak lebih dari batas ambang (50  $\mu$ L dalam 5 mL larutan media) tidak bersifat toksik terhadap *Artemia salina* L. (Bulbul dkk, 2011). Hal ini menunjukkan bahwa kematian *Artemia salina* L. ini disebabkan oleh senyawa aktif pada masing-masing ekstrak akar rumput bambu.

Nilai  $LC_{50}$  yang diperoleh dari ketiga ekstrak tersebut tidak jauh berbeda dengan penelitian Rahmawati, dkk (2010) yang menunjukkan nilai  $LC_{50}$  destilat minyak atsiri dari akar tanaman Akar Wangi (*Vetiveria zizanoides*) famili *poaceae* dengan pelarut petroleum eter yang diperoleh dari daerah garut (A) dan gunung Kidul (B) terhadap *Artemia salina* L. adalah 96,82 ppm dan 128,23 ppm. Sehingga penelitian ini menunjukkan bahwa ketiga ekstrak akar rumput bambu dapat berpotensi sebagai obat antikanker yang dapat memberikan efek sitotoksik terhadap sel kanker. Selanjutnya dilakukan uji fitokimia menggunakan reagen terhadap ekstrak yang memiliki nilai  $LC_{50}$  terendah untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang aktif pada ekstrak kloroform.

#### **4.6 Uji Kandungan Golongan Senyawa Aktif dengan Reagen**

Uji fitokimia merupakan uji kualitatif untuk mengetahui jenis golongan senyawa metabolit sekunder yang dikandung oleh ekstrak kasar suatu tanaman. Prinsipnya adalah reaksi pengujian warna dengan beberapa pereaksi pendeteksi golongan senyawa aktif (Rita, 2008). Hasil kandungan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak kloroform akar rumput bambu yang ditunjukkan pada Tabel 4.5.

Tabel 4.5 Hasil uji kandungan senyawa metabolit sekunder ekstrak kloroform akar rumput bambu

Golongan senyawa aktif	Keterangan hasil uji reagen pada masing-masing ekstrak		
	n-heksana	Kloroform	Etanol 80%
Alkaloid	-	-	+
Flavonoid	-	-	-
Saponin	-	-	-
Tanin	-	-	-
Streroid	+	++	+
Triterpenoid	-	-	-

Keterangan: +++ = kandungan senyawa lebih banyak (warna sangat pekat)

++ = mengandung senyawa (warna cukup pekat)

+ = mengandung senyawa sedikit (bewarna)

- = tidak mengandung senyawa

Berdasarkan hasil uji fitokimia, dapat diketahui bahwa ekstrak kloroform mengandung senyawa metabolit sekunder yang dipastikan sebagai senyawa golongan steroid dengan nilai  $LC_{50}$  57,31 ppm yang menunjukkan bahwa pada ekstrak ini terdapat senyawa yang bersifat sitotoksik. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian (Kusumawati, 2003) yang menyatakan bahwa kandungan senyawa metabolit sekunder ekstrak alkohol dari akar rumput bambu adalah steroid. Kandungan senyawa steroid banyak dijumpai pada tanaman suku rumput-rumputan (*poaceae*) yang menghasilkan biji. Sebagaimana tanaman rumput-rumputan yang satu famili dengan tanaman rumput bambu seperti rumput banta (*Leersia hexandra*), rumput bura-bura (*Panicum repens*), rumput Jeriwit (*Paspalum conjugatum*) dan rumput keibar (*Biophytum petersianum*) yang menunjukkan bahwa keempat rumput tersebut positif mengandung senyawa steroid Darwati dkk (2011).

Penelitian ini membuktikan bahwa senyawa steroid dalam akar rumput bambu juga memiliki bioaktivitas sebagai senyawa antikanker. Hal ini ditunjukkan dengan nilai  $LC_{50}$  yang diperoleh dan didukung oleh Marliana dan Saleh (2011) yang menyatakan bahwa salah satu golongan senyawa metabolit sekunder dalam tanaman yang berkaitan dengan aktivitas antikanker adalah steroid.

Tingginya aktivitas ekstrak kloroform akar rumput bambu terhadap *Artemia salina* L. dipengaruhi oleh kandungan senyawa aktif dalam ekstrak tersebut. Pada ekstrak kloroform akar rumput bambu, senyawa metabolit sekunder steroid yang tersusun dari isopren-isopren rantai panjang hidrokarbon yang menyebabkan sifatnya nonpolar. Senyawa steroid yang mengandung gugus  $-OH$  sering disebut dengan sterol, sehingga dengan adanya substituen gugus hidroksil yang terikat pada hidrokarbon maka sifatnya menjadi cenderung semipolar (Halimah, 2010). Sifat semipolar ini yang menyebabkan steroid dapat terekstrak lebih banyak dalam pelarut kloroform dibandingkan n-heksana dan etanol 80%.

Menurut (Kartikasari, 2010 dan Nasliyana, 2013) adanya gugus  $-OH$  yang terikat dengan metabolit sekunder steroid akan bersifat racun terhadap *Artemia salina* L. Gugus  $-OH$  ini dapat menembus dan merusak permeabilitas membran sel *Artemia salina* L. dengan membentuk ikatan hidrogen pada sisi aktif membran sel. Sedangkan senyawa steroid yang memiliki struktur lipofilik (larut dalam lemak) dan bersifat non polar juga akan mudah menembus membran sel dengan membentuk misel pada sisi hidrofobik. Terbentuknya ikatan antara senyawa non polar dari steroid dengan bagian non polar dari membran sel menyebabkan permeabilitas sel dan proses biokimiawi

*Artemia salina* L terganggu. Akibatnya membran sel *Artemia salina* L. tidak selektif lagi, sehingga segala sesuatu yang ada disekelilingnya akan dianggap sebagai makanan. Masuknya senyawa sitotoksik ke dalam saluran pencernaan mempengaruhi mekanisme tubuh yang akhirnya menyebabkan terjadinya kematian *Artemia salina* L.

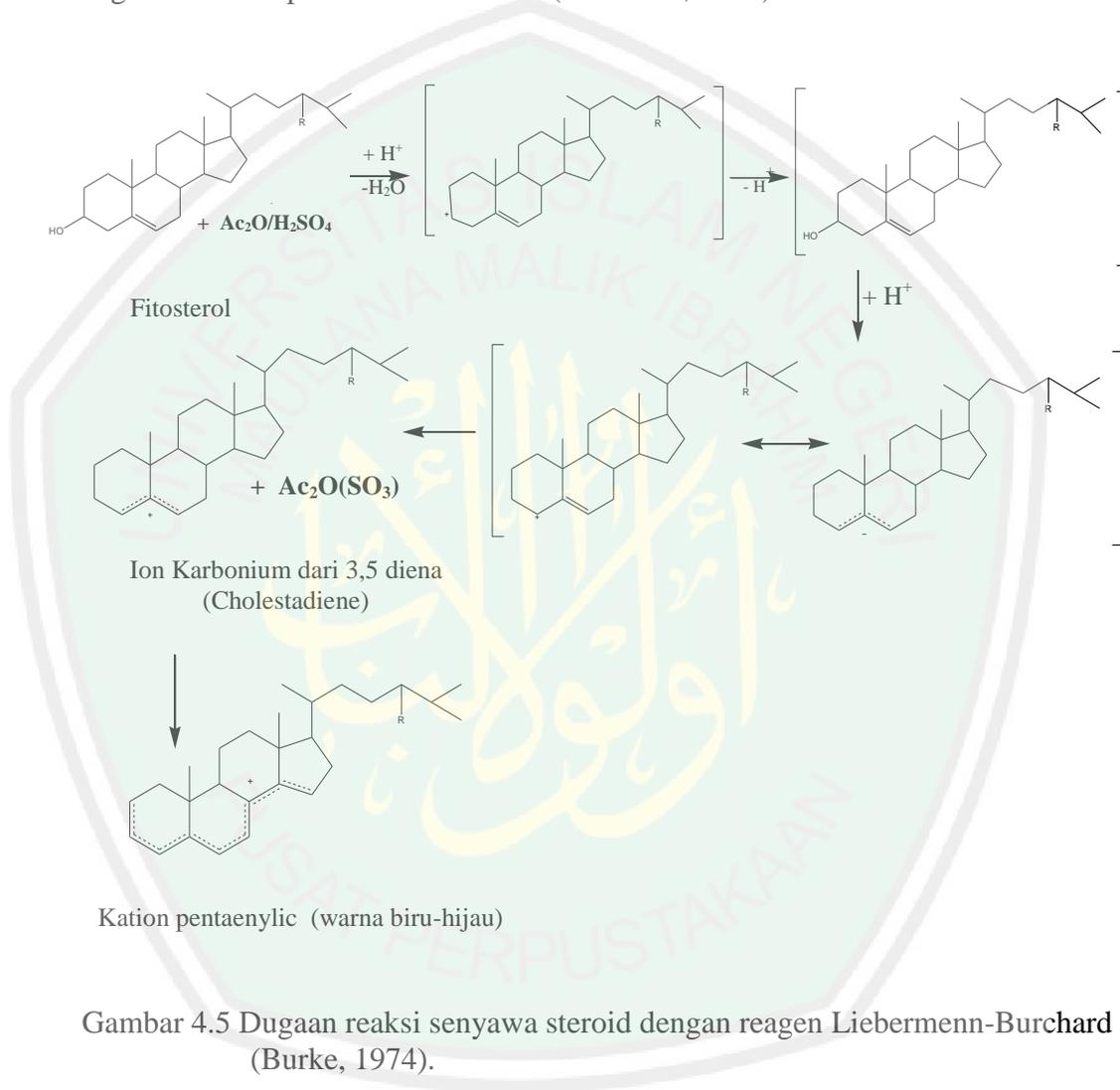
Salah satu jenis senyawa steroid adalah kolesterol. Kolesterol dapat terlarut dalam pelarut lemak, seperti kloroform, eter, benzena dan alkohol panas. Sehingga rendahnya nilai LC<sub>50</sub> ekstrak kloroform dari akar buntut bambu ini, kemungkinan dipengaruhi oleh kecenderungan sifat semipolar steroid yang menyamai sifat semipolarnya ekstrak kloroform. Akibatnya dengan rendahnya nilai LC<sub>50</sub> ekstrak kloroform akar rumput bambu menunjukkan bahwa ekstrak ini dapat dimanfaatkan sebagai obat antikanker.

#### 4.6.1 Steroid

Adanya golongan senyawa steroid ditunjukkan dengan reaksi terbentuknya warna hijau sampai biru ketika ekstrak ditambahkan dengan pereaksi Liemberman-Burcard (Burke, 1974). Pengujian senyawaan golongan steroid ini diawali dengan penambahan pelarut kloroform terhadap ekstrak yang memiliki nilai LC<sub>50</sub> terendah (ekstrak Kloroform). Penambahan pelarut kloroform ini dimaksudkan untuk melarutkan senyawaan steroid karena senyawaan ini dapat larut baik dalam kloroform dan tidak mengandung molekul air (Halimah, 2010).

Penambahan anhidrida asetat berfungsi untuk membentuk turunan asetil setelah didalam kloroform. Sedangkan penambahan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat akan menyebabkan senyawa steroid mengalami dehidrasi (kehilangan H<sub>2</sub>O) sehingga menghasilkan

produk ion karbonium 3,5 diena atau (cholestadiene) sebagaimana pada Gambar 4.5. Ion karbonium 3,5 diena merupakan produk pertama yang terbentuk dalam serangkaian reaksi pembentukan warna (Robinson, 1995).



Gambar 4.5 Dugaan reaksi senyawa steroid dengan reagen Liebermann-Burchard (Burke, 1974).

Adapun reaksi pembentukan warna terbentuk dari serangkaian reaksi oksidasi dari ion karbonium 3,5 diena oleh  $\text{SO}_3$  dari asam sulfat yang menghasilkan senyawa kation pentoenylic sebagaimana yang ditunjukkan pada mekanisme reaksi pada Gambar 4.5. Terbentuknya senyawa kation pentoenylic pada pengujian reagen

senyawa steroid ini ditunjukkan adanya perubahan warna pada ekstrak yang menjadi bewarna hijau kebiruan. Hal ini membuktikan bahwa dalam ekstrak kasar kloroform akar rumput bambu mengandung golongan senyawa metabolit sekunder steroid.

#### **4.7 Pemisahan Golongan Senyawa Aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA)**

Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA) digunakan untuk identifikasi senyawa dan untuk mengetahui eluen terbaik dalam memisahkan senyawa aktif. Prinsip dari pemisahannya adalah adanya perbedaan sifat fisik dan kimia dari senyawa yaitu kecenderungan dari molekul untuk melarut dalam cairan (kelarutan), kecenderungan molekul untuk menguap (keatsirian), kecenderungan molekul untuk melekat pada permukaan silika. Pemisahan dikatakan baik apabila menghasilkan komponen senyawa berupa noda yang banyak, berbentuk bulat dan tidak berekor, dan jarak pemisahan nodanya jelas atau tidak tumpang tindih (Rohman, 2007). Pada penelitian ini, KLTA dilakukan terhadap ekstrak yang memiliki nilai  $LC_{50}$  terendah dan positif memiliki senyawa aktif yang ditunjukkan pada uji reagen, yakni ekstrak kloroform akar rumput bambu yang positif mengandung senyawa steroid.

Pengamatan noda senyawa pada plat dilakukan di bawah sinar UV dengan menggunakan panjang gelombang 366 nm baik sebelum dan sesudah disemprot dengan reagen Liembermenn-Burchard. Pengamatan ini akan menghasilkan noda bercak yang berpendar dengan latar belakang yang gelap, sehingga noda yang dapat berpendar dapat terlihat secara visual oleh kasat mata. Menurut Sulandi (2013) hal ini

disebabkan oleh adanya interaksi antara sinar UV dengan gugus kromofor yang terikat oleh auksokrom pada noda. Kromofor merupakan senyawa organik yang memiliki ikatan rangkap dua atau tiga, terutama ikatan rangkap terkonjugasi yang dapat menyerap warna, sedangkan auksokrom merupakan gugus fungsional yang memiliki elektron bebas yang apabila terikat pada kromofor menyebabkan terjadinya pergeseran panjang gelombang (Cairns, 2004).

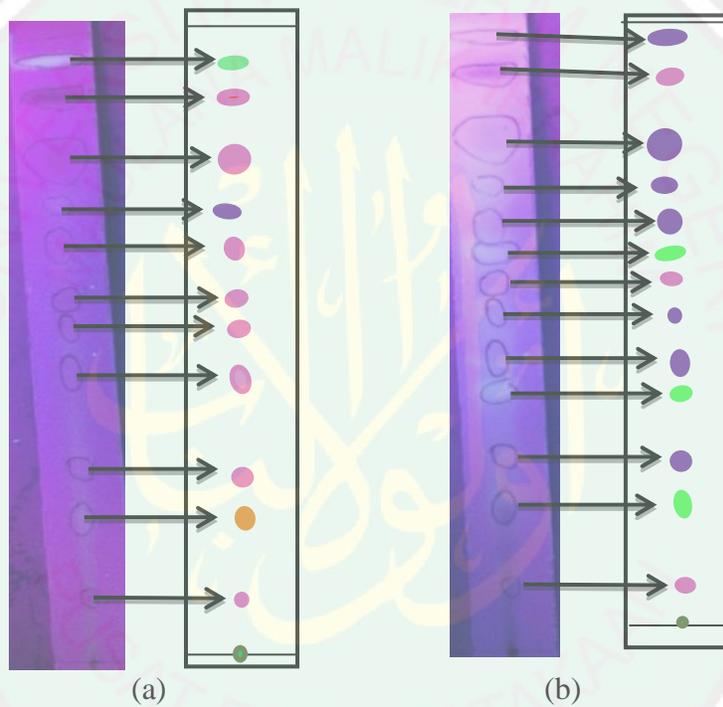
Fluoresensi cahaya yang tampak merupakan hasil emisi cahaya yang dipancarkan oleh komponen tersebut ketika elektron tereksitasi dari tingkat dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi dan kemudian kembali pada keadaan semula sambil melepaskan energi. Hasil pemisahan golongan senyawa aktif steroid dari ekstrak kloroform akar rumput bambu ditunjukkan pada Tabel 4.6.

Tabel 4.6 Data penampakan noda senyawa steroid dari KLTA ekstrak kloroform akar rumput bambu pada variasi eluen dengan lampu UV 366 nm.

No.	Fase gerak	Jumlah noda dengan pereaksi Lieberman Burchad	Rf
1	n-heksana:etil asetat (4,5:0,5)	2	0,05; 0,73
2	n-heksana:etil asetat (6:4)	2	0,15; 0,92
3	n-heksana:etil asetat (7:3)	5	0,26; 0,4; 0,78; 0,87; 0,88
4	n-heksana:aseton (7:3)***	7	0,30; 0,45; 0,50; 0,67; 0,72; 0,8; 0,96
5	n-heksana:etil asetat (8:2)	2	0,22; 0,82

Keterangan: \*\*\*= Eluen terbaik

Berdasarkan pemisahan senyawa aktif steroid menggunakan campuran 5 variasi eluen tersebut, terdapat satu eluen yang menunjukkan pemisahan terbaik dibawah sinar UV pada panjang gelombang 366 nm. Yakni dengan menggunakan campuran eluen n-heksana:aseton (7:3) sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 4.6. berikut



Gambar 4.6 Hasil penampakan noda senyawa steroid dari KLTA ekstrak kloroform akar rumput bambu dengan eluen n-heksana:aseton (7:3):

- (a) Hasil pengamatan dibawah sinar UV pada  $\lambda_{366}$  sebelum disemprot reagen Liebermann-Burchad
- (b) Hasil pengamatan dibawah sinar UV pada  $\lambda_{366}$  setelah disemprot setelah Liebermann-Burchad

Tabel 4.7 Data penampakan noda senyawa steroid dari KLTA ekstrak kloroform akar rumput bambu pada eluen terbaik n-heksana:aseton (7:3) dengan lampu UV 366 nm

No.	Rf tiap noda	Warna noda dibawah sinar UV pada $\lambda$ 366 nm		Dugaan senyawa
		Sebelum disemprot LB	Setelah disemprot LB	
1	0,223	Merah muda	Merah muda	-
2	0,235	Orange	Hijau muda	-
3	0,305	Merah muda	Ungu	Steroid
4	0,411	-	Hijau	-
5	0,458	Merah muda	Ungu	Steroid
6	0,529	Merah muda	Ungu	Steroid
7	0,588	Merah muda	Merah muda	-
8	0,623	-	Hijau muda	-
9	0,670	Merah muda	Ungu	Steroid
10	0,729	Ungu	Ungu	Steroid
11	0,8	Merah muda	Ungu	Steroid
12	0,905	Merah muda tengah merah	Merah muda	-
13	0,964	hijau	Ungu	Steroid

Pemisahan senyawa dengan menggunakan fase diam polar seperti silika gel, polaritas fase gerak akan menentukan kecepatan migrasi solut yang berarti juga menentukan nilai Rf (Rohman, 2007). Dari kelima campuran eluen di atas campuran eluen n-heksana:aseton lebih baik dalam memisahkan senyawa dibandingkan dengan campuran eluen n-heksana:etil asetat. Hal ini dipengaruhi oleh sifat polaritas aseton ( $\epsilon_r = 20,7^+$ ) yang lebih polar dibandingkan etil asetat ( $\epsilon_r = 6,02^+$ ) sebagaimana pada Tabel 2.1. Sehingga kombinasi campuran eluen n-heksana:aseton dapat memisahkan senyawa dengan baik. Apabila noda yang diperoleh terlalu cepat bermigrasi, maka

kecepatannya dapat dikurangi dengan mengurangi kepolarannya dengan adanya pelarut yang bersifat lebih polar, begitu pula sebaliknya.

Nilai Rf (*Retardation Factor*) atau waktu retensi merupakan nilai antara 0-1 yang menunjukkan kecepatan elusi dari suatu senyawa dalam noda. Nilai Rf dihitung dengan membagi jarak titik tengah noda dari titik awal penotolan dengan jarak tempuh eluen. Menurut Rohman (2007) pemisahan senyawa dikatakan maksimal jika noda berada pada nilai Rf antara 0,2-0,8. Hasil nilai Rf dari eluen n-heksana:aseton (7:3) pada Tabel 4.7 menunjukkan terdapat 7 senyawa steroid yang terpisahkan dengan warna noda ungu pada Rf yang berbeda-beda. Perbedaan nilai Rf ini dipengaruhi oleh sifat kepolaran masing-masing noda. Noda yang memiliki nilai Rf terkecil (0,30) menunjukkan adanya senyawaan yang bersifat lebih polar dibandingkan noda yang terletak pada Rf di atasnya. Noda ini berarti bersifat polar karena lebih tertahan pada fase diam ( $C_{stationer} > C_{mobile}$ ). Sedangkan noda yang memiliki nilai Rf tertinggi (0,96) menunjukkan adanya senyawaan yang bersifat lebih nonpolar dibandingkan noda yang terletak pada Rf di bawahnya. Noda ini bersifat nonpolar karena lebih terikat kuat dengan fase geraknya yang bersifat nonpolar ( $C_{stationer} < C_{mobile}$ ).

Pada penelitian ini terdapat 7 noda yang diduga positif menunjukkan steroid dari 13 noda yang terpisahkan dengan eluen terbaik yakni n-heksana:aseton (7:3). Noda-noda yang positif steroid ditunjukkan dengan warna ungu setelah disemprot dengan reagen Liembermann-Burchad dibawah sinar UV  $\lambda_{366}$ . Senyawa golongan steroid yang dihasilkan dari ekstrak kloroform ini diduga bersifat semipolar dan

nonpolar. Dugaan tersebut didukung dari hasil penelitian (Syamsudin, 2007) yang menyatakan bahwa eluen n-heksana:aseton (7:3) merupakan eluen yang baik dalam memisahkan senyawa steroid dari ekstrak fraksi metanol Kulit Batang *G. parvifolia* Miq dengan terpisahnya 6 noda yang berwarna biru, ungu sampai coklat setelah disemprot dengan reagen LB dan diamati pada sinar UV  $\lambda_{366}$  yang diduga merupakan senyawa golongan steroid.

#### 4.9 Pemanfaatan Akar Rumpun Bambu dalam Perspektif Agama Islam

Tumbuhan merupakan salah satu makhluk hidup ciptaan Allah yang memiliki banyak manfaat. Tumbuh-tumbuhan dapat memunculkan zat-zat untuk dimanfaatkan oleh makhluk hidup lainnya, seperti vitamin, lemak, obat dan masih banyak lainnya. Sebagaimana dalam firman Allah SWT berikut (QS. asy Syu'araa: 7)

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

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

Berdasarkan ayat tersebut kata *زَوْجٍ كَرِيمٍ* antara lain digunakan untuk menggambarkan berbagai macam tumbuhan yang baik yang telah ditumbuhkan oleh Allah di bumi ini. Tumbuhan yang baik adalah tumbuhan yang bermanfaat. Manfaat tumbuhan salah satunya digunakan sebagai tanaman obat penyembuh penyakit yang

mengerikan seperti tumor atau kanker. Sebagaimana dalam penelitian ini yang memanfaatkan tanaman gulma yang dianggap masyarakat sebagai tanaman pengganggu untuk dimanfaatkan sebagai tanaman obat yang berpotensi sebagai antikanker. Sehingga dapat meningkatkan nilai guna dari tanaman gulma tersebut.

Kalaulah makhluk-makhluk yang tidak berakal diberikan inspirasi untuk kemaslahatan dirinya, maka manusia sebagai makhluk berakal tentu saja lebih dari itu. Kenyataan ini menjadi argumentasi kuat bahwa medis dan pengobatan, tidak lain semata-mata karena inspirasi dan petunjuk dari Allah pencipta alam dan isinya. Sebagaimana yang terkandung dalam hadits berikut (diriwayatkan oleh Ahmad, Ibnu Majah, dan Al-Hakim):

إِنَّ اللَّهَ لَمْ يَنْزِلْ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً، عِلْمُهُ مَنْ عِلْمَهُ وَجَهْلُهُ مَنْ جَهْلُهُ

*“Sesungguhnya Allah tidaklah menurunkan sebuah penyakit melainkan menurunkan pula obatnya. Obat itu diketahui oleh orang yang bisa mengetahuinya dan tidak diketahui oleh orang yang tidak bisa mengetahuinya.”* (HR. Ahmad, Ibnu Majah, dan Al-Hakim).

Ungkapan hadist ini memberikan penguatan manusia agar mengambil pelajaran bahwa sesungguhnya Allah SWT telah menciptakan berbagai macam tumbuh-tumbuhan agar manusia berfikir dan mengkaji objek alam natural disekitarnya dan mampu menemukan keajaiban Allah SWT, sebagai upaya untuk menemukan obat-obatan yang berasal dari tanaman. Sebagaimana upaya peneliti dalam mengetahui senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam

tanaman, seperti steroid, flavonoid, alkaloid dan lain-lain. Senyawa tersebut yang kemudian dimanfaatkan sebagai zat aktif dalam obat alami yang berkhasiat sebagai obat antikanker. Dengan demikian ilmu pengetahuan dapat mengantarkan manusia dalam menemukan keajaiban Allah SWT, sehingga manusia senantiasa tunduk dan patuh kepada-Nya.

Salah satu pemanfaatan tumbuhan adalah penggunaannya sebagai obat. Bahwa pengobatan yang dibutuhkan adalah pengobatan yang sesuai dengan jenis penyakit dan kesungguhan mengawasi efektivitas kandungan obat untuk masa pengobatan tertentu. Adapun pengobatan penyakit yang lebih baik adalah dengan bahan-bahan alami (Mahmud, 2007).

Salah satu jenis tanaman yang dapat dimanfaatkan oleh manusia adalah tanaman gulma atau rumput-rumputan. Di dalam al Qur'an, terdapat beberapa ayat yang menjelaskan tentang rumput-rumputan dan manfaatnya. Sebagaimana dalam firman Allah berikut (Q.S 'Abasa ayat 31-32)

﴿فَبِكَيْفٍ وَأَبًا﴾ ﴿مَتَاعًا لَّكُمْ وَلِأَنْعَمِكُمْ﴾

*“dan buah-buahan serta rumput-rumputan, untuk kesenangan dan untuk binatang-binatang ternakmu”* (Q.S 'Abasa [80]:31-32).

Didalam surat 'Abasa ayat 31 tersebut terdapat kata **وَأَبًا** yang berarti rumput-rumputan. Yang kemudian dilanjutkan dengan kata **مَتَاعًا لَّكُمْ** yang berarti untuk kesenanganmu. Makna kesenangan secara ilmiah pada penelitian ini adalah suatu

penciptaan rumput-rumputan yang dapat dimanfaatkan sebagai obat alami yang memiliki potensi sebagai obat antikanker, mengingat kanker merupakan termasuk penyakit yang mematikan yang sampai saat ini masih diperlukan obat yang mampu mencegah atau menghentikan pertumbuhan sel-sel kanker yang terdapat dalam tubu.

Mengingat rumput-rumputan dan tumbuhan obat merupakan bahan untuk memelihara kesehatan dan pengobatan sebagai penyakit tubuh, semestinya diketahui substansinya, efeknya, dan kebenaran metode dan penelitiannya (Mahmud, 2007). Maka dalam penelitian ini mencoba untuk mengetahui dan mengkaji kandungan senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam akar rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn), untuk mencari potensi pemanfaatannya sebagai tanaman obat antikanker.

Sesungguhnya Allah SWT menciptakan segala sesuatu untuk kebutuhan hamba-Nya dengan manfaat dan menurut ukuran tertentu. Sebagaimana dalam firman Allah berikut (Q.S al Hizr ayat 21)

وَإِن مِّن شَيْءٍ إِلَّا عِندَنَا خَزَائِنُهُ وَمَا نُنزِّلُهُ إِلَّا بِقَدَرٍ مَّعْلُومٍ ﴿٢١﴾

*“Dan tidak ada sesuatu pun melainkan pada sisi Kami-lah khazanahnya, dan kami tidak menurunkannya melainkan dengan ukuran yang tertentu”* (Q.S al Hizr [15]: 21).

Firman Allah dalam surat al Hizr ayat 21 tersebut menjelaskan bahwa sesuatu apapun yang dimanfaatkan oleh hamba-Nya itu tidak diberikan, kecuali menurut ukuran yang telah ditentukan dan di dalamnya terdapat kecukupan bagi orang yang

membutuhkan dan rahmat bagi hamba-hamba-Ku (Al-Maragy, 1970). Sebagaimana kata بِقَدَرٍ مَّعْلُومٍ dalam potongan ayat tersebut secara ilmiah memberikan makna bahwa sesungguhnya Allah memberikan nikmat dengan ukuran tertentu. Ukuran dalam penelitian ini merupakan kadar dalam bentuk konsentrasi (ppm) yang digunakan sebagai ukuran seberapa besar tingkat sitotoksik dari suatu senyawa yang terkandung di dalam tanaman rumput bambu yang telah ditumbuhkan Allah sebagai tanaman gulma yang berpotensi sebagai obat antikanker.

Al Quran memerintahkan atau menganjurkan kepada manusia untuk memperhatikan dan mempelajarinya dalam rangka meyakini ke-Esaan dan kekuasaan Allah (Shihab, 2002). Dari perintah ini tersirat bahwa manusia memiliki potensi untuk mengetahui dan memanfaatkan hukum-hukum yang mengatur fenomena alam tersebut melalui suatu eksperimen, namun pengetahuan dan pemanfaatan ini bukan merupakan tujuan puncak (*ultimate goal*). Sebagaimana penelitian pada tanaman rumput bambu sebagai upaya untuk mencari potensi pemanfaatannya sebagai obat. Hal ini dibuktikan dalam hasil penelitian uji sitotoksik akar rumput bambu (*Lophatherum gracile B.*) dengan variasi pelarut melalui metode BSLT dan identifikasi golongan senyawa aktifnya ini. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak akar rumput bambu mempunyai potensi senyawa aktif sebagai tanaman obat alami yang ditunjukkan dengan nilai  $LC_{50}$  pada ekstrak kasar n-heksana, kloroform dan etanol 80% secara berturut-turut adalah 81,6083 ppm, 57, 3126 ppm dan 88,4241 ppm dengan kandungan golongan senyawa aktif berupa steroid. Potensi senyawa aktif yang dimiliki akar rumput bambu ini dapat digunakan sebagai acuan bahwa akar

rumput bambu dapat dimanfaatkan sebagai obat antikanker. Sehingga dengan adanya penelitian ini dapat menunjukkan tentang kebesaran Allah SWT sebagaimana yang terkandung dalam firman Allah berikut (Q.S Ali Imran ayat 191)

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.”*

Firman Allah di atas menegaskan tentang penciptaan-Nya atas alam raya ini serta memerintahkan agar manusia memikirkannya untuk membuktikan keesaan dan kekuasaan Allah SWT (Shihab, 2006). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak akar rumput bambu memiliki potensi sebagai tanaman obat herbal, sebagaimana makna dari ayat رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا yang menggambarkan tentang bukti bahwa Allah menciptakan segala sesuatu di alam raya ini tidaklah sia-sia, salah satunya adalah tanaman rumput bambu.

Pemanfaatan akar rumput bambu sebagai obat merupakan salah satu faktor alat penyembuhan. Sesungguhnya tidak ada yang dapat memberikan kesembuhan dari suatu penyakit kecuali Allah SWT. Sebagaimana dalam firman Allah berikut (Q.S asy Syu'ara' ayat 80)

وَإِذَا مَرَضْتُ فَبُهِدْتُ وَأَشْفِي

“Dan apabila aku sakit, Dialah yang menyembuhkan aku”. (Q.S asy Syu’ara’[26]: 80).

Ayat tersebut menjelaskan bahwa sebagai seorang muslim dalam mencari kesembuhan dari suatu penyakit melalui pengobatan harus didasarkan kepada aqidah yang benar yakni meyakini bahwa penyembuhan hanya dari Allah, sedangkan obat hanya sebagai perantaranya saja (Muhadi dan Muadz, 2010). Hal ini menunjukkan bahwa keseimbangan antara usaha dengan ketentuan Allah merupakan ciri islam. Oleh karena itu, Rasulullah memerintahkan untuk berobat dan senantiasa bertawakal kepada Allah ketika sedang sakit.

## BAB V

### PENUTUP

#### 5.1 Kesimpulan

1. Ekstrak akar rumput bambu (*Lophaterum gracile* Brongn) berdasarkan variasi pelarut n-heksana, kloroform dan etanol 80 % memiliki nilai LC<sub>50</sub> berturut-turut 81,6083 ppm, 57,3126 ppm dan 88,4241 ppm.
2. Golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak kloroform akar rumput bambu adalah steroid. Pemisahan ekstrak kloroform akar rumput bambu menggunakan KLTA menghasilkan eluen terbaik steroid adalah n-heksana:aseton (7:3) dengan deteksi reagen Liembermann-Burchard menghasilkan warna ungu.

#### 5.2 Saran

1. Diperlukan pemisahan lebih lanjut untuk memisahkan senyawa aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis Preparatif. Isolat dari pelarut terbaik diidentifikasi dengan instrumen UV-VIS, HPLC, FTIR ataupun GC-MS.
2. Dari ketiga ekstrak n-heksana, kloroform dan etanol 80% dapat diketahui mempunyai potensi sitotoksik terhadap larva udang *Artemia salina* L. dengan nilai LC<sub>50</sub> < 1000 ppm. Sehingga perlu dilakukan uji lebih lanjut secara spesifik baik secara *in vitro* maupun *in vivo*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Al-Maraghi, A.M. 1974. *Terjemahan Tafsir al-Maraghi*. Semarang : CV Toha Putra Semarang.
- Batubara, I. 2003. Saponin Akar Kuning (*Arcangelisia flava (L) Merr*) sebagai Hepatoprotektor: Ekstraksi, Pemisahan dan Bioaktivitasnya. *Tesis Diterbitkan*. Bogor: Jurusan Kimia ITB.
- Bogoriani, N. W., Santi, S. R., dan Asih, A. 2007. *Isolasi Senyawa Sitotoksik Dari Daun Andong (Cordyline terminalis Kunth)*. *Jurnal Kimia* 1(1), ISSN: 1907-9850.
- Bulbul, I. J., Nahar, L., Ripa, F. A dan Haque, O. 2011. Antibacterial, Cytotoxic And Antioxidant Activity of Chloroform, n-Hexane and Ethyl Acetate Extract Of Plant Amaranthus Spinous. *International Journal of PharmTech Research* CODEN (USA): IJPRIF ISSN : 0974-4304. Vol.3, No.3, pp 1675-1680.
- Burke, R. W., Diamondstone, B. I., Velapoldi, R. A dan Menis, O. 1974. *Mechanisms of the Liembermann-Burchard and Zak Color Reaction for Cholesterol*. CLIN. CHEM. 20/7, 794-801.
- Cahyono, B., Huda, M.D.K. dan Limantara, L. 2011. Pengaruh Proses Pengeringan Rimpang Te,ulawak (*Curcuma xanthorrhiza ROXB*) Terhadap Kandungan dan Komposisi Kurkuminoid. *Reaktor*, Vol. 13 No. 3. Hal : 165-171.
- Cairns, D. 2004. *Intisari Kimia Farmasi, Ed.2*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC
- Darwati, I., Sembiring, B.S., Bermaie, N., Sunandar, N dan Yayan. 2011. Formulasi Jamu Ternak Peningkat Fertilitas Sapi Betina. Laporan Teknis Penelitian. *Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat*.
- Diastuti, H., Warsinah, dan Purwati. 2009. Aktivitas Antikanker Ekstrak Etanol Daun *Rhizopora mucronata* Terhadap Larva Udang *Artemia salina Leach* dan Sel Raji. *Molekul*, Vol. 4. No. 1 : 12-20.
- Djajanegara, I dan Wahyudi, P. 2009. Pemakaian Sel Hela dalam Uji Sitotoksitas Fraksi Kloroform dan Etanol Ekstrak daun *Annona squamosa*. *Jurnal*. Jakarta: P3 Teknologi Bioindustri BPPT. ISSN 1693-1831.

- Endrasari, R., Qanytah dan Prayudi, B. 2010. Pengaruh Pengeringan Terhadap Mutu Simpliasa Temulawak di Kecamatan Tembalang Kota Semarang. *Balai Pengkajian Teknologi Pertanian*. Jawa Tengah.
- Fahri, M., Risjani, Y dan P. Sasangka. 2010. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Serta Uji Toksisitas Ekstrak Metanol Dari Alga Coklat (*Sargassum Cristaeifolium*). *Journal*. Publication Thesis of Brawijawa University.
- Farichah, M. dan Kusnadi, J. 2010. Pengaruh Perlakuan Pendahuluan dan Lama Ekstraksi Terhadap Ekstrak Antioksidan Buah Pepaya (*Carica papaya*) dengan Metode Ultrasonic Assisted Extraction. *Jurnal*. Malang: Jurusan Teknologi Hasil Pertanian FTP UB.
- Farooqi, M. I. H. 2005. *Terapi Herbal cara islam; Manfaat tumbuhan Menurut Al-Qur'an dan Sunah Nabi*. Terjemahan Ahmad Y. Samantho. Jakarta: Penerbit hikmah (PT Mizan Publika).
- Fattah, A.b.A.b.A. 2010. *Shahih Thibun Nabawi Panduan dan Metode Pengobatan Nabi SAW*. Buku. Jakarta: Pustaka Imam Ahmad.
- Fitriyani, 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*: 16(1), 34-42.
- Gritter, R.J. 1991. *Pengantar Kromatografi edisi kedua*. Diterjemahkan oleh Kokasih Padmawinata. Bandung: Penerbit ITB.
- Gunawan, E. 2003. Uji Ekstrak Metanol dan Kloroform Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk) terhadap konsistensi Aktivitas Lipase dan Karakterisasi Ekstrak. *Srkipsi*. Bogor: Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Gunawan, I.W.G., Bawa, I.G.G., dan Sutrisnayanti, N.L. 2008. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Terpenoid yang Akif Antibakteri pada Herba Meniran (*Phyllanthus niruri* Linn.). *Jurnal Kimia*. Vol. 2 No. 1, hal: 31 – 39.
- Halimah, N. 2010. Uji Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica* Linn.) Terhadap Larva Ugang *Artemia salina* Leach. *Skripsi Diterbitkan*. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Harborne, JB. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Padmawinata K, Soedira I, penerjemah. Bandung: Penerbit Institut Teknologi Bandung. Terjemahan dari: Phytochemical methods.

- Harmita, Radji, M., dan Biomed. 2006. *Buku Ajar Analisis Hayati, Ed.3*. Jakarta: EGC.
- Hayati, E.K., Jannah, A., dan Ningsih, R. 2012. Identifikasi Senyawa Dan Aktivitas Antimalaria In Vivo Ekstrak Etil Asetat Tanaman Anting-Anting (*Acalypha Indica L.*). *molekul*, Vol. 7. NO.1. hal:20-32.
- Histifarina, D., Musaddad, D. dan Murtiningsih, E. 2004. Teknik Pengeringan dalam Oven untuk Irisan Wortel Kering Bermutu. *Balai Penelitian Tanaman Sayuran*. J. Hart. Vol 14, No. 1, 2004.
- Inayah, N., Ningsih, R., dan Adi, T. K. 2012. Uji Toksisitas dan Identifikasi Awal Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Etanol dan n-Heksana teripang Pasir (*Holothuria scabra*) Kering Pantai Kenjeran Surabaya. *Jurnal Alchemy*, Vol 2 No. 1, hal 92-100.
- Indriyani, L., Soepjipto, H., dan Sihasaie, L. 2006. Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas EEkstrak Daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis L. Vahl*) Terhadap Larva Udag *Artemia salina Leach*. *Berk. Panael. Hayati*: 12 (57-61).
- Iriawan, N dan Astuti, S.P. 2006. *Mengolah Data Statistika dengan Mudah Menggunakan Minitab 14*. Yogyakarta: CV Andi Offset.
- Jaya, A.M. 2010. Isolasi Dan Uji Identifikasi antibakteri senyawa Saponin dari Akar Putri Malu (*minosa Pudica*). *Skripsi Diterbitkan*. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Jefry, L., Mc. Laughlin, PHD, L. Lingling, dan Ms. Rogers. 1998. The Use of Biological Assays to Evaluate Botanicals. *Drug Information Journal*, Vol. 32, pp. 513-524.
- Jing, Z., Ying, W., Xiao-Qi, Z., Qing-Wen, Z., dan Wen-Cai, Y. 2009. *Chemical Constituents from the Leaves of Lophatherum gracile*. *Chim J Not Mead*. Vol. 7 No.6.
- Koirewo, A.Y., Fatimawali, dan Wiyono, W.I. 2013. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Daun Beluntas (*Pluchea indica L.*). Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115.
- Khopkar, S.M. 2008. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: UI Press.
- Kusumawati, I., Djatmiko, W., dan Rahman, A. 2003. Eksplorasi Keanekaragaman dan Kandungan Kimia Tumbuhan Obat di Hutan Tropis Gunung Arjuno. *Jurnal Bahan Alam Indonesian* ISSN 1412-2855 Vol.2, No.3.

- Lenny, S. 2006. Uji Bioaktifitas Kandungan Kimia Utama Puding Merah (*Graptophyta picum L. Griff*) dengan Metode Uji *Brine Shrimp*. Medan: Kimia FMIPA Universitas Sumatra Utara.
- Loomis, T. A. 1978. *Toksologi Dasar*, diterjemahkan oleh Imono Argo Donatus, Edisi III hlm 16-20. Semarang: IKIP Semarang.
- Mahmud, M.H. 2007. *Mukjizat Kedokteran nabi*. Jakarta: Qultum Media.
- Manan, M.H.A. 2008. *Membuat Reagen Kimia di Laboratorium*. Jakarta: Bumi Aksara.
- Mangunwardoyo, H., Cahyaningsih, E., dan Tepy, U. 2009. Ekstraksi dan Identifikasi Senyawa Antimikroba Herba Meniran (*Phyllanthus niruri, L.*) *jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. Vol 7, no. 2. Hal: 57-63.
- Mardisadora, O. 2010. Identifikasi Dan Potensi Antioksidan Flavonoid Kulit Kayu Mahoni ( *Swietenia macrophylla King*). *Skripsi Diterbitkan*. Departemen Biokimia Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Institute Pertanian Bogor.
- Marliana, A.D., Suryanti, V., dan Suyono. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule Jacq. Swartz.*) dalam Ekstrak Etanol. *Biofarmasi*. Vol. 3 No. 1, hal: 26 – 31.
- Marliana, S. D., Suryanty, V., dan Suyono. 2011. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule Jacq. Swartz.*) dalam Ekstrak Etanol. *Jurnal Biofarmasi*, ISSN: 1693-2242.
- Meistiani, Y. 2001. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Alkaloid dari Akar Kuning (*Arcangelisia flava (L) Merr.*). *Skripsi Diterbitkan*. Bogor: Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Meyer, B.N., Ferrigni, Putnam, J.E. Jacobsen, L.B. Nichols, and McLaughlin. 1982. *Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents*. *Planta Medica* 45: 31-34.
- Milyasari, C. 2010. Isolasi Senyawa Antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *E. Coli* dari Ekstrak Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa blimbi L.*). *Skripsi tidak diterbitkan*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Mulana Malik Ibrahim Malang.

- Mohammad, A., Bhawani, S. A., dan Sharma, S. 2010. *Analysis of Herbal Products by Thin-layer Chromatography: A Review*. International Journal of Pharma and Bio Science.
- Mokoginta, E.P., Runtuwene, M.R.J. dan Wahantouw. 2013. Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Aktivitas Penangkal Radikal Bebas Ekstrak Metanol Kulit Biji Pinang Yaki (*Areca vestoaria Giseke*). *Jurnal ilmia Farmasi*. Manado: UNSTRAT Vol. 2 No. 04. ISSN 2302-1493.
- Morshed, H, dkk. 2012. Antimicrobial and Cytotoxic Activity of the Methanol Extract of *Paederia foetida* Linn. (*Rubiaceae*). *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 02 (01): 77-80.
- Mudjiman. 1983. *Udang Renik Air Asin (Artemia salina)*. Jakarta: Bhatara.
- Muhadi, S.Pd.I dan Muadzin, M.Pd.I. 2010. Semua Penyakit Ada Obatnya, Menyembuhkan Penyakit Ala Rasulullah. Yogyakarta: Mutuara Media.
- Mustikasari, K. dan Aryani, D. 2010. Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Biji Kalangkala (*Litsea Angulata*). *Sains dan Terapan Kimia*, Vol.4, No. 2: 131-136.
- Mustarichie, R., Musfiroh, I., dan Levita, J. 2011. *Kimia Tanaman Obat*. Bandung:Widya Padjadjaran.
- Nadlirah, U. 2013. Uji Toksisitas Ekstrak Daun Sereh Wangi Sebagai Peptisida Nabati Terhadap Hewan Non Sasaran (Ikan Mujair). *Skripsi Diterbitkan*. IKIP Semarang Fakultas Pendidikan Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Semarang.
- Nasliyana, S. 2013. Uji Toksisitas dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Biji Sirsak (*Annona muricata Linn*) terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach. *Skripsi tidak Diterbitkan*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Tekdologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Nurfadilah. 2013. Uji Bioaktifitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Lamun dari Kepulauan Spermonde Kota Makasar. *Skripsi Diterbitkan*. Jurusan Ilmu Kelautan Fakultas dan Perikanan Universitas Hasanudin Makasar.
- Nurhayati, AP., Abdulghani, N., dan febrianto, R. 2006. Uji Toksisitas Ekstrak *Eucheuma alvarezii* Terhadap *Artemia Salina Leach* Sebagai Studi Pendahuluan Potensi Antikanker. Surabaya. Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam ITS. *Akta Kimindo* Vol. 2 No. 1 Oktober 2006: 41- 46.

- Panambunan, R.F. 2013. Penentuan Dosis Letal ( $LD_{50}$ ) Ekstrak Metanol dan Dosis Efektif ( $ED_{50}$ ) Ekstrak Diklorometan Daun Bunga Matahari (*Helianthus annuus* L.) pada Hewan Coba Serta Identifikasi Senyawa Aktifnya. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Panjaitan, R.B. 2011. Uji Toksisitas Akar Ekstrak Kulit Batang Pulasari (*Alixiade cortex*) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST). *Skripsi*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Program Studi Farmasi Universitas Sanata Dharma.
- Poedjiadi, A. 1994. *Dasar-dasar Biokimia Edisi Revisi*. Jakarta: UI PRESS.
- Rahayu, I.D. 2009. Isolasi dan Identifikasi Saponin dari *Aloe barbadensis* Miller sebagai Antibiotik Alami: Penanggulangan Mastitis pada Sapi Perah. Malang: Fakultas Pertanian dan Peternakan Jurusan Produksi Ternak Universitas Muhammadiyah Malang. *Jurnal*. Volume V Nomor 1 Hal. 28-33.
- Rahmawati, N., Zetra, Y., dan Burhan, P. 2009. Pemanfaatan Minyak Atsiri Akar Wangi (*Vetiveria zizanoides*) dari Famili *Poaceae* sebagai Senyawa Antrimikroba dan Insektisida Alami. *Prosiding Skripsi Diterbitkan Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Teknologi Sepuluh Nopember*.
- Restasari, A., Kusriani, K., dan Fachriyah, E. 2002. Isolasi Dan Identifikasi Fraksi Teraktif Dari Ekstrak Kloroform Daun Ketapang (*Terminalia Catappa* Linn). *Skripsi Diterbitkan*. Jurusan Kimia FMIPA UNDIP Semarang.
- Reveny, J. Daya Antimikroba Ekstrak dan Fraksi Daun Sirih Merah (*Piper betle* Linn.). Daya Antimikroba. Sumatra Utara: Fakultas Farmasi Sumatra Utara.
- Rita, W, S. 2010. Isolasi, Identifikasi, dan Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Golongan Triterpenoid pada Rimpang Temu Putih (*Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe. *Jurnal Kimia FMIPA*. Bukit Jimbaran: Universitas Udayana.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Senyawa Organik Tumbuhan Tinggi*. *Diterjemahkan oleh Prof.Dr. Kosasih Padmawinata*, Bandung: ITB.
- Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Ropiyo, M. 2009. Uji Ketoksikan ( $LC_{50}$ ) 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.

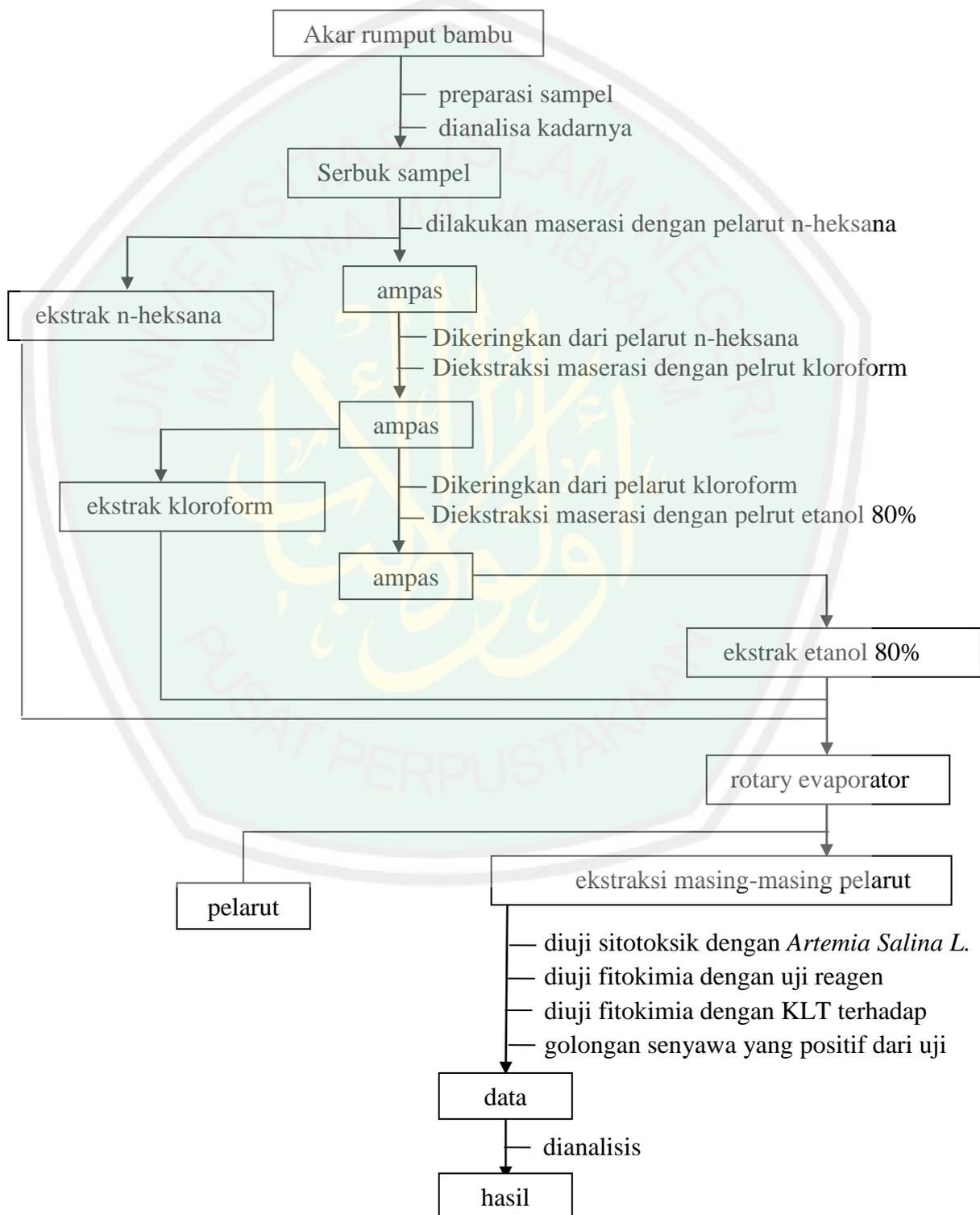
- Runadi, D. 2007. Isolasi dan identifikasi Aklaloid dari Herba Komfrey (*Symphytum officinale*L.). *Skripsi* Diterbitkan. Jatinangor: Fakultas Farmasi Universitas Pajdjaran.
- Ruwaida, D. G. 2010. *Uji Toksisitas Senyawa Hasil Isolasi Rumpun Mutiara (Hedyotis Corymbosa (L.) Lamk.) dengan Metode Brine shrimp Lethality Test (BST). Skripsi Diterbitkan*. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Said, A. 2006. *Khasiat dan Manfaat Temulawak*. Yogyakarta: PT Sinar Wadja Lestari.
- Sangi, M.S., Momuat, L.I., dan Kumanuang M. 2010. Uji Toksisitas dan Skrining Fitokimia Tepung Gabah Pelelah Aren (*Aren pinnata*). *Jurnal Ilmiah Sains*. Vol. 12 No. 2.
- Santi, S.R. 2009. Penelusuran Senyawa Sitotoksik Pada Kulit Biji Nyemplung (*Colophyllum inophyllum L.*) Dan Kemungkinan Kerelasi Sebagai Antikanker. *Jurnal Kimia*: 101-108.
- Sapar, A., Kumanireng, A. S., Vogd, N. D., dan Noor, A. 2004. Isolasi dan Penentuan Struktur Metabolit Sekunder Aktif dari Spons *Biemna triraphis* Asal Pulau kapodasang Kepulauan Spermonde). *Jurnal Kimia FMIPA*, Vol. 5 No. 1. ISSN 1411-2132.
- Sastrohamidjojo, H. 1991. *Spektroskopi*. Yogyakarta: Liberty Yogyakarta.
- Sembiring, B.S dan yuliani, S. 2011. *Penanganan dan Pengolahan Rimpang Jahe*. Bogor: Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik.
- Shihab, Q. 2002. *Tafsir Al-Misbah Pesan, Kesan, dan Keserasian al-Qur'an vol 7 dan 10*. Jakarta: Penerbit Lenteran Hati.
- Sirait, M. 2007. *Penuntun Fitokimia dalam Farmasi*. Bandung: Penerbit ITB.
- Sriwahyuni, I. 2010. Uji Fitokimia Ekstrak Tanaman Anting-Anting (*Acalypha Indica Linn*) dengan Variasi Pelarut dan Uji Toksisitas Menggunakan *Brine Shrimp (Artemia salina Leach)*. *Skripsi*. Diterbitkan. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

- Stahl, E. 1985. *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopis*. Bandung: Penerbit ITB.
- Sudarmadji, S.B. Haryono dan Suhardi. 2003. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty.
- Suharto, M.A.P., Edy, H.J., dan Dumanauw, J.M. 2009. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Saponin dari Ekstrak Metanol Batang Pisang Ambon (*Musa paradisiaca var. Sapientum I.*). *Jurnal Manado: Program Studi Farmasi FMIPA UNSTRAT*.
- Sukadana, I.M. 2009. Senyawa Anti Bakteri Golongan Flavonoid dari Buah Belimbing Manis (*Averrhoa carambola Linn.L.*). *Jurnal Kimia* 3(2): 109-116.
- Sulandi, A. 2013. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kloroform buah Lakuk (*Cayratia trifolia*) dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-Pikrilhidrazil). *Naskah Publikasi*. Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak.
- Supari, S. F. 2007. *Pedoman Pengendalian Penyakit Kanker Nomor 430/MENKES/SKIV/2007*. Jakarta : MENKES RI.
- Suriani., Usman, H., dan Ahmad, A. 2012. Isolasi, Karakterisasi, dan Uji Bioaktivitas Metabolit Sekunder dari Spons *Callyspongia sp.* *Jurnal Mariana Chimica Acta*, Vol. 12 No. 1, ISSN 1411-2132.
- Suyoso, H.C. 2011. Uji Aktivitas Antioksidan dan Identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica L.*). *Skripsi tidak diterbitkan*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Mulana Malik Ibrahim Malang.
- Syamsudin, Tjokrosonto, S., Wahyuno, S dan Mustofa. 2007. Aktivitas Anti-Plasmodium Dari Dua Fraksi Ekstrak n-Heksana Kulit Batang Asam Kandis (*Gracinia parvifoli Miq.*). *Majalah Farmasi Indonesia*, 18 (4), 210-215.
- Terupun, A., Timbowo, S.M. dan Palenewen, J.C.V. 2011. Identifikasi Kapang pada Rumput Laut *Eucaema Cottonii (Kappaphycus alvarezii)* Kering dari Desa Rap Rap Arakan Kecamatan Tatapaan Kabupaten Manahasa Selatan. *Jurnal*. Minahasa: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Unsrat.
- Vogel. 1978. *Text Book of Practical Organic Chemistry, 4<sup>th</sup> Edition*. London: Longman Group Limited.

- Voight, R. 1995. *Text Book of Practical Organik Chemistry, 4<sup>th</sup> Edittion*. London Longman Group Limited.
- Wagner, W.L., D.R. Herbst, and S.H. Sohmer. 1999. *Manual of the Flowering Plants of Hawai'i*. 2 vols. Bishop Museum Special Publication 83, University of Hawai'i and Bishop Museum Press, Honolulu, HI.
- Wang, G, Chen, Y, Wang, T, Lee, C, Chen, K, dan Lee, T. 2008. *Flavonoids with iNOS inhibitory activity from Pogonatherum crinitum*. *Journal of Ethnopharmacology*. 118(2008) 71-78.
- Widi, R.K. 2007. Penjaringan dan Identifikasi Senyawa Alkaloid dalam Batang Kayu Kuning (*Arcangelisia flava Merr*). *Jurnal ILMU DASAR*, Vol. 8 no. 1: 24-29.
- Widiyati, E. 2006. Penentuan Adanya Senyawa Triterpenoid dan Uji Aktivitas Biologis pada Beberapa spesies Tanaman Obat Tradisional Masyarakat Pedesaan Bengkulu. *Jurnal gradient*. Vol.2 No.1:116-122.
- Widiyati, E., Santi, Rahayu S., dan Asih, A. 2006. Isolai Senyawa Sitotoksik Dari Daun Andong (*CCordyline terminalis Kutnth*). *Jurnal Kimia FMIPA Universitas Udayana*. ISSN 1907-9850.
- Widriyanti, Y.N., Budiarti, A., dan Syahida, I.A. 2005. Aktivitas Mikolitik In Vitro Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper crocotum Ruiz dan Pav.*) pada Mukosa Usus Sapid an Identifikasi Kandungan Kimianya. *Jurnal Semarang Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim*.
- Widyowati, R. dan Rahman, A. 2010. Kandungan Kimia dan Aktivitas Antimikroba Ekstrak *Garcinia Celebica l.* terhadap *Staphylococcus Aureus*, *Shigella Dysenteriae* dan *Candida Albicans*. *Majalah Farmasi Airlangga*, Vol. 8 no. 2.
- Wijayakusuma, H. 2005. *Atasi Kanker dengan Tanaman Obat*. Jakarta: Puspa Swara.
- Winarno, F.G. 2002. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: gamedia Pustaka Utama.
- Winarsih, H. 2005. *Isoflavon berbagai Sumber, Sifat, Dan Manfaatnya Pada Penyakit Degeneratif*. Yogyakarta: UGM Press
- Wonohadi, E., Ayu, D., Agustin, D., Liasthirani, S., dan Melani. 2006. Identifikasi Senyawa Anti Mikroba Rimpang Temu Giring (*Curcuma heyneana val dan van zipp*) secara Bioautografi. *Jurnal Farmasi Indonesia*, Vol. 3 No. 2. hal: 89 – 96. Fakultas Farmasi Universitas Surabaya.
- Zuhud, E. 2011. *Kanker Lenyap Berkat Sirsak*. Jakarta: Argo Media Pustaka.

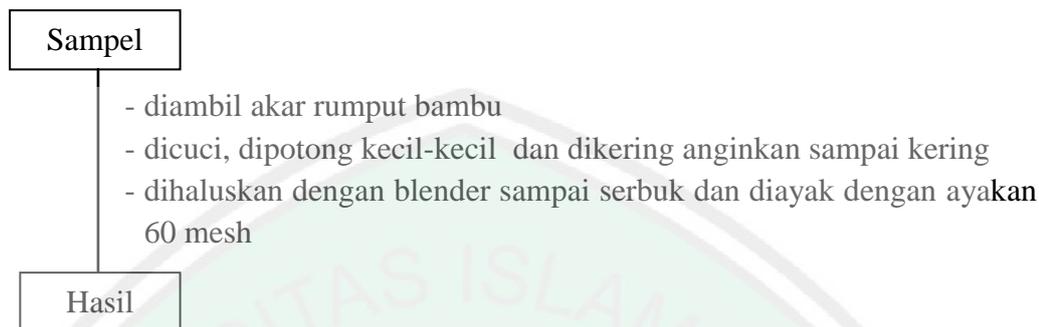
## LAMPIRAN

## L.1 Diagram Alir Penelitian

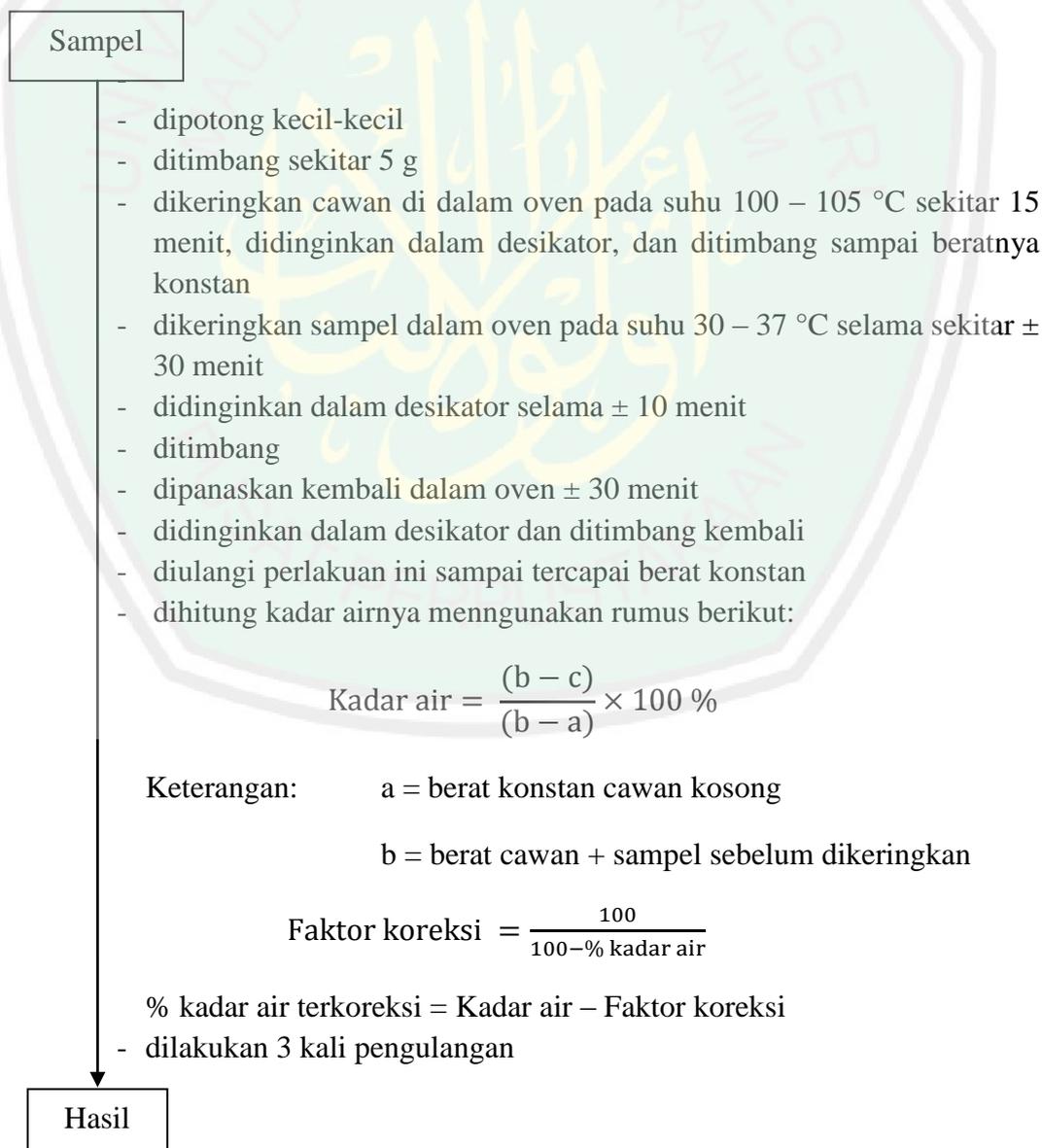


## Lampiran 2. Skema kerja

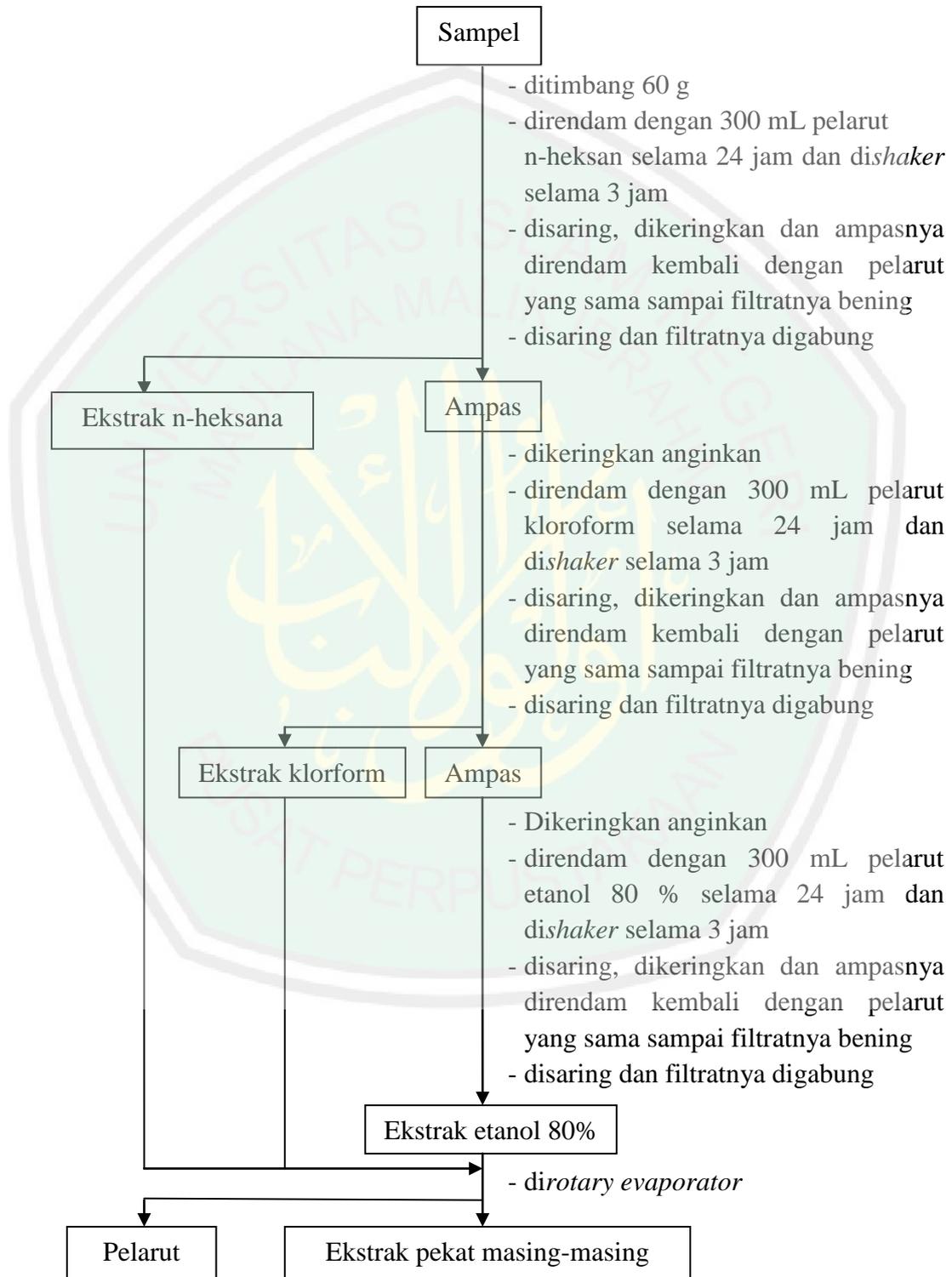
### L.2.1 Preparasi Sampel



### L.2.2 Analisis Kadar Air

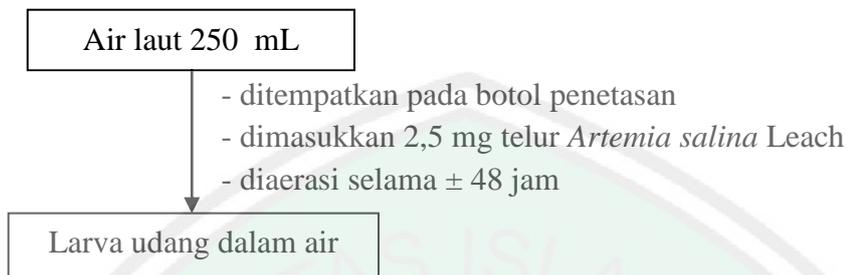


### L.2.3 Ekstraksi Komponen Aktif

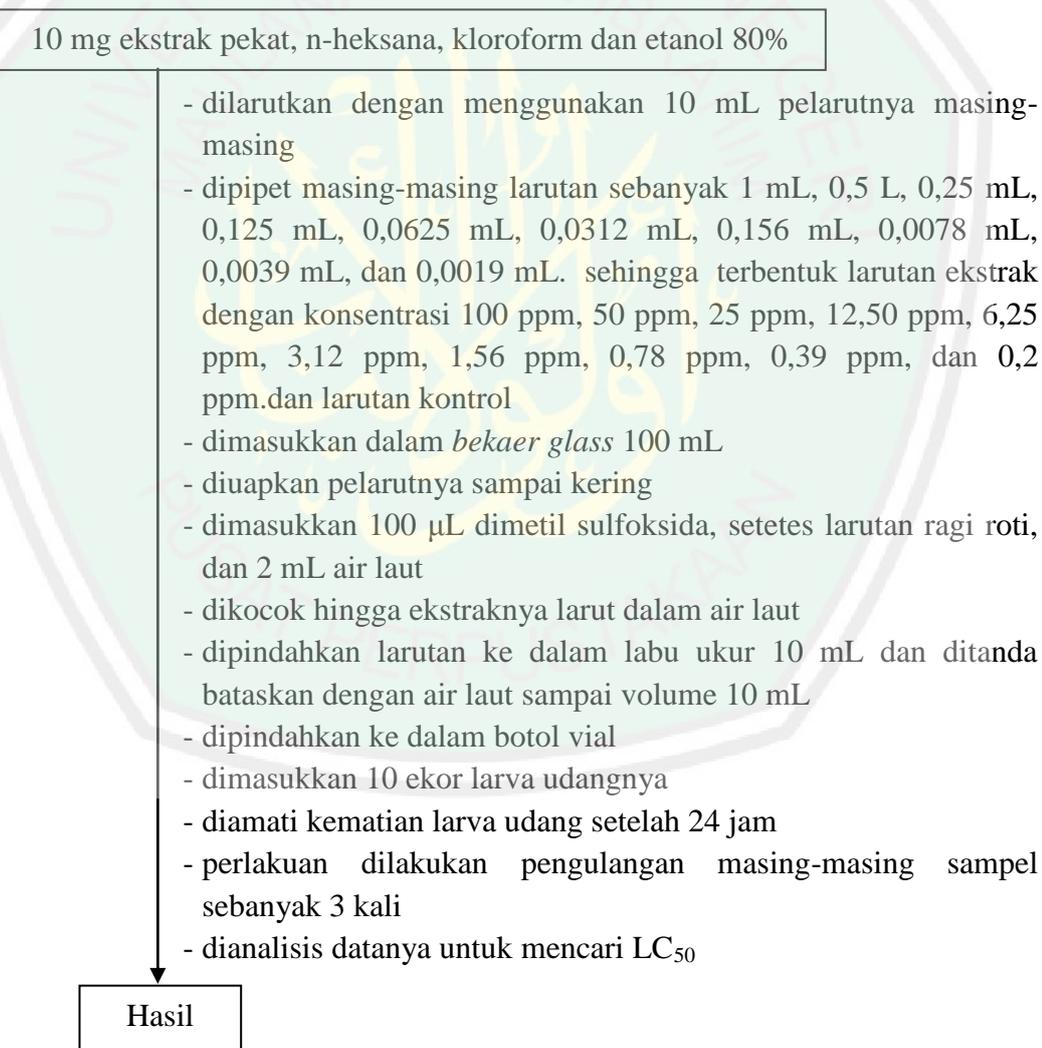


## L.2.4 Uji Sititoksik Larva Udang *Artemia salina* Leach

### L.2.4.1 Penetasan Telur



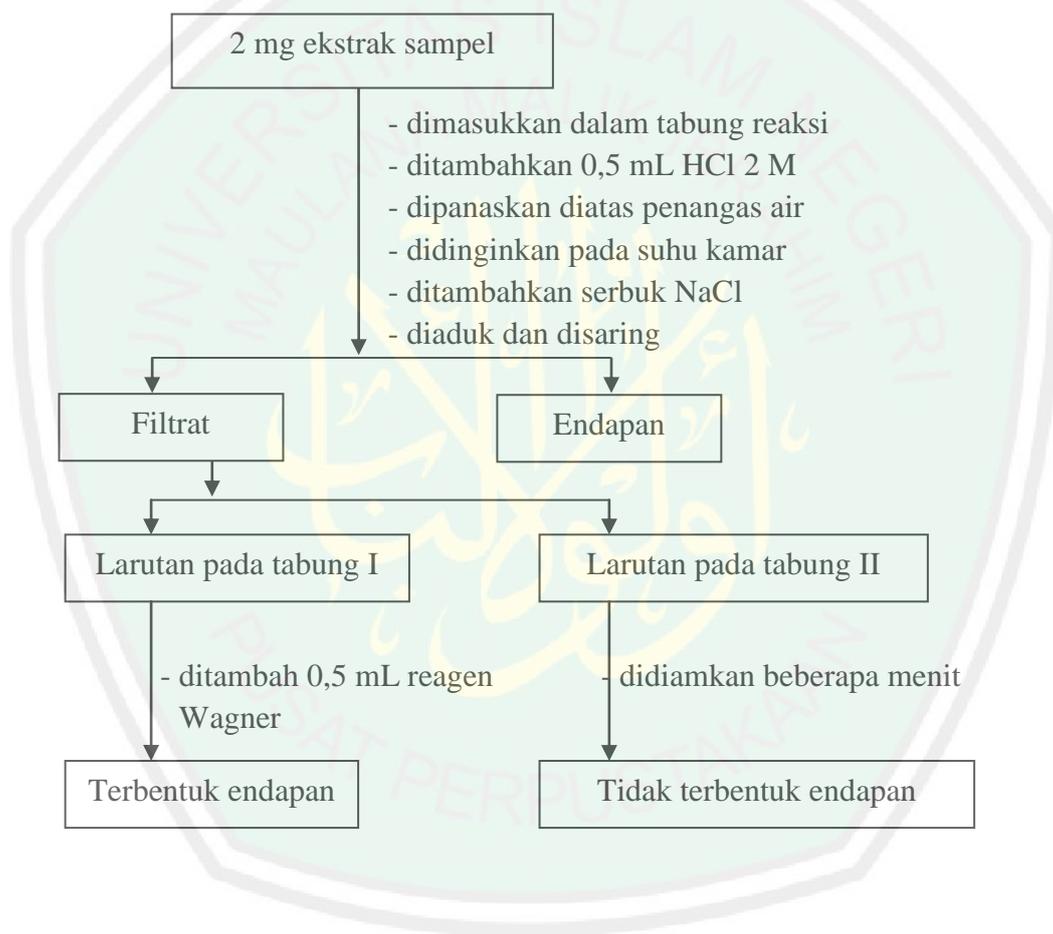
### L.2.4.2 Uji Sitotoksik



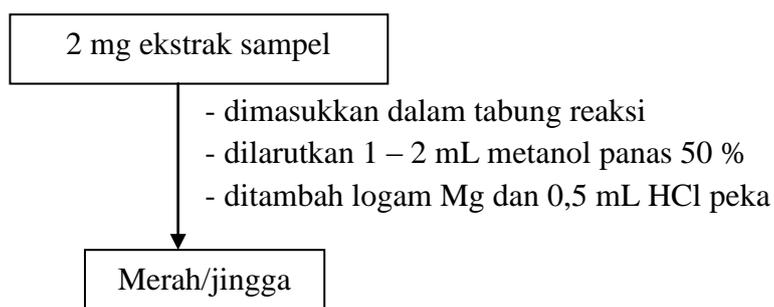
### L.2.5 Uji Fitokimia dengan Uji Reagen

Uji fitokimia kandungan senyawa aktif dengan uji reagen dari ekstrak pekat, n-heksana, kloroform dan etanol 80 % dari akar tanaman rumput bambu dilarutkan dengan sedikit masing-masing pelarutnya, kemudian dilakukan untuk uji alkaloid, flavonoid, saponin, triterpenoid, steroid dan tanin.

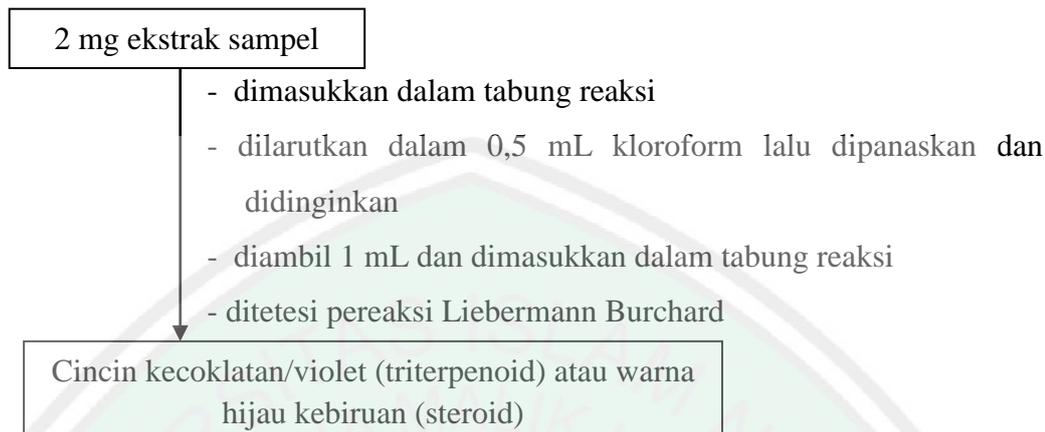
#### L.2.5.1 Uji alkaloid



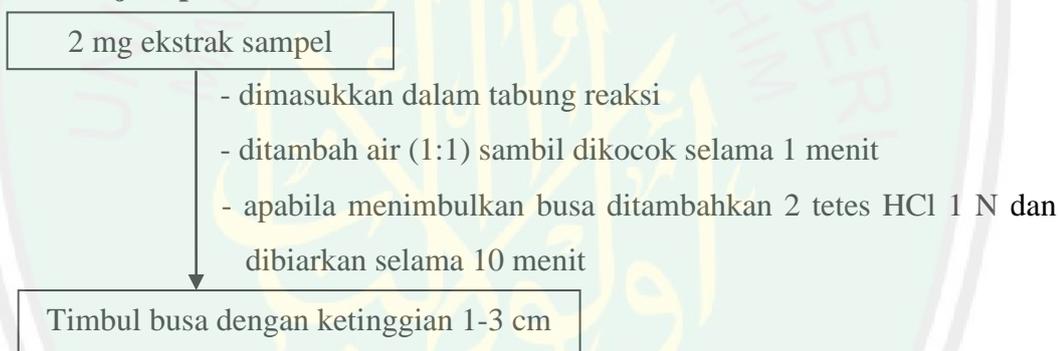
#### L.2.5.2 Uji Flavonoid



### L.2.5.3 Uji Triterpenoid/Steroid

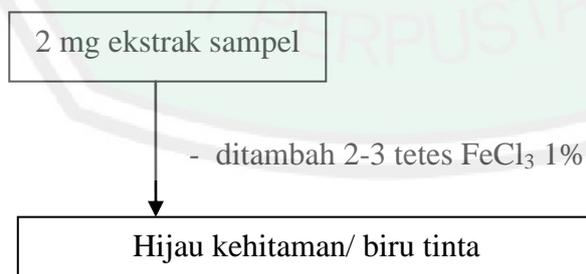


### L.2.5.4 Uji Saponin

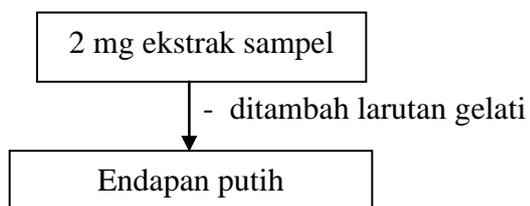


### L.2.5.5 Uji Tanin

#### L.2.5.5.1 Uji dengan FeCl<sub>3</sub>



#### L.2.5.5.2 Ujidengan Larutan Gelatin



### L.2.6 Uji Fitokimia dengan KLT

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



### Lampiran 3. Perhitungan dan Pembuatan Reagen dan Larutan

#### L.3.1 Pembuatan larutan HCl 1 N

$$\text{BJ HCl pekat} = 1,19 \text{ g/mL} = 1190 \text{ g/L}$$

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

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

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

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

$$= 1 \times \frac{37 \% \times \text{BJ HCl}}{\text{BM HCl pekat}}$$

$$= \frac{37 \% \times 1190 \text{ g/L}}{36,42 \text{ g/mol}} = 12,09 \text{ N}$$

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

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

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

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

#### L.3.2 Pembuatan HCl 2 %

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

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

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

Cara pembuatannya adalah dipipet larutan HCl pekat 37 % sebanyak 0,5 mL, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL yang berisi  $\pm$  5 mL aquades.

Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

### L.3.3 Pembuatan Reagen Dragendorff

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

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

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

### L.3.4 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).

### L.3.5 Pembuatan reagen Lieberman-Burchard

Asam sulfat pekat = 5 mL

Anhidrida asetat = 5 mL

Etanol absolut = 50 mL

Cara pembuatannya adalah asam sulfat pekat 5 mL dan anhidrida asetat 5 mL dicampur ke dalam etanol absolut 50 mL, kemudian didinginkan dalam lemari

pendingin. Penggunaan reagen ini digunakan langsung setelah pembuatan (Wagner, 2001).

### L.3.6 Pembuatan metanol 50%

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

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

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

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

### L.3.7 Pembuatan FeCl<sub>3</sub>

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

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

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

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

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

Cara pembuatannya adalah ditimbang serbuk FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O sebanyak 1 g kemudian dilarutkan dengan 99 mL aquades.

### L.3.8 Pembuatan NH<sub>3</sub> 10%

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

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

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

Cara pembuatannya adalah diambil larutan NH<sub>3</sub> 50 % sebanyak 2 mL, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL yang berisi ± 5 mL aquades. Ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

### L.3.9 Pembuatan Larutan Gelatin

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

#### L.4 Perhitungan Konsentrasi Larutan Ekstrak Untuk Uji Sititoksik

##### a. Pembuatan larutan stok 1000 ppm ekstrak akar Rumpu Bambu

$$\begin{aligned} \text{ppm} &= \text{mg/L} \\ \text{larutan stok 1000 ppm} &= \text{mg/L dalam 10 mL pelarutnya} \\ 1000 \text{ ppm} &= \frac{\text{mg}}{10 \cdot 10^{-3} \text{ L}} \\ \text{mg} &= 1000 \text{ mg/L} \cdot 0,01 \text{ L} \\ \text{mg} &= 10 \text{ mg} \end{aligned}$$

Jadi, larutan stok 1000 ppm pada masing-masing ekstrak dibuat dengan dilarutkan 10 mg sampel ke dalam 10 mL pelarutnya.

##### b. Pembuatan larutan ekstrak 100 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\ V_1 \times 1000 \text{ ppm} &= 0,01 \text{ L} \times 100 \text{ ppm} \\ V_1 &= 1 \text{ L} \cdot \text{ppm} / 1000 \text{ ppm} \\ V_1 &= 1 \cdot 10^{-3} \text{ L} = 1 \text{ mL} \end{aligned}$$

Jadi, larutan ekstrak 100 ppm dibuat dengan 1 mL larutan stok yang dilarutkan dalam 10 mL air laut.

##### c. Pembuatan larutan ekstrak 50 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\ V_1 \times 1000 \text{ ppm} &= 0,01 \text{ L} \times 50 \text{ ppm} \\ V_1 &= 0,5 \text{ L} \cdot \text{ppm} / 1000 \text{ ppm} \\ V_1 &= 5 \cdot 10^{-4} \text{ L} = 0,5 \text{ mL} \end{aligned}$$

Jadi, larutan ekstrak 50 ppm dibuat dengan 0,5 mL larutan stok yang dilarutkan dalam 10 mL air laut.

**d. Pembuatan larutan ekstrak 25 ppm**

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

$$V_1 \times 1000 \text{ ppm} = 0,01 \text{ L} \times 25 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 0,25 \text{ L.ppm} / 1000 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 2,5 \cdot 10^{-4} \text{ L} = 0,25 \text{ mL} = 250 \mu\text{L}$$

Jadi, larutan ekstrak 25 ppm dibuat dengan 250 $\mu$ L larutan stok yang dilarutkan dalam 10 mL air laut.

**e. Pembuatan larutan ekstrak 12,50 ppm**

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

$$V_1 \times 1000 \text{ ppm} = 0,01 \text{ L} \times 12,5 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 0,125 \text{ L.ppm} / 1000 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 1,25 \cdot 10^{-4} \text{ L} = 0,125 \text{ mL} = 125 \mu\text{L}$$

Jadi, larutan ekstrak 12,5 ppm dibuat dengan 125  $\mu$ L larutan stok yang dilarutkan dalam 10 mL air laut.

**f. Pembuatan larutan ekstrak 6,25 ppm**

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

$$V_1 \times 1000 \text{ ppm} = 0,01 \text{ L} \times 6,25 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 0,0625 \text{ L.ppm} / 1000 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 6,25 \cdot 10^{-5} \text{ L} = 0,0625 \text{ mL} = 62,5 \mu\text{L}$$

Jadi, larutan ekstrak 6 ppm dibuat dengan 62.5  $\mu$ L larutan stok yang dilarutkan dalam 10 mL air laut.

**g. Pembuatan larutan ekstrak 3,13 ppm**

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

$$V_1 \times 1000 \text{ ppm} = 0,01 \text{ L} \times 3,125 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 0,03125 \text{ L.ppm} / 1000 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 3,125 \cdot 10^{-5} \text{ L} = 0,03125 \text{ mL} = 31,25 \mu\text{L}$$

Jadi, larutan ekstrak 3 ppm dibuat dengan 31,25  $\mu\text{L}$  larutan stok yang dilarutkan dalam 10 mL air laut.

**h. Pembuatan larutan ekstrak 1,56 ppm**

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

$$V_1 \times 1000 \text{ ppm} = 0,01 \text{ L} \times 1,5625 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 0,015625 \text{ L.ppm} / 1000 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 1,5625 \cdot 10^{-5} \text{ L} = 0,015625 \text{ mL} = 15,63 \mu\text{L}$$

Jadi, larutan ekstrak 1,5 ppm dibuat dengan 15,63  $\mu\text{L}$  larutan stok yang dilarutkan dalam 10 mL air laut.

**i. Pembuatan larutan ekstrak 0,78 ppm**

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

$$V_1 \times 1000 \text{ ppm} = 0,01 \text{ L} \times 0,78 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 0,0078 \text{ L.ppm} / 1000 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 7,8 \cdot 10^{-6} \text{ L} = 0,0078 \text{ mL} = 7,8 \mu\text{L}$$

Jadi, larutan ekstrak 0,78 ppm dibuat dengan 7,8  $\mu\text{L}$  larutan stok yang dilarutkan dalam 10 mL air laut

**j. Pembuatan larutan ekstrak 0,39 ppm**

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

$$V_1 \times 1000 \text{ ppm} = 0,01 \text{ L} \times 0,39 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 0,0039 \text{ L.ppm} / 1000 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 3,9 \cdot 10^{-6} \text{ L} = 0,0039 \text{ mL} = 3,90 \mu\text{L}$$

Jadi, larutan ekstrak 0,3906 ppm dibuat dengan 3,90  $\mu\text{L}$  larutan stok yang dilarutkan dalam 10 mL air laut

**k. Pembuatan larutan ekstrak 0,20 ppm**

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

$$V_1 \times 1000 \text{ ppm} = 0,01 \text{ L} \times 0,2 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 0,002 \text{ L.ppm} / 1000 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 2 \cdot 10^{-6} \text{ L} = 0,002 \text{ mL} = 2 \mu\text{L}$$

Jadi, larutan ekstrak 0,193 ppm dibuat dengan 2  $\mu\text{L}$  larutan stok yang dilarutkan dalam 10 mL air laut

**Lampiran 5 Akumulasi Waktu Penelitian**

No.	Rencana Penelitian	Bulan																											
		Oktober				November				Desember				Januari				Februari				Maret				April			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	Proposal																												
2	Persiapan sampel																												
3	Uji kadar air																												
4	Preparasi sampel																												
5	Ekstraksi sampel																												
6	Uji toksisitas																												
7	Uji Fitokimia																												
8	Analisis Data																												
9	Pembuatan Laporan																												

## Lampiran 6 Perhitungan Kadar Air

### 1. Data Pengukuran Kadar Air Sampel Basah Akar Rumput Bambu

Ulangan cawan	Berat Cawan Kosong (gr)				Rata-rata berat konstan
	Sebelum dioven	P1	P2	P3	
A1	54,527	54,526	54,526	54,52	54,526
A2	75,066	75,065	75,066	75,067	75,066
A3	65,382	65,381	65,382	65,383	65,382

Ulangan cawan	Berat Cawan + Sampel (gr)						Rata-rata Berat konstan
	Sebelum dioven	P1	P2	P3	P4	P5	
A1	59,528	57,589	56,851	56,661	56,645	56,645	56,645
A2	80,091	78,339	77,142	77,125	77,119	77,118	77,118
A3	70,392	68,306	67,579	67,474	64,471	64,471	67,471

Keterangan: \*P= perlakuan

\*Tanda merah menunjukkan angka yang sudah konstan (2 angka dibelakang koma sama).

#### 1.1 Perhitungan Kadar Air Sampel Basah

Adapun rumus perhitungan kadar air adalah:

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

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

$$\% \text{ Kadar air terkoreksi} = \text{Kadar air} - \text{Faktor koreksi}$$

Keterangan:

a = berat cawan kosong

b = berat cawan + sampel sebelum dikeringkan

c = berat cawan konstan + sampel setelah dikeringkan

**A. Ulangan ke 1 (A1)**

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar air} &= \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\% \\
 &= \frac{(59,5283 - 56,6451)}{(59,5283 - 54,5261)} \times 100\% \\
 &= \frac{2,8832}{5,0022} \times 100\% \\
 &= 57,638 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Faktor koreksi} &= \frac{100}{100\% - 57,638\%} \\
 &= \frac{100}{42,362\%} \\
 &= 2,360 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Kadar air terkoreksi} &= \text{Kadar air} - \text{Faktor koreksi} \\
 &= 57,638 \% - 2,360 \% \\
 &= 55,277 \%
 \end{aligned}$$

**B. Ulangan ke 2 (A2)**

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar air} &= \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\% \\
 &= \frac{(80,091 - 77,118)}{(80,091 - 75,066)} \times 100\% \\
 &= \frac{2,973}{5,025} \times 100\% \\
 &= 59,164 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Faktor koreksi} &= \frac{100}{100\% - 59,164\%} \\
 &= \frac{100}{40,836\%} \\
 &= 2,448 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Kadar air terkoreksi} &= \text{Kadar air} - \text{Faktor koreksi} \\
 &= 59,164 \% - 2,448 \% \\
 &= 56,716 \%
 \end{aligned}$$

**C. Ulangan ke 3 (A3)**

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\% \\ &= \frac{(70,392 - 67,471)}{(70,392 - 65,382)} \times 100\% \\ &= \frac{2,921}{5,010} \times 100\% \\ &= 58,303\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Faktor koreksi} &= \frac{100}{100\% - 58,303\%} \\ &= \frac{100}{41,696\%} \\ &= 2,398\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ Kadar air terkoreksi} &= \text{Kadar air} - \text{Faktor koreksi} \\ &= 58,303\% - 2,398\% \\ &= 55,900\% \end{aligned}$$

- Hasil rata-rata kadar air dari ulangan ke 1 sampai ke 3 adalah:

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata kadar air} &= \frac{57,638\% + 59,164\% + 58,303\%}{3} \\ &= 58,368\% \end{aligned}$$

- Hasil rata-rata faktor koreksi dari ulangan ke 1 sampai ke 3 adalah:

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata faktor koreksi} &= \frac{2,360\% + 2,448\% + 2,398\%}{3} \\ &= 2,402\% \end{aligned}$$

- Hasil rata-rata kadar air terkoreksi dari ulangan ke 1 sampai ke 3 adalah:

$$\begin{aligned} \text{rata-rata kadar air terkoreksi} &= \frac{55,277\% + 56,716\% + 55,900\%}{3} \\ &= 55,966\% \end{aligned}$$

**2. Data Pengukuran Kadar Air Sampel Kering Akar Rumpun Bambu**

Ulangan cawan	Berat Cawan Kosong (gr)				Rata-rata berat konstan
	Sebelum dioven	P1	P2	P3	
B1	57,432	57,429	57,429	57,429	57,429
B2	75,076	75,071	75,070	75,070	75,074
B3	65,392	65,388	65,387	65,388	65,388

Ulangan cawan	Berat Cawan + Sampel (gr)						Rata-rata Berat konstan
	Sebelum dioen	P1	P2	P3	P4	P5	
B1	62,433	62,020	62,000	61,997	61,993	61,994	61,993
B2	80,064	79,664	79,644	79,617	79,616	79,615	79,615
B3	70,386	69,999	69,987	69,972	69,975	69,975	69,975

Keterangan: \*P= perlakuan

\*Tanda merah menunjukkan angka yang sudah konstan (2 angka dibelakang koma sama).

## 2.1 Perhitungan Kadar Air Sampel Kering

Adapun rumus perhitungan kadar air adalah:

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

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

% Kadar air terkoreksi = Kadar air – Faktor koreksi

Keterangan:

a = berat cawan kosong

b = berat cawan + sampel sebelum dikeringkan

c = berat cawan konstan + sampel setelah dikeringkan

### A. Ulangan ke 1 (B1)

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\% \\ &= \frac{(62,4330 - 61,9939)}{(62,4330 - 57,4292)} \times 100\% \\ &= \frac{0,4391}{5,0038} \times 100\% \\ &= 8,775\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Faktor koreksi} &= \frac{100}{100\% - 8,775\%} \\ &= \frac{100}{91,224\%} \\ &= 1,096\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Kadar air terkoreksi} &= \text{Kadar air} - \text{Faktor koreksi} \\
 &= 8,775 \% - 1,096 \% \\
 &= 7,679 \%
 \end{aligned}$$

### B. Ulangan ke 2 (B2)

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar air} &= \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100 \% \\
 &= \frac{(80,0643 - 79,6159)}{(80,0643 - 75,0748)} \times 100 \% \\
 &= \frac{0,4484}{4,989} \times 100 \% \\
 &= 8,987 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Faktor koreksi} &= \frac{100}{100 \% - 8,987 \%} \\
 &= \frac{100}{91,012 \%} \\
 &= 1,098 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Kadar air terkoreksi} &= \text{Kadar air} - \text{Faktor koreksi} \\
 &= 8,775 \% - 1,098 \% \\
 &= 7,677 \%
 \end{aligned}$$

### C. Ulangan ke 3 (B3)

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar air} &= \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100 \% \\
 &= \frac{(70,3869 - 69,9752)}{(70,3869 - 65,3881)} \times 100 \% \\
 &= \frac{0,4117}{4,9988} \times 100 \% \\
 &= 8,235 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Faktor koreksi} &= \frac{100}{100 \% - 8,235 \%} \\
 &= \frac{100}{91,7640 \%} \\
 &= 1,098 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Kadar air terkoreksi} &= \text{Kadar air} - \text{Faktor koreksi} \\
 &= 8,235 \% - 1,098 \% \\
 &= 7,137 \%
 \end{aligned}$$

- Hasil rata-rata kadar air dari ulangan ke 1 sampai ke 3 adalah:

$$\text{Rata-rata kadar air} = \frac{8,775 \% + 8,987 \% + 8,235 \%}{3}$$

$$= 8,665 \%$$

- Hasil rata-rata faktor koreksi dari ulangan ke 1 sampai ke 3 adalah:

$$\text{Rata-rata faktor koreksi} = \frac{1,096 \% + 1,098 \% + 1,098 \%}{3}$$

$$= 1,097 \%$$

- Hasil rata-rata kadar air terkoreksi dari ulangan ke 1 sampai ke 3 adalah:

$$\text{rata-rata kadar air terkoreksi} = \frac{7,679 \% + 7,677 \% + 7,137 \%}{3}$$

$$= 7,497 \%$$

Kadar Air yang Terkandung pada Sampel Basah dan Kering Akar Rumput Bambu (*Lopathetum gracile* Brongn) pada Setiap Pengulangannya Adalah:

Sampel Akar Rumput Bambu	Kadar Air yang Terkandung pada Sampel			
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata
Basah	55,277 %	56,726 %	55,900 %	55,966 %
Kering	7,697 %	7,677 %	7,137 %	7,497 %

## Lampiran 5. Perhitungan Rendemen

### 1. Ekstrak n-Heksana

$$\begin{aligned}
 \text{Berat gelas vial kosong} &= 71,2499 \text{ g} \\
 \text{Berat gelas vial kosong + ekstrak pekat} &= 71,4175 \text{ g} \\
 \text{Berat ekstrak pekat} &= (\text{Berat gelas vial kosong + ekstrak pekat}) - \text{Berat gelas} \\
 &\quad \text{vial kosong} \\
 &= 71,4175 \text{ g} - 71,2499 \text{ g} = 0,1676 \text{ g} \\
 \text{Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak pekat}}{\text{berat sampel}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,1676}{60} \times 100 \% = 0,279 \text{ gram}
 \end{aligned}$$

### 2. Ekstrak Kloroform

$$\begin{aligned}
 \text{Berat gelas vial kosong} &= 80,1546 \text{ g} \\
 \text{Berat gelas vial kosong + ekstrak pekat} &= 86,7946 \text{ g} \\
 \text{Berat ekstrak pekat} &= (\text{Berat gelas vial kosong + ekstrak pekat}) - \text{Berat gelas} \\
 &\quad \text{vial kosong} \\
 &= 86,7946 \text{ g} - 80,1546 \text{ g} = 6,6382 \\
 \text{Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak pekat}}{\text{berat sampel}} \times 100\% \\
 &= \frac{6,6382}{60} \times 100 \% = 11,063 \text{ gram}
 \end{aligned}$$

### 3. Ekstrak Etanol

$$\begin{aligned}
 \text{Berat gelas vial kosong} &= 92,2837 \text{ g} \\
 \text{Berat gelas vial kosong + ekstrak pekat} &= 95,0518 \text{ g} \\
 \text{Berat ekstrak pekat} &= (\text{Berat gelas vial kosong + ekstrak pekat}) - \text{Berat gelas} \\
 &\quad \text{vial kosong} \\
 &= 95,0518 \text{ g} - 92,2837 \text{ g} = 2,7681 \text{ g} \\
 \text{Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak pekat}}{\text{berat sampel}} \times 100\% \\
 &= \frac{2,7681 \text{ g}}{60} \times 100 \% = 4,6135 \text{ g}
 \end{aligned}$$

## Lampiran 8 Perhitungan Nilai LC<sub>50</sub> Ekstrak Akar Rumpuk Bambu Secara Manual

### 1. Ekstrak n-Heksana Akar Rumpuk Bambu

Konsentrasi (ppm)	Log Konsentrasi (x)	Jumlah Larva (ekor)	Jumlah larva Yang mati (ekor) <sup>#</sup>	% Mortalitas	Mortalitas	Probit % Mortalitas (y) <sup>#</sup>
0*	-	30	0	0	0	-
0**	-	30	0	0	0	-
0,1953	-0,7092	30	1	10	3	3,72
0,390	-0,4082	30	2	20	6	4,16
0,78	-0,1079	30	2	20	6	4,16
1,5625	0,1938	30	2	20	6	4,16
3,125	0,4948	30	4	40	12	4,75
6,25	0,7958	30	3	30	9	4,48
12,5	1,0969	30	4	40	12	4,75
25	1,3979	30	4	40	12	4,75
50	1,6989	30	4	40	12	4,75
100	2	30	5	50	15	5,00

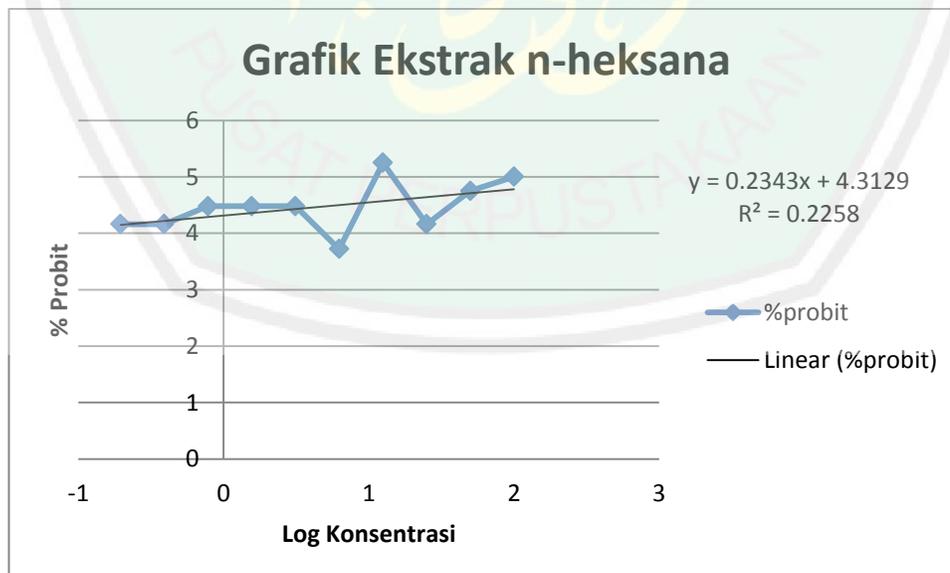
Keterangan : \*Kontrol air laut

\* Kontrol Pelerut dan DMSO

<sup>#</sup>Diambil dari data modus (angka yang sering muncul) pada kematian larva

(y)<sup>#</sup> Diambil dari data terlampir

Grafik Hubungan antara Log Konsentrasi (x) dan Probit (y) pada Ekstrak n-Heksana



- Dicari nilai X dari persamaan pada grafik

$$y = 0,4046x + 4,207$$

$$5 = 0,4046x + 4,207$$

$$0,4046x = 5 - 4,207$$

$$0,4046x = 0,793$$

$$x = \frac{0,793}{0,4046}$$

$$x = 1,95$$

- Nilai  $LC_{50}$  = Antilog x  
= antilog (1,95)  
= 89,12 ppm

## 2. Ekstrak Kloroform Akar Rumpun Bambu

Konsentrasi (ppm)	Log Konsentrasi (x)	Jumlah Larva (ekor)	Jumlah larva Yang mati (ekor) <sup>#</sup>	% Mortalitas	Mortalitas	Probit % Mortalitas (y) <sup>#</sup>
0*	-	30	0	0	0	-
0**	-	30	0	0	0	-
0,1953	-0,7092	30	2	20	6	4,16
0,390	-0,4082	30	3	30	9	4,48
0,78	-0,1079	30	3	30	9	4,48
1,5625	0,1938	30	4	40	12	4,75
3,125	0,4948	30	5	50	15	5,00
6,25	0,7958	30	5	50	15	5,00
12,5	1,0969	30	5	50	15	5,00
25	1,3979	30	4	40	12	4,75
50	1,6989	30	5	50	15	5,00
100	2	30	6	60	18	5,25

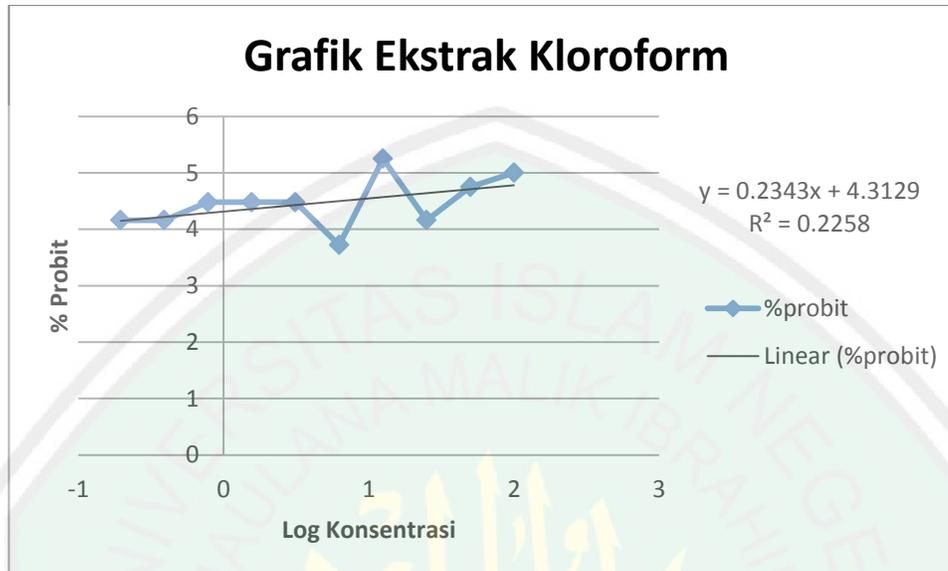
Keterangan : \*Kontrol air laut

\* Kontrol Pelerut dan DMSO

<sup>#</sup>Diambil dari data modus (angka yang sering muncul) pada kematian larva

(y)<sup>#</sup> Diambil dari data terlampir

Grafik Hubungan antara Log Konsentrasi (x) dan Probit (y) pada Ekstrak Kloroform



- Dicari nilai X dari persamaan pada grafik

$$y = 0,313x + 4,5851$$

$$5 = 0,313x + 4,5851$$

$$0,313x = 5 - 4,5851$$

$$0,313x = 0,4149$$

$$x = \frac{0,4149}{0,313}$$

$$x = 1,325$$

- Nilai  $LC_{50}$  = Antilog x  
 = antilog (1,325)  
 = 21,159 ppm

### 1. Ekstrak Etanol 80 % Akar Rumput Bambu

Konsentrasi (ppm)	Log Konsentrasi (x)	Jumlah Larva (ekor)	Jumlah larva Yang mati (ekor) <sup>#</sup>	% Mortalitas	Mortalitas	Probit % Mortalitas (y) <sup>#</sup>
0*	-	30	0	0	0	-
0**	-	30	0	0	0	-
0,1953	-0,7092	30	2	20	6	4,16
0,390	-0,4082	30	2	20	6	4,16
0,78	-0,1079	30	3	30	9	4,48
1,5625	0,1938	30	3	30	9	4,48
3,125	0,4948	30	3	30	9	4,48
6,25	0,7958	30	1	10	3	3,72
12,5	1,0969	30	6	60	18	5,25
25	1,3979	30	2	20	6	4,16
50	1,6989	30	4	40	12	4,75
100	2	30	5	50	15	5

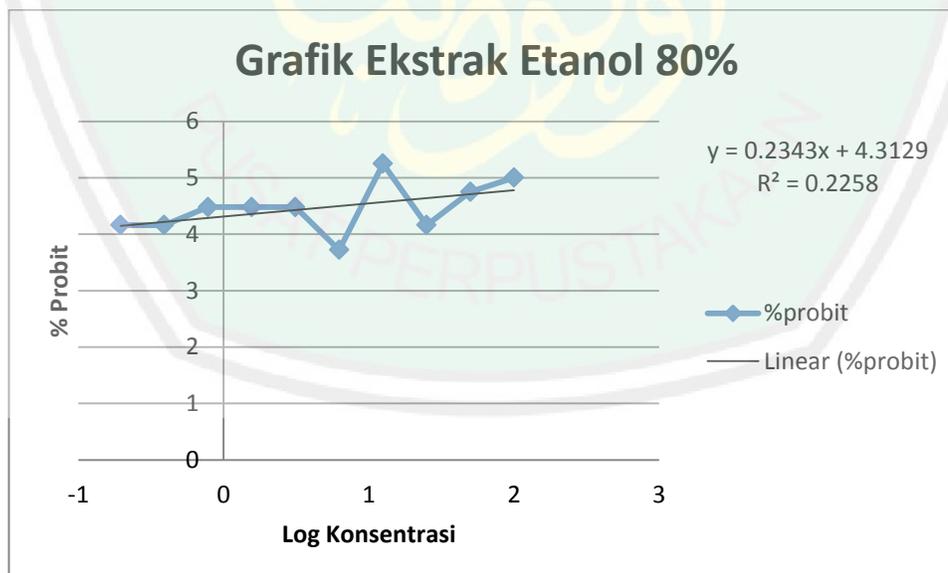
Keterangan : \*Kontrol air laut

\* Kontrol Pelerut dan DMSO

<sup>#</sup>Diambil dari data modus (angka yang sering muncul) pada kematian larva

(y) <sup>#</sup> Diambil dari data terlampir

Grafik Hubungan antara Log Konsentrasi (x) dan Probit (y) pada Ekstrak Etanol 80 %



- Dicari nilai X dari persamaan pada grafik

$$y = 0,2343x + 4,3129$$

$$5 = 0,2343x + 4,3129$$

$$0,2343x = 5 - 4,3129$$

$$0,2343x =$$

$$x = \frac{0,6872}{0,2343}$$

$$x = 2,932$$

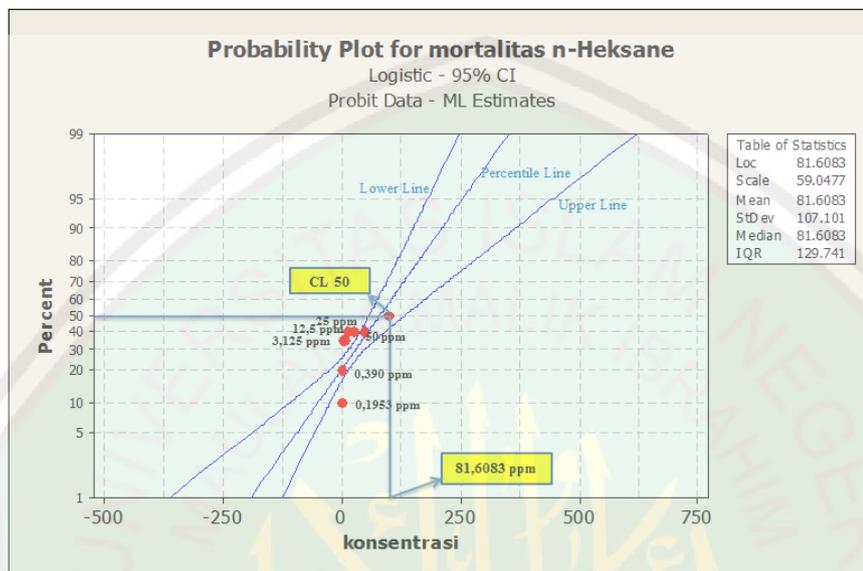
- Nilai  $LC_{50} = \text{Antilog } x$   
 $= \text{antilog } (2,932)$   
 $= 855,066 \text{ ppm}$

**Tabel Probit (deviasi normal +5) sesuai dengan persentase dalam margin (Harmita, 2008)**

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2,67	2,95	3,12	3,25	3,36	3,45	3,52	3,59	3,66
10	3,72	3,77	3,82	3,87	3,92	3,96	4,01	4,05	4,08	4,12
20	4,16	4,19	4,23	4,26	4,29	4,33	4,36	4,39	4,42	4,45
30	4,48	4,50	4,53	4,56	4,59	4,61	4,64	4,67	4,69	4,72
40	4,75	4,77	4,80	4,82	4,85	4,87	4,90	4,92	4,95	4,97
50	5,00	5,03	5,05	5,08	5,10	5,13	5,15	5,18	5,20	5,23
60	5,25	5,28	5,31	5,33	5,36	5,39	5,41	5,44	5,47	5,50
70	5,52	5,55	5,58	5,61	5,64	5,67	5,71	5,74	5,77	5,81
80	5,84	5,88	5,92	5,95	5,99	6,04	6,08	6,13	6,18	6,23
90	6,28	6,34	6,41	6,48	6,55	6,64	6,75	6,88	7,05	7,33
	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
99	7,33	7,37	7,41	7,46	7,51	7,58	7,65	7,75	7,88	8,09

## Lampiran 9 Analisis Probit LC<sub>50</sub>

### 9.1 Analisis LC<sub>50</sub> Ekstrak n-Heksana



2/13/2014 5:35:43 PM

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

Distribution: Logistic

#### Response Information

Variable	Value	Count
mortalitas	Event	93
	Non-event	267
jumlah hewan uji	Total	360

Estimation Method: Maximum Likelihood

#### Regression Table

Variable	Coef	Standard Error	Z	P
Constant	-1.38207	0.148340	-9.32	0.000
konsentrasi	0.0169355	0.0038643	4.38	0.000
Natural Response	0			

Log-Likelihood = -196.019

#### Goodness-of-Fit Tests

Method	Chi-Square	DF	P
Pearson	32.2888	9	0.000

Deviance 42.6969 9 0.000

Tolerance Distribution

Parameter Estimates

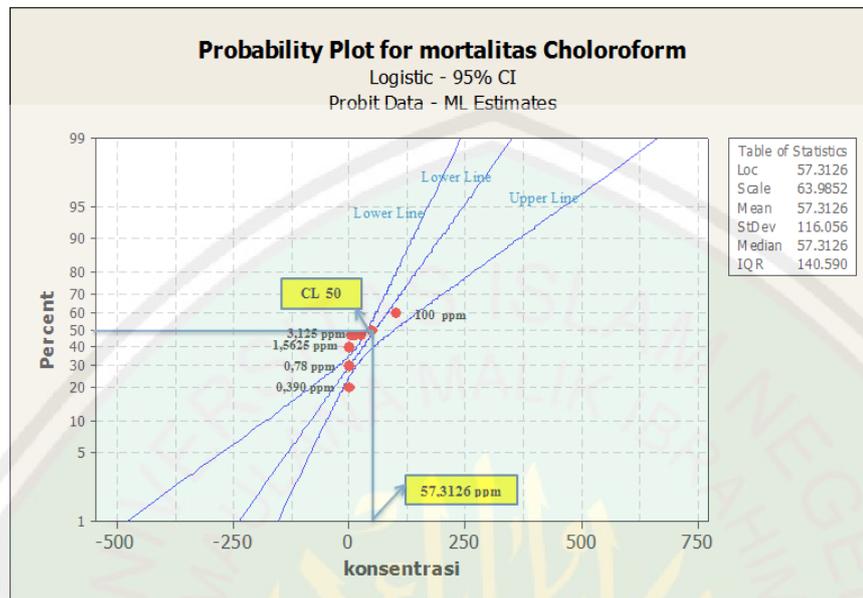
Parameter	Estimate	Standard Error	95.0% Normal CI	
			Lower	Upper
Location	81.6083	15.6544	50.9262	112.290
Scale	59.0477	13.4733	37.7554	92.3478

Table of Percentiles

Percent	Percentile	Standard Error	95.0% Fiducial CI	
			Lower	Upper
1	-189.723	48.6366	-361.290	-123.516
2	-148.195	39.2952	-286.428	-94.5568
3	-123.647	33.8086	-242.247	-77.3691
4	-106.048	29.9012	-210.625	-64.9946
5	-92.2540	26.8609	-185.882	-55.2506
6	-80.8635	24.3709	-165.493	-47.1636
7	-71.1297	22.2629	-148.109	-40.2129
8	-62.6066	20.4367	-132.927	-34.0870
9	-55.0065	18.8283	-119.430	-28.5835
10	-48.1327	17.3944	-107.266	-23.5633
20	-0.249179	8.79035	-25.5413	14.4210
30	31.5773	7.72046	17.0995	51.3466
40	57.6665	11.1262	40.7869	92.8825
50	81.6083	15.6544	59.2603	134.264
60	105.550	20.6402	76.7641	176.615
70	131.639	26.2899	95.3947	223.207
80	163.466	33.3254	117.835	280.334
90	211.349	44.0491	151.320	366.558
91	218.223	45.5964	156.111	378.951
92	225.823	47.3088	161.405	392.657
93	234.346	49.2310	167.339	408.031
94	244.080	51.4283	174.111	425.593
95	255.470	54.0020	182.032	446.149
96	269.265	57.1220	191.618	471.050
97	286.864	61.1066	203.839	502.825
98	311.411	66.6706	220.874	547.159
99	352.939	76.0960	249.668	622.186

Probability Plot for mortalitas

## 9.2 Analisis LC<sub>50</sub> Ekstrak Kloroform



2/13/2014 5:35:43 PM

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

Distribution: Logistic

#### Response Information

Variable	Value	Count
mortalitas	Event	126
	Non-event	234
jumlah hewan uji	Total	360

Estimation Method: Maximum Likelihood

#### Regression Table

Variable	Coef	Standard Error	Z	P
Constant	-0.895716	0.132546	-6.76	0.000
konsentrasi	0.0156286	0.0038605	4.05	0.000
Natural Response	0			

Log-Likelihood = -224.429

#### Goodness-of-Fit Tests

Method	Chi-Square	DF	P
Pearson	42.5435	9	0.000

Deviance 58.0323 9 0.000

Tolerance Distribution

Parameter Estimates

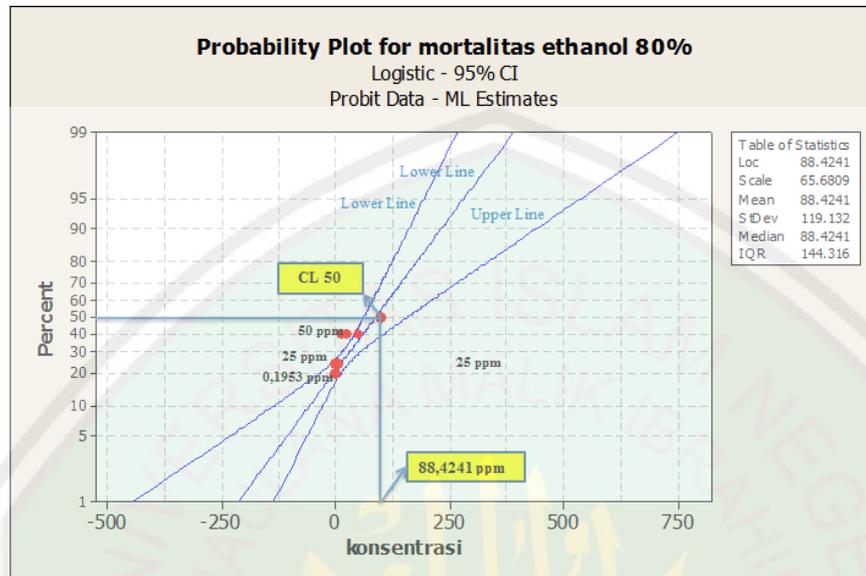
Parameter	Estimate	Standard Error	95.0% Normal CI	
			Lower	Upper
Location	57.3126	12.1644	33.4707	81.1545
Scale	63.9852	15.8054	39.4293	103.834

Table of Percentiles

Percent	Percentile	Standard Error	95.0% Fiducial CI	
			Lower	Upper
1	-236.707	63.2806	-476.371	-152.871
2	-191.706	52.2535	-389.311	-122.376
3	-165.106	45.7556	-337.889	-104.310
4	-146.036	41.1112	-301.051	-91.3295
5	-131.088	37.4825	-272.200	-81.1323
6	-118.745	34.4962	-248.396	-72.6920
7	-108.197	31.9537	-228.074	-65.4606
8	-98.9616	29.7364	-210.297	-59.1108
9	-90.7259	27.7680	-194.462	-53.4310
10	-83.2774	25.9964	-180.159	-48.2765
20	-31.3898	14.1481	-81.5301	-11.3588
30	3.09803	8.11108	-20.1147	17.3188
40	31.3688	7.99327	17.1465	53.9097
50	57.3126	12.1644	39.5998	99.2296
60	83.2564	17.7255	58.8235	147.779
70	111.527	24.2661	78.7599	201.695
80	146.015	32.4955	102.572	267.976
90	197.903	45.0800	137.992	368.102
91	205.351	46.8969	143.056	382.496
92	213.587	48.9077	148.652	398.415
93	222.823	51.1650	154.922	416.271
94	233.370	53.7454	162.078	436.669
95	245.713	56.7679	170.447	460.544
96	260.661	60.4319	180.575	489.465
97	279.732	65.1110	193.486	526.371
98	306.332	71.6444	211.482	577.863
99	351.332	82.7109	241.900	665.001

Probability Plot for mortalitas

### 9.3 Analisis LC<sub>50</sub> Ekstrak Etanol 80%



2/13/2014 5:35:43 PM

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

Distribution: Logistic

#### Response Information

Variable	Value	Count
mortalitas	Event	93
	Non-event	267
jumlah hewan uji	Total	360

Estimation Method: Maximum Likelihood

#### Regression Table

Variable	Coef	Standard Error	Z	P
Constant	-1.34627	0.147097	-9.15	0.000
konsentrasi	0.0152251	0.0038364	3.97	0.000
Natural Response	0			

Log-Likelihood = -197.875

#### Goodness-of-Fit Tests

Method	Chi-Square	DF	P
Pearson	45.3060	9	0.000
Deviance	53.8665	9	0.000

## Tolerance Distribution

## Parameter Estimates

Parameter	Estimate	Standard Error	95.0% Normal CI	
			Lower	Upper
Location	88.4241	18.8554	51.4683	125.380
Scale	65.6809	16.5501	40.0826	107.627

## Table of Percentiles

Percent	Percentile	Standard Error	95.0% Fiducial CI	
			Lower	Upper
1	-213.388	59.5798	-443.048	-134.858
2	-167.194	48.0744	-352.045	-103.672
3	-139.889	41.3090	-298.323	-85.1674
4	-120.313	36.4850	-259.861	-71.8483
5	-104.969	32.7266	-229.758	-61.3633
6	-92.2992	29.6441	-204.943	-52.6635
7	-81.4720	27.0301	-183.779	-45.1883
8	-71.9914	24.7616	-165.288	-38.6018
9	-63.5375	22.7594	-148.841	-32.6861
10	-55.8916	20.9704	-134.011	-27.2912
20	-2.62893	10.0373	-34.0667	13.6528
30	32.7728	8.64381	16.7563	56.4735
40	61.7928	13.1178	42.6143	107.378
50	88.4241	18.8554	62.4556	157.981
60	115.055	25.0806	81.2599	209.621
70	144.075	32.0876	101.294	266.350
80	179.477	40.7811	125.441	335.847
90	232.740	54.0002	161.493	440.683
91	240.386	55.9057	166.653	455.748
92	248.840	58.0142	172.355	472.409
93	258.320	60.3806	178.745	491.096
94	269.147	63.0852	186.039	512.441
95	281.818	66.2526	194.570	537.425
96	297.162	70.0915	204.896	567.687
97	316.737	74.9932	218.061	606.304
98	344.042	81.8365	236.411	660.179
99	390.236	93.4261	267.432	751.348

## Probability Plot for mortalitas

## Lampiran 10 Dokumentasi Penelitian

### L.9.1 Pengambilan Sampel



Pecabutan Rumput Bambu



Akar Rumput Bambu

### L.9.2 Analisis Kadar Air



Sampel Basah Akar Rumput Bambu



Sampel Kering Akar Rumput Bambu



Pengovenan Cawan



Desikator (Cawan + Sampel)

### L.9.3 Preparasi Sampel



Pencucian Sampel



Pengeringan Sampel dengan diangin anginkan



Pemplenderan Sampel



Pengayakan dengan  
Ayakan Ukuran 60 mesh

#### L.9.4 Ekstraksi Maserasi



Pengekstrakan Akar Rumput Bambu



Penyaringan Filtrat



Hasil Penyaringan Filtrat Ekstrak n-heksana, Kloroform dan Etanol 80%



Penguapan Pelarut dengan  
Rotay Evaporator



Hasil Ekstrak Pekat Etanol 80%,  
n-Heksana dan Klorofom

### L.9.5 Uji Sitotoksik



Penetasan Larva Udang  
*Artemia salina L.*



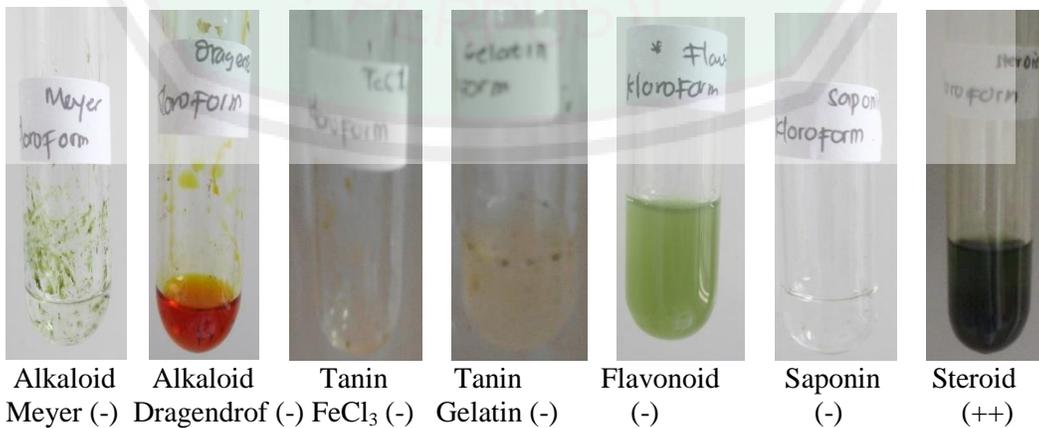
Pembuatan Variasi Konsentrasi

### L.9.6 Uji Fitokimia dengan Reagen

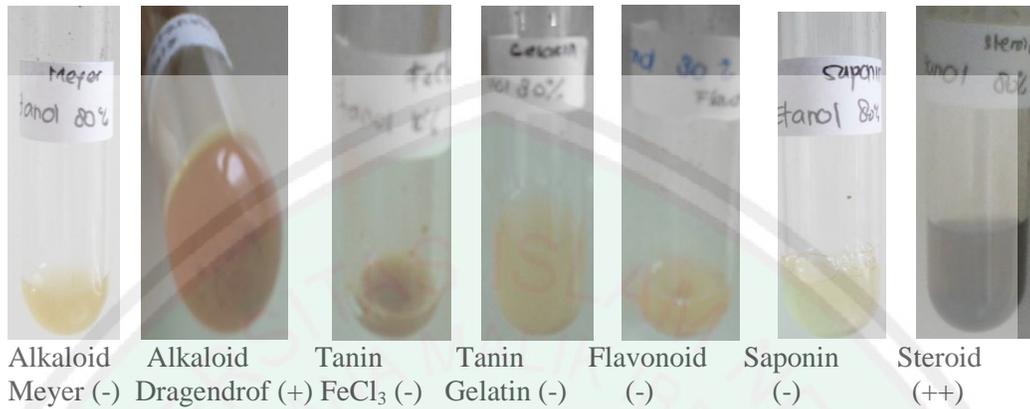
#### L.9.6.1 Hasil Uji Fitokimia dengan Reagen Ekstrak n-Heksana



#### L.9.6.2 Hasil Uji Fitokimia dengan Reagen Ekstrak Kloroform



### L.9.6.3 Hasil Uji Fitokimia dengan Reagen Ekstrak Etanol 80%

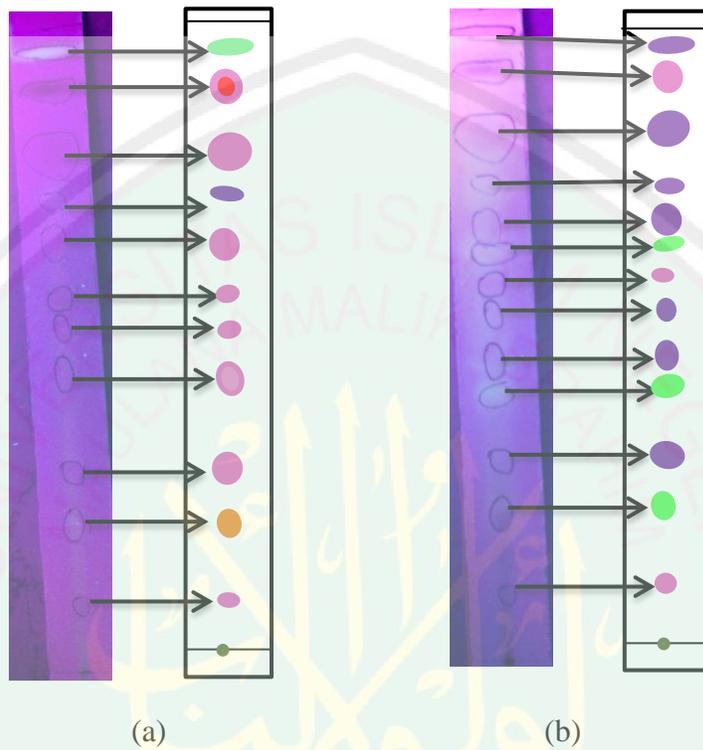


### L.9.7 Uji Fitokimia dengan KLTA menggunakan eluen terbaik n-Heksana:Aseton (7:3)



(a) sebelum disemprot reagen Liebermann-Burchad

(b) setelah disemprot reagen Liebermann-Burchad



Gambar 9.7.1 Hasil penampakan noda senyawa steroid dari KLTA ekstrak kloroform akar rumput bambu dengan eluen n-Heksana:Aseton (7:3):  
 (b) Hasil pengamatan dibawah sinar UV pada  $\lambda_{366}$  sebelum disemprot reagen Liebermann-Burchad  
 (c) Hasil pengamatan dibawah sinar UV pada  $\lambda_{366}$  sebelum disemprot setelah Liebermann-Burchad

Tabel 9.7.1 Data penampakan noda senyawa steroid dari KLTA ekstrak kloroform akar Rumpun Bambu pada eluen terbaik yakni n-heksana:Aseton (7:3) dengan lampu UV 366 nm.

No.	Rf tiap noda	Warna noda dibawah sinar UV pada $\lambda$ 366 nm		Dugaan senyawa
		Sebelum disemprot LB	Setelah disemprot LB	
1	0,223	Merah muda	Merah muda	-
2	0,235	Orange	Hijau muda	-
3	0,305	Merah muda	Ungu	Steroid
4	0,411	-	Hijau	-
5	0,458	Merah muda	Ungu	Steroid
6	0,529	Merah muda	Ungu	Steroid
7	0,588	Merah muda	Merah muda	-
8	0,623	-	Hijau muda	-
9	0,670	Merah muda	Ungu	Steroid
10	0,729	Ungu	Ungu	Steroid
11	0,8	Merah muda	Ungu	Steroid
12	0,905	Merah muda tengah merah	Merah muda	-
13	0,964	hijau	Ungu	Steroid