

**AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK KASAR DAUN RUMPUT BAMBU  
(*Lophatherum gracile* Brongn) TERHADAP LARVA UDANG *Artemia salina*  
Leach DAN IDENTIFIKASI AWAL SENYAWA AKTIFNYA**

**JURNAL SKRIPSI**

**Oleh:**

**SELINA PURWITA SARI**

**NIM. 10630042**



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

**AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK KASAR DAUN RUMPUT BAMBU  
(*Lophatherum gracile* Brongn) TERHADAP LARVA UDANG *Artemia salina*  
Leach DAN IDENTIFIKASI AWAL SENYAWA AKTIFNYA**

**SKRIPSI**

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

**Oleh :  
SELINA PURWITA SARI  
NIM. 10630042**

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

**AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK KASAR DAUN RUMPUT BAMBU  
(*Lophatherum gracile* Brongn) TERHADAP LARVA UDANG *Artemia salina*  
Leach DAN IDENTIFIKASI AWAL SENYAWA AKTIFNYA**

**SKRIPSI**

**Oleh:**

**SELINA PURWITA SARI  
NIM. 10630042**

**Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji  
Tanggal : 10 Juli 2014**

**Pembimbing Utama,**

**Pembimbing Agama,**

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

**Begum Fauziah, S.Si, M.Farm.  
NIP. 19830628 200912 2 004**

**Mengetahui,  
Ketua Jurusan Kimia**

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

**AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK KASAR DAUN RUMPUT BAMBU  
(*Lophatherum gracile* Brongn) TERHADAP LARVA UDANG *Artemia salina*  
Leach DAN IDENTIFIKASI AWAL SENYAWA AKTIFNYA**

**SKRIPSI**

Oleh:

**SELINA PURWITA SARI  
NIM. 10630042**

**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi  
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan  
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)  
Tanggal : 10 Juli 2014**

<b>Susunan Dewan Penguji</b>		<b>Tanda Tangan</b>
<b>1. Penguji Utama</b>	<b>: Tri Kustono Adi NIP.19710311 200312 1 002</b>	<b>( )</b>
<b>2. Ketua Penguji</b>	<b>: Nur Aini, M. Si NIPT. 2013091022316</b>	<b>( )</b>
<b>3. Sekretaris/Pembimbing</b>	<b>: Elok Kamilah Hayati, M.Si NIP. 19790620 200604 2 002</b>	<b>( )</b>
<b>4. Anggota</b>	<b>: Tri Kustono Adi, M. Sc NIP. 19710311 200312 1 002</b>	<b>( )</b>

**Mengesahkan,  
Ketua Jurusan Kimia**

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

## Lembar Persembahan

Ku persembahkan karya sederhana ini untuk orang tuaku yang senantiasa melimpahi aku dengan kasih sayang, yang selalu berkata untuk tidak menyerah disaat aku rapuh, yang selalu memberikan pundak dan dekapan yang hangat disetiap saat, selalu memberikan do'a disetiap nafas dan langkahku, selalu berkata "jangan takut dan hadapi" disaat mengalami krisis mental. Semoga karyaku ini bisa menjadi amal ibadah beliau, meski hal ini sangat jauh dari kata impas untuk membalas segala yang telah diberikan." Bunda, Appak terimakasih telah menjadi orang tua yang hebat untukq".

Karya ini juga aq persembahkan untuk suamiku yang menemani dan membuat aku tertawa disaat kegalauan melandaq. Terima kasih telah setia mendukung setiap mimpiku sejak masa putih abu-abu hingga sekarang. "Karnamu aq kuat, karnamu aq bisa menyelesaikan ini semua"

Juga untuk Atha dan Nafis, makasih untuk ocehannya yang selalu tanya kapan tante lulus jadi bikin greget untuk lekas lulus, serta kakakq yang selalu ngasih masuk-masukan meski jurusan ilmu kita beda

Untuk nenekq tersayang yang selalu memberi do'a yang tulus, serta pak dheq yang juga selalu Tanya kapan aku lulusnya

Buat temen2 kosan, Eoy and Fina,, makasih dah jadi trio mbambes sampek sekarang, yang menyemangati aku dari ujian proposal yang penuh rasa asam manis, trims ya rek, love...love kalian,, juga buat Ury, Afif, Sofi, MbK Win ayo rek lulus bareng, juga untuk

*anak kos Tsga lainnya, Maimunah, Irma, Juphe, Lindu, Vera yang dah bantu untuk ilmu2nya dan semangatnya tiap kali menjelang ujian*

*Buat temen satu tim, Didlo and Alphin,,tg ya dah jadi tim yang saling bantu saling berbagi ilmu,,juga buat Mijan, Tomen, Unyil, Dhiroh, Pebol, Welly, Andry, Fery, Ucup, Aris, Khoir and semua angkatan Kimia 2010, rek makasih untuk cerita-cerita indah semasa kuliah, makasih untuk rasa yang nano-nano,,jangan ada kata lupa ya diantara kita. Pasti aku akan selalu rindu masa-masa bersama,,sukses selalu ya....*



**SURAT PERNYATAAN  
ORISINALITAS PENELITIAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Selina Purwita Sari

NIM : 10630042

Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/Kimia

Judul Penelitian: Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Kasar Daun Rumput Bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach dan Identifikasi Awal 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, 10Juli2014

Yang Membuat Pernyataan,

Selina Purwita Sari  
NIM. 10630042

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Kasar Daun Rumput Bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach dan Identifikasi Awal Senyawa Aktifnya”** ini dengan baik. Shalawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada junjungan kita, Nabi Muhammad SAW yang telah membimbing kita ke jalan yang benar, yaitu jalan yang diridhai Allah SWT. 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.

Seiring terselesaikannya penyusunan skripsi ini, dengan penuh kesungguhan dan kerendahan hati, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si selaku dosen pembimbing utama yang telah meluangkan waktu untuk membimbing penulis demi terselesainya skripsi ini.
2. Ibu Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt, selaku konsultan yang selalu memberi waktu untuk memberi saran-saran dalam naskah.
3. Ibu Begum Fauziah, S.Si, M.Farm. selaku Pembimbing Agama
4. Bapak Tri Kustono Adi, M.Sc, selaku Penguji Utama.
5. Ibu Nur Aini, M.Si, selaku Ketua Penguji

Yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, dan nasehat 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 menghaturkan terima kasih yang sedalam-dalamnya kepada:

1. Semua keluarga besar yaitu Ayahku, Subagiyo dan Bundaku, Tutik Hartiningsih yang senantiasa mendoakan dan memberi dukungan dalam

segala bentuk yang tak mungkin terbalaskan. Suamiku, Sandri Wiyanto yang selalu memberi warna di hidupku

2. Bapak Prof. Dr. H. Mudjia Rahardjo, M.Si, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Dr. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Maliki 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 (mas Abi, mas Taufik, mbak Rika, mbak Mei, mbak Susi) dan staf administrasi (mbak Ana dan mbak Is) Jurusan Kimia atas seluruh bantuan dan sumbangan pemikiran selama penyelesaian skripsi.
7. Teman-teman kimia angkatan 2010 (khususnya Fina, Desy, Alfin dan Fidlo) yang telah berbagi kebersamaannya dalam senang maupun susah, sehingga tetap terjaga persaudaran kita.
8. Kakakku, Amelia Putri Puspita dan keluarganya, atas dukungan moril maupun materil yang telah diberikan hingga terselesaikannya skripsi ini.
9. Semua 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 membangun dari semua pihak demi penyempurnaan skripsi ini. Akhir kata, penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Malang, 10 Juli 2014

Penulis

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PERSETUJUAN .....	ii
HALAMAN PENGESAHAN .....	iii
HALAMAN MOTTO .....	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	v
SURAT PERNYATAAN ORISINILITAS PENELITIAN .....	vii
KATA PENGANTAR .....	viii
DAFTAR ISI .....	x
DAFTAR TABEL .....	xiii
DAFTAR GAMBAR .....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN .....	xv
ABSTRAK .....	xvi
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	6
1.3 Tujuan Penelitian .....	6
1.4 Batasan Masalah .....	6
1.5 Manfaat Penelitian .....	7
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Pemanfaatan Tanaman sebagai Obat dalam Perspektif Islam .....	8
2.2 Tanaman Rumput Bambu ( <i>Lopatherium gracile</i> Brong.) .....	9
2.2.1 Morfologi Tanaman Rumput Bambu .....	9
2.2.2 Taksonomi Tanaman Rumput Bambu .....	10
2.2.3 Manfaat Tanaman Rumput Bambu .....	10
2.2.4 Kandungan Senyawa Kimia .....	11
2.3 Metode Pemisahan Senyawa Aktif .....	11
2.3.1 Ekstraksi Maserasi .....	11
2.3.2 Kromatografi Lapis Tipis .....	14
2.4 Uji Aktivitas Sitotoksik Terhadap Larva Udang <i>Artemia salina</i> L. ....	15
2.4.1 Larva Udang <i>Artemia salina</i> L. ....	15
2.4.2 Uji Aktivitas Sitotoksik .....	17
2.5 Senyawa Aktif Bahan Alam .....	19
2.5.1 Uji Fitokimia Senyawa Aktif Daun Rumput Bambu .....	19
2.5.2 Flavonoid .....	20
2.5.3 Tanin .....	23
2.5.4 Alkaloid .....	26
2.5.5 Triterpenoid .....	29
2.5.6 Steroid .....	30
2.5.7 Saponin .....	33

**BAB III METODOLOGI PENELITIAN**

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	37
3.2 Alat dan Bahan.....	37
3.2.1 Alat.....	37
3.2.2 Bahan .....	37
3.3 Rancangan Penelitian.....	38
3.4 Tahapan Penelitian.....	40
3.5 Pelaksanaan Penelitian.....	40
3.5.1 Uji Taksonomi Tanaman Rumput Bambu .....	40
3.5.2 Analisis Kadar Air .....	41
3.5.3 Preparasi Sampel.....	42
3.5.4 Ekstraksi Komponen Aktif Daun Rumput Bambu dengan Maserasi .	42
3.5.5 Uji Aktivitas Sitotoksik dengan Larva Udang <i>Artemia salina</i> L. ....	44
3.5.5.1 Penetasan Telur .....	44
3.5.5.2 Uji Aktivitas Sitotoksik .....	44
3.5.6 Uji Fitokimia Golongan Senyawa Aktif dengan Uji Reagen .....	46
3.5.6.1 Uji Flavonoid .....	47
3.5.6.2 Uji Alkaloid .....	47
3.5.6.3 Uji Tanin .....	47
3.5.6.3.1 Uji dengan $FeCl_3$ .....	47
3.5.6.3.2 Uji dengan Larutan Gelatin .....	48
3.5.6.4 Uji Saponin .....	48
3.5.6.5 Uji Triterpenoid dan Steroid .....	48
3.5.7 Pemisahan Golongan Senyawa dengan KLT.....	48
3.6 Analisis Data.....	52

**BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN**

4.1. Uji Taksonomi .....	54
4.2. Analisis Kadar Air .....	55
4.3. Preparasi Sampel .....	56
4.4. Ekstraksi dengan Metode Maserasi .....	57
4.5. Uji Sitotoksik terhadap Larva Udang <i>Artemia salina</i> Leach .....	62
4.6. Uji Kandungan Golongan Senyawa Aktif dengan Reagen .....	68
4.6.1. Steroid dan Triterpenoid .....	70
4.6.2. Alkaloid .....	74
4.6.3. Tanin .....	75
4.7. Pemisahan Golongan Senyawa Aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA) .....	78
4.7.1. Triterpenoid .....	79
4.7.2. Alkaloid .....	83
4.7.3. Tanin .....	85
4.8 Pemanfaatan Daun Rumput Bambu dalam Islam .....	88

**BAB V PENUTUP**

5.1 Kesimpulan .....93

5.2 Saran .....94

**DAFTAR PUSTAKA .....95**



## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Sifat Fisik dari Beberapa Pelarut .....	13
Tabel 4.1 Hasil maserasi sampel serbuk daun Rumput Bambu.....	61
Tabel 4.2 Nilai LC <sub>50</sub> masing-masing ekstrak daun Rumput Bambu .....	67
Tabel 4.3 Hasil uji kandungan golongan senyawa aktif ekstrak daun Rumput bambu.....	69
Tabel 4.4 Data penampakan noda senyawa triterpenoid dari hasil KLTA ekstrak etanol 80% daun Rumput bambu pada beberapa variasi eluen dengan lampu UV 366 nm .....	79
Tabel 4.5 Hasil KLTA senyawa triterpenoid ekstrak kasar etanol 80% dengan eluen heksana:etil asetat (6:4).....	80
Tabel 4.6 Data penampakan noda senyawa alkaloid dari hasil KLTA ekstrak etanol 80% daun Rumput bambu pada beberapa variasi eluen dengan lampu UV 254 dan 366 nm .....	83
Tabel 4.7 Hasil KLTA senyawa alkaloid ekstrak kasar etanol 80% dengan eluen kloroform:metanol (8:3).....	84
Tabel 4.8 Data penampakan noda senyawa tanin dari hasil KLTA ekstrak etanol 80% daun Rumput bambu pada beberapa variasi eluen dengan lampu UV 254 dan 366 nm .....	85
Tabel 4.9 Hasil KLTA senyawa alkaloid ekstrak kasar etanol 80% dengan eluenbutanol:asam asetat:air (14:1:5).....	87

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Tanaman Rumput bambu ( <i>Lophatherum gracile</i> B.).....	11
Gambar 2.2	Larva udang <i>Artemia salina</i> Leach .....	17
Gambar 2.3	Struktur inti Senyawa Flavonoid.....	21
Gambar 2.4	Reaksi dugaan antara senyawa Flavanoid dengan logam Mg dan HCl pekat.....	22
Gambar 2.5	Struktur senyawa Tanin.....	24
Gambar 2.6	Reaksi dugaan antara senyawa Tanin dengan Logam FeCl <sub>3</sub> .....	25
Gambar 2.7	Struktur senyawa Alkaloid .....	27
Gambar 2.8	Reaksi dugaan antara senyawa Alkaloid (contoh senyawa piperidina) dengan pereaksi Dragendorff.....	27
Gambar 2.9	Reaksi dugaan antara senyawa Alkaloid (contoh senyawa piperidina) dengan pereaksi Meyer .....	28
Gambar 2.10	Struktur senyawa Triterpenoid .....	30
Gambar 2.11	Struktur senyawa Steroid .....	31
Gambar 2.12	Reaksi dugaan antara senyawa Steroid (contoh senyawa kolesterol) dengan pereaksi Lieberman-Burchard .....	32
Gambar 2.13	Struktur senyawa Saponin.....	34
Gambar 2.14	Contoh dugaan reaksi Saponin dengan Uji Forth.....	35
Gambar 4.1	Daun Rumput bambu hasil uji taksonomi .....	54
Gambar 4.2	Kurva mortalitas larva udang <i>Artemia salina</i> L. ekstrak n-heksana dengan nilai LC <sub>50</sub> = 90,7896 ppm .....	64
Gambar 4.3	Kurva mortalitas larva udang <i>Artemia salina</i> L. ekstrak kloroform dengan nilai LC <sub>50</sub> = 83,4150 ppm .....	64
Gambar 4.4	Kurva mortalitas larva udang <i>Artemia salina</i> L. ekstrak etanol 80% dengan nilai LC <sub>50</sub> = 25,2189 ppm.....	65
Gambar 4.5	Dugaan mekanisme reaksi pembentukan warna pada uji ttriterpenoid .....	72
Gambar 4.6	Reaksi dugaan alkaloid dengan pereaksi Dragendorf .....	75
Gambar 4.7	Koordinasi geometri octahedral pada kompleks besi polifenol ....	77
Gambar 4.8	Hasil KLTA senyawa triterpenoid ekstrak kasar etanol 80% dengan eluen heksana:etil asetat (6:4) .....	80
Gambar 4.9	Hasil KLTA senyawa alkaloid ekstrak kasar etanol 80% dengan eluen kloroform:methanol (8:3) .....	84
Gambar 4.10	Hasil KLTA senyawa tanin ekstrak kasar etanol 80% dengan eluen butanol:asam asetat:air (14:1:5) .....	86

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Diagram Alir Penelitian.....	105
Lampiran 2. Skema Kerja .....	106
Lampiran 3. Perhitungan dan Pembuatan Reagen dan Larutan .....	114
Lampiran 4. Perhitungan Kadar Air .....	122
Lampiran 5. Perhitungan Rendemen Ekstrak Daun Rumput Bambu ( <i>Lophatherum gracile</i> Brongn).....	127
Lampiran 6. Data Kematian Larva dan Perhitungan Nilai LC <sub>50</sub> Uji Sitotoksisitas masing-masing Ekstrak Daun Rumput bambu ( <i>Lophatherum gracile</i> Brongn).....	129
Lampiran 7. Perhitungan Nilai LC <sub>50</sub> Daun Rumput bambu secara Manual .....	137
Lampiran 8. Perhitungan Nilai Rf ( <i>Retardation Factor</i> ) Hasil KLTA Ekstrak Daun Rumput bambu ( <i>Lophatherum gracile</i> Brongn) .....	144
Lampiran 9 Dokumentasi Penelitian .....	146
Lampiran 10 Surat Keterangan Hasil Identifikasi Sampel .....	154
Lampiran 11 Tabel Rencana Penelitian .....	155

## ABSTRAK

Sari,S.P 2014. **Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Kasar Daun Rumput Bambu (*Lophatherum Gracile B.*) Terhadap Larva Udang *Artemia Salina* Leach Dan Identifikasi Awal Senyawa Aktifnya**

Pembimbing I: Elok Kamilah Hayati, M.Si; Pembimbing II: Begum Fauziyah, S.Si, M.Farm; Konsultan: Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt

**Kata kunci** :Daun Rumput Bambu (*Lophatherum gracile* Brongn), uji sitotoksitas, *Artemia salina* Leach, uji reagen, KLTA.

Firman Allah SWT dalam Q.S asy Syu'araa':7, telah disebutkan teguran Allah agar kita memikirkan tentang penciptaan tumbuh-tumbuhan yang baik. Oleh sebab itu, peneliti ingin menguji manfaat tumbuhan sebagai obat. Pendekatan yang dilakukan dalam penelitian ini adalah uji sitotoksitas ekstrak daun Rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn.) terhadap larva udang *Artemia salina* Leach dan penentuan golongan senyawa aktifnya.

Penelitian ini dilakukan dengan mengekstraksi secara maserasi bertingkat menggunakan pelarut n-heksana, kloroform, dan etanol 80%. Ketiga ekstrak diuji bioaktivitasnya menggunakan uji sitotoksitas dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) terhadap hewan uji larva udang *Artemia salina* Leach. Tingkat ketoksikan ditunjukkan dengan nilai  $LC_{50}$  yang diperoleh dari analisis probit dengan menggunakan Minitab 16. Ekstrak yang memiliki bioaktivitas optimum (nilai  $LC_{50}$  terendah) diidentifikasi fitokimia dengan menggunakan reagen. Sedangkan pemisahan golongan senyawa aktifnya dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA) dengan variasi eluen.

Hasil nilai  $LC_{50}$  dari pengujian pada masing-masing ekstrak n-heksana, kloroform, dan etanol 80% adalah 90,7896 ppm; 83,4150 ppm; dan 25,2189 ppm. Uji fitokimia menunjukkan ekstrak etanol 80% mengandung alkaloid, tanin dan triterpenoid. Pemisahan dengan KLTA menggunakan eluan kloroform:methanol (8:3) namun tidak terdapat golongan senyawaan alkaloid; butanol:asam asetat:air (14:1:5) pada Rf 0,33 (lembayung) dan 0,73 (lembayung) terdapat golongan senyawa tanin; dan n-heksana:etil asetat (6:4) pada Rf 0,39; 0,54 dan 0,76 berwarna ungu menunjukkan golongan senyawa triterpenoid.

## ABSTRACT

Sari, S.P. 2014. **Cytotoxic Activity of Sassagrass Leaf Extract (*Lophatherum gracile* Brongn) Against Shrimp Larva *Artemiasalina* Leach and Identification of the Active Compound Class.**

Advisor I: Elok Kamilah Hayati, M.Si; Advisor II: Begum Fauziyah, S.Si, M, Farm.;  
Consultant: Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt.

**Keywords** : Sassagrass leaf (*Lophatherum gracile* Brongn), cytotoxicity assay, *Artemiasalina* Leach., reagent test, A-TLC.

Allah has called people to reflect on the creation of plant (Surah asy Syuara' : 7). Based on that calling, the study about the use of herbal medicine was conducted. The approach that was used in this study is testing the cytotoxicity of Sassagrass leaf extract (*Lophatherum gracile* Brongn) against *Artemiasalina* Leach brine shrimp and determination of the active compound groups.

This research was carried out by extracting the rise maceration using solvents n-hexane, chloroform, and ethanol 80%. All of the obtained extract was tested using BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) with *Artemiasalina* Leach brine shrimp as the object. The level of toxicity is expressed by obtained  $LC_{50}$  values from probit analysis using Minitab 16. Extracts which have optimum bioactivity (lowest  $LC_{50}$  value) was identified the phytochemical using reagents and the separation of active compounds group was performed using Analytical Thin Layer Chromatography (A-TLC) with variation of eluent.

The  $LC_{50}$  value of each extract n-hexane, chloroform, and ethanol 80% are 90.7896 ppm; 83.4150 ppm; and 25,2189 ppm, respectively. Identification of phytochemical resulted ethanol 80% extract contains alkaloids, tannins and triterpenoids. Separation by KLTA using chloroform: methanol (8:3) as eluent resulted no alkaloid in sampel. Separation using butanol: acetic acid: water (14:1:5) resulted tannin that was indicated by purple stains at  $R_f$  0.33 and violet stains at  $R_f$  0.73. Separation using n-hexane: ethyl acetate (6:4) resulted three purple stains at  $R_f$  0.39; 0.54 and 0.76 for triterpenoid compounds.

## مستخلص البحث

ساري، س.ف.2014. نشاطة سيوطوكسيك عن خلاصة خشن ورقة حشيش الخيزران (لوباتيروم غراسيل ب.) على شرنقة أرييان أرتيميا ساليناليتش وتعيين الهوية الأولى لاتحاد كلها العملي.

المشرفة الأولى: إيلوء كميعة حياقي، الماجستير. المشرفة الثاني: رائحة المطيئة، الماجستير. المشرف الديني: بكونم فوزية، الماجستير.

الكلمات الأساسية: ورقة حشيش الخيزران (لوباتيروم غراسيل برونجن)، اختبار سيوطوكسيك، الأرتيميا ساليناليتش، اختبار رياغين، ك.ل.ت.أ.

قال الله تعالى في القرآن الكريم سورة الشعراً : 7، وقد ذكر الله تحذرننا للتفكير في خلق النباتات التي إما. لذا أراد الباحثون لاختبار استخدام الأدوية العشبية. النهج المتبع في هذه الدراسة هو اختبار سيوطوكسيك من الخيزران ورقة حشيش الخيزران (لوباتيروم غراسيل برونجن). ضد يرقات الأرتيميا سالينا الرويان ليتش وتحديد المجموعات مركب نشط .

جرى هذا البحث باستخلاص العينة متتاليًا بذاب ن-هيكسانا كلوروفوم وإيتانول 80%. وتلك الخلاصات الثلاثة ممتحنة بيواكتيفيتاسها بتجربة سيوطوكسيستاس بطريقة ب. س. ل. ت. (تجربة برين سهرمب لييطاليتي) على حيوان العينة شرنقة أرييان أرتيميا ساليناليتش. فكانت درجة التوكسيك مدلول بقيمة لـ 50 المحصول من تحليل بروبيت باستعمال مينيتاب 16. وكانت الخلاصة التي تملك بيواكتيفيتاس الأعلى (قيمة لـ 50 السفلى) تعيّن تعيينًا فيطوكيميًا باستعمال رياغين. وأما تفريق طائفة إتحاد كلّه باستعمال كروماتوغرافي بتحليل طبقة رقيقة (ك.ل.ت.أ) بتنوع إيلوين.

الاختبار نتائج على القيمة لـ 50 كل مستخلص ن الهكسان، الكلوروفوم، والايثانول 80% هي 90.7896 جزء في المليون؛ 83.4150 جزء في المليون؛ و25.2189 جزء في المليون. وأظهر الاختبار الكيميائي النباتي 80% استخراج الايثانول يحتوي على قلويدات والعفص واستخلص. الفصل بواسطة ك.ل.ت.أ. باستخدام الكلوروفوم الإيولن: الميثانول (8:3)، ولكن ليس هناك ففة مجمع قلويد؛ بيوتانول: حمض الخليك: المياه (14:01:05) في بعلي 0.33 (البنفسجية) و 0.73 (البنفسجي) هناك فئات من التانين؛ ون الهكسان: حالات الإيثيل (6:4) في بعلي 0.39؛ 0.54 و 0.76 وتظهر مجموعة مركبات التريتيرينويد الأرحواني.

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Nikmat dari alam semesta ini yang diberikan oleh Allah adalah dengan diciptakannya tanaman, dan Dia menciptakan tanaman-tanaman tersebut pasti baik dan bermanfaat bagi kelangsungan hidup manusia. Sebagaimana yang telah dijelaskan pada ayat al Quran dalam surat asy Syu'araa' ayat 7 berikut ini:

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'/26: 7).

Ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah menciptakan berbagai tumbuhan yang baik di bumi untuk kemaskhlatan umat manusia. Yang dimaksud tumbuhan yang baik merupakan tumbuhan yang bermanfaat bagi makhluk hidup termasuk tumbuhan yang dapat digunakan sebagai pengobatan (Savitri, 2008). Pemanfaatan tumbuhan yang digunakan sebagai obat berbagai penyakit merupakan anugerah dari Allah SWT yang harus dipelajari Nabi Muhammad SAW dalam HR. Ibnu Majah bersabda:

عَنْ أَبِي هُرَيْرَةَ قَالَ قَالَ رَسُولُ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ مَا أَنْزَلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً

*“Abu Hurairah dia berkata, "Rasulullah shallallahu 'alaihi wasallam bersabda: "Allah tidak menurunkan suatu penyakit kecuali menurunkan obat baginya"”*(HR. Ibnu Majah: 3430).

Hadist di atas menunjukkan bahwa Allah menciptakan suatu penyakit beserta obatnya. Seperti penyakit kanker yang kian hari kian bertambah penderitanya. Pengobatan kanker dengan metode modern yang berkembang di masyarakat memiliki efek samping yang besar dan terlampau mahal. Penelitian terus menerus dikembangkan untuk mencari pengobatan alternatif yang lebih aman dan terjangkau oleh masyarakat menengah ke bawah. Oleh karena itu, penelitian alternatif obat kanker perlu dikembangkan terutama menggunakan obat-obatan herbal. Salah satu tanaman obat yang berpotensi sebagai obat herbal adalah tanaman Rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn).

Pemakaian bahan alam sebagai obat tradisional di masyarakat dijamin keamanannya oleh pemerintah dengan mengimplementasikan dalam Permenkes No.760/Menkes/Per/IX/1992, tentang obat tradisional dan fitofarmaka, setiap bahan alam harus melewati beberapa tahapan meliputi uji farmakologi eksperimental, uji toksisitas, uji klinis, uji kualitas dan pengujian lain sesuai persyaratan yang berlaku demi menjamin keamanan masyarakat dalam mengkonsumsinya (Menteri Kesehatan Republik Indonesia, 1992).

Tanaman Rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) merupakan senyawa yang tumbuh liar, terna, dan berumur menahun. Rumput bambu tumbuh liar di tempat-tempat yang agak rindang, terbuka, pada tanah-tanah yang agak lembab seperti di bawah pohon besar, pinggir jalan yang agak teduh, dan lereng bukit. Tumbuh pada ketinggian tempat dari 200-1.500 m. Tumbuhan ini merupakan gulma pada tanaman perkebunan (Rahmi, 2012). Rumput bambu merupakan tumbuhan gulma yang memiliki nilai lebih ekonomis, pemanfaatannya

tidak akan menyebabkan pembunahan bahkan kepunahan karena tanaman gulma dianggap sebagai tumbuhan liar pengganggu yang perlu untuk dimusnahkan serta tanaman gulma akan lebih mudah tumbuh dengan sendirinya.

Berawal dari asumsi untuk membiarkan tumbuhan ini tetap hidup maka untuk penelitian ini dipilih daun sebagai sampel yang diteliti. Selain itu, bagian daun merupakan bagian yang mudah didapatkan, tidak memerlukan banyak tanaman, dan pertumbuhannya yang lebih terhindar dari ancaman virus maupun penyakit atau kondisi yang ekstrim daripada di bagian akar. Hal ini juga didukung penelitian sebelumnya yang banyak menjelaskan tentang kandungan golongan metabolit sekunder dalam daun Rumput bambu. Identifikasi yang dilakukan Jing (2009) pada daun Rumput bambu menemukan adanya 14 kandungan selain flavonoid dan triterpenoid. Hasil penelitian lainnya yang telah dilakukan oleh Kusumawati (2003) menyatakan bahwa tumbuhan rumput bambu mengandung beberapa metabolit sekunder dari uji fitokimia yaitu flavonoid di daun dan steroid atau triterpenoid pada akar.

Daun Rumput bambu sendiri memiliki kegunaan menurut Wijayakusuma (2008) sebagai obat untuk mengatasi kanker, demam, infeksi saluran kemih, air kemih berdarah, buang air kecil tidak lancar dan terasa sakit, mimisan, sakit tenggorokan, sariawan, dan gusi bengkak. Kandungan kimia metabolit sekunder dari tumbuhan ini diantaranya senyawa triterpenoid, steroid arundoin, *cylindrin*, *friedelin*, *beta-sitosterol*, *stigmasterol*, *campesterol*, dan flavonoid. Oleh karena pada penelitian sebelumnya hanya dijelaskan kandungan dan potensi daun Rumput bambu secara umum maka pada penelitian kali ini lebih mengedepankan

tentang pengujian bioaktivitas dengan menggunakan larva udang sebagai hewan ujinya serta identifikasi awal dengan uji reagen dan KLT analitik terhadap golongan senyawa yang diduga memiliki aktivitas.

Pemisahan senyawa aktif daun rumput bambu pada penelitian ini dilakukan dengan metode ekstraksi maserasi. Metode ini digunakan karena memiliki kelebihan, yaitu praktis, efektif, aman dalam penggunaannya dan bertujuan untuk menghindari rusaknya senyawa aktif pada sampel yang tidak tahan terhadap suhu panas (Ditjen POM, 1986). Pelarut yang digunakan dalam maserasi adalah n-heksana, klorofom dan etanol 80 %. Tujuan variasi pelarut untuk mendapatkan senyawa-senyawa yang tidak hanya larut pada satu sifat kepolaran saja. Sehingga masing-masing pelarut dapat menyerap senyawa-senyawa yang sesuai dengan tingkat sifat kepolarannya dan belum diketahui senyawa-senyawa yang ada dan sifat dari senyawa itu sendiri (Panjaitan, 2011).

Metode uji toksisitas larva udang (*Brine Shrimp Lethality Test*) dengan menggunakan *Artemia salina* dianggap memiliki korelasi dengan daya sitotoksik senyawa-senyawa antikanker, sehingga sering dilakukan untuk skrinning awal pencarian senyawa antikanker. Metode ini dikenal sebagai metode yang mudah, cepat, murah, dan dapat dipertanggungjawabkan (Meyer, *et al.*, 1982). Suatu ekstrak dikatakan toksik apabila memiliki nilai  $LC_{50}$  (konsentrasi yang dapat membunuh 50% larva udang) kurang dari 1000 ppm setelah waktu kontak 24 jam (Meyer, *et al.*, 1982). Nilai  $LC_{50}$  terendah masing-masing ekstrak akan diuji fitokimia untuk mencari golongan senyawa aktifnya.

Pengujian fitokimia dilakukan dengan uji reagen dan kromatografi lapis tipis (KLT) pada masing-masing ekstrak nonpolar, semipolar dan polar (Mohammad, *et. al.*, 2010). Uji fitokimia merupakan uji kualitatif kandungan golongan senyawa aktif pada ekstrak tanaman, sehingga dapat diketahui senyawa apa yang terdapat di dalamnya. Alasan lain melakukan analisis fitokimia ialah untuk menentukan ciri-ciri golongan senyawa aktif penyebab efek racun atau efek yang bermanfaat, yang ditunjukkan oleh ekstrak tumbuhan kasar bila diuji dengan sistem biologi (Harborne, 1987). Pada prinsipnya uji fitokimia ini dilakukan terhadap golongan senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid dan steroid (Halimah, 2010).

Dalam penelitian ini, penulis akan mengidentifikasi awal golongan senyawa aktif dalam ekstrak kasar daun rumput bambu (*Lopatherum gracile* Brongn) dengan uji fitokimia terhadap senyawa yang diketahui memiliki bioaktivitas optimum terhadap larva udang *Artemia salina* Leach. Pemisahan senyawa aktif dilakukan dengan metode maserasi bertingkat menggunakan pelarut n-heksana p.a, kloroform p.a, dan etanol 80 %. Ketiga ekstrak dipekatkan kemudian diuji aktivitas sitotoksitasnya terhadap larva udang *Artemia salina*. Ekstrak yang memiliki bioaktivitas optimum diidentifikasi golongan senyawa aktifnya menggunakan reagen kemudian senyawa aktif dipisahkan dengan Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA). Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan gambaran nilai LC<sub>50</sub> dan kandungan senyawa aktif ekstrak kasar daun Rumput bambu.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut:

1. Bagaimana tingkat sitotoksitas ekstrak daun Rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) dalam tiap ekstrak n-heksana, kloroform dan etanol 80 % terhadap tingkat mortalitas larva udang *Artemia salina* Leach?
2. Golongan senyawa aktif apakah yang terkandung dalam ekstrak daun Rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) yang memiliki potensi bioaktivitas optimum terhadap larva udang *Artemia salina* Leach?

## 1.3 Tujuan Penelitian

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

1. Untuk mengetahui tingkat sitotoksitas ekstrak daun rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) dalam tiap ekstrak n-heksana, kloroform, dan etanol 80 % terhadap larva udang *Artemia salina* Leach.
2. Untuk mengetahui golongan senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak daun Rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) yang memiliki potensi bioaktivitas optimum terhadap larva udang *Artemia salina* Leach

## 1.4 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Daun Rumput bambu yang digunakan berasal lereng gunung Arjuna,

Desa Gamoh, Kabupaten Pasuruan.

2. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi bertingkat dengan variasi pelarut.
3. Pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi adalah n-heksana p.a, kloroform p.a, etanol 80%.
4. Hewan uji sitotoksisitas yang digunakan adalah larva udang *Artemia salina* Leach.
5. Tingkat sitotoksisitas ditunjukkan dengan nilai  $LC_{50}$  (*Lethal Concentration*) yang diukur menggunakan analisis probit Minitab 16.
6. Senyawa metabolit sekunder dikatakan memiliki bioaktivitas optimum apabila memiliki nilai  $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$ .
7. Identifikasi awal golongan senyawa aktif menggunakan uji reagen dan Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA).

### 1.5 Manfaat Penelitian

Harapan dari penelitian ini dapat memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat mengenai aktivitas sitotoksik ekstrak kasar daun Rumput bambu (*Lopatherum gracile* Brongn) terhadap larva udang *Artemia salina* Leach serta golongan senyawa aktifnya, sehingga dapat dimanfaatkan di bidang farmakologi. Berdasarkan efek toksik yang ditimbulkan dapat digunakan sebagai acuan untuk dilakukan uji sitotoksisitas tahap selanjutnya, yaitu untuk mendapatkan dosis/konsentrasi yang aman penggunaannya terhadap manusia.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Pemanfaatan Tanaman sebagai Obat dalam Perspektif Islam

Umat Islam diperintahkan dalam al Quran untuk mempelajari setiap kandungan ayat ataupun surat yang diturunkan untuk manusia. Sehingga kita sebagai manusia perlu meningkatkan pemahaman mengenai ayat-ayat al Quran, karena di dalamnya terkandung pengetahuan yang luar biasa terhadap segala sesuatu yang telah diciptakan Allah SWT untuk manusia, termasuk alam semesta.

Alam semesta ditumbuhi beraneka tumbuhan yang baik lagi bermanfaat bagi makhluk hidup, termasuk tumbuhan yang dapat digunakan sebagai pengobatan. Tumbuhan yang bermacam-macam jenisnya dapat digunakan sebagai obat berbagai penyakit, dan ini merupakan anugerah Allah SWT yang harus dipelajari dan dimanfaatkan. Perintah Allah untuk mempelajari dan memanfaatkan segala ciptaan Allah SWT telah dipertegas dalam surat Ali Imran ayat 191:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِّأُولِي 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 tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal, (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” (Ali Imran/3:190-191).

Ayat tersebut memerintahkan agar manusia mencari dan mempelajari ciptaan Allah sebab semua yang diciptakan-Nya semuanya bermanfaat bagi kehidupan semua makhluk, baik yang ada di langit maupun yang ada di bumi. seperti tumbuhan yang menjadi rezeki dan memberikan manfaat bagi kehidupan. Tumbuhan menjadi rezeki bagi makhluk hidup karena merupakan bahan pangan, bahan sandang, papan dan bahan obat-obatan (Savitri, 2008). Tumbuhan memberikan manfaat sebab dalam bidang farmakologi dapat digunakan sebagai obat pencegah beberapa penyakit. Salah satu tanaman yang bisa dimanfaatkan sebagai tanaman obat misalnya rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn).

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

### **2.2.1 Morfologi Tanaman Rumput Bambu**

Tanaman Rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) tidak hanya terdapat di satu daerah saja, tetapi tersebar di beberapa daerah di Indonesia seperti di Sunda yang dikenal dengan nama Jukut awi. Selain itu diluar negeri rumput ini telah dikenal terutama di Inggris dan Tionghoa, seperti di Inggris dengan nama *sasagrass* dan di Tionghoa dengan nama *dan zhu ye* (Wijayakusuma, 2008). Dikenal dengan nama daerah rumput rayung (Bahasa Jawa), rumput bulu, rumput jarang, rumput kelurut (Melayu) dan tangkur gunung (Sunda) (Wikipedia, 2013).

Rumput bambu merupakan famili rumput-rumputan yang tumbuh menahun, tingginya 0,5 - 1,2 m bertangkai banyak, dengan rimpang pendek bercabang-cabang, berakar serabut yang tumbuh menjadi umbi-umbi, tumbuhan diatas 1500 m di atas permukaan laut ditempat yang senantiasa rindang, khususnya dalam hutan alam. Batang-batangnya tegak, mampat tidak berbulu,

daun-daunnya bertangkai jelas, berbangun lancet garis, berurat melintang diantara lidinya yang membujur, lembut berwarna hijau tua 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 (Heyne, 1987)



Gambar 2.1 Tanaman Rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brong)  
(Wijayakusuma, 2008)

### 2.2.2 Taksonomi Tanaman Rumput Bambu

Klasifikasi menurut Cronquist (1981), sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Devisi	: Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Ordo	: Poales
Famili	: Poaceae (suku rumput-rumputan)
Genus	: <i>Lophatherum</i>
Spesies	: <i>Lophatherum gracile</i> Brongn

### 2.2.3 Manfaat Tanaman Rumput Bambu

Tanaman Rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) bermanfaat sebagai obat penurun panas, peluruh kemih, dan antiradang. Serta, untuk mengatasi demam, mimisan, sakit tenggorokan, sariawan, gusi bengkak, infeksi saluran kemih dan air kemih berdarah (Wijayakusuma, 2008). Menurut Jing

(2009), riset farmakologi ekstrak daun rumput bambu (*Lopatherum gracile* B.) dapat digunakan sebagai antipiretik, antideuritik, antibakteri, antitumor, dan efek hiperglesimik.

#### 2.2.4 Kandungan Senyawa Kimia

Menurut Wijayakusuma (2008) kandungan zat kimia tanaman rumput bambu adalah *triterpenoid*, *steroid arundoin*, *cylindrin*, *fredelin*, *beta-sitosterol*, *stigmasterol*, *campesterol*, dan *taraxerol*, asam amino, dan asam lemak. Berdasarkan penelitian Jing (2009) dalam ekstrak etanol daun rumput bambu terkandung 15 senyawa flavonoid, triterpenoid, salcolin B, tricin, luteolin, afzelin, *tricin 7-O-β-D-glucopyranoside*, *swertiajaponin*, isoorientin, *tricin 7-O-neoneohesperidoside*, vitexin, isovitexin, *β-(p-methoxyphenyl)acrylic acid*, *β-sitosterol* dan *daucosterol*. Hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Kusumawati (2003) tumbuhan ini juga mengandung metabolit sekunder dari uji fitokimia yaitu flavonoid di daun dan steroid atau triterpenoid pada akar.

### 2.3 Metode Pemisahan Senyawa Aktif Daun Rumput Bambu

#### 2.3.1 Ekstraksi Maserasi

Ekstraksi adalah proses penarikan suatu zat terlarut dari larutannya di dalam air oleh suatu pelarut lain yang tidak dapat bercampur dengan air. Tujuan ekstraksi adalah memisahkan suatu komponen dari campurannya menggunakan pelarut tertentu (Soebagio, 2003). Salah satu metode ekstraksi adalah maserasi. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari (pelarut). Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel

yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut, karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak ke luar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel. Pada penyarian dengan maserasi, perlu dilakukan pengadukan untuk meratakan konsentrasi larutan diluar butir serbuk simplisia, sehingga dengan pengadukan tersebut tetap terjaga adanya derajat perbedaan konsentrasi yang sekecil-kecilnya antara larutan di dalam sel dengan larutan di luar sel (Baraja, 2008).

Proses ini sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam, karena dengan perendaman sampel tumbuhan akan terjadi kontak sampel dan pelarut yang cukup lama, dan dengan terdistribusinya pelarut organik yang terus menerus ke dalam sel tumbuhan mengakibatkan perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel sehingga pemecahan dinding dan membran sel dan metabolit sekunder yang berada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik, sehingga ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan (Baraja, 2008).

Kelebihan dari metode maserasi adalah sederhana, relatif murah, tidak memerlukan peralatan yang rumit, terjadi kontak antara sampel dan pelarut yang cukup lama dan dapat menghindari kerusakan komponen senyawa yang tidak tahan panas. Kekurangan dari metode ini adalah membutuhkan waktu yang lama untuk mencari pelarut organik yang dapat melarutkan dengan baik senyawa yang akan diisolasi dan harus mempunyai titik didih yang tinggi pula sehingga tidak mudah menguap (Voight, 1995).

Pemilih pelarut organik yang akan digunakan dalam ekstraksi komponen aktif merupakan faktor penting dan menentukan untuk mencapai tujuan dan sasaran ekstraksi komponen. Tabel 2.1 menunjukkan sifat fisik beberapa jenis pelarut organik yang dapat digunakan untuk ekstraksi. Semakin tinggi nilai konstanta dielektrik, titik didih dan kelarutan dalam air, maka pelarut akan bersifat makin polar (Sudarmadji, *et al.*, 2007).

Tabel 2.1 Sifat fisik dari beberapa pelarut

Pelarut	Titik didih (°C)	Titik beku (°C)	Konstanta dielektrik (Debye)
n-Heksana	69	-94	1,89
Kloroform	61	-64	4,8
Etanol	78	-117	24,3

Sumber: Nur dan Adijuwana (1989)  
Sudarmadji, *et al* (2007)

Pelarut yang digunakan pada penelitian ini yaitu n-heksana, kloroform dan etanol 80% didasarkan pada pemilihan variasi pelarut yang sesuai. Pelarut-pelarut tersebut memiliki titik didih yang cukup rendah, pelarut dapat mudah diuapkan tanpa menggunakan suhu yang tinggi, bersifat inert, dapat melarutkan senyawaan yang sesuai dengan cukup cepat serta memiliki harga yang terjangkau (Guenther, 2006). Kelarutan terhadap air dari pelarut-pelarut tersebut juga semakin tinggi dengan semakin tingginya tingkat kepolarannya. Titik didih masing-masing pelarut tersebut adalah n-heksana 69 °C, kloroform adalah 61 °C, dan etanol 78 °C (Nur dan Adijuwana, 1989 dan Sudarmadji, *et al.*, 2003).

### 2.3.2 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi adalah suatu teknik pemisahan yang awalnya digunakan untuk memisahkan sesuatu yang berwarna dimana kromatografi berasal dari kata kroma yang berarti warna dan grafi yang berarti tulisan (Sastrohamidjojo, 1991). Prinsip pemisahan dengan kromatografi lapis tipis adalah adanya perbedaan sifat fisik dan kimia dari senyawa yaitu kecenderungan dari molekul untuk melarut dalam cairan (kelarutan), kecenderungan molekul untuk menguap dan kecenderungan molekul untuk melekat pada permukaan (adsorpsi, fase diam) (Hendayana, 2006).

Kromatografi lapis tipis (KLT) dalam pelaksanaannya lebih mudah dan lebih murah bila dibandingkan dengan kromatografi jenis lainnya. Demikian juga peralatan yang digunakan. Dalam KLT, peralatan yang digunakan lebih sederhana dan dapat dikatakan bahwa hampir semua laboratorium dapat melaksanakan setiap saat secara cepat. Beberapa keuntungan lain dari KLT adalah (Gandjar dan Rohman, 2007):

1. KLT banyak digunakan untuk tujuan analisis.
2. Identifikasi pemisahan komponen dapat dilakukan dengan pereaksi warna, fluoresensi, atau dengan radiasi menggunakan sinar ultra violet.
3. Dapat dilakukan elusi secara menaik (*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.

Identifikasi dari senyawa-senyawa yang terpisah dari lapisan tipis menggunakan harga Rf (*Reterdation Factor*). Harga Rf didefinisikan sebagai berikut (Sastrohamidjojo, 1991) :

$$\text{Harga Rf} = \frac{\text{Jarak yang digerakkan oleh senyawa dari titik asal}}{\text{jarak yang digerakkan oleh pelarut dari titik asal}}$$

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, 1991).

Pencarian jejak bercak atau noda hasil pemisahan dengan kromatografi lapis tipis untuk senyawa tak berwarna dapat dilakukan dengan cara:

- a. Penyinaran di bawah sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 365 nm. Cara ini khusus digunakan untuk senyawa yang berpendar atau lempeng yang telah diberi senyawa yang dapat berpendar.
- b. Penyemprotan dengan pereaksi kimia.

## 2.4 Uji Aktivitas Sitotoksisitas terhadap Larva Udang *Artemia salina* L.

### 2.4.1 Larva Udang (*Artemia salina* L.)

*Brine shrimp* merupakan spesies perairan sejenis udang primitif yang ditemukan di Lymington, England pada tahun 1755. *Artemia* biasa ditemukan di pedalaman danau air asin di seluruh dunia, tetapi tidak ditemukan di Samudra. *Artemia* yang dikenal dengan baik dan dikembangkan yaitu dari spesies *Artemia salina* Leach yang memiliki klasifikasi sebagai berikut (Purwakusuma, 2007).

Klasifikasi dari *Brine shrimp* adalah sebagai berikut (Bougis, 1979 dalam Farihah, 2008):

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



Gambar 2.2 Larva udang *Artemia salina* L. (Parks, 2009)

Telur *Artemia salina* (*siste*) berbentuk bulat berlekuk dalam keadaan kering dan bulat penuh dalam keadaan basah, berwarna coklat berdiameter 0,20 mm yang diselubungi oleh cangkang yang berguna untuk melindungi embrio terhadap pengaruh kekeringan, benturan keras, sinar ultraviolet dan mempermudah pengapungan. Telur dapat mengadsorpsi air jika tersinari matahari (suhu sekitar 26 – 28 .C) dan akan menetas setelah 24 – 48 jam tergantung pada kondisi lingkungan (Mudjiman, 1983).

Makanan *Artemia salina* L. berupa katul, padi, tepung beras, tepung terigu, tepung kedelai dan ragi. *Artemia* hanya dapat menelan makanan yang berukuran kecil yaitu kurang dari 50 mikron. Apabila makanan lebih besar dari

ukuran itu, makanan tidak akan tertelan karena *Artemia salina* L. mengambil makanan dengan jalan menelannya bulat-bulat. Makanan yang akan ditelan itu dikumpulkan dulu ke depan mulut dengan menggerak-gerakkan kakinya. Gerakan kaki dilakukan terus-menerus hingga makanan akan terus bergerak masuk ke dalam mulutnya. Selain untuk mengambil makanan, kakinya berfungsi sebagai alat untuk bergerak dan bernafas (Mudjiman, 1995).

Mekanisme kematian larva berhubungan dengan fungsi senyawa alkaloid, triterpenoid, saponin dan flavonoid dalam buah pare yang dapat menghambat daya makan larva (antifedant). Cara kerja senyawa-senyawa tersebut adalah dengan bertindak sebagai stomach poisoning atau racun perut. Oleh karena itu, bila senyawa-senyawa ini masuk ke dalam tubuh larva, alat pencernaannya akan terganggu. Selain itu, senyawa ini menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva. Hal ini mengakibatkan larva gagal mendapatkan stimulus rasa sehingga tidak mampu mengenali makanannya dan larva mati kelaparan (Rita, 2008).

#### **2.4.2 Uji Aktivitas Sitotoksitas**

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. Aktivitas sitotoksik ekstrak sampel yang dilakukan untuk mengetahui berapa besar aktivitas toksisitasnya terhadap sel (Zuhud, 2011).

*Brine Shrimp Lethality Test* (BST) merupakan salah satu metode untuk menentukan potensi bioaktif ekstrak tanaman adalah kematian larva udang atau *brine shrimp lethality test* (BSLT). Uji ini tidak spesifik untuk antitumor, tetapi kemampuannya mendeteksi 14 dari 24 ekstrak Euphorbiaceae yang aktif terhadap uji leukemia secara *in vivo* pada mencit dan mendeteksi 2 dari 6 spesies yang aktif terhadap uji karsinoma nasofaring menunjukkan bahwa uji ini dapat dipakai untuk penapisan awal senyawa bioaktif (Meyer, *et al.*, 1982 dalam Agustina, 2012)

Pada prosedur uji sitotoksitas, digunakan air laut sebagai media uji. Air laut yang digunakan adalah air laut buatan dengan cara melarutkan garam tidak beriodium ke dalam air. Konsentrasi yang digunakan adalah 3,8 % yaitu dengan melarutkan 38 g garam tiap 1 L air. Prosedur uji sitotoksitas dengan metode *Brine Shrimp* ini adalah sebanyak 10 ekor larva udang laut dimasukkan ke dalam tabung uji yang berisi ekstrak dan sekitar 5 mL air laut (Mc Laughlin, *et al.*, 1991 dalam Morshed, *et al.*, 2012). Dimetilsulfoksida (DMSO) merupakan cairan tak berwarna yang memiliki rumus  $(\text{CH}_3)_2\text{SO}$ . Merupakan pelarut yang dapat melarutkan senyawa polar maupun non polar. DMSO sering digunakan sebagai pelarut untuk reaksi kimia yang melibatkan garam. DMSO memiliki titik lebur 18,5 °C, titik didih 189 °C, konstanta dielektrikum 46,68. DMSO merupakan cairan yang tidak toksik sering digunakan dalam sintesis farmasi, pembuatan elektronik, dan pemberian obat di dalam tubuh. Penggunaannya didukung oleh lebih dari 45 tahun pengalaman industri dan akademik (Morshed, *et al.*, 2012).

Parameter yang ditunjukkan untuk menunjukkan adanya aktivitas biologi pada suatu senyawa pada *Artemia salina* L. adalah kematiannya (Meyer, *et al.*,

1982 dalam Fariyah, 2008). Penggolongan toksisitas atas dasar jumlah besarnya zat kimia yang diperlukan untuk menimbulkan bahaya untuk harga  $LC_{50}$  dibedakan menjadi (Meyer, *et al.*, 1982) :

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

Kelebihan metode BSLT ini adalah waktu ujinya cepat, sederhana, murah (tidak perlu serum hewan), jumlah organisme banyak (Meyer *et al.*, 1982). Selain itu perkembangbiakan *Artemia salina* L. cepat, memerlukan sampel sedikit, tidak memerlukan laboratorium khusus dan hasilnya bisa dipercaya yakni memiliki korelasi positif dengan uji sitotoksik pada sel kanker (Astuti, *et al.*, 2005). Sebagaimana Mc. Laughin (1991) menggunakan uji ini sejak tahun 1982 pada hasil isolasi dari agen antitumor aktif secara *in vivo* dan pestisida, hasilnya larva udang *Artemia* terbukti memiliki korelasi positif dengan daya sitotoksik senyawa antikanker dengan tingkat kepercayaan 95 %. Menurut Panjaitan (2011) *Artemia* memiliki kesamaan tanggapan dengan mamalia seperti tipe DNA-dependent RNA polymerase (DNA yang mengarahkan proses transkripsi RNA). Hal ini menyebabkan senyawa atau ekstrak yang memiliki aktivitas pada sistem tersebut dapat dideteksi melalui metode ini.

## **2.5. Senyawa Aktif Bahan Alam**

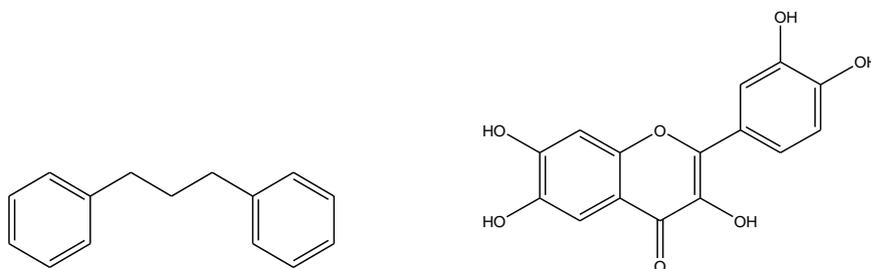
### **2.5.1 Uji Fitokimia Senyawa Aktif Daun Rumput Bambu**

Uji fitokimia merupakan pengujian kandungan senyawa-senyawa di dalam tumbuhan. Tumbuhan umumnya mengandung senyawa aktif dalam bentuk

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

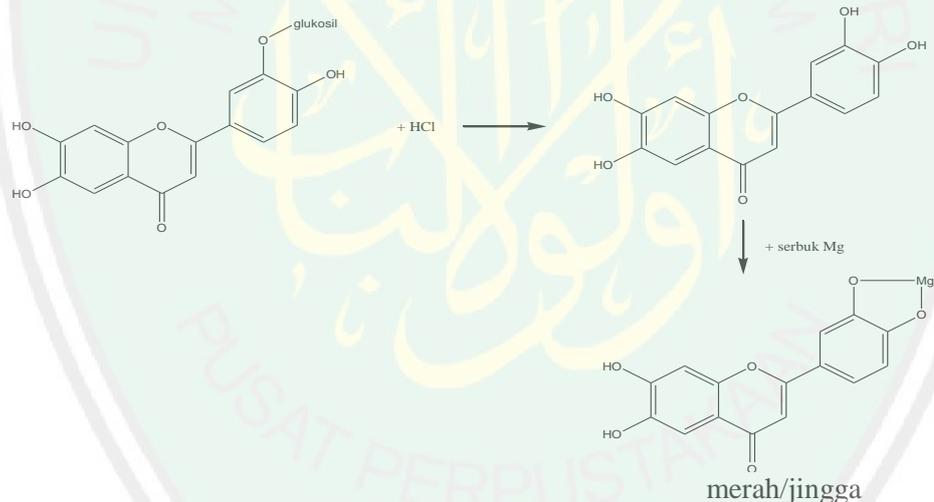
### 2.5.2 Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang tersebar luas di alam. Golongan flavonoid dapat digambarkan sebagai deretan senyawa  $C_6-C_3-C_6$  yang artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus  $C_6$  (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  $C_3$ , sesuai struktur kimianya yang termasuk flavonoid yaitu flavonol, flavon, flavanon, katekin, antosianidin dan kalkon (Robinson, 1995). Harborne (1987) menjelaskan bahwa senyawa flavonoid golongan utama berupa senyawa yang dapat larut dalam air dan dapat diekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol 70 % serta akan tetap larut dalam lapisan air jika diekstraksi atau difraksinasi dengan eter minyak bumi.



Gambar 2.3 Struktur inti senyawa flavonoid dan contoh struktur senyawaan flavonoid (Quercetin) (Robinson, 1995)

Uji fitokimia flavonoid dapat dilakukan dengan metode Wilstater yakni dengan melarutkan sejumlah ekstrak dengan metanol panas, ditambahkan HCl pekat dan serbuk magnesium. Adanya flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna jingga (flavon), merah tua (flavonol/flavonon), oranye, merah, kuning, hijau sampai biru (aglikon/glikosida) (Dermawan, 2012). Reduksi dengan Mg dan HCl pekat ini menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna merah atau jingga pada flavonol, flavanon, flavanonol dan santon (Robinson, 1995). Adapun contoh reaksi dugaan yang terjadi pada uji flavonoid adalah:



Gambar 2.4 Reaksi dugaan antara senyawa flavonoid dengan logam Mg dan HCl pekat (Hidayat, 2004)

Pemisahan flavonoid dengan KLT dapat menggunakan penyempnot amoniak/uap amoniak yang memberikan warna biru kehijauan, hijau kekuningan, lembayung dan kuning kecoklatan (Halimah, 2010). Alasan penggunaan uap amoniak karena flavonoid merupakan senyawa fenol yang warnanya dapat

berubah bila ditambah basa atau amoniak. Oleh karena itu golongan ini mudah dideteksi pada kromatogram atau dalam larutan (Harborne, 1987)

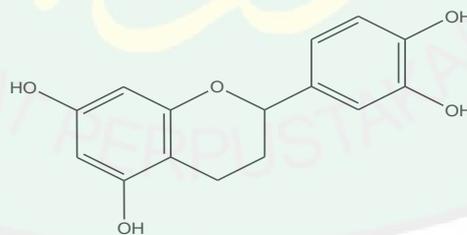
Purwaningsih (2003) menyatakan bahwa eluen terbaik untuk pemisahan flavonoid menggunakan KLT dari biji Kacang Tunggak (*Virga unguiculata* (L.) Walp.) adalah BAA atau campuran butanol-asam asetat-air (4:1:5), kemudian diperiksa di bawah sinar UV akan berwarna biru dengan diuapi uap amoniak akan berwarna biru kehijauan dengan noda sebanyak 8 dengan Rf antara 0,14 – 0,94 cm. 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 cm selah diuapi dengan amoniak.

Wonohadi, *et al.*,(2006) menyatakan bahwa hasil skrining kandungan kimia secara KLT fraksi kloroform ekstrak etanol daun Rimpang Putih Giring menunjukkan adanya golongan flavonoid yang menggunakan campuran eluen kloroform-etil asetat (60:40) dengan penampak noda pereaksi uap amoniak dan menghasilkan dua noda yaitu noda kuning (Rf 0,34 cm) dan noda kuning muda (Rf 0,51 cm). Marlina, *et al.*, (2005) mengidentifikasi golongan alkaloid menggunakan KLT dari buah Labu Siam dalam ekstrak etanol menggunakan eluen butanol-asam asetat-air (3:1:1). Setelah disemprot dengan amoniak pada pengamatan UV 366 nm menunjukkan 2 noda yang berwarna biru dengan nilai Rf 0,92 cm dan 0,54 cm.

### 2.5.3 Tanin

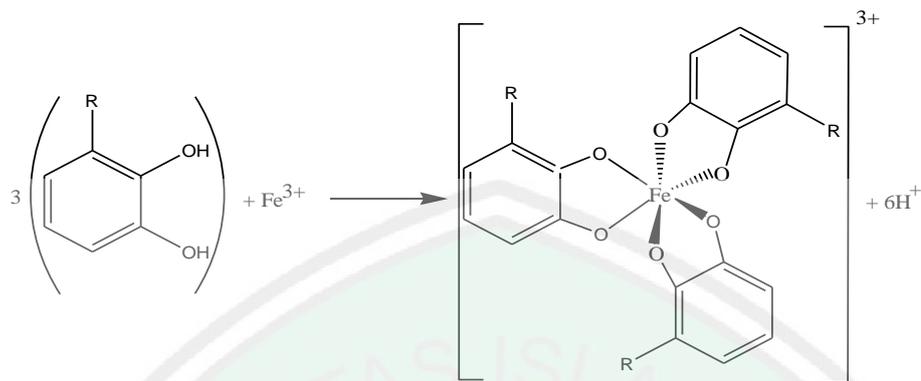
Tanin merupakan golongan senyawa fenol yang terdapat pada daun, buah yang belum matang, merupakan golongan senyawa aktif tumbuhan yang termasuk golongan flavonoid, mempunyai rasa sepat dan mempunyai kemampuan menyamak kulit. Secara kimia tanin dibagi menjadi dua golongan, yaitu tanin terkondensasi atau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

Sebagian besar tumbuhan yang banyak mengandung tanin dihindari oleh hewan pemakan tumbuhan karena rasanya yang sepat. Salah satu fungsi tanin dalam tumbuhan adalah sebagai penolak hewan pemakan tumbuhan (Harborne, 1987). Beberapa tanin terbukti memiliki aktivitas antioksidan, menghambat pertumbuhan tumor dan menghambat enzim seperti “reverse” transkriptase dan DNA topoisomerase (Robinson, 1995).



Gambar 2.5 Struktur senyawa Tanin (Robinson, 1995)

Uji fitokimia dengan menggunakan  $\text{FeCl}_3$  digunakan untuk menentukan apakah suatu bahan atau sampel tersebut mengandung gugus fenol. Dugaan adanya gugus fenol ditunjukkan dengan adanya warna hijau kehitaman atau biru tinta (Harborne, 1987).



Gambar 2.6 Reaksi dugaan antara senyawa Tanin dengan logam  $\text{FeCl}_3$  (Perron and Brumaghnim, 2009)

Kecenderungan Fe dalam pembentukan senyawa kompleks dapat mengikat 6 pasang elektron bebas. Ion  $\text{Fe}^{3+}$  dalam pembentukan senyawa kompleks akan terhibridisasi membentuk hibridisasi  $d^2sp^3$  (Effendy, 2007) sehingga akan terisi oleh 6 pasang elektron bebas atom O pada tanin.

Uji fitokimia dengan menggunakan larutan gelatin digunakan untuk memperkuat dugaan adanya senyawa tanin dalam ekstrak suatu tanaman. Selain itu, semua tanin menimbulkan endapan sedikit atau banyak jika ditambahkan dengan gelatin. Gelatin merupakan protein alami yang memberikan sifat penstabil dan pengental bagi media yang berbasis air, mengandung asam amino, yaitu dengan kandungan glisin (27 %), prolin (16 %) dan hidroxiprolin (14 %) (Harborne, 1987).

Beberapa kelompok peneliti menggunakan kromatografi kertas untuk deteksi tanin. Pelarut yang digunakan untuk mendeteksi campuran tanin terkondensasi adalah butanol-asam asetat-air (14:1:5), diikuti dengan asam asetat 6 % merupakan pelarut yang cukup baik. Bercak noda diperiksa dengan sinar UV

lalu dengan penyemprot  $\text{FeCl}_3$  menghasilkan warna lembayung (Harborne, 1987). Sriwahyuni (2010) menyatakan bahwa identifikasi golongan tanin menggunakan KLT 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 ( $R_f$  0,61 cm) dan ungu kehitaman ( $R_f$  0,8 cm) setelah disemprot dengan  $\text{FeCl}_3$ . Sa'adah (2010) melakukan identifikasi terhadap Blimbing wuluh dengan menggunakan eluen n-butanol-asam asetat-air (BAA) (14:1:5) dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm dan didapatkan 3 noda, namun hanya noda yang memiliki nilai  $R_f$  0,61 dengan warna noda hijau saat disinari UV 254 dan berwarna lembayung saat disinari UV 366.

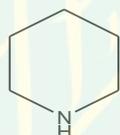
Fitriyani (2011) mengidentifikasi senyawa tanin secara KLT menggunakan campuran eluen kloroform-metanol-air (7:3:0,4) dari ekstrak metanol daun Sirih Merah menghasilkan 1 noda berwarna hitam dengan nilai  $R_f$  0,5 cm. Sedangkan untuk eluen asam asetat glasial-air-HCl pekat (30:10:3) menunjukkan 2 noda yang berwarna ungu kehitaman ( $R_f$  0,4 cm) dan ungu ( $R_f$  0,489 cm). Yulia (2006) menyatakan bahwa untuk identifikasi golongan tanin menggunakan KLT dapat menggunakan eluen n-butanol-asam asetat-air (2:0,5:1,1) dari daun Teh Var. *Assamica* menunjukkan 8 noda yang berwarna lembayung dengan nilai  $R_f$  0.6190 – 0,6548 cm.

Mangunwardoyo, *et al.*, (2009) melakukan identifikasi golongan senyawa tanin dari Herba Meniran dengan menggunakan eluen n-heksana-etil asetat (6:4) menghasilkan 11 noda, akan tetapi yang menunjukkan adanya golongan tanin

adalah noda ke- 6 yang berwarna hijau kekuningan dengan nilai Rf sebesar 0,65 dengan pereaksi  $\text{FeCl}_3$ .

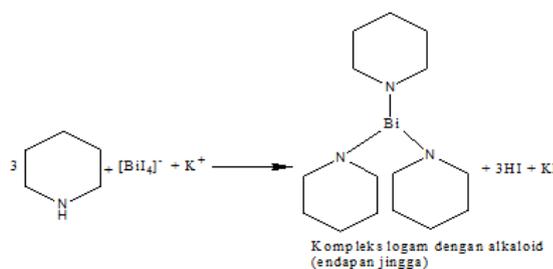
#### 2.5.4 Alkaloid

Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Hampir seluruh senyawa alkaloid berasal dari tumbuhan-tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan. Semua alkaloid mengandung paling sedikit satu atom nitrogen yang biasanya bersifat basa dan dalam sebagian besar atom nitrogen ini merupakan bagian dari cincin heterosiklik (Lenny, 2006).



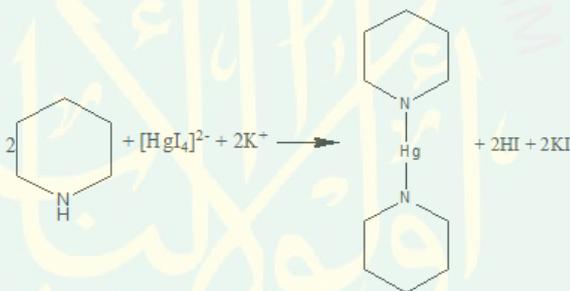
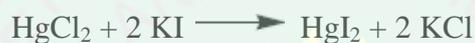
Gambar 2.7 Struktur senyawaan Alkaloid (Robinson, 1995)

Hasil positif alkaloid pada uji Dragendorff juga ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning.



Gambar 2.8 Reaksi dugaan antara senyawa Alkaloid (contoh senyawa Piperidina) dengan pereaksi Dragendorff (Lutfillah, 2008)

Hasil positif alkaloid pada reagen Mayer ditandai dengan terbentuknya endapan putih. Diperkirakan endapan tersebut adalah kompleks kalium-alkaloid. Pada pembuatan pereaksi Mayer, larutan merkuri(II) klorida ditambah dengan kalium iodida akan bereaksi membentuk endapan merah-merkuri(II) iodida. Jika kalium iodida ditambahkan secara berlebih maka akan berbentuk kalium tetraiodomerkurat(II) (Svehla, 1990).



Kompleks logam dengan alkaloid  
(endapan kekuning-kuningan)

Gambar 2.9 Reaksi dugaan antara senyawa Alkaloid (contoh senyawa Piperidina) dengan pereaksi Mayer (Lutfillah, 2008)

Uji fitokimia senyawa alkaloid dengan KLT menggunakan filtrat D yang telah ditambahkan dengan amonia 25 % hingga pH 8 - 9. Filtrat ditambahkan dengan kloroform dan dipekatkan diatas waterbath. Kemudian ditotolkan pada plat silikia gel  $G_{60}$ , eluen yang digunakan adalah etil asetat-metanol-air (100:16,5:13,5) diamati pada sinar UV 366 nm, disemprot dengan pereagen Dragendroff, dikeringkan dan diamati kembali pada sinar UV 254 nm dan 366 nm. Hasil dari uji KLT menunjukkan bahwa adanya noda dengan Rf 0,9 dengan

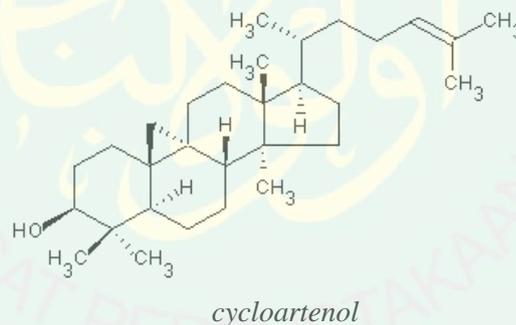
warna kuning muda pada pengamatan dengan sinar UV 254 nm dan berwarna hijau muda pada UV 366 nm (Marliana, *et al.*, 2005).

Sari (2010) melakukan pemisahan alkaloid (kafein) daun Teh. menggunakan eluen etil asetat-metanol (3:1) dengan penyemprot Dragendorf menghasilkan noda dengan Rf 0,62 (jingga tanpa sinar UV). Sedangkan Setiaji (2009), memisahkan senyawa alkaloid dari ekstrak etil asetat dan ekstrak etanol 70 % rhizome Binahong dengan menggunakan eluen benzena-etil asetat (1:4) yang disemprot dengan penyemprot Dragendorff. Diperoleh hasil noda dengan Rf 0,83 (jingga dengan pereaksi penyemprot, berfluoresensi kuning pada UV 366 nm); sementara dengan eluen pengembang kloroform-metanol (1:4) diperoleh noda dengan Rf 0,93 (jingga dengan pereaksi penyemprot, berfluoresensi kuning pada UV 366 nm).

Sriwahyuni (2010) melakukan identifikasi golongan alkaloid dari ekstrak etil asetat tanaman anting-anting dengan KLT menggunakan eluen kloroform-metanol (9,5:0,5) menunjukkan 5 noda yang berwarna ungu kecoklatan – jingga kecoklatan dengan nilai Rf 0,27 – 0,87. Pada Rf 0,78 (kuning pada pengamatan tanpa sinar UV, jingga kecoklatan tua pada UV 366nm). Sedangkan Lestari (2012) menggunakan eluen kloroform-metanol (8:3) lalu disemprot dengan pereaksi Dragendorff untuk mengidentifikasi alkaloid ekstrak n-butanol daun Sidaguri menghasilkan noda dengan Rf 0,59 (coklat jingga dengan latar belakang kuning).

### 2.5.5 Triterpenoid

Triterpenoid merupakan komponen tumbuhan yang mempunyai bau dan dapat diisolasi dari bahan nabati dengan penyulingan sebagai minyak atsiri. Triterpenoid terdiri dari kerangka dengan 3 siklik 6 yang bergabung dengan siklik 5 atau berupa 4 siklik 6 yang mempunyai gugus pada siklik tertentu (Lenny, 2006). Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari 6 satuan isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon  $C_{30}$  asiklik yaitu skualena. Senyawa ini berstruktur siklik yang kebanyakan berupa alkohol, aldehida, atau asam karboksilat (Harborne, 1987). Senyawa ini paling umum ditemukan pada tumbuhan berbiji dan sebagai glikosida.



Gambar 2.10 Struktur senyawa Triterpenoid (Robinson, 1995)

Listiana, *et al.*, (2005) menyatakan bahwa eluen n-heksana-etil asetat dapat memisahkan ekstrak daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.) yang isolatnya positif mengandung triterpenoid. Pereaksi Lieberman-Burchard secara umum digunakan untuk mendeteksi triterpenoid menghasilkan warna violet (Harborne, 1987). Bawa (2009) menyebutkan bahwa isolat golongan senyawa triterpenoid

dengan pereaksi Lieberman - Burchard yaitu akan terjadi perubahan warna yang spesifik dari warna hijau tua (warna isolat) menjadi warna ungu tua.

Sriwahyuni (2010) melakukan uji fitokimia golongan triterpenoid dari ekstrak diklorometan dari tanaman anting-anting dengan KLT 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 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.

Reveny (2011), melakukan uji fitokimia golongan triterpenoid dan steroid dari daun Sirih Merah dengan KLT menggunakan eluen n-heksan-etil asetat (8:2) diperoleh Rf 0,41 dan 0,29 (ungu merah), dengan perbandingan (6:4) diperoleh Rf 0,84 dan 0,76 (ungu merah) dengan pereaksi Liebermann Burchard. Zahro (2011) melakukan pemisahan senyawa triterpenoid ekstrak tanaman anting-anting dengan menggunakan eluen n-heksana-kloroform (1:1). Noda yang terpisah sebanyak 8 noda, pada Rf 0,14;0,34;0,39;0,45;0,55;0,68;dan 0,80 berwarna merah keunguan dan dengan Rf 0,89 berwarna coklat kekuningan

### **2.5.6 Steroid**

Steroid merupakan golongan lipid yang diturunkan dari senyawa jenuh yang dinamakan siklopentanoperhidrofenantrena, yang memiliki inti dengan 3

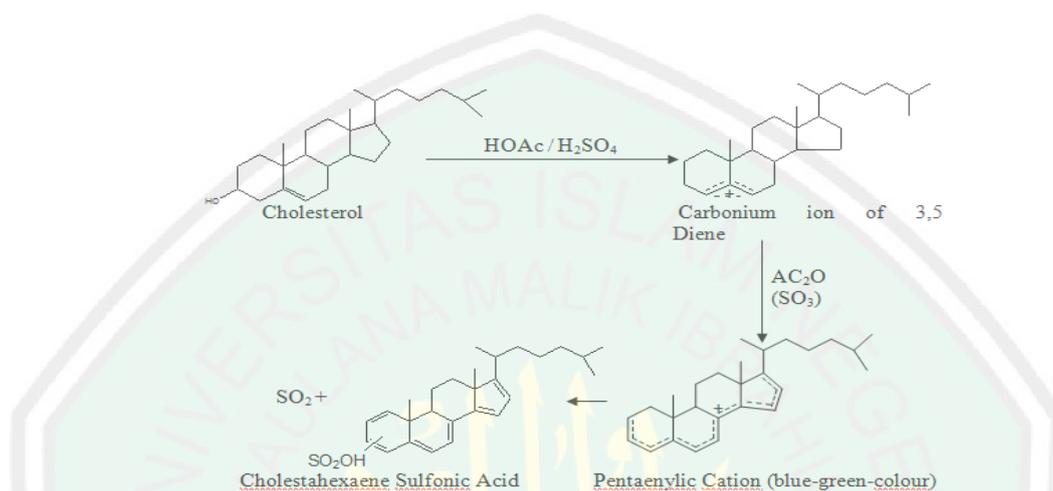
cincin sikloheksana terpadu dan 1 cincin siklopentana yang tergabung pada ujung cincin sikloheksana tersebut (Poedjiadi dan Supriyanti, 1994). Steroid tersusun dari isopren-isopren dari rantai panjang hidrokarbon yang menyebabkan sifatnya non polar. Beberapa senyawaan steroid mengandung gugus –OH yang sering disebut dengan sterol, sehingga sifatnya 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).



Gambar 2.11 Struktur senyawa Steroid (Robinson, 1995)

Reagen yang digunakan untuk uji fitokimia pada senyawa golongan steroid adalah dengan menggunakan pereagen Lieberman–Buchard yang menghasilkan warna hijau biru. Reagen yang lain adalah dengan menggunakan

pereagen Brieskorn dan Briner (asam klorosulfat dan Sesolvan NK) yang menghasilkan warna coklat (Robinson, 1995).



Gambar 2.12 Reaksi dugaan senyawa steroid (contoh senyawa kolesterol) dengan reagen Liebermann Burchard (Burke, 1974)

Halimah (2010) melakukan uji fitokimia golongan senyawa steroid dari ekstrak kloroform tanaman anting-anting (*Acalypha indica* L.). Ekstrak tanaman dimasukkan dalam tabung reaksi, dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform, ditambah dengan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Selanjutnya, campuran ini ditambahkan dengan 1-2 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat melalui dinding tabung tersebut. Jika hasil yang diperoleh warna hijau kebiruan maka ekstrak menunjukkan adanya golongan senyawa steroid. Hasil dari uji ini menunjukkan bahwa ekstrak kloroform dari tanaman anting-anting (*Acalypha indica* L.) positif mengandung senyawa steroid. Pada uji fitokimia dengan menggunakan KLT eluen yang digunakan adalah n-heksana-etil asetat (7:3), disemprot dengan pereagen Liebermann-Burchard dan diamati dibawah sinar UV 254 nm. Hasil dari uji ini didapatkan 4 noda yang memiliki nilai R<sub>f</sub> 0,57, 0,76, 0,94, 0,96 yang ditunjukkan dengan warna masing-

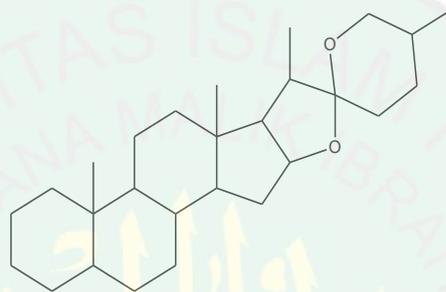
masing noda sebelum disemprot dengan pereagen Lieberman-Burchard yaitu hijau terang, hijau kekuningan, hijau, coklat kekuningan dan setelah disemprot dengan reagen Lieberman-Burchard warnanya menjadi hijau terang, hijau terang, hijau kekuningan dan hijau kecoklatan.

Reveny (2011) menyatakan bahwa untuk identifikasi golongan triterpenoid/steroid menggunakan KLT dari daun Sirih Merah menggunakan fase gerak n-heksana-etil asetat (8:2) diperoleh Rf 0,41 cm dan 0,29 cm (ungu merah), dengan perbandingan (6:4) diperoleh Rf 0,84 cm dan 0,76 cm (ungu merah) dengan pereaksi Liebermann Burchard. Gunawan, *et al.*, (2008) menyatakan bahwa identifikasi golongan steroid secara KLT menggunakan campuran eluen kloroform-metanol (3:7) pada ekstrak herba meniran dengan menghasilkan 1 noda berwarna ungu muda dengan nilai Rf 0,58 cm. Halimah (2010) mengidentifikasi golongan senyawa steroid secara KLT menggunakan eluen n-heksana-etil asetat (7:3) pada ekstrak kloroform tanaman anting-anting menghasilkan 4 noda yang menghasilkan warna secara berurutan yaitu hijau terang, hijau kekuningan, dan hijau kecoklatan yang setelah disemprot reagen Liebermann Burchard mendapatkan nilai Rf 0,57; 0,76; 0,94; dan 0,96 cm.

### 2.5.7 Saponin

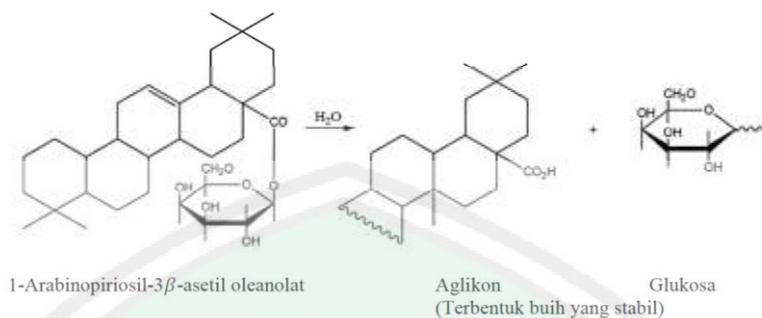
Saponin berasal dari bahasa latin *sapo* yang berarti sabun, karena sifatnya menyerupai sabun. Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat, menimbulkan busa jika dikocok dengan air dan pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah. Saponin dalam larutan yang sangat encer dapat sebagai racun ikan, selain itu saponin juga berpotensi sebagai

antimikroba, 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 2.13 Struktur senyawa Saponin (Robinson, 1995)

Uji fitokimia saponin dapat dilakukan dengan uji Forth yakni sejumlah ekstrak dikocok dengan akuades panas. Adanya saponin ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang mantap dengan ketinggian 1 – 10 cm selama 10 menit dan pada penambahan 1 tetes HCl 2N, buih tidak hilang (Dermawan, 2012). Sedangkan pemisahan saponin dengan KLT dapat menggunakan pereaksi Lieberman Buchard atau  $H_2SO_4$  yang akan menghasilkan warna ungu, biru, atau ungu-ungu gelap (Halimah, 2010). Adapun contoh reaksi dugaan yang terjadi pada uji fitokimia golongan saponin adalah:



Gambar 2.14 Contoh dugaan reaksi saponin dengan uji Forth (Dermawan, 2012)

Wonohadi, *et al.*, (2006) menyatakan 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 Liebermann Burchard (110 °C, 5 – 10 menit) dan menghasilkan noda biru (Rf 0,17).

Pemisahan saponin melalui plat silika gel KLT menggunakan larutan pengembang seperti butanol yang dijenuhkan dengan air atau kloroform-metanol-air (13:7:2) (Harborne, 1987). Suharto, *et al.*, (2011) menyatakan bahwa identifikasi senyawa saponin menggunakan KLT dari ekstrak metanol batang Pisang Ambon menggunakan eluen kloroform-metanol-air (13:7:2) diperoleh bercak noda berwarna hijau pada plat silika yang disemprotkan pereaksi Liebermann Burchard dan dipanaskan pada suhu 110 °C selama 10 menit dan menghasilkan nilai Rf 0,275 – 0,375 cm.

Widriyanti *et al.* (2005) mengidentifikasi senyawa saponin dari ekstrak etanol daun sirih merah menggunakan eluen kloroform-metanol (95:5) dengan penyemprot LB menghasilkan noda dengan Rf 0,65 (biru) dimana Rf pembanding adalah 0,48; 0,61 dan 0,83 pada UV 254 nm, UV 365 nm dan pada sinar tampak.

Rahayu dan Hastuti (2009) memisahkan senyawa saponin dari fraksi nbutanol *Aloe vera* menggunakan eluen kloroform-metanol-air (3:1:0,1) menggunakan penampak noda 50 % H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, dikeringkan selama 15 menit pada suhu kamar lalu dipanaskan pada suhu 105 °C selama 3 menit dalam oven. Diperoleh noda berwarna ungu-ungu gelap.

Halimah (2010) mengidentifikasi senyawa saponin dari ekstrak akar tanaman Kedondong laut menggunakan eluen kloroform-metanol-air (20:60:10) dan ketika ditambah H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> timbul warna ungu-ungu gelap. Kristianingsih (2005) menyatakan bahwa larutan pengembang yang menghasilkan resolusi terbaik pada KLT untuk senyawa saponin dari akar tanaman kedondong laut adalah campuran kloroform-metanol-air (20:60:10) yang menghasilkan noda dengan 3 R<sub>f</sub> antara 0,55 - 0,73 dan ketika ditambah dengan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> akan menimbulkan warna ungu - ungu gelap.

## BAB III

### METODOLOGI PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2013 sampai dengan April 2014 di Laboratorium Kimia Organik, Kimia Fisik dan Analitik Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

#### 3.2 Alat dan Bahan

##### 3.2.1 Alat

Alat-alat yang akan digunakan dalam ini adalah oven, cawan penguap, desikator, ayakan 60 mesh, neraca analitik, lemari asam, gelas arloji, arloji, gelas ukur 100 mL, erlenmeyer 500 mL, *aluminium foil*, *shaker*, kertas saring, bola hisap, *rotary evaporator*, *beaker glass* 100 mL, pengaduk gelas, corong gelas, botol vial, corong *buchner*, aerator, pipet mikro 0,5 – 1000  $\mu$ L, labu takar 1L, labu takar 10 mL, tempat penetasan larva udang *Artemia salina* L, sekat, lampu neon 18 watt, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet tetes, pipet ukur 10 mL, pipet ukur 5 mL, pipa kapiler, plat KLT silika gel F<sub>254</sub>, penjepit kayu, lampu UV dan bejana penjenuh

##### 3.2.2 Bahan

Bahan utama yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah daun tanaman Rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) yang diperoleh dari lereng gunung Arjuna, Desa Gamoh, Kabupaten Pasuruan. Daun yang diambil

adalah yang berwarna hijau daun yang masih segar. Hewan uji yang digunakan adalah larva udang *Artemia salina* Leach.

Bahan kimia yang akan digunakan antara lain n-heksana p.a, kloroform p.a dan etanol 80%, NaCl, DMSO, larutan ragi roti (merk Fermipan), aquades, larutan HCl 2 %, larutan HCl pekat (37%), HCl 2 N, metanol panas 50%, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat (37 %), reagen Dragendroff, reagen Mayer, logam Mg, larutan FeCl<sub>3</sub>, larutan gelatin, larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat.

### 3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui pengujian eksperimental di laboratorium. Sampel yang diambil bagian daun dari tanaman Rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn). Tahapan penelitian yang pertama adalah uji taksonomi untuk mengidentifikasi klasifikasi dari tanaman Rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) secara benar. Selanjutnya ditentukan kadar air sampel basah, preparasi sampel, kemudian dilakukan penentuan kadar air kering. Setelah itu sampel diserbukkan dengan cara diblender dan diayak 60 mesh. Langkah selanjutnya adalah serbuk sampel diambil sebanyak 60 g untuk diekstraksi secara maserasi dengan menggunakan 3 pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda, yaitu n-heksana p.a, kloroform p.a dan etanol 80%. Pada ekstraksi yang pertama 60 g sampel direndam dalam 300 mL n-heksana selama 24 jam dan *dishaker selama 3 jam* kemudian hasil perendaman disaring untuk memisahkan antara ekstrak dengan ampas. Ampasnya diekstraksi kembali dengan pelarut yang sama sampai diperoleh filtratnya bening. Ampas dikeringanginkan agar pelarut

n-heksananya hilang. Ampas yang telah kering direndam kembali dan dimaserasi dengan menggunakan pelarut n-heksana kemudian secara berturut-turut kloroform dan etanol 80%.

Ekstrak yang diperoleh dari masing-masing pelarut diuapkan pelarutnya dengan menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak pekat. Kemudian masing-masing ekstrak diuji aktivitas sitotoksiknya dengan menggunakan metode BSLT terhadap larva udang *Artemia salina* L. Uji ini dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali untuk masing-masing ekstrak. Masing-masing ekstrak diambil sebanyak 10 mg dan dilarutkan dalam masing-masing 10 mL pelarutnya untuk membuat larutan ekstrak stok 1000 ppm. Setelah itu, masing-masing ekstrak diambil sebanyak 0,78 ppm, 1,56 ppm, 3,125 ppm, 6,25 ppm, 12,5 ppm, 25 ppm, 50 ppm, dan 100 ppm (Astuti, *et al.*, 2005; Morshed, *et al.*, 2012; Sarkar, *et al.*, 2012) untuk diujikan pada larva udang *Artemia salina* L. Kontrol yang digunakan ada 3, yakni kontrol 0 ppm untuk kontrol negatifnya berupa DMSO tanpa ekstrak (Morshed, *et al.*, 2012), kontrol pelarut masing-masing ekstrak dan kontrol air laut. Pengamatan dilakukan selama 24 jam untuk mengetahui kematian larva udang *Artemia salina* L. dan untuk mengetahui nilai  $LC_{50}$  masing-masing ekstrak.

Proses selanjutnya adalah pengujian fitokimia pada ekstrak yang memiliki bioaktivitas optimum. Pengujian fitokimia dilakukan dengan menggunakan uji reagen untuk mengidentifikasi golongan senyawa yang terkandung dalam masing-masing ekstrak. Golongan senyawa yang diuji adalah alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid dan steroid (Harborne, 1987). Kemudian, dilakukan

pemisahan golongan senyawa aktifnya menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA) pada ekstrak yang memiliki bioaktivitas paling optimum ( $LC_{50}$  paling kecil) dan golongan senyawa yang positif pada uji reagen tujuannya untuk mengetahui eluen mana yang efektif dalam pemisahan golongan senyawa tersebut.

### 3.4 Tahapan Penelitian

Tahapan dalam pelaksanaan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Uji taksonomi tanaman Rumput bambu,
2. Analisis kadar air,
3. Preparasi sampel,
4. Ekstraksi komponen aktif daun rumput bambu dengan maserasi,
5. Uji aktivitas sitotoksik terhadap larva udang *Artemia salina* Leach,
6. Uji fitokimia golongan senyawa aktif dengan uji reagen,
7. Pemisahan golongan senyawa aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA),
8. Analisis data.

### 3.5 Pelaksanaan Penelitian

#### 3.5.1 Uji Taksonomi Tanaman Rumput Bambu

Uji taksonomi tanaman Rumput bambu (*Lophatherum gracile* B.) dilakukan secara kualitatif di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Brawijaya dan LIPI Kebun Raya Purwodadi, Kabupaten Pasuruan.

### 3.5.2 Analisis Kadar Air (Helrich, 1984)

Analisa kadar air dilakukan dengan metode *thermografi* yaitu dengan pemanasan dengan metode modifikasi Helrich (1984). Analisa ini dilakukan untuk daun rumput bambu yang dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Sebelumnya, cawan dipanaskan dahulu dalam oven pada suhu 100 - 105 °C sekitar 15 menit untuk menghilangkan kadar airnya, kemudian cawan disimpan dalam desikator sekitar 10 menit. Cawan tersebut selanjutnya ditimbang dan dilakukan perlakuan yang sama sampai diperoleh berat cawan yang konstan. Sampel kering ditimbang sebanyak 5 gram dan dimasukkan kedalam cawan yang telah diketahui berat konstannya. Setelah dikeringkan dengan oven pada suhu 100 - 105 °C selama ± 15 menit untuk menghilangkan kadar air. Selanjutnya sampel disimpan dalam desikator selama ± 10 menit dan ditimbang. Sampel tersebut dipanaskan kembali dalam oven ± 15 menit, didinginkan dalam desikator dan ditimbang kembali. Perlakuan ini diulangi sampai berat konstan. Kadar air dihitung dengan menggunakan rumus berikut:

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

Keterangan:  $a$  = berat konstan cawan kosong  
 $b$  = berat cawan + sampel sebelum dikeringkan  
 $c$  = berat konstan cawan + sampel setelah dikeringkan

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

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

### 3.5.3 Preparasi Sampel

Sampel tanaman Rumput bambu diambil bagian daun kemudian dicuci dengan air lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan pada suhu kamar hingga bobot menyusut  $\pm$  80-90 % dari bobot semula. Dihaluskan dengan jalan diiris tipis (Lisdawati, 2006). Kemudian diserbukkan, serbuk yang diperoleh disaring menggunakan ayakan 60 mesh. Hasil yang diperoleh digunakan sebagai sampel penelitian. Kemudian dilanjutkan dengan pengukuran kadar air sampel kering (Dewi, 2007).

### 3.5.4 Ekstraksi Komponen Aktif Daun Rumput Bambu dengan Maserasi (Rita, *et al.*, 2008; Swantara, 2005; Lestari, 2012)

Ekstraksi golongan senyawa aktif dilakukan dengan cara maserasi atau perendaman dengan pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda yaitu n-heksana p.a, kloroform p.a, dan etanol 80% (Rita, *et al.*, 2008). Ekstraksi dilakukan sebanyak 4 kali pengulangan pada masing-masing pelarut yang dimungkinkan bahwa kandungan senyawa pada daun sudah cukup banyak yang terekstrak pada masing-masing tahapnya. Serbuk daun Rumput bambu ditimbang sebanyak 60 g dan diekstraksi dengan perendaman menggunakan 300 mL pelarut n-heksana p.a selama 24 jam. Pengadukannya dibantu dengan *shaker* selama 3 jam, kemudian disaring dan ampas yang diperoleh dimaserasi kembali dengan pelarut dan perlakuan yang sama sampai 4 kali pengulangan (Swantara, 2005) atau sampai diperoleh filtrat yang bening (Harborne, 1987). Selanjutnya disaring dan ampasnya dikeringkan agar terbebas dari pelarut n-heksana. Ketiga filtrat yang diperoleh selanjutnya digabung menjadi satu.

Ampas yang telah kering direndam kembali menggunakan 300 mL pelarut kloroform selama 24 jam. Pengadukannya dibantu dengan *shaker* selama 3 jam kemudian disaring dan ampas yang diperoleh dimaserasi kembali dengan pelarut dan perlakuan yang sama sampai 4 kali pengulangan atau sampai diperoleh filtrat yang bening. Selanjutnya disaring dan ampasnya dikeringkan agar terbebas dari pelarut kloroform. Ketiga filtrat yang diperoleh selanjutnya digabung menjadi satu.

Ampas yang telah kering dimaserasi kembali menggunakan 300 mL pelarut etanol 80 % selama 24 jam. Pengadukannya dibantu dengan *shaker* selama 3 jam, kemudian disaring dan ampas yang diperoleh dimaserasi kembali dengan pelarut dan perlakuan yang sama sampai 4 kali pengulangan sampai diperoleh filtrat yang bening. Selanjutnya disaring dan ampasnya dikeringkan agar terbebas dari pelarut etanol. Ketiga filtrat yang diperoleh selanjutnya digabung menjadi satu.

Ketiga ekstrak yang diperoleh dipekatkan dengan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 40 °C, tekanan  $\pm$  800 atm dan rotor 3-7 sampai diperoleh ekstrak pekat n-heksana p.a, kloroform p.a dan etanol 80%. Selanjutnya ekstrak kental dapat disimpan dalam lemari pendingin pada suhu 4 °C agar ekstrak tersebut tidak menjadi rusak (Lestari, 2012). Ketiga ekstrak pekat yang diperoleh selanjutnya diuji aktivitas sitotoksiknya dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* L. dan diuji fitokimia dengan uji reagen dan KLT terhadap ekstrak yang memiliki nilai  $LC_{50} < 1000$  ppm dari hasil uji toksisitas.

### **3.5.5 Uji Aktivitas Sitotoksik dengan Larva Udang *Artemia salina* L.**

#### **3.5.5.1 Penetasan Telur (Sukandar, *et al.*, 2009; Panjaitan, 2011)**

Air laut sebanyak 250 mL dimasukkan dalam wadah penetasan (wadah aerasi) yang diberi sekat menjadi dua bagian (bagian gelap dan terang). Kemudian dimasukkan 2,5 mg telur *Artemia salina* Leach ke bagian gelap dari wadah yang berisi air laut, ditutup dengan aluminium foil pada bagian gelap, lalu diaerasi dibawah cahaya lampu neon 18 watt (Sukandar, *et al.*, 2009). Selanjutnya telur menetas dalam waktu  $\pm$  48 jam dan menuju daerah terang melalui sekat. Larva yang sehat akan mendekati cahaya (bersifat fototropik) dan siap dijadikan sebagai hewan uji setelah berumur 48 jam (Panjaitan, 2011)

#### **3.5.5.2 Uji Aktivitas Sitotoksik (Meyer, 1982; Mc. Laughlin, 1998; Morshed, 2012)**

Perlakuan uji aktivitas sitotoksik dilakukan sebanyak 3 kali ulangan pada masing-masing ekstrak sampel. Botol disiapkan untuk pengujian, masing-masing ekstrak membutuhkan 24 botol dan 9 botol sebagai kontrol. Ekstrak kental n-heksana, kloroform dan etanol 80% ditimbang sebanyak 10 mg dan dilarutkan dengan menggunakan pelarutnya masing-masing sebanyak 10 mL untuk membuat larutan stok 1000 ppm. Kemudian, dipipet larutan stok masing-masing sebanyak 1 mL; 0,5 mL; 0,25 mL; 0,125 mL; 0,0625 mL; 0,03125 mL; 0,01562 mL; dan 0,0078 mL (Morshed, *et al.*, 2012), dimasukkan ke dalam botol vial dan pelarutnya diuapkan hingga kering dalam lemari asam. Ekstrak dimasukkan dalam labu takar 10 mL, ditambahkan dengan 100  $\mu$ L dimetil sulfoksida, setetes larutan ragi roti, 2 mL air laut, kemudian diaduk sampai ekstrak dapat larut dalam air laut

(Panjaitan, 2011). Ditambahkan dengan air laut sampai volume 10 mL dan dikocok sampai homogen, sehingga konsentrasinya 0,78 ppm, 1.56 ppm, 3,125 ppm, 6,25 ppm, 12,5 ppm, 25 ppm, 50 ppm, dan 100 ppm (Astuti, *et al.*, 2005; Morshed, *et al.*, 2012; Sarkar, *et al.*, 2012). Kemudian, larutan dipindahkan ke dalam gelas vial dan dimasukkan 10 ekor larva udang *Artemia salina* Leach (Meyer, *et al.*, 1982). Masing-masing ekstrak diulang sebanyak 3 kali, sehingga terdapat 24 botol vial untuk tiap ekstrak.

Kontrol yang digunakan dalam penelitian ada 3 yakni kontrol media (DMSO tanpa ekstrak), kontrol pelarut masing-masing ekstrak dan kontrol air laut. Tujuannya adalah untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh penggunaan ketiga kontrol tersebut terhadap larva udang *Artemia salina* leach. Kontrol media dibuat dengan cara memipet 100  $\mu$ L DMSO, dimasukkan dalam labu takar 10 mL, diuapkan dalam lemari asam, ditambahkan air laut dan satu tetes larutan ragi roti, ditambahkan air laut sampai tanda batas, dipindahkan larutan dalam botol vial kemudian ditambahkan larva udang sebanyak 10 ekor. Kontrol pelarut dibuat dengan cara memipet 1000  $\mu$ L / 1 mL (konsentrasi tertinggi ekstrak yang digunakan) pelarut masing-masing ekstrak, dimasukkan dalam labu takar 10 mL, diuapkan dalam lemari asam, ditambahkan air laut dan satu tetes larutan ragi roti, ditambahkan air laut sampai tanda batas, dipindahkan larutan dalam botol vial kemudian ditambahkan larva udang sebanyak 10 ekor. Sedangkan kontrol air laut dibuat dengan cara memipet air laut, dimasukkan dalam labu takar 10 mL, ditambahkan satu tetes larutan ragi roti, ditambahkan air laut sampai tanda batas,

dipindahkan dalam botol vial kemudian ditambahkan larva udang sebanyak 10 ekor. Masing-masing kontrol diulang sebanyak 3 kali.

Kemudian semua botol vial diletakkan dibawah lampu neon 18 watt selama 24 jam dan diamati kematian larva. Parameter larva udang yang mati pada perlakuan adalah larva udang yang tidak menunjukkan pergerakan selama 10 detik observasi (Carballo, *et al.*, 2002), tenggelam ke dasar botol vial, mengalami gerakan tidak teratur yakni *Artemia* tetap bergerak tetapi tetap berputar-putar pada satu titik atau diamati dengan kaca pembesar (Nurhayati, *et al.*, 2006). Kemudian dihitung jumlah larva udang yang mati. Bila ada kematian pada control dikoreksi dengan rumus sebagai berikut (Meyer *et. Al.*, 1982):

$$\% \text{ kematian} = \frac{\text{Tes-Kontrol}}{\text{Kontrol}} \times 100 \% \dots\dots\dots(3.3)$$

Dari nilai % kematian, kemudian dianalisis dengan analisis probit menggunakan program MINITAB 16 untuk mendapatkan nilai LC<sub>50</sub> (Morshed, *et al.*, 2012).

### **3.5.6 Uji Fitokimia Golongan Senyawa Aktif dengan Uji Reagen (Indrayani, *et al.*, 2006; Halimah, 2010)**

Ekstrak yang memiliki aktivitas terhadap larva udang *Artemia salina* L. diuji fitokimia kandungan senyawa aktifnya dengan uji reagen. Ekstrak pekat n-heksana, kloroform dan etanol dari daun Rumput bambu dilarutkan dengan sedikit masing-masing pelarutnya. Kemudian dilakukan uji alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid dan steroid (Indrayani, *et al.*, 2006).

### 3.5.6.1 Uji Flavonoid

Ekstrak daun Rumput bambu diambil 1 mg dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi diuapkan sampai kering. Kemudian dilarutkan dalam 1-2 mL metanol panas 50 %. Setelah itu ditambah logam Mg dan 4-5 tetes HCl pekat. Larutan berwarna merah atau jingga yang terbentuk menunjukkan adanya flavonoid (Indrayani, *et al.*, 2006).

### 3.5.6.2 Uji Alkaloid

Ekstrak daun Rumput bambu diambil 1 mg, dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambah 0,5 mL HCl 2 % dan larutan dibagi dalam dua tabung. Tabung I ditambahkan 2-3 tetes reagen Dragendroff, tabung II ditambahkan 2-3 tetes reagen Mayer. Hasil positif alkaloid apabila terbentuk endapan berwarna merah bata, merah, jingga (dengan reagen Dragendorf) dan endapan putih atau kekuning-kuningan (dengan reagen Meyer) menunjukkan adanya alkaloid (Indrayani, *et al.*, 2006).

### 3.5.6.3 Uji Tanin

#### 3.5.6.3.1 Uji dengan FeCl<sub>3</sub>

Ekstrak daun Rumput bambu diambil 1 mg, dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 2-3 tetes larutan FeCl<sub>3</sub> 1 %. Jika larutan menghasilkan warna biru kehitaman atau biru tua, maka ekstrak tersebut mengandung tanin galat dan jika warnanya hijau kehitaman menunjukkan adanya senyawa tanin katekol (Halimah, 2010).

### **3.5.6.3.2 Uji dengan Larutan Gelatin**

Ekstrak daun Rumput bambu diambil 1 mg, dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambah dengan larutan gelatin. Jika terbentuk endapan putih, maka ekstrak tersebut mengandung tanin (Halimah, 2010).

### **3.5.6.4 Uji Saponin**

Ekstrak daun Rumput bambu diambil 1 mg, dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah air (1:1) dan sambil dikocok selama 1 menit, apabila menimbulkan busa ditambahkan HCl 1 N, busa yang terbentuk dapat bertahan selama 10 menit dengan ketinggian 1-3 cm, maka ekstrak positif mengandung saponin (Indrayani, *et al.*, 2006).

### **3.5.6.5. Uji Triterpenoid dan Steroid**

Ekstrak daun Rumput bambu diambil 1 mg, dimasukkan dalam tabung reaksi, dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform dan 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 maka ekstrak tersebut menunjukkan adanya triterpenoid, sedangkan jika hasil yang diperoleh terbentuk warna hijau kebiruan maka ekstrak tersebut menunjukkan adanya steroid (Indrayani, *et al.*, 2006)

### **3.5.7 Pemisahan Golongan Senyawa Aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis**

#### **Analitik (Gandjar dan Rohman, 2007 dalam Nasliyana 2013)**

Uji senyawa aktif dengan KLT dilakukan pada ekstrak yang memiliki nilai LC<sub>50</sub> paling kecil dan golongan senyawanya positif pada uji reagen.

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

Plat KLT yang digunakan adalah plat silika gel dengan ukuran 60 mesh yang mampu berfluorosensi dibawah lampu UV pada panjang gelombang 254 nm (silika G<sub>60</sub>F<sub>254</sub>) (Merck). Plat KLT disiapkan dengan melapiskan diatas permukaan lapisan kaca ketebalan 250  $\mu\text{m}$ , dibuat ukuran 1 cm x 10 cm dengan pensil, penggaris dan cutter. Selanjutnya garis digambar dengan pensil pada bagian bawah plat (1 cm dari tepi bawah dan 0,5 cm dari tepi atas plat), lalu diberi penandaan pada garis di bagian bawah plat untuk menunjukkan posisi awal totalan. Plat KLT silika gel GF<sub>254</sub> diaktifasi dengan cara dioven pada suhu 60 – 80 °C selama 1 jam 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 dalam *great chamber* lalu ditutup rapat dan dilakukan penjenuhan selama 20 – 30 menit. Cara mengetahui eluen sudah jenuh atau belum dapat digunakan kertas saring untuk memeriksanya yaitu dengan membasahi kertas saring dengan uap eluen. Penjenuhan ini dilakukan untuk menyamakan tekanan uap pada seluruh bagian bejana.

### **c. Penotolan Sampel**

Ekstrak pekat daun Rumput bambu dilarutkan dengan pelarutnya (dibuat konsentrasi 600.000 ppm atau 0,6 gr dalam 1 mL pelarutnya). Kemudian ditotolkan ekstrak sebanyak 1  $\mu\text{L}$  (1 – 10 totol) 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 selanjutnya dielusi dengan masing-masing fase gerak golongan senyawanya. Plat dimasukkan dalam *great chamber* yang berisi fase gerak yang telah jenuh, diletakkan setinggi 0,5 cm dari dasar plat, kemudian *great chamber* ditutup rapat hingga fase gerak mencapai jarak  $\pm 0,5$  cm dari tepi atas plat. Kemudian plat diangkat dan dikeringkan.

#### e. Identifikasi Noda

Noda-noda yang terbentuk pada plat silika gel  $G_{60}F_{254}$  kemudian diamati dibawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm, disemprot dengan penampak noda, dipanaskan di oven pada suhu 60 °C selama 10 menit, kemudian diamati masing-masing noda yang terbentuk. Pengamatan noda meliputi jumlah noda, warna noda dan penghitungan nilai  $R_f$  noda.

Pengembang dan reagen penguji masing-masing golongan senyawa adalah sebagai berikut:

- 1) **Golongan senyawa flavonoid:** digunakan pengembang eluen campuran butanol-asam asetat-air (14:1:5) (Purwaningsih, 2003), metanol-kloroform (1:9) (Milyasari, 2010), kloroform-etil asetat (60:40) (Wonohadi, *et al.*, 2006), butanol-asam asetat-air (3:1:1) (Marliana, *et al.*, 2005), noda setelah diuapi amoniak menghasilkan noda berwarna.
- 2) **Golongan senyawa tanin:** digunakan pengembang eluen campuran butanol-asam asetat-air (14:1:5) (Harborne, 1987; Sriwahyuni, 2010), kloroform-metanol-air (7:3:0,4) (Fitriyani, 2011), asam asetat glasial-air-HCl pekat (30:10:3) (Nuraini, 2002), butanol-asam asetat-air (2:0,5:1,1)

(Yulia, 2006; Sa'adah 2010), n-heksana-etil asetat (6:4) (Mangunwardoyo, *et al.*, 2009) noda diuapi dengan pereaksi  $\text{FeCl}_3$  menghasilkan noda berwarna ungu, ungu kehitaman, lembayung, hitam, kemerahan, lembayung, dan hijau kekuningan .

- 3) **Golongan senyawa alkaloid:** digunakan pengembang eluen campuran etil asetat-metanol (3:1) (Sari, 2010), benzena-etil asetat (1:4), kloroform-metanol (1:4) (Setiaji, 2009), metanol-kloroform (0,5:9,5) (Lutfillah, 2008; Sriwahyuni, 2010), kloroform-metanol (8:3) (Lestari, 2012), dan menggunakan pereaksi Dragendorff memberikan perubahan warna noda menjadi jingga, kuning, jingga kecoklatan, hijau kecoklatan, dan coklat berlatar belakang kuning.
- 4) **Golongan senyawa triterpenoid:** digunakan pengembang eluen campuran n-heksana-etil asetat (1:1) benzena-kloroform (3:7) (Sriwahyuni, 2010), n-heksana-etil asetat (8:2) dengan perbandingan (6:4) (Reveny, 2011), heksana-kloroform (1:1) (Zahro, 2011) dengan pereaksi Liebermann Burchard akan terbentuk noda yang berwarna ungu, ungu tua, merah keunguan, merah muda keunguan dan ungu muda.
- 5) **Golongan senyawa steroid:** digunakan pengembang eluen campuran n-heksana-etil asetat (7:3) (Masroh, 2010) (Halimah, 2010), n-heksana-etil asetat (8:2) dan (6:4) (Reveny, 2011), kloroform-metanol (3:7) (Gunawan, *et al.*, 2008), noda kemudian disemprot reagen Liebermann Burchard akan terbentuk noda berwarna hijau terang, hijau kekuningan, hijau kecoklatan,

hijau kebiruan, hijau kehitaman, dan ungu yang tengahnya berwarna hijau kebiruan.

- 6) **Golongan senyawa saponin:** digunakan pengembang eluen campuran kloroform-metanol-air (13:7:2) (Harborne, 1987; Suharto, *et al.*, 2011), kloroform-metanol-air (64:50:10) (Wonohodi, *et al.*, 2006), kloroform-metanol (95:5) (Widriyanti, *et al.*, 2005) dengan penampak noda Lieberman Buchard kemudian dipanaskan pada suhu 110 °C selama 10 menit, menghasilkan noda yang berwarna biru dan hijau. Selain itu digunakan eluen campuran kloroform-metanol-air (20:60:10) (Kristianingsih, 2005; Halimah, 2010), , kloroform-metanol-air (3:1:0,1) (Rahayu dan Hastuti, 2009), dengan penampak noda H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 50 % diikuti dengan pengeringan selama 15 menit pada suhu kamar dan dipanaskan pada suhu 105 °C selama 3 menit dalam oven, akan menimbulkan noda yang berwarna ungu-ungu gelap.

### 3.6 Analisis Data (Finney, 1952)

Data yang diperoleh dibuat dalam bentuk tabel dan grafik, kemudian dideskripsikan hasilnya. Tingkat sitotoksik larva udang *Artemia salina* L. dapat diketahui dengan melakukan uji LC<sub>50</sub> menggunakan analisis probit pada program MINITAB 14 dengan tingkat kepercayaan 95 % untuk masing-masing konsentrasi. Perhitungan ini dapat juga dilakukan dengan membandingkan antara larva yang mati terhadap jumlah larva keseluruhan, sehingga diperoleh persen kematian. Kemudian dilihat dalam table nilai probit. Nilai probit versus log

konsentrasi yang diketahui kemudian dimasukkan dalam persamaan regresi. Nilai  $LC_{50}$  dihitung berdasarkan persamaan regresi linier yang diperoleh. Persamaan Regresi Linier adalah :

$$y = a + bx$$

$$LC_{50} = \text{antilog } x$$

Keterangan :  $x$  = Log Konsentrasi,  
 $y$  = Nilai probit,  
 $a$  = *Intercept* (garis potong),  
 $b$  = *Slope* (kemiringan dari garis regresi linier)

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  $R_f$ .

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Uji Taksonomi

Hasil uji taksonomi tanaman Rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) yang diperoleh dari Desa Gamoh Kabupaten Pasuruan ditunjukkan pada Lampiran 10. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa sampel yang diperoleh benar-benar menunjukkan berasal dari tanaman Rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) berdasarkan ciri-ciri daun-daunnya bertangkai jelas, lancet bergaris, berurat melintang, terdapat bulu halus (Heyne, 1987). Serta diperkuat dengan klasifikasi menurut buku *Flora of Java* karangan C.A Backer dan R.C Bakhuizen van den Brink jr., volume II tahun 1968 dan *An Integrated System of Classification of Flowering Plants* karangan Arthur Cronquist tahun 1981, halaman XVIII.



Gambar 4.1 Daun Rumput bambu hasil uji taksonomi

## 4.2 Analisis Kadar Air

Pengukuran kadar air sampel sangat diperlukan sebagai tahap awal dalam penelitian bahan alam. Keberadaan air dalam bahan dapat mengganggu proses ekstraksi yang akhirnya berakibat pada hasil ekstraksi. Jika kadar air terlalu tinggi maka jamur akan mudah tumbuh dan menghalangi masuknya pelarut kedalam sampel. Selain itu, bila jamur yang tumbuh merupakan jamur penghasil mikotoksin (racun), yang sangat berbahaya bagi kesehatan manusia. Hal ini juga menyebabkan data yang tidak akurat pada uji bioaktivitas karena kematian larva udang bukan disebabkan oleh ekstrak melainkan racun yang dihasilkan oleh jamur tersebut.

Perbedaan antara berat sebelum dan sesudah dipanaskan adalah kadar air. Sampel dipanaskan dalam oven pada suhu 100-105 °C selama 1 jam untuk menguapkan air yang terkandung didalamnya, kemudian ditimbang. Proses tersebut diulangi hingga diperoleh berat konstan. Kadar air dari daun Rumput bambu basah adalah 78,94 %. Kadar air yang lebih besar dari 10 % pada sampel segar menunjukkan bahwa perlu dilakukan proses pengeringan. Daun Rumput bambu dikeringanginkan di bawah sinar matahari secara tidak langsung agar senyawa aktif yang terdapat di dalamnya tidak rusak oleh sinar matahari langsung. Pengeringan tersebut bertujuan untuk menurunkan kadar air, menjamin agar kualitasnya tetap baik sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama dan mempermudah pembuatan serbuk.

Pengeringan dihentikan apabila kadar air yang terkandung dalam simplisia kurang dari 10 % karena reaksi enzimatik yang dapat menguraikan senyawa aktif

sudah tidak berlangsung (Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia, 1985). Teknik yang digunakan untuk mengetahui kapan proses pengeringan dihentikan, yaitu dengan membengkokkan daun Rumput bambu sampai patah atau mudah patah. Jika kadar air dalam daun tinggi, maka daun akan lembab dan tidak mudah dipatahkan. Daun Rumput bambu yang sudah kering dijadikan serbuk dengan cara diblender kemudian dianalisis kadar airnya. Kandungan air pada sampel daun Rumput bambu setelah dikeringkan sebesar 8,28 %. Analisis kadar air pada sampel kering yang telah diserbukkan ini bertujuan untuk mengetahui kadar air pada sampel kering yang akan digunakan pada proses ekstraksi. Semakin rendah nilai kadar air bahan maka akan semakin memudahkan pelarut untuk mengekstrak komponen senyawa aktif yang diinginkan (Nurmillah, 2009). Kandungan air sampel kering telah memenuhi aturan Ditjen POM (1985) sehingga untuk analisis dalam penelitian ini digunakan sampel kering daun Rumput bambu.

#### **4.3 Preparasi Sampel**

Preparasi sampel merupakan suatu tahapan dalam analisis bahan alam yang terdiri dari proses pencucian, pengeringan dan penyerbukan sampel. Pencucian sendiri bertujuan untuk menghilangkan kotoran yang berupa tanah yang menempel di daun rumput bambu. Pengeringan dilakukan untuk mengurangi kandungan air, sehingga dapat meminimalkan kerusakan akibat degradasi oleh mikroorganisme/tumbuhnya jamur, sampel akan dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama, dan agar rendemen ekstrak yang diperoleh semakin banyak

(Baraja, 2008). Pengeringan dilakukan dengan cara diangin-anginkan sebab daun rumput bambu mudah kering. Tidak digunakannya oven dalam pengeringan agar senyawa aktif yang diduga memiliki titik didih rendah tidak akan cepat menguap.

Daun Rumput bambu kering diserbukkan menggunakan blender kemudian diayak kemudian dijadikan serbuk ayakan 60 mesh. Tujuan dari pengayakan adalah untuk menyeragamkan ukuran serbuk, mempermudah proses absorpsi pelarut oleh seluruh bagian sel terutama dinding sel sebab dinding sel mulai terbuka pada ukuran serbuk 60 mesh sehingga meminimalkan penguapan zat ekstraktif selama proses ekstraksi (Dewi, 2007). Serbuk yang diperoleh dengan cara penghalusan yang tinggi memungkinkan sel-sel sampel yang rusak akan semakin besar dan parah, sehingga akan dapat memudahkan pengambilan senyawa aktif dari dalam serbuk sampel oleh pelarutnya (Octavia, 2009).

#### **4.4 Ekstraksi dengan Metode Maserasi**

Prinsip metode ekstraksi dengan maserasi ini adalah salah satu metode ekstraksi zat aktif yang dilakukan dengan cara merendam serbuk sampel ke dalam pelarut yang sesuai selama beberapa hari. Penyimpanannya ditempatkan pada temperatur kamar terlindung cahaya. Hal ini dilakukan untuk mencegah terjadinya degradasi komponen-komponen senyawa kimia yang terkandung dalam serbuk sampel yang tidak tahan terhadap cahaya langsung (Ansel, 1989).

Serbuk daun Rumput bambu yang dipersiapkan untuk maserasi adalah seberat 60,112 gram. Perlakuan dibagi menjadi dua masing-masing  $\pm$  30 gram. Tujuan dari pembagian serbuk adalah untuk meningkatkan efisiensi proses

maserasi sehingga ekstraksi komponen senyawa kimia dalam pelarut menjadi maksimal. Maserasi dilakukan dengan merendam serbuk sampel di dalam pelarutnya selama 24 jam. Perbandingan antara serbuk halus sampel dengan pelarut adalah 1:5 (30:150), hal ini dikarenakan proses maserasi akan berlangsung secara maksimal menggunakan perbandingan tersebut (Chusna, 2013). Dalam penelitian ini digunakan tiga variasi pelarut yang berbeda kepolaran, yaitu n-heksana, kloroform, dan etanol. Ketiga pelarut tersebut dipilih untuk mewakili tingkat kepolaran pelarut yang berbeda, yaitu nonpolar (n-heksana), semipolar (kloroform) dan polar (etanol 80 %). Harborne (1987) menyatakan bahwa prinsip kelarutan adalah “*like dissolves like*”, artinya pelarut non polar (n-heksana) akan dapat melarutkan komponen senyawa yang non polar, pelarut semi polar (kloroform) akan melarutkan komponen senyawa yang semi polar, dan pelarut polar (etanol) akan melarutkan komponen senyawa yang polar. Selain itu titik didih dari ketiga pelarut tersebut juga tidak terlalu tinggi sehingga dapat mempercepat pemekatan ekstrak.

Kemudian dilakukan pengadukan dengan bantuan *shaker* selama 3 jam untuk mempercepat dan memaksimalkan hasil ekstraksi proses pelarut mengekstrak sampelnya karena pengadukan dapat dilakukan dengan kecepatan yang konstan. Pengadukan dengan *shaker* bertujuan untuk meratakan konsentrasi larutan di luar butir serbuk simplisia, sehingga dengan pengadukan tersebut tetap terjaga adanya derajat perbedaan konsentrasi yang sekecil-kecinya antara larutan di dalam sel dengan larutan di luar sel (Baraja, 2008). Pengadukan menggunakan laju konstan (130 rpm) sebab pada kecepatan tersebut semua serbuk tergojog

sempurna sehingga dapat diasumsikan sebagai putaran yang optimum (Panjaitan, 2011).

Tahap selanjutnya yaitu penyaringan sampel untuk memisahkan filtrat dengan ampas menggunakan corong *Buchner*. Tujuan menggunakan corong *Buchner* untuk memaksimalkan proses pemisahan filtrat dan ampas karena alat ini menggunakan pompa vakum sehingga tekanan di dalam erlenmeyer penampung filtrat akan lebih kecil dari tekanan di luar. Ampas kemudian dikeringanginkan sampai kering tujuannya menguapkan pelarut yang masih tersisa dalam ampas agar tidak mengganggu proses ekstraksi dengan pelarut berikutnya.

Proses maserasi yang pertama dilakukan dengan merendam sampel yang telah dibagi menjadi 2 bagian, masing-masing  $\pm 30$  gram di dalam pelarut n-heksana dan didiamkan selama 24 jam. Kemudian di *shaker* selama  $\pm 3$  jam untuk memaksimalkan proses maserasi. Sampel yang direndam kemudian disaring menggunakan corong *Buchner*. Hasil penyaringan berupa filtrat dan ampas. Ampas kemudian dimaserasi kembali dengan pelarut yang sama dan proses ini diulangi sebanyak 3 kali sehingga pelarut n-heksana yang digunakan sebanyak 1200 mL. Filtrat yang didapatkan berwarna hijau tua pekat menjadi hijau tua. Ampas hasil penyaringan dikeringanginkan pada suhu ruang untuk menguapkan pelarut n-heksana.

Ampas yang telah kering dimaserasi kembali dengan pelarut kloroform sebanyak 300 ml, masing-masing erlenmeyer memerlukan 150 mL pelarut kloroform dan didiamkan selama 24 jam dengan di *shaker* selama 3 jam untuk mencampurkan pelarut dengan serbuk sampel. Kemudian disaring dengan

menggunakan corong *buchner* dan ampas yang diperoleh dimaserasi kembali dengan pelarut yang sama, proses ini dilakukan kembali sehingga didapatkan 4 kali pengulangan. Warna filtrat dari maserasi pertama hingga keempat berbeda, untuk maserasi pertama berwarna hijau kehitaman dan untuk maserasi keempat berwarna hijau, jumlah total pelarut kloroform yang dibutuhkan adalah 1200 mL. Ampas yang didapatkan kemudian dikeringkan pada suhu ruang untuk menguapkan sisa pelarut kloroform.

Maserasi berikutnya menggunakan pelarut etanol 80 %, dimana diperlukan 300 mL pelarut etanol 80% untuk kedua sampel yang dibagi menjadi dua dan di *shaker* selama 3 jam kemudian didiamkan selama 24 jam. Selanjutnya dilakukan penyaringan dengan corong *buchner* dan ampasnya kemudian dimaserasi kembali dengan pelarut yang sama. Proses ini diulangi sebanyak 3 kali. Warna filtrat dari maserasi pertama hingga ketiga berbeda. Maserasi pertama berwarna coklat tua dan coklat untuk maserasi ketiga. Sehingga jumlah pelarut etanol 80 % yang dibutuhkan untuk maserasi sebanyak 900 mL. Ampas hasil maserasi kemudian dikeringkan, ketiga filtrat kemudian dijadikan satu.

Filtrat hasil ekstraksi masing-masing ekstrak dicampurkan sesuai pelarutnya. Ketiga filtrat dari masing-masing pelarut kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator vacuum*. Prinsip dari *rotary evaporator vacuum* yaitu proses pemisahan ekstrak dari cairan penjarinya (pelarut) dengan pemanasan yang dipercepat oleh putaran dari labu alas bulat, cairan penjarinya dapat menguap pada suhu 5-10 °C dibawah titik didih pelarutnya karena adanya penurunan tekanan. Sehingga dengan bantuan pompa vakum akan dapat menyebabkan uap larutan

penyari akan menguap naik ke kondensor dan mengalami kondensasi menjadi molekul-molekul cairan pelarut murni yang ditampung dalam labu alas bulat penampung (Sudjaji, 1988).

Proses *rotary* dihentikan apabila sudah tidak ada pelarut yang menetes lagi dalam labu alas penampung yang diasumsikan bahwa pelarut sudah tidak ada dalam ekstrak. Hasil *rotary* adalah berupa ekstrak pekat pada masing-masing pelarut, ekstrak pekat tersebut kemudian dihitung rendemen ekstrak masing-masing pelarut. Hasil ekstraksi untuk ketiga pelarut disajikan dalam Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil maserasi sampel serbuk daun Rumpun bambu (Lampiran 9)

Pelarut	Volume (mL)	Warna Filtrat	Warna Ekstrak pekat	Rendemen (%) (b/b)
N-heksana	1200 mL	Hijau tua pekat	Hijau tua	2,30 %
Kloroform	1200 mL	Hijau kehitaman	Hijau	2,63 %
Etanol 80 %	900 mL	Coklat tua	Coklat	6,35 %

Berdasarkan Tabel 4.1 Hasil rendemen ekstrak pekat etanol paling besar dari pada ekstrak kloroform dan n-heksana. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan senyawa-senyawa polar yang terdapat dalam daun Rumpun bambu lebih besar dari pada senyawa-senyawa semi polar dan non polar. Selain itu ditinjau dari sifat dari etanol adalah pelarut universal sehingga dapat mengekstrak kebanyakan senyawa-senyawa metabolit sekunder pada tanaman yang terikat pada glikosidanya. Hasil penelitian ini sama seperti hasil maserasi dari sampel buah Pare pada penelitian Rita, dkk. (2008) menggunakan pelarut berturut-turut yaitu n-heksana, kloroform dan etanol menghasilkan rendemen berturut-turut sebesar 0,00462 % (b/b), 0,01168 % (b/b), dan 0,026 % (b/b). Selanjutnya ketiga ekstrak

yang diperoleh dilakukan uji toksisitas terhadap *Artemia salina* L. melalui metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*).

#### 4.5 Uji Sitotoksik terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach

Metode yang digunakan untuk mengetahui potensi efek sitotoksik dalam penelitian ini adalah *Brine Shrimp Lethality Test* (BST). Kelebihan metode ini adalah cukup praktis, murah, sederhana, cepat, tetapi tidak mengesampingkan kekuatannya untuk skrining awal tanaman berpotensi antikanker dengan menggunakan hewan uji larva artemia (*Artemia salina* Leach). Prinsip metode ini adalah uji toksisitas akut terhadap artemia dengan penentuan nilai LC<sub>50</sub> setelah perlakuan 24 jam (Meyer, *et al.*, 1982 dalam Panjaitan, 2011).

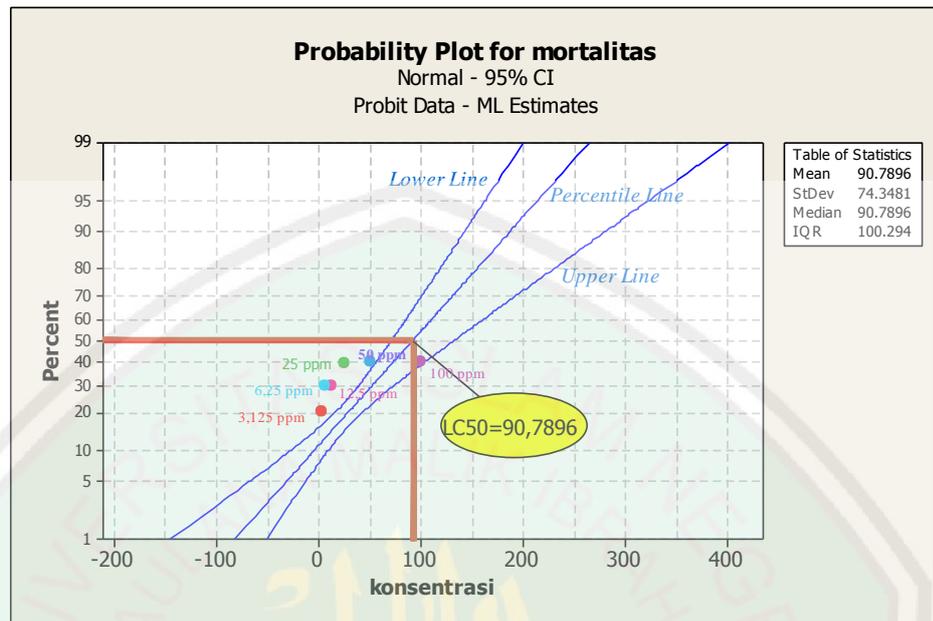
Larva *Artemia* digunakan sebagai hewan uji karena memiliki kesamaan tanggapan dengan mamalia, misal tipe DNA-dependent RNA polymerase artemia serupa dengan yang terdapat pada mamalia dan organisme yang memiliki ouabaine-sensitive Na<sup>+</sup> dan K<sup>+</sup> dependent ATPase, sehingga senyawa maupun ekstrak yang memiliki aktivitas pada sistem tersebut dapat terdeteksi. Jika suatu senyawa bekerja mengganggu kerja salah satu enzim ini pada *Artemia* dan menyebabkan kematian artemia, senyawa tersebut bersifat toksik dan menyebabkan kematian sel mamalia (Solis, *et al.*, 1993).

Metode BSLT tidak spesifik untuk pengujian antikanker, namun metode ini dapat memonitor kemungkinan adanya efek sitotoksik dengan waktu yang lebih cepat dan biaya penelitian yang lebih sedikit dibandingkan dengan pengujian sitotoksitas dengan biakan sel kanker. Senyawa yang bersifat toksik yang belum

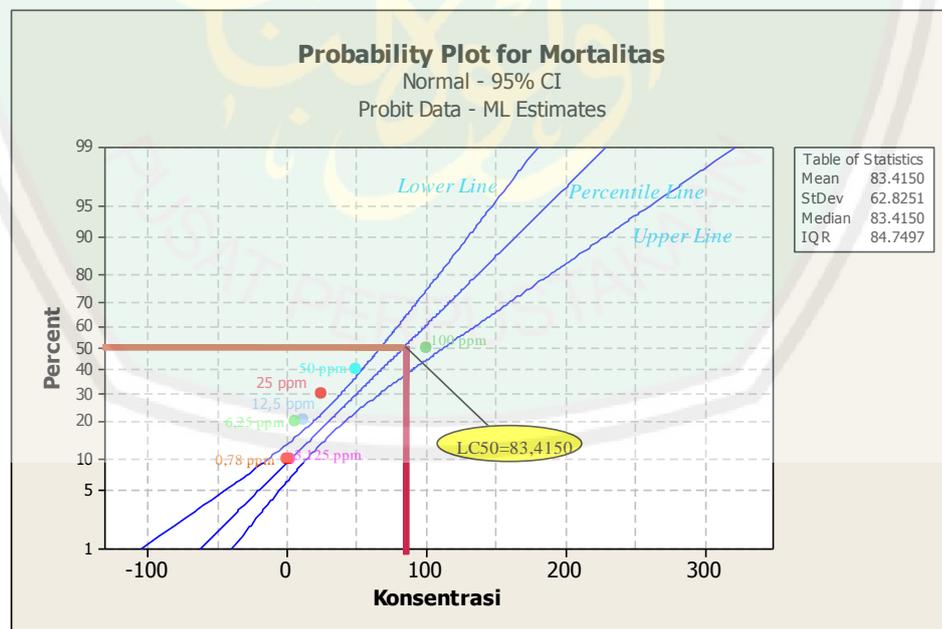
tentu bersifat sitotoksik, sehingga perlu diadakan penelitian sebagai skrining awal penentuan ketoksikan suatu ekstrak alam. Maka diharapkan hasil uji sitotoksisitas dengan menggunakan uji BSLT bisa digunakan sebagai skrining awal penentuan senyawa yang memiliki efek sitotoksik (Meyer, *et al.*, 1982 dalam Panjaitan, 2011).

Pada metode BSLT hewan uji yang digunakan berupa larva *Artemia salina* Leach dimana larva yang dipilih ialah larva yang telah menetas saat direndam didalam air laut bersuhu 25 °C selama 46 jam (fase *nauplius*). Sebab pada fase itu *Artemia* dalam masa aktif membelah secara mitosis yang identik dengan perkembangan sel kanker yang juga membelah secara mitosis (Ropiqa, 2009). Selain itu, larva harus berumur 36 jam dan berwarna kemerahan karena masih banyak mengandung makanan cadangan sehingga pada saat uji larva tidak mati karena faktor kelaparan melainkan benar-benar karena ekstrak.

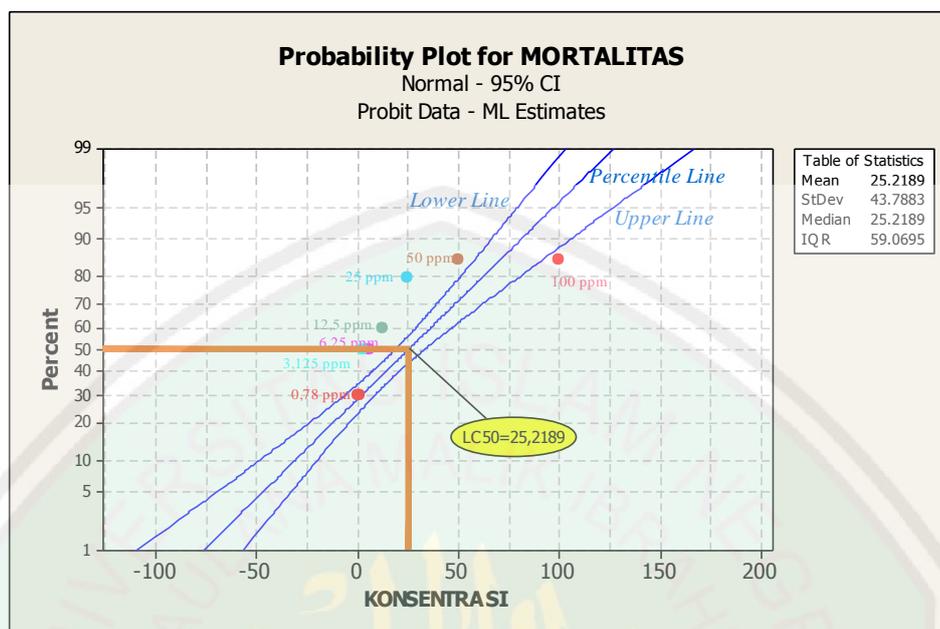
Penelitian ini, digunakan 3 kontrol, yaitu kontrol air laut, kontrol media (DMSO tanpa ekstrak) dan kontrol pelarut (pelarut masing-masing ekstrak), untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh air laut, penggunaan DMSO, serta pelarut yang digunakan untuk melarutkan ekstrak (pembuatan larutan konsentrasi) yang diduga masih ada meski sudah dikeringkan selama 24 jam pada saat pada saat pembuatan larutan konsentrasi. Hasil pengujian ekstrak daun rumput bambu dengan metode BSLT dari masing-masing ekstrak n-heksana, kloroform, dan etanol 80% ditunjukkan pada Gambar 4.2, 4.3, dan 4.4



Gambar 4.2 Kurva mortalitas larva udang *Artemia salina* L ekstrak kasar n-heksana dengan  $LC_{50} = 90,7896$  ppm.



Gambar 4.3 Kurva mortalitas larva udang *Artemia salina* L. ekstrak kloroform dengan  $LC_{50} = 83,4150$  ppm



Gambar 4.4 Kurva mortalitas larva udang *Artemia salina* L. ekstrak etanol 80% dengan  $LC_{50} = 25,2189$  ppm.

Kurva mortalitas yang menunjukkan kurva presentasi mortalitas ekstrak (sumbu Y) dan konsentrasi larutan uji dalam ppm (sumbu X). Ketiga kurva masing-masing terdapat tiga garis. Garis sebelah kiri merupakan garis *lower* yang menunjukkan batas bawah konsentrasi pada setiap persentase mortalitas. Garis yang berada ditengah merupakan garis *percentile* yang menunjukkan konsentrasi setiap persentase mortalitas. *Percentile line* disebut juga garis normal karena menunjukkan ada tidaknya hubungan linear antara konsentrasi dan persen mortalitas. Sementara garis sebelah kanan adalah garis *upper* yang menunjukkan batas atas konsentrasi pada setiap persentase mortalitas. Dari kurva mortalitas menunjukkan bahwa mortalitas masing-masing konsentrasi tidak selalu berada dalam garis *percentile*. Apabila data yang diperoleh berada disebelah kiri garis *lower* maka konsentrasi tersebut terlalu rendah untuk menyebabkan kematian pada

persentase tersebut. Apabila data yang diperoleh berada disebelah kanan garis *upper* maka konsentrasi tersebut terlalu tinggi untuk menyebabkan kematian pada persentase tersebut. Hasil analisis data yang memberikan *range* konsentrasi mortalitas dengan adanya garis *lower* dan *upper* sehingga konsentrasi yang berada diantara garis tersebut adalah kemungkinan yang mampu menyebabkan kematian larva udang *Artemia salina* L. (Habibah, 2012). Data perhitungan diperoleh dengan menggunakan program Minitab 16 dengan tingkat kesalahan ( $\alpha$ ) = 0,05.

Kurva mortalitas, menunjukkan bahwa dari 8 konsentrasi yang digunakan, yaitu 0,78 ppm; 1,56 ppm, 3,125 ppm; 6,25 ppm; 12,5 ppm; 25 ppm; 50 ppm dan 100 ppm, hanya beberapa titik konsentrasi yang muncul karena data yang diinput dalam program Minitab 16 diharapkan memiliki hubungan regresi linear, dimana data dikatakan linear jika terjadi peningkatan konsentrasi diiringi peningkatan persen mortalitasnya. Pada konsentrasi 0 ppm tidak terdapat larva yang mati dan dengan bertambahnya konsentrasi, jumlah larva yang mati juga meningkat. Pada ketiga, yaitu kontrol air laut, penambahan DMSO maupun pelarut masing-masing ekstrak (Lampiran 6) tidak ada yang menyebabkan kematian larva *Artemia*, sehingga dapat diartikan bahwa penambahan ketiga kontrol dalam ekstrak tidak akan mempengaruhi kematian pada larva *Artemia*. Hal ini menunjukkan bahwa kematian larva benar-benar karena penambahan ekstrak.

Berdasarkan kurva mortalitas masing-masing pelarut, hasil penentuan nilai  $LC_{50}$  menggunakan program Minitab 16 sebagaimana pada Tabel 4.2

Tabel 4.2 Nilai LC<sub>50</sub> masing-masing ekstrak daun Rumpun bambu

Ekstrak pelarut	Nilai LC <sub>50</sub> (ppm)
N-heksana	90,7896
Kloroform	83,4150
Etanol 80%	25,2189

Tabel 4.2 menunjukkan bahwa nilai LC<sub>50</sub> ekstrak kasar daun Rumpun bambu dengan menggunakan pelarut etanol 80 % paling kecil jika dibandingkan dengan ekstrak kasar dengan pelarut kloroform maupun n-heksana. Rendahnya nilai LC<sub>50</sub> ini diduga karena sifat antagonis dari senyawa aktif yang terdapat dalam pelarut n-heksana maupun kloroform yang menyebabkan ekstrak bersifat kurang toksik bila dibandingkan ekstrak etanol 80 %. Hal ini didukung oleh hasil uji kandungan golongan senyawa aktif pada Tabel 4.3 yang menjelaskan bahwa senyawa alkaloid, tanin dan triterpenoid yang terkandung di dalam ekstrak etanol 80 % bekerja secara sinergis sehingga ketoksikannya paling tinggi untuk mematikan 50 % larva udang *Artemia salina* Leach. Meskipun demikian, nilai LC<sub>50</sub> ekstrak kasar setiap pelarut masih tergolong memiliki aktifitas biologi senyawa kimia ekstrak yang ditetapkan oleh Meyer, yaitu 1000 µg/mL.

Mekanisme kematian larva berhubungan dengan fungsi senyawa alkaloid, triterpenoid, saponin dan flavonoid dalam buah pare yang dapat menghambat daya makan larva (antifedant). Cara kerja senyawa-senyawa tersebut adalah dengan bertindak sebagai stomach poisoning atau racun perut. Oleh karena itu, bila senyawa-senyawa ini masuk ke dalam tubuh larva, alat pencernaannya akan terganggu. Selain itu, senyawa ini menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva. Hal ini mengakibatkan larva gagal mendapatkan stimulus rasa sehingga tidak mampu mengenali makanannya dan larva mati kelaparan (Rita, 2008).

BSLT juga diketahui merupakan suatu metode penapisan untuk penyarian senyawa antikanker dari tanaman. Semakin tinggi tingkat sitotoksitas metabolit sekunder tanaman secara BSLT yang dilihat dari nilai  $LC_{50}$  yang semakin kecil, maka semakin potensial tanaman tersebut untuk digunakan dalam pengobatan antikanker. Artinya, dari ketiga ekstrak yang diuji memiliki potensi sebagai antikanker, namun ekstrak etanol 80% memiliki ketoksikan paling tinggi terhadap *Artemia salina* (ditunjukkan dengan nilai  $LC_{50}$  paling rendah) .

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

Uji reagen dilakukan untuk mengetahui kandungan golongan senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak daun Rumput bambu. Golongan senyawa kimia yang memiliki manfaat sebagai obat yang berasal dari tumbuhan adalah hasil dari metabolit sekunder yang berupa flavonoid, alkaloid, steroid dan triterpenoid, saponin, tanin dan lain-lainnya. Senyawa ini diantaranya sebagai pelindung terhadap serangan atau gangguan yang ada di sekitarnya dan sebagai antibiotika (Tamin dan Arbain, 1995 dalam Atmoko dan Ma'ruf, 2009). Metabolit sekunder juga dapat berfungsi sebagai antiinflamasi (Fitriyani, *et al.*, 2011), selain itu berfungsi sebagai antipiterik, antibakteri, dan antitumor (Jing, *et al.*, 2009).

Uji reagen dilakukan pada semua ekstrak, yaitu ekstrak n-heksana, kloroform, dan etanol 80 %. Karena berdasarkan nilai  $LC_{50}$  dari uji BSLT ketiga ekstrak tersebut diduga memiliki aktifitas biologi atau bioaktivitas. Sehingga uji reagen dilakukan terhadap semua ekstrak untuk mengetahui golongan senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak daun Rumput bambu. Akan tetapi, untuk uji

lanjutan, yaitu golongan senyawa aktif dengan KLT hanya akan dilakukan pada ekstrak yang memiliki nilai  $LC_{50}$  terendah.

Uji reagen dilakukan dengan melarutkan masing-masing ekstrak dalam sedikit pelarutnya. Hasil dari identifikasi kandungan golongan senyawa aktif yang terdapat pada ketiga ekstrak daun Rumput bambu ditunjukkan dalam Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Hasil uji kandungan golongan senyawa aktif ekstrak daun Rumput bambu

Golongan senyawa aktif	Ekstrak			Keterangan Hasil Positif
	N-heksana	Kloroform	Etanol 80%	
Alkaloid				
- Mayer	-	-	-	-
- Dragendorf	-	-	+++	Oranye, endapan bata
Flavonoid	-	-	-	-
Tanin				
- FeCl	-	-	+++	Hijau kehitaman
- Gelatin	-	-	-	-
Saponin	-	-	-	-
Triterpenoid	-	-	++	Cincin kecoklatan, warna coklat
Steroid	+++	+++	-	Hijau kebiruan

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

Berdasarkan hasil pengamatan uji reagen, diketahui bahwa ekstrak n-heksana dan kloroform mengandung senyawa steroid dengan membentuk warna hijau kebiruan. Senyawa triterpenoid memberikan reaksi dengan terbentuknya cincin kecoklatan ketika senyawa ini ditetesi asam sulfat pekat melalui dinding tabung reaksi, sedangkan senyawa steroid memberikan reaksi dengan menghasilkan warna hijau kebiruan (Robinson, 1995). Ekstrak etanol 80 % positif mengandung alkaloid berdasarkan uji Dragendorf dengan terbentuknya warna oranye dan terbentuk endapan jingga. Hasil positif untuk uji alkaloid dengan

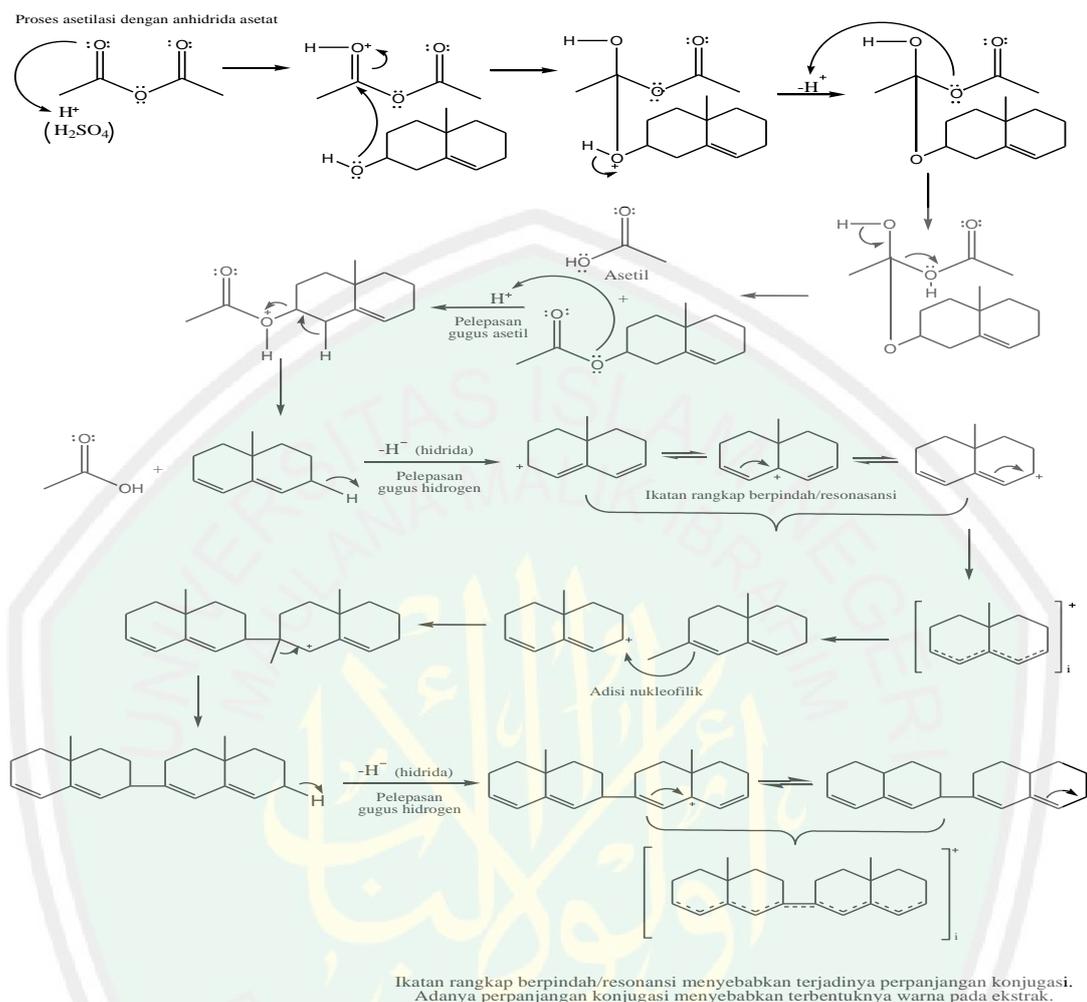
pereaksi Dragendorff ditandai dengan terbentuknya endapan jingga sampai merah coklat (Indrayani, 2006). Selain itu ekstrak etanol 80 % juga mengandung tanin hal ini didasarkan pada pembentukan warna hijau kehitaman saat direaksikan dengan  $\text{FeCl}_3$  yang menandakan positif tanin katekol (Indrayani, 2006). Golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol 80 % selain alkaloid dan tanin adalah triterpenoid dengan terbentuknya cincin kecoklatan diantara 2 pelarut.

#### 4.6.1 Steroid dan Triterpenoid

Steroid merupakan senyawa metabolit sekunder golongan terpenoid, tersusun dari isopren-isopren rantai panjang hidrokarbon yang menyebabkan steroid bersifat nonpolar (Robinson, 1995). Namun, kebanyakan juga senyawaan steroid mengandung gugus  $-\text{OH}$  yang sering disebut sterol, sehingga dengan adanya substituen gugus hidroksil yang terikat pada rantai hidrokarbon menyebabkan senyawaan ini bersifat semipolar. Sifat semipolar menyebabkan senyawaan steroid mudah terekstrak dalam pelarut kloroform yang bersifat semipolar. Kolesterol merupakan salah satu jenis steroid. Kolesterol dapat larut dalam pelarut lemak, misalnya eter, kloroform, benzene dan alkohol panas (Poedjadi dan Supriyanti, 2007). Selain itu Harborne (1987) menjelaskan bahwa banyak juga senyawaan steroid yg terkandung dalam tumbuhan dalam bentuk bebas dan sebagai glukosa sederhana, seperti fitosterol, sitosterol, stigmasterol, dan kampasterol yang dapat larut dalam pelarut eter, kloroform dan alkohol. Hal ini yang menyebabkan pada uji reagen dengan menggunakan ekstrak n-heksana dan kloroform positif mengandung senyawa steroid.

Adanya senyawa triterpenoid yang memiliki gugus  $-OH$  menyebabkan sifatnya menjadi polar sehingga dapat terekstrak ke dalam pelarut yang bersifat polar seperti etanol. Harborne (1987) menjelaskan bahwa senyawa triterpenoid dapat terekstrak dalam pelarut methanol panas. Metanol bersifat polar memiliki konstanta dielektrikum 33,6 sedangkan etanol juga bersifat polar dengan konstanta dielektrikum 24,3 (Sudarmadji, *et al.*, 2003). Berdasarkan pendekatan tingkat kepolaran kedua pelarut ini maka triterpenoid dapat terlarut dalam pelarut etanol.

Perubahan warna pada uji reagen senyawa steroid dan triterpenoid menggunakan reagen Lieberman Burchard dikarenakan senyawa steroid dan triterpenoid yang mengalami dehidrasi dengan penambahan asam kuat sehingga membentuk garam. Sementara tujuan menambahkan kloroform untuk melarutkan steroid sebab steroid dapat larut baik dalam kloroform dan tidak mengandung molekul air. Penambahan anhidrat asetat bertujuan untuk membentuk turunan asetil setelah penambahan kloroform. Jika dalam larutan uji terdapat molekul air maka penambahan anhidrat asetat akan berubah menjadi asam asetat sebelum reaksi berjalan dan turunan asetil tidak akan terbentuk. Penambahan asam sulfat pekat membuat larutan uji steroid menghasilkan warna hijau, sedangkan triterpenoid akan menghasilkan warna hijau kebiruan dan cincin kecoklatan (Robinson, 1995). Dugaan mekanisme reaksi terbentuknya warna pada uji terpenoid dengan pereaksi Lieberman Burchard pada Gambar 4.5



Gambar 4.5 Dugaan mekanisme reaksi pembentukan warna pada uji triterpenoid (Siadi, 2012)

Prinsip reaksi dalam mekanisme reaksi uji triterpenoid yang disajikan Gambar 4.5 adalah kondensasi atau pelepasan  $H_2O$  dan penggabungan dengan karbokation. Reaksi ini diawali dengan proses asetilasi gugus hidroksil menggunakan asam asetat anhidrida. Gugus asetil yang merupakan gugus pergi yang baik akan lepas terbentuk ikatan rangkap. Selanjutnya terjadi pelepasan gugus hidrogen beserta elektronnya, mengakibatkan ikatan rangkap berpindah. Senyawa ini mengalami resonansi yang bertindak sebagai elektrofil atau

karbokation. Serangan karbokation menyebabkan adisi elektrofilik, diikuti pelepasan hidrogen. Kemudian gugus hidrogen beserta elektronnya dilepas. Akibatnya senyawa mengalami perpanjangan konjugasi yang memperlihatkan munculnya warna pada ekstrak (Siadi, 2012).

Penelitian yang telah dilakukan Jing, *et al.*,(2009) terhadap ekstrak etanol 95 % daun rumput bambu (*Lophatherum gracile* B.) dengan menggunakan UV-VIS, FTIR dan NMR menghasilkan 15 senyawaan, termasuk flavonoid dan triterpenoid yang berpotensi sebagai antikanker. Sementara Kusumawati (2003) melakukan penelitian terhadap daun dan akar rumput bambu (*Lophatherum gracile* B.) menghasilkan ekstrak alkohol yang kemudian ekstrak digunakan untuk skrinning fitokimia yang dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis dan menghasilkan senyawaan steroid dan triterpenoid pada bagian akar. Ekstrak yang mengandung senyawaan steroid adalah ekstrak kloroform dan n-heksana. Dimana dari uji sitotoksitas dengan metode BSLT menghasilkan nilai  $LC_{50}$  dalam kategori toksik untuk ekstrak n-heksana sebesar 90,7896 ppm dan ekstrak kloroform sebesar 83,4150. Sehingga dapat diasumsikan ketoksikan kedua ekstrak tersebut dikarenakan adanya senyawaan steroid yang terkandung dalam ekstrak n-heksana dan kloroform. Meski tidak termasuk aktif untuk menghambat sel kanker, namun menurut Fitriyani (2011) senyawaan steroid pada daun sirih merah dapat bermanfaat sebagai antiinflamasi setelah diujikan terhadap hewan uji berupa tikus yang diinduksi karagenin.

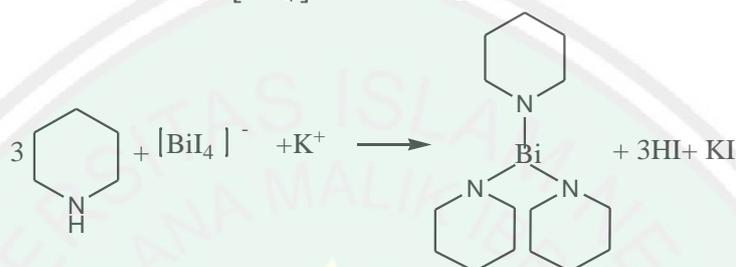
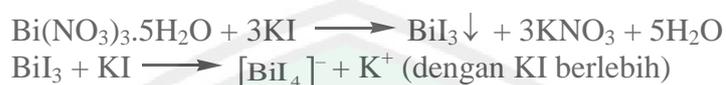
#### 4.6.2 Alkaloid

Uji adanya senyawa alkaloid dengan cara memasukkan sedikit ekstrak sampel pada tabung reaksi, kemudian ditambahkan HCl. Tujuan penambahan HCl adalah karena alkaloid bersifat basa sehingga biasanya diekstrak dengan pelarut yang bersifat asam. Bukti kualitatif untuk menunjukkan adanya alkaloid dapat diperoleh dengan menggunakan reagen Dragendorf dan Mayer. Namun pada uji ekstrak etanol 80 % didapatkan bahwa ekstrak berubah dari warna kuning kehijauan berubah menjadi berwarna oranye dengan endapan jingga setelah diberi peraksi Dragendorf, sementara untuk uji Mayer tidak didapatkan endapan putih, yang mengindikasikan bahwa ekstrak tersebut tidak positif alkaloid pada uji Mayer.

Hasil positif alkaloid pada uji Dragendorf juga ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning. Pada pembuatan pereaksi Dragendorf, bismuth nitrat dilarutkan dalam HCl agar tidak terjadi reaksi hidrolisis karena garam-garam bismut mudah terhidrolisis membentuk ion bismutil ( $\text{BiO}^+$ ). Agar ion  $\text{Bi}^{3+}$  tetap berada dalam larutan, maka larutan itu ditambah asam sehingga kesetimbangan akan bergeser kearah kiri. Selanjutnya ion  $\text{Bi}^{3+}$  dari bismuth nitrat bereaksi dengan kalium iodide membentuk endapan hitam Bismut (III) iodide yang kemudian melarut dalam kalium iodide berlebih membentuk kalium tetraiodobismutat (Svehla, 1990).

Pada uji alkaloid dengan pereaksi Dragendorf, nitrogen digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan  $\text{K}^+$  yang merupakan ion logam. Reaksi pada uji Dragendorf ditunjukkan pada Gambar 4.7 (Miroslav, 1971 dalam

Marliana, *et al.*, 2005). Reaksi dugaan yang terjadi pada uji alkaloid adalah sebagaimana pada reaksi berikut:



Kompleks logam dengan alkaloid  
(endapan jingga)

Gambar 4.6 Reaksi dugaan alkaloid dengan pereaksi Dragendorff (Lutfillah, 2008)

Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol 80 % mengandung senyawa alkaloid karena terbentuk endapan jingga ketika ditambahkan reagen Dragendorff. Endapan terbentuk karena adanya pembentukan kompleks antara logam dari pereaksi yang digunakan dengan senyawa alkaloid. Susilaningih (2009) menjelaskan bahwa hasil isolasi alkaloid dari fraksi n-heksana, etil asetat dan etanol rimpang Lengkuas merah memiliki nilai  $\text{LC}_{50}$  berkisar antara 7,39 – 14,02 ppm yang menunjukkan bahwa ketiga fraksi memiliki aktivitas sebagai antikanker. Sehingga diduga alkaloid dari ekstrak 80 % daun Rumput bambu juga memiliki aktivitas sebagai antikanker ditunjang dengan hasil  $\text{LC}_{50}$  sebesar 25,2189.

#### 4.6.3 Tanin

Uji adanya kandungan tannin dengan cara menambah ekstrak dengan reagen  $\text{FeCl}_3$  1 % hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna hijau

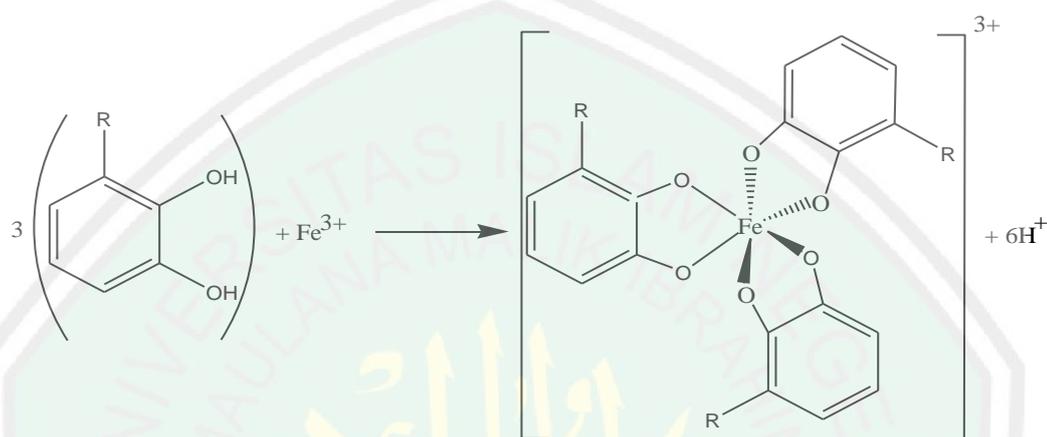
kehitaman atau biru tinta. Uji fitokimia kedua yaitu dengan menambahkan gelatin dalam ekstrak dan hasil positif ditunjukkan dengan adanya endapan putih.

Ekstrak etanol 80 % menghasilkan larutan berwarna hijau tua, akan tetapi dengan gelatin tidak terbentuk endapan putih. Pengujian tanin tidak hanya dengan  $\text{FeCl}_3$  1 % tetapi juga dengan menambahkan larutan gelatin yaitu akan terbentuk endapan putih. Jika tidak terbentuk endapan putih pada pengujian dengan gelatin maka ekstrak etanol 80 % mengandung senyawa polifenol.

Uji fitokimia dengan menggunakan  $\text{FeCl}_3$  digunakan untuk menentukan apakah sampel mengandung gugus fenol. Adanya gugus fenol ditunjukkan dengan warna hijau kehitaman atau biru tua setelah ditambahkan  $\text{FeCl}_3$ . Hasil uji fitokimia  $\text{FeCl}_3$  memberikan hasil positif, sehingga dimungkinkan dalam sampel terdapat senyawa fenol dan dimungkinkan salah satunya adalah tanin karena tanin merupakan senyawa polifenol. Harborne (1987) menyatakan bahwa cara klasik untuk mendeteksi senyawa fenol sederhana yaitu menambahkan ekstrak dengan larutan  $\text{FeCl}_3$  1 % dalam air, yang menimbulkan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam yang kuat. Terbentuknya warna hijau kehitaman atau biru tinta pada ekstrak setelah ditambahkan dengan  $\text{FeCl}_3$  karena tanin akan membentuk senyawa kompleks dengan ion  $\text{Fe}^{3+}$ , seperti pada Gambar 4.8.

Terbentuknya warna hijau kehitaman pada ekstrak ketika ditambahkan dengan larutan  $\text{FeCl}_3$  ini dikarenakan tanin akan membentuk senyawa kompleks dengan logam Fe. Senyawa kompleks terbentuk karena adanya ikatan kovalen koordinasi antara ion/atom logam dengan atom non-logam (Effendy, 2007). Uji tanin dalam penelitian ini menunjukkan hasil positif yang mana larutan ekstrak

ketika ditambahkan dengan larutan  $\text{FeCl}_3$  membentuk warna hijau kehitaman yang menunjukkan adanya senyawa tanin katekol.



Gambar 4.8 Koordinasi geometri oktahedral pada kompleks besi-polifenol (Perronn dan Brumaghim, 2009)

Tanin katekol merupakan tanin polifenol yang memiliki dua gugus OH. Atom O pada gugus OH tersebut bisa bertindak sebagai basa lewis (ligan) yang terkoordinasi pada  $\text{Fe}^{3+}$ . Karena OH lebih dari satu memungkinkan untuk mendonorkan kedua atom O nya pada  $\text{Fe}^{3+}$  sehingga akan terbentuk kompleks sepi/kelat dengan ligan bidentat (Perronn dan Brumaghim, 2009).

Ion logam pusat  $\text{Fe}^{3+}$  akan cenderung stabil dengan bilangan koordinasi 6 (oktahedral). Kecenderungan Fe dalam pembentukan senyawa kompleks dapat mengikat 6 pasang elektron bebas. Ion  $\text{Fe}^{3+}$  dalam pembentukan senyawa kompleks akan terhibridisasi membentuk hibridisasi  $d^2sp^3$ , sehingga akan terisi oleh 6 pasang elektron bebas atom O (Effendy, 2007). Kestabilan dapat tercapai

jika tolakan antara ligan pada 3 tanin minimal. Hal ini terjadi jika 3 tanin tersebut posisinya dijauhkan.

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

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan suatu metode pemisahan suatu senyawa berdasarkan perbedaan distribusi dua fasa yaitu fasa diam (adsorben) dan fasa gerak (eluen). KLT yang digunakan terbuat dari silika gel dengan ukuran 1 cm x 10 cm G<sub>60</sub> F<sub>254</sub> (Merck). Plat KLT silika G<sub>60</sub> F<sub>254</sub> diaktifasi pada suhu 100 °C selama 30 menit untuk menghilangkan air yang terdapat pada plat (Sastrohamidjojo, 1991). KLT analitik digunakan untuk mencari eluen terbaik dari beberapa eluen yang baik dalam pemisahan sanyawa tanin. Eluen yang baik adalah eluen yang bisa memisahkan senyawa dalam jumlah yang banyak ditandai dengan munculnya noda. Noda yang terbentuk tidak berekor dan jarak antara noda yang satu dengan yang lainnya jelas (Gandjar dan Rohman, 2007).

Plat silika G<sub>60</sub>F<sub>254</sub> diamati dibawah sinar UV pada panjang gelombang 366 nm baik sebelum atau sesudah disemprot pereaksi yang sesuai. Munculnya noda pada  $\lambda$  366 nm karena noda terlihat pada UV  $\lambda$  366 nm, sedangkan silika Gel tidak berflourosensi pada lampu UV  $\lambda$  366 nm. Timbulnya warna pada plat disebabkan karena adanya interaksi antara sinar UV dengan gugus kromofor yang terikat pada auksokrom yang ada pada noda. Kromofor merupakan senyawa organik yang memiliki ikatan rangkap terkonjugasi yang dapat menyerap warna sedangkan auksokrom adalah gugus fungsional yang memiliki elektron bebas yang apabila

terikat pada kromofor menyebabkan terjadinya pergeseran panjang gelombang. Fluoresensi cahaya yang nampak merupakan emisi cahaya yang dipancarkan oleh komponen tersebut ketika elektron tereksitasi dari tingkat energi dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi kemudian kembali ke keadaan semula dengan melepaskan energi (Sudjaji, 1988).

Pada penelitian ini, KLTA dilakukan terhadap ekstrak yang memiliki nilai  $LC_{50}$  terbaik ( $LC_{50}$  terkecil) dan memiliki golongan senyawa aktif yang positif pada uji reagen, yakni dilakukan pada ekstrak kasar etanol 80 % daun rumput bambu yang mengandung triterpenoid, alkaloid dan tanin.

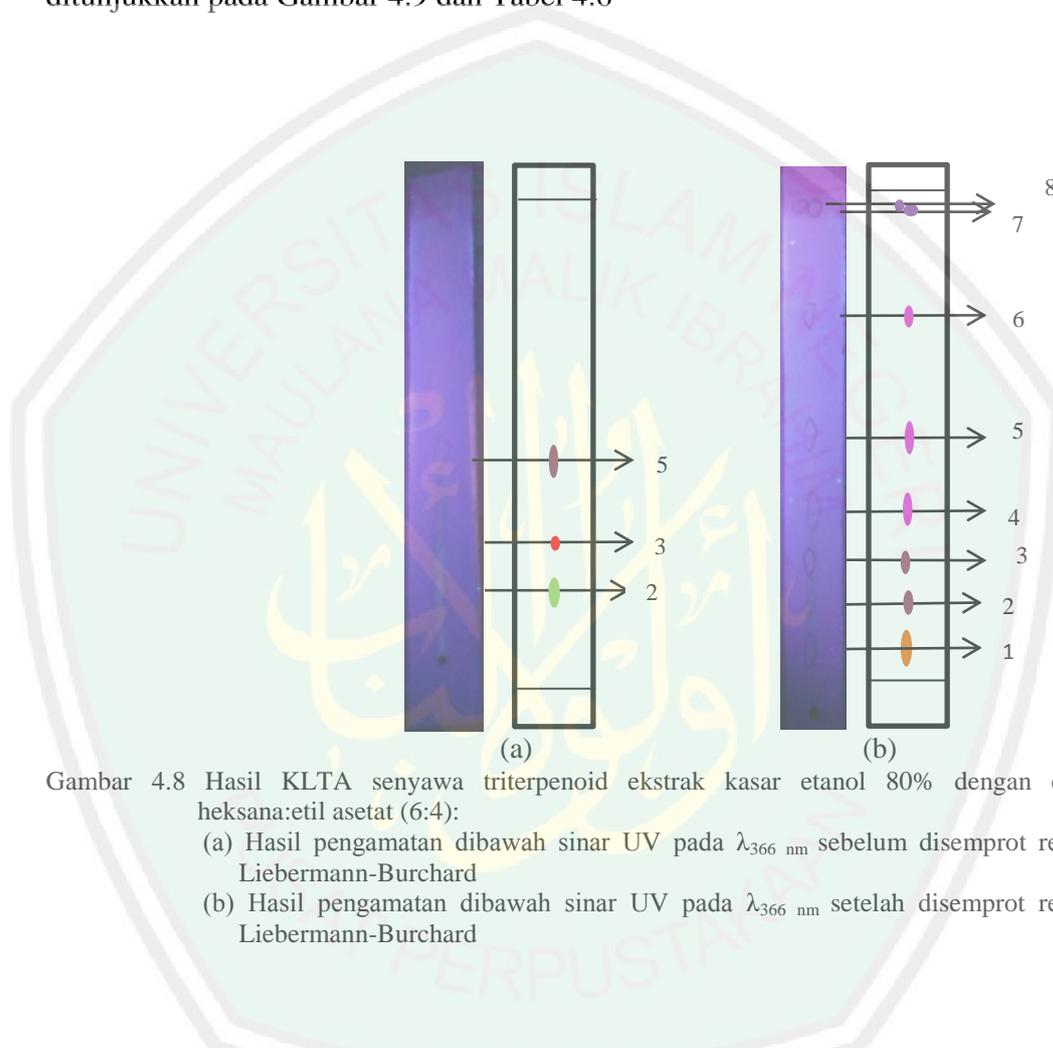
#### 4.7.1 Triterpenoid

Hasil pemisahan golongan senyawa aktif triterpenoid dari ekstrak kasar etanol 80 % daun rumput bambu dengan menggunakan 5 variasi eluen, ditunjukkan dalam Tabel 4.5

Tabel 4.4 Data penampakan noda senyawa triterpenoid dari hasil KLTA ekstrak etanol 80 % daun Rumput bambu pada beberapa variasi eluen dengan lampu UV 366 nm

No.	Fase Gerak	Jumlah noda dengan pendeteksi Lieberman Burchard	Keterangan	Nilai Rf
1.	heksana:etil asetat (1:1)	3	terpisah	0,07;0,15;0,98
2.	<b>heksana:etil asetat (6:4)</b>	<b>8</b>	<b>Terpisah baik</b>	<b>0,13;0,21;0,29;0,39;0,54;0,76;0,96;0,98</b>
3.	heksana:kloroform (1:1)	4	Terpisah	0,09;0,21;0,46;0,58
4.	benzena:kloroform (3:7)	5	Terpisah	0,08;0,2;0,35;0,42;0,53
5.	heksana:etil asetat (8:2)	5	Terpisah	0,21;0,34;0,45;0,77;0,95

Tabel 4.5 menunjukkan bahwa eluen terbaik untuk pemisahan triterpenoid dari hasil KLTA pemisahan yang baik adalah eluen heksana:etil asetat (6:4) ditunjukkan pada Gambar 4.9 dan Tabel 4.6



Gambar 4.8 Hasil KLTA senyawa triterpenoid ekstrak kasar etanol 80% dengan eluen heksana:etil asetat (6:4):  
 (a) Hasil pengamatan dibawah sinar UV pada  $\lambda_{366}$  nm sebelum disemprot reagen Liebermann-Burchard  
 (b) Hasil pengamatan dibawah sinar UV pada  $\lambda_{366}$  nm setelah disemprot reagen Liebermann-Burchard

Tabel 4.5 Hasil KLTA senyawa triterpenoid ekstrak kasar etanol 80% dengan eluen heksana:etil asetat (6:4)

No.	Rf tiap noda	Warna noda di bawah sinar UV pada $\lambda$ 366 nm		Dugaan Senyawa
		Sebelum disemprot reagen Liebermann-Burchard	Setelah disemprot reagen Liebermann-Burchard	
1.	0,13	Hijau	Oranye	-
2.	<b>0,21</b>	<b>Merah</b>	<b>Ungu merah</b>	<b>Triterpenoid</b>
3.	<b>0,29</b>	-	<b>Ungu merah</b>	<b>Triterpenoid</b>
4.	<b>0,39</b>	<b>Ungu merah</b>	<b>Ungu</b>	<b>Triterpenoid</b>
5.	<b>0,54</b>	-	<b>Ungu</b>	<b>Triterpenoid</b>
6.	<b>0,76</b>	-	<b>Ungu</b>	<b>Triterpenoid</b>
7.	0,96	-	Ungu kehitaman	-
8.	0,98	-	Ungu kehitaman	-

Nilai  $R_f$  (*retardation factor*) atau waktu retensi merupakan nilai antara 0-1 yang menunjukkan kecepatan elusi dari suatu senyawa dalam spot/noda. Nilai  $R_f$  dihitung dengan membagi jarak titik tengah noda dari titik awal dengan jarak tempuh eluen. Tabel 4.6 menyajikan nilai  $R_f$  (0,13 – 0,98) dan warna noda yang dihasilkan. Nilai  $R_f$  berbeda-beda terkait dengan sifat eluen yang digunakan yakni heksana:etil asetat (6:4) yang bersifat non polar dan semi polar. Noda dengan  $R_f$  terkecil (0,13) menunjukkan adanya senyawaan yang bersifat lebih polar dibandingkan noda pada  $R_f$  di atasnya (0,21-0,98). Noda ini bersifat polar karena lebih tertahan kuat pada fase diam yang bersifat polar atau memiliki nilai koefisien distribusi senyawa:  $C_{stasiner} > C_{mobile}$ . Sedangkan noda yang mempunyai  $R_f$  tertinggi (0,98) menunjukkan adanya senyawaan yang bersifat lebih non polar dibandingkan noda pada  $R_f$  dibawahnya (0,13-0,96). Noda ini bersifat non polar karena lebih terikat kuat pada fase geraknya yang bersifat non polar atau memiliki nilai koefisien distribusi senyawa:  $C_{stasiner} < C_{mobile}$ .

Berdasarkan Gambar 4.9 dan Tabel 4.6, diantara 8 noda yang terpisah, diduga noda ke-2 hingga 6 adalah triterpenoid. Nilai  $R_f$  dari keenam noda-noda berturut-turut sebesar 0,21 (ungu merah); 0,29 (ungu merah) dan 0,39 (ungu) bersifat semipolar sementara noda pada  $R_f$  0,54 (ungu); 0,76 (ungu) bersifat nonpolar. Noda tidak nampak pada panjang gelombang 254 nm karena pada panjang gelombang tersebut hanya diserap oleh golongan khas dari aromatik,  $\alpha$  dan  $\beta$  karbonil tak jenuh dan sistem terkonjugasi (Zahro, 2011). Sementara senyawa triterpenoid bukan merupakan hidrokarbon aromatik atau memiliki struktur yang mengandung sistem terkonjugasi.

Penelitian sebelumnya dilakukan oleh Reveny (2011), melakukan uji fitokimia golongan triterpenoid dari daun Sirih merah dengan KLT menggunakan eluen heksana:etil asetat (6:4) dan diperoleh Rf 0,84 dan 0,76 dilakukan dibawah sinar UV 366 nm menghasilkan warna ungu merah setelah disemprot pereaksi Lieberman Burchard. Sehingga dapat diduga noda 2 dan 3 adalah triterpenoid dengan ditunjukkan terbentuknya noda berwarna ungu merah. Lubis, *et al.*, (2008) menyatakan bahwa eluen heksana:etil asetat (6:4) merupakan eluen terbaik untuk memisahkan senyawa triterpenoid dari ekstrak etanol dan fraksi kayu Secang dengan noda yang terbentuk berwarna ungu (Rf 0,22 – 0,54). Berdasarkan hasil penelitian tersebut, diduga noda ke 4, 5 dan 6 berwarna ungu yang diduga adalah senyawa triterpenoid. Terbentuknya noda yang positif triterpenoid ini mengindikasikan bahwa ekstrak etanol 80 % mengandung golongan senyawa triterpenoid.

#### 4.7.2 Alkaloid

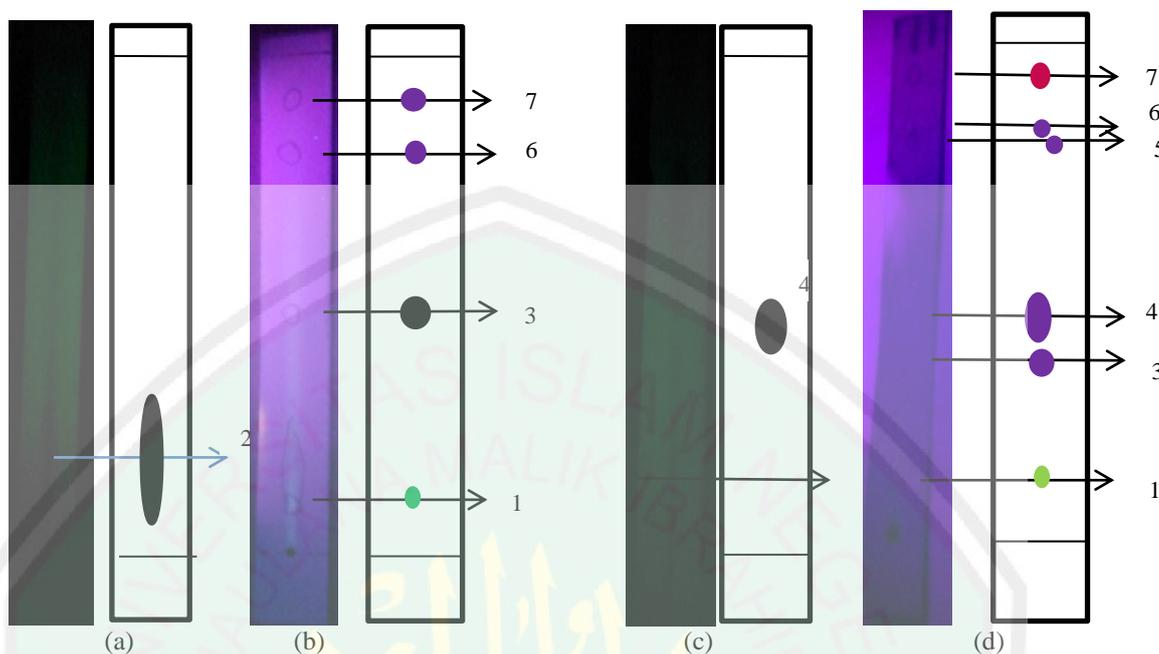
Pemisahan golongan senyawa alkaloid dengan menggunakan beberapa eluen campuran, di antaranya etil asetat:metanol (3:1), benzena:etil asetat (1:4), kloroform:metanol (1:4), kloroform:metanol (9,5:0,5), dan kloroform:metanol (8:3). Variasi eluen digunakan untuk mewakili kepolaran dari setiap senyawa yang dipisahkan yaitu ada campuran variasi yang berkecenderungan ke arah lebih polar dan ada yang berkecenderungan lebih semipolar. Pengamatan plat di bawah lampu UV dengan panjang gelombang emisi 254 nm dan 366 nm untuk menampakkan komponen senyawanya sebagai bercak gelap atau bercak yang berfluorosensi terang pada dasar yang berfluorosensi seragam (Gritter, 1991).

Noda nampak pada  $\lambda$  254 nm karena pada  $\lambda$  tersebut terjadi penyerapan golongan khas dari senyawaan berkhas alkaloid yang memiliki aromatik,  $\alpha$  dan  $\beta$  karbonil tak jenuh dan sistem terkonjugasi (Zahro, 2011). Senyawa alkaloid merupakan hidrokarbon aromatik sehingga pengamatan dilakukan di bawah lampu UV 254 nm. Hasil pemisahan ekstrak kasar alkaloid disajikan pada Tabel 4.7

Tabel 4.6 Data penampakan noda senyawa alkaloid dari hasil KLTA ekstrak etanol 80 % daun Rumput bambu pada beberapa variasi pelarut dengan lampu UV 366 nm

No.	Fase Gerak	Jumlah noda dengan pendeteksi Lieberman Burchard	Keterangan	Nilai Rf
1.	etil asetat:metanol (3:1)	6	Terpisah	0,05;0,13;0,28;0,39;0,8;0,96
2.	benzena:etil asetat (1:4)	4	Terpisah	0,07;0,09;0,12;0,17
3.	kloroform:metanol (1:4)	3	Terpisah	0,62;0,74;0,87
4.	kloroform:metanol (9,5:0,5)	0	Tidak terpisah	-
5.	<b>kloroform:metanol (8:3)</b>	<b>7</b>	<b>Terpisah baik</b>	<b>0,09;0,18;0,47;0,54;0,75;0,79;0,91</b>

Pemisahan yang terbaik golongan senyawa alkaloid yaitu menggunakan eluen kloroform:metanol (8:3) dengan adanya 7 noda pada plat. Hasil pemisahannya disajikan dalam Gambar 4.10 dan Tabel 4.8



Gambar 4.9 Hasil KLTA senyawa alkaloid ekstrak kasar etanol 80% dengan eluen kloroform:metanol (8:3):  
 (a) Hasil pengamatan dibawah sinar UV pada  $\lambda_{254 \text{ nm}}$  sebelum disemprot reagen Dragendorff  
 (b) Hasil pengamatan dibawah sinar UV pada  $\lambda_{366 \text{ nm}}$  sebelum disemprot reagen Dragendorff  
 (c) Hasil pengamatan dibawah sinar UV pada  $\lambda_{254 \text{ nm}}$  setelah disemprot reagen Dragendorff  
 (d) Hasil pengamatan dibawah sinar UV pada  $\lambda_{366 \text{ nm}}$  setelah disemprot reagen Dragendorff

Tabel 4.7 Hasil KLTA senyawa alkaloid ekstrak kasar etanol 80% dengan eluen kloroform:metanol (8:3)

Rf Tiap noda	Warna noda dibawah lampu UV pada $\lambda$ 254 nm		Warna noda dibawah lampu UV pada $\lambda$ 366 nm		Dugaan positif alkaloid
	Sebelum disemprot reagen Dragendorff	Sesudah disemprot reagen Dragendorff	Sebelum disemprot reagen Dragendorff	Sesudah disemprot reagen Dragendorff	
0,09	-	-	Hijau pekat	Hijau kekuningan	-
0,18	Hitam	-	-	-	-
0,47	-	-	Hitam	Hitam	-
0,54	-	Hitam	-	-	-
0,75	-	-	-	-	-
0,79	-	-	Ungu	Ungu	-
0,91	-	-	-	-	-

Dari pengamatan Gambar 4.10 dan Tabel 4.8 pada plat tidak terdapat noda yang menyatakan adanya senyawa golongan alkaloid, meskipun pada uji firokimia dengan uji reagen menyatakan bahwa ekstrak etanol 80 % positif alkaloid pada uji Dragendorff.

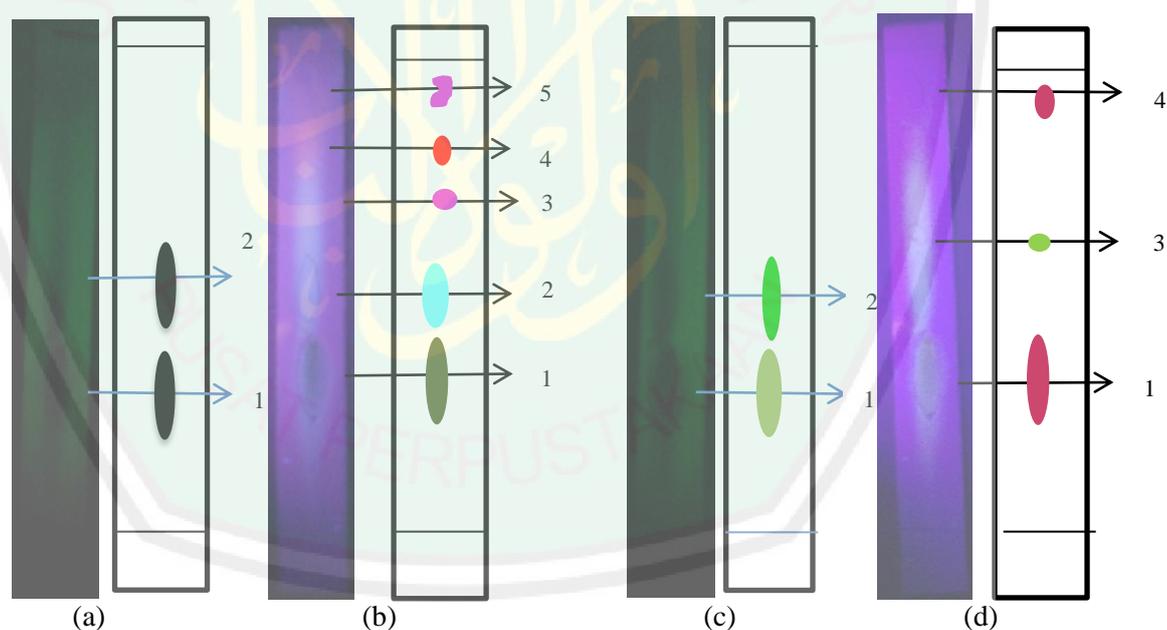
#### 4.7.3 Tanin (fenol)

Pemisahan untuk golongan senyawa tanin dengan KLT menggunakan beberapa eluen terbaik dari beberapa eluen. Eluen-eluen yang digunakan diantara campuran dari beberapa pelarut, seperti etil asetat:heksana(6:4); kloroform:metanol:air (7:3:0,4); butanol:asam asetat:air (2:0,5:2,5); butanol:asam asetat:air (14:1:5); dan butanol:asam asetat:air (2:0,5:1,1) noda-noda yang dihasilkan dideteksi dengan pereaksi FeCl yang kemudian diamati dibawah lampu UV panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Hasil dari KLTA senyawa tanin tersaji dalam Tabel 4.9:

Tabel 4.8 Data penampakan noda senyawa tanin dari hasil KLTA ekstrak etanol 80 % daun Rumpun Bambu pada beberapa variasi pelarut dengan lampu UV 254 dan 366 nm

No.	Fase Gerak	Jumlah noda dengan pendeteksi FeCl <sub>3</sub>	Keterangan	Nilai Rf
1.	etil asetat:heksana (6:4)	1	Terpisah	0,08
2.	kloroform:metanol:air (7:3:0,4)	4	Terpisah	0,09;0,25; 0,48; 0,87
3.	Butanol:asam asetat:air (2:0,5:2,5)	4	Terpisah	0,17;0,48;0,54;0,58;
4.	<b>Butanol:asam asetat:air (14:1:5)</b>	<b>5</b>	<b>Terpisah baik</b>	<b>0,33;0,46;0,59;0,73; 0,92</b>
5.	Butanol:asam asetat:air (2:0,5:1,1)	-	Tidak terpisah	-

Hasil pemisahan senyawa tanin menunjukkan bahwa variasi senyawa tanin pada ekstrak etano 80 % dengan KLTA menunjukkan bahwa variasi eluen etil asetat:heksana (6:4); kloroform:metanol:air (7:3:0,4); butanol:asam asetat:air (2:0,5:2,5); butanol:asam asetat:air (14:1:5); dan butanol:asam asetat:air (2:0,5:1,1) yang mampu memberikan pemisahan terbaik dibandingkan dengan variasi lainnya. Eluen ini mampu memisah 5 noda dan terdapat noda yang menunjukkan adanya senyawa tanin. Noda yang terbentuk ditunjukkan dalam Gambar 4.10 dan Tabel 4.11



Gambar 4.11 Hasil KLTA senyawa tanin ekstrak kasar etanol 80% dengan eluen butanol:asam asetat:air (14:1:5):

- (a) Hasil pengamatan dibawah sinar UV pada  $\lambda_{254 \text{ nm}}$  sebelum disemprot reagen Dragendorf
- (b) Hasil pengamatan dibawah sinar UV pada  $\lambda_{366 \text{ nm}}$  sebelum disemprot reagen Dragendorf
- (c) Hasil pengamatan dibawah sinar UV pada  $\lambda_{254 \text{ nm}}$  setelah disemprot reagen Dragendorf
- (d) Hasil pengamatan dibawah sinar UV pada  $\lambda_{366 \text{ nm}}$  setelah disemprot reagen Dragendorf

Tabel 4.9 Hasil KLTA ekstrak etanol 80 % daun Rumpun bambu dengan eluen butanol:asam asetat:air (14:1:5)

Rf Tiap noda	Warna noda dibawah lampu UV pada $\lambda$ 254 nm		Warna noda dibawah lampu UV pada $\lambda$ 366 nm		Du gaan positif tanin
	Sebelum disemprot reagen FeCl <sub>3</sub>	Sesudah disemprot reagen FeCl <sub>3</sub>	Sebelum disemprot reagen FeCl <sub>3</sub>	Sesudah disemprot reagen FeCl <sub>3</sub>	
0,33	Hitam	Hijau	Hijau kehitaman	Ungu kemerahan	Tannin
0,46	Hitam	Hijau	Hijau kebiruan	-	-
0,59	-	-	Ungu	Hijau	-
0,73	-	-	Jingga	Ungu kemerahan	Tannin
0,92	-	-	Ungu	-	-

KLT dengan campuran eluen ini menghasilkan 5 noda yang mempunyai nilai Rf berbeda diasumsikan sebagai senyawa tanin. Noda pertama dan kedua mempunyai nilai Rf 0,33 dan 0,73. Senyawa tanin pada noda pertama tersebut cenderung terdistribusi pada fase diamnya, sehingga proses migrasi solut berlangsung lambat. Oleh karena itu, senyawa tanin pada noda pertama ini mempunyai sifat yang lebih polar dari pada eluennya atau memiliki nilai koefisien distribusi senyawa:  $C_{stasiner} > C_{mobile}$ . Sedangkan noda keempat mempunyai nilai Rf 0,73. Senyawa tanin pada noda tersebut cenderung terdistribusi pada fase geraknya, sehingga proses migrasi solut berlangsung lebih cepat. Oleh karena itu, senyawa tanin pada noda keempat ini mempunyai sifat nonpolar atau memiliki nilai koefisien distribusi senyawa:  $C_{stasiner} < C_{mobile}$ .

Berdasarkan Gambar 4.10 dan Tabel 4.11 terdapat 5 noda terpisah, dari kelima noda diduga noda kesatu dan keempat menunjukkan senyawaan tanin. Nilai Rf dari noda-noda yang diduga senyawaan tanin adalah 0,33 (ungu merah) dan 0,73 (ungu kemerahan). Hal ini sesuai dengan penelitian Sriwahyuni (2010)

yang mengidentifikasi ekstrak etil asetat tanaman Anting-anting menggunakan eluen butanol-asam asetat-air (14:1:5) menunjukkan noda di bawah sinar UV 366 nm yang berwarna ungu dan ungu kehitaman setelah disemprot dengan FeCl<sub>3</sub>. Sa'adah (2010) melakukan identifikasi terhadap Blimbing wuluh dengan menggunakan eluen yang sama dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm dan didapatkan penampakan noda berwarna hijau saat disinari UV 254 dan berwarna lembayung saat disinari UV 366. Senyawa tanin dalam ekstrak kasar etanol 80 % daun Rumpun bambu yang dihasilkan pada pemisahan ini, diduga bersifat polar dan non polar.

#### 4.8 Pemanfaatan Daun Rumpun Bambu dalam Islam

Allah SWT menciptakan manusia sebagai khalifah di muka bumi yang diberi tugas untuk mengelolah segala ciptaan Allah yang ada di bumi, seperti tumbuhan, hewan, hutan, air, sungai, gunung, laut. Firman Allah SWT dalam surat al Baqarah ayat 29-30:

هُوَ الَّذِي خَلَقَ لَكُمْ مَا فِي الْأَرْضِ جَمِيعًا ثُمَّ أَسْتَوَىٰ إِلَى السَّمَاءِ فَسَوَّاهُنَّ سَبْعَ سَمَوَاتٍ وَهُوَ بِكُلِّ شَيْءٍ عَلِيمٌ ﴿٢٩﴾ وَإِذْ قَالَ رَبُّكَ لِلْمَلَائِكَةِ إِنِّي جَاعِلٌ فِي الْأَرْضِ خَلِيفَةً ۗ قَالُوا أَتَجْعَلُ فِيهَا مَن يُفْسِدُ فِيهَا وَيَسْفِكُ الدِّمَاءَ وَنَحْنُ نُسَبِّحُ بِحَمْدِكَ وَنُقَدِّسُ لَكَ ۗ قَالَ إِنِّي أَعْلَمُ مَا لَا تَعْلَمُونَ ﴿٣٠﴾

“ Dia-lah Allah, yang menjadikan segala yang ada di bumi untuk kamu dan Dia berkehendak (menciptakan) langit, lalu dijadikan-Nya tujuh langit. dan Dia Maha mengetahui segala sesuatu(29). ingatlah ketika Tuhanmu berfirman kepada Para Malaikat: "Sesungguhnya aku hendak menjadikan seorang khalifah di muka

bumi." mereka berkata: "Mengapa Engkau hendak menjadikan (khalifah) di bumi itu orang yang akan membuat kerusakan padanya dan menumpahkan darah, Padahal Kami Senantiasa bertasbih dengan memuji Engkau dan mensucikan Engkau?" Tuhan berfirman: "Sesungguhnya aku mengetahui apa yang tidak kamu ketahui" (30). (Qs. al Baqarah/2: 29-30).

Oleh karena itu, manusia seharusnya mampu memanfaatkan segala apa yang ada di bumi untuk kemaslahatannya. Allah SWT telah juga telah memerintahkan manusia untuk memanfaatkan kehidupan di muka bumi ini. Firman Allah SWT dalam surat Abasa/80:27-32, yaitu :

فَأَنْبَتْنَا فِيهَا حَبًّا ﴿٢٧﴾ وَعِنَبًا وَقَضْبًا ﴿٢٨﴾ وَزَيْتُونًا وَنَخْلًا ﴿٢٩﴾ وَحَدَائِقَ غُلْبًا ﴿٣٠﴾  
وَفَيْكَةً وَأَبًّا ﴿٣١﴾ مَتَاعًا لَّكُمْ وَلِأَنْعَامِكُمْ ﴿٣٢﴾

"Lalu Kami tumbuhkan biji-bijian di bumi itu (27), Anggur dan sayur-sayuran (28), zaitun dan kurma (29), kebun-kebun (yang) lebat (30), dan buah-buahan serta rumput-rumputan (31), untuk kesenanganmu dan untuk binatang-binatang ternakmu" (Qs. Abasa/80: 27-32).

Kalimat *Wa Faakihatan Wa Abban*, Jazairi (2009) menafsirkan sebagai segala bentuk buah-buahan dan rumput-rumputan yang dimakan binatang, sementara Ash-Shiddieqy (2000) menafsirkan sebagai buah-buahan yang lezat rasanya seperti rambutan dan rumput dan tumbuh-tumbuhan untuk makanan binatang. Muhammad (2010) menafsirkan rumput tersebut sebagai rumput yang dimakan binatang ternak, *Abbaa* sebagai jerami. Namun Qarni (2007) menafsirkan *Abbaa* sebagai rumput pakan ternak yang indah warnanya dan menyenangkan bagi setiap orang yang melihatnya, seperti halnya rumput hijau yang segar. Rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) merupakan tumbuhan hijau segar, perdu, dan merupakan rumput pakan ternak.

Ayat *Mataa'al lakum wa li an'aamikum* menurut Ash-Shiddieqy (2000) dalam *Tafsir Al Quranul Majid An-Nuur* adalah kebesaran kekuasaan Allah yang telah menumbuhkan rumput-rumput supaya manusia dapat menikmati keindahan dan kemanfaatannya, baik untuk dirimu sendiri atau untuk hewan ternak-ternakmu. Dari tafsir tersebut menjelaskan bahwa manusia diperintahkan oleh Allah untuk memanfaatkan dan mencari manfaat lain rumput-rumputan selain hanya sebagai makanan hewan ternak. Hal ini diperkuat Jazairi (2009) yang menafsirkan ayat diatas bahwa Allah menciptakan buah-buahan dan rumput-rumputan untuk manusia agar manusia dapat memanfaatkan dan sebagaiannya untuk hewan ternak. Sebagai bentuk kesyukuran terhadap nikmat yang diberikan Allah SWT maka penelitian ini memanfaatkan salah satu tanaman rumput sebagai obyek yang diteliti untuk dimanfaatkan di bidang farmakologi.

Allah SWT menciptakan segala di muka bumi ini pasti memiliki manfaat dan kegunaan. Salah satu nikmat dari alam semesta ini yang diberikan oleh Allah adalah dengan diciptakannya tanaman, dan Dia menciptakan tanaman-tanaman tersebut pasti baik dan bermanfaat bagi kelangsungan hidup manusia. Seperti manfaatnya sebagai obat herbal untuk menghentikan perkembangan sel-sel pengganda. Sebagaimana yang telah dijelaskan pada ayat al Quran dalam surat Luqman ayat 10 berikut ini:

خَلَقَ السَّمَوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرَوْنَهَا ۗ وَأَلْقَىٰ فِي الْأَرْضِ رَوَاسِيَ أَن تَمِيدَ بِكُمْ وَبَثَّ فِيهَا  
 مِن كُلِّ دَابَّةٍ ۗ وَأَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِن كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿١٠﴾

“Dia menciptakan langit tanpa tiang yang kamu melihatnya dan Dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan) bumi supaya bumi itu tidak menggoyangkan kamu; dan memperkembang biakkan padanya segala macam jenis binatang. dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik” (Qs. Luqman/31: 10).

Dari ayat diatas Qarni (2007) menafsirkan bahwa Allah menciptakan langit dan meninggikan dari bumi tanpa adanya tiang, seperti yang dilihat oleh manusia, lalu menciptakan gunung-gunung agar bumi seimbang tidak mudah terguncang. Allah menurunkan air hujan dari awan yang rasanya tawar untuk menyuburkan tanah. Ash-Shiddieqy (2000) menafsirkan bahwa dari tanah yang subur itulah tumbuh beraneka tumbuhan yang memiliki banyak manfaat. Tanaman yang mudah menyesuaikan diri pada kondisi ini adalah rumput pakan ternak. Tanaman ini dapat tumbuh baik akibat abu gunung yang banyak mengandung air (Kusumawati, 2003). Rumput bambu yang menjadi obyek penelitian ini merupakan salah satu tumbuhan yang habitatnya didaerah tersebut. Rahmi (2012) menjelaskan bahwa tumbuhan Rumput bambu dapat hidup didaerah pegunungan dan lereng bukit dan tumbuhan ini tumbuh secara liar ditempat yang rindang, terbuka dan tanah-tanah lembab. Seperti Rumput bambu yang hidupnya tumbuh subur didaerah pegunungan dan dari hasil penelitian ini diketahui bahwa ekstrak daun Rumput bambu berpotensi sebagai obat antikanker.

Ayat-ayat di atas memperkuat dugaan bahwa tanaman famili *Poaceae* (rumpu-rumputan) memiliki manfaat yang banyak selain untuk makanan binatang yang dalam ketiga ayat selalu disebut-sebut sebagai hewan ternak, selain itu juga dapat dimanfaatkan oleh manusia. Penelitian ini mengupas tentang potensi daun Rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) yang termasuk dalam famili

*Poaceae*. Dari hasil penelitian ketiga ekstrak yang menghasilkan  $LC_{50} < 1000$  ppm yang bersifat racun. Sementara  $LC_{50}$  yang terendah memiliki biokativitas optimum yaitu ekstrak etanol 80 % yang dapat dimanfaatkan dibidang farmakologi sebagai obat antikanker. Allah telah menjamin obat penyembuh untuk makhluknya dengan alam semesta ini. Seperti firman Allah dalam surat asy Syu'araa' ayat 80 :

وَإِذَا مَرَضْتُ فَهُوَ يَشْفِينِ ﴿٨٠﴾

“Dan apabila aku sakit, Dialah yang menyembuhkan Aku”(Qs. asy Syu'araa'/26:80).

Firman Allah dalam surat asy Syu'araa' ayat 80 tersebut menunjukkan betapa Allah telah menjamin hidup umat manusia dan betapa kesehatan merupakan suatu nikmat besar yang Allah berikan kepada manusia, akan tetapi nikmat tersebut kadang kurang disyukuri. Sakit merupakan musibah dan ujian yang ditetapkan oleh Allah SWT. Segala penyakit yang diberikan oleh Allah, tentunya sudah tersedia obat yang juga diberikan oleh-Nya. Dalam firmanNya Allah menganjurkan umat-Nya untuk berserah diri apabila timbul suatu penyakit dengan tetap berusaha. Salah satu usaha tersebut adalah mencari obat dari alam yang berasal dari tanaman dan meneliti kegunaannya. Tanaman merupakan salah satu makhluk Allah yang dapat dimanfaatkan oleh manusia jika manusia itu berfikir, salah satunya tanaman Rumput bambu yang berpotensi dibidang farmakologi.

## BAB IV

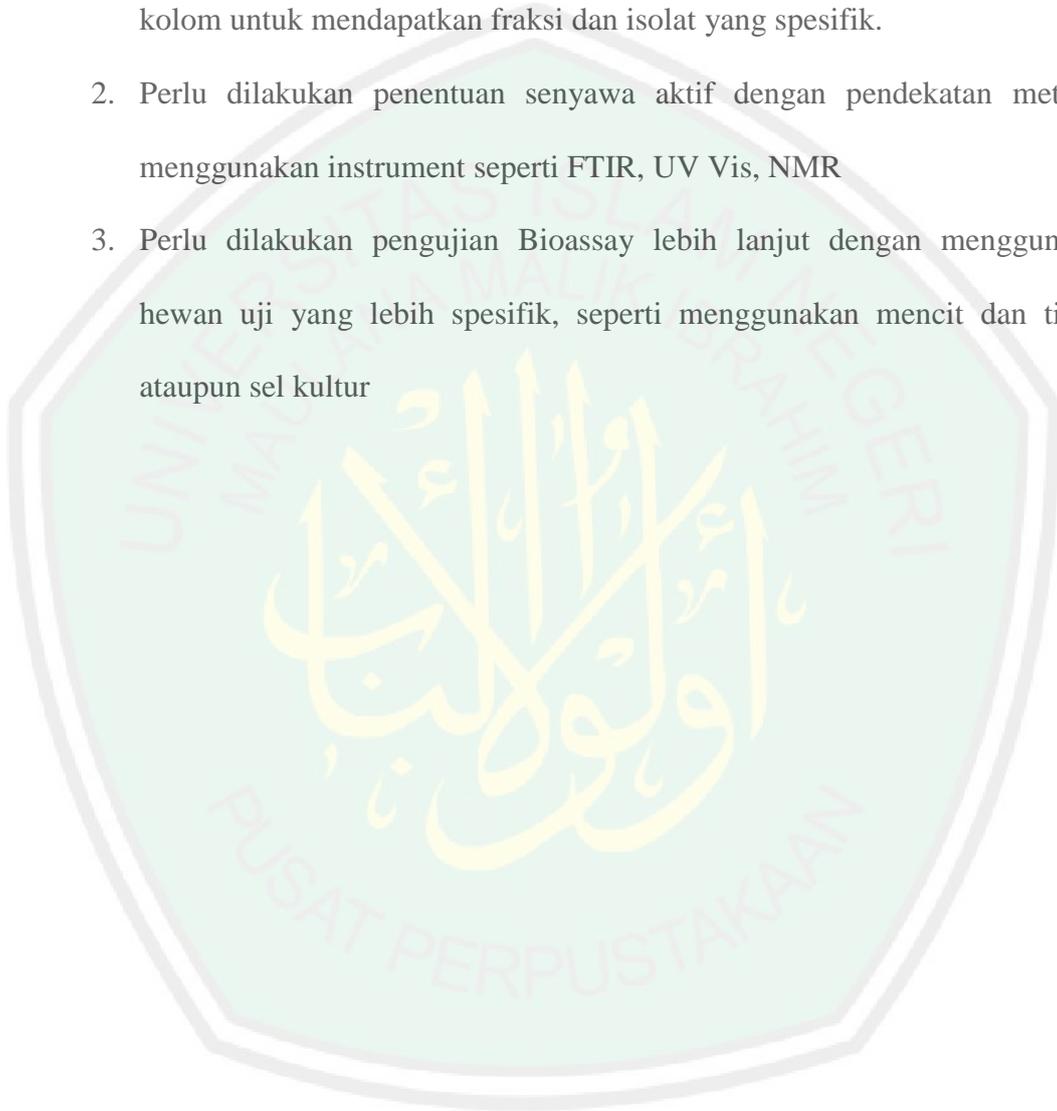
### PENUTUP

#### 5.1 Kesimpulan

1. Ketiga ekstrak kasar daun Rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) mempunyai tingkat sitotoksisitas terhadap larva udang *Artemia salina* Leach, ditunjukkan dengan nilai  $LC_{50} < 1000$  ppm. Tingkat sitotoksisitas tertinggi adalah ekstrak etanol 80 % dengan nilai  $LC_{50}$  sebesar 25,2189 ppm dan untuk ekstrak kloroform dan n-heksana memiliki  $LC_{50}$  sebesar 83,4150 ppm dan 90,7896 ppm.
2. Golongan senyawa aktif ekstrak kasar etanol 80 % daun rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) berdasarkan hasil uji fitokimia dengan reagen adalah alkaloid, tanin dan triterpenoid. Hasil uji KLTA yang menunjukkan eluen terbaik untuk golongan senyawa alkaloid menggunakan kloroform : metanol (8:3) terpisah baik namun tidak terdapat senyawaan alkaloid, sementara eluen butanol : asam asetat : air (14:1:5) pada Rf 0,33 (lembayung) dan 0,73 (lembayung) untuk golongan senyawa tanin serta golongan senyawa triterpenoid dengan eluen n-heksana : etil asetat (6:4) pada Rf 0,21 dan 0,29 berwarna lembayung, serta pada Rf 0,39; 0,54 dan 0,76 berwarna ungu.

## 5.2 Saran

1. Perlu dilakukan pemisahan lebih lanjut dengan metode KLT, kromatografi kolom untuk mendapatkan fraksi dan isolat yang spesifik.
2. Perlu dilakukan penentuan senyawa aktif dengan pendekatan metode menggunakan instrument seperti FTIR, UV Vis, NMR
3. Perlu dilakukan pengujian Bioassay lebih lanjut dengan menggunakan hewan uji yang lebih spesifik, seperti menggunakan mencit dan tikus ataupun sel kultur



## DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, D.C. 2012. *Uji Toksisitas Ekstrak Etil Asetat Teraktif Daun Dandang Gendis (Clinacanthus nutans) Menggunakan Uji Letalitas Larva Udadang*. Skripsi. Departemen Kimia. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor. Kristanti, A.N.; Aminah, N.S.; Tanjung, M.; Kurniai, B. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Ansel. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi, Edisi 4*. Jakarta: UI Press.
- Ash-Shiddieqy, M. Hasbi dan Teungku. 2000. *Tafsir Al Quranul Majid An-Nuur*. Semarang: Pustaka Rizki Putra.
- Astuti, P; Alam. G.; Hartati, M.S.W.; Sari D dan Wahyuono, S. 2005. *Uji Sitotoksik Senyawa Alkaloid dari Spons Petrosia sp: Potensial Pengembangan sebagai Antikanker*. Yogyakarta: Bagian Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada. *Majalah Farmasi Indonesia* 16(1), 58-62.
- Atmoko, R, dan Amir M. 2009. *Uji Toksisitas dan Skrining Fitokimia Ekstrak Tumbuhan Sumber Pakan Orangutan terhadap Larva Artemia salina Leach*. Sambo: Balai Penelitian Perbenihan Samboja. *Jurnal Penelitian Hutan dan Konservasi Alam* 6(1): 37-45.
- Baraja, M. 2008. *Uji Toksisitas Ekstrak Daun Ficus elastica Nois ex Blume terhadap Artemia salina Leach dan Profil Kromatografi Lapis Tipis*. Skripsi Diterbitkan. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Bawa, I. G. A. G. 2009. *Isolasi dan Identifikasi Golongan Senyawa Toksik dari Daging Buah Pare (Momordica charantia L.)*. Bukit Jimbaran: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana. *Jurnal Kimia* 3(2). ISSN 1907-9850: 1117-124.
- Burke, R.W. Diamondstone, B.A. Velapoidi. R.A. Menis O. 1974. *Mechanisms of the Liebermann-Burchard and Zak Color Reaction for Cholesterol*. *Clinical Chemistry Journal*. Washington D.C : Analytical Chemistry Division, Institute for Materials Research, National Bureau of Standards. Vol.20. No.7.
- Carballo JL, Hernandez-Inda ZL, Perez P, Garcia-Gravaloz MD. *Comparison between two brine shrimp assays to detect in vitro cytotoxicity in marine natural products*. *BMC Biotechnology*. 2002;2:1472-6570.

- Chusna, 2013. *Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Dan Uji Toksisitas Ekstrak Batang Kesembukan (Paederia foetida Linn) Dengan Metode Bslt (Brine Shrimp Lethality Test)*. Skripsi. Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Cronquist, A. 1981. *An Integrated System of Clasification of Flowering Plants*. New York: Columbia University Press.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1986. *Sediaan Galenik*. 4-5, 16-20. Jakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1994. *Persyaratan Obat Tradisional; Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor: 661-MENKES/SK/VII-1994*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dermawan, R. 2012. *Metode Analisis Uji Warna Senyawa Metabolit Sekunder. Artikel Kimia Organik Analisis*. Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin Makasar.
- Dewi, L.K. 2007. *Kajian Ekstrak Umbi Gadung (Dioscorea hispida), Biji Rekak (Sapindus rarak) dan Biji Sirsak (Annona muricata L.) Sebagai Bahan Pengawet Alami Kayu*. Skripsi. Departemen Hasil Hutan Fakultas Kehutanan Institut Pertanian Bogor.
- Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan RI. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Departemen Kesehatan. Vol. 13: 2-11.
- Effendy. 2007. *Perspektif Baru Kimia Koordinasi Jilid I*. Malang: Banyu Media Publishing.
- Farihah. 2008. *Uji Toksisitas Ekstrak Daun Ficus benjamina L terhadap Artemia salina Leach dan Profil Kromatografi Lapis Tipis*. Skripsi Diterbitkan. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Finney, DJ, Ed. 1952. *Probit Analysis*. Cambridge, England, Cambridge University Press.
- Fitriyani, A. Winarti, L. Muslichah, S dan Nuri. 2011. *Uji Antiinflamasi Ekstrak Metanol Daun Sirih Merah (Piper crocatum Ruiz & Pav) pada Tikus Putih*. Fakultas Farmasi Universitas Jember. *Majalah Obat Tradisional* 16(1), 34-42.
- Gandjar, I.G dan Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.

- Gritter, R. J., J. M. Robbit dan S. E. Schwarting. 1991. *Pengantar Kromatografi Edisi Kedua*. Terjemahan Kokasih Padmawinata. Bandung: ITB.
- Guenther, E. 1987. *Minyak Atsiri*. Jilid I. Terjemahan Ketaren S. Jakarta: Universitas Jakarta.
- Gunawan, I.G.; Bawa, G. dan Sutrisnayanti. 2008. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Terpenoid yang Aktif Antibakteri pada Herba Meniran (Phyllanthus niruri Linn)*. *Jurnal*. Bukit Jimbaran: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana. *Jurnal Kimia 2 (1) ISSN 1907-9850*.
- Habibah, H. 2012. *Uji Toksisitas Ekstrak Kasar Alga Merah (Eucheuma spnosum) Pantai Lobuk Madura Terhadap Larva Udang Artemia salina*. *Skripsi*. Jurusan Kimia. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Halimah, N. 2010. *Uji Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Tanaman Anting-Anting (Acalypha indica Linn.) terhadap Larva Udang Artemia salina Leach*. *Skripsi* Diterbitkan. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terjemahan Kokasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Bandung: ITB.
- Helrich, K. 1984. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist*. Washington DC: Association of Official Analytical Chemists Inc., p 185-189.
- Hendayana, S. 2006. *Kimia Pemisahan Metode Kromatografi dan Elektroforesis Modern*. Bandung: PT Remaja Rosdakarya.
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia (terjemahan)*. Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan. Jakarta.
- Hidayat, M. B. C. 2004. *Identifikasi Senyawa Flavonoid Hasil Isolasi dari Propolis Lebah Madu Apis mellifera dan Uji Aktivitasnya sebagai Antijamur Candida albicans*. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya.
- Houngton, P.J. dan Rahman, A. 1998. *Laboratory Handbook for The Fractionation of Natural Extract*. Chapman and Hill. London: United Kingdom.
- Indrayani, L. 2006. *Skrinning Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pecut Kuda (Stachytarpheta jamaicensis L. Vahl) Terhadap Larva Udang*

*Artemia salina* Leach. *Jurnal Fakultas Sains dan Matematika*. Salatiga: Universitas Kristen Satya Wacana.

Jazairi, S.A.B.J. 2009. *Tafsir Al-Qur'an Jilid 2*. Jakarta Timur: Darus Sunnah Press.

Jing, Z., Ying, W., Xiao-Qi, Z., Qing-Wen, Z., dan Wen-Cai, Y. 2009. *Chemical Constituents from the Leaves of Lophatherium gracile*. China. *Chinesse Journal of Natural Medicines*, 7(6): 428-431.

Kanimozhi, D. 2012. *In-Vitro Anticancer Activity of Ethanolic Extract of Cynodon dactylon Against HEP-2, HELA dan MCF-7 Cell Lines*. India: Department of Zoology. *IJSRR*, 1(1): 10-23.

Kristianingsih. 2005. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Triterpenoid dari Akar Tanaman Kedondong Laut (Polyscias fruticosa)*. Skripsi Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya.

Kusumawati, I., Djatmiko, W., Rohman, R., Studiawan, H., dan Ekasari, W. 2003. *Eksplorasi Keanekaragaman dan Kandungan Kimia Tumbuhan Obat di Hutan Tropis Gunung Arjuna*. Surabaya: Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*, ISSN 1412-2855, 2 (3): 100-104.

Lenny, S. 2006. *Senyawa Flavonoida, Fenilflavonoida dan Alkaloida*. Karya Ilmiah. Medan: Universitas Sumatera Utara.

Lenny, S. 2006. *Uji Bioaktifitas Kandungan Kimia Utama Puding Merah dengan Metode Brine Shrimp*. Medan: Universitas Sumatera Utara.

Lestari, S.M. 2012. *Uji Penghambatan Ekstrak Daun Sidaguri (Sida rhombifolia L.) Terhadap Aktivitas Xantin Oksidase dan Identifikasi Golongan Senyawa pada Fraksi yang Aktif*. Skripsi. Jakarta: FMIPA Farmasi Universitas Indonesia.

Lisdawati, V. 2002. *Berdasar Uji Penapisan Farmakologi pada Buah Mahkota Dewa*. Fakultas Kedokteran. Yogyakarta: Universitas Gajamada. <http://www.farmakologi.fk.ugm.ac.id/2008/05/30/berdasarujipenapsisan> (Diakses pada 10 September 2013).

Listiani, L., I. Fidrianny dan Sukrasno. 2005. *Telaah Kandungan Kimia Daun Kucai (Allium schoenoprasum L., Liliaceae)*. Bandung: *Jurnal Sekolah Farmasi ITB*. <http://bahan-alam.fa.itb.ac.id>. Diakses tanggal 10 September 2013.

Loomis, T. A., 1978, "Toksikologi Dasar". diterjemahkan oleh Imono Argo Donatus. Edisi III. IKIP Semarang 16-20.

- Lubis, A.H.; Nainggolan, M.; Ramlan, S.; Suryanto; Sitompul, E. 2008. *Pengujian Aktivitas Antioksidan dan Analisis Senyawa Kimia Ekstrak Etanol serta Fraksi dari Kayu Secang (Caesalpinia sappan L.)*. Jurnal. Medan: Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara. *Prosiding Seminar Nasional BiologiGritter*, 1991
- Lutfillah, M. 2008. *Karakterisasi Senyawa Alkaloid Hasil Isolasi dari Kulit Batang Angsret (Spathoda campanulata Beauv) Serta Uji Aktivitasnya Sebagai Antibakteri Secara In Vitro*. Skripsi Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya.
- Mangunwardoyo, W. Cahyaningsing, E dan Usia, T. 2009. *Ekstraksi dan Identifikasi Senyawa Antimikroba Herba Meniran (Phyllanthus niruri L.)*. Departemen Biologi Fakultas MIPA Universitas Indonesia. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia* : 57-63.
- Marliana, S.D., Venty S. dan Suyono. 2005. *Skrinning Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Labu Siam dalam Ekstrak Etanol*. *Jurnal Biofarmasi* 3 (1): 26-31, ISSN: 1693-2242 2005. Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta.
- Masroh, L.F. 2009. *Isolasi Senyawa Aktif Ekstrak Daun Pecut Kuda (Stachytharpeta jamaicensis L.Vahl) sebagai Antikanker* . Skripsi. Tidak Diterbitkan. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang.
- Mc. Laughlin J.L. 1991. *Crown Gall Tumours on Potato Disc and Brine Shrimp Lethality: Two Simple Bioassay for Higher Plant Screening and Fractination*. *Methods in Plants Biochemistry*, Academic Press.
- Menteri Kesehatan Republik Indonesia. 1992. *Pedoman Fitofarmaka Menteri Kesehatan Republik Indonesia*. Nomor : 761-MENKES/SK/IX-1992. Jakarta: Menteri Kesehatan Republik Indonesia.
- 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 Blimbing Wuluh (Averrhoa blimbi. L)*. Skripsi Tidak Diterbitkan. Malang : Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang.
- Mohammad, A., Bhawani, S. A., dan Sharma, S. 2010. *Analysis of Herbal Product by Thin-layer Chromatography*. India: Aligarh Muslim University. *International Journal of Pharma and Bio Science*, 2(1): 1-50.

- Morshed, H. Islam, Md.S. Parvin, S. Uddin, M.A. Mostofa, A.G.M dan Sayyed, S.B. 2012. *Antimicrobial and Cytotoxic Activity of the Methanol Extract of Peaderia foetida Linn. Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 02 (01); 2012: 77-80.
- Mudjiman, A.1995. *Makanan Ikan*. Cetakan VII, 11-12. Jakarta:Penebar Swadaya.
- Muhannad. I. J. 2010. Tafsir Jalalain. Surabaya: Elba Fithrah Mandiri Sejahtera.
- Nasliyana. 2013. *Uji Toksisitas Ekstrak Biji Sirsak (Annona Muricata Linn.) Terhadap Larva Udang Artemia salina Leach Dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktifnya*. Skripsi. Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Nur, M.A, dan Adijuwana, H. 1989. *Teknik Pemisahan dan Analisis Biologis*. Skripsi. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Institut Pertanian Bogor.
- Nuraini, F. 2002. *Isolasi dan Identifikasi Tanaman dari Daun Gamal (Gliricidia seium (jackquin) Kunth ex Walp. Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya.
- Nurhayati, A.P.; Abdulgani, N. dan Febrianto, R. 2006. *Uji Toksisitas Ekstrak Eucheuma alvarezii terhadap Artemia salina sebagai Studi Pendahuluan Potensi Antikanker*. Surabaya: Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Teknologi Sepuluh Nopember. *Akta Kimindo Vol. 2 No. 1 Oktober 2006: 41-46*.
- Nurmillah, O. Y. 2009. *Kajian Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba Ekstrak Biji, Kulit Buah, Batang dan Daun Tanaman Jarak Pagar (Jatropha curcas L.)*. Skripsi diterbitkan. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian IPB.
- Octavia, D.R. 2009. *Uji aktivitas Penangkap Radikal Ekstrak Petroleum Eter, Etil Asetat dan Etanol Daun Binahong (Anredera corfolia (Tenore) Steen) dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrasil)*. Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. DEPKES RI, 1986.
- Panjaitan, R.B. 2011. *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Kulit Batang Pulasari (Alyxiae Cortex) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BST)*. Skripsi. Yogyakarta. Universitas Sanata Dharma.
- Parks, 2009. *Artemia salina-Brine shrimp*. <http://www.aquaculture.urgent.html>. Diakses tanggal 5 Juni 2012.

- Perron, R. N dan Brumaghim, L. J. 2009. A Review of the Antioxidant Mechanisms of Polyphenol Compounds Related to Iron Binding. *Cell Biochem Biophys*, 53: 75 -100
- Poedjiadi, A. Dan F. M. T. Supriyanti. 1994. *Dasar-dasar Biokimia*. Jakarta: UI Press.
- Purwakusuma, W. 2007. *Artemia salina (Brine Shrimp)*. <http://www.o-fish.com/Artemia.php>. Diakses tanggal 20 Oktober 2013.
- Purwaningsih, Y. 2003. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa flavonoid dari Biji Kacang Tunggak (Vigna unguiculata L. Walp)*. Skripsi. Jurusan Kimia. Fakultas MIPA. Universitas Brawijaya Malang.
- Qarni, 'A. 2007. *Tafsir Muyassar Vol 1 Juz 1 – 8*. Jakarta: Qisthi Press.
- Rahayu, D. dan Hastuti, S.D. 2009. *Stabilitas Saponin sebagai Antibiotik Alami Hasil Isolasi Gel Daun Aloe barbadensis miller pada Variasi Suhu dan Lama Simpan*. *Jurnal*. Malang: Jurusan Peternakan Fakultas Peternakan-Perikanan Universitas Muhammadiyah Malang.
- Rahmawati, N. 2010. *Pemanfaatan Minyak Atsiri Akar Wangi (Vetiveria zizanoides) Dari Famili Poaceae sebagai senyawa antimikroba dan Insektisida Alam*. Skripsi. Surabaya. Institut Teknologi Sepuluh November.
- Rahmi, N. 2012. *Rumput Bambu*. [http://www.oocities.org/rumput\\_bambu.html](http://www.oocities.org/rumput_bambu.html). Diakses pada 12 September 2013.
- Reveny, J. 2009. *Daya Antimikroba Ekstrak dan Fraksi Daun Sirih Merah (Piper betle L.)*. Fakultas Farmasi Universitas Sumatra Utara. *Jurnal Ilmu Dasar* .Vol.12 No.1. hal 6-12.
- Rita, W.S., Suirta, I.W., dan Sabikin, A. 2008. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa yang Berpotensi sebagai Antitumor pada Daging Buah Pare (Momordica charantia L.)*. *J.Kimia*. Vol. 2 No. 1, hal 1 – 6.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Senyawa Organik Tumbuhan Tinggi*. Terjemahan Kokasih Padmawinata. Bandung: ITB.
- Ropiqa, M. 2009. *Uji Ketoksikan (LC<sub>50</sub>) Ekstrak Etanol Daun Ekor Kucing (Acalypha hispida Burm.f) terhadap Larva Udang Artemia salina Leach dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*. *Jurnal*. Pontianak: Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Tanjungpura.

- Sa'adah, L., Hayati, E.K., dan Faya, A.G. 2010. *Fraksinasi dan Identifikasi Senyawa Tanin Pada Daun Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi L.)*. *J.Kimia*. Vol. 4 No.2, hal: 193 – 200.
- Sari, D.R. 2010. *Pemisahan senyawa Organik. Laporan Praktikum*. Bandung: Program Studi Kimia FMIPA Institut Teknologi Bogor.
- Sarkar, B; Raihan, S.M.A; Sultana, N; Rahman, B; Islam, M.E; Ahmed, S dan Shakila Akter. 2012. *Cytotoxic, Antibacterial and Free Radical Scavenging Activity Studies of the Solvent Extract of Aerial Stems of Equisentum Debile Roxb*. ISSN 0972-768X . Bangladesh. 10(1): 19-26.
- Sastrohamidjojo, H. 1991. *Kromatografi*. Yogyakarta: UGM Press.
- Savitri, E.S. 2008. *Rahasia Tumbuhan Berkhasiat Obat Perspektif Islam*. Malang: UIN Press.
- Setiaji, A. 2009. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Petroleum Eter, Etil Asetat dan Etanol 70% Rhizoma Binahong (Anredera cardifolia (Tenore) Steen) Terhadap Staphylococcus aureus ATCC 25923 Dan Escherichia coli ATCC 11229 Serta Skrining Fitokimianya*. Makalah. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Siadi, K. 2012. *Ekstrak Bungkil biji jarak Pagar (Jatropha curcas) sebagai Biopestida yang Efektif dengan Penambahan Larutan NaCl*. *Jurnal*. Semarang: Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang. *Jurnal MIPA 35(1) ISSN 0215-9945*.
- Soebagio. 2003. *Kimia Analitik II*. Malang: UM Press.
- Solis, P.N., Wright, C. W., Anderson, M.M., Gupta, M.F., Philipson, J.d. 1993. *A Microwell Cytotoxicity Assay Using Artemia salina (Brine Shrimp)*. *Plant Medica*, 59 (250-252).
- 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.
- Sudarmadji, S.B., Haryono dan Suhardi. 2003. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty.
- Sudjaji. 1988. *Metode Pemisahan. Buku*. Yogyakarta: Kanisius.

- Suharto, A.P., Edy, H.S., dan Dumanauw, J.M. 2011. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Saponin dari Ekstrak Metanol Batang Pisang Ambon (Musa paradisiaca var. sapientum L.). Skripsi*. Program Studi Farmasi. Fakultas MIPA UNSRAT dan Politeknik Kesehatan Kemenkes Manado.
- Sukandar, D.; Hermanto, S. dan Lestari, E. 2009. *Uji Potensi Aktivitas Antikanker Ekstrak Daun Pandan Wangi (Pandanus amarillifolius Roxb.) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*. Jakarta: Program Studi Kimia Jurusan MIPA Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. *JKTI Vol. 11 No.1*.
- Svehla, G.1990. *Buku Teks Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimikro Edisi Kelima*. Penj. Setiono, L dan Pudjaatmaka, Hadyana. Jakarta: PT. Kalman Media Pustaka.
- Swantara, I.M.D. 2005. *Identifikasi Senyawa Aktif Antibakteri dalam Tumbuhan Kentut-Kentut (Paederia foetida Auct.)*. Udayana Denpasar. *J.Alchemy*. Vol. 4 No. 2, hal 54 – 65.
- Tamin, R dan D. Arbain, 1995. Biodiversity and Survey Etnobotani. Makalah Lokakarya Isolasi Senyawa Berkhasiat Obat. Madang: Kerjasama HEDS-FMIPA University Andalas. Tidak diterbitkan.
- Voight, R.1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Diterjemahkan oleh Soedani Noerono Soewandi, Apt. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada press.
- 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 Sapi dan identifikasi Kandungan Kimianya*. *Jurnal*. Semarang: Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim.
- Wijayakusuma, H. 2008. *Pengobatan Herbal dengan Ramuan Tionghoa*. Jakarta: Niaga Swadaya.
- Wikipedia. 2013. *Rumput Bambu*. [http://id.wikipedia.org/wiki/Rumput\\_bambu](http://id.wikipedia.org/wiki/Rumput_bambu). Diakses pada 12 September 2013.
- Wonohadi, E. Ayu, D.P. Agustin, D.B. Liasthirani, S dan Melani. 2006. *Identifikasi Senyawa Antimikroba Rimpang Temu Giring (Curcuma heyneana Val & Van Zijp) Secara Bioautografi*. Fakultas Farmasi Universitas Surabaya. *Jurnal Farmasi Indonesia*, Vol.3 No.2 Hal: 89-96.
- Yulia, R. 2006. *Kandungan Tanin dan Potensi Anti Streptococcus mutans Daun Teh Var. Assamica pada Berbagai Tahap Pengolahan*. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Bogor : Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor.

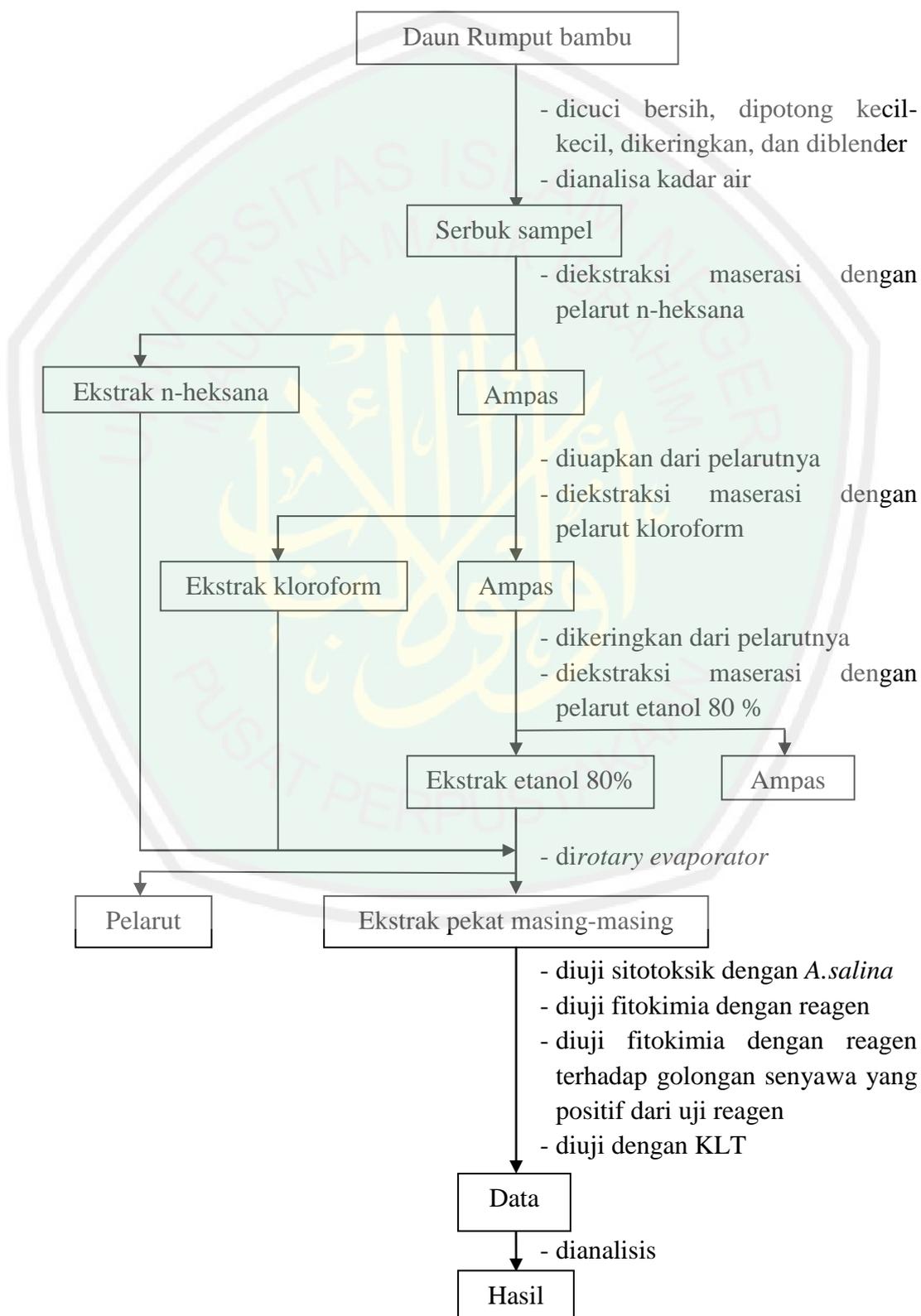
Zahro, I.M. 2011. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Triterpenoid Ekstrak n-Heksana Tanaman Ating-Ating (Acalipha indica Linn.) Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dan FTIR. Skripsi.* Malang: Jurusan Kimia Fakultas sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Zuhud, E. 2011. *Kanker Lenyap Berkat Sirsak.* Jakarta: Argomedia Pustaka.



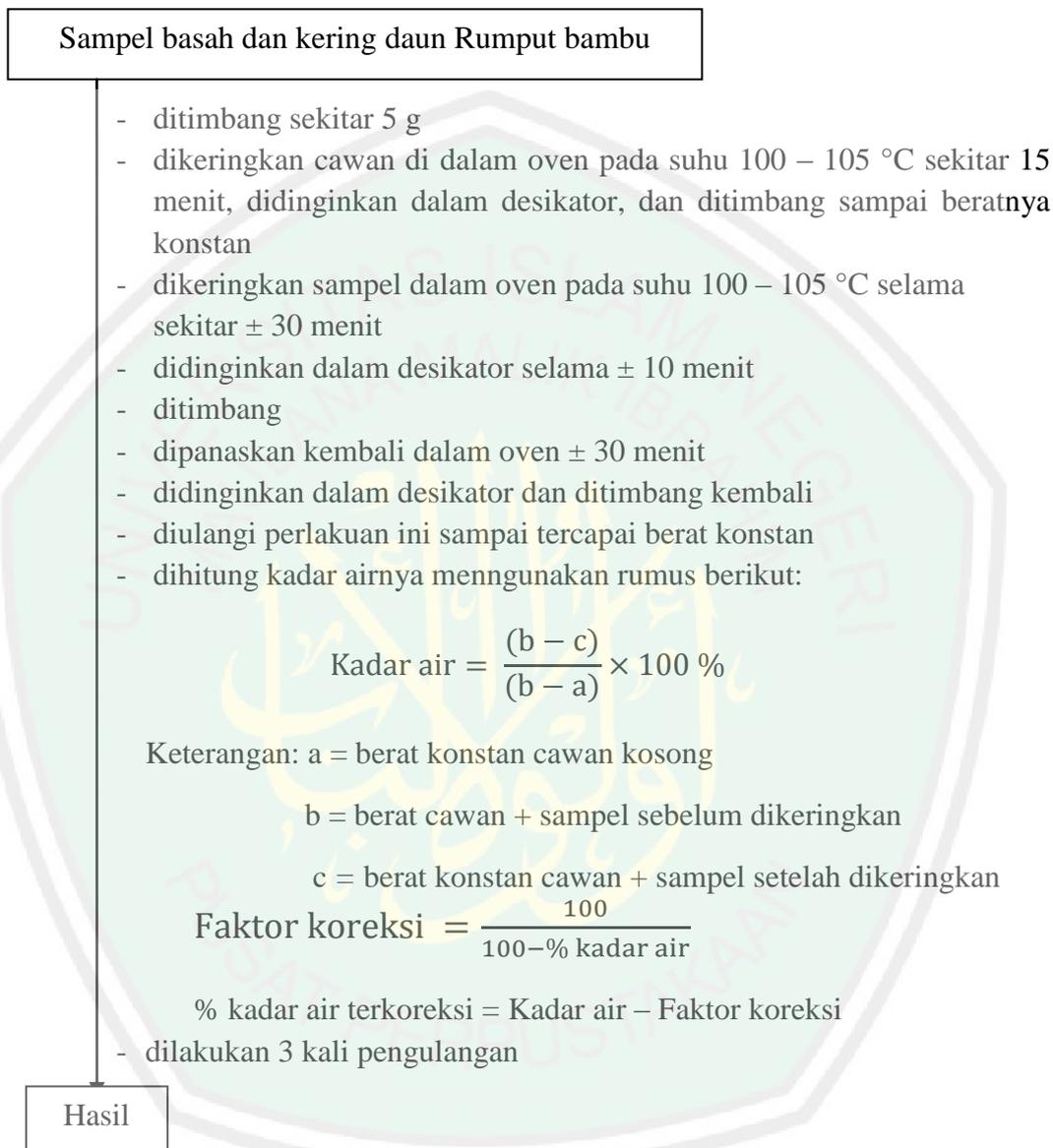
LAMPIRAN

Lampiran 1. Diagram Alir Penelitian

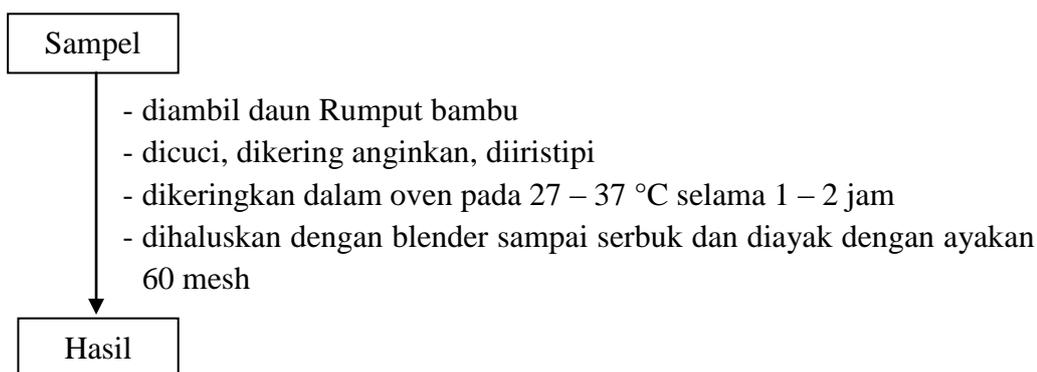


## Lampiran 2. Skema kerja

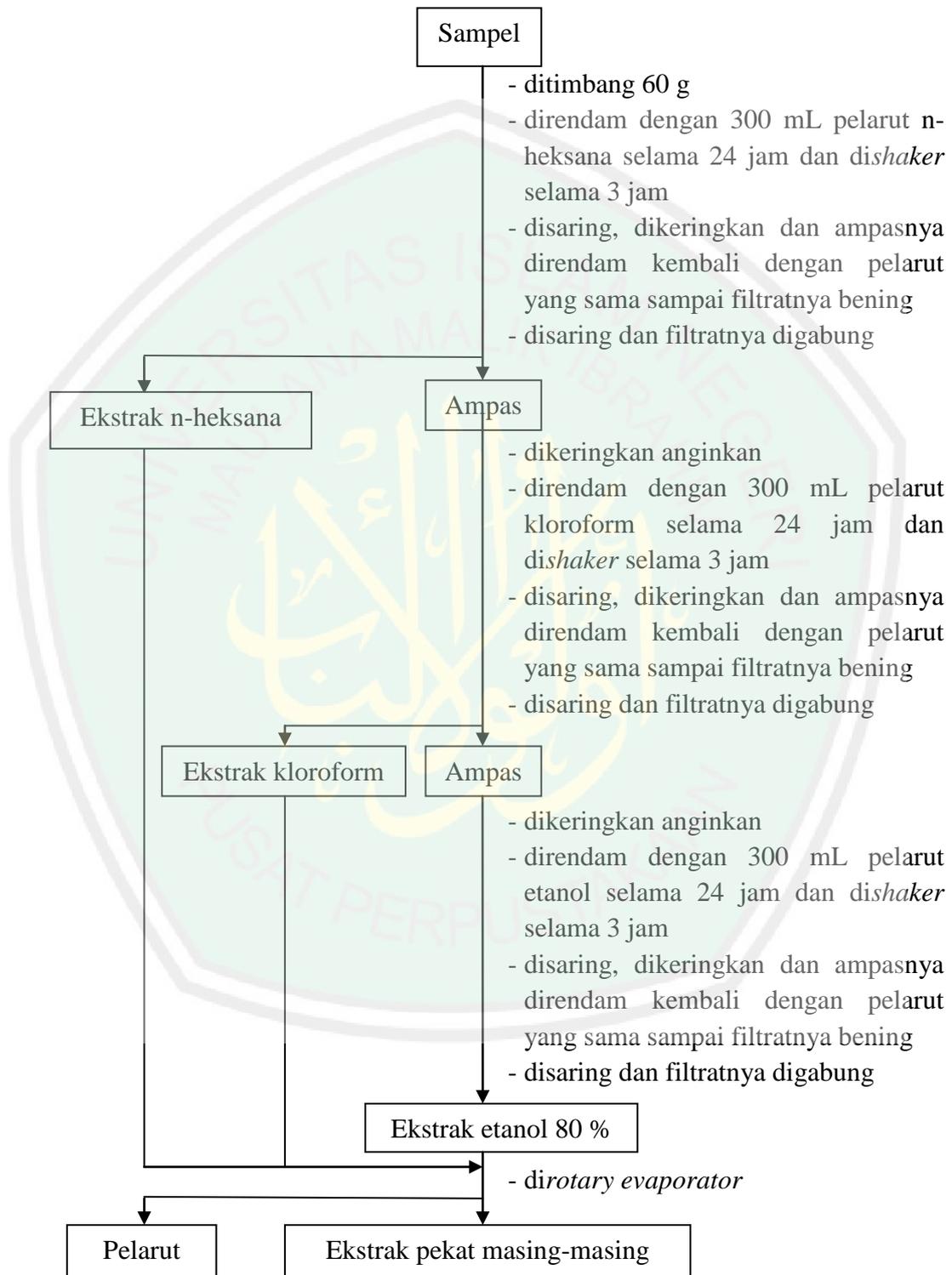
### L.2.1 Analisis Kadar Air (Helrich, 1984)



### L.2.2 Preparasi Sampel

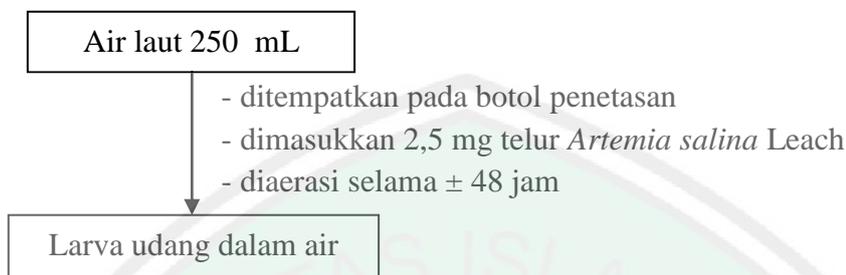


### L.2.3 Ekstraksi Komponen Aktif (Rita, 2008; Swantara, 2005; Lestari, 2012)

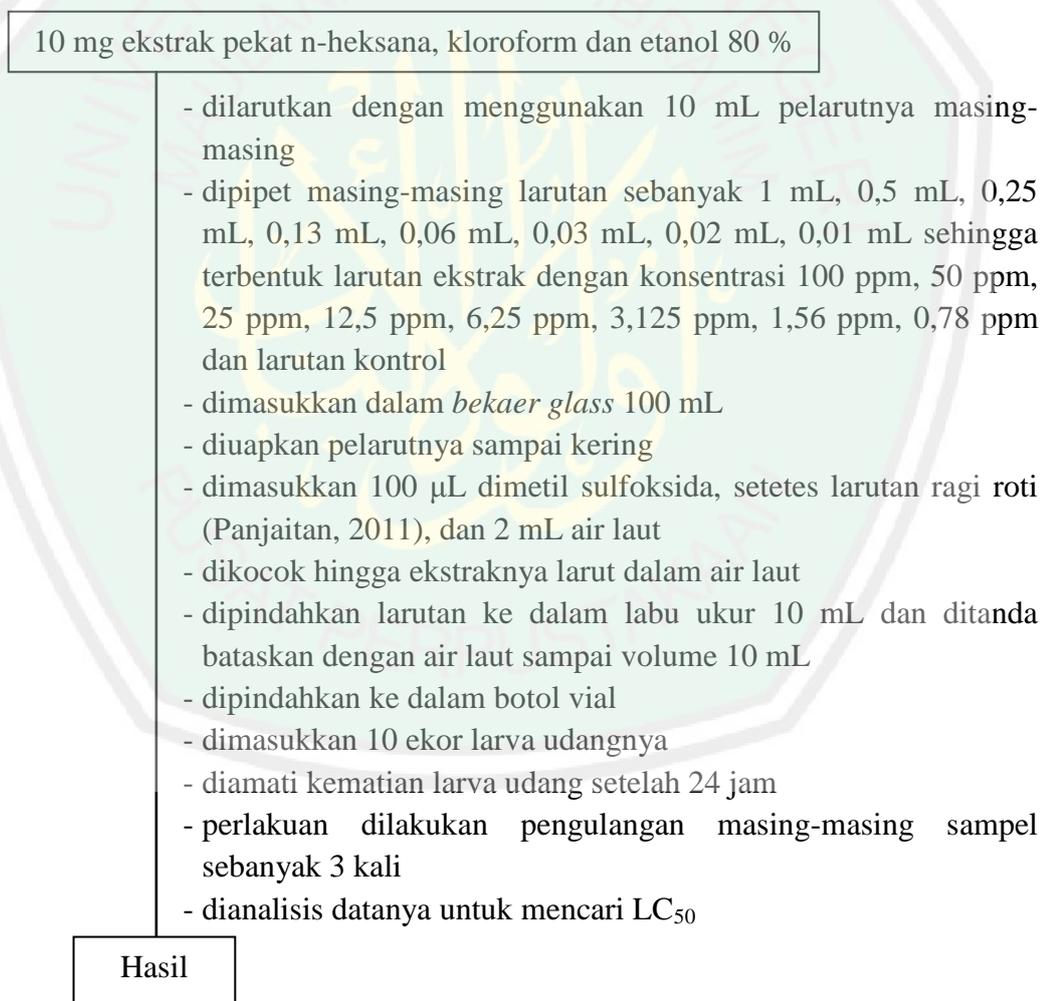


## L.2.4 Uji Aktivitas Sitotoksik Larva Udang *Artemia salina* Leach

### L.2.4.1 Penetasan Telur (Sukandar, *et al.*, 2009; Panjaitan, 2011)



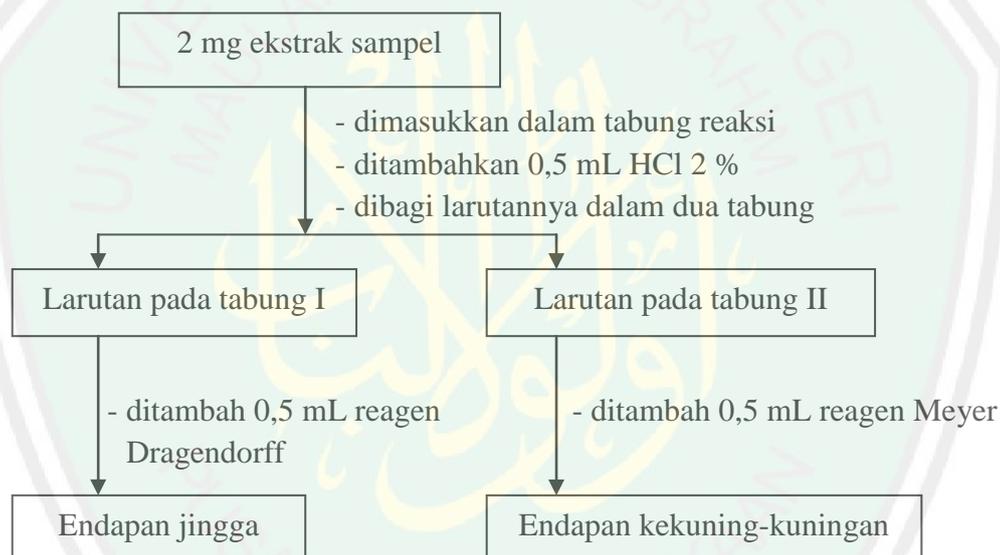
### L.2.4.2 Uji Aktivitas Sitotoksisitas (Meyer, 1982; Mc. Laughlin, 1998; Morshed, 2012)



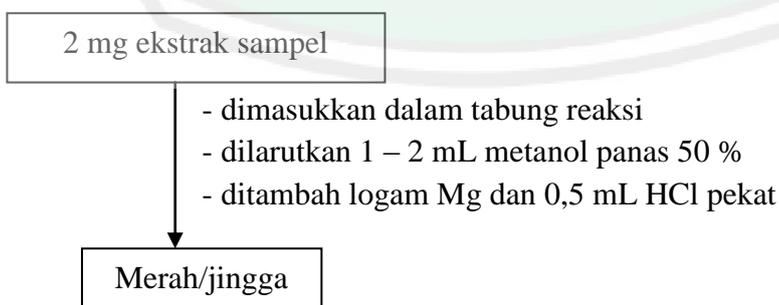
### L.2.5 Uji Fitokimia dengan Uji Reagen (Indrayani, *et al.*, 2006; Halimah, 2010)

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

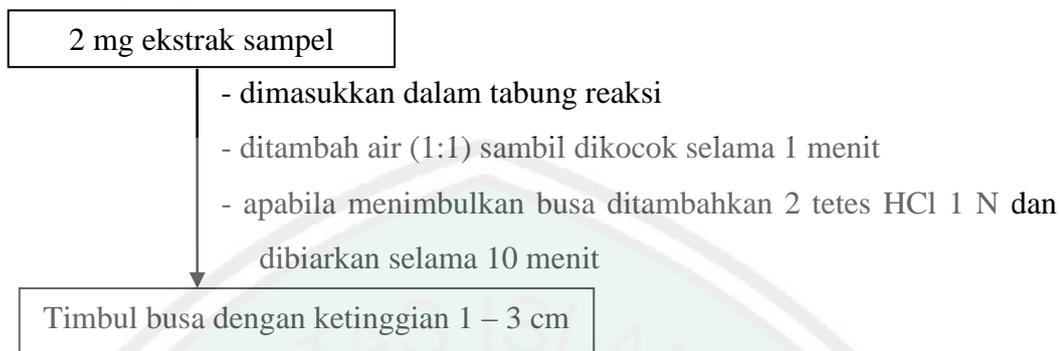
#### L.2.5.1 Uji Alkaloid



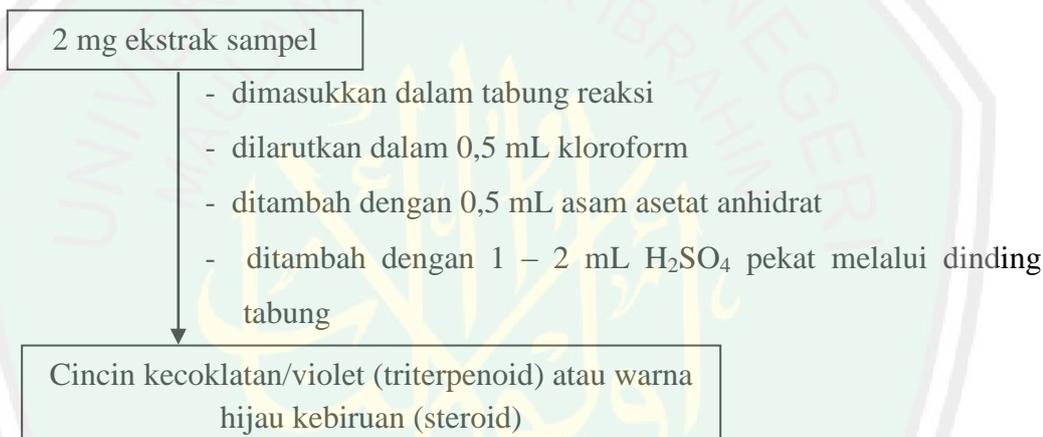
#### L.2.5.2 Uji Flavonoid



### L.2.5.3 Uji Saponin



### L.2.5.4 Uji Triterpenoid/Steroid

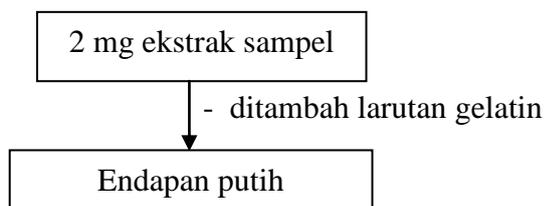


### L.2.5.5 Uji Tanin

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



#### L.2.5.5.1 Ujidengan Larutan Gelatin



### L.2.6 Uji Fitokimia dengan KLT (Depkes RI, 1994)

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



Tabel 1. Jenis-jenis fase gerak dan pendeteksi uji KLT untuk metabolit sekunder

Golongan Senyawa	Fase Gerak	Pendeteksi	Hasil Warna Noda
Alkaloid	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. etil asetat-metanol (3:1)</li> <li>2. benzena-etil asetat (1:4)</li> <li>3. kloroform-metanol (1:4)</li> <li>4. kloroform-metanol (9,5:0,5)</li> <li>5. kloroform-metanol (8:3)</li> </ol>	Pereaksi Dragendorff	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. jingga</li> <li>2. jingga, kuning</li> <li>3. jingga, kuning</li> <li>4. ungu kecoklatan, jingga kecoklatan</li> <li>5. coklat jingga berlatar belakang kuning</li> </ol>
Flavonoid	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. butanol-asam asetat-air (4:1:5)</li> <li>2. metanol-kloroform (1:9)</li> <li>3. kloroform-etil asetat (60:40)</li> <li>4. butanol-asam asetat-air (3:1:1)</li> <li>5. metanol-kloroform (1:39)</li> </ol>	Diuapi dengan amoniak	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. biru kehijauan,</li> <li>2. lembayung,</li> <li>3. kuning muda,</li> <li>4. biru,</li> <li>5. merah ungu dan merah muda</li> </ol>
Tanin	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. butanol-asam asetat- air (14:1:5)</li> <li>2. kloroform-metanol-air (7:3:0,4)</li> <li>3. asam asetat glasial-air-HCl pekat (30:10:3)</li> <li>4. butanol-asam asetat-air (2:0,5:1,1)</li> <li>5. n-heksana-etil asetat (6:4)</li> </ol>	Pereaksi FeCl <sub>3</sub>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. lembayung(366) hijau(254) ungu, ungu kehitaman, hitam</li> <li>2. hitam</li> <li>3. ungu, ungu kehitaman</li> <li>4. lembayung</li> <li>5. hijau kekuningan</li> </ol>
Saponin	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. kloroform-metanol-air (64:50:10)</li> <li>2. kloroform-metanol-air (13:7:2)</li> <li>3. kloroform-metanol (95:5)</li> </ol>	Pereaksi Lieberman-Burchard dan dipanaskan pada suhu 110 °C selama 10 menit	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. biru,</li> <li>2. hijau</li> <li>3. biru,</li> <li>4. ungu, ungu-ungu gelap</li> <li>5. ungu-ungu gelap</li> </ol>
	<ol style="list-style-type: none"> <li>4. kloroform-metanol-air (3:1:0,1)</li> <li>5. kloroform-metanol-air (20:60:10)</li> </ol>	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 50 % diikuti dengan pengeringan selama 15 menit pada suhu kamar	

		dan dipanaskan pada suhu 105 °C selama 3 menit dalam oven	
Triterpenoid	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. heksana-etil asetat (1:1)</li> <li>2. benzena-kloroform (3:7)</li> <li>3. heksana-etil asetat (8:2)</li> <li>4. heksana-etil asetat (6:4)</li> <li>5. heksana-kloroform (1:1)</li> </ol>	Pereaksi Lieberman-Burchard	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. ungu tua, ungu, merah muda keunguan</li> <li>2. ungu tua, ungu muda, ungu, merah keunguan</li> <li>3. ungu merah</li> <li>4. ungu merah</li> <li>5. merah keunguan, coklat kekuningan</li> </ol>
Steroid	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. heksana-etil asetat (7:3)</li> <li>2. heksana-etil asetat (8:2)</li> <li>3. heksana-etil asetat (6:4)</li> <li>4. kloroform-metanol (3:7)</li> <li>5. heksana-etil asetat (7:3)</li> </ol>	Pereaksi Lieberman-Burchard	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. hijau terang, hijau kekuningan, hijau kecoklatan</li> <li>2. ungu merah</li> <li>3. ungu merah</li> <li>4. ungu muda</li> <li>5. hijau terang, hijau kekuningan, hijau kecoklatan</li> </ol>

### 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 menggunakan pipet ukur 10 mL dan pengambilannya dilakukan di dalam lemari asam, kemudian larutan tersebut dimasukkan dalam labu ukur 100 mL yang telah 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 menggunakan pipet volume 0,5 mL dan pengambilannya dilakukan di dalam

lemari asam, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL yang telah 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 menimbang 0,6 g  $\text{Bi}(\text{NH}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  dengan neraca analitik, kemudian serbuk tersebut dimasukkan dalam *beaker glass* 50 mL. Selanjutnya diambil larutan HCl pekat sebanyak 2 mL menggunakan pipet ukur 5 mL di dalam lemari asam. Kemudian dimasukkan 10 mL aquades dan larutan HCl pekat 2 mL ke dalam *beaker glass* untuk melarutkan serbuk dengan dibantu pengadukan. Larutan II dibuat dengan menimbang 6 g KI dengan neraca analitik dan dimasukkan ke dalam *beaker glass* 50 mL. Kemudian ditambahkan 10 mL aquades ke dalam *beaker glass* untuk melarutkan serbuk dengan bantuan pengadukan. Kedua larutan tersebut dicampur dengan 7 mL HCl pekat dan 15 mL  $\text{H}_2\text{O}$  (Wagner, dkk., 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 menimbang  $\text{HgCl}_2$  1,358 g dengan neraca analitik dan dimasukkan dalam *beaker glass* 50 mL. Selanjutnya ditambahkan aquades 60 mL untuk melarutkan serbuk dengan bantuan pengadukan. Larutan II dibuat dengan menimbang KI 5 g dengan neraca analitik

dan dimasukkan dalam *beaker glass* 50 mL. Selanjutnya ditambahkan aquades 10 mL untuk melarutkan serbuk dengan bantuan pengadukan. Kemudian larutan II dimasukkan dalam labu ukur 100 mL dan larutan I dituangkan ke dalam larutan II. Selanjutnya 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 diambil sebanyak 5 mL dengan pipet volume 5 mL dan pengambilannya dilakukan di dalam lemari asam. Setelah itu larutan asam sulfat tersebut dimasukkan ke dalam *beaker glass* 100 mL. Kemudian diambil larutan anhidrida asetat sebanyak 5 mL di dalam lemari asam dan dimasukkan ke dalam *beaker glass* yang telah berisi asam sulfat. Selanjutnya diambil larutan etanol absolut 50 mL di dalam lemari asam dan dicampurkan ke dalam asam sulfat dan anhidrida. Kemudian ketiga campuran larutan tersebut dipindahkan ke dalam botol kaca dan didinginkan di dalam lemari pendingin. Penggunaan reagen ini digunakan langsung setelah pembuatan (Wagner, dkk., 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 di dalam lemari asam menggunakan pipet volume 5 mL. Kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL yang telah berisi  $\pm$  5 mL aquades. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

### L.3.7 Pembuatan $\text{FeCl}_3$ 1 %

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

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

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

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

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

Cara pembuatannya adalah ditimbang serbuk  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  sebanyak 1 g menggunakan neraca analitik dan dimasukkan ke dalam *beaker glass* 100 mL. Kemudian ditambahkan aquades sebanyak 99 mL untuk melarutkan serbuk tersebut dengan bantuan pengadukan.

### L.3.8 Pembuatan $\text{NH}_3$ 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  $\text{NH}_3$  50 % sebanyak 2 mL di dalam lemari asam menggunakan pipet ukur 5 mL, kemudian dimasukkan dalam labu

ukur 10 mL yang telah berisi  $\pm 5$  mL aquades. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

### L.3.9 Pembuatan Larutan Gelatin

Cara pembuatannya adalah ditimbang serbuk gelatin 2,5 g menggunakan neraca analitik dan dimasukkan ke dalam beaker glass 100 mL. Kemudian ditambahkan dengan 50 mL larutan garam NaCl jenuh. Selanjutnya dipanaskan sampai gelatin larut seluruhnya. Setelah dingin, larutan tersebut dipindahkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambah larutan garam NaCl jenuh sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen (Sudarmadji, dkk., 2007).

### L.3.10 Perhitungan Konsentrasi Larutan Ekstrak Untuk Uji Toksisitas

#### a. Pembuatan Larutan Stok 1000 ppm Ekstrak Daun Rumput Bambu

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

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

#### a. Pembuatan Larutan Ekstrak 100 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\ V_1 \times 1000 \text{ ppm} &= 10 \cdot 10^{-3} \text{ L} \times 100 \text{ ppm} \\ V_1 &= 10 \cdot 10^{-1} \text{ L} \cdot \text{ppm} / 10 \cdot 10^2 \text{ ppm} \end{aligned}$$

$$V_1 = 1. 10^{-3} \text{ L} = 1 \text{ mL}$$

Jadi, larutan ekstrak 100 ppm dibuat dengan mengambil 1 mL larutan stok dengan mikropipet dan dimasukkan ke dalam botol vial. Kemudian dilarutkan dalam 10 mL air laut.

#### **b. Pembuatan Larutan Ekstrak 50 ppm**

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

$$V_1 \times 1000 \text{ ppm} = 10. 10^{-3} \text{ L} \times 50 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ L.ppm} / 10. 10^2 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 5. 10^{-4} \text{ L} = 0,5 \text{ mL}$$

Jadi, larutan ekstrak 50 ppm dibuat dengan mengambil 0,5 mL larutan stok dengan mikropipet dan dimasukkan ke dalam botol vial. Kemudian dilarutkan dalam 10 mL air laut.

#### **c. Pembuatan Larutan Ekstrak 25 ppm**

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

$$V_1 \times 1000 \text{ ppm} = 10. 10^{-3} \text{ L} \times 25 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 0,25 \text{ L.ppm} / 10. 10^2 \text{ ppm}$$

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

Jadi, larutan ekstrak 25 ppm dibuat dengan mengambil 0,25 mL larutan stok dengan mikropipet dan dimasukkan ke dalam botol vial. Kemudian dilarutkan dalam 10 mL air laut.

#### **d. Pembuatan Larutan Ekstrak 12,5 ppm**

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

$$V_1 \times 1000 \text{ ppm} = 10. 10^{-3} \text{ L} \times 12,5 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 0,125 \text{ L.ppm} / 10. 10^2 \text{ ppm}$$

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

Jadi, larutan ekstrak 12,5 ppm dibuat dengan mengambil 0,125 mL larutan stok dengan mikropipet dan dimasukkan ke dalam botol vial. Kemudian dilarutkan dalam 10 mL air laut.

**e. Pembuatan Larutan Ekstrak 6,25 ppm**

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

$$V_1 \times 1000 \text{ ppm} = 10. 10^{-3} \text{ L} \times 6,25 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 0,0625 \text{ L.ppm} / 10. 10^2 \text{ ppm}$$

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

Jadi, larutan ekstrak 6,25 ppm dibuat dengan mengambil 0,0625 mL larutan stok dengan mikropipet dan dimasukkan ke dalam botol vial. Kemudian dilarutkan dalam 10 mL air laut.

**f. Pembuatan Larutan Ekstrak 3,125 ppm**

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

$$V_1 \times 1000 \text{ ppm} = 10. 10^{-3} \text{ L} \times 3,125 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 0,03125 \text{ L.ppm} / 10. 10^2 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 3,125. 10^{-5} \text{ L} = 0,03125 \text{ mL}$$

Jadi, larutan ekstrak 3,125 ppm dibuat dengan mengambil 0,03125 mL larutan stok dengan mikropipet dan dimasukkan ke dalam botol vial. Kemudian dilarutkan dalam 10 mL air laut.

**g. Pembuatan Larutan Ekstrak 1,56 ppm**

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

$$V_1 \times 1000 \text{ ppm} = 10. 10^{-3} \text{ L} \times 1,56 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 0,0156 \text{ L.ppm} / 10. 10^2 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 1,56. 10^{-5} \text{ L} = 0,0156 \text{ mL}$$

Jadi, larutan ekstrak 1,56 ppm dibuat dengan mengambil 0,0156 mL larutan stok dengan mikropipet dan dimasukkan ke dalam botol vial. Kemudian dilarutkan dalam 10 mL air laut.

**h. Pembuatan Larutan Ekstrak 0,78 ppm**

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

$$V_1 \times 1000 \text{ ppm} = 10. 10^{-3} \text{ L} \times 0,78 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 0,0078 \text{ L.ppm} / 10. 10^2 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 7,81. 10^{-6} \text{ L} = 0,0078125 \text{ mL}$$

Jadi, larutan ekstrak 0,78 ppm dibuat dengan mengambil 0,0078 mL larutan stok dengan mikropipet dan dimasukkan ke dalam botol vial. Kemudian dilarutkan dalam 10 mL air laut

## Lampiran 4 Perhitungan Kadar Air

### 1. Data Pengukuran Kadar Air Sampel Basah Daun Rumpuk Bambu

Ulangan cawan	Berat Cawan Kosong (gr)					Rata-rata berat konstan
	Sebelum dioven	P1	P2	P3	P4	
A1	54,639	54,637	54,634	54,633	54,634	54,635
A2	53,960	53,958	53,955	53,955	53,956	53,956
A3	60,019	60,017	60,013	60,013	60,013	60,014

Ulangan sampel	Berat Cawan+Sampel (gr)											Rata-rata berat konstan
	Sebelum dioven	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	
A1	59,635	55,411	55,345	55,344	55,345	55,343	55,337	55,338	55,337	55,334	55,330	55,335
A2	58,956	55,325	54,646	54,646	54,645	55,642	55,639	54,639	54,639	54,634	54,633	54,637
A3	65,013	60,898	60,756	60,716	60,717	60,713	60,711	60,708	60,709	60,705	60,703	60,707

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:

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

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

% 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 (A1)

$$\begin{aligned}\text{Kadar air} &= \frac{b - c}{b - a} \times 100\% \\ &= \frac{59,635 - 55,335}{59,635 - 54,635} \times 100\% \\ &= \frac{4,3}{5} \times 100\% \\ &= 86,00\%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Faktor koreksi} &= \frac{100}{100\% - \% \text{ kadar air}} \\ &= \frac{100}{100\% - 86\%} \\ &= 7,143 \%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\% \text{ Kadar air terkoreksi} &= \text{Kadar air} - \text{faktor koreksi} \\ &= 86 \% - 7,143 \% \\ &= 78,857 \%\end{aligned}$$

b) Ulangan ke-2 (A2)

$$\begin{aligned}\text{Kadar air} &= \frac{b - c}{b - a} \times 100\% \\ &= \frac{58,956 - 54,637}{58,956 - 53,956} \times 100\% \\ &= \frac{4,319}{5} \times 100\% \\ &= 86,38\%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Faktor koreksi} &= \frac{100}{100\% - \% \text{ kadar air}} \\ &= \frac{100}{100\% - 86,38\%} \\ &= 7,342 \%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\% \text{ Kadar air terkoreksi} &= \text{Kadar air} - \text{faktor koreksi} \\ &= 86,38 \% - 7,342 \% \\ &= 79,038 \%\end{aligned}$$

c) Ulangan ke-3 (A3)

$$\begin{aligned}\text{Kadar air} &= \frac{b - c}{b - a} \times 100\% \\ &= \frac{65,013 - 60,707}{65,013 - 60,014} \times 100\% \\ &= \frac{4,306}{4,999} \times 100\% \\ &= 86,137\%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Faktor koreksi} &= \frac{100}{100\% - \% \text{ kadar air}} \\ &= \frac{100}{100\% - 86,137\%} \\ &= 7,213 \%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\% \text{ Kadar air terkoreksi} &= \text{Kadar air} - \text{faktor koreksi} \\ &= 86,137 \% - 7,213 \% \\ &= 78,924 \%\end{aligned}$$

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

$$\text{Rata-rata kadar air} = \frac{86,00\% + 86,38\% + 86,137\%}{3} = 86,17\%$$

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

$$\text{Rata-rata faktor koreksi} = \frac{7,143\% + 7,342\% + 7,213\%}{3} = 7,23\%$$

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

$$\text{Rata-rata kadar air terkoreksi} = \frac{78,857\% + 79,038\% + 78,924\%}{3} = 78,94\%$$

## 2. Data Pengukuran Kadar Air Sampel Kering Daun Rumpuk Bambu

Ulangan cawan	Berat Cawan Kosong (gr)					Rata-rata berat konstan
	Sebelum dioven	P1	P2	P3	P4	
B1	54,629	54,638	54,637	54,637	54,634	54,637
B2	53,954	53,960	53,959	53,958	53,956	53,958
B3	60,019	60,018	60,019	60,017	60,013	60,017

Ulangan sampel	Berat Cawan+Sampel (gr)									Rata-rata berat konstan
	Sebelum dioven	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	
B1	59,637	59,202	59,171	59,170	59,169	59,163	59,163	59,161	59,160	59,163
B2	58,959	58,550	58,495	58,492	58,487	58,481	58,483	58,480	58,481	58,482
B3	65,020	64,644	64,560	64,562	64,561	64,564	64,560	64,561	64,561	64,561

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:

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

Keterangan:

a = berat cawan kosong

b = berat cawan + sampel sebelum dikeringkan

c = berat cawan konstan+ sampel setelah dikeringkan

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

% kadar air terkoreksi = Kadar air – faktor koreksi

a) Ulangan ke-1 (B1)

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{b - c}{b - a} \times 100\% \\ &= \frac{59,637 - 59,163}{59,637 - 54,637} \times 100\% \\ &= \frac{0,474}{5} \times 100\% \\ &= 9,48\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Faktor koreksi} &= \frac{100}{100\% - \% \text{ kadar air}} \\ &= \frac{100}{100\% - 9,48\%} \\ &= 1,105\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ Kadar air terkoreksi} &= \text{Kadar air} - \text{faktor koreksi} \\ &= 9,48\% - 1,105\% \\ &= 8,375\% \end{aligned}$$

b) Ulangan ke-2 (B2)

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{b - c}{b - a} \times 100\% \\ &= \frac{58,959 - 58,482}{58,959 - 53,9958} \times 100\% \\ &= \frac{0,477}{5,001} \times 100\% \\ &= 9,5\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Faktor koreksi} &= \frac{100}{100\% - \% \text{ kadar air}} \\ &= \frac{100}{100\% - 9,5\%} \\ &= 1,105\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ Kadar air terkoreksi} &= \text{Kadar air} - \text{faktor koreksi} \\ &= 9,5\% - 1,105\% \\ &= 8,395\% \end{aligned}$$

c) Ulangan ke-3 (A3)

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{b - c}{b - a} \times 100\% \\ &= \frac{65,020 - 64,561}{65,020 - 60,017} \times 100\% \\ &= \frac{0,459}{5,003} \times 100\% \\ &= 9,175\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Faktor koreksi} &= \frac{100}{100\% - \% \text{ kadar air}} \\ &= \frac{100}{100\% - 9,175\%} \\ &= 1,101\% \end{aligned}$$

Kadar air yang terkandung pada sampel basah dan sampel kering daun rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) pada setiap pengulangannya adalah:

Sampel daun Rumput bambu	Kadar air yang terkandung dalam sampel			
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata
Basah	78,857 %	79,038 %	78,924 %	78,94 %
Kering	8,375 %	8,395 %	8,074 %	8,28 %

% Kadar air terkoreksi = Kadar air – faktor koreksi

$$\begin{aligned} &= 9,175\% - 1,101\% \\ &= 8,074\% \end{aligned}$$

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

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata kadar air} &= \frac{9,48\% + 9,5\% + 9,175\%}{3} \\ &= 9,39\% \end{aligned}$$

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

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata faktor koreksi} &= \frac{1,105\% + 1,105\% + 1,101\%}{3} \\ &= 1,10\% \end{aligned}$$

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

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata kadar air terkoreksi} &= \frac{8,37\% + 8,395\% + 8,074\%}{3} \\ &= 8,28\% \end{aligned}$$



**Lampiran 5. Perhitungan Rendemen Ekstrak Daun Rumput Bambu  
(*Lophaterium gracile* B.)**

**1. Ekstrak N-Heksana**

Berat sampel	= 60,112 g
Berat gelas vial kosong	= 88,262 g
Berat gelas vial kosong + ekstrak pekat	= 89,644 g
Berat ekstrak pekat	= 89,644 – 88,262 = 1,382 g
Rendemen = $\frac{(\text{berat ekstrak pekat})}{(\text{berat sampel})} \times 100 \%$	= $\frac{1,382 \text{ g}}{60,112 \text{ g}} \times 100 \%$ = 2,30 %

**2. Ekstrak Kloroform**

Berat sampel	= 60,112 g
Berat gelas vial kosong	= 87,760 g
Berat gelas vial kosong + ekstrak pekat	= 89,358 g
Berat ekstrak pekat	= 89,358 – 87,760 = 1,578 g
Rendemen = $\frac{(\text{berat ekstrak pekat})}{(\text{berat sampel})} \times 100 \%$	= $\frac{1,578 \text{ g}}{60,112 \text{ g}} \times 100 \%$ = 2,63 %

**3. Ekstrak Etanol 80 %**

Berat sampel	= 60,112 g
Berat gelas vial kosong	= 55,895 g
Berat gelas vial kosong + ekstrak pekat	= 59,713 g

$$\text{Berat ekstrak pekat} = 59,713 - 55,895 = 3,818 \text{ g}$$

$$\text{Rendemen} = \frac{(\text{berat ekstrak pekat})}{(\text{berat sampel})} \times 100 \% = \frac{3,818 \text{ g}}{60,112 \text{ g}} \times 100 \% = 6,35 \%$$



**Lampiran 6. Data Kematian Larva dan Perhitungan LC<sub>50</sub> Uji Toksisitas Masing-masing Ekstrak Daun Rumput Bambu (*Lophaterium gracile* B.)**

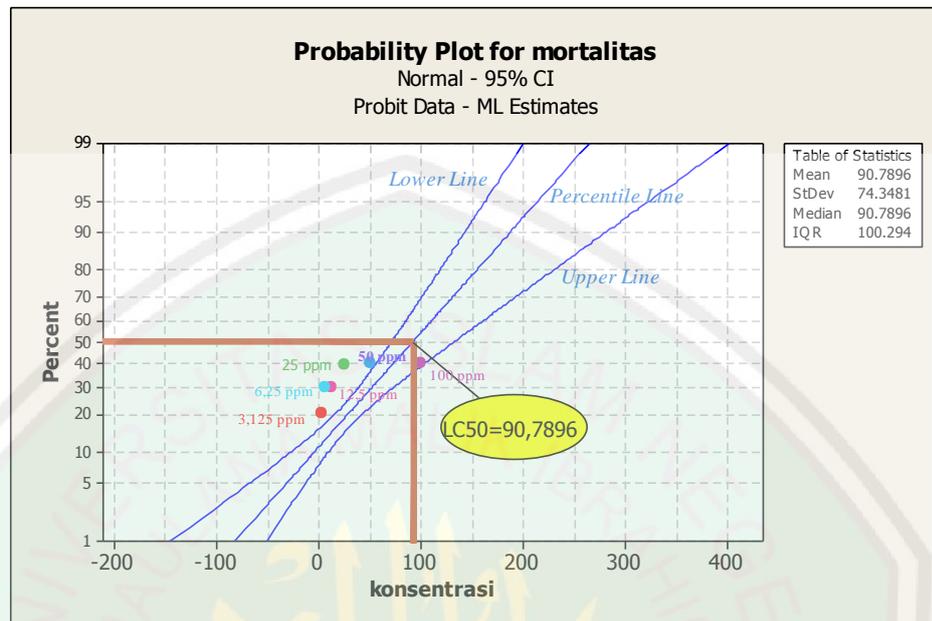
**1. Ekstrak N-heksana**

Konsentrasi (ppm)	Jumlah Larva yang mati (ekor)			Modus	% Mortalitas	Mortalitas
	I	II	III			
Kontrol Media	1	0	0	0	0	0
Kontrol air laut	0	0	0	0	0	0
Kontrol pelarut	0	0	1	0	0	0
0.78	0	0	0	0	0	0
1.5625	1	0	0	0	0	0
3.125	2	2	1	2	20	6
6.25	3	3	1	3	30	9
12.5	3	3	3	3	30	9
25	4	4	3	4	40	12
50	4	3	4	4	40	12
100	4	4	4	4	40	12

$$\% \text{ Mortalitas} = \frac{\text{Modus}}{10 \text{ ekor larva Artemia salina}} \times 100\%$$

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

mortalitas	Jumlah semua hewan uji (ekor)	Konsentrasi (ppm)
0	30	0
0	30	0
0	30	0
0	30	0,78
0	30	1,5625
6	30	3,125
9	30	6,25
9	30	12,5
12	30	25
12	30	50
12	30	100



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

Distribution: Normal  
Response Information

Variable	Value	Count
mortalitas	Event	60
	Non-event	270
jumlah hewan	Total	330

Estimation Method: Maximum Likelihood  
Regression Table

Variable	Coef	Standard Error	Z	P
Constant	-1.22114	0.105075	-11.62	0.000
konsentrasi	0.0134502	0.0024968	5.39	0.000
Natural Response		0		

Log-Likelihood = -142.006  
Goodness-of-Fit Tests

Method	Chi-Square	DF	P
Pearson	47.7304	7	0.000
Deviance	59.5421	7	0.000

Tolerance Distribution

Parameter Estimates

Parameter	Estimate	Standard Error	95.0% Normal CI Lower	95.0% Normal CI Upper
Mean	90.7896	13.6803	63.9767	117.603
StDev	74.3481	13.8012	51.6727	106.974

Table of Percentiles

Percent	Percentile	Standard Error	95.0% Fiducial CI	
			Lower	Upper
1	-82.1699	20.8952	-145.478	-51.6352
2	-61.9027	17.3419	-114.034	-36.3607
3	-49.0438	15.1398	-94.1892	-26.5641
4	-39.3705	13.5247	-79.3447	-19.1105
5	-31.5021	12.2482	-67.3458	-12.9715
6	-24.8048	11.1971	-57.2063	-7.67293
7	-18.9326	10.3107	-48.3895	-2.95354
8	-13.6748	9.55289	-40.5708	1.34780
9	-8.89294	8.90068	-33.5391	5.33884
10	-4.49128	8.33884	-27.1500	9.09616
20	28.2167	6.27592	15.4578	41.8846
30	51.8015	7.96218	38.6172	73.0912
40	71.9538	10.6903	55.4846	102.677
50	90.7896	13.6803	70.3171	131.264
60	109.626	16.8663	84.7476	160.253
70	129.778	20.3879	99.9586	191.496
80	153.363	24.5917	117.596	228.224
90	186.071	30.5029	141.894	279.322
91	190.472	31.3031	145.155	286.208
92	195.254	32.1733	148.695	293.690
93	200.512	33.1313	152.586	301.919
94	206.384	34.2024	156.929	311.113
95	213.081	35.4254	161.880	321.600
96	220.950	36.8640	167.692	333.925
97	230.623	38.6348	174.834	349.082
98	243.482	40.9922	184.320	369.237
99	263.749	44.7140	199.260	401.016

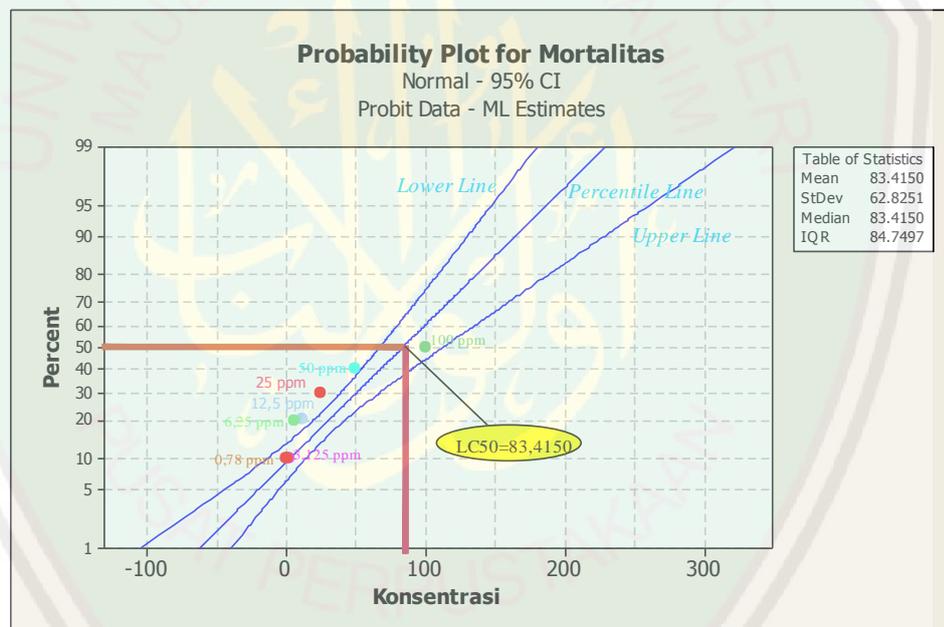
## 2. Ekstrak Kloroform

Konsentrasi (ppm)	Jumlah Larva yang mati (ekor)			Modus	% Mortalitas	Mortalitas
	I	II	III			
Kontrol Media	0	0	0	0	0	0
Kontrol air laut	0	0	0	0	0	0
Kontrol pelarut	0	0	0	0	0	0
0.78	1	1	1	1	10	3
1.5625	1	1	0	1	10	3
3.125	1	2	1	1	10	3
6.25	2	1	2	2	20	6
12.5	2	3	2	2	20	6
25	3	1	3	3	30	9
50	4	4	4	4	40	12
100	5	5	6	5	50	15

$$\% \text{ Mortalitas} = \frac{\text{Modus}}{10 \text{ ekor larva Artemia salina}} \times 100\%$$

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

mortalitas	Jumlah semua hewan uji (ekor)	Konsentrasi (ppm)
0	30	0
0	30	0
0	30	0
3	30	0,78
3	30	1,5625
3	30	3,125
6	30	6,25
6	30	12,5
9	30	25
12	30	50
15	30	100



### Probit Analysis: Mortalitas, jumlah hewan versus Konsentrasi

Distribution: Normal  
Response Information

Variable	Value	Count
Mortalitas	Event	57
	Non-event	273
jumlah hewan	Total	330

Estimation Method: Maximum Likelihood

Regression Table

Variable	Coef	Standard Error	Z	P
Constant	-1.32773	0.109312	-12.15	0.000
Konsentrasi	0.0159172	0.0025327	6.28	0.000

Natural  
Response 0

Log-Likelihood = -131.667

#### Goodness-of-Fit Tests

Method	Chi-Square	DF	P
Pearson	19.0153	7	0.008
Deviance	26.1485	7	0.000

#### Tolerance Distribution

#### Parameter Estimates

Parameter	Estimate	Standard Error	95.0% Normal CI	
			Lower	Upper
Mean	83.4150	10.6148	62.6104	104.220
StDev	62.8251	9.99642	45.9932	85.8167

#### Table of Percentiles

Percent	Percentile	Standard Error	95.0% Fiducial CI	
			Lower	Upper
1	-62.7379	15.1670	-105.041	-39.5980
2	-45.6119	12.6625	-80.5906	-26.1058
3	-34.7459	11.1274	-65.1863	-17.4370
4	-26.5719	10.0143	-53.6830	-10.8310
5	-19.9230	9.14551	-44.4009	-5.38266
6	-14.2637	8.44008	-36.5707	-0.674824
7	-9.30164	7.85444	-29.7738	3.52162
8	-4.85868	7.36246	-23.7563	7.34728
9	-0.817993	6.94731	-18.3522	10.8953
10	2.90147	6.59753	-13.4474	14.2308
20	30.5401	5.50137	19.6499	42.3661
30	50.4695	6.68605	39.0465	67.1224
40	67.4985	8.54249	53.7732	90.1229
50	83.4150	10.6148	66.8315	112.327
60	99.3316	12.8531	79.5508	134.870
70	116.361	15.3494	92.9543	159.194
80	136.290	18.3479	108.487	187.815
90	163.929	22.5845	129.873	227.661
91	167.648	23.1592	132.742	233.033
92	171.689	23.7846	135.856	238.870
93	176.132	24.4732	139.279	245.290
94	181.094	25.2434	143.100	252.463
95	186.753	26.1233	147.454	260.647
96	193.402	27.1588	152.567	270.265
97	201.576	28.4341	158.847	282.094
98	212.442	30.1327	167.190	297.824
99	229.568	32.8164	180.326	322.630

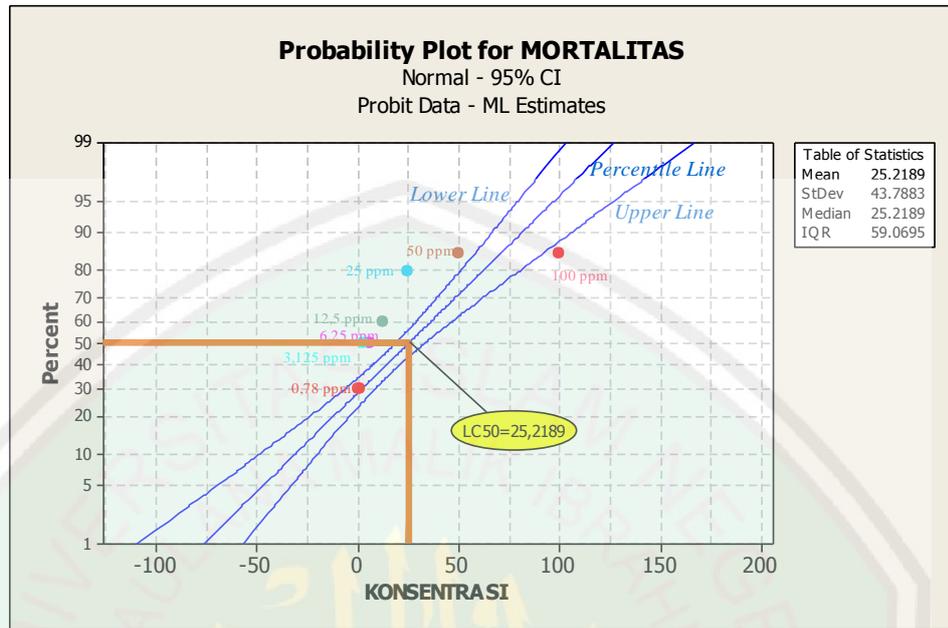
### 3. kstrak Etanol 80 %

Konsentrasi (ppm)	Jumlah Larva yang mati (ekor)			Modus	% Mortalitas	Mortalitas
	I	II	III			
Kontrol Media	0	0	0	0	0	0
Kontrol air laut	0	0	0	0	0	0
Kontrol pelarut	0	0	1	0	0	0
0.78	3	3	3	3	30	9
1.5625	4	3	3	3	30	9
3.125	3	3	3	3	30	9
6.25	5	5	5	5	50	15
12.5	5	5	6	5	50	15
25	6	5	6	6	60	18
50	7	8	8	8	80	24
100	9	9	9	9	90	27

$$\% \text{ Mortalitas} = \frac{\text{Modus}}{10 \text{ ekor larva Artemia salina}} \times 100\%$$

Mortalitas = % mortalitas x jumlah semua hewan uji

mortalitas	Jumlah semua hewan uji (ekor)	Konsentrasi (ppm)
0	30	0
0	30	0
0	30	0
9	30	0,78
9	30	1,5625
9	30	3,125
15	30	6,25
15	30	12,5
18	30	25
24	30	50
27	30	100



**Probit Analysis: MORTALITAS, JUMLAH HEWAN versus KONSENTRASI**

Distribution: Normal

Response Information

Variable	Value	Count
MORTALITAS	Event	141
	Non-event	189
JUMLAH HEWAN	Total	330

Estimation Method: Maximum Likelihood

Regression Table

Variable	Coef	Standard Error	Z	P
Constant	-0.575927	0.0869547	-6.62	0.000
KONSENTRASI	0.0228371	0.0030190	7.56	0.000
Natural Response	0			

Log-Likelihood = -188.863

Goodness-of-Fit Tests

Method	Chi-Square	DF	P
Pearson	83.764	7	0.000
Deviance	101.310	7	0.000

Tolerance Distribution

Parameter Estimates

Standard 95.0% Normal CI

Parameter	Estimate	Error	Lower	Upper
Mean	25.2189	3.54621	18.2684	32.1693
StDev	43.7883	5.78872	33.7934	56.7395

Table of Percentiles

Percent	Percentile	Standard Error	95.0% Fiducial CI	
			Lower	Upper
1	-76.6480	12.5217	-109.476	-56.9803
2	-64.7113	11.0061	-93.4881	-47.3773
3	-57.1379	10.0544	-83.3637	-41.2648
4	-51.4407	9.34532	-75.7610	-36.6531
5	-46.8065	8.77396	-69.5876	-32.8911
6	-42.8620	8.29229	-64.3422	-29.6798
7	-39.4035	7.87413	-59.7514	-26.8559
8	-36.3068	7.50358	-55.6486	-24.3196
9	-33.4905	7.17025	-51.9245	-22.0057
10	-30.8981	6.86696	-48.5036	-19.8686
20	-11.6343	4.78307	-23.4266	-3.64532
30	2.25625	3.66339	-6.13426	8.84274
40	14.1252	3.26843	7.44470	20.7101
50	25.2189	3.54621	18.7342	33.2046
60	36.3125	4.33245	28.9343	46.7885
70	48.1815	5.49187	39.1839	61.9851
80	62.0720	7.05297	50.7635	80.1860
90	81.3359	9.38433	66.4886	105.761
91	83.9283	9.70633	68.5884	109.219
92	86.7446	10.0577	70.8665	112.979
93	89.8413	10.4457	73.3680	117.117
94	93.2998	10.8809	76.1581	121.741
95	97.2442	11.3794	79.3361	127.020
96	101.878	11.9675	83.0649	133.227
97	107.576	12.6937	87.6427	140.863
98	115.149	13.6636	93.7192	151.024
99	127.086	15.2005	103.280	167.054

## Lampiran 7 Perhitungan Nilai LC<sub>50</sub> Ekstrak Daun Rumpun Bambu secara Manual

### 1. Ekstrak Kasar N-heksana

Konsentrasi (ppm)	Log konsentrasi (x)	Jumlah larva (ekor)	Jumlah larva yang mati (ekor) <sup>#</sup>	% Mortalitas	Mortalitas	Proit % mortalitas (y)*
0*	-	30	0	0	0	-
0**	-	30	0	0	0	-
0***	-	30	0	0	0	-
0.78	-0.107	30	0	0	0	-
1.56	0.1931	30	0	0	0	-
3.125	0.4948	30	2	20	0	4.16
6.25	0.7958	30	3	30	0	4.48
12.5	1.096	30	3	30	9	4.48
25	1.397	30	4	40	12	4.75
50	1.698	30	4	40	12	4.75
100	2	30	4	40	12	4.75

Keterangan : \* kontrol media(DMSO tanpa ekstrak)

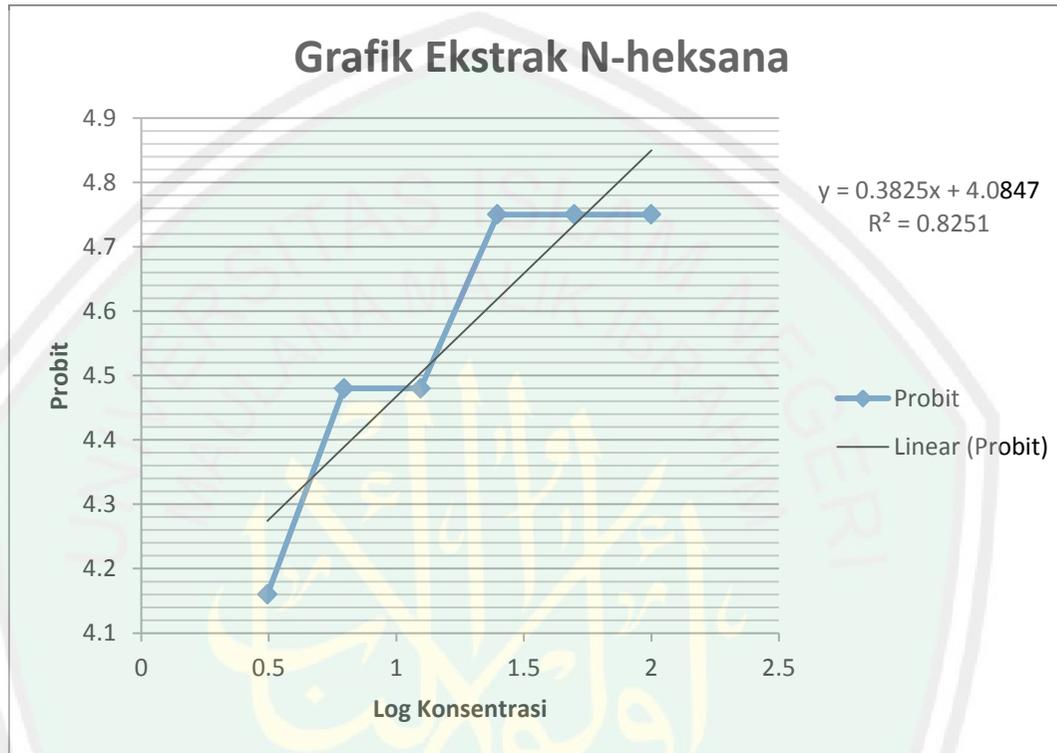
\*\* kontrol pelarut metanol-air (90:10)

\*\*\* kontrol air laut

# diambil dari data modus (angka yang sering muncul) pada kematian larva

Keterangan \*= data terlampir

➤ Grafik hubungan antara Log Konsentrasi (x) dan Probit (y) pada ekstrak n-heksana



Dicari nilai x

$$y = 0.3825x + 4.0847$$

$$5 = 0.3825x + 4.0847$$

$$0.3825x = 5 - 4.0847$$

$$0.3825x = 0.9153$$

$$x = 2.3929$$

Nilai  $LC_{50}$  = antilog x

$$= \text{antilog}(2.3929)$$

$$= 247.1156 \text{ ppm}$$

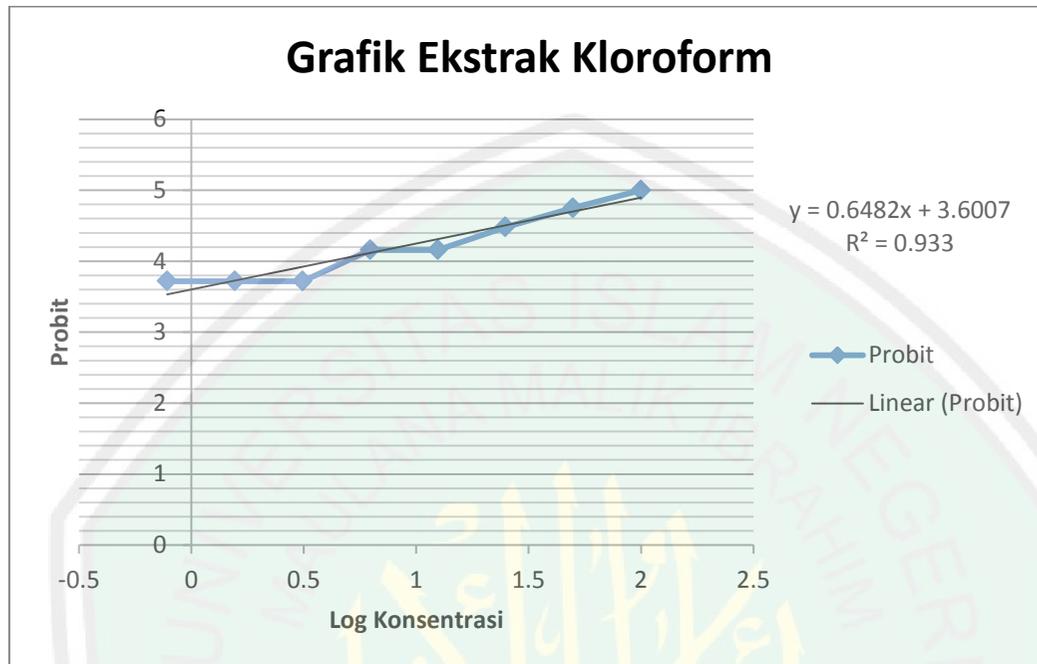
## 2. Ekstrak Kloroform

Konsentrasi (ppm)	Log konsentrasi (x)	Jumlah larva (ekor)	Jumlah larva yang mati (ekor) #	% Mortalitas	Mortalitas	Proit % mortalitas (y)*
0*	-	30	0	0	0	-
0**	-	30	0	0	0	-
0***	-	30	0	0	0	-
0.78	-0.1079	30	1	10	3	3.72
1.56	0.1931	30	1	10	3	3.72
3.125	0.4948	30	1	10	3	3.72
6.25	0.7958	30	2	20	6	4.16
12.5	1.096	30	2	20	6	4.16
25	1.397	30	3	30	9	4.48
50	1.698	30	4	40	12	4.75
100	2	30	5	50	15	5.00

Keterangan : \* kontrol media(DMSO tanpa ekstrak)  
 \*\* kontrol pelarut metanol-air (90:10)  
 \*\*\* kontrol air laut  
 # diambil dari data modus (angka yang sering muncul) pada kematian larva

Keterangan \*= data terlampir

➤ Grafik hubungan antara Log Konsentrasi (x) dan Probit (y) pada ekstrak kloroform



Dicari nilai x

$$y = 0.6482x + 3.6007$$

$$5 = 0.6482x + 3.6007$$

$$0.6482x = 5 - 3.6007$$

$$0.6482x = 1.3993$$

$$x = 2.1587$$

Nilai  $LC_{50}$  = antilog x

$$= \text{antilog } 2.1587$$

$$= 144,112 \text{ ppm}$$

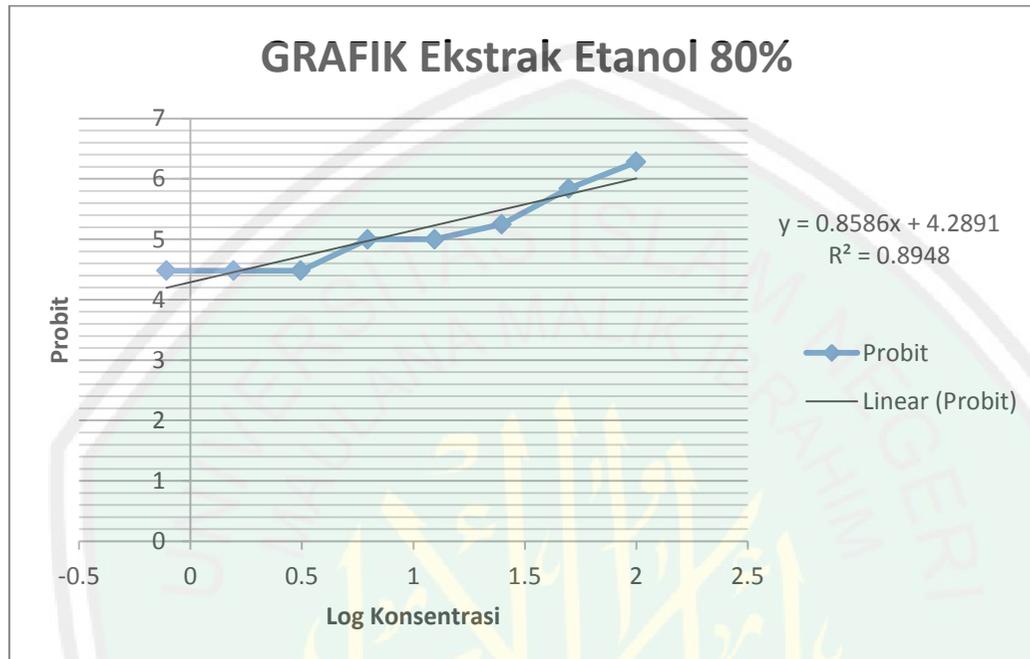
### 3. Ekstrak Etanol 80%

Konsentrasi (ppm)	Log konsentrasi (x)	Jumlah larva (ekor)	Jumlah larva yang mati (ekor) #	% Mortalitas	Mortalitas	Probit % mortalitas (y)*
0	-	30	0	0	0	-
0	-	30	0	0	0	-
0	-	30	0	0	0	-
0.78	-0.1079	30	3	30	9	4.48
1.56	0.1931	30	3	30	9	4.48
3.125	0.4948	30	3	30	9	4.48
6.25	0.7958	30	5	50	15	5.00
12.5	1.096	30	5	50	15	5.00
25	1.397	30	6	60	18	5.25
50	1.698	30	8	80	24	5.84
100	2	30	9	90	27	6.28

Keterangan : \* kontrol media(DMSO tanpa ekstrak)  
 \*\* kontrol pelarut kloroform p.a  
 \*\*\* kontrol air laut  
 # diambil dari data modus (angka yang sering muncul) pada kematian larva

Keterangan \*= data terlampir

➤ Grafik hubungan antara Log Konsentrasi (x) dan Probit (y) pada ekstrak etanol 80%



Dicari nilai x

$$y = 0.8586x + 4.2891$$

$$5 = 0.8586x + 4.2891$$

$$0.8586x = 5 - 4.2891$$

$$0.8586x = 0.7109$$

$$x = 0.8279$$

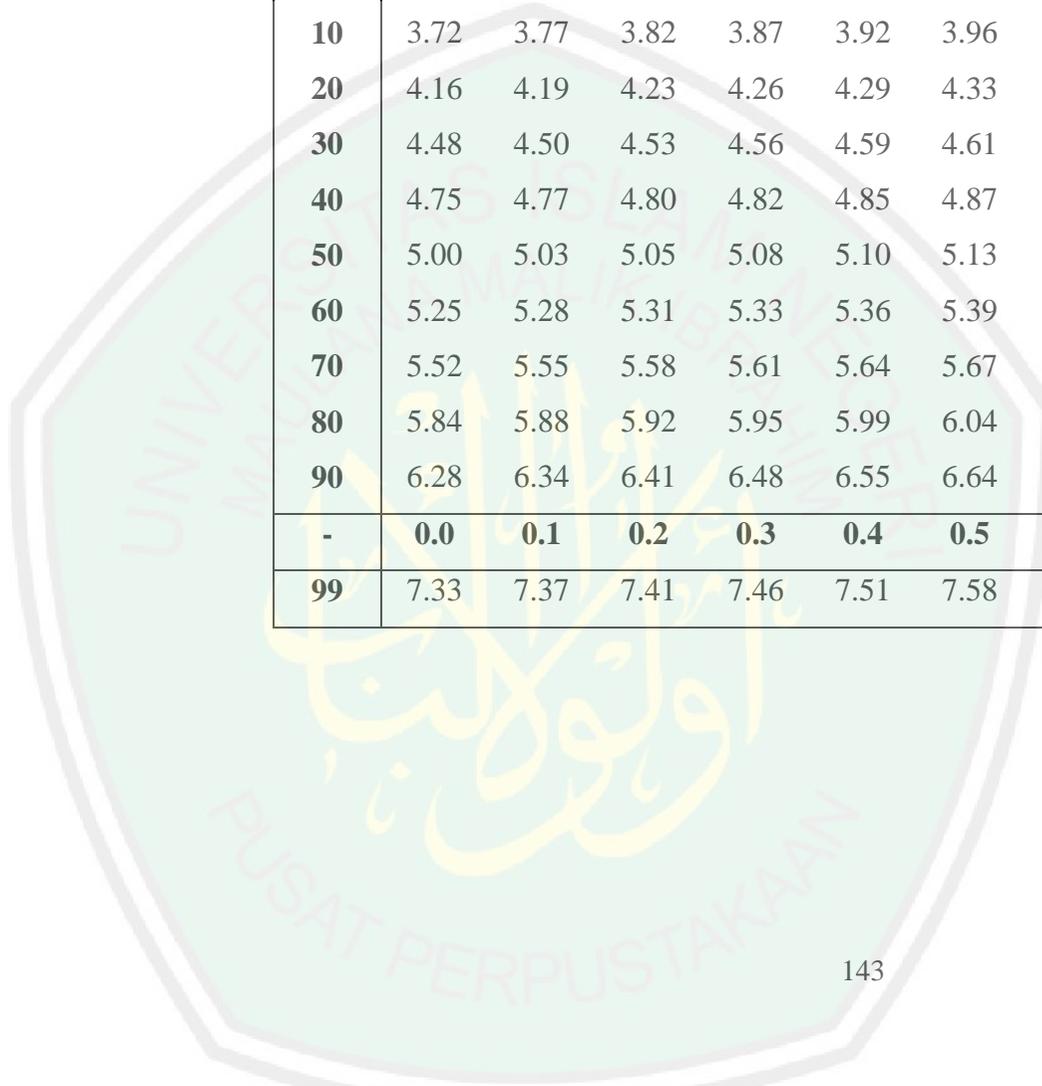
Nilai  $LC_{50}$  = antilog x

$$= \text{antilog } 0.8279$$

$$= 6.7282 \text{ ppm}$$

➤ Tabel Probit (Finney, 1952):

<b>%</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>
<b>0</b>	-	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
<b>10</b>	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
<b>20</b>	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
<b>30</b>	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
<b>40</b>	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
<b>50</b>	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
<b>60</b>	5.25	5.28	5.31	5.33	5.36	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
<b>70</b>	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
<b>80</b>	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
<b>90</b>	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
<b>-</b>	<b>0.0</b>	<b>0.1</b>	<b>0.2</b>	<b>0.3</b>	<b>0.4</b>	<b>0.5</b>	<b>0.6</b>	<b>0.7</b>	<b>0.8</b>	<b>0.9</b>
<b>99</b>	7.33	7.37	7.41	7.46	7.51	7.58	7.65	7.75	7.88	8.09



**Lampiran 8 Perhitungan Nilai R<sub>f</sub> (Retardation Factor) Hasil KLTA Ekstrak Daun Rumpun Bambu (*Lophatherum gracile* Brongn)**

$$\text{Harga R}_f = \frac{\text{Jarak senyawa yang digerakkan dari titik asal}}{\text{Jarak pelarut yang digerakkan dari titik asal}}$$

Jarak elusi pada KLTA adalah 8,5 cm, dimana semua ekstrak positif mengandung golongan senyawa tannin dan triterpenoid.

**Perhitungan nilai R<sub>f</sub> Hasil KLTA Ekstrak Kasar Etanol 80%**

a. KLTA senyawa triterpenoid dengan eluen heksana:etil asetat (6:4)

$$\text{Harga R}_f = \frac{\text{jarak yang ditempuh senyawa}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut}}$$

$$\text{Harga R}_{f1} = \frac{1,1}{8,5} = 0,13$$

$$\text{Harga R}_{f5} = \frac{4,6}{8,5} = 0,54$$

$$\text{Harga R}_{f2} = \frac{1,8}{8,5} = 0,21$$

$$\text{Harga R}_{f6} = \frac{6,5}{8,5} = 0,76$$

$$\text{Harga R}_{f3} = \frac{2,5}{8,5} = 0,29$$

$$\text{Harga R}_{f7} = \frac{8,2}{8,5} = 0,96$$

$$\text{Harga R}_{f4} = \frac{3,3}{8,5} = 0,39$$

$$\text{Harga R}_{f8} = \frac{8,3}{8,5} = 0,98$$

b. KLTA senyawa alkaloid dengan eluen kloroform:metanol (8:3)

$$\text{Harga R}_f = \frac{\text{jarak yang ditempuh senyawa}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut}}$$

$$\text{Harga R}_{f1} = \frac{0,8}{8,5} = 0,09$$

$$\text{Harga R}_{f5} = \frac{6,4}{8,5} = 0,75$$

$$\text{Harga R}_{f2} = \frac{1,5}{8,5} = 0,18$$

$$\text{Harga R}_{f6} = \frac{6,7}{8,5} = 0,79$$

$$\text{Harga R}_{f3} = \frac{4}{8,5} = 0,47$$

$$\text{Harga R}_{f7} = \frac{7,7}{8,5} = 0,91$$

$$\text{Harga R}_{f4} = \frac{4,6}{8,5} = 0,54$$

c. KLTA senyawa tanin dengan eluen butanol:asam asetat:air (4:1:5)

$$\text{Harga } R_f = \frac{\text{jarak yang ditempuh senyawa}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut}}$$

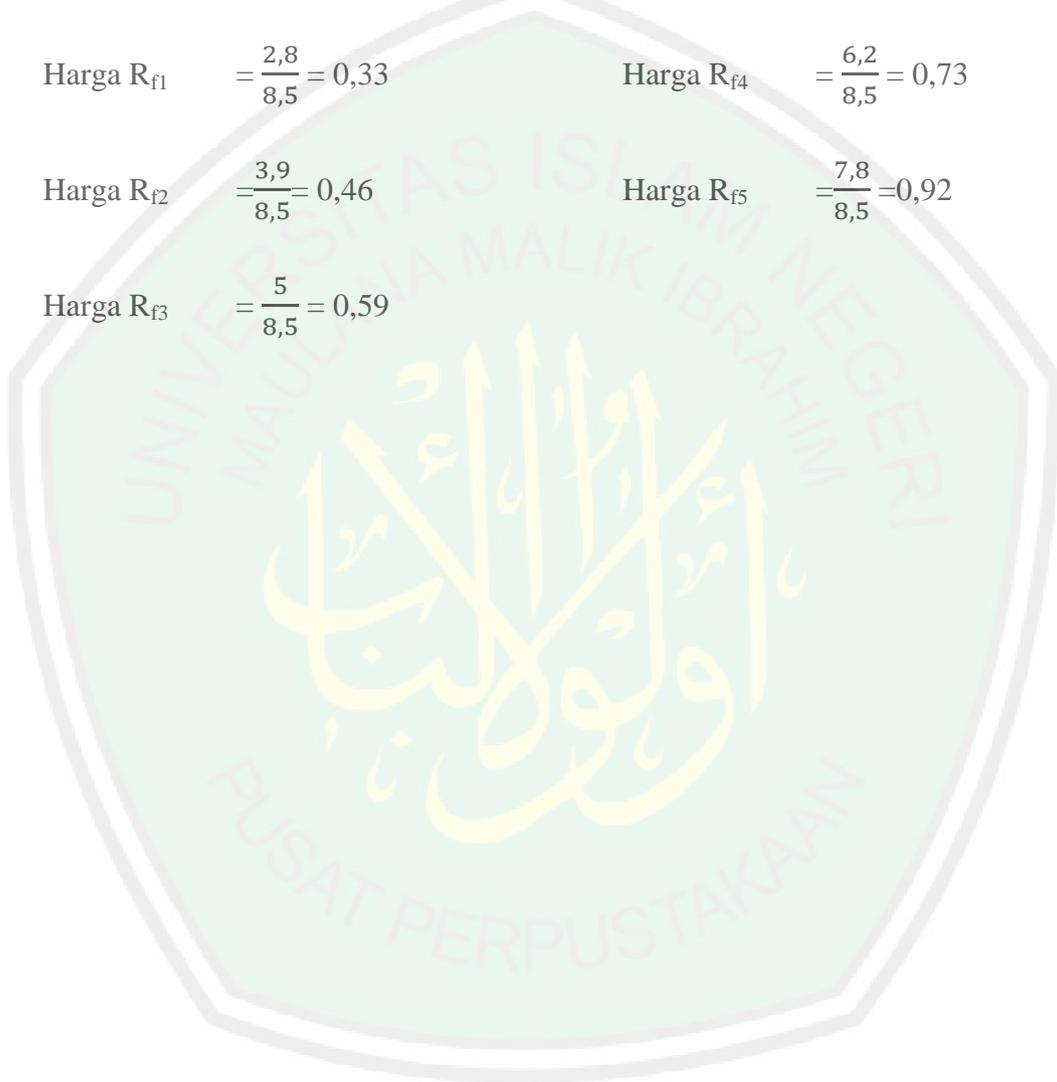
$$\text{Harga } R_{f1} = \frac{2,8}{8,5} = 0,33$$

$$\text{Harga } R_{f4} = \frac{6,2}{8,5} = 0,73$$

$$\text{Harga } R_{f2} = \frac{3,9}{8,5} = 0,46$$

$$\text{Harga } R_{f5} = \frac{7,8}{8,5} = 0,92$$

$$\text{Harga } R_{f3} = \frac{5}{8,5} = 0,59$$





## Lampiran 9 Dokumentasi Penelitian

### L.9.1 Analisis kadar Air



Sampel basah daun rumput bambu



Sampel kering daun rumput bambu



Pengovenan cawan



Desikator (cawan+sampel)

### L.9.2 Preparasi Sampel



Daun rumput bambu basah



Daun rumput bambu kering yang telah diblender



Pemblenderan



(a)

(b)

Pengayakan dengan ayakan ukuran 60 mesh  
(a) hasil yang tidak lolos ayakan 60 mesh  
(b) hasil ayakan 60 mesh

### L.9.3 Ekstraksi

#### L.9.3.1 Ekstraksi Maserasi Daun Rumput bambu dengan Pelarut N-heksana



Pengekstrakan daun rumput bambu hingga diperoleh filtrat yang pucat (bening)



Filtrat hasil penyaringan



Ekstrak kasar n-heksana



#### L.9.3.2 Ekstraksi Maserasi Daun Rumput bambu dengan Pelarut Kloroform



Pengekstrakan daun rumput bambu hingga diperoleh filtrat yang pucat (bening)



Proses pemekatan ekstrak



Ekstrak kasar kloroform

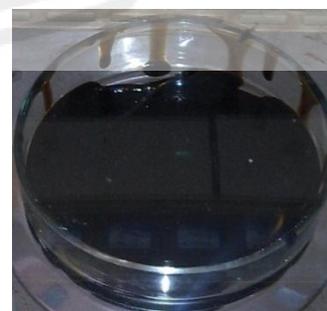
### L.9.3.3 Ekstraksi Maserasi Daun Rumpun bambu dengan Pelarut Etanol 80%



Pengekstrakan daun rumpun bambu hingga diperoleh filtrat yang pucat (bening)



Filtrat hasil penyaringan dan pemekatan maserat



Ekstrak kasar etanol 80 %

### L.9.4 Uji Sitotoksitas



Pembuatan larutan konsentrasi dan larutan kontrol

### L.9.5 Uji Fitokimia dengan Reagen

#### L.9.5.1 Ekstrak Kasar N-heksana Daun Rumput Bambu



Alkaloid  
Dragendorff (-)

Alkaloid  
Mayer (-)

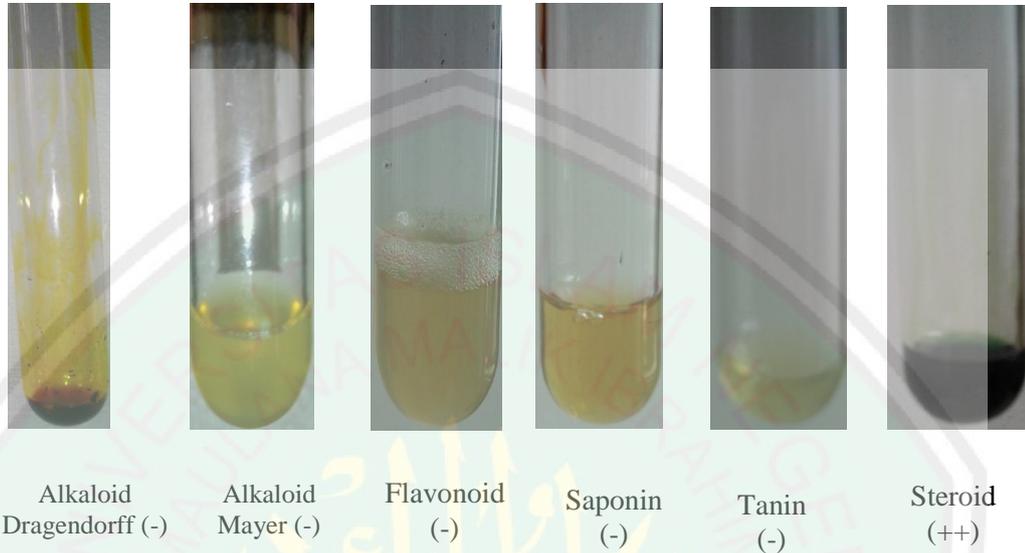
Flavonoid  
(-)

Saponin  
(-)

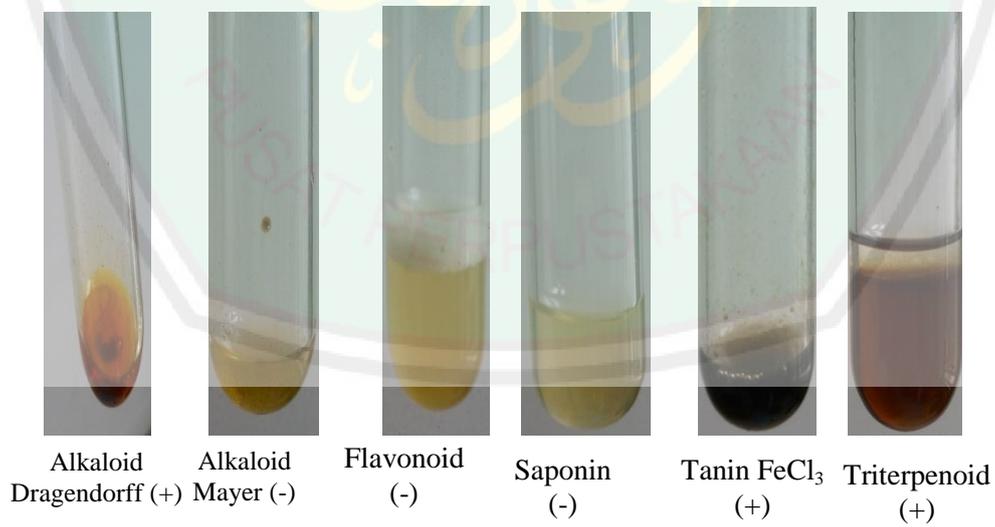
Tanin  
(-)

Steroid  
(+++)

### L.9.5.2 Ekstrak Kasar Kloroform Daun Rumpun Bambu

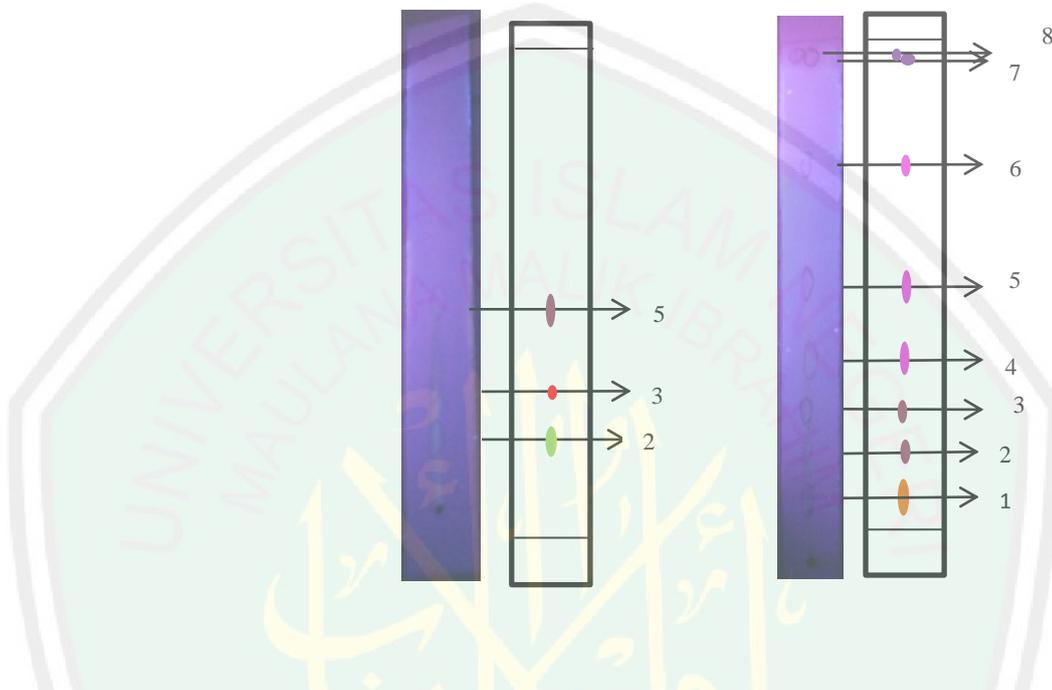


### L.9.5.3 Ekstrak Kasar Etanol 80% Daun Rumpun Bambu



### L.9.4 Pemisahan Golongan Senyawa Aktif Daun Rumput Bambu

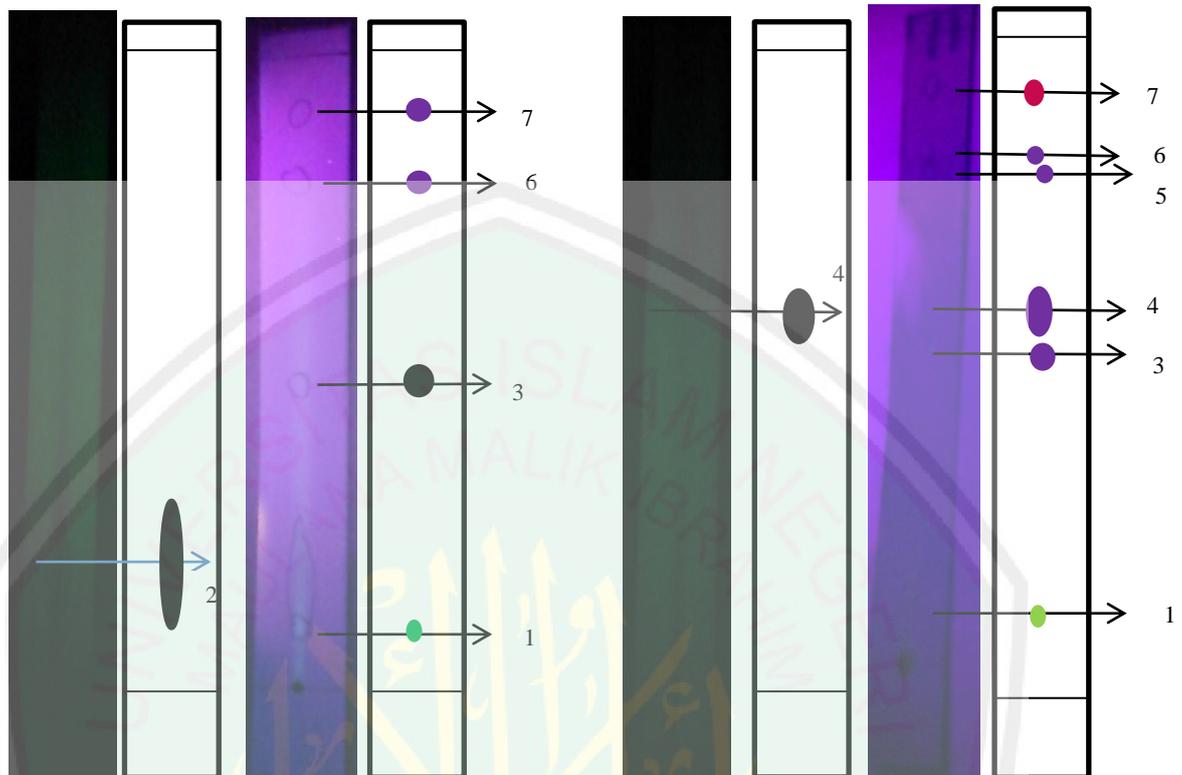
#### a. Pemisahan triterpenoid eluen n-heksana:etil asetat (6:4)



Tabel L.9.6.1 Hasil KLT senyawa triterpenoid dengan eluen heksana:etil asetat (6:4)

No.	Rf tiap noda	Warna noda di bawah sinar UV pada $\lambda$ 366 nm		Dugaan Senyawa
		Sebelum disemprot reagen Liebermann-Burchard	Setelah disemprot reagen Liebermann-Burchard	
1.	0,13	Hijau	Oranye	-
2.	0,21	Merah	Ungu merah	Triterpenoid
3.	0,29	-	Ungu merah	Triterpenoid
4.	0,39	Ungu merah	Ungu	Triterpenoid
5.	0,54	-	Ungu	Triterpenoid
6.	0,76	-	Ungu	Triterpenoid
7.	0,96	-	Ungu kehitaman	-
8.	0,98	-	Ungu kehitaman	-

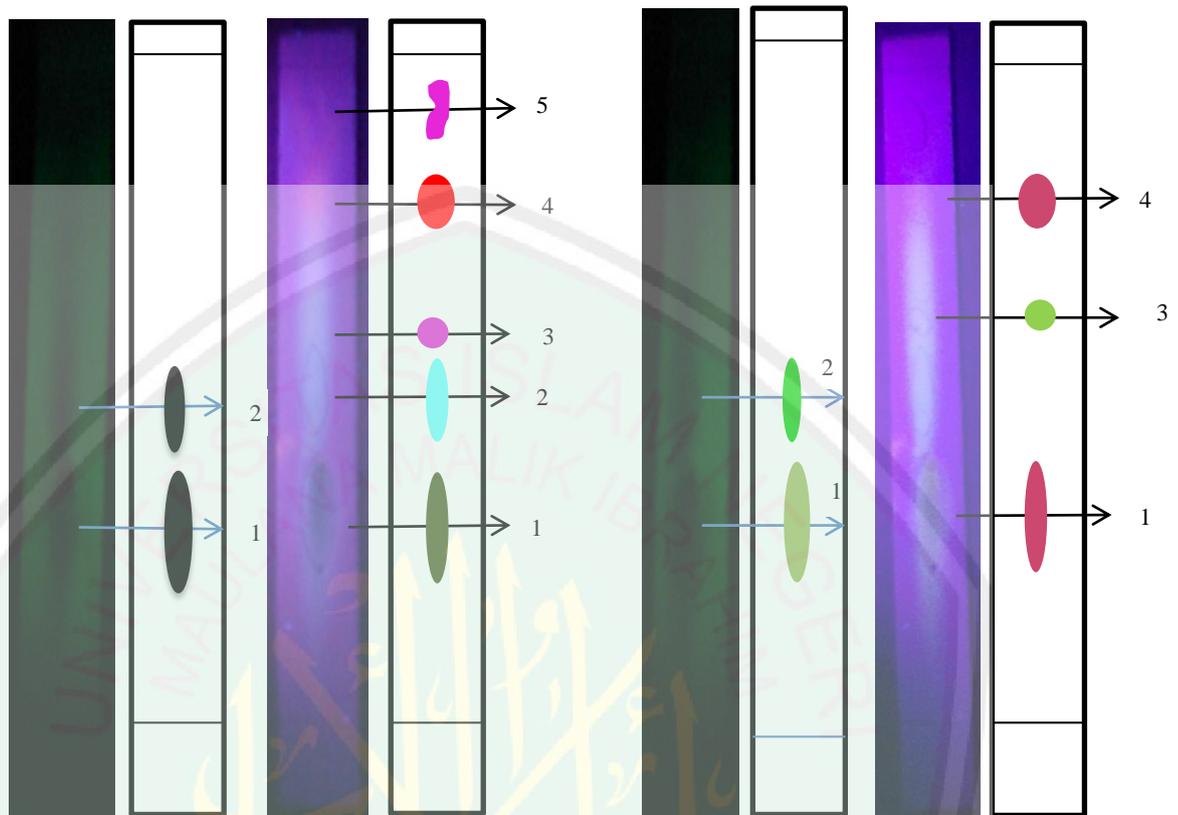
b. Pemisahan alkaloid eluen kloroform:metanol (8:3)



Tabel L.9.4.1 Hasil KLT senyawa alkaloid dengan eluen eluen kloroform:metanol (8:3)

Rf Tiap noda	Warna noda dibawah lampu UV pada $\lambda$ 254 nm		Warna noda dibawah lampu UV pada $\lambda$ 366 nm		Dugaan positif alkaloid
	Sebelum disemprot reagen Dragendorf	Sesudah disemprot reagen Dragendorf	Sebelum disemprot reagen Dragendorf	Sesudah disemprot reagen Dragendorf	
0,09	-	-	Hijau pekat	Hijau kekuningan	-
0,18	Hitam	-	-	-	-
0,47	-	-	Hitam	Hitam	-
0,54	-	Hitam	-	-	-
0,75	-	-	-	-	-
0,79	-	-	Ungu	Ungu	-
0,91	-	-	-	-	-

c. Pemisahan tanin  $\text{FeCl}_3$  eluen butanol:asam asetat:air (4:1:5)



Tabel L.9.4.3 Hasil KLT senyawa tanin  $\text{FeCl}_3$  dengan eluen butanol:asam asetat:air (4:1:5)

Rf Tiap noda	Warna noda dibawah lampu UV pada $\lambda$ 254 nm		Warna noda dibawah lampu UV pada $\lambda$ 366 nm		Dugaan positif tanin
	Sebelum disemprot reagen $\text{FeCl}_3$	Sesudah disemprot reagen $\text{FeCl}_3$	Sebelum disemprot reagen $\text{FeCl}_3$	Sesudah disemprot reagen $\text{FeCl}_3$	
0,33	Hitam	Hijau	Hijau kehitaman	Ungu kemerahan	Tannin
0,46	Hitam	Hijau	Hijau kebiruan	-	-
0,59	-	-	Ungu	Hijau	-
0,73	-	-	Jingga	Ungu kemerahan	Tannin
0,92	-	-	Ungu	-	-



**LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA**  
**(Indonesia Institute of Sciences)**  
**UPT BALAI KONSERVASI TUMBUHAN KEBUN RAYA PURWODADI**  
**(Purwodadi Botanic Garden)**  
Jl. Raya Surabaya - Malang Km. 65 Purwodadi - Pasuruan 67163  
Telepon : 0341 - 426046, 424076, 0343 - 615033  
Fax. : 0341 - 426046, 0343 - 615033  
e-mail : krpurwodadi@mail.lipi.go.id, - Website : www.krpurwodadi.lipi.go.id

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI

No. 1757/IPH.3.04/HM/XI/2013

Kepala UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi dengan ini menerangkan bahwa material tanaman yang dibawa oleh :

Alfin Hilda Rizqiah, NIM : 10630004

Selina Purwita Sari, NIM : 10630042

Mahasiswa Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, datang di UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi pada tanggal 14 Nopember 2013, berdasarkan buku Flora of Java karangan C.A. Backer dan R.C. Bakhuizen van den Brink jr., volume II tahun 1968, halaman 520 nama ilmiahnya adalah :

Genus : *Lophatherum*  
Species : *Lophatherum gracile* Brongn.

Adapun menurut buku An Integrated System of Classification of Flowering Plants, karangan Arthur Cronquist tahun 1981, halaman XVIII adalah sebagai berikut :

Division : *Magnoliophyta*  
Class : *Liliopsida*  
Sub Class : *Commelinidae*  
Ordo/Bangsa : *Cyperales*  
Family : *Poaceae*

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya

Purwodadi, 18 Nopember 2013

An, Kepala  
UPT Balai Konservasi Tumbuhan  
Kebun Raya Purwodadi - LIPI  
Kepala Seksi Konservasi Ex-situ,



TABEL RENCANA PENELITIAN

No.	Rencana Penelitian	Bulan																															
		September				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	2	3	4
1	Proposal	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
2	Persiapan Sampel					■	■	■	■	■	■	■	■																				
3	Uji Kadar Air									■	■	■	■																				
4	Preparasi sampel													■	■	■	■																
5	Ekstraksi Sampel													■	■	■	■	■	■	■	■												
6	Uji Sitotoksisitas																	■	■	■	■												
7	Uji fitokimia dan KLT																					■	■	■	■								
8	Analisis Data																					■	■	■	■								
9	Pembuatan Laporan																									■	■	■	■	■	■	■	■