

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

(Skripsi)

Oleh

DILLA ADHA



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

ABSTRAK

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

Oleh

Dilla Adha

Tumbuhan turi putih (*Sesbania grandiflora* (L.) Poir) masih menjadi salah satu sumber alternatif utama yang digunakan masyarakat sebagai obat tradisional, karena telah terbukti bahwa obat yang bersumber dari tumbuhan lebih baik bagi kesehatan. Sehingga dilakukannya penelitian ini agar dapat mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder dari fraksi etil asetat kulit batang turi putih serta uji toksisitas menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dengan hewan uji *Artemia salina*. Tahapan penelitian yang dilakukan meliputi preparasi sampel, ekstraksi sampel, fraksinasi, dan analisis kemurnian dengan kromatografi lapis tipis. Pada karakterisasi sampel menggunakan analisis spektroskopi FTIR, spektroskopi $^1\text{H-NMR}$, dan $^{13}\text{C-NMR}$.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa NV44 telah berhasil diisolasi dari fraksi etil asetat yaitu berwarna putih kekuningan seberat 12,2 mg yang diduga sebagai turunan senyawa flavonoid.

Hasil uji toksisitas dari fraksi etil asetat bersifat toksik terhadap *Artemia salina* dengan LC_{50} 39,8703 $\mu\text{g/mL}$ sedangkan ekstrak kasar metanol dan senyawa NV44 bersifat sangat toksik dengan nilai LC_{50} masing-masing sebesar 21,828 $\mu\text{g/mL}$ dan 16,1542 $\mu\text{g/mL}$. Berdasarkan penelitian ini kulit batang turi putih (*Sesbania grandiflora* (L.) Poir) dari fraksi etil asetat dapat diuji lebih lanjut karena berpotensi sebagai antikanker.

Kata Kunci : *Artemia salina*, NV44, LC_{50} , Toksisitas, Turi Putih

ABSTRACT

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF SECONDARY METABOLITE COMPOUNDS FROM THE ETHYL ACETATE FRACTION OF THE BALK WHITE TURI PLANT (*Sesbania grandiflora* (L.) Poir) AND TOXICITY TESTING USING THE BRINE SHRIMP METHOD LETHALITY TEST (BSLT)

By

Dilla Adha

The white turi plant (*Sesbania grandiflora* (L.) Poir) is still one of the main alternative sources used by people as traditional medicine, because it has been proven that medicines derived from plants are better for health. So it is necessary to carry out this research in order to identify secondary metabolite compounds from the ethyl acetate fraction of white turi stem bark and test toxicity using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method with *Artemia salina* test animals. The research stages carried out included sample preparation, sample extraction, fractionation, and purity analysis using thin layer chromatography. Sample characterization uses FTIR spectroscopy analysis, ¹H-NMR, and ¹³C-NMR spectroscopy.

The results of the research show that the NV44 compound has been successfully isolated from the ethyl acetate fraction, which is yellowish white in color weighing 12.2 mg, which is thought to be a derivative of flavonoid compounds.

The results of the toxicity test from the ethyl acetate fraction were toxic to *Artemia salina* with an LC₅₀ of 39.8703 µg/mL while the crude methanol extract and NV44 compound were very toxic with LC₅₀ values of 21.3828 µg/mL and 16.1542 µg/mL respectively. Based on this research, the bark of white turi (*Sesbania grandiflora* (L.) Poir) from the ethyl acetate fraction can be tested further because it has anticancer potential.

Keywords : *Artemia salina*, NV44, LC₅₀, Toxicity, Turi Plant

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

Oleh

Dissa Adha

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**

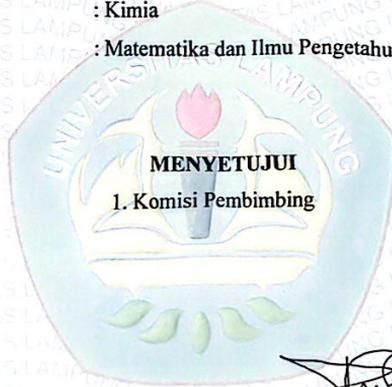
Judul : ISOLASI DAN IDENTIFIKASI
SENYAWA METABOLIT SEKUNDER
DARI FRAKSI ETIL ASETAT KULIT
BATANG TUMBUHAN TURI PUTIH
(*Sesbania grandiflora* (L.) Poir) SERTA
UJI TOKSISITAS MENGGUNAKAN
METODE BRINE SHRIMP
LETHALITY TEST (BSLT)

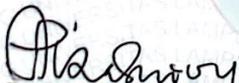
Nama : Dilla Adha

NPM : 2017011021

Jurusan : Kimia

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam




Prof. Dr. Noviany, S.Si., M.Si.
NIP. 197311191998022001


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

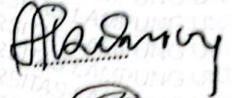
2. Ketua Jurusan Kimia FMIPA


Dr. Mita Rizyanti, S.Si., M.Si.
NIP. 197205302000032001

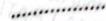
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

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



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



Penguji

Bukan Pembimbing : Dr. Sonny Widiarto, S.Si., M.Sc.



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



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

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 6 Desember 2024

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Dilla Adha
Nomor Pokok Mahasiswa : 2017011021
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Peguruan Tinggi : Universitas Lampung

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul “Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Fraksi Etil Asetat Kulit Batang Tumbuhan Turi Putih (*Sesbania grandiflora* (L.) Poir) Serta Uji Toksisitas Menggunakan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)” adalah benar karya saya sendiri, baik dari gagasan, hasil, dan analisisnya. Selanjutnya saya juga tidak keberatan jika Sebagian atau seluruh data didalam skripsi ini digunakan oleh dosen atau program studi untuk kepentingan publikasi, sepanjang nama saya disebutkan dan terdapat kesepakatan sebelum dilakukan publikasi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sadar dan sebenar-benarnya untuk digunakan sebagai mestinya.

Bandar Lampung, 6 Desember 2024
Yang menyatakan,



Dilla Adha

RIWAYAT HIDUP

Penulis bernama lengkap Dilla Adha, lahir di Sumber Jaya Lampung Barat pada tanggal 22 Februari 2002, sebagai putri tunggal kesayangan dari Bapak Embong dan Ibu Ely Yanti. Riwayat pendidikan penulis dimulai dari TK Harapan Jaya yang lulus pada tahun 2007, lalu melanjutkan ke SD Muhammadiyah 1 Bandar Lampung pada tahun 2008- 2014, Selanjutnya SMP Negeri 22 Bandar Lampung pada tahun 2014-2017, SMA Negeri 13 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 Nasional Masuk Perguruan Tingkat Negeri (SNMPTN).

Selama menempuh pendidikan di Jurusan Kimia, penulis mengikuti organisasi sebagai wadah untuk mengembangkan potensi diri. Organisasi yang pernah penulis ikuti adalah Koperasi Mahasiswa (Kopma) Unila pada 2020. Himpunan Mahasiswa Kimia (Himaki) sebagai anggota Sosmas pada 2021. Penulis juga pernah menjadi asisten praktikum Kimia Organik tahun 2023-2024 Jurusan Biologi dan Kimia Organik 2. Selanjutnya penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Puralaksana, Way Tenong, Lampung Barat, pada 6 Januari- 11 Februari 2023. Pada Agustus-September 2023, bertempat di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung, penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) dengan judul Skrining Fitokimia dan Analisa Kromatografi Lapis Tipis dari Ekstrak Metanol Tumbuhan Turi Putih (*Sesbania grandiflora* (L.) Poir) dari Daerah Wayhuwi Lampung Selatan.

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 Etil Asetat Kulit Batang Turi Putih (*Sesbania grandiflora* (L.) Poir) serta Uji Toksisitas Menggunakan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)”

MOTTO

*“Allah tidak akan membebani seseorang melainkan sesuai dengan kemampuannya.”
(Q.S. Al-Baqarah: 286)*

*“Boleh jadi kamu membenci sesuatu namun ia amat baik bagimu dan boleh jadi engkau mencintai sesuatu namun ia amat buruk bagimu, Allah maha mengetahui sedangkan kamu tidak mengetahui”
(Q.S. Al Baqarah: 216)*

*“Tiada keberhasilan tanpa usaha dan kerja keras”
(Mama)*

*“Hidup yang tidak diperjuangkan maka tidak akan dimenangkan”
(Sutan Sjahrir)*

*“Sebaik-baik manusia adalah manusia yang paling bermanfaat bagi orang lain”
(Q.S. Isra :7)*

*“Do something now, your future self will thank you for later”
(-)*

PERSEMBAHAN

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Dengan menyebut nama Allah yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang

Dengan mengucap *Alhamdulillahillobbil'alamin* atas ridho Allah dengan segala rasa syukur kupersembahkan karya ini kepada :

Kedua Orang Tuaku Tersayang

Mama Ely Yanti dan Ayah Embong yang telah membesarkan, mendidik, mendoakan, mendukung, dan senantiasa percaya kepada putri tunggal nya ini.

Dengan rasa hormat kepada :

Ibu Prof. Dr. Noviany, S.Si., M.Si., Bapak Prof. Sutopo Hadi, M.Sc., Ph.D., Bapak Dr. Sonny Widiarto, S.Si., M.Sc., Serta seluruh dosen Kimia FMIPA Unila yang telah membimbing dan memberikan ilmu serta saran dan masukannya sehingga penulis mencapai gelar sarjana.

Keluarga besar, sahabat dan semua orang baik yang telah mendoakan dan memberikan dukungan dan motivasi kepada penulis.

Almamater Universitas Lampung

SANWACANA

Alhamdulillah robbil 'alamin segala puji bagi Allah SWT atas segala rahmat, ridho, dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Sholawat beriring salam selalu tucurahkan kepada Nabi Muhammad *Shalallahu 'alaihi wassalam*, semoga kita termasuk umatnya yang mendapat syafa'at beliau di *yaumul akhir* kelak, *aamiin yarabbal' alamin*.

Skripsi yang berjudul “**Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Fraksi Etil Asetat Kulit Batang Turi Putih (*Sesbania grandiflora* (L.) Poir) serta Uji Toksisitas Menggunakan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)**” sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si) di Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Penulis menyadari bahwa penyelesaian skripsi ini tidak lepas dari bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak. Bersamaan dengan telah terselesaikannya skripsi ini, penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Orang tuaku tercinta, Mama Ely Yanti dan Ayah Embong yang telah mendukung segala hal baik untuk putri kesayangannya, serta menjadi garda terdepan dan memberikan kasih sayang yang tidak ada habisnya, semoga sehat selalu dan bisa menemani putri kesayangannya menjadi orang sukses dikemudian hari.
2. Ibu Prof. Dr. Noviany, S.Si., M.Sc., selaku Dosen Pembimbing 1 dan Ibu kedua bagi penulis yang telah membimbing, mengarahkan, dan memberikan saran serta motivasi sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Semoga Allah memberikan kelimpahan kebaikan kepada beliau, dimudahkan segala hajatnya, dan diberikan kesehatan serta diberkahi dalam segala hal.

3. Bapak Prof. Sutopo Hadi, M.Sc. Ph.D., selaku Dosen Pembimbing 2 yang telah berkenan membimbing penulis dengan penuh kesabaran dan memberikan masukan serta saran yang bermanfaat bagi penulis. Semoga Allah memberikan kemudahan dan keberkahan serta membalas kebaikan beliau.
4. Bapak Dr. Sonny Widiarto, S.Si., M.Sc., selaku Dosen Pembahas dalam penelitian, terimakasih atas bantuan masukan dan saran yang sangat baik bagi penulis sehingga penulis dapat memperbaiki kekurangan-kekurangan dalam skripsi ini, semoga Allah memberikan kemudahan dan keberkahan serta membalas kebaikan beliau.
5. Bapak Prof. Suharso, S.Si., Ph.D., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang memberikan segala kemudahan akademik dan memberikan motivasi kepada penulis untuk semangat dalam menyelesaikan skripsinya, semoga Allah memberikan kemudahan dan keberkahan serta membalas kebaikan beliau.
6. Ibu Dr. Mita Rilyanti, S.Si., M.Si., selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.
7. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, M.Si., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Unila.
8. Bapak/Ibu Dosen dan Kepala Laboratorium Jurusan Kimia terima kasih atas bantuan dan ilmu yang diberikan kepada penulis selama menempuh Pendidikan di Universitas Lampung.
9. Para Staf dan Laboran Jurusan Kimia FMIPA Unila, Kepada Mba Wit, Mba Yuni, Pak Rudi, Mas Nomo, Mba Della, Mas Udin, dan Mba Liza atas segala bantuan yang diberikan kepada penulis.
10. Keluarga besarku yang telah menyemangati dan mendoakan penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
11. Teman-teman tersayangku (NRG'20) Angel, Vio, dan Myuti yang senantiasa menyemangati, mendukung, dan selalu kebersamai dalam kondisi apapun. Terimakasih atas segala bantuan yang telah diberikan kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

12. Teman-teman kelompok makan siang, Angel, Sisi, Niswah, dan Fara yang senantiasa memberikan semangat, motivasi, dan bantuan kepada penulis selama perkuliahan. Semoga kalian segera mendapatkan pekerjaan dan kebaikan kalian dibalas oleh Allah SWT.
13. Sahabat masa kecilku, Anggun, Bela, Dea, Desi, Sintia, dan Yani yang telah menghibur dan mewarnai hari-hari penulis sehingga penulis semangat dalam menyelesaikan skripsi ini. Semoga persahabatan kita tetap berjalani hingga akhir hayat.
14. Teman-teman SMP Negeri 22 Bandar Lampung, Ade, Nisa, Nisya, Mulia, Feni, dan Nanda yang telah menghibur, menyemangati, dan mendukung penulis dalam menyelesaikan studi di Jurusan Kimia FMIPA Unila.
15. Teman-teman dimasa putih abu-abu, Fathia, Ume, Indah, Berliana, Fegy Dimas, Putra, Rahmat, Taqin, dan Afwan yang telah kebersamai, mendukung, dan senantiasa menyemangati penulis dalam menyelesaikan studi di Jurusan Kimia.
16. Keluarga besar Noviany Research (NRG), Kak Wulan, Kak Reni, Kak Rista, Kak Ofri, Kak Jihan, Kak Rijah, Vio, Rita, Inggit, Julia, dan Govin yang telah memberikan semangat dan bantuan kepada penulis didalam penelitian sehingga terselesaikannya skripsi ini.
17. Patner Lab Organik, Kak Armi, Kak Nindi, Kak Bayu, Kak Aidha, Kak Niko, Yuwan, Carlos, Mela, Sisil, dan Zidan yang telah membantu penulis saat mengalami kesulitan saat melakukan penelitian Laboratorium Organik Jurusan Kimia
18. Yuhmadu sangga putra yang telah menemani dan memberikan dukungan serta motivasi kepada penulis selama masa perkuliahan. Terima kasih atas waktu dan pelajaran hidup yang diberikan kepada penulis, semoga Allah selalu memberikan kebahagiaan kepadamu.
19. Teman-teman Kimia Angkatan 2020 dan Anak Kelas B yang selalu memberikan informasi didalam perkuliahan.
20. Kepada seluruh pihak yang telah membantu dan mendukung dalam menyelesaikan skripsi penulis, semoga Allah membalas semua kebaikan kalian.

21. Terakhir, teruntuk diriku yang telah berjuang sejauh ini, terimakasih karena tidak menyerah dan sudah bertahan, walaupun terkadang merasa tidak sanggup dan selalu ingin menyerah, terimakasih sudah menjadi sosok tangguh dan percaya diri, walaupun masih banyak tantangan dikemudian hari, selalu yakinkan bahwa diriku bisa menghadapi segalanya.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran 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,

Dilla Adha

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR GAMBAR.....	xvii
DAFTAR TABEL.....	xviii
I. PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan Penelitian.....	4
1.3. Manfaat Penelitian.....	4
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1. <i>Fabaceae</i>	5
2.2. Tumbuhan Turi (<i>S. grandiflora</i> (L). Poir).....	6
2.3. Sifat Farmakologis Tumbuhan Turi (<i>S. grandiflora</i>)	8
2.4. Senyawa Metabolit Sekunder dari Hasil Isolasi Turi Putih.....	8
2.5. Isolasi Senyawa	10
2.5.1. Ekstraksi.....	11
2.6. Kromatografi	12
2.6.1. Kromatografi Cair Vakum (KCV).....	12
2.6.2. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	13
2.6.3. Kromatografi Kolom (KK)	14
2.7. Karakterisasi Senyawa Murni	15
2.7.1. Spektroskopi <i>Fourier Transform Infrared Resonance</i> (FTIR)	16
2.7.2. Spektroskopi <i>Nuclear Magnetic Resonance</i> (NMR)	17
2.8. Uji Toksisitas.....	18
2.9. Metode <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT).....	19
2.10. <i>Artemia salina</i> Leach	20
2.10.1. Klasifikasi <i>A. salina</i> Leach	22
2.10.2. Penggunaan <i>A. salina</i> Leach dalam Penelitian	22
III. METODE PENELITIAN.....	23
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian	23
3.2. Alat dan Bahan.....	23
3.3. Prosedur Kerja Penelitian.....	24
3.3.1. Persiapan Sampel	24
3.3.2. Ekstraksi.....	24

3.3.3. Kromatografi Cair Vakum (KCV)	25
3.3.4. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	25
3.3.5. Kromatografi Kolom (KK)	26
3.3.6. Analisis Kemurnian	26
3.3.7. Analisis Senyawa	27
3.3.8. Uji Toksisitas Menggunakan Metode BSLT	28
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	30
4.1. Persiapan Sampel	30
4.2. Ekstraksi	30
4.3. Kromatografi Cair Vakum (KCV)	32
4.4. Kromatografi Kolom (KK).....	34
4.5. Karakterisasi dengan FTIR.....	36
4.5.1. Kristal NV44.....	36
4.5.2. Spektrum FTIR Kristal NV44.....	37
4.6. Analisis Spektrum ¹ H-NMR.....	39
4.7. Analisis Spektrum ¹³ C-NMR.....	42
4.8. Hasil Uji Toksisitas Metode BSLT	44
V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	47
5.1. Kesimpulan.....	47
5.2. Saran	47
DAFTAR PUSTAKA.....	48
LAMPIRAN.....	52
Lampiran 1. Bagan Penelitian Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder	53
Lampiran 2. Bagan Penelitian Uji Toksisitas dengan Metode BSLT	54
Lampiran 3. Determinasi Tumbuhan Turi	56
Lampiran 4. Perhitungan Uji BSLT	57
Lampiran 5. Penentuan Nilai LC ₅₀ Berdasarkan Nilai Probit.....	63

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Bagian tanaman turi putih (a) batang, (b) daun, (c) polong, dan (d) bunga.....	8
2. Struktur senyawa yang berhasil diisolasi dari akar turi	9
3. Struktur <i>S. grandiflorain</i> kulit batang turi putih	10
4. Larva udang <i>Artemia salina</i> Leach.	21
5. Hasil partisi ekstrak metanol kulit batang turi putih	31
6. Hasil KLT fraksi etil asetat	32
7. Kromatografi cair vakum fraksi etil asetat.....	32
8. KLT fraksi KCV (a) pada UV 254 nm, (b) UV 356 nm, dan (c) setelah disemprot serium sulfat	34
9. Kromatografi kolom fraksi F	35
10. Hasil KLT 5 fraksi gabungan (a) UV 254 nm dan (b) UV 366 nm	35
11. Hasil KLT senyawa NV44 (a) UV 254 nm dan (b) setelah disemprot dengan serium sulfat.....	36
12. Kristal NV44	37
13. Spektrum FTIR kristal NV44.....	37
14. Spektrum ¹ H-NMR dari kristal NV44	39
15. Spektrum ¹³ C-NMR dari kristal NV44	42
16. Prediksi struktur senyawa NV44.....	43
17. Uji BSLT dengan beberapa konsentrasi.....	45

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Urutan kenaikan kepolaran eluen pada kromatografi.....	13
2. Pergeseran kimia proton dan karbon dalam molekul organik.....	18
3. Fraksi gabungan (A-J) hasil KCV.....	33
4. Bilangan gelombang kristal NV44	38
5. Pergeseran kimia $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$ kristal NV44.....	40
6. Uji BSLT dari beberapa sampel uji.....	45

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Indonesia merupakan negara kedua di dunia yang memiliki keanekaragaman hayati yang sangat tinggi setelah Brazil. Terdapat sekitar 30.000 jenis tumbuhan yang tumbuh di bumi nusantara yang dapat digunakan untuk estetika atau keindahannya dan 3.689 di antaranya diyakini mempunyai khasiat sebagai tumbuhan obat. Pada hakikatnya penggunaan tumbuhan sebagai obat tradisional masih menjadi salah satu sumber alternatif utama yang digunakan masyarakat karena telah terbukti bahwa obat yang bersumber dari tumbuhan lebih baik bagi kesehatan, karena tidak memiliki efek samping dibandingkan dengan obat-obatan yang berasal dari bahan kimia. Dewasa ini penggunaan obat alami yang berasal dari bahan alam semakin mengalami peningkatan dengan adanya istilah *back to nature* yaitu pengobatan yang menggunakan bahan alam (Jo, 2016). Salah satu alasan penggunaan tumbuhan sebagai obat tradisional karena memiliki kemampuan dalam menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang memiliki khasiat atau manfaat dalam mengobati penyakit tertentu.

Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa kimia yang dihasilkan oleh tumbuhan untuk perlindungan dirinya terhadap lingkungan yang kurang menguntungkan seperti gangguan hama, iklim, suhu, dan penyakit pada tanaman. Secara umum senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman yaitu alkaloid, steroid, terpenoid, tanin, dan flavonoid (Harborne, 1987). Senyawa metabolit sekunder selain digunakan untuk perlindungan diri terhadap ekosistem lingkungannya, juga berguna sebagai antijamur, antibiotik, antiracun, dan sumber obat-obatan alami (Bourgaud *et al.*, 2001). Senyawa metabolit sekunder pada

tanaman umumnya memiliki sifat toksik, sehingga agar aman mengkonsumsinya harus melewati proses pengujian salah satunya uji toksisitas.

Uji toksisitas merupakan suatu pengujian dalam mengamati aktifitas farmakologi senyawa yang terjadi dalam waktu tertentu setelah pemberian atau terpapar dosis tertentu. Uji toksisitas pada ekstrak tanaman dilakukan agar mengetahui tingkat keasaman suatu ekstrak, umumnya uji toksisitas pada ekstrak tanaman menggunakan metode *Brine Shimp Lethality Test* (BSLT) (Jelita dkk., 2020). *Brine Shimp Lethality Test* (BSLT) merupakan uji pendahuluan agar mendapatkan aktivitas biologis dalam menentukan tingkat toksisitas suatu senyawa bahan alam atau ekstrak dengan menggunakan *A. salina* Leach sebagai hewan uji. Metode BSLT termasuk salah satu metode yang digunakan dalam pencarian senyawa antikanker baru yang berasal dari tanaman. Metode *Brine Shimp Lethality Test* (BSLT) mempunyai keterkaitan dengan aktivitas penyakit kanker. Apabila nilai LC_{50} pada ekstrak tanaman bersifat toksik atau sangat toksik maka dapat dikembangkan menjadi obat antikanker (Lestari dkk., 2019).

Penyakit kanker merupakan salah satu penyakit yang sangat berbahaya di dunia dan termasuk penyakit yang mengancam nyawa bagi para penderitanya. Penyakit kanker timbul akibat perkembangan tidak normal dari sel tubuh yang akan menyerang organ makhluk hidup serta tumbuh dan berkembang biak, sehingga mengakibatkan kerusakan sel tubuh hingga kematian. Data dari Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) menyatakan bahwa penyakit kanker menyebabkan kematian terbesar ke 2 di dunia, tercatat hingga tahun 2018 berjumlah 18,1 juta orang terkena penyakit ini dan 9,6 juta diantaranya meninggal dunia pada tahun yang sama. Menurut WHO diperkirakan akan meningkat lebih dari 13,1 juta kasus pada tahun 2030 (Khoiriyah dan Handayani, 2020).

Pengobatan penyakit kanker yang umumnya tidak berbahaya yaitu dengan penggunaan bahan alam. Salah satu tanaman yang dilaporkan memiliki sifat toksik sehingga dapat menjadi obat alami untuk menyembuhkan penyakit kanker adalah (*S. grandiflora* (L.) Poir). Pada ekstrak metanol daun turi putih terkandung

steroid, glikosida, tanin, terpenoid, dan alkaloid. Pada bagian kulit batang turi putih (*S. grandiflora*) berhasil diidentifikasi kandungan kimianya berupa saponin, tanin, flavonoid, fenolik, dan terpenoid. Pada senyawa turunan 2-arilbenzofuran diisolasi dari kulit batang turi putih dan terbukti pada *S. grandiflora* (D-E) memiliki keterkaitan dengan penyakit kanker, dimana pada uji toksisitas menunjukkan *S. grandiflora* D lebih tinggi aktivitasnya terhadap sel kanker WiDr, dan sel kanker MCF-7. Pada *S. grandiflora* (E) memperlihatkan aktivitas sedang terhadap sel WiDr dan sel kanker MCF-7. Berdasarkan data tersebut menyatakan bahwa senyawa turunan 2-arilbenzofuran tidak aktif terhadap sel HeLa (Tjahjandari *et al.*, 2021). Walaupun turi putih dapat menjadi alternatif alami dalam mengobati kanker, namun pemanfaatannya kurang optimal dan belum ada penelitian yang menyelidiki lebih lanjut terkait topik tersebut.

Berdasarkan uraian diatas, kulit batang turi putih (*S. grandiflora*) memiliki efek farmakologis yang sangat potensial untuk diteliti lebih lanjut, salah satunya adalah sifat toksik yang dapat menjadi obat alami dalam mengobati penyakit kanker. Bersumber dari penelitian Makalalag *et al.* (2019) berkaitan dengan isolasi dan identifikasi senyawa metabolit sekunder dari daun turi putih serta uji toksisitas menggunakan uji BSLT, dihasilkan daun turi putih terkandung senyawa metabolit sekunder seperti (Saponin dan tanin) dan bersifat toksik dengan nilai LC₅₀ sebesar 108,160 ppm. Berdasarkan latar belakang tersebut, pada penelitian ini dilakukan isolasi dan identifikasi senyawa metabolit sekunder dari fraksi etil asetat kulit batang turi putih, serta uji toksisitas ekstrak dari senyawa hasil isolasi menggunakan metode BSLT. Pada penelitian ini digunakan fraksi etil asetat karena memiliki toksisitas rendah sehingga dapat memusatkan pada senyawa target tanpa banyak interaksi dengan pelarutnya dan berdasarkan uji fitokimia diketahui bahwa fraksi ini terkandung senyawa-senyawa golongan saponin, alkaloid, fenolik, dan flavonoid (Yunarto *et al.*, 2015).

1.2. Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukan penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Mengisolasi senyawa metabolit sekunder dari fraksi etil asetat kulit batang turi putih (*S. grandiflora* (L.) Poir) dan mengidentifikasi struktur senyawa hasil isolasi dengan spektrofotometri FTIR, ¹H-NMR, dan ¹³C-NMR.
2. Mengetahui tingkat toksisitas awal ekstrak metanol, fraksi etil asetat, dan senyawa hasil isolasi dari kulit batang turi putih (*S. grandiflora* (L.) Poir) dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dengan hewan uji *A. salina* Leach.

1.3. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Memberikan informasi tentang kandungan senyawa metabolit sekunder fraksi etil asetat dari kulit batang turi putih (*S. grandiflora* (L.) Poir).
2. Memberikan informasi tentang tingkat toksisitas awal ekstrak metanol, fraksi etil asetat, dan senyawa hasil isolasi dari kulit batang turi putih (*S. grandiflora* (L.) Poir).

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Fabaceae*

Fabaceae merupakan kelompok tumbuhan berbunga yang mempunyai buah berupa polong. Famili *Fabaceae* terdiri dari tumbuh-tumbuhan, semak, pohon, atau tanaman merambat dengan beberapa memiliki duri. Famili *Fabaceae* yang dapat tumbuh di daerah dataran rendah. Famili *Fabaceae* termasuk salah satu famili terbesar ketiga yang termasuk kedalam anggota tumbuhan biji tertutup Angiospermae atau tumbuhan berbunga. Berdasarkan ciri pada bunga dan buah, ahli botani membagi famili *Fabaceae* menjadi tiga subfamili, yaitu *Papilionoideae*, *Mimosoideae*, dan *Caesalpinioideae*. *Fabaceae* tersebar di seluruh dunia dan terdiri dari 730 genus dengan 19.400 spesies. Pada lima genus terbesarnya adalah *Astragalus* (2000 spesies), *Acacia* (lebih dari 900 spesies), *Indigofera* (lebih dari 700 spesies), *Crotalaria* (600 spesies), dan *Mimosa* (500 spesies) (Jannah, 2023).

Fabaceae termasuk salah satu famili tumbuhan berbunga yang paling penting secara ekonomi. Umumnya famili *Fabaceae* dapat dijadikan sebagai bahan makanan berupa biji-bijian atau kacang-kacangan, getah, pewarna, minyak, resin (damar), pewarna, dan lebih dari 140 genus yang dibudidayakan sebagai tanaman ornamen. Sebagai bahan makanan, *Fabaceae* merupakan famili tumbuhan berbiji yang sebagai penghasil kacang-kacangan terbesar. Banyak spesies daunnya yang bisa dimakan sebagai sayuran atau lalapan. Adapun beberapa spesies dari famili *Fabaceae* yang dibudidayakan sebagai bahan makanan yaitu *Phaseolus radiatus* L. (Kacang Hijau), *Phaseolus vulgaris* L. (Buncis), *Phaseolus lunatus* L. (Kacang Kara), *Arachis hypogaea* L. (Kacang Tanah), *Glycine max* (L.) Merr. (Kedelai),

Parkia speciosa Hassk. (Petai), *Pisum sativum* L. (Ercis), *Psophocarpus tetragonolobus* DC. (Kecipir), *Vigna unguiculata* (L.) Walp. (Kacang Panjang), *Cajanus cajan* (L.) Huth. (Kacang Hiris), *S. grandiflora* (L.) Poir (Turi Putih), dan banyak spesies lainnya (Putu dkk., 2022).

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

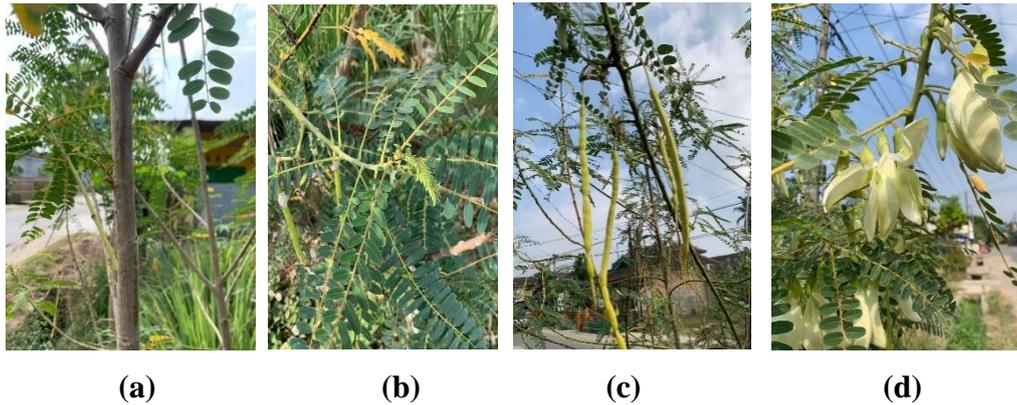
S. grandiflora (L.) Poir merupakan salah satu tumbuhan yang berasal dari Asia Selatan dan Asia Tenggara yang sekarang telah tersebar di beberapa negara seperti Malaysia, Filipina, India, dan Indonesia. Umumnya masyarakat Indonesia menyebut *S. grandiflora* dengan nama turi. Tumbuhan turi termasuk salah satu famili *Fabaceae* yang merupakan tumbuhan kacang-kacangan atau polong dimana tumbuhan ini umumnya tumbuh di pekarangan, pematang, maupun dipinggir jalan, dan banyak tumbuh dipertanian (Rohmah *et al.*, 2021).

Secara taksonomi, tumbuhan turi putih (*S. grandiflora* (L.) Poir) diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliopsida
Kelas	: Magnoliopsida.
Subkelas	: Rosidae
Ordo	: Fabales
Famili	: Fabaceae
Subfamili	: Papilionoidae
Genus	: Sesbania
Spesies	: <i>S. grandiflora</i> (L.) Poir

Tumbuhan turi (*S. grandiflora* (L.) Poir) secara morfologi digambarkan dengan pohon perdu yang memiliki tinggi kayu mencapai 1-4 meter pertahun. Berdasarkan varietasnya bunga dari tumbuhan ini, dibagi menjadi dua macam yaitu berwarna merah dan putih, yang diameternya cukup besar yaitu hingga 10 cm. Turi berbunga putih disebut dengan turi putih sedangkan turi merah disebut violet. Jenis turi merah atau violet kurang disukai karena memiliki rasa yang cukup pahit sedangkan turi putih lebih disukai karena rasanya yang enak untuk dikonsumsi. Pada bagian kulit batang tumbuhan turi abu-abu muda, cukup berkerut, serta kayunya lembut, dan biasanya kulit batang turi dijual dengan nama kayu timor. Semua spesies *S. grandiflora* (L.) Poir mempunyai daun yang menyirip majemuk dimana pada daunnya dibagi menjadi beberapa sebaran. Lebar dari daun tumbuhan turi sekitar 3 cm dan panjang daunnya mencapai 30 cm. Turi memiliki buah berupa polong yang menggantung pada bagian rantingnya, dengan lebar 7-8 mm, dan panjang 20-55 cm. Pada akarnya yang berguna untuk menyuburkan tanah karena berisi bakteri yang bisa menunggangi nitrogen, sehingga dapat mengoptimalkan tanah yang menjadi tempat tumbuhnya (Chaniago, 2019).

Tanaman turi memiliki daya adaptasi yang cukup tinggi terhadap lingkungan hidup. Turi dapat tumbuh dari daerah dataran tinggi sampai dataran rendah. Daerah yang paling optimal atau cocok untuk tanaman ini adalah dataran rendah dengan ketinggian 800 mdpl, serta mempunyai suhu udara 22-30°C. Turi putih dapat bertahan di musim kemarau yang cukup panjang hingga 9 bulan, serta mampu mengantisipasi genangan air pada banjir saat musim penghujan. *S. grandiflora* dapat tumbuh di berbagai kondisi tanah seperti pada tanah asam, tanah bergaram, tanah kurang subur, tanah basa, bahkan tumbuhan ini dapat hidup dan beradaptasi pada tanah liat atau lempung. Tanaman turi masih dapat hidup pada tingkat keasaman tanah (pH) 4,5 sehingga tidak mengherankan bahwa tanaman ini kerap dijadikan tanaman pemrakarsa atau pelopor penghijauan di lahan-lahan kritis (Rukmana dan Herdi, 2016). Adapun bagian-bagian dari tanaman turi putih sebagai berikut :



Gambar 1. Bagian tanaman turi putih (a) batang, (b) daun, (c) polong, dan (d) bunga.

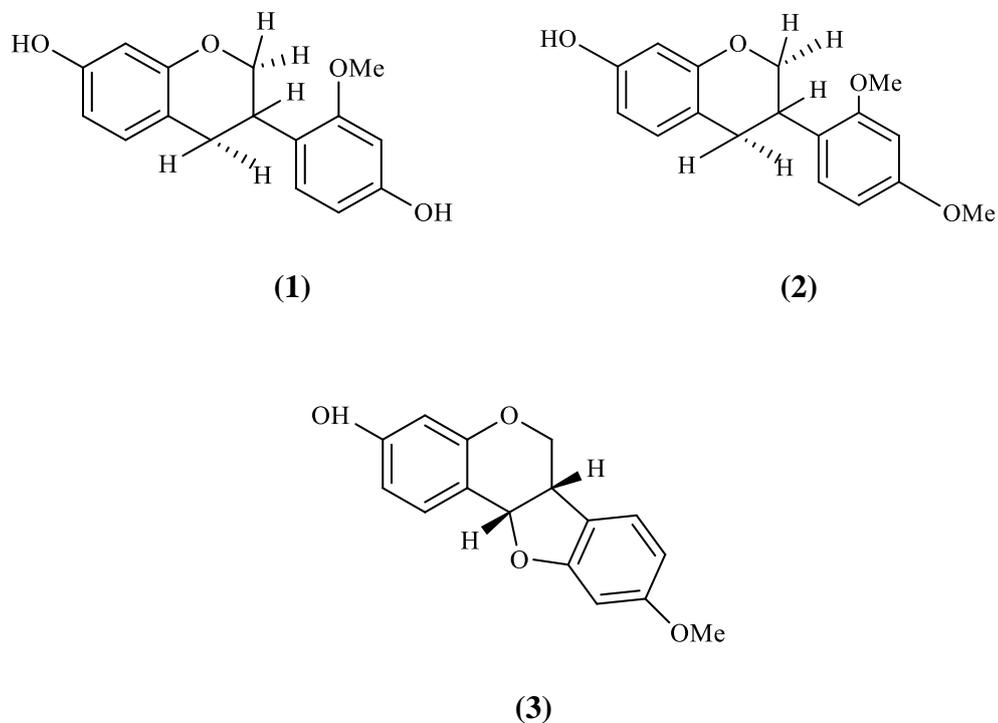
2.3. Sifat Farmakologis Tumbuhan Turi (*S. grandiflora*)

Kandungan senyawa kimia pada *S. grandiflora* berbeda-beda antara satu bagian dengan lainnya. Pada daunnya memiliki senyawa-senyawa kimia yaitu glikosida, tanin, vitamin B, vitamin A, peroksidase, dan saponin. Sedangkan pada kulit batang memiliki kandungan kimia seperti flavonoid, tanin, saponin, sulfur, kalsium oksalat, zantoagetin, egatin, dan polifenol. Beberapa khasiat dari kulit batang turi diketahui dapat menghambat pertumbuhan jamur, sariawan, disentri, radang usus, keseleo, scabies, radang tenggorokan, diare dan batuk. Bagian bunga turi digunakan mengobati asam urat, ozoena, rabun senja, demam, dan bronkitis. Bagian daun juga memiliki manfaat untuk mengobati gatal-gatal, kusta, dan penyakit epilepsi. Sedangkan akar dipakai untuk menyembuhkan peradangan karena sebagai agen antiinflamasi (Hariana, 2006).

2.4. Senyawa Metabolit Sekunder dari Hasil Isolasi Turi Putih

Beberapa jenis senyawa metabolit sekunder diantaranya yaitu senyawa fenolik, alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid yang termasuk kedalam

golongan metabolit sekunder yang sering dijumpai pada ekstrak tanaman. Senyawa metabolit sekunder pada biji turi terkandung alkaloid, steroid, flavonoid, dan kuinon. Isolasi bagian tumbuhan turi banyak diteliti belakangan ini khususnya bagian akar turi, dilaporkan bahwa hasil penelitiannya terhadap ekstrak metanol dan fraksi aseton akar turi juga berhasil diisolasi beberapa senyawa lain yang termasuk dalam golongan flavonoid dengan kerangka isoflavan seperti diperoleh tiga senyawa golongan isovestitol (**1**), sativan (**2**), dan medicarpin (**3**). Masing-masing senyawa tersebut dapat dilihat sebagai berikut :

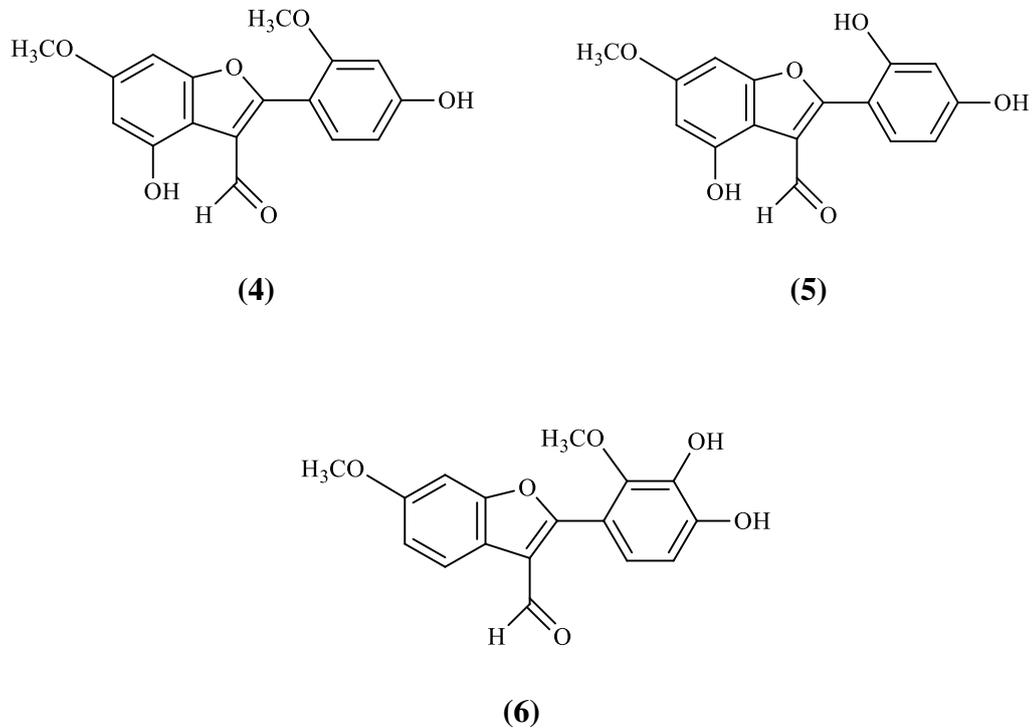


Gambar 2. Struktur senyawa yang berhasil diisolasi dari akar turi putih

(Noviany *et al.*, 2012; Hasan *et al.*, 2012).

Menurut Noviany *et al.* (2018) dilaporkan berhasil mengisolasi kulit batang tumbuhan turi pada fraksi etil asetat yaitu dihasilkan senyawa *S. grandiflorain* A (6-metoksi-2-(2',3'-dihidroksi-5'-metoksifenil)-1-benzofuran-3-karbaldehid) (4) dan *S. grandiflorain* B (6-hidroksi-2-(2',3'-dihidroksi-5'-metoksifenil)-1-benzofuran-3-karbaldehida) (5). Selain itu, senyawa yang merupakan jenis

senyawa 2-aryl benzofuran juga berhasil diisolasi dari fraksi etil asetat ekstrak kulit batang tumbuhan turi putih, yaitu *S. grandiflorain* C (6). Berikut ini struktur dari ketiga senyawa hasil isolasi sebagai berikut :



Gambar 3. Struktur *S. grandiflorain* dari kulit batang turi putih
(Noviany *et al.*, 2018).

2.5. Isolasi Senyawa

Teknik isolasi merupakan teknik untuk memisahkan senyawa aktif atau komponen tertentu pada komponen yang tidak diinginkan yang terdapat dalam suatu bahan alam dengan pelarut yang sesuai. Pada dasarnya isolasi senyawa bahan alam adalah sebuah cara memisahkan senyawa yang bercampur sehingga didapatkan senyawa yang murni. Langkah Pertama yang dilakukan dalam isolasi senyawa bahan alam yaitu ekstraksi sampel. Pada metode ekstraksi menggunakan pelarut yang terdiri dari cara dingin yaitu maserasi, dan perkolasi sedangkan cara

panas meliputi sokletasi, infus, dan digesti (Wijaya dkk., 2018). Pada isolasi bahan alam menggunakan metode maserasi. Setelah dilakukan maserasi kemudian dilakukan pemisahan senyawa bahan alam menggunakan metode kromatografi. Teknik kromatografi yang biasa dipakai untuk isolasi yaitu kromatografi lapis tipis (KLT), Kromatografi cair vakum (KCV), dan Kromatografi kolom (KK).

2.5.1. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan tidak larut dengan pelarut cair. Faktor-faktor yang mempengaruhi proses ekstraksi meliputi ukuran bahan, suhu ekstraksi, dan pelarut yang cocok (Rondang dkk., 2017). Syarat utama pelarut untuk ekstraksi senyawa organik yaitu tidak mudah terbakar dan non toksik. Pelarut untuk ekstraksi senyawa organik terbagi menjadi golongan pelarut yang punya densitas lebih rendah dari air dan pelarut yang memiliki densitas lebih tinggi dari pada air. Beberapa pelarut yang biasa digunakan untuk ekstraksi meliputi metanol, etil asetat, etanol, dan aseton (Setiasih *et al.*, 2016). Pada senyawa polar akan larut dengan baik pada fase polar dan senyawa nonpolar akan larut dengan baik pada fase nonpolar. Pada penelitian ini teknik ekstraksi yang paling sesuai untuk digunakan adalah maserasi.

Maserasi adalah penyaringan simplisia dan pengambilan senyawa aktif dari tanaman dengan cara perendaman menggunakan pelarut yang sesuai dengan sesekali pengadukan pada temperatur kamar. Maserasi merupakan salah satu contoh ekstraksi padat-cair. Pemilihan pelarut adalah salah satu hal penting dalam proses maserasi. Pelarut yang dipakai harus mampu menyaring sebagian besar senyawa metabolit sekunder yang dipakai sebagai senyawa target dalam simplisia. Proses maserasi memiliki beberapa keunggulan serta kelemahan. Adapun keunggulan dari metode maserasi diantaranya, tidak memerlukan peralatan yang rumit, hanya membutuhkan kontak lama dengan pelarut sangat ideal, tidak perlu keterampilan khusus, tidak memerlukan pemanasan sehingga senyawa tidak

mengalami kerusakan, dan dapat diterapkan pada zat tertentu yang sangat kurang larut dalam pelarut. Sedangkan untuk kelemahan dari proses maserasi diantaranya, membutuhkan banyak pelarut dan durasi waktu cukup lama (Susanty dan Bachmid, 2016).

2.6. Kromatografi

Setelah dilakukan ekstraksi selanjutnya dilakukan fraksinasi senyawa menggunakan teknik kromatografi. Teknik kromatografi merupakan teknik pemurnian dan pemisahan komponen dari campurannya yang umum. Kromatografi didasarkan pada prinsip di mana molekul-molekul dalam campuran diterapkan kedalam padatan, dan fase diam fluida (fase stabil) terpisah satu sama lain sambil bergerak dengan bantuan fase gerak. Teknik kromatografi termasuk teknik pemisahan suatu campuran yang berdasarkan pada kesetimbangan dua fase, yaitu fase diam dan fase bergerak. Fase diam merupakan lapisan cairan pelarut, sedangkan fase gerak merupakan bagian pelarut (eluen) yang berfungsi menggerakkan komponen. Teknik ini didasarkan pada perbedaan kecepatan senyawa pada eluen tertentu. Teknik kromatografi yang paling umum digunakan dalam yaitu kromatografi cair vakum (KCV), kromatografi lapis tipis (KLT), dan kromatografi kolom (KK) (Pambudi dkk., 2015).

2.6.1. Kromatografi Cair Vakum (KCV)

Kromatografi Cair Vakum (KCV) merupakan kromatografi kolom yang dipercepat menggunakan vakum. Kromatografi ini merupakan salah satu kromatografi vakum khusus yang biasanya menggunakan silika gel sebagai adsorben. Teknik KCV dilakukan dengan suatu sistem yang berkerja secara kontinu sehingga diperoleh kerapatan yang maksimum dengan menggunakan tekanan rendah untuk meningkatkan laju alir fasa gerak. Kromatografi cair vakum mempunyai prinsip dasar yaitu terjadinya pemisahan secara adsorpsi yang

dipercepat dengan bantuan pompa vakum yang menekan aliran *solvent* sehingga retensi dengan adsorben senyawa-senyawa lebih cepat. Urutan eluen pada kromatografi cair vakum harus diawali dengan eluen yang mempunyai tingkat kepolaran rendah kemudian kepolarannya ditingkatkan secara perlahan (Hostettman dkk., 1995).

Tabel 1. Urutan kepolaran eluen pada kromatografi (Gritter *et al.*, 1991).

Pelarut	Urutan Polaritas Eluen
<i>n</i> -heksana	
Sikloheksana	
Benzena	
Kloroform	
Etil asetat	
Aseton	
<i>n</i> -propanol	
Etanol	
Metanol	
Air	

2.6.2. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan kromatografi adsorpsi padat-cair. Kromatografi lapis tipis (KLT) adalah salah satu teknik yang melibatkan pendistribusian campuran dua atau lebih senyawa antara fasa diam dan fasa gerak. Fasa diam biasanya berupa lapisan tipis dari penyerapan pada plat, dan fasa gerak yaitu cairan pengembang yang bergerak naik. Uji KLT dilakukan dengan menggunakan campuran eluen dengan pelarut yang sesuai yaitu dapat berupa kombinasi antara etil asetat, *n*-heksana, dan metanol dengan presentase yang

sesuai. Monitoring dengan kromatografi ini dilakukan hingga mendapatkan komposisi eluen yang sesuai (Gritter *et al.*, 1991). Pada metode KLT, fasa diam yang digunakan yaitu adsorben padat yang dilapisi plat. Sedangkan fasa gerak yang dipakai akan bergerak menuju atas melalui fasa diam secara kapiler. Setiap sampel akan bergerak menuju atas dengan kecepatan yang berbeda sesuai dengan fasa padatnya, polaritas bahan, dan pelarut yang dipakai sehingga terjadi pemisahan (Coskun, 2016).

2.6.3. Kromatografi Kolom (KK)

Kromatografi kolom (KK) merupakan teknik pemisahan yang tergantung pada perbedaan distribusi campuran komponen antara fasa diam berupa kolom dan fasa gerak yang dibiarkan mengalir. Pada prinsipnya Kromatografi Kolom (KK) dipakai untuk memisahkan ekstrak kasar maupun halus dan untuk memisahkan campuran beberapa senyawa yang diperoleh dari isolasi. Terjadinya pemisahan disebabkan perbedaan daya serap atau partisi fase diam terhadap komponen-komponen sampel yang ingin dipisahkan yang digerakkan oleh fasa gerak (eluen). Komponen yang memiliki interaksi kuat akan keluar terakhir dalam kolom sedangkan komponen yang interaksinya lemah dengan adsorben akan keluar lebih dahulu dalam kolom. Pada kromatografi kolom, fasa diam yang digunakan berupa silika gel, selulosa, dan alumina. Fasa diam yang digunakan disebut dengan adsorben, hal ini dikarenakan dalam mekanisme pemisahan yang terjadi yaitu adsorpsi. Pada fasa diam harus dikemas atau diisi di dalam kolom, dalam pengemasan fasa diam di dalam kolom digunakan dengan metode basa dan metode kering. Fasa gerak yang digunakan dalam kromatografi kolom disebut eluen atau pelarut pengelusi. Fasa gerak yang digunakan dalam kromatografi kolom berupa eluen non polar yang akan ditingkatkan kepolarannya secara bertahap. Pada teknik ini campuran yang ingin dipisahkan diletakkan dalam bagian ujung atas kolom dan fasa gerak dibiarkan mengalir melewati fasa diam di dalam kolom yang dipengaruhi gaya gravitasi (Leba, 2017).

Pada kromatografi kolom, campuran yang akan dipisahkan yaitu berupa pita pada bagian atas kolom penyerap yang berada dalam tabung logam, tabung kaca, dan tabung plastik. Kromatografi kolom yang dilakukan pada kolom besar merupakan salah satu teknik kromatografi yang sangat baik untuk memisahkan lebih dari 1 gram sampel bahan alam atau pemisahan dalam jumlah besar. Pada fasa gerak dibiarkan mengalir melalui kolom karena adanya gaya berat didorong dengan adanya tekanan. Pita senyawa pelarut akan bergerak dengan laju yang berbeda melalui kolom, sehingga akan memisah dan dikumpulkan dalam fraksi saat keluar dari kolom (Firdaus, 2011).

2.7. Karakterisasi Senyawa Murni

Pada penelitian ini karakterisasi senyawa murni dilakukan secara spektroskopi yang memiliki tujuan agar dapat menentukan struktur dari senyawa yang berhasil diisolasi. Spektroskopi merupakan suatu metode yang melibatkan interaksi antara materi dengan radiasi elektromagnetik, materi disini dimaksud molekul-molekul senyawa organik. Spektroskopi telah berkembang melibatkan berbagai macam radiasi elektromagnetik seperti sinar X, gelombang radio, gelombang mikro, radiasi inframerah, dan partikel energetik seperti elektron-elektron dan ion-ion. Radiasi elektromagnetik merupakan gabungan dari medan magnet dan medan listrik yang merambat dan beresilasi melewati ruang dalam bentuk gelombang-gelombang dan membawa energi dari suatu tempat ke tempat lainnya (Wijaya dkk., 2019). Radiasi elektromagnetik memiliki beberapa tipe seperti *ultraviolet*, inframerah, nampak, gelombang radio, dan lain-lain (Fessenden dan Fessenden, 1982). Adapun teknik spektroskopi yang digunakan pada penelitian ini adalah spektroskopi *Fourier Transform Infrared Resonance* (IR), dan spektroskopi *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR) dengan $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$.

2.7.1. Spektroskopi *Fourier Transform Infrared Resonance* (FTIR)

Spektroskopi FTIR merupakan teknik analisis senyawa organik yang berdasarkan pada interaksi antar gelombang elektromagnetik inframerah (IR) dengan materi. Analisis spektra digunakan di daerah bilangan gelombang 400-4000 cm. Analisis spektroskopi inframerah dipakai untuk mengetahui gugus-gugus yang terbentuk dari sampel dan juga menentukan reaksi polimerisasi yang terjadi. Dasar awal analisis spektroskopi inframerah yaitu dari analisis panjang gelombang puncak-puncak karakteristik dari suatu sampel. Puncak-puncak pada panjang gelombang tersebut menunjukkan bahwa adanya gugus fungsi tertentu pada sampel, dikarenakan setiap gugus fungsi mempunyai puncak karakteristik yang spesifik untuk gugus fungsi tertentu.

Setiap gugus fungsi akan memperlihatkan puncak-puncak tetap, contohnya gugus fungsi C=O akan membentuk puncak pada panjang gelombang 1650 cm⁻¹ yaitu sebagai asam karboksilat, pada panjang gelombang 1700 cm⁻¹ sebagai keton, dan 1800 cm⁻¹ sebagai halida asam. Pada spektroskopi inframerah dapat digunakan dalam menganalisis gugus fungsi dari ekstrak tanaman, dapat dilihat pada ekstrak metanol bunga *S. grandiflora* yang dianalisis memakai spektrofotometer IR dan menunjukkan adanya gugus fungsi olefin, hidroksida, dan aromatis. Sehingga menandakan bahwa ekstrak metanol bunga *S. grandiflora* mengandung senyawa fenolik. Tjahjandarie *et al*, (2021) telah melakukan penelitian dengan isolasi senyawa flavonoid dari kulit batang turi putih menghasilkan senyawa 7,4'-Dihidroksiflavanon yang kemudian dianalisis dengan spektrofotometer IR dan dihasilkan spektrum IR senyawa 7,4'-Dihidroksiflavanon menunjukkan adanya gugus fungsi eter 1110 cm⁻¹, karbonil terkonjugasi 1715 cm⁻¹, dan gugus fungsi hidroksi 3215 cm⁻¹.

Bila molekul menyerap radiasi inframerah menyebabkan energi yang diserap mengalami kenaikan pada amplitudo getaran atom-atom yang terikat. Jadi molekul ini terletak pada keadaan vibrasi tereksitasi dimana energi yang diserap akan dibuang dalam bentuk panas apabila molekul ini kembali dalam keadaan

kasar. Sehingga tipe ikatan yang berlainan (C-H, C-C, O-H, dan lain-lain) dapat menyerap radiasi inframerah pada panjang gelombang karakteristik yang berlainan. Banyaknya energi yang diabsorpsi oleh suatu ikatan bergantung pada perubahan saat momen ikatan contohnya vibrasi atom-atom yang saling berikatan lebih besar perubahan dalam momen ikatan akan menimbulkan absorpsi sejumlah energi yang lebih besar. Pada ikatan non-polar tidak mengabsorpsi radiasi inframerah karena tidak memiliki perubahan momen ikatan apabila atom-atom beresilasi. Ikatan polar memperlihatkan absorpsi yang kuat, sedangkan ikatan non polar menunjukkan absorpsi yang lemah (Fessenden dan Fessenden, 1982).

2.7.2. Spektroskopi *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR)

Spektroskopi NMR adalah metode analisis dalam mencari struktur dari komponen bahan alam ataupun sintetik yang baru, arah reaksi kimia, dan kemurnian dari komponen. Prinsip dasar dari NMR adalah adanya serapan energi dari radiasi elektromagnetik dengan inti atom yang berputar didalam medan magnet kuat sehingga dibaca oleh detektor dan disampaikan ke rekorder dalam bentuk spektrum NMR. Spektroskopi NMR digunakan pada molekul-molekul organik karena umumnya menghasilkan atom hidrogen dalam jumlah besar dalam sebuah molekul. Spektrum ^1H -NMR mendapatkan beberapa resonansi yang memberikan molekul dari komponen yang mengandung hidrogen. Pelarut dalam pengukuran NMR umumnya tidak mengandung proton, harus inert, dan terbatas pada tetraklorida. Spektroskopi ini umumnya dipakai untuk menentukan struktur senyawa atau rumus molekul senyawa organik (Nasyanka dkk., 2020).

Spektroskopi *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR) didasarkan oleh penyerapan gelombang radio dari inti pada molekul organik, apabila saat molekul berada pada medan magnet yang sangat kuat. Pada dasarnya metode ini digunakan untuk mengidentifikasi suatu struktur senyawa organik atau rumus bangun molekul senyawa organik. Spektroskopi NMR dapat menunjukkan gambaran terkait jenis atom, jumlah, dan lingkungan atom hidrogen (^1H NMR) dan karbon (^{13}C NMR).

Pengujian spektroskopi NMR dapat dipakai untuk menentukan struktur senyawa atau rumus molekul senyawa organik dari ekstrak tanaman. Pada spektrum NMR dapat mengetahui informasi senyawa yaitu jumlah proton (integritas), pemecahan puncak (*splitting*), geseran kimia (*chemical shift*), dan jarak antar puncak (*J* kopling).

Tabel 2. Pergeseran kimia proton dan karbon dalam molekul organik (Sudjadi, 1983).

Jenis Senyawa	¹ H-NMR (ppm)	¹³ C-NMR (ppm)
Monosubtituen	2-5	25-65
Disubtituen alkana	-0.5-0.5	0-10
Siklopropil	2-3	42-70
R-CH ₂ -NR ₂	2-3	20-40
R-CH ₂ -SR ₂	2.2-3.2	50-75
R-CH ₂ -OH	4-4.6	70-85
R-CH ₂ -NO ₂	4.2-5	70-80
Nitril	4.5-7.5	100-150
Alkena	1.6-2.1	18-30
Alkuna	6-9	110-145
Aromatik	6.8-7.8	18-30

2.8. Uji Toksisitas

Toksisitas merupakan sifat relatif toksikan yang memiliki potensi negatif bagi makhluk hidup dari tingkatan organisasi biologis (sel, jaringan, organ, individu, dan populasi) sehingga dapat merusak struktur makhluk hidup. Uji toksisitas adalah pengujian dalam mengamati aktivitas farmakologi senyawa dalam waktu yang cukup singkat setelah pemberian dosis tertentu. Tujuan pengujian toksisitas

digunakan untuk menilai resiko yang ditimbulkan oleh suatu zat kimia pada sampel uji atau agar mengetahui adanya pengaruh racun yang akan didapatkan dalam dosis tertentu dari suatu campuran zat kimia pada hewan yang akan diuji (Jelita dkk., 2020). Uji toksisitas yang umumnya digunakan didalam penelitian bahan alam yaitu dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

2.9. Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Salah satu metode yang banyak digunakan dalam uji toksisitas dan termasuk suatu metode pencegahan untuk aktivitas antikanker dari bahan alam yaitu menggunakan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Uji toksisitas menggunakan metode ini ditunjukkan pada tingkat mortalitas larva udang *A. salina* yang diakibatkan oleh ekstrak uji. Metode BSLT merupakan uji praskrining pada aktivitas biologis untuk mengetahui adanya toksisitas senyawa atau ekstrak dengan menggunakan hewan percobaan, biasanya memakai larva udang *A. salina* Leach. Uji toksisitas dengan menggunakan metode BSLT memiliki beberapa keuntungan yaitu waktu uji yang cepat, peralatan sederhana (tanpa teknik aseptik), hasil ujinya dapat dipercaya, dan biaya terjangkau (Kurniawan dan Ropiqa, 2021).

Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) adalah salah satu teknik yang digunakan dalam menguji bahan-bahan yang bersifat toksik yang digunakan sebagai *biossay* pada penelitian bahan alam. Jumlah hewan uji yang mati akan dihitung setelah sehari, sebagai nilai LC_{50} . Pada LC_{50} berfokus pada total kematian hewan uji, sehingga LC_{50} tidak berfokus pada kerusakan yang terjadi pada organ tertentu, hal itu yang menyebabkan nilai LC_{50} dipakai pada uji jangka pendek. Berdasarkan LC_{50} menunjukkan konsentrasi zat toksik yang mengakibatkan terjadi kematian 50% organisme dengan konsentrasi < 1000 ppm dan tidak toksik saat nilai $LC_{50} > 1000$ ppm. Dalam menentukan potensi bioaktif dengan membandingkan nilai LC_{50} pada ekstrak sampel menggunakan ketentuan sebagai berikut:

$LC_{50} \leq 30$ ppm Sangat toksik

$31 \text{ ppm} \leq LC_{50} \leq 1000$ Toksik

$LC_{50} > 1000$ ppm Tidak toksik

(Meyer *et al.*, 1982).

Efek toksisitas dapat dianalisis dengan melihat persen kematian dari Larva *A. salina* Leach, ditentukan dengan Persamaan (1).

$$\% \text{ Larva} = \frac{\text{Jumlah larva mati}}{\text{Jumlah larva uji}} \times 100 \% \dots \dots \dots (1)$$

Apabila terdapat larva yang mati pada kontrol sehingga % kematian dapat ditentukan dengan Persamaan (2).

$$\% \text{ Kematian larva} = \frac{\text{Uji-Kontrol}}{\text{Kontrol}} \times 100 \% \dots \dots \dots (2)$$

Apabila sudah didapatkan % Mortalitas larva *A. salina* Leach, langkah selanjutnya mencari probit dengan Persamaan (3).

$$Y = ax + b \dots \dots \dots (3)$$

Keterangan:

Y = Nilai probit

x = Logaritma 10 konsentrasi uji

b = Kemiringan regresi

a = Konsentrasi regresi

2.10. *Artemia salina* Leach

Artemia salina Leach merupakan hewan uji yang banyak digunakan dalam uji aktivitas biologi terhadap ekstrak tanaman bahan alam. *A. salina* Leach termasuk organisme sejenis udang-udangan yang mempunyai ukuran kecil atau sering

disebut *brine shrimp*. Kawasan daerah yang memiliki kadar garam tinggi antara 15-300 permil, pada pH 7,3-8,4 banyak ditumbuhi larva udang ini. *A. salina* tidak memiliki kemampuan melindungi diri, salah satu cara melindungi diri dari musuhnya dengan berpindah hidup ke kondisi lingkungan berkadar garam tinggi, hal ini dilakukan karena pemangsa tidak dapat bertahan hidup di daerah tersebut (Mudjiman, 1995). *Brine shrimp* ini memiliki beberapa tingkatan hidup, yaitu telur, larva (nauplius), dan artemia dewasa. Kondisi larva *A. salina* yang paling sesuai untuk uji toksisitas ekstrak tanaman yaitu pada usia 48 jam, dimana tubuh dari larva sudah sempurna dan pada tahap ini sangat mirip dengan sel kanker manusia (McLaughlin *et al.*, 1998).

A. salina Leach dewasa mempunyai lingkaran tubuh sekitar 8-15 mm tergantung dengan lingkungan hidupnya. Hewan ini memiliki tubuh memanjang yang terdiri dari 20 segmen serta dilengkapi 10 pasang *phyllopodia* pipih, yaitu bagian tubuh yang hampir mirip dengan daun yang bergerak. *A. salina* mempunyai mulut dan pada antenanya terdapat sepasang mata. Telur *A. salina* Leach berwarna coklat dengan bentuk bulat penuh dalam keadaan basah dan bulat berlekuk dalam keadaan kering (Kanwar, 2007).



Gambar 4. Larva udang *A. Salina* Leach

2.10.1. Klasifikasi *A. salina* Leach

Klasifikasi *A. salina* Leach sebagai berikut :

Divisi : Animal
Filum : Arthropoda
Class : Crustaceae
Famili : Arthemidae
Genus : Artemia
Spesies : *Artemia salina* Leach

(Wibowo, 2013).

2.10.2. Penggunaan *A. salina* Leach dalam Penelitian

A. salina banyak digunakan sebagai hewan uji dalam penelitian karena *A. salina* termasuk hewan uji yang memiliki sensitivitas cukup tinggi terhadap senyawa toksik yang terdapat pada ekstrak suatu senyawa, proses yang cepat, dan sederhana. Penelitian Cahyadi (2019) menyebutkan bahwa larva *A. salina* memiliki kemampuan mendeteksi aktifitas racun pada suatu senyawa, dimana pada senyawa flavonoid dapat menjadi *stomach poisoning* bagi *A. salina* dikarenakan apabila senyawa flavonoid masuk ke tubuh *A. salina* maka pencernaannya akan terganggu dan menghambat reseptor perasa pada *A. salina* sehingga akan mati kelaparan. Bersumber dari penelitian Makalalag *et al.* (2019) berkaitan dengan uji toksisitas menggunakan uji BSLT dengan hewan uji *A. salina* dari daun turi putih, dihasilkan bersifat toksik dengan nilai LC_{50} sebesar 108,160 ppm. Pada penelitian usia larva *A. salina* yang digunakan yaitu 48 jam karena pada umur tersebut *A. salina* terjadi pertumbuhan yang sangat cepat atau pertumbuhan sel abnormal. Penggunaan *A. salina* Leach dalam penelitian uji toksisitas dapat dihitung dengan nilai LC_{50} yang mana kematian setelah 6 jam termasuk kategori LC_{50} akut dan setelah 24 jam digolongkan LC_{50} kronis.

III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober 2023 hingga Juni 2024 bertempat di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Analisis spektroskopi yang digunakan mencakup spektroskopi *infrared* (IR) dan spektroskopi *nuclear magnetic resonance* (NMR) dilakukan di Institut Teknologi Bandung (ITB), Jawa Barat.

3.2. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi seperangkat alat destilasi, oven, evaporator putar, pinset, neraca analitik, alat-alat gelas dengan berbagai macam, pipet tetes, spatula, satu set alat kromatografi lapis tipis (KLT), satu set alat Kromatografi Cair Vakum (KCV), satu set alat Kromatografi Kolom (KK), Lampu UV 254 nm dan 366 nm, spektrofotometer *infrared* P-21 Shimadzu, dan spektrofotometer NMR Bruker-*Avance* 500 MHz.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi kulit batang turi putih yang didapatkan dari Jalan Sultan Haji, Sepang Jaya, Kecamatan Kedaton, Bandar Lampung pada tanggal 10 Mei 2023. Kulit batang turi putih kemudian dikeringkan dan dihaluskan. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi sampel adalah metanol 100%, aseton, etil asetat, *n*-heksan, aquades, DCM, NaCl, dimetil-sulfoksida (DMSO), silika gel 60 GF₂₅₄ (35-45 Mesh), silika gel 60 merck, plat KLT, kertas saring, dan larva udang *A. salina* Leach.

3.3. Prosedur Kerja Penelitian

Pada prosedur kerja penelitian dimulai dari persiapan sampel, selanjutnya apabila sampel telah siap kemudian dilakukan tahapan ekstraksi dan fraksinasi. Apabila sampel telah terbentuk kristal selanjutnya dimurnikan dengan cara rekristalisasi. Pada sampel yang telah murni dilakukan karakterisasi untuk mengetahui golongan dari sampel. Terakhir dilakukan uji BSLT terhadap larva *A. salina* yang telah berumur 48 jam dan ditentukan nilai LC_{50} menggunakan *Microsoft Office Excel*

3.3.1. Persiapan Sampel

Determinasi tumbuhan turi purih (*S. grandiflora* (L.) Poir) dilakukan di Direktorat Pengelolaan Koleksi Ilmiah Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) Cibinong, Jawa Barat. Kulit batang turi putih dicuci bersih dengan air, lalu diiris kecil-kecil dan dikeringkan dengan cara di angin-anginkan sampai kering. Kulit batang yang sudah kering selanjutnya digiling sehingga menjadi serbuk halus.

3.3.2. Ekstraksi

Ekstraksi kulit batang turi putih dilakukan dengan metode maserasi. Serbuk halus kulit batang turi putih ditimbang sebanyak 2000 gram menggunakan pelarut metanol 1x24 jam sebanyak 3 kali pengulangan. Selanjutnya, ekstrak hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring. Kemudian, maserat dikumpulkan dan dipekatkan menggunakan rotary evaporator dengan suhu 40°C dengan kecepatan 120 rpm. Selanjutnya ekstrak pekat ditimbang untuk mengetahui berat sampel tersebut. Setelah itu, ekstrak pekat metanol dipartisi dengan pelarut etil asetat, sehingga diperoleh fraksi etil asetat dan fraksi metanol-air. Sehingga fraksi-fraksi hasil partisi selanjutnya dievaporasi untuk dihasilkan ekstrak pekat dari kulit batang turi putih.

3.3.3. Kromatografi Cair Vakum (KCV)

Ekstrak pekat hasil evaporasi selanjutnya difraksinasi melalui proses KCV dengan tujuan untuk memisahkan ekstrak sampel dalam jumlah cukup banyak. Pada penelitian ini, fasa diam yang dipakai adalah silika gel halus. Sampel dilarutkan dalam aseton dan diimpregnasi dalam silika Gel 60 GF₂₅₄. Kolom divakumkan menggunakan alat vakum dengan dipastikan silika Gel 60 Merck tersebut padat dan tidak ada rongga yang terbentuk. Eluen yang kepolarannya rendah, dimasukkan ke permukaan silika Gel 60 Merck terlebih dahulu. Kemudian divakumkan kembali dan dihisap sampai kering sehingga siap untuk digunakan. Ekstrak kasar yang telah dilarutkan dalam aseton dan diimpregnasi dimasukkan ke dalam bagian atas kolom yang telah berisi fasa diam dan dihisap secara perlahan-lahan. Setelah itu kolom dielusi dengan eluen etil asetat. Kolom dihisap dengan vakum sampai kering pada setiap penambahan eluen untuk mempercepat proses elusi. Fraksi-fraksi yang dihasilkan ditampung dan dilakukan pemantauan dengan metode KLT (Pratiwi dan Ersam, 2013).

3.3.4. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis (KLT) dilakukan untuk memonitoring fraksi-fraksi yang diperoleh dari proses Kromatografi cair vakum (KCV) dan kromatografi kolom (KK) untuk mengidentifikasi senyawa melalui pola pemisahannya. Uji KLT dilakukan menggunakan sistem campuran eluen menggunakan pelarut etil asetat, metanol, aseton, diklorometana, dan kloroform. Pada prosesnya fraksi-fraksi dari sampel turi putih di totolkan plat KLT dan dielusi menggunakan gabungan pelarut yang sesuai, digunakan sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm untuk mengidentifikasi senyawa dengan cara melihat pola pemisahan noda atau bercak pada plat KLT.

Hasil kromatogram tersebut disemprotan memakai larutan serum sulfat untuk menampakkan bercak atau noda dari komponen senyawa tersebut. Selanjutnya

setiap fraksi yang memiliki pola pemisahan dengan R_f yang sama pada kromatogram disatukan dan dipekatkan, sehingga diperoleh beberapa fraksi gabungan yang digunakan untuk fraksinasi lebih lanjut. Secara kuantitatif, KLT juga memiliki pengukuran yang dikenal sebagai nilai R_f (Retardation faktor). Nilai R_f merupakan parameter yang menyatakan posisi bercak atau noda pada fase diam setelah dielusi. Nilai R_f dapat dihitung berdasarkan persamaan (4).

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh sampel}}{\text{Jarak yang ditempuh fase gerak}} \dots\dots\dots(4)$$

(Wulandari, 2011).

3.3.5. Kromatografi Kolom (KK)

Fraksi-fraksi yang telah dihasilkan dengan jumlah yang lebih sedikit, selanjutnya dilakukan fraksinasi menggunakan teknik kromatografi kolom. Adsorben silika gel Merck (35-70 Mesh) digunakan sebagai fasa diam yang selanjutnya dilarutkan dalam pelarut yang akan digunakan dalam proses pengelusian. Slurry dari silika gel dimasukkan terlebih dahulu ke dalam kolom, fasa diam diatur hingga rapat (tidak berongga) dan rata. Selanjutnya sampel yang telah diimpregnasi dimasukkan pada silika gel ke dalam kolom yang telah berisi fasa diam. Pada saat sampel dimasukkan, kolom diusahakan tidak kering atau kehabisan pelarut karena akan mengganggu fasa diam yang telah dikemas rapat, sehingga proses elusi tidak akan terganggu (Gritter *et al.*, 1991).

3.3.6. Analisis Kemurnian

Analisis kemurnian dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT). Analisa kemurnian dengan metode KLT umumnya dengan memonitoring setiap sampel memakai beberapa campuran eluen dengan tingkat kepolarannya berbeda.

Pada senyawa akan muncul satu bercak atau noda pada kromatogram dengan menggunakan serum sulfat (Khopkar, 2002).

3.3.7. Analisis Senyawa

Metode analisis yang digunakan pada penelitian ini antara lain, spektroskopi FTIR, $^1\text{H-NMR}$, dan $^{13}\text{C-NMR}$.

a. Spektroskopi *Fourier Transform Infrared Resonance* (FTIR)

Sampel kristal yang telah diisolasi dan telah murni dianalisis menggunakan spektroskopi inframerah. Kristal yang telah murni dibebaskan dari air, selanjutnya digerus bersama dengan KBr, halida anorganik. Kristal murni yang telah digerus dengan KBr dibentuk menjadi pelet atau lempeng tipis dengan menggunakan alat penekan berkekuatan 8-10 ton persatuan luas, kemudian lempeng tipis tersebut diukur puncak serapannya. Pada spektroskopi inframerah dapat memberikan informasi sehingga dapat menunjukkan tipe-tipe adanya gugus fungsi dalam suatu molekul senyawa organik dan mengetahui mengenai struktur senyawa organik dengan membandingkan pada daerah sidik jarinnya (Dachriyanus, 2004).

b. Spektroskopi *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR)

Pada penentuan struktur senyawa hasil isolasi dari penelitian ini juga dilakukan menggunakan spektroskopi $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$. Sampel yang berupa kristal murni dilarutkan dalam pelarut inert yang tidak mengandung proton seperti CDCl_3 , CCl_4 , dan $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ selanjutnya ditambahkan sedikit senyawa acuan. Larutan ini diletakkan dalam tabung gelas tipis dengan tebal 5 mm di tengah-tengah kumparan frekuensi radio (Rf) di antara dua kutub magnet yang kuat lalu energi dari kumparan Rf ditambah secara terus-menerus. Energi pada frekuensi

terpasang dari kumparan *Rf* yang telah diserap cuplikan direkam dan akan memberikan spektrum NMR (Silverstein *et al.*, 2005).

3.3.8. Uji Toksisitas Menggunakan Metode BSLT

a. Persiapan Larva *Artemia salina* Leach

Pada percobaan ini menggunakan hewan uji yaitu larva *A. salina* Leach. Larva udang yang digunakan ditetaskan selama 2x24 jam dengan menggunakan air laut buatan, pembuatannya dengan memakai 27 gram NaCl dalam 3 L aquades. Penetasan larva udang *A. salina* dilakukan pada wadah yang berisi air laut buatan yang kemudian diberi sekat (bagian gelap dan terang). Pada wadah gelap diberi penutup sebagai tempat penetasan telur. Sedangkan pada wadah terang diletakkan cahaya lampu agar dapat menghangatkan dalam proses penetasan dan agar suhu dalam penetasan tetap terjaga sekitar 25°C-31°C. Penetasan *A. salina* menggunakan aerator dapat digunakan untuk merangsang proses penetasan dan memberikan oksigen pada larva yang akan menetas. Telur *A. salina* dicuci terlebih dahulu, yaitu dengan direndam dengan wadah yang berisi aquades selama 1 jam selanjutnya pada wadah yang berisi air laut buatan dinyalakan aerator. Tujuan dimasukan aerator kedalam wadah pada daerah gelap yaitu untuk menyuplai oksigen kepada larva *A. salina* yang baru menetas. Kemudian telur *A. salina* dimasukan kedalam air laut buatan dan dibiarkan selama 48 jam. Telur larva udang *A. salina* akan bergerak menuju arah terang sehingga larva udang akan terpisah dari kulit telur. Lalu larva *A. salina* hasil penetasan yang hidup akan dijadikan sebagai hewan uji (Harmita dan Radji, 2008).

b. Pelaksanaan Uji Toksisitas

Setelah larva *A. salina* Leach berhasil menetas dan hidup, kemudian membuat konsentrasi sampel dan kontrol. Pada ekstrak kasar MeOH, fraksi etil asetat, dan senyawa hasil isolasi dari kulit batang turi putih ditimbang sebanyak 4 mg.

Setelah itu, masing-masing dari ekstrak dilarutkan dalam DMSO sebanyak 200 $\mu\text{g/mL}$ dan dicukupkan volumenya dengan air laut buatan hingga diperoleh konsentrasi 2000 $\mu\text{g/mL}$ sebagai larutan stok. Kemudian dibuat variasi konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$, 500 $\mu\text{g/mL}$, 100 $\mu\text{g/mL}$, dan 50 $\mu\text{g/mL}$. Sebagai kontrol, dimasukkan pelarut DMSO dan aquades yang sudah disesuaikan tanpa penambahan ekstrak (Lisdawati dkk., 2006). Setelah itu, siapkan 15 ekor *A. salina* Leach yang telah berusia 2 hari (bergerak aktif) dimasukkan ke dalam vial dengan berbagai konsentrasi uji (sebelumnya diisi dengan air laut buatan sebanyak 100 $\mu\text{g/mL}$) menggunakan mikro pipet. Selanjutnya, vial diletakan dibawah lampu penerangan selama 1 hari. Setelah 1 hari, jumlah larva yang hidup dihitung dengan bantuan kaca pembesar (Lisdawati dkk., 2006).

c. Analisis Data

Uji toksisitas sampel dapat ditentukan dengan cara memperhatikan besarnya nilai dari LC_{50} yang berakibat terhadap kematian larva udang *A. salina* Leach sampai 50% dalam waktu 24 jam. Pada analisis data menggunakan metode analisis pada *Microsoft Office Excel* dengan cara membuat persamaan garis lurus yang akan menghubungkan antara nilai probit dengan nilai log konsentrasi. Uji toksisitas sampel ditentukan dengan melihat besarnya nilai dari LC_{50} yang dapat membunuh larva udang *A. salina* Leach sampai 50% populasi dan dilakukan perhitungan statistik dengan analisa probit (*probably unit*). Efek toksisitas dianalisis dari pengamatan dengan persen kematian (Nurhayati dkk., 2006).

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Adapun kesimpulan yang dihasilkan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Dihasilkan kristal NV44 berwarna putih kekuningan dengan berat massa sebesar 12,2 mg.
2. Berdasarkan pengamatan dari spektrum IR, data spektrum $^1\text{H-NMR}$, dan $^{13}\text{C-NMR}$ diduga kristal NV44 merupakan senyawa dari golongan flavonoid.
3. Dihasilkan pada uji BSLT ekstrak MeOH dan NV44 bersifat sangat toksik dengan nilai LC_{50} sebesar 21,3828 $\mu\text{g/mL}$ dan LC_{50} 16,1542 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan fraksi etil asetat bersifat toksik dengan nilai LC_{50} 39,8703 $\mu\text{g/mL}$.

5.2. Saran

Adapun saran yang diberikan, berdasarkan telah dilakukannya penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan penambahan jumlah serbuk halus kulit batang tumbuhan turi putih pada proses maserasi agar dihasilkan senyawa murni yang lebih banyak.
2. Perlu dilakukan uji bioaktivitas lebih lanjut pada kulit batang turi putih seperti uji antikanker.

DAFTAR PUSTAKA

- Atun, S. 2014. Metode Isolasi dan Identifikasi Struktur Organik Bahan Alam 1500. *JB*. 53–61.
- Bourgaud, F., Gravot, A., Milesi, S., and Gontier, E. 2001. Production of plant secondary metabolites: A historical perspective. *Plant Sci*. **161**(5) : 839–851.
- Chaniago, R. 2019. *Ragam Olahan Sayur Indigenous Khas Luwuk*. Deepublish Publisher. Sleman.
- Coskun, O. 2016. Chromatography. *Northern Clin. Istanbul*, **3**(2) : 156–160. Turki.
- Dachriyanus. 2004. *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi*. LPTIK Universitas Andalas, Sumatra Barat.
- Fatima, S., Tasnim, N., and Mahmud, G. 2014. The effect of transabdominal amnioinfusion on perinatal outcomes in preterm premature rupture of membranes. *J. SAFOG*. **6**(1) : 28–32.
- Fessenden, R. J., dan Fessenden, J. S. 1982. *Kimia Organik*. Erlangga. Jakarta.
- Gritter, R. J, Bobbic, J. N., dan Schwarting, A.E. 1991. *Penghantar Kromatografi*. ITB Press. Bandung.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia: Penentuan Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. ITB Press. Bandung.
- Hariana, A. 2006. *Tumbuhan Obat Dan Khasiatnya*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Harmita, dan Radji, M. 2008. *Buku Ajar Analisis Hayati* (3rd ed.). Kedokteran EGC. Jakarta.
- 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. *Pharm*. **5**(8) : 882–889.

- Hostettman, K., Hostettman, M., dan Marston, A. 1995. *Cara Kromatografi Preparatif Penggunaan Pada Senyawa Bahan Alam*. Alih Bahasa Kosasih Padmawinata ITB. Bandung.
- Jannah, U. M. 2023. Inventarisasi Tumbuhan Famili *Fabaceae* di Dusun Puyang. *J. Trop Mozaika*. **2**(8) : 1–6.
- Jelita, S. F., Setyowati, G. W., Ferdinand, M., Zuhrotun, A., dan Megantara, S. 2020. Uji Toksisitas *Infusa Acalypha Simensis* Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Farmaka*. **18**(1) : 14–22.
- Jo, N. 2016. Studi Tanaman Khas Sumatera Utara Yang Berkhasiat Obat. *Farmanesia*. **1**(3) : 11–21.
- Kanwar, A. S. 2007. Brine Shrimp (*Artemia Salina*) a Marine Animal for Sampel and Rapid Biological Assays. *Chin. Clin Med*. **2**(4).
- Khoiriyah, R., dan Handayani, S. 2020. Kesehatan Mental Emosional Perempuan Penderita Kanker di Indonesia. *JKMM*. **3**(2) : 164–173.
- Khopkar, S. 2002. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Universitas Indonesia Press.
- Kurniawan, H., dan Ropiqa, M. 2021. Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Ekor Kucing (*Acalypha hispida* Burm.f.) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *J. Syifa. Sci. Clin. Res*. **3**(2) : 52–62.
- Leba, M. A. U. 2017. *Buku Ajar Ekstraksi dan Real Kromatografi* (1st ed.). Deepublish Publisher. Yogyakarta
- Lestari, D., Kartika, R., dan Marlina, E. 2019. Uji Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb) Dan Uji Toksisitas Akut Fraksi Aktif. *JRKI*. **1**(1) : 1–3.
- Lisdawati, V., Wiryowidagdo, S., Broto, L., dan Kardogo, S. 2006. Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) Dari Berbagai Fraksi Ekstrak Daging Buah Dan Kulit Biji Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*). *Indones. Bull. Health Res*. **34**(3) : 111–118.
- Makalalag A. K., Sangi M, dan Kumaunang M. 2019. Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Dari Daun Turi (*Sesbania grandiflora* Pers). *UM*. 38–46.
- Mclaughlin, J. L., Rogers, L. L., Anderson, E., Lauder, E., and York, N. 1998. The Use Of Assays to Evaluate Botanicals. *Drug Inf. J*. **32**(5) : 513–524.

- 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.
- Mudjiman, A. 1995. *Makanan Ikan*. PT. Penerbit Swadaya. Jakarta
- Nasyanka, A. L., Naimah, J., dan Aulia, R. 2020. *Pengantar Fitokimia*. Qiara Media. Jawa Timur
- Noviany, N., Nurhidayat, A., Hadi, S., Suhartati, T., Aziz, M., Purwitasari, N., and Subasman, I. 2018. Sesbgrandiflorain A and B: isolation of two new 2-arylbenzofurans from the stem bark of *Sesbania grandiflora*. *Nat. Prod. Res.* **32**(21) : 2558–2564.
- Nurhayati, A. P. D., Abdulgani, N., dan Febrianto, R. 2006. Uji Toksiistas Ekstrak *Eucheuma alvarezii* terhadap *Artemia salina* Leach Studi Pendahuluan Potensi Antikanker. *Akta Kimindo.* **2**(1) : 41–46.
- Pambudi, A. S., Noriko, N., Azhari, R., dan Azura, P. R. 2015. Identifikasi Bioaktif Golongan Flavonoid Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica* L.). *J. Al-Azhar Indon. Ser. Sains Teknol.* **2**(3) : 178.
- Pratiwi, A., dan Ersam, T. 2013. Uji Kemurnian Dua Senyawa dari Ekstrak Metanol Kayu Batang *Garcinia cylindrocarpa*. *Sains Sen. Pomits.* **2**(2) : 1–4.
- Putu, O. N., Nasri A. S, dan Hamzah. 2022. *Dasar-Dasar Mengenal Pohon*. Fakultas Kehutanan Universitas Hasanuddin Press. Makassar
- Rohmah, J., Saidi, I. A., Rofidah, L., Novitasari, F., and Margareta, F. A. 2021. Phytochemical Screening of White Turi (*S. grandiflora* (L.) Pers.) Leaves Extract in Various Extraction Methods. *Medicra.* **4**(1) : 22–29.
- Rondang, T., Harry, P. L., Christika, P., dan Ester, M. 2017. Pengaruh Ukuran Partikel, Waktu, dan Suhu pada Ekstraksi Fenol dari Lengkuas Merah. *J. Tek. Kim. USU.* **5**(4) : 53–56.
- Rukmana, R., dan Herdi, Y. 2016. *Budidaya Sayuran Lokal*. Nuansa Cendekia. Bandung.
- Setiasih, I. S., Hanidah, I. I., Wira, D. W., Rialita, T., dan Sumanti, D. M. 2016. Uji Toksisitas Kubis Bunga Diolah Minimal (KBDM) Hasil Ozonasi. *J. Penelit. Pangan.* **1**(1) : 22–26.
- Silverstein, R. M., Wenster, F. X., Kiemle, D. J., and Bryce, D. L. 2005. *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. John Wilwy and Sons

Inc. New York.

Sudjadi. 1983. *Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Ghalia Indonesia. Jakarta.

Suhartati, T., dan Yandri, A.S. 2007. Sikloartobilosanton dari Kulit Batang dan Flavonoid dalam Beberapa Bagian Tumbuhan *Artocarpus dadah* yang Tumbuh di Lampung. *J. Sains MIPA*. **13**(2) : 82-86.

Susanty, S., dan Bachmid, F. 2016. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi Dan Refluks Terhadap Kadar Fenolik Dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea mays* L.). *J. Konversi*. **5**(2) : 87.

Tjahjandarie, T. N. S., Tanjung, M., Saputri, R. D., Rahayu, D. O., Gunawan, A. N. I., and Aldin, M. F. 2021. Two new 2-arylbenzofurans from *Sesbania grandiflora* L. and their cytotoxicity towards cancer cell. *Nat. Prod. Res.* **35**(24) : 5637–5642.

Wibowo, S. 2013. *Artemia*. Penebar Swadaya. Jakarta.

Wijaya, H., Novitasari, dan Jubaidah, S. 2018. Perbandingan Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Ekstrak Daun Rambui Laut (*Sonneratia caseolaris* L. Engl). *J. Ilm. Manuntung*. **4**(1) : 79–83.

Wijaya, N. H., Kartika, W., dan Utari, A. R. 2019. Deteksi Radiasi Gelombang Elektromagnetik Dari Peralatan Medis. *J. Ecotipe*. **6**(2) : 102–106.

Wulandari, L. 2011. *Kromatografi Lapis Tipis*. Taman Kampus Presindo. Jember.

Yunarto, N., Elya, B., dan Konadi, L. 2015. Potensi Fraksi Etil Asetat Ekstrak Daun Gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) sebagai Anti hiperlipidemia. *J. Kefarm. Indones.* **5**(1) : 1–10.