

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

**(Skripsi)**

**Oleh**

**ANGELA AGATHA**



**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 PUTIH (*Sesbania grandiflora* (L.) Poir) SERTA UJI TOKSISITAS MENGGUNAKAN METODE *BRINE SHRIMP LETHALITY TEST* (BSLT)

Oleh

**Angela Agatha**

*Sesbania grandiflora* atau dikenal dengan turi putih merupakan salah satu tumbuhan dari spesies Fabaceae. Turi putih menjadi salah satu tanaman obat khas Indonesia yang memiliki banyak manfaat. Tanaman ini banyak digunakan untuk pengobatan karena memiliki kandungan seperti flavonoid, alkaloid, steroid, dan lain-lain yang dapat digunakan untuk bioaktivitas seperti antioksidan, anti inflamasi, antikanker, dan lain-lain.

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder dari fraksi *n*-heksana kulit batang tumbuhan turi putih serta uji toksisitas menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Tahapan isolasi pada penelitian ini dilakukan meliputi preparasi sampel, ekstraksi sampel, fraksinasi sampel menggunakan kromatografi cair vakum (KCV) dan kromatografi kolom (KK), analisis senyawa murni dengan kromatografi lapis tipis (KLT). Identifikasi senyawa hasil isolasi dilakukan dengan menggunakan *Fourier Transform Infrared* (FTIR).

Hasil penelitian diperoleh senyawa  $\beta$ -sitosterol berupa kristal berwarna putih dengan massa 15 mg yang diberi kode NV46. Berdasarkan hasil pengujian toksisitas ekstrak metanol dan senyawa NV46 terhadap larva *Artemia salina* menunjukkan sifat sangat toksik dengan nilai  $LC_{50}$  sebesar 20,2695  $\mu\text{g/mL}$  dan 25,4757  $\mu\text{g/mL}$ . Sedangkan hasil pengujian toksisitas fraksi *n*-heksana menunjukkan sifat toksik dengan nilai  $LC_{50}$  sebesar 115,8232  $\mu\text{g/mL}$ .

**Kunci :** *Artemia salina*, *Sesbania grandiflora*,  $\beta$ -sitosterol,  $LC_{50}$ .

## ABSTRACT

### ISOLATION AND IDENTIFICATION OF SECONDARY METABOLITE COMPOUNDS FROM *n*-HEXANE FRACTION THE BARK OF THE WHITE TURI PLANTS (*Sesbania grandiflora* (L.) Poir) AND TOXICITY TEST USING THE METHOD BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BSLT)

By

**Angela Agatha**

*Sesbania grandiflora* known as white turi is one of the plants from the Fabaceae species. White turi is one of Indonesia's typical medicinal plants with many benefits. This plant is widely used for treatment because it contains flavonoids, alkaloids, steroids, and others that can be used for bioactivity, such as antioxidants, anti-inflammatory, anticancer, and others.

This study aims to isolate and identify secondary metabolite compounds from the *n*-hexane fraction of the bark of the white turi plant and toxicity tests using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method. The isolation stages in this study included sample preparation, sample extraction, sample fractionation using vacuum liquid chromatography (VLC) and column chromatography, and analysis of pure compounds with thin-layer chromatography (TLC). Identification of the isolated compounds was carried out based on Fourier Transform Infrared (FTIR).

The result of the research obtained a  $\beta$ -sitosterol compound was white crystals with a mass of 15 mg, coded NV46. Based on the results of toxicity testing of methanol extract and NV46 compounds against *Artemia salina* larvae, it showed very toxic properties with LC<sub>50</sub> values of 20.2695  $\mu$ g/mL and 25.4757  $\mu$ g/mL. Meanwhile, the results of the toxicity test of the *n*-hexane fraction showed toxic properties with an LC<sub>50</sub> value of 115.8232  $\mu$ g/mL.

**Keywords:** *Artemia salina*, *Sesbania grandiflora*,  $\beta$ -sitosterol, LC<sub>50</sub>.

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

Oleh

*Angela Agatha*

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar  
**SARJANA SAINS**

pada

**Jurusan Kimia**

**Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2025**

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

**Nama** : **Angela Agatha**

**NPM** : 2017011092

**Jurusan** : Kimia

**Fakultas** : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



**1. Komisi Pembimbing**

**Prof. Dr. Noviany, S.Si., M.Si.**  
NIP. 197311191998021001

**Prof. Dr. Sutopo Hadi, M.Sc., Ph.D.**  
NIP. 197104151995121001

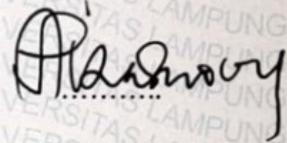
**2. Ketua Jurusan Kimia FMIPA**

**Dr. Mita Rilyanti, S.Si., M.Si.**  
NIP. 197205302000032001

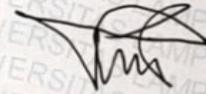
**MENGESAHKAN**

**1. Tim Penguji**

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



**Sekretaris : Prof. Dr. Sutopo Hadi, M.Sc., Ph.D.**

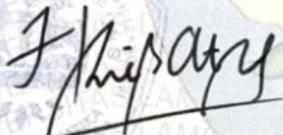


**Penguji  
Bukan Pembimbing : Prof. Andi Setiawan, M.Sc., Ph.D.**

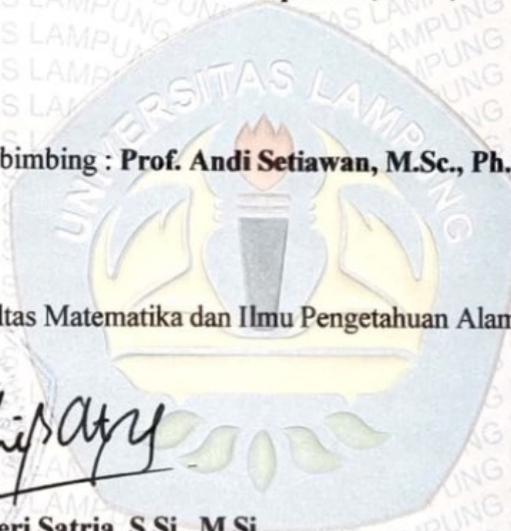


**2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**

**Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.**  
NIP. 197110012005011002



**Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 3 Desember 2024**



## SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Angela Agatha  
Nomor Pokok Mahasiswa : 2017011092  
Jurusan : Kimia  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi yang berjudul **“Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Dari Fraksi *n*-Heksana Kulit Batang Tumbuhan Turi Putih (*Sesbania grandiflora* (L.) Poir) Serta Uji Toksisitas Menggunakan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)”** adalah hasil pekerjaan saya sendiri, 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, 19 Desember 2024

Yang Menyatakan



Angela Agatha

## RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama lengkap Angela Agatha, lahir di Bandar Lampung pada tanggal 20 Agustus 2002, sebagai anak kedua dari tiga bersaudara, putri kedua dari Bapak Bun Sak Ho dan Ibu Erni Maryana. Penulis menyelesaikan pendidikan di TK Kuntum Mekar pada tahun 2007, lalu melanjutkan ke SD Negeri 3 Bukit Kemiling Permai pada tahun 2008- 2014, SMP Negeri 14 Bandar Lampung pada tahun 2014-2017, SMA Negeri 9 Bandar Lampung pada tahun 2017-2020. Pada tahun 2020, penulis terdaftar sebagai mahasiswa Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN).

Selama menempuh pendidikan di Jurusan Kimia, penulis pernah mengikuti organisasi dalam lingkup kampus sebagai wadah untuk mengembangkan potensi dan kemampuan diri. Organisasi yang pernah penulis ikuti adalah Himpunan Mahasiswa Kimia (Himaki) sebagai Kader Muda Himaki (KAMI) tahun 2020, Unit Kegiatan Mahasiswa Buddha (UKM-Buddha) Unila sebagai anggota pada tahun 2020-2021. Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Labuhan Mandi, Kecamatan Way Krui, Kabupaten Lampung Barat, Lampung pada 6 Januari-11 Februari 2023. Pada Juni-Agustus 2023, penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) dengan judul Skrining Fitokimia dan Analisa Kromatografi Lapis Tipis Dari Ekstrak Metanol Kulit Batang Tumbuhan Turi Putih (*Sesbania grandiflora* (L.) Poir) Dari Daerah Sepang Jaya di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia FMIPA Unila. Penulis pernah menjadi Asisten Praktikum Kimia Organik Jurusan Biologi (2023) dan Kimia Organik II – Kimia Fisik I Jurusan Kimia (2024).

Pada tahun 2024, penulis telah menyelesaikan tugas akhir untuk mendapatkan gelar sarjana dengan membuat skripsi yang berjudul “Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Dari Fraksi *n*-Heksana Kulit Batang Tumbuhan Turi Putih (*Sesbania grandiflora* (L.) Poir) Serta Uji Toksisitas Menggunakan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

*Namo Tassa Bhagavato Arahato Samma-Sambuddhassa*

“Terpujilah Sang Bhagava Yang Maha Pengasih, Maha Suci dan Maha Bijaksana”

*Sotti Hotu Namō Buddhaya*

dengan segala kerendahan hati, ku persembahkan karya sederhanaku ini teruntuk:

Kedua orang tuaku,

Mama Erni Maryana dan Papa Bun Sak Ho tersayang yang telah membesarkan, merawat, membimbing, mendidik, mendoakan, mendukung, dan memberikan kasih sayang yang tak terbatas serta cinta yang sangat besar dan tak ternilai. Dengan ini aku ucapkan terima kasih atas segalanya.

Kedua Saudaraku, Cece Elen dan Metta serta keluarga besarku yang selalu memberi dukungan, doa dan motivasi baik.

Dengan segala rasa hormat kepada Ibu Prof. Dr. Noviany, S.Si., M.Si., Bapak Prof. Sutopo Hadi, M.Sc., Ph.D., dan Bapak Prof. Andi Setiawan, M.Sc., Ph.D., serta seluruh Dosen Pengajar yang telah membimbing dan mendidikku sampai menyelesaikan pendidikan Sarjana.

Sahabatku dan seluruh teman-teman yang telah memberikan banyak bantuan, dukungan, semangat, saran, dan motivasi.

Almamater Tercinta, Universitas Lampung

## **MOTTO**

*“Pengendalian diri dan kebaikan hati adalah Dhamma, inilah yang merupakan benih untuk mendapat kebahagiaan.”*

*(Buddha Gotama)*

*“Setiap makhluk adalah pemilik karma, pewaris karma, lahir karena karma, terikat oleh karma, terlindung oleh karma sendiri. Karmalah yang membedakan makhluk dalam keburukan dan kebaikan.”*

*(Buddha Gotama)*

*“Walaupun seseorang hidup seratus tahun, tetapi memiliki kelakuan buruk dan tak terkendali, sesungguhnya lebih baik kehidupan sehari dari orang yang memiliki sila dan tekun bersamadhi.”*

*(Dhammapada 110)*

*“Janganlah melekat pada apa yang dicintai. Tidak bertemu dengan mereka yang dicintai dan bertemu dengan mereka yang tidak dicintai, keduanya merupakan penderitaan.”*

*(Dhammapada 210)*

*“Perbuatan apapun yang dilakukan dengan tidak sungguh-sungguh, Sumpah apapun yang tidak ditepati, Kehidupan suci yang menimbulkan kecurigaan, Tidak akan menghasilkan buah yang besar.”*

*(Samyutta Nikaya 2.8)*

*“Cinta kasih adalah kualitas yang harus kita kembangkan kepada semua makhluk, tetapi Buddha juga mengajarkan kepada kita, sebelum mengembangkan kepada semua makhluk, kita harus mengembangkan kepada diri kita sendiri.”*

*(Ashin Kheminda)*

## SANWACANA

Puji syukur bagi Sang Triratna, Para Buddha, dan Bodhisattva, atas berkah dan anugerah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Fraksi *n*-Heksana Kulit Batang Tumbuhan Turi Putih (*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, melalui kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Teristimewa kepada mamaku yang tercinta, Ibu Erni Maryana. Terima kasih karena selalu memberikan dorongan dan doa terbaiknya. Terima kasih karena sudah ikut berjuang bersama mengorbankan banyak waktu, tenaga, dan kasih sayang yang tiada habisnya. Penulis berharap dengan terselesaikannya skripsi ini, dapat menjadi bentuk penghormatan dan apresiasi atas segala cinta dan kasih sayang yang diberikan.
2. Saudaraku tersayang, Elenia Ekayana dan Metta Xaveva Ariesta, yang selalu memberikan hiburan, semangat, masukan, motivasi, serta doa yang tulus sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
3. Ibu Prof. Dr. Noviany, S.Si., M.Si. selaku Dosen Pembimbing I atas ketersediaannya memberikan bimbingan, arahan, masukan, bantuan dan seluruh ilmu pengetahuan yang diberikan selama proses perkuliahan sampai dengan penyelesaian skripsi.

4. Bapak Prof. Sutopo Hadi, M.Sc., Ph.D. selaku Dosen Pembimbing II atas ketersediaannya memberikan bimbingan, arahan, masukan, dan seluruh ilmu pengetahuan yang diberikan dalam proses penyelesaian skripsi.
5. Bapak Prof. Andi Setiawan, M.Sc., Ph.D. selaku Dosen Penguji/Pembahas atas ketersediaannya memberikan arahan, masukan, dan seluruh ilmu pengetahuan yang diberikan dalam proses penyelesaian skripsi.
6. Ibu Dra. Aspita Laila, M.S. selaku Pembimbing Akademik atas segala bimbingan dan bantuan yang telah diberikan kepada penulis.
7. Ibu Dr. Mita Rilyanti, M.Si., selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
8. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, M. Si., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.
9. Bapak dan Ibu dosen Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung yang telah memberikan ilmu, pengalaman, dan motivasi selama penulis menjalankan pendidikan di kampus.
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. Mbak Wiwit Kasmawati selaku Laboran Laboratorium Kimia Organik yang telah banyak membantu penulis atas penyediaan alat di laboratorium selama penelitian ini berlangsung dan kemudahan dalam mengurus berkas.
12. Keluarga besarku yang telah memberikan dukungan terbaik dan doa yang tulus.
13. Yungyung, seseorang yang selalu menemani dalam keadaan suka maupun duka, yang selalu mendengarkan keluh kesahku, dan selalu memberikan bantuan selama penelitian ini berlangsung sehingga dapat terselesaikan dengan baik.

14. Teman-teman seperjuanganku (NRG'20) Dilla, Pio, dan Myuti, yang selalu mendukung satu sama lain dan selalu kebersamai dalam segala kondisi selama penelitian yang telah kita lakukan bersama. Terima kasih untuk tidak menyerah dan berjuang bersama.
15. Teman-teman Kelompok Makan Siang, Dilla, Fara, Niswah, dan Sisi yang selalu memberikan dukungan, bantuan, semangat, motivasi selama perkuliahan hingga penelitian. Terima kasih untuk segala momen perkuliahan yang kita jalani bersama.
16. Sahabat-sahabat setiakku sejak SMP, Zakkia dan Nanda yang selalu mendukungku dalam keadaan apapun dan selalu membuatku bangkit untuk berani menghadapi masalah.
17. Teman-teman KKN Desa Labuhan Mandi, Alissa, Anissa, Dea, Alung, Ramos, Ode yang telah menjadi keluargaku selama 40 hari, terima kasih pernah menjadi tim terbaikku yang selalu menghibur dan memberikan semangat serta doa terbaiknya untukku. Terima kasih untuk kenangan terbaik selama KKN hingga saat ini.
18. Teman-teman tersayangku, Indy, Mute, Visky, Elmira, Rieke, Salsa, dan Arum yang sedari SMA hingga sekarang selalu memberikan dukungan.
19. Keluarga besar Noviany *Research Group* (NRG), Kak Ofri, Kak Reni, Kak Rista, Kak Wulan, Kak Jihan, dan Kak Rizah yang selalu memberikan bantuan, dukungan, ilmu, dan pengalamannya.
20. Teman-teman Laboratorium Kimia Organik, Kak Steven, Kak Armi, Kak Nindy, Kak Bayu, Mella, Yuwan, Al, Sisil, Inggit, Julia, Rita, Vio, dan Govin yang selalu memberikan motivasi, bantuan, dan dukungan yang tulus.
21. Teman-Teman Kimia Angkatan 2020 serta Anak Kelas B 2020 yang senantiasa memberikan informasi dan membantu penulis.
22. Sahabat-sahabat Dhamma di Vihara Dhammaramsi yang selalu memberikan semangat dan doa terbaiknya.
23. Semua pihak yang telah membantu dan mendukung dalam menyelesaikan skripsi penulis, serta almamater Universitas Lampung.
24. Terakhir, teruntuk diri sendiri Angela Agatha yang tidak pernah berhenti untuk berjuang dan tidak pernah menyerah walaupun banyak rintangan dan

kegagalan yang dihadapi. Terima kasih karena telah percaya kepada diri sendiri dan memberikan yang terbaik hingga sampai titik ini. Berbahagialah selalu dimanapun kamu berada, adapun kurang dan lebihmu mari merayakan diri sendiri.

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih terdapat beberapa 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,

**Angela Agatha**



## DAFTAR ISI

Halaman

<b>DAFTAR GAMBAR .....</b>	<b>xix</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xx</b>
<b>I. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Tujuan .....	3
1.3 Manfaat Penelitian .....	3
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>4</b>
2.1 <i>Fabaceae</i> .....	4
2.2 Tumbuhan Turi ( <i>S. grandiflora</i> (L.) Poir) .....	5
2.3 Efek Farmakologi Tumbuhan Turi ( <i>S. grandiflora</i> ).....	7
2.4 Senyawa Metabolit Sekunder dari Hasil Isolasi Tumbuhan Turi Putih .....	8
2.5 Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder .....	10
2.5.1 Ekstraksi .....	10
2.5.2 Kromatografi Lapis Tipis (KLT) .....	11
2.5.3 Kromatografi Kolom (KK) .....	13
2.5.4 Kromatografi Cair Vakum (KCV) .....	13
2.6 Karakterisasi Senyawa .....	14
2.6.1 Spektroskopi IR .....	15
2.7 Uji Toksisitas Metode <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT).....	16
2.8 <i>Artemia salina</i> Leach .....	19
<b>III. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>22</b>
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	22
3.2 Alat dan Bahan .....	22
3.3 Prosedur Kerja Penelitian .....	23
3.3.1 Preparasi Sampel .....	23
3.3.2 Ekstraksi .....	23
3.3.3 Kromatografi Cair Vakum.....	24
3.3.4 Kromatografi Lapis Tipis (KLT) .....	25
3.3.5 Kromatografi Kolom (KK) .....	25
3.3.6 Karakterisasi Senyawa .....	26
3.3.7 Uji Toksisitas Menggunakan Metode <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT).....	26

<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>29</b>
4.1 Ekstraksi Sampel.....	29
4.2 Isolasi Senyawa.....	30
4.2.1 Kromatografi Cair Vakum (KCV).....	30
4.2.2 Kromatografi Kolom (KK).....	33
4.3 Karakterisasi dengan FTIR.....	37
4.4 Hasil Uji Toksisitas Metode BSLT.....	40
<b>V. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>43</b>
5.1 Kesimpulan.....	44
5.2 Saran.....	44
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>45</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>51</b>
Lampiran 1. Bagan Penelitian Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder.....	52
Lampiran 2. Diagram Alir Uji Toksisitas Menggunakan Metode BSLT.....	53
Lampiran 3. Hasil Determinasi Tumbuhan Turi Putih.....	54
Lampiran 4. Perhitungan Penelitian.....	55
Lampiran 5. Penentuan Nilai LC <sub>50</sub> Berdasarkan Probit.....	61

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Bagian-bagian tanaman turi (a) batang, (b) polong, (c) daun, (d) bunga .....	6
2. Senyawa sesbagrandidflorain (A-C) dari kulit batang <i>S. grandiflora</i> .....	8
3. Senyawa 3,7-dihidroksi-8-metoksiflavon-7-O- $\beta$ -D-galaktosida .....	9
4. Struktur senyawa (5-7) yang telah diisolasi dari akar turi putih .....	10
5. Larva <i>Artemia salina</i> Leach .....	21
6. Proses preparasi sampel kulit batang turi putih.....	29
7. (a) proses partisi, (b) proses evaporasi .....	30
8. Kromatografi cair vakum ekstrak <i>n</i> -heksana .....	31
9. KLT fraksi hasil KCV (a) pada UV 254 nm (b) pada UV 366 nm .....	32
10. KLT hasil penggabungan fraksi KCV (a) pada UV 254 nm (b) pada UV 366 nm .....	33
11. Proses kromatografi kolom fraksi B .....	34
12. KLT hasil kromatografi kolom fraksi B (a) pada UV 254 nm, (b) pada UV 366 nm .....	35
13. KLT subfraksi B .....	35
14. Kristal NV46 hasil isolasi.....	36
15. KLT kristal NV46 menggunakan tiga sistem eluen .....	36
16. Spektrum FTIR senyawa NV46 .....	37
17. Spektrum FTIR Senyawa $\beta$ -sitosterol.....	38
18. KLT perbandingan kristal NV46 dan $\beta$ -sitosterol standar .....	39
19. Senyawa $\beta$ -sitosterol .....	40
20. Uji Toksisitas metode BSLT dengan variasi konsentrasi.....	41

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Urutan kepolaran eluen. ....	14
2. Karakteristik serapan IR dari beberapa gugus fungsi .....	16
3. Tingkat toksisitas.....	17
4. Penggabungan fraksi-fraksi hasil KCV .....	33
5. Perbandingan data spektrum IR isolat dan $\beta$ -sitosterol .....	39
6. Hasil uji toksisitas pada masing-masing sampel uji dengan metode BSLT .....	42

## I . PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Pengembangan tanaman obat di Indonesia cukup berkembang dengan signifikan dari masa ke masa. Sebagai penghasil rempah-rempah dan tanaman herbal terbesar se-Asia bersama dengan India dan China, penemuan dan pengembangan tanaman obat di Indonesia yang telah berlangsung ribuan tahun yang lalu telah dimanfaatkan namun belum terdokumentasi dengan baik. Tanaman obat merupakan tanaman yang memiliki kandungan senyawa kimia yang dapat digunakan untuk menyembuhkan penyakit karena memiliki bioaktivitas tertentu. Dilihat dari segi prospeknya, Indonesia memiliki peluang yang tinggi dalam pengembangan tanaman obat karena memiliki lebih dari 9.609 spesies jenis tanaman obat di Indonesia (Dewantari dan Lintang, 2018).

Tanaman Turi Putih (*S. grandiflora* (L.) Poir) merupakan salah satu tanaman obat khas Asia Tenggara yang memiliki banyak manfaat. Pada umumnya, bagian dari tanaman turi putih dapat dimanfaatkan untuk mengobati sakit kepala, batuk, hidung berlendir, memar, keseleo hingga mampu meningkatkan produksi ASI. Secara umum, tanaman turi putih memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder seperti steroid, triterpenoid, alkaloid, saponin, tanin dan flavonoid (Rohmah *et al.*, 2021).

Identifikasi senyawa yang ada di dalam tanaman turi putih dapat dilakukan untuk mendapatkan senyawa yang bersifat spesifik. Fitokimia dapat dibedakan menjadi dua, yaitu metabolit primer dan metabolit sekunder. Metabolit primer merupakan senyawa kimia dalam tanaman yang digunakan untuk pertumbuhan, sementara

metabolit sekunder merupakan senyawa kimia dalam tanaman yang menentukan bioaktivitas dari tanaman tersebut seperti antioksidan, antibakteri, antiinflamasi, antijamur, antikanker dan lain sebagainya. Fitokimia dalam satu tanaman dapat berbeda walaupun dari spesies yang sama. Hal ini dapat dipengaruhi oleh perbedaan keadaan lingkungan, seperti iklim, jenis tanah dan kondisi paparan sinar matahari. Atas dasar hal itu, perlu dilakukan identifikasi senyawa metabolit sekunder pada fraksi *n*-heksana tanaman turi putih. Efek fisiologis yang diberikan senyawa metabolit sekunder hasil identifikasi senyawa membutuhkan konsentrasi yang tepat sehingga perlu dilakukan uji toksisitas (Tulangow dkk., 2016).

Uji toksisitas merupakan uji yang dilakukan untuk mendeteksi adanya efek toksik/beracun/mematikan dalam suatu zat atau bahan pada sistem kimia dan biologi serta memperoleh karakteristik dari sediaan uji. Salah satu metode yang umum digunakan untuk praskrining terhadap senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak atau fraksi tanaman obat adalah metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach. Penentuan toksisitas menggunakan metode BSLT ini berdasarkan pada jumlah kematian *A. salina* Leach akibat pengaruh ekstrak atau bahan lain yang terkandung di dalam bahan alam tersebut (Kurniawan dan Ropiqa, 2021).

Penelitian yang dilakukan oleh Darajat, (2010) menunjukkan hasil fraksi etanol pada daun turi putih memiliki nilai toksisitas ( $LC_{50}$ ) sebesar 28,40  $\mu\text{g/mL}$ . Hasil ini menunjukkan bahwa fraksi etanol pada daun turi memiliki toksisitas yang cukup tinggi karena mampu membunuh lebih dari 50% larva *A. salina* pada konsentrasi 100  $\mu\text{g/mL}$ . Penelitian terbaru yang dilakukan oleh Makalalag dkk., (2019) menunjukkan nilai  $LC_{50}$  pada ekstrak etanol daun turi segar sebesar 118,928 ppm dan daun turi kering diperoleh nilai  $LC_{50}$  sebesar 108,160 ppm yang menunjukkan bahwa ekstrak tersebut bersifat toksik. Atas dasar hal tersebut, penelitian ini membawa kebaruan terkait dengan uji toksisitas yang akan dilakukan pada bagian tanaman turi lainnya yang diketahui memiliki metabolit sekunder yang cukup melimpah, yaitu bagian kulit batang.

## 1.2 Tujuan

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah sebagai berikut :

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

## 1.3 Manfaat Penelitian

Manfaat dilakukannya penelitian ini adalah untuk memberikan informasi mengenai senyawa metabolit sekunder yang berhasil diisolasi dari fraksi *n*-heksana kulit batang tumbuhan turi putih (*S. grandiflora*) dan memberikan informasi mengenai tingkat toksisitas awal dari ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana dan senyawa metabolit sekunder hasil isolasi dari kulit batang tumbuhan turi putih (*S. grandiflora*).

## II . TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 *Fabaceae*

Famili *Fabaceae* atau *Leguminosae* termasuk dalam tiga famili tumbuhan terbesar setelah famili *Orchidacea* dan *Asteraceae* yang termasuk dalam divisi *Angiospermae* atau tumbuhan berbunga. Famili *Fabaceae* mencakup 730 genus dan sekitar 19.400 spesies. Genus terbesar dalam famili ini yaitu *Astragalus* yang memiliki sekitar 2.000 spesies, *Acacia* memiliki sekitar 900 spesies, genus *Indigofera* memiliki sekitar 700 spesies, *Crotalaria* sekitar 600 spesies, dan genus *mimosa* memiliki kurang lebih 500 spesies.

Famili *Fabaceae* dibagi menjadi tiga subfamili berdasarkan karakteristik morfologi bunga terkhusus pada bentuk kelopaknya, yaitu *Mimosoidae*, *Caesalpinioideae*, dan *Papilionoideae*. Famili *Fabaceae* adalah salah satu famili tumbuhan yang umum dijumpai di berbagai lingkungan, termasuk di Indonesia. *Fabaceae* dianggap bersifat kosmopolitan karena memiliki penyebaran yang luas, dapat ditemukan mulai dari daerah beriklim sangat tinggi hingga daerah beriklim hangat, termasuk daerah sub-tropis dan tropis. Salah satu ciri khas yang mudah dikenali dari famili *Fabaceae* adalah keberadaan buah polong dan karakteristik bunga yang khas (Tjitrosoepomo, 1993). Genus dari famili *Fabaceae* umumnya memiliki beberapa karakteristik seperti pohon besar dan ketika batangnya dilukai maka akan mengeluarkan getah berupa cairan merah encer bewarna merah bening yang keluar perlahan dan tidak banyak (Putu, 2022).

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

*S. grandiflora* merupakan tumbuhan yang dikenal masyarakat sebagai tumbuhan sayur dan lalapan. Di beberapa daerah di Indonesia, tumbuhan ini memiliki berbagai nama lokal seperti turi di Jawa, toroy di Madura, tuli turi di Sumatera, kayu jawa di Sulawesi, dan tuwi di Nusa Tenggara. Asal usul tumbuhan ini dapat ditelusuri ke Asia Selatan dan Asia Tenggara, dan saat ini telah menyebar ke beberapa negara, termasuk Indonesia, Malaysia, India, dan Filipina (Bhoumik *et al.*, 2016).

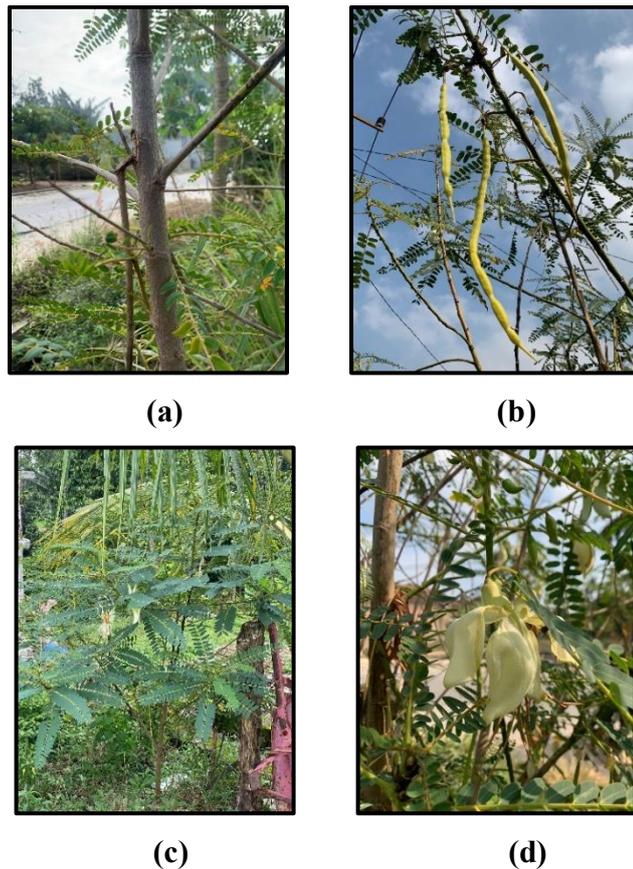
Tumbuhan turi dapat digolongkan secara taksonomi sebagai berikut (Kementrian Peternakan, 2013) :

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Infrakingdom	: Streptophyta
Superdivisi	: Embryophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Subdivisi	: Spermatophytina
Kelas	: Magnoliopsida
Superordo	: Rosanae
Ordo	: Fabales
Familia	: Fabaceae
Genus	: Sesbania
Spesies	: <i>Sesbania grandiflora</i> (L.) Poir.

Pada umumnya turi ditanam sebagai elemen dekoratif di pekarangan rumah, berfungsi sebagai pohon pelindung di tepi jalan, atau digunakan sebagai tanaman pembatas antara area pekarangan. Tanaman ini biasanya tumbuh pada ketinggian di bawah 1.200 meter di atas permukaan laut. Pohon turi memiliki bentuk yang kurus dan umur relatif singkat, dengan ketinggian berkisar antara 5-12 meter, dan seringkali memiliki cabang yang menjulur. Kulit luar cenderung bewarna abu-abu hingga coklat, tidak merata, dengan pola alur yang melintang tidak beraturan, dan lapisan kulit mudah terkelupas. Di dalam batangnya mengandung air dan

sedikit lendir. Percabangan baru biasanya tumbuh setelah pohon mencapai ketinggian sekitar 5 meter. Daun-daunnya bersifat majemuk dan menyirip dengan panjang sekitar 30 cm, memiliki sekitar 20-50 pasang anak daun yang muncul secara berpasangan di setiap tangkai, dan memiliki bentuk lonjong atau oval.

Sementara pada bagian bunga akan berbentuk kupu-kupu saat mekar. Berdasarkan variasinya, mahkota bunga terbagi menjadi 2 jenis, yaitu berwarna merah dan putih. Tumbuhan ini juga menghasilkan buah berbentuk polong yang menjulur dengan biji yang terletak melintang di dalam polong. Panjang dari polong memiliki ukuran berkisar 30-50 cm dengan lebar 1-1,5 cm. Polong berwarna hijau saat masih muda dan menjadi berwarna kuning setelah tua. Akar tumbuhan ini berbintil-bintil berisi bakteri yang dapat memanfaatkan nitrogen sehingga bisa menyuburkan tanah (Herlina, 2019).



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

### 2.3 Efek Farmakologi Tumbuhan Turi (*S. grandiflora*)

Berbagai bagian dari tanaman turi mengandung senyawa kimia yang beragam dan berbeda antara satu sama lain. Pada bagian kulit batangnya terdapat kandungan tanin, egatin, zantoagetin, basorin, resin, kalsium oksalat, sulfur, peroksida dan zat warna. Pada bagian daun terdapat kandungan saponin, glikoside, tanin, peroksidase, vitamin A dan B. Bagian bunga terdapat kandungan kalsium, zat besi, zat gula, serta vitamin A dan B.

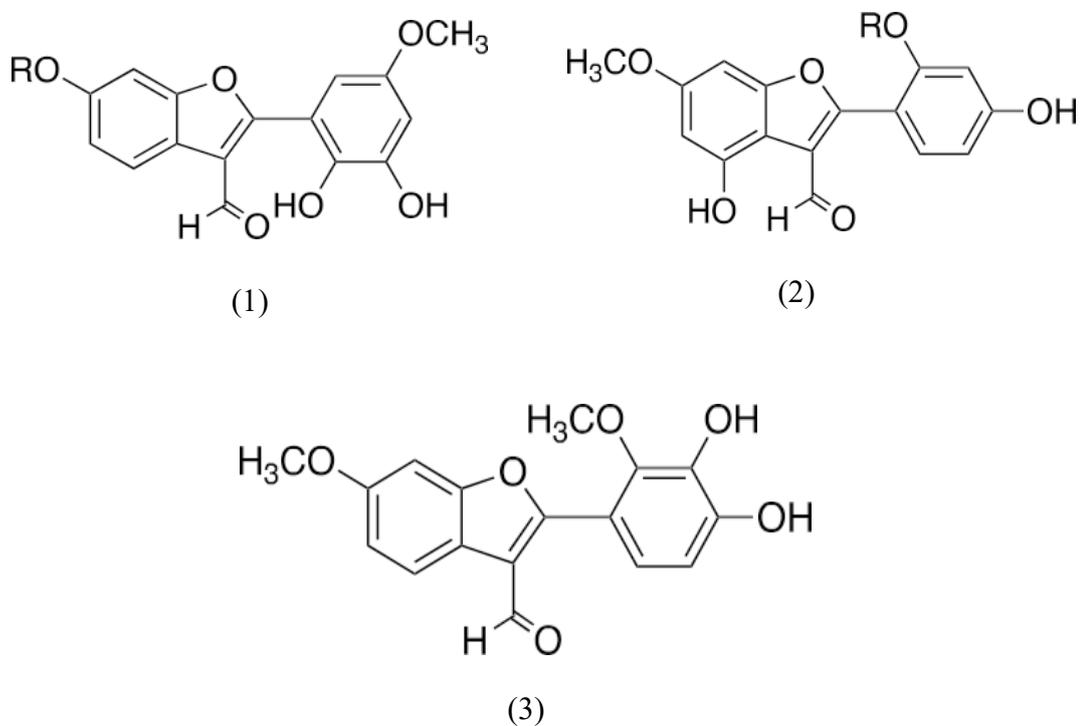
Tanaman turi merupakan jenis tanaman yang dimanfaatkan masyarakat dalam pengobatan berbagai macam penyakit. Daun turi dapat digunakan untuk menyembuhkan luka yang tidak terlalu dalam, mengatasi radang tenggorokan, mengatasi penyakit batu ginjal, mengatasi keputihan, memperbanyak produksi ASI, dan meredakan demam nifas (Aziz dan Kusumaningrum, 2019). Kulit batang turi memiliki potensi penggunaan sebagai obat untuk mengatasi kecemasan, masalah kerusakan hati, melancarkan pencernaan, sebagai antioksidan, dan dapat meningkatkan produksi urine (diuretik). Sementara pada bagian bunganya dapat digunakan sebagai penghilang rasa nyeri, antikanker, antipiretik, antidepresan, pelembut kulit, dan penghalus kulit. Tanaman turi juga seringkali digunakan sebagai bahan makanan, baik sebagai sayuran maupun lalapan, masyarakat biasanya mencampurkan bunga turi putih ke dalam hidangan pecal (Fadhli dkk., 2018).

Penelitian lain pada tumbuhan turi dilakukan oleh Tanjung *et al.*, (2021) menjabarkan bahwa pengujian sel kanker payudara terhadap ekstrak dan senyawa murni kulit batang *S. grandiflora* (L.) menunjukkan hasil bahwa senyawa aktif pada tumbuhan turi ditemukan mempunyai aktivitas yang tinggi terhadap sel kanker payudara, sehingga dapat disimpulkan bahwa kulit batang tumbuhan turi mempunyai potensi sebagai obat antikanker berbasis bahan alam yang lebih aman.

## 2.4 Senyawa Metabolit Sekunder dari Hasil Isolasi Tumbuhan Turi Putih

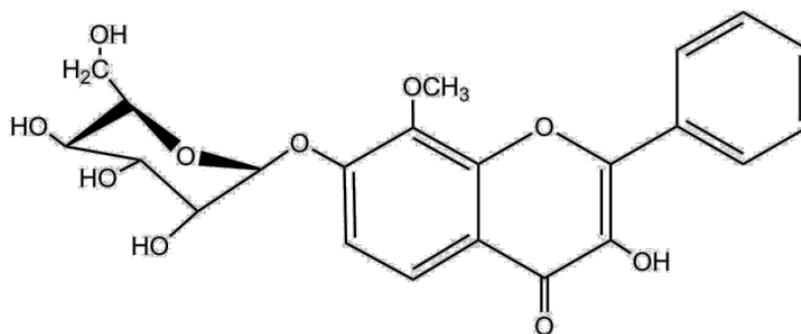
Tumbuhan famili *Fabaceae* mengandung beragam senyawa metabolit sekunder dengan tingkat kerumitan molekul yang bervariasi, dari molekul yang sederhana hingga yang paling kompleks. Metabolit sekunder adalah senyawa kimia yang ditemukan dalam organisme dan tidak memiliki peran langsung dalam proses pertumbuhan, perkembangan, atau reproduksi organisme tersebut. Metabolit ini memiliki aktifitas farmakologi dan biologi. Metabolit sekunder dianggap sebagai produk akhir dari metabolit primer dikarenakan metabolit sekunder biasanya merupakan senyawa organik yang diperoleh melalui proses modifikasi dari metabolit primer. Beberapa senyawa metabolit sekunder adalah alkaloid, terpenoid, flavonoid, steroid, tanin, saponin, dan lain-lain.

*S. grandiflora* (L.) mengandung sejumlah besar senyawa sterol, saponin dan tanin yang berperan dalam berbagai sifat farmakologisnya. Beberapa komponen seperti akar, kulit, daun, bunga, dan biji telah digunakan secara tradisional dan medis.



**Gambar 2.** Senyawa sesbgrandiflorain (A-C) dari kulit batang *S. grandiflora*

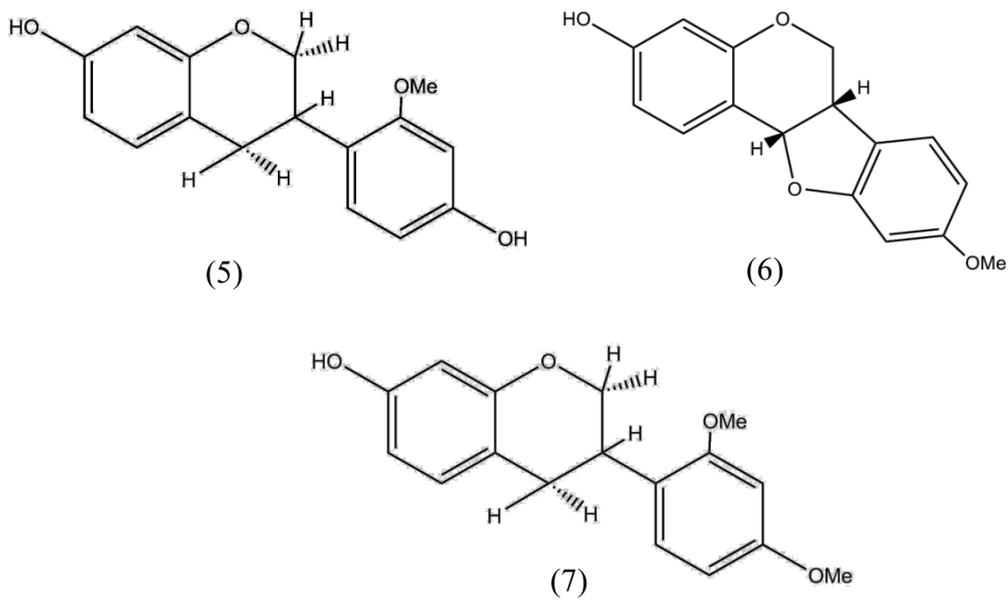
Dalam studi yang dilakukan oleh Noviany *et al.*, (2021) telah berhasil mengisolasi senyawa sesbgrandiflorain A (6-metoksi-2-(2',3'-dihidroksi-5'-metoksifenil)-1-benzofuran-3-karbaldehida) (1) dan sesbgrandiflorain B (6-hidroksi-2-(2',3'-dihidroksi-5'-metoksifenil)-1-benzofuran-3-karbaldehida) (2) dari ekstrak etil asetat kulit batang *S. grandiflora*. Selain itu, senyawa baru yang masuk dalam kategori 2-aryl benzofuran juga berhasil diisolasi dari fraksi etil asetat ekstrak kulit batang tumbuhan turi putih, yaitu sesbgrandiflorain C (3) dan senyawa tersebut terbukti memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel-sel kanker HeLa (adenokarsinoma serviks), HepG2 (karsinoma hati), dan MCF-7 (karsinoma kelenjar susu). Selain itu, diperoleh senyawa 3,7-dihidroksi-8-metoksiflavon-7-O- $\beta$ -D-galaktosida (4) dari isolasi bagian batang tumbuhan turi.



(4)

**Gambar 3.** Senyawa 3,7-dihidroksi-8-metoksiflavon-7-O- $\beta$ -D-galaktosida

Dari fraksi metanol dan fraksi aseton akar turi juga berhasil diisolasi beberapa senyawa lain yang termasuk dalam golongan flavonoid dengan kerangka isoflavan seperti isovestitol (5), medicarpin (6), sativan (7) (Hasan *et al.*, 2012).



**Gambar 4.** Struktur senyawa (5-7) yang telah diisolasi dari akar turi putih

## 2.5 Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder

Senyawa aktif suatu bahan alam dapat diperoleh dengan melakukan isolasi senyawa metabolit sekunder. Umumnya peneliti menggunakan beberapa teknik ekstraksi dan kromatografi untuk mendapatkan senyawa murni. Beberapa teknik ekstraksi senyawa organik bahan alam yang biasa digunakan antara lain maserasi, sokletasi, dan perkolasi. Sedangkan teknik kromatografi yang biasa digunakan antara lain kromatografi lapis tipis (KLT), kromatografi cair vakum (KCV) dan kromatografi kolom (KK). Pemilihan jenis metode yang akan digunakan umumnya didasarkan pengalaman dari peneliti maupun hasil penelitian yang telah tercatat sebelumnya (Sudjadi, 2001).

### 2.5.1 Ekstraksi

Ekstraksi adalah sebuah prosedur pemisahan zat-zat yang berbeda dengan menggunakan pelarut yang tidak dapat bercampur antar zat tersebut. Pemilihan

metode ekstraksi bergantung pada karakteristik bahan dan senyawa yang akan diisolasi. Sebelum memilih metode tertentu, penting untuk menentukan tujuan ekstraksi terlebih dahulu. Beberapa tujuan dari ekstraksi diantaranya adalah sebagai berikut (Mukhriani, 2014):

1. Senyawa dengan aktivitas biologis yang belum diketahui.
2. Senyawa yang diketahui ada dalam suatu organisme tertentu.
3. Sekelompok senyawa dalam suatu organisme yang memiliki kesamaan struktural.

Tujuan dilakukannya ekstraksi adalah untuk menarik dan memisahkan senyawa-senyawa dengan kelarutan yang berbeda dalam beragam jenis pelarut dalam komponen kimia bahan alam seperti tumbuhan, hewan, dan biota laut dengan menggunakan pelarut khusus (Ditjen POM, 2000). Berdasarkan jenisnya, ekstraksi dapat dibedakan menjadi 2 jenis, yaitu ekstraksi cair-cair dan ekstraksi padat-cair. Dalam penelitian ini metode ekstraksi padat-cair digunakan adalah maserasi. Maserasi merupakan teknik sederhana yang paling umum digunakan, baik dalam skala kecil maupun dalam industri. Metode ini dilakukan dengan penempatan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam sebuah wadah yang kedap udara, dan kemudian dibiarkan dalam keadaan tertutup pada suhu kamar selama 3x24 jam. Prinsip dari metode maserasi didasarkan pada prinsip kelarutan *like dissolved like*, yaitu pelarut polar akan melarutkan senyawa polar dan pelarut nonpolar akan melarutkan senyawa nonpolar (Agoes, 2007).

### **2.5.2 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)**

Analisis menggunakan KLT merupakan pemisahan komponen kimia berdasarkan prinsip adsorpsi dan partisi yang dikendalikan oleh fase diam (adsorben) dan fase gerak (eluen). Fase gerak atau elusi biasanya terdiri dari campuran-campuran yang daya larutnya baik mendorong elusi dan pemisahan. Komponen kimia bergerak naik melalui fase pergerakan sesuai dengan daya serap adsorben terhadap komponen-komponen tersebut yang berbeda-beda tergantung pada tingkat

kepolarannya. Dimana pelarut yang bersifat polar akan berikatan dengan senyawa polar dan sebaliknya. Semakin dekat kepolaran antara senyawa dengan eluen maka senyawa akan semakin terbawa oleh fase gerak tersebut (Samosir dkk., 2018). Hal inilah yang menyebabkan terjadinya pemisahan komponen-komponen kimia di dalam ekstrak. Metode berbasis kromatografi seperti KLT merupakan metode yang tidak memerlukan waktu lama, sederhana, dan *cost effective* (Cintya dkk., 2021).

Proses pemisahan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) diulangi beberapa kali menggunakan berbagai eluen dengan tingkat kepolaran yang berbeda untuk mendapatkan pelarut yang terbaik dalam mencapai pemisahan secara efisien serta menghasilkan noda zat warna yang jelas. Bercak yang terbentuk di permukaan plat KLT dideteksi dengan menggunakan lampu UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm.. Paparan sinar UV 254 nm akan menyebabkan lempeng berflouresensi dan sampel berwarna gelap, sedangkan pada sinar 366 nm noda yang akan berflouresensi dan lempeng tampak berwarna gelap (Mawarda dkk., 2020). Untuk menentukan golongan senyawa dalam uji KLT dilakukan penyemprotan pada plat KLT dengan berbagai pereaksi. Karena kesederhanaan dan kecepatan analisisnya, KLT memiliki peranan penting dalam pemisahan senyawa-senyawa yang volalitasnya relatif rendah, baik senyawa organik maupun anorganik (Alen dkk., 2017).

Hasil yang diperoleh dari KLT dapat diamati dengan melakukan perhitungan antara jarak perbandingan dari pergerakan oleh komponen-komponen yang dipisahkan dengan jarak pergerakan pelarut yang dikenal dengan *Retardation Factor (Rf)*. Identifikasi senyawa yang terpisah dapat dilakukan dengan menghitung nilai *Rf* yaitu dengan menggunakan persamaan (1).

$$Rf = \frac{\text{Jarak yang ditempuh sampel}}{\text{Jarak yang ditempuh fasa gerak}} \dots\dots\dots(1)$$

Nilai  $R_f$  ini dipengaruhi oleh beberapa faktor, termasuk jenis pelarut, sifat adsorben (ukuran partikel, ketebalan, kadar air), dan jumlah materi yang ditotolkan pada plat. Rentang nilai  $R_f$  yang baik adalah 0,2 - 0,8 karena jika nilai  $R_f$  di bawah atau di atas rentang tersebut akan ada gangguan terhadap visualisasi bercak yang berasal dari pelarut. Untuk mendapatkan nilai  $R_f$  dengan rentang 0,2 - 0,8 maka harus dilakukan pengaturan terhadap daya elusi fase gerak sehingga didapatkan pemisahan yang maksimal (Muttaqin dkk., 2016).

### 2.5.3 Kromatografi Kolom (KK)

Kromatografi kolom adalah suatu teknik pemisahan *preparative* yang digunakan untuk memisahkan sampel campuran yang memiliki berat beberapa gram. Prinsip dasar kromatografi kolom adalah adanya perbedaan dalam daya serap antara setiap komponen yang sedang dianalisis. Sampel dilarutkan dalam pelarut yang kemudian dimasukkan ke dalam kolom kromatografi melalui ujung atas kolom. Larutan tersebut mengalir melalui fase diam dan bergerak ke bawah sambil mengalami pemisahan antara komponen-komponennya (Silaa dkk., 2019).

Pemilihan fase gerak juga merupakan langkah yang penting untuk keberhasilan isolasi senyawa. Sifat-sifat pelarut juga sangat berpengaruh terhadap penentuan mobilitas komponen-komponen campuran. Pemilihan fase gerak harus dilakukan sebelumnya untuk mencapai hasil pemisahan yang diinginkan dalam kromatografi kolom. Hal ini dikarenakan proses kromatografi kolom memerlukan waktu yang signifikan dan jumlah bahan yang besar (Atun, 2014).

### 2.5.4 Kromatografi Cair Vakum (KCV)

Kromatografi cair vakum (KCV) adalah salah satu metode fraksinasi yang lebih mudah. Pemisahan dalam metode ini menggunakan kolom yang berisi fase diam dan pergerakan fase cairnya dipermudah dengan bantuan pompa vakum. KCV

memisahkan fraksi-fraksi didasarkan pada kepolaran pelarutnya, untuk membuat fraksi tertentu turun maka tingkat kepolarannya perlu ditingkatkan secara bertahap, dimulai dari yang nonpolar, semipolar, hingga polar (Azzahra *et al.*, 2015). Pada kromatografi cair vakum, proses elusi dibantu dengan memvakumkan kolom sehingga kromatografi ini memiliki keunggulan dibandingkan dengan kromatografi kolom, yaitu kecepatan proses elusinya yang lebih efisien sehingga memungkinkan pemisahan yang lebih cepat. Menentukan jenis silika gel yang sesuai merupakan faktor yang sangat penting untuk mendapatkan hasil pemisahan optimal (Hostettmann *et al.*, 1995). Adapun urutan kepolaran eluen dan elusi senyawa dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Urutan kepolaran eluen.

Urutan Polaritas Eluen	Urutan Elusi Senyawa
Petroleum eter	Hidrokarbon tak jenuh
Karbon tetraklorida	Alkena
Benzena	Hidrokarbon aromatik
Kloroform	Eter
Dietil eter	Aldehida, Keton, Ester
Etil asetat	Alkohol
Aseton	Asam karboksilat
Etanol	
Metanol	
Air	

Sumber : (Hostettmann *et al.*, 1995)

## 2.6 Karakterisasi Senyawa

Pada penelitian ini, spektroskopi digunakan untuk karakterisasi senyawa murni dengan tujuan untuk menentukan struktur dari senyawa hasil isolasi. Spektroskopi menjadi salah satu teknik yang paling sering digunakan untuk menentukan struktur molekul, untuk mengetahui tingkat kemurnian suatu senyawa, dan untuk melihat reaksi yang terjadi. Spektrofotometri merupakan metode analisis kimia secara kuantitatif yang didasarkan pada interaksi antara radiasi elektromagnetik yang dapat berupa radiasi sinar X, *infrared* (IR), *ultraviolet-visible* (UV-Vis), gelombang mikro dan gelombang radio (Harvey, 2000). Instrumen yang

digunakan untuk analisis secara spektrofotometri dikenal sebagai spektrofotometer, yang dapat digunakan untuk melakukan analisis suatu senyawa baik secara kuantitatif maupun kualitatif.

### 2.6.1 Spektroskopi IR

Spektroskopi IR merupakan salah satu alat yang banyak digunakan untuk menentukan struktur terutama gugus fungsi senyawa organik (Hardani dkk., 2021). Bila sinar inframerah melewati sampel senyawa organik, maka beberapa frekuensi akan diserap oleh sampel tersebut, sementara frekuensi lainnya akan melewati atau ditransmisikan tanpa mengalami absorpsi. Hubungan antara persentase absorpsi atau persentase transmitansi terhadap frekuensi menghasilkan spektrum inframerah. Transisi yang terjadi selama absorpsi inframerah berkaitan dengan perubahan dalam getaran molekul. Rentang daerah pada radiasi spektroskopi inframerah meliputi bilangan gelombang  $1280 - 10 \text{ cm}^{-1}$  atau pada panjang gelombang  $0,78 - 1000 \text{ }\mu\text{m}$  (Kusumastuti, 2011).

Suatu ikatan dalam sebuah molekul dapat mengalami berbagai vibrasi molekul. Secara umum terdapat dua tipe vibrasi molekul:

1. *Stretching* (vibrasi regang/ulur) adalah vibrasi sepanjang ikatan sehingga terjadi perpanjangan atau pemendekan ikatan.
2. *Bending* (vibrasi lentur/tekuk) adalah vibrasi yang disebabkan oleh sudut ikatan, sehingga terjadi pembesaran atau pengecilan sudut ikatan (Yudono, 2017).

Spektrum yang dihasilkan dari pengukuran ini berupa grafik yang menunjukkan presentase transmitansi yang bervariasi pada setiap frekuensi radiasi inframerah. Karakteristik serapan IR dari beberapa gugus fungsi ditunjukkan pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Karakteristik serapan IR dari beberapa gugus fungsi

Jenis Ikatan	Serapan (cm <sup>-1</sup> )	Intensitas
C-H (alkana)	2850-2970 dan 1340-1470	Kuat
C-H (alkena)	3010-3100 dan 675-995	Kuat
C-H (alkuna)	3300	Sedang, kuat
C-H (aromatik)	3010-3100 dan 690-900	Kuat
O-H (fenol)	3500-3650	Berubah-ubah
O-H	3300-3500	Sedang, kuat
C=O	1610-1680	Berubah-ubah
C=C	1500-1600	Berubah-ubah
Aldehid, Eter, Asam karboksilat, Ester	1050-1300	Kuat
Nitro	1690-1760	Kuat
Aldehid, Asam karboksilat, Ester	1500-1570	Kuat

Sumber : (Yudono, 2017).

Setiap gugus fungsi memiliki puncak-puncak karakteristik yang muncul pada spektrum inframerah, dan informasi ini digunakan untuk analisis kualitatif zat tersebut. Sebagai contoh, gugus fungsi C=O akan menghasilkan puncak pada bilangan gelombang 1650 cm<sup>-1</sup> untuk asam karboksilat, 1700 cm<sup>-1</sup> untuk keton, dan 1800 cm<sup>-1</sup> untuk halida asam (Yudono, 2017).

## 2.7 Uji Toksisitas Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Toksisitas adalah efek berbahaya dari suatu molekul atau senyawa kimia yang dapat menimbulkan kerusakan atau kematian jika diberikan kepada organisme hidup (Vitalia dkk., 2016). Untuk menganalisis dari bahayanya keracunan atau resiko toksisitas, sangat penting untuk memahami perbandingan antara jumlah organisme yang terpapar dengan jumlah zat yang masuk ke dalam tubuh

organisme tersebut, serta perbandingan secara keseluruhan dengan jumlah zat yang ada di lingkungan. Pengujian toksisitas dilakukan sebagai pengujian awal untuk mengetahui apakah suatu bahan bersifat toksik atau tidak (Dapas dkk., 2014). Pengujian toksisitas dapat dilakukan dengan teknik *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Metode BSLT adalah salah satu teknik yang digunakan untuk mengukur kemampuan toksik terhadap sel (sitotoksik) suatu senyawa yang diekstraksi dari tanaman. Metode ini menggunakan larva udang *A. salina* Leach sebagai indikator biologis. Metode BSLT banyak digunakan karena memiliki kelebihan seperti prosedur yang mudah, harga murah, dan hasilnya cepat serta akurat. Selain itu, metode ini telah terbukti memiliki hasil yang berkorelasi dengan kemampuan sitotoksik senyawa anti kanker (Baud dkk., 2014). Pengujian aktivitas antikanker menggunakan BSLT merupakan suatu uji toksisitas yang akut dimana efek toksik dari suatu senyawa ditentukan dalam jangka waktu 24 jam setelah pemberian dosis uji. Pengujian efek toksik dengan larva udang *A. salina* dihitung dengan metode LC<sub>50</sub> akut dan pemaparan setelah 24 jam digolongkan LC<sub>50</sub> kronis, dan dalam pengerjaannya biasanya digunakan nilai LC<sub>50</sub> setelah waktu 24 jam karena ekstrak yang kurang larut memerlukan waktu lebih lama untuk larut (Meyer *et al.*, 1982).

Hasil yang diperoleh dihitung sebagai nilai LC<sub>50</sub> ekstrak, yang merupakan konsentrasi dimana 50% larva udang mengalami kematian setelah periode inkubasi selama 24 jam. Senyawa dengan nilai LC<sub>50</sub> kurang dari 1000 µg/ml dapat dianggap sebagai senyawa aktif yang memiliki sifat toksik dan dapat dikembangkan sebagai agen antikanker. Penentuan potensi bioaktif dilakukan dengan membandingkan nilai LC<sub>50</sub> suatu ekstrak sampel dengan ketentuan:

**Tabel 3.** Tingkat toksisitas

<b>Konsentrasi</b>	<b>Keterangan</b>
LC <sub>50</sub> ≤ 30 µg/ml	Sangat toksik
LC <sub>50</sub> ≤ 1000 µg/ml	Toksik
LC <sub>50</sub> > 1000 µg/ml	Tidak toksik

Suatu senyawa dapat dinyatakan tidak beracun dan aman apabila nilai  $LC_{50}$  melebihi 1000 ppm. Senyawa tersebut akan dinyatakan memiliki tingkat toksisitas yang rendah jika nilai  $LC_{50}$  berada dalam rentang 200 ppm – 1000 ppm. Pada kedua rentang konsentrasi tersebut diperkirakan memiliki aktivitas sebagai disinfektan. Senyawa tersebut dinyatakan memiliki tingkat toksisitas sedang apabila nilai  $LC_{50}$  berada pada rentang 30 ppm – 200 ppm yang diperkirakan memiliki aktivitas antimikroba. Senyawa tersebut dinyatakan memiliki tingkat toksisitas yang tinggi jika nilai  $LC_{50}$  berada di bawah 30 ppm dan diperkirakan memiliki aktivitas antikanker (Rinaldi dkk., 2016). Dalam penelitian uji toksisitas ekstrak etanol daun turi putih yang dilakukan oleh (Makalalag dkk., 2019) diperoleh nilai  $LC_{50}$  pada ekstrak etanol daun turi segar sebesar 118,928 ppm dan bahwa ekstrak tersebut bersifat toksik dengan tingkat toksisitas sedang.

Larva udang yang mati dihitung jumlahnya dan dianalisis menggunakan program analisis probit (*Probability Unit*) SAS (*Statistical Analysis System*) untuk menentukan nilai  $LC_{50}$  (Jayanti dkk., 2012). Efek toksisitas dapat dianalisis dari pengamatan dengan persen kematian yang dapat dilihat dari persamaan (2).

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

Meyer *et al.* (1982) berpendapat bahwa % kematian dapat ditentukan apabila pada kontrol terdapat larva yang mati, yaitu dengan menggunakan persamaan (3).

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

Setelah mendapatkan % Mortalitas larva *A. salina*, kemudian dilakukan perhitungan untuk mencari nilai probit menggunakan tabel probit dan diregresikan secara linier yang dapat dilihat dari persamaan (4) (Nurhayati *et al.*, 2006).

$$Y = a + bX \dots \dots \dots (4)$$

Keterangan:

Y = Nilai probit

a = Konsentrasi regresi

b = Slope / kemiringan regresi

X = Logaritma 10 konsentrasi uji

## 2.8 *Artemia salina* Leach

*A. salina* adalah sejenis udang yang termasuk dalam kelompok Arthropoda dan masuk dalam keluarga Artemiidae. Spesies ini telah ada sekitar 100 juta tahun yang lalu dan dapat ditemukan tumbuh di berbagai habitat seperti rawa dan kolam renang dengan tingkat salinitas yang tinggi, berkisar antara 60-300 ppt. *A. salina* memiliki tubuh yang terbagi dari 3 bagian utama, yaitu kepala, dada, dan perut. Bagian kepala memiliki 2 tangkai mata, 2 antena, dan 2 antenula. Bagian dada terbagi menjadi 11 segmen, masing-masing dilengkapi dengan sepasang kaki renang, sementara bagian perut terdiri dari 8 segmen. *A. salina* yang telah dewasa memiliki bentuk sempurna.

Larva *A. salina* merupakan organisme sederhana dari biota laut yang sangat kecil dan mempunyai kepekaan yang cukup tinggi terhadap toksik. Selain itu artemia salina memiliki keistimewaan yaitu memiliki toleransi (kemampuan beradaptasi) pada kisaran garam yang sangat luas, waktu siklus hidup yang lebih cepat, dan mudah dibiakkan. Bila bahan yang diuji memberikan efek toksik terhadap larva maka hal ini merupakan indikasi awal dari efek farmakologi yang terkandung dalam bahan tersebut. Penelitian yang dilakukan oleh Lestari, (2019) menyatakan bahwa *A. salina* memiliki korelasi positif terhadap ekstrak yang bersifat bioaktif.

*A. salina* memiliki 3 fase dalam siklus hidupnya, yaitu kista, naupli, dan dewasa. Saat berada dalam fase naupli, ini adalah waktu yang ideal untuk menguji tingkat toksisitas dengan metode BSLT. Pada tahap ini, larva udang memiliki tingkat

sensitivitas yang sangat tinggi karena dinding selnya masih sangat lembut. Tahap naupli adalah langkah kedua dalam proses perkembangan larva udang, dimana mereka hanya memiliki satu mata atau fotoreseptor. Selama tahap ini, naupli tumbuh dengan mengembangkan dua mata dan kemudian berenang melalui kolam air dengan bantuan fototaksis, sambil memanfaatkan antenna mereka. Selain itu, rahang mereka digunakan untuk menyaring air dan mengonsumsi fitoplakton yang sering disebut autotrof (Ningdyah dkk., 2015). Larva *A. salina* yang digunakan dalam pengujian ini adalah *A. salina* yang berusia 48jam karena pada larva umur 48 jam mulut dan saluran pencernaannya telah terbentuk sempurna dan larva juga memiliki peningkatan ketahanan tubuh (Khasanah dkk., 2020)

Mekanisme kematian larva berhubungan dengan kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam tanaman yang dapat menghambat daya makan larva (*antifeedant*). 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. Akibatnya, larva mati kelaparan (Handayani dkk., 2022).

Perubahan telur larva udang *A. salina* dalam kondisi basah dan kondisi kering telah terbukti menjadi sampel uji yang menarik dan ditinjau dengan jangka lama serta kemudahan perawatan dan tingkat sensitifitas terhadap kondisi yang cukup tinggi (Ningdyah *et al.*, 2015). Menurut Wibowo, (2013), klasifikasi *A. salina*

Leach adalah sebagai berikut :

Filum	: Arthropoda
Class	: Crustaceae
Subclass	: Branchiopoda
Ordo	: Anostraca
Famili	: Artemiidae
Spesies	: <i>Artemia salina</i> Leach



**Gambar 5.** Larva *Artemia salina*

## III . METODE PENELITIAN

### 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2023 sampai Juni 2024 yang berlokasi di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Analisis spektroskopi yang digunakan adalah spektroskopi FTIR dilakukan Institut Teknologi Bandung, Jawa Barat.

### 3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini mencakup alat-alat gelas dengan berbagai macam dan ukuran, seperangkat alat destilasi, oven, neraca analitik, spatula, dan pipet tetes, lampu UV 254 nm dan 366 nm, satu set alat Kromatografi Cair Vakum (KCV), satu set alat Kromatografi Kolom (KK), botol vial, mikropipet 50-1000  $\mu\text{L}$  (Eppendorf<sup>TM</sup> M), kaca pembesar, *vacuum rotary evaporator* (Heildhop), dan spektrofotometer FTIR (Prestige-21 Shimadzu).

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini mencakup kulit batang tumbuhan turi putih yang didapat dari Jalan Sultan Haji, Sepang Jaya, Kecamatan Kedaton, Kota Bandar Lampung, Lampung pada hari Rabu tanggal 10 Mei 2023 yang telah dikeringkan dan dihaluskan. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi sampel adalah metanol yang telah didestilasi. Bahan kimia yang digunakan adalah metanol, etil asetat, *n*-heksana, aseton, akuades, kloroform, serum sulfat 1,5%, silika gel Merek G-60 untuk impregnasi, silika gel GF 254 (35-70 Mesh), plat

KLT, kertas saring, dimetil-sulfoksida (DMSO), garam tak beriodium, kertas saring, dan Larva udang *A. salina* Leach,

### **3.3 Prosedur Kerja Penelitian**

#### **3.3.1 Preparasi Sampel**

Determinasi tumbuhan turi putih (*S. grandiflora*) dilaksanakan di Direktorat Pengelolaan Koleksi Ilmiah Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) Cibinong, Jawa Barat. Kulit batang tumbuhan turi dicuci dengan air mengalir dan dipotong kecil-kecil, selanjutnya dikeringkan dengan cara diangin-anginkan tanpa terkena sinar matahari langsung. Kulit batang yang telah kering digiling hingga menjadi serbuk halus.

#### **3.3.2 Ekstraksi**

Ekstraksi kulit batang turi putih dilakukan dengan metode maserasi. Serbuk halus kulit batang turi ditimbang sebanyak 2000 gram kemudian direndam menggunakan pelarut metanol 1x24 jam sebanyak 3 kali pengulangan. Kemudian, ekstrak hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring. Maserat dikumpulkan dan dipekatkan dengan *vacuum rotary evaporator* dengan suhu 40°C dan kecepatan 120 rpm. Selanjutnya ekstrak pekat ditimbang untuk diketahui beratnya. Setelah itu, ekstrak pekat metanol dipartisi menggunakan pelarut *n*-heksana, sehingga diperoleh fraksi *n*-heksana. Fraksi dari hasil partisi kemudian dievaporasi untuk mendapatkan hasil ekstrak pekatnya.

### 3.3.3 Kromatografi Cair Vakum

Ekstrak pekat dari fraksi *n*-heksana selanjutnya difraksinasi menggunakan kromatografi cair vakum (KCV). Prinsip dasar teknik ini adalah mengatur pendistribusian partikel dalam fasa diam. Dalam penelitian ini, fasa diam yang digunakan berupa silika gel halus dengan jumlah sebanyak 10 kali berat sampel. Mula-mula, silika gel halus akan dimasukkan ke dalam kolom dalam keadaan kering dengan bantuan alat vakum, sehingga dapat dipastikan silika halus tersebut menjadi padat dan tidak ada ruang kosong yang terbentuk. Selanjutnya eluen dengan tingkat kepolaran terendah, akan ditempatkan di atas permukaan silika halus untuk membasahi silika agar padat kerapatannya, kemudian eluen akan dihisap kembali menggunakan alat vakum.

Tahap selanjutnya adalah menyiapkan sampel yang akan difraksinasi. Ekstrak kasar dari fraksi *n*-heksana turi putih dilarutkan dalam aseton lalu diimpregnasikan dalam silika gel kasar dengan jumlah yang setara dengan 2 kali berat sampel, kemudian dimasukkan pada bagian atas kolom yang telah berisi fasa diam. Selanjutnya kolom yang telah siap digunakan dielusi menggunakan eluen *n*-heksana 100% : etil asetat 0% sampai etil asetat 100%. Elusi dimulai dengan pelarut yang paling non-polar hingga yang paling polar sehingga hasil pemisahan yang diperoleh lebih sempurna, dikarenakan sampel yang mengandung senyawa non polar akan cepat terelusi karena tidak bereaksi dengan fase diam pada kolom. Sedangkan senyawa polar akan berinteraksi lebih lama akibat sifat polar tersebut (Wusu dkk., 2022). Dikumpulkan hasil fraksi-fraksi yang diperoleh berdasarkan pola fraksinasinya dan setelah itu dilakukan pemantauan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT). Fraksi-fraksi yang memiliki *R<sub>f</sub>* yang sama digabungkan menjadi satu vial.

### 3.3.4 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Metode KLT dilakukan terhadap fraksi-fraksi yang akan difraksinasi dan juga fraksi yang diperoleh setelah fraksinasi sebelumnya. Penggunaan metode KLT dapat memonitoring fraksi-fraksi untuk mengidentifikasi senyawa melalui pola pemisahannya dan noda yang dihasilkan. Uji KLT dilakukan dengan memanfaatkan campuran pelarut yang tepat dalam sistem eluen yaitu berupa *n*-heksana, etil asetat, metanol, kloroform dan diklorometana. Dalam analisis menggunakan metode KLT, sampel turi putih yaitu fraksi-fraksi ditotolkan pada permukaan plat KLT menggunakan pipa kapiler dan dielusi menggunakan kombinasi pelarut yang sesuai, Selanjutnya bercak atau noda dapat dilihat di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm (Wulandari, 2011).

Plat KLT disemprot menggunakan serium sulfat dan dikeringkan dalam oven untuk memunculkan noda hasil KLT. Selanjutnya nilai *Retention factor* (*R<sub>f</sub>*) dari setiap noda yang terbentuk dapat dihitung dan dicatat. Setiap fraksi yang menghasilkan pola pemisahan dengan *R<sub>f</sub>* yang sama kemudian digabungkan dan dipisahkan sehingga didapatkan sejumlah fraksi gabungan yang akan difraksinasi lebih lanjut dengan menggunakan kromatografi kolom (KK).

### 3.3.5 Kromatografi Kolom (KK)

Hasil fraksinasi dari KCV dengan analisis KLT selanjutnya dilakukan pemurnian menggunakan kromatografi kolom. Mula-mula adsorben silika gel Merck 60 (35-70 Mesh) digunakan sebagai fasa diam yang selanjutnya dilarutkan dalam pelarut yang akan digunakan dalam proses pengelusian. Campuran dari silika gel dan pelarut tersebut diaduk hingga berbentuk bubur (*slurry*). *Slurry* dari silika gel dimasukkan terlebih dahulu ke dalam kolom dan fasa diam disesuaikan agar merata dan tidak memiliki rongga. Kemudian sampel yang telah diimpregnasi pada silika gel dimasukkan ke dalam kolom yang berisi fasa diam.

### 3.3.6 Karakterisasi Senyawa

Karakterisasi yang digunakan pada penelitian ini adalah dengan metode spektroskopi IR. Sampel kristal yang telah didapatkan dari isolasi yang telah murni dianalisis menggunakan spektrofotometer IR. Kristal murni yang telah bebas dari air kemudian digerus bersama-sama dengan halida anorganik, KBr. Hasil dari gerusan kristal murni dengan KBr dibentuk menjadi lempeng tipis atau pelet dengan menggunakan alat penekan berkekuatan 8-10 ton cm<sup>2</sup> kemudian pelet tersebut diukur puncak serapannya (Sulistiyani dan Huda, 2017).

### 3.3.7 Uji Toksisitas Menggunakan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

#### a. Penyiapan Larva Udang *Artemia salina* Leach

Metode BSLT digunakan untuk pengujian toksisitas, dimana larva udang *A. salina* digunakan sebagai hewan uji. Penetasan larva udang yang berupa telur dilakukan di dalam wadah berisi air laut dan diberi sekat (bagian terang dan bagian gelap). Pada wadah bagian terang diberi penyinaran lampu untuk merangsang penetasan larva udang. Sedangkan, pada wadah bagian gelap diberi penutup sebagai tempat menetasnya telur. Penetasan dilakukan selama waktu 24 jam dalam air laut buatan, pembuatannya menggunakan 27 gram garam tidak beriodium dalam 3 L akuades. Selama proses penetasan, wadah dilengkapi dengan lampu yang digunakan sebagai sumber cahaya dan aerator yang berfungsi sebagai penyuplai oksigen dan menjaga agar telur tidak mengendap. Setelah alat penetas sudah siap, selanjutnya telur *A. salina* dimasukkan dalam wadah gelap sebanyak 2 spatula dan dibiarkan 24 jam hingga menetas. Setelah telur menetas menjadi larva, selanjutnya dipindahkan ke dalam wadah lain hingga berusia 48 jam dan dapat dijadikan hewan uji dalam percobaan BSLT. Larva *A. salina* yang baik digunakan untuk uji BSLT jika berumur 48 jam sebab jika lebih dari 48 jam dikhawatirkan kematian *A. salina* bukan disebabkan toksisitas melainkan oleh terbatasnya persediaan makanan yang dimiliki oleh larva (Sahgal *et al.*, 2010).

### **b. Pembuatan Konsentrasi Sampel dan Kontrol**

Masing-masing ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana, dan kristal dari kulit batang tumbuhan turi putih (*S. grandiflora*) ditimbang sebanyak 4 mg. Selanjutnya, masing-masing ekstrak dilarutkan dalam DMSO sebanyak 200  $\mu$ L dan dicukupkan volumenya dengan air laut buatan hingga diperoleh konsentrasi 2000  $\mu$ g/mL sebagai larutan stok. Kemudian, dibuat variasi konsentrasi 50  $\mu$ g/mL, 100  $\mu$ g/mL, 500  $\mu$ g/mL, dan 1000  $\mu$ g/mL. Sebagai kontrol, dimasukkan pelarut DMSO dan air laut buatan yang sudah disesuaikan tanpa penambahan sampel. DMSO digunakan karena DMSO diklasifikasikan dalam pelarut yang paling tidak beracun, dibandingkan pelarut lain terhadap kematian larva *A. salina* (Cahya dkk., 2022).

### **c. Pelaksanaan Uji Toksisitas**

Sepuluh ekor *A. salina* yang telah berusia 48 jam dimasukkan ke dalam vial berisi sampel yang telah dibuat berbagai konsentrasi menggunakan mikropipet. Kemudian, sampel ditempatkan di bawah cahaya penerangan selama 24 jam. Setelah waktu 24 jam, jumlah larva yang masih hidup dihitung dengan menggunakan kaca pembesar.

### **d. Analisis Data**

Nilai  $LC_{50}$  (*Lethal Concentration 50*) merupakan teknik analisis data yang digunakan dalam uji mortalitas larva udang untuk menentukan kadar yang dapat menyebabkan kematian hingga 50% dari populasi larva udang dalam waktu 24 jam. Metode ini dilakukan dengan menggunakan metode analisis pada *Microsoft Office Excel* untuk membuat persamaan garis lurus yang menghubungkan antara nilai log konsentrasi dengan nilai probabilitas kematian. Tingkat toksisitas sampel dapat ditentukan dengan mengukur nilai dari  $LC_{50}$  yang dapat menyebabkan 50% kematian pada *A. salina*. Analisis perhitungan statistik dilakukan dengan

menggunakan metode probit (unit probabilitas) dan efek toksisitas dianalisis dengan mengamati data persentase kematian yang terjadi.

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

1. Telah berhasil diisolasi senyawa  $\beta$ -sitosterol (NV46) dari fraksi *n*-heksan kulit batang tumbuhan turi putih (*S. grandiflora*) berwarna putih sebanyak 15 mg dan diidentifikasi menggunakan spektrofotometer FTIR.
2. Berdasarkan hasil pengujian toksisitas menunjukkan bahwa ekstrak metanol dan senyawa  $\beta$ -sitosterol (NV46) memiliki sifat sangat toksik dengan nilai  $LC_{50}$  20,2695  $\mu$ g/mL dan 25,4757  $\mu$ g/mL, sedangkan fraksi *n*-heksana memiliki sifat toksik nilai  $LC_{50}$  115,8232  $\mu$ g/mL.

### 5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, terdapat saran untuk penelitian selanjutnya yaitu melakukan penambahan jumlah serbuk kulit batang tumbuhan turi putih pada proses ekstraksi agar diperoleh senyawa murni yang lebih banyak dan melakukan uji bioaktivitas lain pada senyawa hasil isolasi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agoes, G. 2007. *Teknologi Bahan Alam*. ITB Press. Bandung.
- Alen, Y., Agressa, F. L., dan Yuliandra, Y. 2017. Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak Rebung (*Schizostachyum brachycladum* K) pada Mencit Putih Jantan. *J. Sains Farm. Klin.* **3**(2) : 146–152.
- Atun, S. 2014. Metode Isolasi dan Identifikasi Struktur Senyawa Organik Bahan Alam. *JK.* **8**(2) : 53–61.
- Aziz, Y. S., dan Kusumaningrum, G. 2019. Formulasi Sediaan Gel dan Uji Antimikroba Ekstrak Kulit Batang Turi (*Sesbania grandiflora* L). *Pharmed.* **2**(2), 42–49.
- Azzahra, F., Lukmayani, Y., Si, M., & Sadiyah, E. R. 2015. Isolasi dan Karakterisasi Alkaloid dari Daun Sirih Merah. *Proc. Pharm.* **2**(1), 45–52.
- Baud, G. S., Sangi, M. S., dan Koleangan, H. S. J. 2014. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Batang Tanaman Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* L.) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *J. Ilm. Sains.* **14**(2) : 106–113.
- Bhounik, D., Berhe, A., and Malik, A. 2016. Evaluation of Gastric Anti-Ulcerpotency of Ethanolic Extract of *Sesbania grandiflora* Linn Leaves in Experimental Animals. *J. Phytomed. Clin.* **3**(2) : 174 – 182.
- Cahaya, N. R., Widy, S., dan Hamsidar, H. 2022. Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Kulit Terong Ungu (*Solanum melongena* L.) Menggunakan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *J. Syifa Sci. Clin. Res.* **4**(1) : 202-210.

- Cintya, H., Chan, M. A., Purba, A., Kokita, T., Destinyie, F., dan Bernardi, W. 2021. Isolasi Kurkumin dari Kunyit Putih dengan Menggunakan Metode Maserasi dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). *J. Pro-Life*. **8(3)** : 109-119.
- Dapas, C., Koleangan, H. S., dan Sangi, M. 2014. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Toksisitas Ekstrak Batang Bawang Laut (*Proiphys amboinensis* (L.) Herb). *J. MIPA UNSRAT Online*. **3(2)** : 144–148.
- Darajat, K. 2010. *Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Turi (Sesbania grandiflora L. Pers) Menggunakan Metode Brine Shrimp Lethality Test*. UIN Alauddin Press. Makassar.
- Dewantari, R., dan Lintang, M. L. 2018. Jenis Tumbuhan yang Digunakan sebagai Obat Tradisional di Daerah Eks-Karesidenan Surakarta. *BIOEDUKASI*, **11(2)** : 50-68.
- Ditjen POM. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Departemen Kesehatan RI. Jakarta.
- Dumitrascu, M. 2011. Artemia salina. *Balneo-Research Journal*. **2(4)** : 119–122.
- Fadhli, H., Rizky Soeharto, A. B., dan Windarti, T. 2018. Uji Aktivitas Antioksidan Kulit Buah Pulasan (*Nephelium mutabile* Blume) Dan Bunga Turi Putih (*Sesbania grandiflora* L) Dengan Metoda DPPH. *J. Katal*. **3(2)** : 114.
- Filha, F. Z. S., Lombardi, J. A., Guzzo, L. S., dan Saude-Guimaraes, D. A. 2012. Brine Shrimp (*Artemia salina* Leach) Bioassay of Extracts From *Lychnophoriopsis Candelabrum* and Different *Lychonophora* Species. *Rev. Bras. de Plantas. Medic*. **2(1)** : 358–361.
- Handayani, V., Safriani, R., dan Andi, N. A. 2022. Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Batang Kayu Wole Woe Terhadap Larva *Artemia salina* Leach Menggunakan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *J. Farm*. **14(2)** : 131-138.
- Harborne, J. B. 1998. *Phytochemical Methods : A Guide To Modern Techniques Of Plant Analysis*. Chapman and Hall. London.
- Hardani, P. T., Dewi, P., Sari, A., Rahayu, P., Farmasi, F., Sains, D., Kesehatan, U., Pgri, A., Buana, S., dan Program, S. 2021. Isolasi dan Identifikasi Kitosan dari Cangkang Kreca (*Bellamyia javanica*) dengan Spektroskopi Inframerah. *J. Sains Farm. Klin*. **2(2)** : 36–40.
- Harvey, D. 2000. *Modern Analytical Chemistry*. McGraw-Hill Companies, Inc. Newyork.

- 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.
- Herlina, W. 2019. *Kitab Tanaman Obat Nusantara*. Media Pressindo. Yogyakarta.
- Hostettmann, K., Hostettmann, M., dan Marston, A. 1995. *Cara Kromatografi Preparatif Penggunaan Pada Senyawa Bahan Alam*. Alih Bahasa Kosasih Padmawinata. Bandung.
- Inayah, R. J., dan Nurul, H. 2019. Uji Toksisitas Senyawa Isolasi Dari Ekstrak Daun Puring (*Codiaeum varigatum* L. BI.) Terhadap *Artemia Salina*. *J. Chem.* **8**(2) : 74-78.
- Jayanti, N. W., Astuti, M. D., Komari, N., dan Rosyidah, K. 2012. Isolasi dan Uji Toksisitas Senyawa Aktif dari Ekstrak Metilena Klorida (MTC) Lengkuas Putih (*Alpinia galanga* (L) Willd). *Chem. Prog.* **5**(2) : 100–108.
- Kementrian Peternakan. 2013. *Keunggulan Turi Sebagai Pakan Ternak*. BPTU Sembawa. Palembang.
- Khasanah, N. W., Bhakti, K., dan Agus, S. 2020. Uji Fitokimia dan Toksisitas Ekstrak Umbi *Hydnophytum sp.* Terhadap *Artemia salina* Leach. *J. Sci. Educ.* **4**(1) : 47-53.
- Kurniawan, H., dan Ropiqa, M. 2021. Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Ekor Kucing (*Acalypha hispida* Burm) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *J. Syifa Sci. Clin. Res.* **3**(2) : 110-122.
- Kusumastuti, A. 2011. Pengenalan Pola Gelombang Khas Dengan Interpolasi. *CAUCHY*. **2**(1) : 7–12.
- Makalalag, K. A., Sangi, M., dan Kumaunang, M. 2019. Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol dari Daun Turi Putih (*Sesbania grandiflora* (L) Pers). *J. Chem. Progress.* **8**(1) : 32–39.
- Mawardi, A., Erwin, S., dan Yurika, S. 2020. Pengaruh Berbagai Metode Ekstraksi dari Ekstraksi Etanol Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine americana* Merr) Terhadap Rendemen Ekstrak dan Profil Kromatografi Lapis Tipis. *Proc. Mul. Pharm. Conf.* **11**(2) : 52-57.
- Meyer, B. N., Mc Laughlin, J. L., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., and Nichols, D. E. 1982. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay For Active Plant Constituents. *Planta Med.* **45**(1) : 31–34.

- Muttaqin, F. Z., Anne, Y., Astri, F., dan Aiyi, A. 2016. Penetapan Kadar Senyawa Metampiron dan Diazepam Dalam Sediaan Kombinasi Obat Menggunakan Metode KLT Video Densitometri. *Pharmacy*. **13**(2) : 127-136.
- Lestari, d. 2019. Uji Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) Umbi Bawang Tiwai (*eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb) dan Uji Toksisitas Akut Fraksi Aktif. *J. Ris. Kefarm. Indones*. **1**(1) : 45 – 51.
- Noviany, N., Samadi, A., Yuliyani, N., Hadi, S., Aziz, M., Purwitasari, N., Mohamad, S., Ismail, N. N., Gable, K. P., and Mahmud, T. 2020. Structure Characterization and Biological Activity of 2-Arylbzofurans From an Indonesian Plant, *Sesbania grandiflora* (L.) Pers. *Phytochemistry Letters*. **35**(2) : 211–215.
- Nurhayati, A. P. D., Abdulgani, N., dan Febrianto, R. 2006. Uji Toksisitas Ekstrak *Eucheuma alvarezii* Terhadap *Artemia salina* Sebagai Studi Pendahuluan Potensi Antikanker. *Akta Kim*. **2**(1) : 41-46.
- Okwu, D. E., dan Nnamdi, F. U. 2011. Two Novel Flavonoids from *Bryophyllum pinnatum* and Their Antimicrobial Activity. *J. Chem. Pharm. Research*. **3**(2) : 1–10.
- Pratiwi, S. A., Nawafila. F., dan Abdul, B. 2023. Skrining dan Uji Penggolongan Fitokimia dengan Metode KLT pada Ekstrak Etanol Kemangi (*Ocimum basilicum* L) dan Sereh Dapur (*Cymbopogon ciratus*). **6**(2) : 140-147.
- Putu, O., Ngakan., N. N., dan Siady. A. 2022. *Dendrologi: Dasar-Dasar Mengenal Pohon*. Universitas Hasanuddin Press. Makassar.
- Rinaldi, F. F., Ibrahim, A., Fadraersada, J., dan Rijai, L. 2016. Identifikasi Metabolit Sekunder dan Pengujian Toksisitas Ekstrak Metanol Kulit Kayu Laban (*Vitex pinnata* L.) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Proc. Mul. Pharm*. **4**(1) : 133–139.
- Rohmah, J., Saidi, I. A., Rofidah, L., Novitasari, F., and Margareta, F. A. 2021. Phytochemical Screening of White Turi (*Sesbania grandiflora* (L.) Pers.) Leaves Extract in Various Extraction Methods. *Medicra*. **4**(1) : 22–29.
- Sahgal, G., Ramanathan, S., Sasidharan, S., Mordi, M. N., Ismail, S., and Mansor, S. M. 2010. Brine Shrimp Lethality and Acute Oral Toxicity Studies On *Swietenia mahagoni* (Linn.) Jacq. seed Methanolic Extract. *Phcogn. Res*. **2**(4) : 215–220.
- Samosir, A. S., Nurhayati, B., dan Hendri, I. 2018. Analisis Kandungan Rhodamin B Pada Saos Tomat yang Beredar di Pasar Sentral Kota Gorontalo dengan

- Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). *Entropi*. **13**(1) : 45-49.
- Silaa, A. E., Paransa, J., Rumengan, A. P., Kemer, K., Rumampuk, N. D., Manoppo, H., dan Sam R. U. 2019. Pemisahan Jenis Pigmen Karotenoid dari Kepiting *Grapsus* sp Jantan Menggunakan Metode Kromatografi Kolom. *J. Pesisir Laut Trop*. **7**(2) : 121-128.
- Srinivasan, K. 2017. Plant Food and Herbal Extract : Potential Sources of Toxicants and Their Management in Food Safety. *Food Control*. **7**(3) : 208-223
- Sudjadi. 2001. *Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Ghalia Indonesia. Bogor.
- Sulistiyani, M. dan Huda, N. 2017. Optimasi Pengukuran Spektrum Vibrasi Sampel Protein Menggunakan Spektrofotometer *Fourier Transform Infrared* (FT-IR). *Indo. J. Chem. Sci*. **6**(2) : 173-180.
- Tanjung, M., Aldin, M. F., Tjahjandarie, T. S., Rahayu, D. O., Nur, A., Gunawan, I., and Saputri, R. D. 2021. Sesbagrandiflorain F, a New 2-Arylbenzofuran from the Stem Bark of *Sesbania grandiflora* L. *Nat. Prod. Sci*. **27**(3) : 1–4.
- Tjitrosoepomo. 1993. *Taksonomi Tumbuhan Obat-Obatan*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Tulangow, L. F., Queljoe, E. D., dan Simbala, H. 2016. Identifikasi Senyawa Fitokimia dan Uji Toksisitas dengan Metode BSLT Ekstrak Etanol Bunga Ubu-Ubu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) dari Maluku Utara. *Pharmacon*. **5**(3) : 175–182.
- Vitalia, N., Najib, A., dan Roskiana Ahmad, A. 2016. Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pletekan (*Ruellia tuberosa* L.) dengan Menggunakan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *J. Fitofarmaka Indon.* **3**(1) : 3–1.
- Wahyu Ningdyah, A., Hairil Alimuddin, A., dan Jayuska, A. 2015. Uji Toksisitas dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) Terhadap Hasil Fraksinasi Ekstrak Kulit Buah Tampoi (*Baccaurea macrocarpa*). *J. Kim*. **4**(1) : 75–83.
- Wibowo, S. 2013. *Artemia*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Wulandari, L. 2011. *Kromatografi Lapis Tipis*. PT. Taman Kampus Presindo. Jember.

Wusu, R. L., Antonius. R. B. O., Mikhael, F. B., dan Prisilia, T. 2022. Fraksinasi dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Umbi Bunga Kelelawar Hitam (*Tacca chantrieri* Andre). *J. Kim. Pendidik.* **3**(2) : 76-83.

Yulia, M., Ningtyas, K. R., dan Suhandy, D. 2021. Penggunaan UV-Vis Spektroskopi dan Kemometrika untuk Uji Keaslian Kopi Codot Lampung. *J. Ilmu Pertan. Indon.* **26**(4) : 479–489.