

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER
DARI FRAKSI *n*-HEKSANA KULIT BATANG TUMBUHAN TURI
MERAH (*Sesbania grandiflora* (L.) Poir) SERTA UJI TOKSISITAS
MENGUNAKAN METODE *BRINE SHRIMP LETHALITY TEST* (BSLT)**

(Hasil Penelitian)

Oleh

SITI MUTMAINAH



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

ABSTRAK

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DARI FRAKSI *n*-HEKSANA KULIT BATANG TUMBUHAN TURI MERAH (*Sesbania grandiflora* (L.) Poir) SERTA UJI TOKSISITAS MENGGUNAKAN METODE *BRINE SHRIMP LETHALITY TEST* (BSLT)

Oleh

Siti Mutmainah

Tanaman turi merah (*Sesbania grandiflora* (L.) Poir) dikenal sebagai salah satu tanaman obat yang banyak digunakan oleh masyarakat Indonesia karena memiliki berbagai aktivitas biologis seperti analgesik, antipiretik, dan diuretik. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder dari fraksi *n*-heksana kulit batang tumbuhan turi merah serta menguji toksisitasnya menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Proses isolasi dilakukan melalui metode ekstraksi maserasi dengan pelarut metanol, diikuti dengan fraksinasi menggunakan kromatografi cair vakum (KCV) dan pemurnian dengan kromatografi kolom. Identifikasi senyawa dilakukan dengan analisis $^1\text{H-NMR}$.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa NV45 berhasil diisolasi dari fraksi *n*-heksana dalam bentuk kristal putih yang diindikasikan sebagai senyawa triterpenoid berdasarkan uji kualitatif dan analisis spektrum $^1\text{H-NMR}$.

Uji toksisitas terhadap ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana, dan senyawa NV45 menunjukkan bahwa semua sampel memiliki potensi toksisitas dengan nilai LC_{50} yang berada dalam kategori toksik terhadap *A. salina*. Masing-masing nilai LC_{50} sebesar 6,0770 $\mu\text{g/mL}$, 36,4257 $\mu\text{g/mL}$, dan 16,0448 $\mu\text{g/mL}$. Penelitian ini memberikan informasi mengenai kandungan senyawa metabolit sekunder pada kulit batang turi merah dan potensi toksisitasnya, yang dapat menjadi dasar bagi penelitian lebih lanjut dalam pengembangan obat antikanker.

Kata Kunci : *Sesbania grandiflora* (L.) Poir, turi merah, toksisitas, LC_{50} , *Artemia salina*.

ABSTRACT

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF SECONDARY METABOLITES FROM THE *n*-HEXANE FRACTION OF THE BARK OF THE RED TURI PLANT (*Sesbania grandiflora* (L.) Poir) AND TOXICITY TEST USING THE BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BSLT) METHOD

By

Siti Mutmainah

The red turi plant (*Sesbania grandiflora* (L.) Poir) is known as one of the medicinal plants widely used by the Indonesian people because it has various biological activities such as analgesic, antipyretic, and diuretic. This study aims to isolate and identify secondary metabolite compounds from the *n*-hexane fraction of the red turi plant stem bark and test its toxicity using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method. The isolation process was carried out through the maceration extraction method with methanol solvent, followed by fractionation using vacuum liquid chromatography (VLC) and purification by column chromatography. Compound identification was carried out by ¹H-NMR analysis.

The results showed that the NV45 compound was successfully isolated from the *n*-hexane fraction in the form of white crystals indicated as a triterpenoid compound based on qualitative tests and ¹H-NMR spectrum analysis.

Toxicity tests on methanol extract, *n*-hexane fraction, and NV45 compound showed that all samples had potential toxicity with LC₅₀ values in the toxic category against *A. salina*. Each LC₅₀ value is 6,0770 µg/mL, 36,4257 µg/mL, and 16,0448 µg/mL. This study provides information on the content of secondary metabolite compounds in the bark of red turi tree and its potential toxicity, which can be the basis for further research in the development of anticancer drugs.

Keywords : *Sesbania grandiflora* (L.) Poir, red turi, toxicity, LC₅₀, *Artemia salina*.

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER
DARI FRAKSI *n*-HEKSANA KULIT BATANG TUMBUHAN TURI
MERAH (*Sesbania grandiflora* (L.) Poir) SERTA UJI TOKSISITAS
MENGUNAKAN METODE *BRINE SHRIMP LETHALITY TEST* (BSLT)**

Oleh
SITI MUTMAINAH

(Skripsi)

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar
SARJANA SAINS

Pada

Jurusan Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024

Judul Skripsi : **ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DARI FRAKSI *n*-HEKSANA KULIT BATANG TUMBUHAN TURI MERAH (*Sesbania grandiflora* (L.) Poir) SERTA UJI TOKSISITAS MENGGUNAKAN METODE *BRINE SHRIMP LETHALITY TEST* (BSLT)**

Nama Mahasiswa : **Siti Mutmainah**

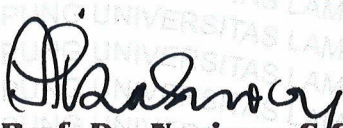
Nomor Pokok Mahasiswa : 2017011096


Jurusan : Kimia

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam


MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing


Prof. Dr. Noviany, S.Si., M.Si.
NIP 19731119 199802 2 001


Prof. Sutopo Hadi, S.Si., M.Si., Ph.D.
NIP 19710415 199512 1 001

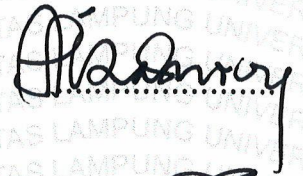
2. Ketua Jurusan Kimia


Dr. Mita Rilyanti, S.Si., M.Si.
NIP 19720530 200003 2 001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

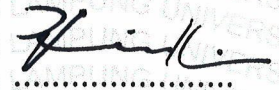
Ketua : Prof. Dr. Noviany, S.Si., M.Si.



Sekretaris : Prof. Sutopo Hadi, S.Si., M.Si., Ph.D.



**Penguji
Bukan Pembimbing : Dr. Rinawati, S.Si., M.Si.**



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.

NIP 19711001 200501 1 002



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 16 Desember 2024

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Siti Mutmainah
Nomor Pokok Mahasiswa : 2017011096
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengerahuan Alam
Perguruan Tinngi : Universitas Lampung

Menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul “Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Fraksi *n*-Heksana Kulit Batang Tumbuhan Turi Merah (*Sesbania grandiflora* (L.) Poir) Serta Uji Toksisitas Menggunakan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)” adalah hasil pekerjaan penelitian saya pribadi, dan sepengetahuan saya tidak ada karya atau pendapat yang ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini sebagaimana disebutkan dalam daftar pustaka, serta dapat diterima sebagai persyaratan penyelesaian studi pada Universitas atau Institut lainnya.

Bandar Lampung, 20 Desember 2024

Yang Menyatakan,



Siti Mutmainah

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan pada tanggal 25 oktober 2001 di Bangkalan. Penulis merupakan anak pertama dari 4 bersaudara, putri dari bapak Santoso dan ibu Siti Nurjamik. Jenjang pendidikan diawali dari Taman Kanak-kanak (TK) di TK Al-Ihya Kalirejo yang diselesaikan pada tahun 2007. Kemudian pada tahun 2013 penulis lulus dari SD Negeri 1 Kalirejo, lalu melanjutkan Pendidikan di SMP Negeri 2 Modung yang diselesaikan pada tahun 2016, dan melanjutkan Pendidikan SMA di SMA Negeri 1 Kalirejo yang diselesaikan pada tahun 2019. Pada tahun 2020 penulis diterima sebagai Mahasiswa Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Pengetahuan Alam Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negri (SBMPTN) Tertulis.

Selama masa perkuliahan, penulis telah mengikuti kegiatan organisasi Kader Muda Himaki (KAMI) FMIPA Unila pada tahun 2020-2021, lalu penulis aktif dalam organisasi kemahasiswaan di Himpunan Mahasiswa Kimia (HIMAKI) FMIPA Universitas Lampung sebagai anggota Bidang Kaderisasi dan Pengembangan Organisasi (KPO) periode kepengurusan 2021 dan anggota Biro Kesekretariatan periode kepengurusan tahun 2022. Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) pada periode Januari-Februari tahun 2023 di Pekon Gedung Surian, Kabupaten Lampung Barat. Pada tahun yang sama, penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Laboratorium Kimia Organik FMIPA Universitas Lampung. Penulis juga merupakan asisten praktikum Kimia Organik pada tahun 2023 dan 2024. Pada tahun 2024 penulis menyelesaikan tugas akhir (riset penelitian) yang dilakukan di Laboratorium Kimia Organik FMIPA Universitas

Lampung dengan judul “Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Fraksi *n*-Heksana Kulit Batang Tumbuhan Turi Merah (*Sesbania grandiflora* (L.) Poir) Serta Uji Toksisitas Menggunakan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)”.

MOTTO

“Boleh jadi kamu tidak menyenangi sesuatu, padahal itu baik bagimu, dan boleh jadi kamu menyukai sesuatu, padahal itu tidak baik bagimu. Allah mengetahui, sedang kamu tidak mengetahui”

(QS. Al-Baqarah : 216)

“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya”

(QS. Al-Baqarah : 286)

“Maka sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan”

(QS. Al-Insyirah : 5-6)

“Hatiku tenang karena mengetahui bahwa apa yang melewatkanmu tidak akan pernah menjadi takdirku, dan apa yang ditakdirkan untukmu tidak akan pernah melewatkanmu”

(Umar bin Khattab)

“It will pass, everything you’ve gone through it will pass”

(Rachel Venny)

“Setetes keringat orang tuaku yang keluar, ada seribu langkahmu untuk maju”

“Apapun yang terjadi, pulanglah sebagai Sarjana”

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

“Dengan menyebut nama Allah yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang”

Dengan mengucapkan alhamdulillahirabbil’alamin, puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya. Shalawat serta salam semoga selalu tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW yang senantiasa diharapkan syafaatnya hingga hari akhir. Rasa syukur yang luar biasa ku persembahkan karya sederhanaku ini sebagai wujud cinta, bakti, serta tanggungjawabku teruntuk:

Kedua orang tuaku tercinta,

Bapak Santoso dan Ibu Siti Nurjami’ yang telah membesarkan, mendidik, mendo’akan, memberikan dukungan, memberikan kasih sayang yang tak terbatas dan motivasi selama ini.

Keluarga besarku beserta adik-adikku tersayang,

Badrus Sholeh, M. Hasyim Asy’ari, dan M. Taufiq Hidayat yang telah memberikan dukungan dan penyemangat.

Dengan segala rasa hormat kepada dosen pembimbing penelitianku

Prof. Dr. Noviany, S.Si., M.Si., Prof. Sutopo Hadi, S.Si., M.Sc., Ph.D., dan

Dr. Rinawati, S.Si., M.Si., serta seluruh dosen Jurusan Kimia yang telah membimbing, mendidik, memberikan banyak ilmu, dan pengalamannya kepadaku selama menempuh pendidikan dan penelitian.

Seluruh teman dan sahabatku yang telah memberikan dukungan, bantuan, saran serta segala kisah dan canda tawa yang menjadikan keceriaan dan semangatku.

Teruntuk almamaterku tercinta, Universitas Lampung.

SANWACANA

Alhamdulillahirabbil'alamin, Puji syukur kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmat, karunia, nikmat, dan kasih sayang-Nya. Shalawat serta salam teruntuk Nabi Muhammad SAW, semoga kelak kita termasuk umat yang mendapat *syafa'at* beliau di *yaumul akhir* nanti. Dengan berbekal keyakinan, ketabahan, serta ilmu pengetahuan dan pengalaman yang telah diperoleh, penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul "Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Fraksi *n*-Heksana Kulit Batang Tumbuhan Turi Merah (*Sesbania grandiflora* (L.) Poir) Serta Uji Toksisitas Menggunakan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)", yang merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si) pada Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Dalam pelaksanaan dan penulisan skripsi ini tidak lepas dari kesulitan dan rintangan, namun itu semua dapat penulis lalui berkat bantuan, bimbingan, saran dan dorongan semangat dari orang-orang yang hadir di kehidupan penulis. Penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Allah SWT atas limpahan rahmat dan karunia-Nya yang telah diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
2. Kedua orang tuaku tercinta, bapak dan ibu yang sangat berjasa karena selalu mendidik, mendo'akan, memotivasi, menjadi tempat berkeluh kesah, dan selalu berusaha memberikan yang terbaik kepada penulis. Semoga Allah selalu memberikan limpahan kesehatan, keselamatan, rezeki yang halal, lancar segala urusan, berkah, diberikan kebahagiaan dunia akhirat, serta diberikan umur yang panjang sehingga menemani anak-anaknya hingga berhasil.
3. Ibu Prof. Dr. Noviany, S.Si., M.Si., selaku pembimbing pertama atas

segala kebaikan, ilmu, kesabaran, motivasi, dan bimbingan kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan baik. Semoga Allah selalu memberikan perlindungan dan keberkahan atas semua hal yang telah ibu berikan.

4. Prof. Sutopo Hadi, S.Si., M.Sc., Ph.D., selaku pembimbing kedua atas segala saran, dan bimbingan yang sangat bermanfaat kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan baik. Atas ilmu yang selama ini diberikan. Semoga Allah memberikan ridha-Nya dan membalas semua kebaikan bapak.
5. Ibu Dr. Rinawati, S.Si., M.Si., selaku pembahas atas kritik, saran, dan ilmu yang bermanfaat. Atas segala kesediaannya untuk memberikan yang terbaik kepada penulis, sehingga skripsi ini dapat terselesaikan. Semoga Allah berikan keberkahan atas semua yang telah ibu diberikan.
6. Ibu Dr. Mita Rilyanti, S.Si., M.Si., selaku Pembimbing Akademik atas segala bantuan dan dukungan kepada penulis selama perkuliahan.
7. Ibu Dr. Mita Rilyanti, S.Si., M.Si., selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.
8. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Kimia atas ilmu pengetahuan yang sangat bermanfaat dan berharga kepada penulis selama menjadi mahasiswa jurusan kimia.
9. Segenap Staf dan Laboran Jurusan Kimia FMIPA Unila, terkhusus Mba Wiwit Kasmawati yang sudah memberikan bantuan kepada penulis saat menjalankan PKL dan penelitian di Laboratorium Kimia Organik.
10. Seluruh staf administrasi dan pegawai di lingkungan Jurusan Kimia, Dekanat FMIPA, serta Universitas Lampung yang senantiasa membantu dalam sistem akademik, perkuliahan, penelitian, serta penyusunan skripsi sehingga dapat terselesaikan dengan baik.
11. Kakek dan nenek penulis, yang selalu memberikan semangat, dukungan dan doa. Terima kasih tidak pernah lelah dalam memberikan dukungan penuh dan kasih sayang kepada penulis.
12. Adik-adik dan keluarga besar penulis, yang selalu menjadi motivasi penulis selama menjalani perkuliahan, terima kasih telah menghibur dan

menjadi penyemangat selama ini.

13. Sahabat-sahabat penulis, Anastasya Viorelia, Nabila Azzahra Salsabila, dan Widya Cahya Purnama atas segala bantuan, dukungan, dan waktu yang telah kita habiskan bersama-sama selama ini. Terima kasih atas kebersamaan, keceriaan yang dapat menghilangkan kepenatan selama waktu perkuliahan dan perantauan. Semoga kita dapat terus menjalin persahabatan dan sukses dimasa depan.
14. Teman seperjuangan penelitian NRG'20 (Tut Turi Handayani), Anastasya Viorelia, Angela Agatha, dan Dilla Adha. Terima kasih atas bantuan, dukungan, saran dan kerjasama dalam menjalankan penelitian. Semoga sukses selalu.
15. Sahabat-sahabat kecil penulis, Astrid Carolina, Salsa Virgi Banafsah, Sherly Ayu Safitri, Alfadillah Eka Rismawati, Putri Aisha Pasha, Tamara Puspa Naillah Amalia, dan semua yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu. Terima kasih atas dukungan, semangat, dan perhatian yang telah diberikan untuk penulis. Semoga sukses selalu.
16. Kakak-kakak NRG, kak Reni, kak Jihan, kak Ofri, kak Rista, dan kak Wulan atas segala bantuan, saran, motivasi, dan dukungan selama penulis menjalani PKL dan penelitian. Semoga kakak-kakak sukses selalu dan senantiasa dilindungi Allah.
17. Kakak-kakak dan teman-teman Lab. Kimia Organik, kak Armidla, kak Nindy, Kak Ibnu, Mella, Yuwan, Sisil, Zidan, dan teman-teman lainnya yang penulis tidak dapat sebutkan satu persatu. Terima kasih atas bantuan, ilmu dan dukungannya kepada penulis.
18. Teman-teman *Chemistry*'20 atas segala keceriaan, kebersamaan, semangat, dan energi positif yang diberikan kepada penulis selama perkuliahan.
19. Keluarga besar Himaki 2021 dan 2022, atas segala ilmu dan pengalaman yang diberikan. Semoga sukses selalu. Himaki Jaya!
20. Teman-teman KKN Pekon Gedung Surian, terutama Syahnas. Terima kasih atas pengalaman berkesan selama pelaksanaan KKN, segala bentuk dukungan dan semangat untuk penulis, semoga hubungan baik kita dapat

terjalin hingga kapan pun.

21. Adik-adik NRG'21 Vio, Inggit, Rita, Julia, Govin, atas dukungan serta do'a yang diberikan. Semoga penelitiannya dimudahkan dan dilancarkan selalu.
22. Almamater tercinta Universitas Lampung.
23. *Last but not least*, teruntuk diriku yang telah berjuang dan tidak pernah menyerah. Selalu optimis dalam menghadapi setiap tantangan dan rintangan selama menjalani 4 tahun perkuliahan, terima kasih telah berusaha memberikan yang terbaik dalam setiap langkah untuk meraih impianmu. Terus berpikir positif disaat semua sedang tidak baik-baik saja. Semoga akhir dari perjalanan ini menjadi awal yang baik untuk karir hidupmu maupun bekal untuk masa-masa yang akan datang.

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih terdapat beberapa kekeliruan dan kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari pembaca demi perbaikan penelitian selanjutnya. Akhir kata, semoga skripsi ini dapat bermanfaat untuk perkembangan ilmu pengetahuan di masa depan.

Bandar Lampung, Desember 2024
Penulis,

Siti Mutmainah
NPM. 2017011096

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR ISI	xvi
DAFTAR TABEL	xviii
DAFTAR GAMBAR	xix
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	3
1.3 Manfaat Penelitian	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Fabaceae.....	5
2.2 Tumbuhan Turi (<i>S. grandiflora</i> (L.) Poir).....	5
2.2.1 Karakteristik Tumbuhan Turi (<i>S. grandiflora</i> (L.) Poir)	6
2.2.2 Kandungan Senyawa Kimia dari Tumbuhan Turi.....	7
2.2.3 Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder dari Tumbuhan Turi	8
2.2.4 Efek Farmakologi Tumbuhan Turi	10
2.3 Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder	11
2.3.1 Aspek Umum.....	11
2.3.2 Ekstraksi	11
2.4 Kromatografi.....	12
2.4.1 Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	13
2.4.2 Kromatografi Vakum Cair (KCV).....	14
2.4.3 Kromatografi Kolom (KK).....	15
2.5 Karakterisasi Senyawa Murni	16
2.5.1 Spektroskopi <i>Nuclear Magnetic Resonance</i> (NMR).....	16
2.6 Uji Toksisitas	17
2.7 <i>Artemia salina</i> Leach	19
2.7.1 Morfologi <i>A. salina</i> Leach.....	19
III. METODE PENELITIAN	21
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	21
3.2 Alat dan Bahan.....	21

3.3	Prosedur Penelitian	22
3.3.1	Persiapan Sampel.....	22
3.3.2	Prosedur Isolasi Senyawa Bioaktif.....	22
3.3.3	Analisis Kemurnian	25
3.3.4	Analisis Senyawa.....	25
3.3.5	Uji Toksistas Menggunakan Metode <i>Brine Shrimp Lethality Test</i>	26
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN	29
4.1	Preparasi Sampel.....	29
4.2	Isolasi dan Pemisahan Senyawa.....	30
4.2.1	Ekstraksi	29
4.2.2	Kromatografi Cair Vakum (KCV).....	33
4.2.3	Kromatografi Kolom (KK).....	35
4.3	Karakterisasi dengan Spektrum $^1\text{H-NMR}$	38
4.4	Hasil Uji Toksitas Senyawa Hasil Isolasi Metode BLST	42
V.	KESIMPULAN DAN SARAN	46
5.1	Kesimpulan	46
5.2	Saran	46
	DAFTAR PUSTAKA	48
	LAMPIRAN.....	54
	Lampiran 1. Bagan penelitian isolasi senyawa metabolit sekunder	55
	Lampiran 2. Bagan alir uji toksitas menggunakan metode BSLT	56
	Lampiran 3. Hasil determinasi tumbuhan turi merah	57
	Lampiran 4. Perbesaran spektrum $^1\text{H-NMR}$ fraksi NV45	58
	Lampiran 5. Perhitungan pada penelitian	61
	Lampiran 6. Penentuan presentase mortalitas berdasarkan nilai probit.....	68

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Letak pergeseran kimia dalam spektra $^1\text{H-NMR}$	17
2. Penggabungan fraksi-fraksi hasil KCV	34
3. Perbandingan pergeseran kimia $^1\text{H-NMR}$ senyawa NV45 dengan senyawa Lupeol	40
4. Hasil uji toksisitas pada setiap sampel uji menggunakan metode BSLT.....	43
5. Perhitungan LC_{50} ekstrak metanol menggunakan nilai probit.....	65
6. Perhitungan LC_{50} fraksi <i>n</i> -heksana menggunakan nilai probit	66
7. Perhitungan LC_{50} senyawa NV45 menggunakan nilai probit.....	67

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Bagian-bagian tumbuhan turi : (a) bunga, (b) batang, (c) polong, (d).....	7
2. Struktur senyawa hasil isolasi dari kulit batang <i>S. grandiflora</i> (Noviany <i>et al.</i> , 2020; Noviany <i>et al.</i> , 2021)	9
3. Struktur senyawa hasil isolasi dari akar tumbuhan turi merah (Noviany <i>et al.</i> , 2012; Hasan <i>et al.</i> , 2012)	9
4. Larva <i>Artemia salina</i> Leach.....	20
5. Proses preparasi sampel kulit batang tumbuhan turi merah.....	29
6. Maserasi sampel dengan pelarut metanol	30
7. Kromatogram KLT ekstrak metanol kulit batang turi merah dengan eluen <i>n</i> -heksana/etil asetat (9:1) pada; λ 254 nm (a), pada λ 366 nm (b), dan setelah disemprot larutan serum sulfat (c)	31
8. (a) partisi ekstrak kulit batang turi (<i>S. grandiflora</i>), (b) ekstrak kasar fraksi <i>n</i> -heksana, (c) pemekatan ekstrak dengan <i>rotary evaporator</i>	32
9. Kromatogram KLT fraksi <i>n</i> -heksana kulit batang turi merah dengan eluen <i>n</i> -heksana/etil asetat (8:2) pada; λ 254 nm (a), pada λ 366 nm (b), dan setelah disemprot larutan serum sulfat (c)	32
10. Proses KCV fraksi <i>n</i> -heksana	33
11. Kromatogram hasil KCV; (a) pada λ 254 nm, (b) pada λ 366 nm, dan (c) setelah disemprot larutan serum sulfat.....	34
12. Proses pengelusian fraksi F pada KK	35
13. KLT hasil penggabungan fraksi F; (a) pada λ 254 nm dan (b) pada λ 366 nm	36
14. KLT hasil uji dengan vanillin-asam sulfat kristal NV45 (a) <i>n</i> -heksana/aseton (9:1), (b) <i>n</i> -heksana/etil asetat (8:2) dan (c) kloroform/metanol (98:2).....	37
15. Kristal NV45 hasil isolasi	37
16. Kromatogram hasil perbandingan KLT senyawa NV45 dan NV43	38
17. Spektrum $^1\text{H-NMR}$ senyawa NV45	Error! Bookmark not defined.

18. Struktur senyawa NV45	41
19. Uji toksisitas larva <i>A. salina</i> dengan variasi konsentrasi	43
20. Perbesaran spektrum senyawa NV45 pada pergeseran kimia (δ H) 1 ppm....	58
21. Perbesaran spektrum senyawa NV45 pada pergeseran kimia (δ H) 0,76-1,32 ppm.....	59
22. Perbesaran spektrum senyawa NV45 pada pergeseran kimia (δ H) 1,36-1,94 ppm.....	60
23. Perbesaran spektrum senyawa NV45 pada pergeseran kimia (δ H) 4,1-7,5 ppm.....	61
24. Grafik analisis regresi linier konsentrasi ekstrak metanol kulit batang tumbuhan turi merah	66
25. Grafik analisis regresi linier konsentrasi fraksi <i>n</i> -heksana kulit batang tumbuhan turi merah	67
26. Grafik analisis regresi linier konsentrasi senyawa NV45 kulit batang tumbuhan turi merah	68

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia dikenal sebagai negara yang memiliki keragaman hayati yang melimpah. Keanekaragaman hayati yang melimpah ini tidak hanya menjadi sumber bahan makanan bagi masyarakat, tetapi dapat juga dijadikan sebagai sarana pengobatan berbagai macam penyakit. Selama bertahun-tahun, tanaman obat atau herbal telah menjadi pilihan umum yang dapat dijadikan alternatif dalam pengobatan penyakit. Bahkan banyak masyarakat yang sehat secara sengaja mengkonsumsi bagian dari tanaman obat tersebut untuk dijadikan sebuah rutinitas. Saat ini, tanaman obat semakin banyak digunakan oleh masyarakat karena adanya *trend back-to-nature*, dimana masyarakat mulai mengurangi untuk mengkonsumsi obat-obatan dari bahan kimia dan mulai mengkonsumsi tanaman herbal. Pada faktanya, obat-obatan yang berkembang sekarang mayoritas berasal dari bahan tanaman herbal yang didapatkan dari alam. Karena berkembangnya teknologi, pengolahan dan pengemasan produk juga sudah ditingkatkan (Yassir dan Asnah, 2018).

Tanaman turi merah (*Sesbania grandiflora* (L.) Poir) merupakan salah satu jenis tanaman obat yang tumbuh di Indonesia dan sering dimanfaatkan oleh masyarakat untuk pengobatan karena tanaman turi memiliki bioaktivitas sebagai analgesik, antipiretik, dan diuretik. Hampir seluruh bagian tanaman dari turi merah memiliki khasiat sebagai bahan herbal untuk pengobatan, mulai dari daun, kulit batang, bunga, dan akar. Tanaman turi merah diketahui memiliki senyawa metabolit sekunder yang cukup banyak, seperti tanin dan saponin pada bagian daun, steroid

pada bagian bunga dan alkaloid pada bagian akar (Asmara, 2017). Khasiat yang dimiliki oleh tanaman turi merah dalam menyembuhkan berbagai macam penyakit dikarenakan adanya kandungan senyawa metabolit sekunder di dalamnya.

Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa bioaktif yang terdapat pada hampir seluruh jenis tanaman dan dapat digunakan untuk pengobatan karena memiliki sifat farmakologis tertentu (Sila dkk., 2022).

Senyawa metabolit sekunder yang dimiliki oleh tanaman pada umumnya selalu bersifat toksik apabila digunakan pada jumlah yang besar, maka dari itu daya bunuh *in vivo* dari senyawa terhadap organisme hewan dapat digunakan untuk meneliti ekstrak tumbuhan yang memiliki bioaktivitas dan juga mengontrol kandungan senyawa bioaktif selama proses pemurnian. Salah satu metode yang digunakan untuk mengetahui toksisitas tersebut adalah metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) menggunakan hewan uji larva udang *Artemia salina* Leach (Fauziah *et al.*, 2022).

Metode BSLT adalah uji toksisitas menggunakan larva udang *A. salina* Leach. yang merupakan metode skrining tanaman obat yang berpotensi sebagai antikanker. Digunakan larva *A. salina* Leach karena salah satu struktur subunit RNA *polymerase* II pada *A. salina* Leach ini memiliki kemiripan dengan RNA *polymerase* II sel HeLa (salah satu sel kanker turunan dari sel epitel leher rahim manusia) (Oratmangun dkk., 2014). Penggunaan metode BSLT dalam penelitian ini dilakukan karena proses uji yang singkat, ekonomis, efisien dan cukup akurat. Nilai mortalitas atau toksisitas ditunjukkan oleh *Lethal Concentration* (LC_{50}), dimana konsentrasi ekstrak atau fraksinya dapat menyebabkan kematian *A. salina* Leach sebanyak 50%. Uji BSLT dilakukan untuk menentukan apakah suatu fraksi senyawa memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan sel yang bersifat toksik. Penggunaan larva *A. salina* Leach dianggap sebagai representasi organisme untuk uji kematian secara *in vivo* (Chusniasih dan Tutik, 2020).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Makalalag dkk., 2019), diketahui bahwa ekstrak etanol dari daun turi menghasilkan nilai LC_{50} sebesar 118,928 ppm

yang diperoleh melalui metode BSLT dan dikategorikan bersifat toksik. Penelitian lainnya yang dilakukan oleh (Afrin *et al.*, 2019), mengenai skrining fitokimia pada ekstrak metanol dan ekstrak etil asetat kulit batang turi merah positif terhadap senyawa terpenoid dan steroid yaitu asam kaurenik, β -amyirin, lupeol, stigmata-4,22-dien-3-one, stigmata-4-en-3-one dan stigmasterol. Penelitian lanjutan mengenai fraksi *n*-heksana dari ekstrak metanol kulit batang tanaman turi merah belum pernah dilakukan sehingga diharapkan adanya keterbaruan dari penelitian yang dilakukan.

Identifikasi senyawa metabolit sekunder dalam fraksi *n*-heksana dari kulit batang tumbuhan turi merah pada penelitian ini dilakukan dengan beberapa tahapan. Tahapan pertama yaitu proses fraksinasi dan pemurnian senyawa. Kemudian dilakukan skrining fitokimia terhadap beberapa senyawa bioaktif seperti alkaloid, triterpenoid, steroid, flavonoid dan polifenol. Setelah itu, senyawa aktif dipisahkan menggunakan kromatografi cair vakum dan diuji identifikasinya dengan menggunakan KLT dengan sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Selanjutnya, hasil fraksinasi teraktif akan diuji toksisitasnya menggunakan metode BSLT. Uji toksisitas dengan metode BSLT menggunakan larva udang yang ditetaskan di dalam wadah gelap dan terang. Pengujian toksisitas dilakukan menggunakan kontrol dan sampel yang akan diuji. Hasil yang didapatkan dari uji toksisitas menggunakan metode BSLT akan dilakukan isolasi lebih lanjut dengan kromatografi kolom gravitasi.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukan penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder dari fraksi *n*-heksana kulit batang tumbuhan turi merah (*S. grandiflora* (L.) Poir).
2. Melakukan uji toksisitas awal dari ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana, dan senyawa hasil isolasi dari kulit batang tumbuhan turi merah (*S. grandiflora* (L.) Poir) menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

1.3 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Memberikan informasi mengenai kandungan senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan dari fraksi *n*-heksana dari kulit batang tumbuhan turi merah (*S. grandiflora* (L.) Poir).
2. Memberikan informasi mengenai tingkat toksisitas awal ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana dan senyawa hasil isolasi dari tumbuhan turi merah (*S. grandiflora* (L.) Poir).

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Fabaceae

Fabaceae merupakan kelompok tumbuhan yang menduduki posisi ketiga terbesar (setelah *Orchidaceae* dan *Asteraceae*). Tumbuhan ini termasuk dalam kelompok *Angiospermae* atau tumbuhan berbunga. Famili ini secara global mencakup sekitar 730 genus dan sekitar 19.400 spesies (Rahmah dan Setiawan, 2023). Famili *Fabaceae* merupakan bagian dari ordo Fabales yang dicirikan dengan buah berupa polong. Umumnya famili *Fabaceae* berbentuk herba, semak, atau pohon. *Fabaceae* dikelompokkan menjadi 3 subfamili, yaitu Mimosoideae, Caesalpinioideae dan Papilionoideae. Papilionoideae dan Mimosoideae termasuk dalam kelompok yang berasal dari *monophyletic*, sedangkan Caesalpinioideae termasuk dalam kelompok yang berbeda yaitu *polyphyletic*. Subfamili yang paling tinggi yaitu terdapat pada Papilionoideae (Putri dan Dharmono, 2018). Salah satu contoh spesies dalam subfamili ini adalah tumbuhan kacang-kacangan, seperti tumbuhan turi (*S. grandiflora*).

2.2 Tumbuhan Turi (*S. grandiflora* (L.) Poir)

Turi (*S. grandiflora* L. Poir) adalah tanaman yang berasal dari Asia dan tersebar luas di daerah tropis seperti India, Malaysia, Filipina, dan Indonesia. Di Indonesia, turi memiliki sejumlah nama lokal yang berbeda-beda seperti tuwi di Bali, turi di Jawa, toroy di Madura, tuli turi di Sumatera, kaju jawa di Makassar, dan turing di Sulawesi. Tanaman turi sering dijumpai pada dataran rendah dan mudah beradaptasi pada lingkungan yang panas maupun lembab sekalipun. Tanaman ini

ditanam sebagai tumbuhan hias di halaman-halaman rumah dan sebagai peneduh di sawah-sawah. Selain itu, ia dapat tumbuh dengan baik pada tanah yang bersifat asam dan kadang juga dapat tumbuh subur di tanah yang berair. Terdapat dua varietas turi yang dapat dibedakan berdasarkan warna bunganya, yaitu turi merah dengan bunganya yang berwarna merah violet dan turi putih dengan bunganya yang berwarna putih.

Dalam bidang taksonomi, klasifikasi tumbuhan turi dapat diuraikan sebagai berikut.

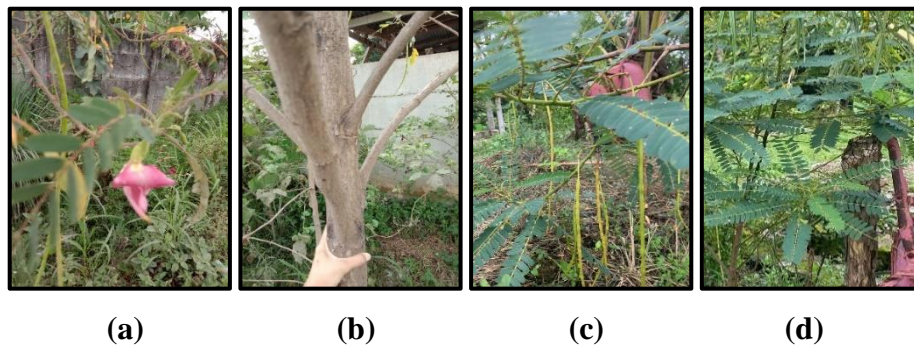
Kingdom : Plantae
 Subkingdom : Tracheobionta
 Superdivisi : Spermatophyta
 Divisi : Magnoliophyta
 Kelas : Magnoliopsida
 Subkelas : Rosidae
 Ordo : Fabales
 Famili : Leguminosae
 Subfamili : Papilionoidae
 Genus : *Sesbania*
 Spesies : *Sesbania grandiflora* (L.) Poir (Bahera *et al.*, 2012).

2.2.1 Karakteristik Tumbuhan Turi (*S. grandiflora* (L.) Poir)

Tumbuhan turi umumnya tumbuh pada ketinggian di bawah 1.200 mdpl. Pohonnya kurus dan memiliki ranting yang sering kali menggantung serta memiliki umur yang pendek. Kulit permukaan luar batang berwarna abu-abu kehitaman yang kasar, dengan retakan vertikal yang panjangnya sekitar 1-2, saat mencukil kulit kayu sampai ke lapisan terdapat lendir berwarna kuning hingga kemerahan (Purwanto, 2007). Cabang ranting akan muncul setelah tinggi pohon sekitar 5 m. Memiliki daun yang majemuk di mana letak daun menyebar dan daun yang menumpu memiliki panjang sekitar 0,5-1 cm. Daunnya menyirip berjumlah

genap dan memiliki panjang sekitar 20-30 cm, dengan 20-40 pasang anak daun yang memiliki tangkai pendek. Bentuknya adalah oval dan lonjong, dengan tepi rata, dan memiliki panjang sekitar 3-4 cm serta lebar 0,8-1,5 cm.

Bunga turi yang besar terdapat dalam tandan, tumbuh dalam ketiak daun yang menggantung dengan 2-4 tangkai bunga, dengan kuncup bunga yang memiliki bentuk seperti bulan sabit. Polongnya ramping dan lurus menggantung, serta ujung meruncing dengan ukuran sekitar 30-50 cm dan lebarnya 1-1,5 cm. Pada tahap awal perkembangannya, polong turi berwarna hijau dan ketika mencapai tahap dewasa polong tersebut akan berubah warnanya menjadi kuning kecoklatan. Bijinya berwarna coklat dan berbentuk oval, terletak horizontal di dalam polongnya (Orwa *et al.*, 2009).



Gambar 1. Bagian-bagian tumbuhan turi : (a) bunga, (b) batang, (c) polong, (d) daun.

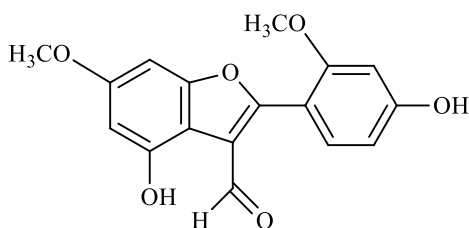
2.2.2 Kandungan Senyawa Kimia dari Tumbuhan Turi

Komponen kimia yang dapat ditemukan dalam tumbuhan turi antara lain adalah flavonoid, saponin, *arginine*, *cystine*, *histidine*, *isoleucine*, *phenylalanine*, *tryptophan*, *valine*, *threonine*, *alanine*, *asparagine*, *asam aspartic*, *asam oleat*, *galactose*, *rhamnose*, *asam glucuronic*, dan *kaempferol* (Bhoumik *et al.*, 2016). Selain itu, tumbuhan turi juga mengandung sejumlah vitamin seperti vitamin A, vitamin C, *thiamine*, *riboflavin*, dan *nicotinic acid* sehingga dapat memberikan perlindungan terhadap bahaya oksidasi bagi manusia (Ramesh *et al.*, 2015).

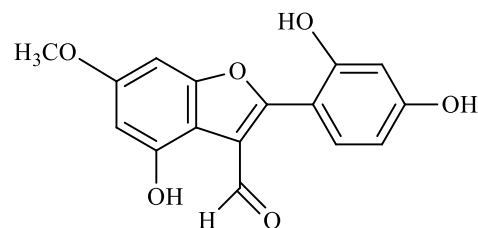
2.2.3 Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder dari Tumbuhan Turi

Karena khasiatnya dalam pengobatan, tumbuhan turi diduga mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder. Senyawa metabolit sekunder adalah senyawa bioaktif yang dapat dimanfaatkan sebagai pengobatan, sehingga agar dapat mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder dari tumbuhan turi maka diperlukan pengujian dengan skrining fitokimia (Makalalag dkk., 2015). Tumbuhan turi (*S. grandiflora* (L.) Poir) memiliki berbagai macam senyawa metabolit sekunder yang melimpah dan beragam. Setiap bagian jaringan dalam tumbuhan turi memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang tidak sama. Berdasarkan pada uji pendahuluan penelitian yang telah dilakukan, hasil dari ekstraksi tumbuhan turi menunjukkan bahwa kandungan antioksidan yang paling tinggi dari jaringan tumbuhan yaitu akar, daun, dan kulit batang adalah jaringan kulit batangnya. Pada uji pendahuluan yang telah dilakukan, uji skrining fitokimia pada kulit batang turi mengandung senyawa golongan flavonoid, terpenoid, saponin, tanin, dan fenolik (Ratu Dwi dkk., 2015). Ekstrak metanol dari daun turi dilaporkan mengandung alkaloid, glikosida, steroid, terpenoid dan tanin yang dianalisis dengan GC-MS (Asmara, 2017).

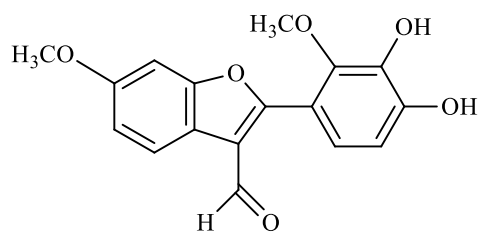
Contoh senyawa metabolit sekunder yang telah berhasil diisolasi dari kulit batang tumbuhan turi yang didapatkan dalam penelitian Noviany *et al.* (2021), yaitu sesbagrandiflorin A (6-metoksi-2-(2',3'-dihidroksi-5'-metoksifenil)-1-benzofuran-3-karbalehid) (**1**) dan sesbagrandiflorin B (6-hidroksi-2-(2',3'-dihidroksi-2-(2',3'-dihidroksi-5'-metoksifenil)-1-benzofuran-3-karbalehid) yang merupakan jenis senyawa 2-aril benzofuran (**2**), sedangkan pada penelitian Noviany *et al.* (2020) didapatkan juga senyawa sesbagrandiflorain C (**3**).



(1)



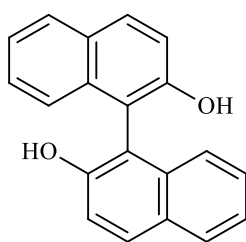
(2)



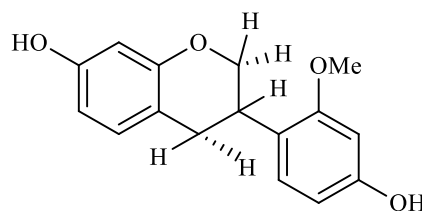
(3)

Gambar 2. Struktur senyawa hasil isolasi dari kulit batang *S. grandiflora* (Noviany *et al.*, 2020; Noviany *et al.*, 2021)

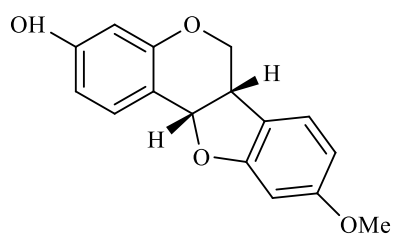
Selain itu, berhasil juga diisolasi senyawa metabolit sekunder dari akar tumbuhan turi merah yaitu 1,1' binaphthalene-2,2'-diol (4), isovestitol (5), medicarpin (6), dan sativan (7) (Noviany *et al.*, 2012; Hasan *et al.*, 2012).



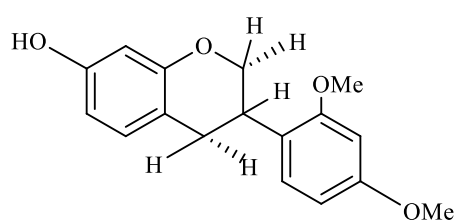
(4)



(5)



(6)



(7)

Gambar 3. Struktur senyawa hasil isolasi dari akar tumbuhan turi merah (Noviany *et al.*, 2012; Hasan *et al.*, 2012).

2.2.4 Efek Farmakologi Tumbuhan Turi

Tumbuhan turi, yang juga dikenal dengan nama *S. grandiflora* termasuk dalam famili Fabaceae yang diketahui mengandung senyawa fenolik dan hampir seluruh bagian dari tumbuhan ini bermanfaat bagi manusia. Manfaat tumbuhan turi yakni dapat mengobati sakit kepala, batuk, hidung berlendir, memar, keseleo, beri-beri, radang tenggorokan, serta dapat meningkatkan produksi ASI. Turi juga memiliki kegunaan sebagai obat yang dapat berfungsi sebagai analgetik (pengurang rasa nyeri) dengan menggunakan kulit batang dan daunnya (Suita, 2017). Jaringan dalam tumbuhan turi mengandung berbagai komponen seperti karbohidrat, protein, alkaloid, glikosid, tanin dan flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa yang memiliki tingkat antioksidan yang tinggi, sehingga mampu melindungi sel-sel dari kerusakan DNA dengan membersihkan radikal bebas. Sedangkan, tanin adalah senyawa yang berasal dari kelompok flavonoid dan dapat berfungsi sebagai antioksidan (Rohmah dkk., 2018).

Semua bagian dari tumbuhan turi termasuk batang, kulit batang, akar, daun, dan bunganya, memiliki manfaat dalam pengobatan tradisional untuk mengatasi masalah seperti flu, demam, gangguan perut, diare, dan kulit yang kusam. Pada bunga turi terdapat kandungan kimia seperti flavonoid. Flavonoid adalah komponen utama yang terdapat dalam bunga turi dan memiliki kemampuan dalam menghambat aktivitas mikroba (Arunabha and Satish, 2015). Bunga turi merah mengandung jumlah zat antimikrobia yang tinggi, yang dapat dimanfaatkan oleh masyarakat pedesaan sebagai pengobatan alternatif untuk mengatasi diabetes atau kencing manis (Asmara, 2017). Sedangkan pada akar tumbuhan turi juga memiliki efek farmakologi yang hampir sama dengan kulit batang turi yaitu sebagai antioksidan, analgesik, antiinflamasi, serta antiseptik (Shareef *et al.*, 2012).

2.3 Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder

Untuk mengisolasi senyawa yang terdapat dalam tumbuhan, langkah awal yang diperlukan adalah melakukan pemisahan dan pemurnian menggunakan teknik ekstraksi dan kemudian dilanjutkan dengan teknik kromatografi. Dalam proses ekstraksi, metode yang dapat digunakan meliputi maserasi, perkolasi, dan sokletasi. Selanjutnya, dalam teknik kromatografi, metode yang dapat digunakan mencakup kromatografi lapis tipis (KLT), kromatografi cair vakum (KCV), dan kromatografi kolom (KK). Pemilihan metode yang tepat didasarkan pada studi yang telah dilakukan sebelumnya dan bergantung pada kasus penelitian tertentu.

2.3.1 Aspek Umum

Isolasi adalah teknik yang digunakan untuk memisahkan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam suatu bahan alam. Proses isolasi pada senyawa bahan alam melibatkan beberapa tahapan termasuk ekstraksi, fraksinasi serta pemurnian dan identifikasi. Ekstraksi adalah suatu proses dimana senyawa kimia yang terdapat dalam sampel bahan alam dipisahkan ke dalam suatu pelarut. Prinsip dari ekstraksi yaitu berdasarkan pada distribusi senyawa yang dapat larut dalam pelarut, dan hasil ekstraksi disebut dengan ekstrak. Fraksinasi adalah proses pemisahan komponen ekstrak menjadi fraksi-fraksi, yang dapat dilakukan dengan berbagai metode seperti kromatografi lapis tipis (KLT), kromatografi kolom (KK), GC dan HPLC. Pemurnian dan identifikasi merupakan langkah akhir dalam teknik isolasi yang paling sederhana dan efektif untuk kristalisasi atau rekristalisasi senyawa metabolit sekunder (Pratiwi dkk., 2021).

2.3.2 Ekstraksi

Terdapat beberapa teknik ekstraksi yang digunakan dalam sampel bahan alam, seperti maserasi, digesti, infusdasi, perkolasi, dan sokletasi. Berdasarkan fase

terlibatnya, ekstraksi dapat dibagi menjadi 2 jenis yaitu ekstraksi cair-cair dan ekstraksi padat cair. Dalam penelitian ini, digunakan metode ekstraksi padat cair yang disebut maserasi. Maserasi adalah teknik ekstraksi di mana sampel direndam dalam pelarut organik yang sesuai pada suhu ruangan. Dalam penelitian ini, metanol digunakan sebagai pelarut karena memiliki keuntungan memiliki titik didih yang lebih rendah sehingga dapat diuapkan pada suhu yang lebih rendah, meskipun bersifat toksik. Prinsip dasar dari metode maserasi adalah bahwa pelarut polar akan melarutkan senyawa polar, sementara pelarut nonpolar akan melarutkan senyawa nonpolar, hal tersebut berdasarkan prinsip "*like dissolved like*". Maserasi mampu mengangkat struktur sel dan mengeluarkan senyawa kimia untuk berinteraksi dengan pelarut dan membantu menghilangkan komponen tanaman yang berbeda.

Selain maserasi, metode ekstraksi juga dapat dilakukan dengan cara partisi. Partisi termasuk dalam metode ekstraksi cair-cair, yang proses pemisahannya berdasarkan pada kelarutannya dalam dua pelarut berbeda yang tidak saling bercampur menggunakan perbandingan tertentu (Tshepelevitsh *et al.*, 2017). Ketika senyawa organik diekstraksi maka akan menghasilkan fraksi polar dan nonpolar, dimana fraksi polar akan terkonsentrasi dalam fase air dan yang nonpolar dalam fase organik.

2.4 Kromatografi

Kromatografi merupakan metode pemisahan campuran berdasarkan pada perbedaan laju pergerakan komponen dalam suatu medium khusus. Dalam kromatografi, komponen-komponen yang perlu dipisahkan berinteraksi antara dua fase, yaitu fase gerak dan fase diam. Prinsip kromatografi adalah ketika molekul dalam campuran diaplikasikan pada permukaan atau ke dalam padatan. Fase diam akan menahan komponen campuran, sedangkan fase gerak akan melarutkan zat komponen campuran. Beberapa teknik kromatografi yang sering digunakan dalam penelitian meliputi kromatografi lapis tipis (KLT), kromatografi cair vakum

(KCV), kromatografi kolom gravitasi (KG), dan kromatotron (Atun, 2014). Dalam penelitian ini, 3 teknik kromatografi yang digunakan adalah kromatografi lapis tipis (KLT), kromatografi cair vakum (KCV), dan kromatografi kolom.

2.4.1 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis adalah suatu metode pemisahan komponen kimia didasarkan pada prinsip adsorpsi dan partisi yang dipengaruhi oleh fase diam (adsorben) dan fase gerak (eluen). Komponen-komponen kimia akan bergerak ke atas karena adanya perbedaan daya serap adsorben terhadap komponen-komponen kimia tersebut, yang disebabkan oleh perbedaan tingkat kepolarannya. Ini mengakibatkan komponen kimia bergerak pada jarak yang berbeda berdasarkan tingkat polaritasnya. Oleh karena itu, pemisahan komponen kimia dalam ekstrak dapat terjadi. Proses KLT diulangi beberapa kali dengan berbagai jenis eluen yang memiliki tingkat polaritas yang berbeda untuk mencari pelarut yang memberikan pemisahan yang optimal dengan hasil visualisasi yang baik pada noda zat warna (Alen *et al.*, 2017).

Analisis sampel dengan KLT pada ekstrak dilakukan dengan cara menotolkan sampel pada salah satu ujung plat KLT, agar membentuk zona awal. Ujung plat KLT yang memiliki zona awal tersebut dicelupkan ke dalam chamber yang berisi fase gerak (eluen), yang bisa terdiri dari satu atau dua pelarut. Setelah fase gerak bergerak hingga mencapai jarak yang telah ditentukan, langkah selanjutnya adalah mengambil fase diam (plat KLT) dan mengeringkannya. Hasil zona yang terbentuk dapat terdeteksi secara langsung (visual) atau dengan bantuan sinar UV (Wulandari, 2011).

Untuk mengidentifikasi komponen satu dengan komponen yang lainnya digunakan *retardation factor* (Rf). Rf merupakan perbandingan antara jarak tempuh dari pusat bercak dari titik awal dengan jarak garis depan pelarut dari titik awal (Romsiah dan Utami, 2018). Nilai Rf dihitung dengan membandingkan jarak

yang ditempuh oleh zat terlarut dengan jarak yang ditempuh oleh fase gerak. Jarak yang ditempuh dapat diukur menggunakan penggaris dan dihitung besarnya R_f menggunakan persamaan 1.

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh zat}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut}} \dots\dots\dots (1)$$

Nilai R_f berkisar antara 0 dan 1, dan rentang nilai R_f yang optimal antara 0,2-0,8 untuk deteksi UV dan 0,2-0,9 untuk deteksi visibel. R_f relatif yang ideal pada deteksi UV berada pada rentang 20-80. Ketika nilai R_f kurang dari 0,2 hal tersebut menunjukkan bahwa kesetimbangan antara komponen senyawa dengan fase diam dan fase gerak belum tercapai, sehingga bentuk noda biasanya kurang simetris. Sementara itu, jika nilai R_f melebihi 0,8 maka noda analit dapat terganggu oleh absorbansi pengotor pada fase diam yang teramati pada visualisasi dengan lampu UV (Wulandari, 2011). Hasil pengamatan KLT menunjukkan bahwa ekstrak sampel mengandung berbagai senyawa yang dapat dilihat dari noda berwarna pada plat KLT yang diperoleh dari hasil pengelusan dengan nilai R_f yang beragam. Noda tersebut menunjukkan bahwa pada noda terdapat senyawa aktif sedangkan satu senyawa terdapat pada satu noda.

2.4.2 Kromatografi Vakum Cair (KCV)

Kromatografi cair vakum adalah salah satu jenis kromatografi vakum yang umumnya menggunakan silika gel sebagai adsorben. Metode ini digunakan untuk memisahkan ekstrak total secara efisien melalui proses fraksinasi. Teknik ini lebih sering digunakan untuk fraksinasi sampel dalam jumlah besar yaitu sekitar 10-50 gram. Proses ini melibatkan penggunaan kolom kromatografi yang terkoneksi dengan pompa vakum dan diisi dengan media penyerap berupa silika gel. Sebagai eluen digunakan campuran pelarut secara bertahap dari yang nonpolar hingga polar. Hasil fraksinasi dari kromatografi cair vakum adalah fraksi-fraksi yang dapat dikelompokkan ke dalam kelompok senyawa nonpolar, semi polar, dan polar (Atun, 2014).

KCV memiliki beberapa kelebihan dibandingkan dengan kromatografi kolom, terutama dalam hal efisiensi waktu karena proses pengelusan dipercepat melalui vakum, dan juga kemampuan KCV dalam memisahkan sampel dengan jumlah yang banyak. Pemilihan jenis silika gel yang sesuai menjadi faktor yang sangat penting agar mendapatkan hasil pemisahan yang optimal. Jika ukuran partikel silika gel terlalu kecil, hal tersebut dapat menyebabkan proses elusi berjalan sangat lambat.

2.4.3 Kromatografi Kolom (KK)

Kromatografi kolom adalah metode kromatografi yang melibatkan penggunaan zat penyerap (fase diam) dalam buret kaca. Fase gerak dituangkan di atas dan mengalir ke bawah melalui fase diam. Dalam kromatografi kolom, fase diam ditempatkan dalam kolom yang dilewati fase gerak yang dipengaruhi oleh adanya tekanan gravitasi. Prinsip dasar kromatografi kolom adalah adanya perbedaan absorbansi dari setiap senyawa campuran yang akan dipisahkan. Senyawa yang bersifat polar akan lebih kuat terserap oleh gel silika gel sehingga pergerakannya lebih lambat, sedangkan senyawa yang bersifat nonpolar akan lebih lemah terserap dan bergerak lebih cepat. Senyawa dalam kolom terpisah membentuk pita serapan sesuai dengan polaritasnya dan mengalir keluar dari kolom dengan pelarut (fase gerak) yang memiliki polaritas yang sama (Syahmani dkk., 2017).

Fase gerak yang digunakan dapat berupa pelarut murni atau campuran dua pelarut sesuai menggunakan perbandingan tertentu. Untuk menentukan pelarut yang paling sesuai, uji pendahuluan dilakukan dengan menggunakan plat KLT dengan pelarut yang sama tetapi dengan volume yang diperkecil. Sampel yang telah dipreadsorpsi dimasukkan ke dalam kolom dan selanjutnya dielusi secara bertahap dari pelarut yang bersifat nonpolar ke pelarut yang bersifat polar. Kepolaran ditingkatkan secara bertahap menggunakan campuran dua pelarut (eluen) dalam perbandingan tertentu. Penambahan setiap eluen bergantung pada warna atau pita

serapan yang terbentuk, jika satu warna sudah tidak turun lagi maka kepolaran eluen harus ditingkatkan (Emilda, 2023).

2.5 Karakterisasi Senyawa Murni

Pada penelitian ini, senyawa murni dikarakterisasi menggunakan spektroskopi, yang merupakan ilmu yang berfokus pada analisis spektrum dari suatu senyawa dan interaksi dengan radiasi elektromagnetik. Metode spektroskopi yang diterapkan pada penelitian ini adalah NMR (*Nuclear Magnetic Resonance*).

2.5.1 Spektroskopi *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR)

Spektroskopi NMR merupakan suatu teknik yang digunakan untuk menentukan struktur senyawa yang belum diketahui. Spektrum yang dihasilkan yaitu kumpulan dari satu atau lebih puncak resonansi pada frekuensi tertentu. Terdapat dua jenis metode spektroskopi NMR yaitu ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR. Spektroskopi ^1H -NMR memberikan informasi tentang struktur suatu senyawa berdasarkan jenis proton atau hidrogen dalam suatu sampel. Sedangkan, ^{13}C -NMR dapat memberikan informasi struktural terkait dengan jumlah atom karbon dalam senyawa (Ismail *et al.*, 2022).

Metode spektroskopi tersebut didasarkan pada penyerapan energi oleh partikel yang bergerak di dalam medan magnet yang sangat kuat. Pada teknik ini, energi yang digunakan untuk pengukuran terletak dalam rentang panjang gelombang radio 75-0,5 m atau pada frekuensi 4-600 MHz, tergantung pada jenis inti yang sedang diukur (Silverstein dkk., 1986). Informasi tentang pergeseran kimia beberapa senyawa organik dalam spektra ^1H -NMR dapat dilihat dalam Tabel 1.

Tabel 1. Letak pergeseran kimia dalam spektra $^1\text{H-NMR}$

Tipe Gugus	$\delta^1\text{H-NMR}$ (ppm)
C-CH ₃ (alkana)	0,5-2
HC≡CH (alkuna)	2,5-3,5
H ₃ C-O (eter)	3,5-3,8
H ₂ C=C (alkena)	4,5-7,5
Ar-OH (fenol)	4-8
R-OH (alkohol)	5-5,5
Ar-H (aromatik)	6-9
-CO-H (aldehid)	9,8-10,5
-CO-OH	11,5-12,5

Sumber : (Sudjadi, 1983).

2.6 Uji Toksisitas

Toksistas adalah kemampuan suatu zat atau molekul untuk menyebabkan keracunan. Toksisitas adalah suatu sifat relatif dari zat kimia yang berdampak langsung ataupun tidak langsung pada manusia. Uji toksisitas terbagi menjadi 2 kelompok, yaitu uji toksisitas umum (akut, sukronis dan kronis) dan uji toksisitas khusus yang mencakup potensi teratogenik, mutagenik, dan karsiogenik. Uji toksisitas umum dirancang sebagai evaluasi seluruh efek umum dari suatu senyawa pada hewan uji, sementara uji toksisitas khusus dirancang sebagai evaluasi secara rinci tipe-tipe toksisitas yang lebih spesifik.

Tumbuhan mampu memproduksi senyawa metabolit sekunder yang memiliki sifat toksik dan dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat. Senyawa metabolit sekunder dari tanaman dapat dianalisis kemampuan sitotoksiknya menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality* (BSLT). Metode BSLT adalah salah satu teknik untuk menguji toksisitas dengan menggunakan larva udang *A. salina* Leach sebagai hewan uji. Tujuan dari uji toksisitas menggunakan metode BSLT adalah untuk menentukan kandungan senyawa yang mungkin memiliki potensi sebagai zat racun terhadap pertumbuhan sel. Prinsip dasar metode ini berkaitan dengan senyawa aktif dan sifat toksik dari senyawa metabolit sekunder yang dapat

menyebabkan kematian larva udang *A. salina* Leach sebagai hewan uji (Sukandar dkk., 2008).

Dalam uji BSLT, tingkat mortalitas diamati setelah pemberian ekstrak terhadap hewan uji larva udang *A. salina*, yang kemudian diinkubasi selama 1×24 jam. Hasil pengamatan yang didapat kemudian dihitung sebagai nilai LC₅₀ (*Lethal Concentration*), yaitu konsentrasi ekstrak yang dapat menyebabkan kematian 50% dari *A. salina* (Chusniasih dan Tutik, 2020). Pengujian efek toksik menggunakan larva udang *A. salina* melibatkan pengelompokan kematian setelah pemaparan 6 jam sebagai kategori LC₅₀ akut, sementara pemaparan selama waktu 24 jam digolongkan sebagai LC₅₀ kronis. Umumnya, LC₅₀ setelah 24 jam lebih sering digunakan dalam praktik, terutama karena senyawa ekstrak yang sukar larut memerlukan waktu yang lebih lama untuk bereaksi sepenuhnya. Suatu ekstrak dikatakan toksik apabila memiliki nilai LC₅₀ < 1000 µg/ml setelah waktu 1×24 jam (Indrayani *et al.*, 2006).

Klasifikasi tingkat toksisitas ditentukan dengan membandingkan nilai LC₅₀ suatu ekstrak sampel dengan ketetapan LC₅₀ ≤ 30 ppm dianggap sangat toksik, 31 ppm ≤ LC₅₀ ≤ 1000 ppm dianggap toksik, dan LC₅₀ > 1000 ppm dianggap tidak toksik. Jumlah larva udang yang mati dihitung kemudian dianalisis menggunakan program analisis probit (*Probability Unit*) SAS (*Statistical Analysis System*) untuk menentukan nilai LC₅₀. Efek toksisitas dianalisis dengan pengamatan dari persen kematian menggunakan persamaan 2.

$$\% \text{ Mortalitas} = \frac{\text{Jumlah larva mati}}{\text{Jumlah larva uji}} \times 100\% \dots\dots\dots(2)$$

Apabila pada kontrol terdapat kematian pada larva, maka % kematian dihitung menggunakan persamaan 3.

$$\% \text{ Mortalitas} = \frac{\text{Uji-kontrol}}{\text{Kontrol}} \times 100\% \dots\dots\dots(3)$$

(Meyer *et al.*, 1982).

Setelah mengetahui presentase dari mortalitas larva *A. salina*, selanjutnya dicari nilai probit yang mengacu pada tabel probit dan dilakukan regresi linier menggunakan persamaan 4.

$$Y = ax + b \dots\dots\dots(4)$$

Keterangan :

Y = Nilai probit

a = Konsentrasi regresi

b = *Slope*/kemiringan regresi

x = Logaritma 10 konsentrasi uji

2.7 *Artemia salina* Leach

A. salina adalah organisme sederhana dari biota laut yang sangat kecil dan memiliki kepekaan yang cukup tinggi terhadap toksisitas. Selain itu larva *A. salina* ini memiliki kelebihan seperti toleransi (kemampuan beradaptasi) terhadap kisaran garam yang sangat luas, waktu siklus hidup yang lebih cepat, dan mudah dibiakkan. Apabila sampel yang akan diuji menyebabkan efek toksik terhadap larva udang, maka hal tersebut adalah indikasi awal dari efek farmakologi yang terdapat pada sampel tersebut (Sinaga *et al.*, 2018).

2.7.1 Morfologi *A. salina* Leach

A. salina dewasa umumnya memiliki panjang tubuh sekitar 8-10 mm, dengan beberapa individu mencapai 15 mm tergantung pada lingkungan hidupnya. Tubuhnya memanjang yang terdiri dari sekitar 20 segmen dilengkapi dengan kurang lebih 10 pasang *phyllopodia* pipih, yang merupakan bagian tubuh yang menyerupai daun dan bergerak secara teratur. *A. salina* dewasa dapat memiliki warna putih pucat, merah muda, hijau, atau transparan dan umumnya memiliki

masa hidup beberapa bulan. Mereka memiliki mulut dan sepasang mata pada antenanya. Alat reproduksinya (biseksual) terletak di antara ekor dan kaki belakang. Telur *A. salina* Leach memiliki bentuk bulat terlekuk pada dalam keadaan kering dan bulat penuh pada keadaan basah. Telur tersebut berwarna coklat dan dilapisi dengan cangkang yang tebal dan kuat (Jannah, 2020).

A. salina dapat bereproduksi melalui 2 cara yaitu bertelur atau melahirkan. Perubahan dalam cara reproduksi ini disebabkan oleh jumlah klorofil dalam makanannya dan faktor oksigen di lingkungannya. Ketika terdapat konsentrasi oksigen yang rendah dan tingkat klorofil yang tinggi dalam makanannya, reproduksi akan terjadi dengan cara bertelur, sedangkan hal sebaliknya akan menyebabkan reproduksi dengan cara melahirkan anak. *A. salina* mengalami beberapa tingkatan hidup, yaitu dapat dilihat dalam bentuk berlainan seperti bentuk telur, nauplius (larva) dan *A. salina* dewasa (Darajat, 2010).



Gambar 4. Larva *Artemia salina* Leach

Menurut Wibowo (2013), klasifikasi dari *A. salina* Leach adalah sebagai berikut :

Kingdom : Animalia
Filum : Arthropoda
Kelas : Crustaceae
Subkelas : Branchiopoda
Ordo : Anostraca
Famili : Artemiidae
Spesies : *Artemia salina* Leach

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2023 sampai Juni 2024, yang bertempat di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Determinasi tumbuhan dilakukan di Direktorat Pengelolaan Koleksi Ilmiah Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) Cibinong, Jawa Barat yang bertujuan untuk menentukan jenis spesies tumbuhan turi merah. Analisis Spektroskopi *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR) dilakukan di Institut Teknologi Bandung (ITB) Bandung, Jawa Barat.

3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini mencakup berbagai jenis alat-alat gelas dengan ukuran yang berbeda-beda, oven, neraca analitik, spatula dan pipet tetes, set alat destilasi, *rotary evaporator*, set alat kromatografi lapis tipis (KLT), lampu UV 256 nm dan 366 nm, set alat kromatografi cair vakum (KCV), set alat kromatografi kolom (KK), botol vial, mikro pipet, kaca pembesar, dan Spektrofotometer NMR.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari sampel kulit batang turi merah yang telah mengalami proses pengeringan dan penghalusan. Sampel tersebut diperoleh dari Jalan Tirtayasa, Desa Way Huwi, Kecamatan Jati Agung, Kabupaten Lampung Selatan pada hari Minggu tanggal 4 April 2021. Pelarut yang

digunakan untuk mengekstraksi sampel adalah metanol. Bahan-bahan kimia yang digunakan meliputi metanol (MeOH), etil asetat (EtOAc), *n*-heksana (*n*-C₆H₁₄), aseton (C₃H₆O), aquades (H₂O), kloroform, NaCl, reagen serium sulfat, reagen vanillin-asam sulfat, telur larva udang, air laut buatan, garam tidak beryodium, dimetil-sulfoksida (DMSO), kertas saring, plat KLT, silika gel Merck G-60 untuk impregnasi, silika gel GF 254 (35-70 Mesh).

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Persiapan Sampel

Penentuan jenis tumbuhan dari kulit batang tumbuhan turi merah dilakukan di Direktorat Pengelolaan Koleksi Ilmiah Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) Cibinong, Jawa Barat. Kulit batang turi diiris kecil-kecil kemudian dicuci dengan air hingga bersih, setelah itu dikeringkan hingga kering dengan cara diangin-anginkan namun tidak terkena langsung dengan sinar matahari. Setelah kulit batang kering, kemudian dilakukan penghalusan hingga menjadi serbuk. Serbuk inilah yang akan digunakan sebagai sampel pada penelitian ini.

3.3.2 Prosedur Isolasi Senyawa Bioaktif

a. Ekstraksi

Sebanyak 2000 gram serbuk halus dari kulit batang tumbuhan turi merah diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan metanol sebagai pelarut. Maserasi dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan yang masing-masing dilakukan selama 1x24 jam. Setelah waktu tertentu, maserat yang merupakan hasil ekstraksi dipisahkan melalui proses penyaringan. Ekstrak hasil dari maserasi disaring menggunakan kertas saring, lalu hasil dari maserasi dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C. Kemudian ekstrak pekat yang didapatkan

ditimbang, yang bertujuan agar dapat diketahui berat sampel tersebut. Setelah itu, ekstrak pekat dipartisi menggunakan pelarut *n*-heksana untuk mendapatkan fraksi *n*-heksana dan fraksi metanol. Selanjutnya, fraksi *n*-heksana yang dihasilkan dari partisi dipekatkan menggunakan alat *rotary evaporator*.

b. Kromatografi Cair Vakum (KCV)

Ekstrak pekat fraksi *n*-heksana yang telah dihasilkan kemudian ditimbang dan dilakukan proses fraksinasi menggunakan KCV dengan tujuan untuk memisahkan ekstrak sampel dalam jumlah banyak. Prinsip dasar dari metode KCV adalah distribusi partikel pada fasa diam. Pada penelitian ini fasa diam yang digunakan adalah silika gel halus dengan jumlah 10 kali dari berat sampel. Pada prosesnya, silika gel dimasukkan ke dalam kolom. Kolom tersebut kemudian dikemas kering dengan keadaan vakum menggunakan alat vakum untuk memastikan bahwa silika halus tersebut menjadi padat tanpa ada rongga yang terbentuk. Setelah itu, eluen yang memiliki kepolaran rendah dimasukkan ke permukaan silika halus agar membasahi silika sehingga kerapatannya padat. Selanjutnya kolom dihisap kembali dengan alat vakum hingga benar-benar kering dan siap digunakan.

Proses selanjutnya yaitu persiapan sampel yang akan difraksinasi. Ekstrak kasar dari tumbuhan turi merah dilarutkan dalam metanol (jika tidak larut dapat dilarutkan dengan aseton), kemudian diimpregnasikan pada silika gel kasar dengan jumlah 2 kali dari berat sampel, lalu digerus hingga homogen. Proses selanjutnya adalah pengelusian kolom menggunakan eluen *n*-heksana/EtOAc dimulai dari menuangkan *n*-heksana 100% terlebih dahulu, lalu divakum hingga kering dan dilakukan pengulangan sebanyak 2-3 kali hingga homogen dan tidak terdapat retakan atau rongga pada kolom. Selanjutnya sampel yang telah diimpregnasi dimasukkan ke dalam bagian atas kolom yang telah berisi fasa diam, kemudian dielusi kembali menggunakan eluen yang telah ditentukan. Setiap kali elusi dilakukan dengan penambahan eluen, kolom dihisap dengan vakum hingga benar-benar kering. Fraksi-fraksi yang diperoleh ditampung dalam beberapa vial,

kemudian diamati menggunakan metode KLT. Fraksi-fraksi yang memiliki Rf yang sama digabungkan menjadi satu vial (Pratiwi dan Ersam, 2013). Pada proses fraksinasi sampel, fraksi yang menjadi target akan dimurnikan dengan KCV yang dilakukan secara berulang. Jika setiap pola fraksi dihasilkan bobot lebih dari 1 gram, maka dilakukan KCV kembali.

c. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Uji KLT digunakan untuk menganalisis fraksi-fraksi yang akan difraksinasi serta fraksi-fraksi yang dihasilkan dari proses KCV dan kromatografi kolom. Metode ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa berdasarkan pola pemisahannya dan noda yang terbentuk pada saat pengujian KLT. Metode KLT ini melibatkan penggunaan campuran eluen dengan kombinasi pelarut yang sesuai seperti metanol, *n*-heksana, etil asetat, kloroform dan diklorometana. Proses elusi dengan kombinasi pelarut yang sesuai contohnya menggunakan eluen *n*-heksana/etil asetat dengan perbandingan 9:1. Pada prosesnya, fraksi-fraksi yang didapat dari sampel turi merah ditotolkan pada plat KLT kemudian dielusi ke dalam *chamber*. Setelah eluen merambat sampai pada tanda batas plat, selanjutnya plat KLT dikeluarkan dan dikeringkan pada suhu kamar. Kemudian hasil dari kromatogram tersebut disemprot menggunakan larutan serum sulfat untuk menampakkan noda atau bercak yang berasal dari komponen senyawa tersebut. Noda atau bercak yang muncul selama proses ini dapat dilihat pola pemisahan dan identifikasi senyawanya di bawah sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Setelah itu dilakukan perhitungan dan pencatatan nilai Rf dari setiap noda atau bercak yang terlihat. Kemudian fraksi-fraksi dengan pola pemisahan yang memiliki Rf sama dalam kromatogram digabungkan lalu dipekatkan, sehingga akan diperoleh beberapa fraksi yang telah digabungkan, dan selanjutnya akan digunakan dalam proses fraksinasi lebih lanjut melalui kromatografi kolom (KK).

d. Kromatografi Kolom (KK)

Tahapan fraksinasi setelah diperoleh fraksi-fraksi dengan jumlah yang lebih sedikit dilanjutkan dengan menggunakan metode kromatografi kolom. Dalam proses ini, digunakan alat kromatografi kolom dengan ukuran yang sesuai dengan sampel yang digunakan dan adsorben yang digunakan yaitu silika gel Merck 60 (35-70 Mesh) yang kemudian dicampurkan dengan pelarut *n*-heksana pada proses pengelusian. Campuran tersebut kemudian diaduk hingga membentuk suatu *slurry*. *Slurry* dari silika gel kemudian dimasukkan ke dalam kolom, lalu fasa diamnya diatur hingga padat (tidak ada rongga) dan merata. Setelah itu, sampel yang telah diimpregnasi ke dalam silika gel dimasukkan ke dalam kolom yang telah berisi fasa diam. Selama proses ini, perlu dipastikan bahwa kolom tidak mengering atau kekurangan pelarut saat memasukkan sampel karena dapat mengganggu fasa diam yang telah dikemas dengan rapat. Hal tersebut dilakukan agar proses elusinya tidak terganggu (Indarto, 2015).

3.3.3 Analisis Kemurnian

Uji kemurnian pada penelitian ini dilakukan dengan metode KLT. Pada proses analisis kemurnian menggunakan metode KLT, setiap sampel dimonitoring dengan menggunakan beberapa eluen yang memiliki tingkat kepolaran berbeda. Tingkat kemurnian suatu senyawa dapat diidentifikasi dengan munculnya satu bercak atau noda yang terlihat pada plat KLT (Pratiwi dan Ersam, 2013).

3.3.4 Analisis Senyawa

Analisis senyawa pada penelitian ini menggunakan metode spektroskopi yaitu Spektroskopi *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR).

a. Spektroskopi *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR)

Sampel berupa kristal yang telah murni akan diidentifikasi dengan cara melarutkannya dalam pelarut inert seperti aseton, lalu ditambahkan sedikit senyawa acuan. Larutan tersebut ditempatkan dalam tabung gelas tipis dengan ketebalan 5 mm, yang berada di tengah-tengah kumparan frekuensi radio (rf) di antara dua kutub magnet yang sangat kuat. Selanjutnya, energi dari kumparan rf diterapkan secara terus menerus. Energi yang diserap oleh sampel pada frekuensi yang telah diatur dalam kumparan rf akan direkam dan akan menghasilkan spektrum NMR.

3.3.5 Uji Toksisitas Menggunakan Metode *Brine Shrimp Lethality Test*

a. Penyiapan Larva Udang *Artemia salina* Leach

Pengujian toksisitas dilakukan dengan menggunakan metode BSLT, dimana dalam metode ini digunakan hewan uji berupa larva udang *A. salina*. Untuk mempersiapkan larva udang yang masih berupa telur, pada tahap awal dilakukan proses penetasan terlebih dahulu yang dilakukan didalam wadah yang berisi air laut dan diberi sekat menjadi 2 bagian yaitu bagian terang dan bagian gelap. Pada wadah bagian terang diberi penyinaran berupa lampu untuk merangsang penetasan larva udang. Sedangkan, pada wadah bagian gelap diberi penutup sebagai tempat penetasan telur. Penetasan udang dilakukan selama waktu 24 jam di dalam air laut buatan, pembuatannya yaitu menggunakan 20 gram garam yang tidak beriodium dalam 1 liter air. Selama proses penetasan, wadah dilengkapi dengan lampu yang berfungsi sebagai sumber cahaya dan aerator yang berfungsi sebagai penyuplai oksigen dan menjaga agar telur tidak mengendap. Setelah alat sudah siap, kemudian telur *A. salina* dimasukkan dalam wadah gelap sebanyak 1-1,5 gram dan dibiarkan dalam waktu 24 jam hingga menetas. Setelah telur menetas dan menjadi larva, selanjutnya diipindahkan ke dalam wadah lain hingga larva berusia

48 jam. Larva yang telah berusia 48 jam siap dijadikan sebagai hewan uji pada percobaan BLST ini (Rahmawati dan Romi, 2017).

b. Pembuatan Konsentrasi Sampel dan Kontrol

Ekstrak kasar dan fraksi *n*-heksana dari sampel kulit batang tumbuhan turi (*S. grandiflora* (L.) Poir) masing-masing ditimbang sebanyak 4 mg. Selanjutnya, setiap ekstrak dilarutkan dalam DMSO sebanyak 200 μ L dan dicukupkan volumenya dengan air laut buatan hingga diperoleh konsentrasi sebesar 2000 ppm sebagai larutan stok. Setelah itu, dibuat variasi konsentrasi 50, 100, 500, 1000 ppm. Sebagai kontrol, dimasukkan pelarut DMSO dan air laut buatan yang sudah disesuaikan tanpa penambahan sampel.

c. Pelaksanaan Uji

Dengan menggunakan bantuan kaca pembesar, sebanyak 10 ekor larva *A. salina* yang telah berusia 48 jam (bergerak aktif) dalam air laut sebanyak 100 μ L diambil dengan mikro pipet dan dimasukkan kedalam masing-masing sampel uji yang telah disiapkan dengan berbagai konsentrasi. Kemudian masing-masing sampel tersebut diletakkan di bawah sinar lampu penerangan selama 24 jam. Selanjutnya setelah 24 jam, jumlah larva yang masih hidup dihitung menggunakan bantuan kaca pembesar (Muaja *et al.*, 2013).

d. Analisis Data

Teknik analisis data yang digunakan untuk uji mortalitas larva udang yakni berdasarkan pada nilai LC_{50} (*Lethal Concentration*) dimana mengakibatkan kematian larva udang hingga 50% dalam kurun waktu 24 jam, perhitungan ditentukan melalui metode analisis pada *Microsoft Office Excel* dengan membuat

persamaan garis linear yang menghubungkan antara nilai log konsentrasi dengan nilai probit. Uji toksisitas sampel ditentukan dengan melihat besarnya nilai LC_{50} dimana kematian larva *A. salina* mencapai 50% dan dilakukan perhitungan statistik dengan analisa probit (*probability unit*). Efek toksisitas dapat dianalisis dari pengamatan dengan persen kematian (Nurhayati *et al.*, 2006).

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dari penelitian ini, maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Diperoleh senyawa NV45 berupa padatan kristal berwarna putih dengan massa sebesar 15 mg.
2. Dari hasil kromatogram KLT uji kualitatif, NV45 diduga sebagai senyawa triterpenoid.
3. Dari hasil analisis data ¹H-NMR, diduga kristal NV45 mengandung senyawa lupeol dan sub unit dari senyawa lain yang belum teridentifikasi.
4. Dari hasil pengujian BSLT, menunjukkan bahwa ekstrak kasar metanol bersifat sangat toksik, fraksi *n*-heksana bersifat toksik, dan senyawa NV45 bersifat sangat toksik terhadap larva *A. salina* L dengan nilai LC₅₀ masing-masing sebesar 6,0770 µg/mL, 36,4257 µg/mL, dan 16,0448 µg/mL.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil dari penelitian ini, terdapat saran untuk penelitian selanjutnya yaitu sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan metode maserasi bertingkat pada penelitian selanjutnya untuk memperoleh jumlah senyawa metabolit sekunder yang lebih banyak.
2. Perlu dilakukan karakterisasi dan identifikasi lebih lanjut terhadap senyawa-senyawa yang dihasilkan dari fraksi *n*-heksana kulit batang

tumbuhan turi merah agar memperoleh informasi lebih lengkap mengenai struktur senyawa hasil isolasi.

3. Perlu dilakukan uji bioaktivitas lebih lanjut pada penelitian selanjutnya, seperti uji antikanker, antibakteri, antidiabetes, dan lain-lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Afrin, S., Sohrab, M. H., Ahmed, M. S., Hasan, C. M., and Ahsan, M. 2019. Terpenoids and steroids from the stem bark of *Sesbania grandiflora* and biological studies of the plant extract. *J. Pharm. Pharmacol.* **7** (6) : 307-313.
- Ahriani, Zelviani, S., Hernawati, dan Fitriyanti. 2021. Analisis nilai absorbansi untuk menentukan kadar flavonoid daun jarak merah (*Jatropha gossypifolia* L.) menggunakan spektrofotometer UV-Vis. *J. Food Technol.* **8** (2) : 56–64.
- Alen, Y., dan Agresa, F.L. 2017. Analisis kromatografi lapis tipis (KLT) dan aktivitas antihiperurisemia ekstrak Rebung *Schizostachyum brachycladum* Kurz pada mencit putih jantan. *J Sains Farm Klin.* **3** (2) : 146–152.
- Arunabha, M., and Satish, N. 2015. Study the immunomodulatory effects of combined extracts of *Sesbania grandiflora* Flowers and *Cocculus hirsutus* leaves on the circulating antibody response. *Am. J. Phytomedicine Clin Ther.* **3** (3) : 199–208.
- Asmara, A. P. 2017. Uji fitokimia senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak metanol bunga turi merah (*Sesbania grandiflora* L. Pers). *Al-Kimia.* **5** (1) : 48–59.
- Atun, S. 2014. Metode isolasi dan identifikasi struktural senyawa organik bahan alam. *Jurnal Konservasi Cagar Budaya.* **8** (2) : 53–61.
- Bahera, M., Karki, R., and Shekar, C. 2012. Preliminary phytochemical analysis of leaf and bark methanolic extract of *Sesbania grandiflora*. *Phytomedicine.* **1** : 11-12.
- Banwell, C. N., dan McCash, E. M. 1994. *Fundamentals of Molecular Spectroscopy. In TA - TT - (4th ed).* McGraw-Hill London.
- Bhounik, D., Berhe, A. H., and Mallik, A. 2016. Evaluation of gastric anti-ulcer potency of ethanolic extract of *Sesbania grandiflora* Linn leaves in experimental animals. *Am. J. Phytomed. Clin. Ther.* **4** (6). 174–182.

- Chusniasih, D., dan Tutik. 2020. Uji toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dan identifikasi komponen fitokimia ekstrak. *Analit.* **2** (2) : 192–201.
- Dachriyanus. 2004. *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi*. Andalas University Press. Padang.
- Darajat, K. 2010. Uji toksisitas ekstrak etanol daun turi (*Sesbania grandiflora* L. Pers) menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test*. UIN Alauddin Makassar. Gowa.
- Dianti Pratiwi, Dila Qhoirul Nisa, Elysa Martia, dan Putri Wulanbirru, S. D. A. 2021. Isolasi senyawa kumarin pada tanaman. *Syntax Idea.* **3** (2) : 6.
- Emilda, N. D. 2023. Pemanfaatan silika Gel 70-230 Mesh bekas sebagai pengganti fase diam kromatografi kolom pada praktikum kimia organik. *Journal of Laboratory Issn.* **6** (1) : 45–51.
- Fatimah, F., Martha, R. D., dan Danar, D. 2022. Analisis toksisitas dan potensi antikanker ekstrak metanol daun Majapahit (*Crescentia cujete*) dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test*. *J. Pharm. Sci.* **27** (1) : 24–30.
- Fauziah, F., Maulinasari., Harnelly, E., Ismail, Y. S., and Fitri, L. 2022. Toxicity test of rose periwinkle (*Catharanthus roseus*) leaves endophytic bacteria using *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) method. *Biodiversitas.* **23** (1) : 171-177.
- Harvey, D. 2004. *Modern Analytical Chemistry - David Harvey*. Mc Graw-Hill. USA.
- Hasan, N., Osman, H., Mohamad, S., Chong, W. K., Awang, K., and Zahariluddin, A. S. M. 2012. The chemical components of *Sesbania grandiflora* root and their antituberculosis activity. *Pharmaceuticals.* **5** (8) : 882-889.
- Huma Shareef, Ghazala H. Rizwani, Muhammad Zia-ul-Haq, Shakeel Ahmad and Zahid, H. 2012. Tocopherol and phytosterol profile of *Sesbania grandiflora* (Linn.) seed oil. *J. Medicinal Plants.* **6** (18) : 3478–3481.
- Indrayani, L., Soetjipto, H., dan Sihasale, L. 2006. Skrining fitokimia dan uji toksisitas ekstrak daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* L. Vahl) terhadap larva udang *Artemia salina* Leach. *Berk. Penel. Hayati.* **12** (16) : 57–61.

- Ismail, A., Irfan, Riga, R., Suryani, O., Insani, M., Lian Pernadi, N., dan Febriyanti, A. 2022. Analisis spektrum $^1\text{H-NMR}$: penjelasan sederhana. *Int. J. Adv. Med. Res.* **6** : 336–342.
- Jannah, D. W. 2020. *Identifikasi dan uji toksisitas terhadap larva udang (Artemia salina Leach) ekstrak Bekatul menggunakan variasi pelarut dan lama ekstraksi [UIN Maulana Malik Ibrahim Malang]*. Bussiness Law binus. Jakarta.
- Lestari, A., dan Atun, S. 2019. Identifikasi senyawa metabolit sekunder dari fraksi etil asetat batang *Dendrothoe falcata*. *J. Pharm. Sci.* **24** (1) : 13–20.
- Makalalag, A. K., Sangi, M., dan Kumaunang, M. 2015. Skrining Fitokimia dan uji toksisitas ekstrak etanol dari daun Turi (*Sesbania grandiflora* Pers). *Chem. Prog.* **8** (1) : 32-38.
- Makalalag, A. kurniawan, Sangi, M., dan Kumaunang, M. 2019. Skrining fitokimia dan uji toksisitas ekstrak etanol dari daun Turi (*Sesbania grandiflora* Pers). *Chem. Prog.* **8** (1) : 36–46.
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. E., and McLaughlin, J. L. 1982. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Med.* **45** (1) : 31–34.
- Muaja, A. D., Koleangan, H. S. J., dan Runtuwene, M. R. J. 2013. Uji toksisitas dengan metode BSLT dan analisis kandungan fitokimia ekstrak daun Soyogik (*Saurauia bracteosa* DC). *Jurnal MIPA.* **2** (2) : 115.
- Muhammad, F. N., dan Hidajayati, N. 2020. Identifikasi senyawa metabolit sekunder dari hasil isolasi ekstrak diklorometana kulit batang Juwet (*Syzygium cumini*) dan Uji Toksisitas. *UNESA J. Chem.* **9** (2) : 2–6.
- Muharni. 2010. Triterpenoid lupeol dari Manggis Hutan (*Garcinia bancana* Miq). *J. Phys. Sci.* 13(3) : 13308.
- Mustapa, M. A. 2018. *Toxicology, Essential Toksikologi Dasar Edisi 2*. Rasmedia Grafika. Yogyakarta.
- Mutmainnah, P. A., Hakim, A., dan Savalas, L. R. T. 2017. Identifikasi senyawa turunan hasil fraksinasi kayu akar *Artocarpus odoratissimus*. *J. Penelit. Pendid. IPA.* **3** (2) : 26-32.

- Noviany, N., Samadi, A., Carpenter, E. L., Abugrain, M. E., Hadi, S., Purwitasari, N., Indra, G., Indra, A., and Mahmud, T. 2021. Structural revision of sesbagrandidflorains A and B, and synthesis and biological evaluation of 6-methoxy-2-arylbenzofuran derivatives. *J. Nat. Med.* **75** (1) : 66–75.
- Noviany, N., Samadi, A., Yuliyani, N., Hadi, S., Aziz, M., Mohamad, S., Ismail, N. N., Gable, K. P., and Mahmud, T. 2020. Structure characterization and biological activity of 2-arylbenzofurans from an Indonesian plant, *Sesbania grandiflora* (L.) Pers. *Phytochem. Lett.* 211–215.
- Noviany, Osman, H., Chong, W. K., Awang, K., and Manshoor, N. 2012. Isolation and characterisation of 1,1'-binaphthalene-2,2'-diol, a new biaryl natural product from *Sesbania grandiflora* Root. *J. Basic Appl. Sci.* **8** (1) : 253–256.
- Nurhayati, A. P. D., Abdulgani, N., dan Febrianto, R. 2006. Uji toksisitas ekstrak *Eucheuma alvarezii* terhadap *Artemia salina* Leach studi pendahuluan potensi antikanker. *Akta Kimindo.* **2** (1) : 41–46.
- Orwa, C., Mutua, A., Kindt, R., Jamnadass, R. and Anthony, S. 2009. Agroforestry database: a tree reference and selection guide version 4.0. world agroforestry centre, kenya. *Afr. J. Pharm. S.* **8** (1).
- Pratiwi, A., dan Ersam, T. 2021. Uji kemurnian dua senyawa dari ekstrak metanol kayu batang *Garcinia cylindrocarpa*. *Sains Dan Seni Pomits.* **2** (2) : 1–4.
- Purwanto, N., Rismawati, E., dan Sadiyah, E.R. 2015. Uji Sitotoksik ekstrak biji salak (*Salacca zalacca* (Gaert) Voss dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Spesia Unisiba.* 616–622.
- Putri, A. I., dan Dharmono. 2018. Keanekaragaman genus tumbuhan dari famili fabaceae di kawasan hutan pantai tabanio kabupaten tanah laut kalimantan selatan. *Prosiding Seminar Nasional Lingkungan Lahan Basah.* **3** (1) : 209–213.
- Rahayu, S., Kurniasih, N., dan Amalia, V. 2015. Ekstraksi dan identifikasi senyawa flavonoid dari limbah kulit bawang merah sebagai antioksidan alami. *Al-Kimiya.* **2** (1) : 1–8.
- Rahmah, S., dan Setiawan, S. 2023. Analisis kekerabatan tanaman famili fabaceae berdasarkan karakteristik morfologi di Kecamatan Jatiningor , Kabupaten Sumedang. *J. Mat. Pos. Apl.* **1** (2) : 162–171.

- Ramesh, T., Sureka, C., Bhuvana, S., and Begum, V. H. 2015. Brain oxidative damage restored by *Sesbania grandiflora* in cigarette smoke-exposed rats. *Metab. Brain. Dis.* **30** (4) : 959–968.
- Ratu Dwi, G. R., Noviany, N., Arif, N., dan Ayu, S. 2015. Skrining fitokimia dan uji KLT ekstrak metanol beberapa tumbuhan yang berpotensi sebagai obat tradisional di Lampung. *Prosiding SNST VI.* 685–695.
- Rohmah, J., Rachmawati, N. R., dan Nisak, S. 2018. Perbandingan daya antioksidan ekstrak aseton daun dan batang Turi Putih (*Sesbania grandiflora*) dengan metode DPPH (diphenilpicrylhydrazil). *J. Sis. Inform. Kom.* 665–677.
- Romsiah, dan Utami, D. P. 2018. Identifikasi sakarin dan siklamat pada minuman es tidak bermerk yang dijual di pasar 16 Ilir Palembang dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis. *J. Int. Bus. Finance.* **3** (1) : 47–52.
- Sila, V. U., Masing, F. A., dan Santiari, M. 2022. Identifikasi dan karakterisasi senyawa metabolit sekunder tumbuhan endemik asal Desa Fatunisuan Kabupaten Timor Tengah Utara. *Jpn. J. Appl. Phys.* **11** (1) : 184-191.
- Silverstein, R. M., Bassler, G. C., Hartomo, A., Morrill, T. C., dan Purba, A. V. 1986. *Penyelidikan Spektrometrik Senyawa Organik.* Erlangga. Jakarta.
- Sinaga, I., Rosliana, R., dan Riyanto, R. 2018. Uji toksisitas (LC50 – 24 Jam) ekstrak kulit Jengkol (*Pithecellobium jiringa*) terhadap larva udang *Artemia salina* Leach. *J. Biosains.* **4** (2) : 96.
- Suita, E. 2017. Physical characteristics and germination testing methods of Turi (*Sesbania grandiflora* (L.) Pers) Seeds. *J. Perbenihan Tanam. Hutan.* **5** (2) : 125–135.
- Sukandar, D., Hermanto, S., dan Lestari, E. 2008. Uji Toksisitas ekstrak daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *J. Valensi.* **1** (2) : 63-70.
- Sulasmis, E. S., Indriwati, S. E., and Suarsini, E. 2016. Preparation of various type of medicinal plants simplicia as material of jamu herbal. *International Conference on Education, Education in the 21th Century: Responding to Current Issues.* 1014–1024.

- Syahmani, S., Leny, L., Iriani, R., dan Elfa, N. 2017. Penggunaan Kitin sebagai alternatif fase diam kromatografi lapis tipis dalam praktikum kimia organik. *Vidya Karya*. **32** (1) : 1–11.
- Tshepelevitsh, S., Hernits, K., Jenčo, J., Hawkins, J. M., Muteki, K., Solich, P., and Leito, I. 2017. Systematic optimization of liquid-liquid extraction for isolation of unidentified components. *ACS Omega*. **2** (11) : 7772–7776.
- Wibowo, S. 2013. *Artemia*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Wulandari, L. 2011. *Kromatografi Lapis Tipis*. Taman Kampus Presindo. Jember.
- Yassir, M., dan Asnah. 2018. Pemanfaatan jenis tumbuhan obat tradisional di Desa Batu Hamparan Kabupaten Aceh Tenggara. *Jurnal Biotik*. **6** (1) : 17-34.