

**UJI TOKSISITAS EKSTRAK FRAKSINASI ETIL ASETAT
BIJI TELANG (*Clitoria ternatea* L.) DENGAN METODE *BRINE*
SHRIMP LETHALITY TEST (BSLT)**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat
Untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi (S. Farm)



Disusun Oleh :

SHILA AMELIA PUTRI

20132021

**YAYASAN AL FATHAH
PROGRAM STUDI S1 FARMASI KLINIS DAN KOMUNITAS
SEKOLAH TINGGI KESEHATAN
BENGKULU
2023-2024**

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Yang bertanda tangan di bawah ini adalah :

Nama : SHILA AMELIA PUTRI
NIM : 20132021
Program Studi : S1 FARMASI KLINIS & KOMUNITAS
Judul : Uji Toksisitas Ekstrak Fraksiensi Etil Asetat Biji Telang
(*Clitoria ternatea* L.) Dengan Metode *Brine Shrimp*
Lethality Test (BSLT)

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa SKRIPSI ini merupakan hasil karya sendiri dan sepengetahuan penulis tidak berisikan materi yang dipublikasikan atau ditulis orang lain atau dipergunakan untuk menyelesaikan studi di perguruan tinggi lain kecuali untuk bagian-bagian tertentu yang dipakai sebagai acuan.

Apabila terbukti pernyataan ini tidak benar, sepenuhnya menjadi tanggung jawab penulis.

Bengkulu, 20 Oktober 2024

Yang Membuat Pernyataan



SHILA AMELIA PUTRI

Skripsi ini Dajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Menempuh
Ujian Sarjana (S1) Farmasi Pada Sekolah Tinggi Kesehatan
Yayasan Al Fathah Bengkulu



Disetujui Oleh :

Pembimbing I

(Tri Yanaarto, M.Farm., Apt)

NIDN : 0204018602

Pembimbing II

(Betna Dewi, M.Farm., Apt)

NIDN : 0218118101

LEMBAR PENGESAHAN

LEMBAR PENGESAHAN

SKRIPSI DENGAN JUDUL

UJI TOKSISITAS EKSTRAK FRAKSINASI ETIL ASKAT BLIT TELANG
(*Clitoria ternatea* L.) DENGAN METODE *BRENE SHRIMP LETHALITY*
TEST (BSLT)

Oleh :

SHILA AMELIA PUTRI
20132021

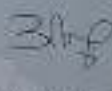
Skripsi ini telah Dipertahankan Di Hadapan Dewan Penguji
Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Menempuh Gelar Sarjana (S1) Farmasi
Di Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Bengkulu
Pada tanggal : 19 September 2024

Dewan Penguji :

Pembimbing I

Pembimbing II


(Tri Yudianto, M.Farm., Apt)
NIDN : 0204018602


(Betna Dewi, M.Farm., Apt)
NIDN : 0218118101

Penguji


(Dewi Wina Fauziah, M.Farm., Apt)
NIDN : 0205019201

HALAMAN MOTO DAN PERSEMBAHAN

MOTO :

“Jangan memberi tekanan pada diri sendiri, kamu perlu mencoba banyak hal untuk benar-benar mengetahui apa yang kamu sukai. It's okay if your process is slower than other people, like the moon and the sun, each shines at its own time”

PERSEMBAHAN

Puji syukur dihaturkan kehadirat Allah SWT atas segala berkat serta rahmat dan juga kesempatan dalam menyelesaikan tugas akhir Skripsi. Skripsi ini kupersembahkan sebagai bukti semangat usahaku serta cinta dan kasih sayangku kepada orang-orang yang sangat berharga dalam hidupku

1. Cinta pertama dan panutanku, Bapak Didiet dan pintu surgaku Ibu Sri Handayani. Terimakasih atas segala pengorbanan, kasih sayang serta ketulusan yang diberikan. Mereka memang tidak sempat merasakan pendidikan bangku perkuliahan, namun mereka mampu senantiasa memberikan yang terbaik, tak kenal lelah mendoakan serta memberikan perhatian dan dukungan hingga penulis mampu menyelesaikan studinya sampai mendapatkan gelar. Semoga Bapak dan Ibu sehat, panjang umur dan bahagia selalu.
2. Teruntuk diriku sendiri, terimakasih karena telah berjuang dan bertahan sejauh ini. Mampu mengatur waktu dan mampu mengendalikan diri dari berbagai tekanan dan tak pernah memutuskan menyerah sesulit apapun proses penyusunan Skripsi. Menyelesaikan sebaik dan semaksimal mungkin, ini merupakan pencapaian yang patut di banggakan dan diapresiasi untuk diri sendiri.
3. Kepada saudara-saudara penulis Dini Ayu Lestari dan Annisa, terimakasih sudah membantu dan memberikan semangat agar penulis dapat tumbuh menjadi versi yang lebih baik, kuat, dan hebat.
4. Pembimbing Skripsi, Bapak Tri Yanuarto, M.Farm., Apt dan Ibu Betna Dewi, M.Farm., Apt terimakasih atas bimbingan, ilmu, arahan, dukungan serta pengertian yang luar biasa yang bapak dan ibu berikan kepada penulis selama ini.

5. Penguji Skripsi Ibu Dewi Winni Fauziah, M.Farm., Apt terimakasih atas kritik dan sarannya untuk Skripsi ini.
6. Untuk teman-teman *secircle*ku. Terimakasih untuk empat tahunnya, *maybe without you my life during collage would feel so flat*. Terimakasih untuk segala kesan-kesan baik dan buruk nya *for me means a lot. Don't forget me guys, and see u at another time gurls*.
7. Teman-teman seperjuangan Angkatan pertama program studi S1 Farmasi Klinis dan Komunitas, terimakasih atas kerjasamanya dan pengalamannya selama di kampus. Semoga sukses.
8. Terakhir untuk kucing-kucingku *which is always a mood booster for me*, dengan segala tingkah laku *random* yang diluar nalar dan terkadang bikin naik darah. Terimakasih).

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur atas kehadiran Allah SWT, Tuhan yang Maha Esa karena berkat limpahan rahmat dan karunia-Nya peneliti dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Toksisitas Ekstrak Fraksinasi Etil Asetat Biji Telang (*Clitoria ternatea* L.) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)” ini tepat pada waktunya. Skripsi ini telah peneliti susun dengan semaksimal mungkin dan tidak lupa peneliti ucapkan terima kasih atas dukungan dan bantuannya kepada :

1. Bapak Tri Yanuarto, M.Farm., Apt selaku dosen pembimbing 1 yang telah tulus memberikan bimbingan dan sabar dalam memberikan arahan kepada peneliti dalam menyusun skripsi ini.
2. Ibu Betna Dewi, M.Farm., Apt selaku dosen pembimbing 2 yang telah tulus memberikan bimbingan dan sabar dalam memberikan arahan kepada peneliti dalam menyusun skripsi ini.
3. Ibu Dewi Winni Fauziah, M.Farm., Apt selaku dosen penguji.
4. Ibu Suci Dwina Darma, M.Pd selaku dosen pembimbing Akademik.
5. Bapak Drs. Djoko Triyono, Apt., MM selaku Ketua Yayasan Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Bengkulu.
6. Ibu Yuska Noviyanti, M.Farm., Apt selaku Ketua Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Bengkulu.
7. Orang tua dan saudara-saudara penulis yang selalu memberikan dorongan semangat, motivasi, saran serta do’a restu dalam penyusunan skripsi ini.

8. Para dosen dan staf karyawan Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Bengkulu yang telah memberikan ilmu pengetahuan kepada peneliti selama menempuh pendidikan di Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Bengkulu.
9. Teman-teman seperjuangan angkatan pertama S1 Farmasi Klinis dan Komunitas yang telah memberikan pengalaman baru dan motivasi.

Peneliti berharap dengan disusunnya skripsi ini dapat membantu pembaca untuk mendapat informasi terbaru tentang pemanfaatan tanaman telang terkhususnya biji tanaman telang. Peneliti sadar masih dalam proses pembelajaran, penulisan skripsi ini masih banyak kekurangan. Oleh karena itu, peneliti sangat mengharapkan adanya kritik dan saran yang bersifat positif dan dapat membangun, guna penulisan skripsi yang lebih baik di masa yang akan datang.

Demikian yang bisa peneliti sampaikan, semoga skripsi ini dapat menambah khazanah ilmu pengetahuan dan memberikan manfaat nyata untuk pembaca.

Bengkulu, September 2024

Peneliti

DAFTAR ISI

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iv
HALAMAN MOTO DAN PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
ABSTRAK	xv
BAB I.....	16
PENDAHULUAN.....	16
1.1. Latar Belakang	16
1.2. Batasan Masalah.....	18
1.3. Rumusan Masalah	19
1.4. Tujuan Penelitian.....	19
1.5. Manfaat Penelitian.....	19
1.5.1. Bagi peneliti	19
1.5.2. Bagi akademik.....	20
1.5.3. Bagi masyarakat	20
BAB II	21
TINJAUAN PUSTAKA.....	21
2.1. Kajian Teori.....	21

2.1.1	Tanaman Telang (<i>Clitoria ternatea</i> L.).....	21
2.1.2.	Biji Telang (<i>Clitoria ternatea</i> L.)	24
2.1.3.	Simplisia.....	26
2.1.4.	Ekstraksi.....	30
2.1.5.	Fraksinasi	34
2.1.6.	Skrining Fitokimia	36
2.1.7.	Toksikologi	38
2.2.	Kerangka Konsep	44
BAB III.....		45
METODE PENELITIAN		45
3.1.	Waktu dan Tempat penelitian.....	45
3.2.	Alat dan Bahan Penelitian	45
3.3.	Prosedur Kerja Penelitian	46
3.3.1.	Pembuatan Ekstrak Dari Biji Telang (<i>Clitoria ternatea</i> L.)	46
3.3.2.	Skrining Fitokimia	46
3.3.3.	Penetasan Larva Udang (<i>Artemia salina</i> Leach).....	48
3.3.4.	Pembuatan Konsentrasi Larutan Uji	48
3.3.5.	Prosedur Uji Toksisitas Dengan Metode BSLT.....	49
3.4.	Analisis Data	49
BAB IV		Error! Bookmark not defined.
HASIL DAN PEMBAHASAN		Error! Bookmark not defined.
4.1	Hasil Verifikasi Tanaman.....	Error! Bookmark not defined.

4.2	Hasil Ekstrak Biji Telang	Error! Bookmark not defined.
4.3	Hasil Skrining Fitokimia	Error! Bookmark not defined.
4.4	Hasil Uji Toksisitas BSLT (<i>Brine Shrimp Lethality Test</i>)	Error! Bookmark not defined.
BAB V.....		Error! Bookmark not defined.
KESIMPULAN DAN SARAN		Error! Bookmark not defined.
5.1	Kesimpulan.....	Error! Bookmark not defined.
5.2	Saran (Bagi Peneliti Selanjutnya).....	Error! Bookmark not defined.
DAFTAR PUSTAKA		50
LAMPIRAN.....		Error! Bookmark not defined.

DAFTAR TABEL

Tabel I Hasil Rendemen Ekstrak Etanol 96% Biji Telang.. **Error! Bookmark not defined.**

Tabel II Hasil Rendemen Ekstrak Fraksinasi Etil Asetat Biji Telang..... **Error! Bookmark not defined.**

Tabel III Hasil Uji Organoleptik Ekstrak Fraksinasi Biji Telang **Error! Bookmark not defined.**

Tabel IV Hasil Penetapan Parameter Spesifik Ekstrak **Error! Bookmark not defined.**

Tabel V Hasil Penetapan Parameter Nonspesifik Ekstrak .. **Error! Bookmark not defined.**

Tabel VI Hasil Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Fraksinasi Biji Telang..... **Error! Bookmark not defined.**

Tabel VII Kategori Toksisitas (Abriyani, *dkk.*, 2022) **Error! Bookmark not defined.**

Tabel VIII Hasil Uji Toksisitas Ekstrak Fraksinasi Biji Telang **Error! Bookmark not defined.**

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 Tanaman Telang.....	23
Gambar 2 Biji Telang (Campbell, <i>et al.</i> , 2020).....	25
Gambar 3 Larva udang <i>Artemia salina</i> L. (Surya, 2018).....	42
Gambar 4 Kerangka Konsep	44
Gambar 5 Grafik Perbandingan Log Konsentrasi dengan Nilai Probit.....	Error!
Bookmark not defined.	
Gambar 6. Verifikasi Tanaman Telang.....	Error! Bookmark not defined.
Gambar 7. Proses ekstraksi maserasi etanol 96 %	Error! Bookmark not defined.
Gambar 8. Proses ekstraksi fraksinasi etil asetat ...	Error! Bookmark not defined.
Gambar 9. Skrining Fitokimia	Error! Bookmark not defined.
Gambar 10. Penetasan larva udang	Error! Bookmark not defined.
Gambar 11. Pembuatan larutan induk.....	Error! Bookmark not defined.
Gambar 12. Pembuatan larutan konsentrasi uji.....	Error! Bookmark not defined.
Gambar 13. Jumlah larva yang mati setelah 24 jam	Error! Bookmark not defined.
defined.	
Gambar 14. Perhitungan Larutan Konsentrasi Uji	Error! Bookmark not defined.
Gambar 15. Perhitungan Persen Kematian Larva Udang	Error! Bookmark not defined.
defined.	
Gambar 16. Perhitungan Parameter Spesifik	Error! Bookmark not defined.
Gambar 17. Perhitungan Parameter Nonspesifik ...	Error! Bookmark not defined.

DAFTAR LAMPIRAN

<i>Lampiran 1.</i> Verifikasi Tanaman Telang	Error! Bookmark not defined.
<i>Lampiran 2.</i> Proses ekstraksi maserasi etanol 96 %	Error! Bookmark not defined.
<i>Lampiran 3.</i> Proses ekstraksi fraksinasi etil asetat.....	Error! Bookmark not defined.
<i>Lampiran 4.</i> Skrining Fitokimia.....	Error! Bookmark not defined.
<i>Lampiran 5.</i> Penetasan larva udang	Error! Bookmark not defined.
<i>Lampiran 6.</i> Pembuatan larutan induk	Error! Bookmark not defined.
<i>Lampiran 7.</i> Pembuatan larutan konsentrasi uji.....	Error! Bookmark not defined.
<i>Lampiran 8.</i> Jumlah larva yang mati setelah 24 jam	Error! Bookmark not defined.
<i>Lampiran 9.</i> Perhitungan Larutan Konsentrasi Uji	Error! Bookmark not defined.
<i>Lampiran 10.</i> Perhitungan Persen Kematian Larva Udang	Error! Bookmark not defined.
<i>Lampiran 11.</i> Perhitungan Nilai Probit.....	Error! Bookmark not defined.
<i>Lampiran 12.</i> Perhitungan Parameter Spesifik	Error! Bookmark not defined.
<i>Lampiran 13.</i> Perhitungan Parameter Nonspesifik	Error! Bookmark not defined.

ABSTRAK

Biji Telang (*Clitoria ternatea* L.) merupakan tumbuhan dengan biji berkeping satu dari keluarga Fabaceae yang sejak lama dikenal sebagai tanaman obat keluarga. Biji telang mengandung senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, serta steroid.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar toksisitas akut (LC_{50}) yang terkandung dalam ekstrak fraksinasi etil asetat biji telang. Metode yang digunakan adalah *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Uji ini terdiri dari 5 perlakuan konsentrasi yaitu 100 ppm, 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm, dan 800 ppm beserta kontrol negatif yang masing-masing dilakukan tiga kali pengulangan dan dilakukan pengamatan mortalitas larva setelah 48 jam.

Nilai LC_{50} didapatkan dari analisa probit. Nilai LC_{50} dari ekstrak fraksinasi etil asetat biji telang adalah 270,26 ppm. Hasil $LC_{50} < 1000$ ppm menunjukkan ekstrak fraksinasi etil asetat biji telang bersifat toksik pada pengujian *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

Kata kunci : Biji Telang (*Clitoria ternatea* L.), fraksinasi etil asetat, BSLT, LC_{50} , *Artemia salina*.

ABSTRACT

Butterfly Pea Seed (*Clitoria ternatea* L.) is a plant with monocotyledons from the Fabaceae family that has long been known as a family medicinal plant. Telang seeds contain secondary metabolite compounds such as alkaloids, flavonoids, saponins, tannins, and steroids.

The purpose of this study was to determine the level of acute toxicity (LC_{50}) contained in the ethyl acetate fractionation extract of butterfly pea seeds. The method used is the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). This test consists of 5 concentration treatments, namely 100 ppm, 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm, and 800 ppm along with negative controls, each of which was repeated three times and larvae mortality was observed after 48 hours.

The LC_{50} value was obtained from the analysis of probits. The LC_{50} value of ethyl acetate fractionation extract of telang seeds was 270.26 ppm. The results of $LC_{50} < 1000$ ppm showed that the fractionated extract of ethyl acetate of telang seeds was toxic in the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT).

Keywords : Butterfly Pea Seed (*Clitoria ternatea* L.), ethyl acetate fractionation, BSLT, LC_{50} , *Artemia salina*.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Pemanfaatan tumbuhan dalam pengobatan tradisional merupakan warisan nenek moyang kita yang mengolahnya berdasarkan resep yang diturunkan dari generasi ke generasi (Adrianta, 2021). Masyarakat lebih memilih pengobatan tradisional karena diyakini tidak menimbulkan efek samping berbahaya seperti obat kimia (Marliza, *dkk.*, 2021). Namun kenyataan, pengolahan bahan alam pada obat tradisional yang sembarangan dapat menimbulkan efek samping yang tidak diinginkan. Sangat penting untuk memastikan keamanan bahan herbal dan bahan sintetis sebelum menggunakannya sebagai obat (Adrianta, 2021). Efek farmakologis tanaman ditentukan oleh metabolit sekunder yang dikandungnya. Efektivitas suatu metabolit sekunder dari bahan alam tersebut dapat dijadikan sebagai obat herbal. Salah satu tumbuhan yang bisa digunakan untuk obat herbal yaitu tumbuhan telang.

Telang merupakan tumbuhan berkeping satu dengan batang melingkar dan permukaan berwarna hijau. Tanaman dengan famili *Fabaceae* merupakan tanaman herba yang batangnya berbentuk bulat dan terdapat bulu-bulu kecil berwarna hijau pada permukaan batangnya. Telang memiliki bunga berwarna biru keunguan dan biji berbentuk lonjong yang sering digunakan sebagai pewarna alami. Telang merupakan tanaman yang mampu menghasilkan biji cukup banyak (Cholifaturrosyida, 2022).

Biji telang mengandung berbagai metabolit sekunder yang dapat dimanfaatkan untuk berbagai keperluan khususnya dalam bidang farmasi. Biji telang diketahui mengandung senyawa metabolit sekunder seperti siklotida, asam sinamat, finotin, dan beta-sitosterol (Cholifaturrosyida, 2022). Menurut penelitian Gabriela (2018), *Clitoria ternatea* memiliki kandungan metabolit sekunder seperti alkaloid, tanin, saponin, terpenoid, dan flavonoid dalam bentuk ekstrak. Kandungan flavonoid bermanfaat sebagai anti inflamasi, anti mikrobial, anti alergi, dan antioksidan. Kandungan metabolit sekunder dapat diukur melalui pendekatan berdasarkan tingkat kepolarannya, seperti flavonoid dan fenol yang bersifat polar, tanin dan alkaloid yang bersifat semi polar, serta saponin dan terpenoid yang bersifat non-polar maka dapat dilakukan tahap uji fitokimia melalui ekstraksi fraksinasi (Putri, dkk., 2023).

Fraksinasi adalah suatu metode pemisahan dan pengklasifikasian komponen kimia suatu ekstrak berdasarkan polaritasnya (Putri, dkk., 2023). Prinsip fraksinasi adalah menggunakan dua pelarut dengan polaritas berbeda untuk mengekstrak senyawa (Octavini, 2023). Penelitian ini melakukan ekstraksi dengan menggunakan metode fraksinasi etil asetat, karena dalam penelitian Sunarti dan Peppy (2023), fraksinasi etil asetat 2,2% bersifat semi polar dapat menarik senyawa flavonoid aglikon, alkaloid, polifenol. Senyawa ini diduga memiliki aktivitas antikanker. Oleh karena itu, harus diuji terlebih dahulu pada hewan laboratorium. Penelitian ini menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

Metode yang digunakan untuk melakukan uji aktivitas toksisitas yaitu metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dengan hewan uji larva udang *Artemia*

salina. Metode BSLT digunakan untuk mengetahui nilai LC_{50} aktivitas zat fitoaktif terhadap larva udang *Artemia salina*. Keuntungan menggunakan *Artemia salina* sebagai hewan uji adalah kulitnya yang tipis sehingga memungkinkan terjadinya difusi zat-zat yang mempengaruhi metabolisme tubuh dan kulitnya mempunyai pori-pori yang besar sehingga lebih banyak menyerap zat (Abriyani, dkk., 2022). Hasil uji toksisitas menggunakan metode ini terbukti berkorelasi dengan potensi sitotoksik senyawa antikanker. Selain itu, metode ini mudah dilakukan, murah, cepat, dan sangat akurat.

Penelitian Jamilatur, dkk (2019) menyatakan bahwa ekstrak dengan etil asetat dengan nilai LC_{50} dapat membunuh sebanyak 42,5% larva *Artemia salina* dibandingkan dengan uji konsentrasi 1000 ppm dan menurut penelitian Ermi, dkk (2022) ekstraksi dengan etil asetat menunjukkan nilai LC_{50} 171,96 (toksik) dengan persentase kematian larva *Artemia salina* sebesar 48%. Berdasarkan latar belakang diatas, maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul “Uji Toksisitas Ekstrak Fraksinasi Etil Asetat Biji Telang (*Clitoria ternatea* L.) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)”.

1.2. Batasan Masalah

- a. Sampel yang digunakan adalah biji telang yang masih berwarna hijau
- b. Ekstraksi menggunakan metode fraksinasi etil asetat
- c. Skrining fitokimia dan uji parameter spesifik dan nonspesifik dari ekstrak fraksinasi etil asetat

- d. Sampel dilakukan uji toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

1.3. Rumusan Masalah

- a. Bagaimana kandungan metabolit sekunder pada ekstrak fraksinasi etil asetat biji telang (*Clitoria ternatea* L.) ?
- b. Bagaimana toksisitas ekstrak fraksinasi etil asetat biji telang (*Clitoria ternatea* L.) dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) ?

1.4. Tujuan Penelitian

- a. Untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder pada ekstrak fraksinasi etil asetat biji telang (*Clitoria ternatea* L.)
- b. Untuk mengetahui toksisitas ekstrak fraksinasi etil asetat biji telang (*Clitoria ternatea* L.) dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

1.5. Manfaat Penelitian

1.5.1. Bagi peneliti

Penelitian ini dapat membuktikan efek toksisitas dari ekstrak fraksinasi etil asetat biji telang (*Clitoria ternatea* L.) dapat memusnahkan larva udang *Artemia salina* sehingga diharapkan dapat menjadi sumber referensi bagi peneliti selanjutnya.

1.5.2. Bagi akademik

Diharapkan dengan adanya penelitian ini kedepannya dapat menjadi metode pembelajaran dalam perkuliahan.

1.5.3. Bagi masyarakat

Dari penelitian ini diharapkan masyarakat dapat mengambil informasi mengenai ekstrak fraksinasi etil asetat biji telang (*Clitoria ternatea* L.) dapat bersifat toksisitas.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kajian Teori

2.1.1 Tanaman Telang (*Clitoria ternatea* L.)

Telang (*Clitoria ternatea* L.) sesuai dengan namanya *Clitoria ternatea* L. berasal dari daerah Ternate, Maluku. Tanaman ini dapat tumbuh didaerah tropis seperti Asia sehingga penyebarannya telah sampai Amerika Selatan, Afrika, Brazil, Pasifik Utara, dan Amerika Utara. Bunga telang juga dikenal dengan berbagai nama seperti *Butterfly pea* (Inggris), bunga teleng (Jawa), dan Mazerion Hidi dari Arab (Angriani, 2019).

a. Taksonomi Tanaman Telang (*Clitoria ternatea* L.)

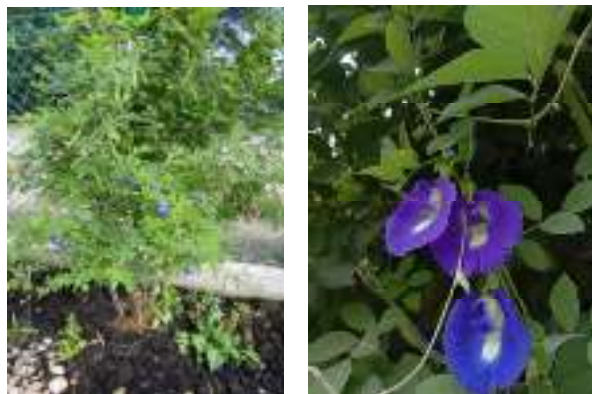
Bunga Telang memiliki taksonomi sebagai berikut (Budiasih, 2017) :

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Ordo	: <i>Fabales</i>
Famili	: <i>Fabaceae</i>
Sub Famili	: <i>Faboideae</i>
Bangsa	: <i>Cicereae</i>
Genus	: <i>Clitoria</i>
Spesies	: <i>Clitoria ternatea</i> L.

b. Morfologi Tanaman Telang (*Clitoria ternatea* L.)

Tanaman *Clitoria ternatea* yang mempunyai nama umum kembang telang merupakan tanaman berbentuk perdu tahunan yang memiliki perakaran yang dalam dan berkayu, batang agak menanjak atau tegak dan memanjat dengan tinggi antara 20-90 cm, berbulu halus. berdaun tiga, anak daun berbentuk lonjong, permukaan atas tidak berbulu dan permukaan bawah dengan bulu yang tersebar, perbungaan tandan di ketiak dengan 1-2 bunga, panjang tangkai daun hingga 4 cm, kelopak daun berwarna ungu hingga hampir putih, buah polong berbentuk memintal lonjong, tidak berbulu, berbiji 3-7, katup cembung, biji bundar hingga bulat telur, berwarna kecoklatan. Beradaptasi pada berbagai tipe kesuburan tanah (pH 5,6-8,9) tetapi lebih menyukai lahan yang subur. Tahan pada curah hujan (500-900 mm) dan tahan pada kekeringan yang lama (Sutedi, 2020).

Tumbuh baik pada kisaran suhu 19-28°C, namun mentolerir suhu rendah 15°C dan bahkan suhu dingin (di bawah 0°C) karena tanaman ini dapat tumbuh kembali dari batang atau dari dasar tanaman asalkan batang sudah keras (kayu) pada saat datang musim dingin. Tanaman ini tahan terhadap kekeringan 5-6 bulan di daerah tropis. Tanaman kembang telang merupakan tanaman leguminosa yang cepat pertumbuhannya, dapat menutupi tanah dalam waktu 30-40 hari setelah tanam dan menghasilkan biji pada umur 110-150 hari (Sutedi, 2020).



Gambar 1 Tanaman Telang

Sumber : Pinterest

c. Manfaat Tanaman Telang (*Clitoria ternatea* L.)

Tanaman telang (*Clitoria ternatea*) sudah lama dimanfaatkan sebagai obat tradisional untuk penyembuhan berbagai penyakit sehingga dijadikan salah satu tanaman obat keluarga. Bagian *Clitoria ternatea* yang umum dimanfaatkan adalah bunga dan daun. Bunga *Clitoria ternatea* dapat mengobati mata merah, mata lelah, tenggorokan, penyakit kulit, gangguan urinaria dan anti racun. Daun telang yang ditumbuk dapat mengobati luka yang bernanah sedangkan jika direbus dan dicampur dengan tumbuhan lainnya dapat mengobati keputihan (Endang, 2020).

Tumbuhan telang diketahui memiliki potensi karena kandungan metabolit sekunder yang ada di dalamnya. Secara umum, kandungan metabolit sekunder yang ada pada tumbuhan ini yaitu tanin, saponin, triterpenoid, fenol, flavonoid, flavolon glikosida, alkaloid, antarkuinon, antosianin, minyak volatil, steroid, dan glikosida kardiak. Tumbuhan ini diketahui memiliki kemampuan sebagai antidepresan, antikanker, antimikroba, mampu meningkatkan memori otak, bersifat antioksidan, antidiabetes, hipolipidemik, antihistamin, serta antiasmatik (Endang, 2020).

Dalam masyarakat Arab Saudi, daun, biji, dan bunga telang dimanfaatkan untuk mengobati penyakit liver atau hati. Di Madagaskar daun telang digunakan untuk meredakan nyeri sendi. Di Myanmar campuran jus bunga telang dan susu digunakan untuk menyembuhkan sakit mata. Sementara itu di Indonesia, khususnya masyarakat Betawi, bunga telang digunakan untuk membuat jernih mata bayi (Marpaung, 2020).

Adapun kandungan fitokimia bunga telang yaitu tanin, flobatanin, saponin, triterpenoid, karbohidrat, fenol, flavonoid, flavonol glikosida, protein, alkaloid, antrakuinon, antosianin, stigmast 4-ena-3, 6 dion, minyak volatile dan steroid. Biji bunga telang mengandung *cinnamic acid*, finotin dan beta sitosterol (Budiasih, 2017). Mahkota bunga telang mengandung flavonoid, antosianin, flavanol glikosida, kaempferol glikosida, kuersetin glikosida dan mirisetin glikosida (Endang, 2020).

2.1.2. Biji Telang (*Clitoria ternatea* L.)

Biji telang merupakan alat reproduksi bagi tumbuhan telang. Bentuk buahnya berupa polong dan bertangkai pendek dengan ukuran panjang 6-12 cm, lebar 0,7-1,2 mm dan setiap polongnya berisi 6-8 biji. Legum yang masih muda berwarna hijau dan berubah menjadi coklat kemudian hitam setelah tua (Afrianto, dkk., 2020). Tanaman telang termasuk tanaman *heavy seeder*, dimana tanaman dapat menghasilkan jumlah biji yang cukup banyak. Berdasarkan penelitian sebelumnya, tanaman telang dapat menghasilkan 6 sampai 3400 total biji per tanaman. Produksi biji yang tinggi ini menjadikan persemaian biji sebagai metode

utama perbanyak tanaman telang. Jumlah biji yang melimpah dan belum dimanfaatkan dengan baik menjadikan peneliti memilih bagian tanaman ini sebagai objek yang diamati (Campbell, *et al.*, 2020).



Gambar 2 Biji Telang (Campbell, *et al.*, 2020)

Berdasarkan Shen, *et al* (2016) biji tumbuhan telang yang diekstrak dengan menggunakan pelarut organik berupa metanol (untuk senyawa metabolit sekunder hidrofilik) dan pelarut organik berupa etil asetat dan heksana (untuk senyawa metabolit sekunder lipofilik) menunjukkan adanya metabolit sekunder yang merupakan senyawa turunan asam fenolik seperti *ascorbic acid*, *gallic acid*, *protocatechuic acid*, *epicatechin*, *caffeic acid*, *syringic acid*, *hydroxycinnamic acid derivative 1*, *p-coumaric acid*, *hydroxycinnamic acid derivative 2*, *rutin*, *ferulic acid*, *rosmarinic acid*, *cinnamic acid*, *kaempferol*, dan *apigenin* untuk senyawa metabolit sekunder hidrofilik. Sedangkan untuk senyawa metabolit sekunder lipofilik yang terdapat pada ekstrak biji telang untuk golongan asam lemak yaitu *palmitic acid*, *stearic acid*, *petroselinic acid*, *linoleic acid*, *arachidic acid*, *behenic acid*, dan *phytanic acid*. Selanjutnya golongan *phytosterol* yaitu *campesterol*,

stigmasterol, β -*sitosterol*, dan *sitostanol* sedangkan untuk golongan lainnya yaitu α -*tocopherol* dan γ -*tocopherol*.

Biji telang mengandung berbagai metabolit sekunder yang dapat dimanfaatkan untuk berbagai keperluan khususnya dalam bidang farmasi. Biji telang diketahui mengandung senyawa metabolit sekunder seperti siklotida, asam sinamat, finotin, dan beta-sitosterol (Cholifaturrosyida, 2022). Ekstrak dari biji tumbuhan telang juga diketahui memiliki aktivitas antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan *E. coli* dan *M. flavus*. Selain itu, ekstrak biji juga diketahui mampu menunjukkan aktivitas antifungal pada kapang *Aspergillus niger* dan *Aspergillus ochraceous* (Endang, 2020).

2.1.3. Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain simplisia merupakan bahan yang dikeringkan (Departemen Kesehatan RI, 1985). Cara pembuatan simplisia ada beberapa tahapan yaitu sortasi basah, perajangan, pengeringan, sortasi kering, pengepakan dan penyimpanan serta pemeriksaan mutu (Prasetyo dan Inorih, 2013).

a. Sortasi Basah

Sortasi basah dilakukan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya dari bahan simplisia. Misalnya pada simplisia yang dibuat dari akar suatu tanaman obat, bahan-bahan asing seperti tanah, kerikil, rumput, batang, daun, akar yang telah rusak, serta kotoran lain harus dibuang. Tanah mengandung

bermacam-macam mikroba dalam jumlah yang tinggi. Oleh karena itu pembersihan simplisia dari tanah yang berikut dapat mengurangi jumlah mikroba awal (Prasetyo dan Inorih, 2013).

b. Pencucian Bahan

Pencucian dilakukan untuk menghilangkan tanah dan kotoran lain yang melekat pada bahan simplisia. Pencucian dilakukan dengan air bersih misalnya dari mata air, air sumur atau air PAM. Simplisia yang mengandung zat yang mudah larut di dalam air yang mengalir, pencucian dilakukan dalam waktu yang sesingkat mungkin (Departemen Kesehatan RI, 1985). Pencucian tidak dapat membersihkan simplisia dari semua mikroba karena air pencucian yang digunakan biasanya mengandung juga jumlah jumlah mikroba (Prasetyo dan Inorih, 2013).

c. Perajangan

Beberapa jenis bahan simplisia perlu mengalami proses perajangan. Perajangan bahan simplisia dilakukan untuk mempermudah proses pengeringan, pengepakan dan penggilingan. Tanaman yang baru diambil jangan langsung dirajang tetapi dijemur lebih dalam keadaan utuh selama satu hari. Perajangan dapat dilakukan dengan pisau, dengan alat mesin perajang khusus sehingga diperoleh irisan tipis atau potongan dengan ukuran yang dikehendaki. Akan tetapi irisan yang terlalu tipis juga dapat menyebabkan berkurangnya atau hilangnya zat yang berkhasiat yang mudah menguap, sehingga mempengaruhi komposisi, bau, dan rasa yang diinginkan. Oleh karena itu bahan simplisia seperti temulawak, Temu giring, Jahe, Kencur dan bahan sejenis lainnya dihindari perajangan yang terlalu tipis untuk mencegah berkurangnya minyak atsiri (Prasetyo dan Inorih, 2013).

d. Pengerinan

Tujuan pengerinan adalah untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Dengan mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatis akan dicegah penurunan mutu atau merusak simplisia. Air yang masih tersisa dalam simplisia pada kadar tertentu merupakan media pertumbuhan kapang jasad renik lainnya. Enzim tertentu dalam sel masih dapat bekerja menguraikan senyawa aktif sesaat setelah sel mati dan selama bahan simplisia tersebut masih mengandung kadar air tertentu plastik (Prasetyo dan Inorah, 2013).

Pengerinan alamiah dapat dikelompokkan menjadi pengerinan dengan sinar matahari langsung dan sinar matahari tidak langsung, yaitu dengan menutup kain hitam diatas bahan yang akan dikeringkan. Sedangkan pengerinan buatan dapat menggunakan lemari pengering (Departemen Kesehatan RI, 1985). Hal-hal yang perlu diperhatikan selama proses pengerinan adalah suhu pengerinan, kelembaban udara, aliran udara, waktu pengerinan dan luas permukaan bahan. Pada pengerinan bahan simplisia tidak dianjurkan menggunakan alat plastik (Prasetyo dan Inorah, 2013).

e. Sortasi Kering

Sortasi setelah pengerinan sebenarnya merupakan tahap akhir pembuatan simplisia. Tujuan sortasi untuk memisahkan benda-benda asing seperti bagian-bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotoran-pengotoran lain yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering. Proses ini dilakukan sebelum simplisia dibungkus untuk kemudian disimpan (Departemen Kesehatan RI, 1985).

f. Pengepakan dan Penyimpanan

Simplisia dapat rusak, mundur atau berubah mutunya karena berbagai faktor luar dan dalam, antara lain (Departemen Kesehatan RI, 1985) :

- 1) Cahaya : sinar dari panjang gelombang tertentu dapat menimbulkan perubahan kimia pada simplisia, misalnya isomerisasi, polimerasi, rasemisasi dan sebagainya.
- 2) Oksigen udara : senyawa tertentu dalam simplisia dapat mengalami perubahan kimiawi oleh pengaruh oksigen udara terjadi oksidasi dan perubahan ini dapat berpengaruh pada bentuk simplisia, misalnya, yang semula cair dapat berubah menjadi kental atau padat, berbutir-butir dan sebagainya.
- 3) Reaksi kimia intern : perubahan kimiawi dalam simplisia yang dapat disebabkan oleh reaksi kimia intern, misalnya oleh enzim, polimerisasi, dan sebagainya
- 4) Dehidrasi : apabila kelembaban luar lebih rendah dari simplisia, maka simplisia secara perlahan-lahan akan kehilangan sebagian airnya sehingga makin lama makin mengecil (kisut).
- 5) Penyerapan air : simplisia yang higroskopik, misalnya agar-agar, bila disimpan dalam wadah terbuka akan menyerap lengas udara sehingga menjadi kempal, basah atau mencair (lumer)
- 6) Pengotoran : pengotoran pada simplisia dapat disebabkan oleh berbagai sumber, misalnya debu atau pasir, ekskresi hewan, bahan-bahan asing (misalnya minyak yang tertumpah), dan fragmen wadah (karung goni)

- 7) Serangga : serangga dapat menimbulkan kerusakan dan pengotoran pada simplisia, baik oleh bentuk ulatnya maupun oleh bentuk dewasanya. Pengotoran tidak hanya berupa kotoran serangga, tetapi juga sisa-sisa metamorfosa seperti cangkang telur, bekas kepompong, bekas kulit serangga dan sebagainya.
- 8) Kapang : bila kadar air dalam simplisia terlalu tinggi, maka simplisia dapat berkapang. Kerusakan yang timbul tidak hanya terbatas pada jaringan simplisia, tetapi juga akan merusak susunan kimia zat yang dikandung dan malahan dari kapangnya dapat mengeluarkan toksin yang dapat mengganggu kesehatan.

2.1.4. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan teknik yang digunakan dalam proses pemisahan komponen dari suatu campuran dengan menggunakan serangkaian pelarut sebagai pemisahannya. Ekstraksi adalah teknik pemisahan kimia yang memisahkan atau menghilangkan satu atau lebih komponen atau senyawa dari suatu sampel dengan menggunakan pelarut tertentu yang sesuai. Ada banyak metode ekstraksi, yang masing-masing diketahui memiliki kelebihan dan kekurangan (Hujjatusnaini, *dkk.*, 2021).

Pemilihan metode tergantung pada sifat senyawa, pelarut yang digunakan, dan alat yang tersedia. Struktur, suhu, dan tekanan setiap senyawa merupakan faktor yang harus diperhatikan pada saat ekstraksi. Ada beberapa istilah yang banyak digunakan dalam ekstraksi, antara lain ekstraktan (pelarut yang digunakan

untuk ekstraksi), rafinat (larutan senyawa atau bahan yang akan diekstraksi), dan linarut (senyawa atau zat yang diinginkan terlarut dalam rafinat) (Hujjatusnaini, *dkk.*, 2021).

Metode ekstraksi yang digunakan tergantung pada jenis, sifat fisik dan sifat kimia kandungan senyawa yang akan diekstraksi. Pelarut yang digunakan tergantung pada polaritas senyawa yang akan disari, mulai dari yang bersifat nonpolar hingga polar, sering disebut sebagai ekstraksi bertingkat. Pelarut yang digunakan dimulai dengan heksana, petroleum eter, lalu selanjutnya kloroform atau diklorometana, diikuti dengan alkohol, metanol, dan terakhir, apabila diperlukan digunakan di air (Hujjatusnaini, *dkk.*, 2021).

Semakin banyak jenis senyawa kimia dalam suatu tumbuhan yang ditemukan, makin diperlukan juga suatu metode pemisahan yang lebih mutakhir yang dapat menyari senyawa dalam jumlah kecil. Proses pemisahan merupakan langkah awal yang penting, karena keberhasilan proses berikutnya, baik untuk analisis ataupun penentuan struktur suatu senyawa hasil isolasi, sangat dipengaruhi oleh proses pemisahan (Hujjatusnaini, *dkk.*, 2021).

Metode ekstraksi didasarkan ada atau tidaknya proses pemanasan dibagi menjadi dua macam yaitu ekstraksi cara dingin cara panas. Ekstraksi cara dingin pada prinsipnya tidak memerlukan pemanasan selama proses ekstraksi berlangsung bertujuan agar senyawa yang diinginkan tidak menjadi rusak. Sedangkan ekstraksi cara panas melibatkan pemanasan selama proses ekstraksi berlangsung bertujuan agar mempercepat proses ekstraksi (Safitri, *dkk.*, 2018).

a. Ekstraksi Cara Dingin

1. Maserasi

Maserasi adalah teknik ekstraksi simplisia yang dilakukan untuk bahan atau simplisia yang tidak tahan panas dengan cara merendam di dalam pelarut tertentu selama waktu tertentu. Maserasi dikerjakan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari, cairan penyari tersebut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif tersebut akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka dari itu larutan yang terpekat didesak keluar (Hujjatusnaini, *dkk.*, 2021).

Peristiwa tersebut berulang sehingga menyebabkan terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel. Kinetik adalah cara ekstraksi, seperti maserasi yang dilakukan dengan pengadukan, sedangkan digesti adalah cara maserasi yang dilakukan pada suhu yang lebih tinggi dari suhu kamar, yaitu 40-60° C (Hujjatusnaini, *dkk.*, 2021).

2. Perkolasi

Perkolasi adalah suatu proses ketika simplisia yang sudah halus, diekstraksi dengan pelarut yang cocok dengan cara dilewatkan secara perlahan-lahan pada suatu kolom (Febriana dan Oktavia, 2019). Perkolasi merupakan ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Prinsip perkolasi yaitu menempatkan serbuk simplisia pada suatu bejana silinder, yang bagian bawahnya diberi sekat berpori. Cara ini memerlukan waktu lebih lama dan pelarut yang lebih banyak. Untuk meyakinkan perkolasi sudah

sempurna, perkolat dapat diuji adanya metabolit dengan pereaksi yang spesifik (Hujjatusnaini, *dkk.*, 2021).

b. Ekstraksi Cara Panas

Pada metode ini melibatkan pemanasan selama proses ekstraksi berlangsung. Adanya panas secara otomatis akan mempercepat proses ekstraksi dibandingkan dengan cara dingin. Beberapa jenis metode ekstraksi cara panas, yaitu:

1. Ekstraksi Refluks

Refluks merupakan metode ekstraksi yang dilakukan pada titik didih pelarut tersebut, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik, agar hasil penyarian lebih baik atau sempurna, refluks umumnya dilakukan berulang-ulang (3-6 kali) terhadap residu pertama. Cara ini memungkinkan terjadinya penguraian senyawa yang tidak tahan panas (Nirwana, 2019).

2. Ekstraksi dengan alat soxhlet

Soxhlet merupakan salah satu metode ekstraksi secara panas yang menggunakan alat khusus pada pelaksanaannya. Adanya pemanasan menyebabkan pelarut ke atas kemudian setelah di atas akan diembunkan oleh pendingin udara menjadi tetesan-tetesan yang akan terkumpul kembali dan bila melewati batas lubang pipa samping soxhlet, maka akan terjadi sirkulasi yang berulang-ulang akan menghasilkan penyarian yang baik. Dalam proses ekstraksi ini harus tepat untuk memilih pelarut yang akan digunakan. Pelarut yang baik untuk ekstraksi adalah pelarut yang mempunyai daya melarutkan yang tinggi terhadap zat yang

diekstraksi. Daya melarutkan berhubungan dengan kepolaran pelarut dan kepolaran senyawa yang diekstraksi (Yurleni, 2018).

3. Ekstraksi Destilasi Uap

Destilasi uap adalah metode yang populer untuk ekstraksi minyak-minyak menguap dari sampel tanaman. Metode destilasi uap air diperuntukkan untuk menyari simplisia yang mengandung minyak menguap atau mengandung komponen kimia yang mempunyai titik didih tinggi pada tekanan udara normal (Guenther *and* Ketaren, 1987).

2.1.5. Fraksinasi

Fraksinasi berasal dari kata *fraction* atau bagian, secara harfiah dapat diartikan sebagai mekanisme untuk memilah-milah atau memisah-misahkan suatu kumpulan atau kesatuan menjadi beberapa bagian (*fraction/part*) atau lebih mudahnya dapat dikatakan sebagai proses pembagian kelompok. Ada berbagai macam tujuan dari fraksinasi. Fraksinasi dapat ditujukan untuk mendapatkan fraksi (bagian) tertentu dari suatu ekstrak, dimana bagian itulah yang merupakan fraksi aktif, dan perlu dipisahkan dari fraksi lainnya yang kurang aktif. Tujuan lainnya adalah dalam rangka mendapatkan ekstrak yang lebih murni, sehingga perlu dihilangkan senyawa-senyawa lain yang mengotori atau mengganggu (Nugroho, 2017).

Fraksinasi diperlukan ketika akan melakukan isolasi atau pemisahan suatu senyawa metabolit sekunder tunggal. Dengan fraksinasi maka proses pemisahan senyawanya menjadi lebih mudah seperti diilustrasikan pada penjelasan di atas.

Fraksinasi dapat dilakukan dengan beberapa teknik, diantaranya adalah dengan *liquid-liquid extraction* (ekstraksi cairan-cairan) atau menggunakan kolom kromatografi dengan fase diam dan fase gerak tertentu (Nugroho, 2017).

a. Fraksinasi dengan *Liquid-Liquid Extraction*

Fraksinasi dengan *liquid-liquid extraction* adalah pemisahan sekelompok senyawa dari kumpulan senyawa dalam sebuah ekstrak yang telah dilarutkan pada suatu pelarut dengan cara menambahkan jenis pelarut lain yang memiliki polaritas berbeda dan tidak dapat bercampur antara keduanya (*immiscible*). Pada umumnya fraksinasi dengan metode ini dilakukan dengan menggunakan labu pemisah (*separating funnel*) (Nugroho, 2017).

Hadirnya dua pelarut (pelarut awal dan pelarut tambahan) yang berbeda sifat, baik polaritas maupun massa jenisnya, pada sebuah sistem dalam labu pemisah menyebabkan terbentuknya dua fase/fraksi yang terpisah pada bagian atas dan bawah. Kedua fase tersebut terbentuk setelah kedua pelarut beserta ekstrak yang ada di dalamnya dicampur dengan cara dikocok dan kemudian didiamkan selama beberapa saat. Fase bagian atas ditempati oleh pelarut yang memiliki massa jenis lebih rendah, dan fase bagian bawah ditempati oleh pelarut dengan massa jenis lebih tinggi. Senyawa-senyawa dari ekstrak tersebut akan bergerak dan terpisah dengan dua kecenderungan mengikuti kedekatan sifat dari senyawa dengan pelarutnya. Sejumlah senyawa akan bergabung bersama fase bagian atas dan ada sejumlah senyawa lainnya akan bergabung dengan fase bagian bawah (Nugroho, 2017).

Penggunaan labu pemisah memungkinkan kedua fase/fraksi tersebut dapat dipisahkan dengan mudah. Dengan demikian akan diperoleh dua fraksi yang berbeda, di mana masing-masing fraksi memiliki anggota senyawa yang berbeda jenisnya. Dengan demikian sebuah proses fraksinasi telah dilakukan. Setelah masing-masing fraksi tersebut dipisahkan maka tahap selanjutnya adalah pengentalan atau pengeringan fraksi dengan cara evaporasi menggunakan evaporator untuk memisahkan pelarut dari fraksi ekstraknya. Biasanya hasil proses evaporasi menggunakan *rotary vacuum evaporator* berupa pasta atau cairan kental. Untuk mengeringkannya dapat menggunakan *freeze dryer* sehingga akan didapatkan fraksi ekstrak berbentuk padatan (*solid*) (Nugroho, 2017).

b. Fraksinasi dengan Kolom Kromatografi

Teknik fraksinasi lainnya adalah dengan metode kromatografi kolom. Pada dasarnya, prinsip kerjanya hampir sama dengan *liquid-liquid extraction*, yang membedakan adalah media yang digunakan. Pada fraksinasi dengan kromatografi kolom, maka proses pembagian fraksinya dilakukan pada sebuah kolom dengan menggunakan prinsip-prinsip kromatografi dimana sama-sama mengaplikasikan prinsip tingkat kepolaran/polaritas, prinsip yang sama seperti pada *liquid-liquid extraction*. Pada kromatografi kolom dikenal fase gerak (*mobile phase*) dan fase diam (*stationary phase*) (Nugroho, 2017).

2.1.6. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan dengan menggunakan pereaksi pendeteksi golongan pada plat tetes atau tabung reaksi. Skrining fitokimia ini dilakukan untuk

mengetahui kandungan kimia yang terdapat dalam sampel (Abriyani, *dkk.*, 2022).

Uji fitokimia yang dilakukan dengan berbagai uji, yakni :

a. Uji Kandungan Alkaloid

Uji alkaloid dapat dilakukan dengan berbagai pilihan reagen, seperti reagen Mayer, Bouchardat dan Dragendorff. Reagen Mayer yaitu kalium tetraiodomerkurat (II), Reagen Dragendorff yaitu campuran antara bismuth subnitrate keadaan asam dan kalium iodida membentuk Bismuth-Kalium Iodida, sedangkan reagen Bouchardat yaitu Iodium-Kalium Iodida. Pada penelitian ini digunakan reagen Mayer dan Bouchardat. Pada uji alkaloid dengan reagen Mayer, nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion kalium (K^+) dari kalium tetraiodomerkurat(II) membentuk kompleks Kalium-alkaloid yang mengendap. Hasil positif mengandung alkaloid ditandai dengan adanya endapan putih atau keruh. Uji alkaloid menggunakan reagen Bouchardat, reaksi yang terjadi relatif mirip dengan reaksi pada reagen Mayer. Keduanya, sama-sama menghasilkan endapan garam kompleks. Berbeda dengan reagen Mayer, Reagen Bouchardat akan membentuk endapan berwarna jingga coklat apabila positif mengandung alkaloid (Prasetyo, *dkk.*, 2021).

b. Uji Kandungan Flavonoid

Prosedur pada penelitian ini menggunakan reagen Mg dan HCl atau dapat juga digunakan Zn dan HCl. Hasil positif ditunjukkan dengan munculnya warna merah pekat. Warna tersebut merupakan reaksi logam Mg dengan flavonoid membentuk kompleks (Prasetyo, *dkk.*, 2021).

c. Uji Kandungan Saponin

Pengujian saponin dilakukan dengan pengocokan dalam tabung reaksi kepada ekstrak yang diberikan pelarut etanol sebanyak 5 mL. Hasil positif akan terbentuk busa yang persisten pada larutan ekstrak yang dikocok (Prasetyo, *dkk.*, 2021).

d. Uji Kandungan Fenol

Pengujian fenol dapat dilakukan dengan mencampurkan ekstrak alkoholik bersama reagen 1% FeCl_3 . Indikasi adanya fenol akan ditandai dengan warna hijau, ungu, biru atau hitam (Prasetyo, *dkk.*, 2021).

e. Uji Kandungan Triterpenoid

Kandungan positif adanya senyawa triterpenoid menunjukkan hasil warna coklat atau warna kuning keemasan ketika menggunakan reagen Salkowski. Reagen tersebut terdiri dari kloroform dan asam sulfat yang dicampurkan (Prasetyo, *dkk.*, 2021).

2.1.7. Toksikologi

Toksikologi juga didefinisikan sebagai ilmu yang mempelajari efek toksik *xenobiotic* (materi asing). Toksikologi industri merupakan salah satu cabang ilmu toksikologi yang diterapkan di industri, sebagai istilah yang banyak digunakan oleh negara-negara yang memperoleh pengetahuan dari Amerika. Ahli lainnya menyebutnya sebagai *occupational toxicology* atau toksikologi di tempat kerja (istilah ini umumnya digunakan oleh negara-negara yang memperoleh pengetahuan dari Inggris) (Kurniawidjaja, *dkk.*, 2021).

Toksikologi merupakan salah satu cabang ilmu pengetahuan yang amat luas penerapannya dalam kehidupan sehari-hari dan di tempat kerja. Toksikologi juga merupakan ilmu yang cukup pesat perkembangannya hingga melahirkan beberapa cabang ilmu toksikologi berdasarkan ilmu dan aplikasinya. Toksikologi mencakup multidisiplin sebagaimana ilmu kedokteran yang meliputi bidang-bidang terkait. Dasar toksikologi adalah biologi, kimia, farmakologi, fisiologi, imunologi, dan patologi (Kurniawidjaja, *dkk.*, 2021).

Toksikologi berperan dalam berbagai bidang kehidupan, antara lain dalam industri makanan, yaitu penggunaan zat aditif makanan; dalam dunia pertanian, yaitu penggunaan pestisida; dan dalam industri kimia, yaitu berkaitan dengan pelarut dan komponen lain dalam proses produksi suatu bahan kimia. Toksikologi digunakan untuk mengkaji perilaku bahan kimia dan dampak negatif yang ditimbulkannya, baik terhadap manusia maupun lingkungan (Kurniawidjaja, *dkk.*, 2021).

Terdapat berbagai definisi tentang toksikologi, salah satunya adalah '*the study of the potential of substances to cause harm to a biological system*' atau 'ilmu yang mempelajari potensi bahaya suatu bahan pada sistem biologis' (Williams and Burson, 1989). Definisi tersebut menunjukkan bahwa secara keilmuan toksikologi mempelajari potensi bahaya suatu bahan (tidak hanya bahan kimia) dan efeknya terhadap sistem biologis. Tujuan toksikologi adalah mengenal dan mengkaji mekanisme efek toksik bahan kimia terhadap makhluk hidup agar manusia dapat menggunakan dan hidup berdampingan dengan toksikan tanpa menimbulkan efek yang merugikan seperti gangguan kesehatan atau rusaknya lingkungan hidup

(Kurniawidjaja, *dkk.*, 2021). Uji toksisitas secara kuantitatif dapat ditinjau dari lamanya waktu, yang dapat diklasifikasikan menjadi toksisitas akut, sub akut, dan kronis.

A. Toksisitas Akut

Toksisitas akut terjadi langsung setelah terpapar baik dalam hitungan detik, menit, jam, ataupun hari. Paparan akut biasanya berupa dosis tunggal atau serangkaian dosis yang diterima dalam periode waktu 24 jam (Kurniawidjaja, *dkk.*, 2021).

B. Toksisitas Subkronik

Toksisitas subkronik terjadi dari paparan berulang selama beberapa minggu atau bulan. Paparan ini dapat dilihat umumnya untuk beberapa obat-obatan dan agen lingkungan (Kurniawidjaja, *dkk.*, 2021).

C. Toksisitas Kronis

Toksisitas kronis merupakan kerusakan kumulatif pada sistem organ tertentu dan membutuhkan waktu berbulan-bulan atau bertahun-tahun untuk menjadi penyakit yang dapat dikenali. Dengan eksposur berulang atau eksposur jangka panjang secara terus menerus, kerusakannya menumpuk sampai kerusakan melebihi ambang batas toksisitas kronis. Akhirnya, kerusakan menjadi sangat parah sehingga organ tidak dapat lagi berfungsi secara normal dan berbagai efek kronis dapat terjadi (Kurniawidjaja, *dkk.*, 2021).

a. *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) adalah salah satu metode untuk mengetahui ketoksikan suatu ekstrak maupun senyawa bahan alam menggunakan

hewan uji berupa larva udang *Artemia salina* L. Metode ini merupakan tahap awal yang dijadikan sebagai patokan untuk mengetahui apakah senyawa tersebut berpotensi atau tidak sebagai antikanker. Metode ini telah digunakan sejak 1956 untuk berbagai pengamatan bioaktivitas antara lain untuk mengetahui residu pestisida, anestetik lokal, senyawa turunan morfin, mikotoksin, karsinogenesis suatu senyawa (Meyer, 1982).

Uji toksisitas dengan metode BSLT ini merupakan uji toksisitas akut dengan efek yang terjadi segera setelah terpapar dalam waktu relatif singkat, yaitu rentang waktu selama 24 jam setelah pemberian dosis uji. Prosedur untuk menentukan toksisitas suatu senyawa terhadap larva *Artemia salina* L yaitu dengan melihat nilai LC_{50} . Jika harga $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/ml}$, maka ekstrak tersebut toksik. Namun, jika harga $LC_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$, maka ekstrak tersebut tidak bersifat toksik (Temarwut, dkk., 2019).

b. Larva Udang (*Artemia salina* L.)

Salah satu organisme yang cocok untuk menentukan bioaktivitas suatu senyawa melalui uji toksisitas adalah larva udang jenis *Artemia salina* L (udang laut). Udang air asin merupakan spesies akuatik yang menyerupai udang purba. *Artemia salina* L pertama kali ditemukan di Leamington, Inggris, pada tahun 1755. *Artemia* dapat ditemukan di danau air asin di seluruh dunia, namun tidak di lautan. Telur *Artemia salina* berbentuk bulat, melengkung saat kering, dan bulat saat basah. Warnanya coklat dan ditutupi cangkang yang tebal dan tahan lama. Cangkangnya membantu melindungi embrio dari kekeringan (Surya, 2018).

Larva udang memiliki klasifikasi sebagai berikut (Surya, 2018) :

Kingdom : *Animalia*
Phylum : *Arthropoda*
Kelas : *Crustacea*
Subkelas : *Branchiopoda*
Ordo : *Anostraca*
Family : *Artemiidae*
Genus : *Artemia*
Spesies : *Artemia salina* L.



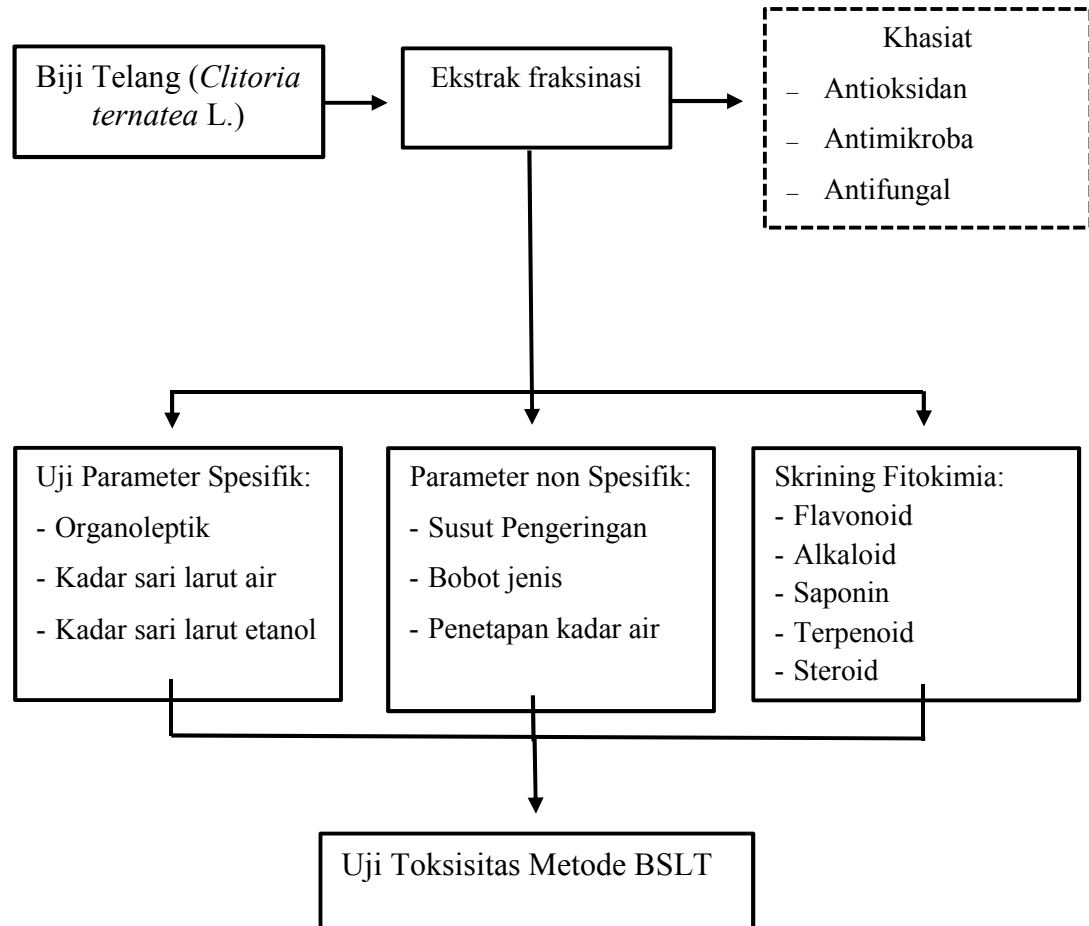
Gambar 3 Larva udang *Artemia salina* L. (Surya, 2018)

Telur *Artemia salina* dapat menyerap kelembaban bila terkena sinar matahari atau berada pada suhu 26-28°C, menetas setelah 24-48 jam, tergantung lingkungan. *Artemia salina* yang baru menetas disebut nauplius (larva) dan berukuran 0,25 mm (0,01 inci). *Artemia salina* diperdagangkan dalam bentuk telur dorman yang disebut kista. Kista ini dapat dilihat dengan mata telanjang sebagai bintik kecil berwarna coklat keabu-abuan dengan diameter sekitar 300 mikron.

Artemia salina mengalami pubertas selama 8-14 hari dan akan hidup selama 4-5 minggu tergantung pada konsentrasi garam, terlalu banyak garam maka harapan hidup akan berkurang (Surya, 2018).

Hewan ini dapat tumbuh dan berkembang di air asin. Untuk membuat air laut buatan dapat dengan melarutkan 30 gram garam tanpa yodium dalam 1 liter air. Penambahan garam dengan yodium pada media budidaya akan menyebabkan terganggunya perkembangan larva udang. *Artemia salina* betina dapat bertelur kurang lebih 300 ekor setiap 4 hari. *Artemia salina* memakan bubuk alga atau ragi (Surya, 2018).

2.2. Kerangka Konsep



Keterangan: (Diteliti)
 (Tidak diteliti)

Gambar 4 Kerangka Konsep

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Sekolah Tinggi Kesehatan (STIKES) Al-Fatah Kota Bengkulu pada bulan Januari sampai bulan April 2024.

3.2. Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah timbangan analitik (Shimadzu®), blender (Philips®), toples kaca, alat gelas kaca (pyrex®), corong pisah (pyrex®), batang pengaduk, kertas saring, aquarium, aerator, lampu (Philips®), lakban hitam, pipet tetes, *Vacum Rotary Evaporator* (biobase®), botol vial, piknometer (pyrex®) penangas air.

3.2.2. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak biji telang (*Clitoria ternatea*), Etil asetat, etanol 96%, aquades, Asam sulfat (H₂SO₄), Reagen Mayer, Asam klorida (HCl), Besi(III) klorida (FeCl₃), kloroform, magnesium, ammonia, metanol, garam non-yodium, larva udang *Artemia salina*.

3.3. Prosedur Kerja Penelitian

3.3.1. Pembuatan Ekstrak Dari Biji Telang (*Clitoria ternatea* L.)

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode ekstraksi maserasi. Sampel serbuk biji telang seberat 1 Kg diekstrak dengan 2.5 L etanol 96% dimaserasi dan didiamkan selama 24 jam. Proses ekstraksi dilakukan pengulangan sebanyak 2 kali. Maserat dipisahkan menggunakan kertas saring, lalu diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 60°C untuk mendapatkan ekstrak biji telang (Amini, dkk., 2020).

Proses selanjutnya dilakukan fraksinasi dengan cara ekstrak kasar etanol biji telang (*Clitoria ternatea*) disuspensikan dengan aquades dan ditambahkan pelarut etil asetat (semi polar) 1:1:1 (v/v/v) dalam corong pisah, homogenkan dan biarkan selama 10-15 menit. Fraksi yang dihasilkan diuapkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 60°C, kemudian sisa larutan dalam sampel diuapkan menggunakan penangas air hingga diperoleh fraksi kental etil asetat (Putri, dkk., 2023). Ekstrak kental yang dihasilkan dari fraksinasi etil asetat kemudian ditimbang dan dihitung rendemennya (Apriani, dkk., 2022).

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat Simplisia}} \times 100 \%$$

3.3.2. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan dengan menggunakan reagen uji pada tabung reaksi atau plat tetes. Uji fitokimia ini dilakukan untuk mengetahui kandungan

kimia dalam sampel yang diuji (Abriyani, *dkk.*, 2022). Uji fitokimia yang dilakukan dengan berbagai uji, yakni :

a. Uji Kandungan Alkaloid

Ekstrak sampel sebanyak 1 ml dimasukkan kedalam masing masing tabung reaksi, kemudian dimasukkan 2 tetes pada masing masing tabung dengan pereaksi dragendroff dan pereaksi mayer dan ditambahkan 12 tetes H_2SO_4 . Apa bila terbentuk endapan warna merah jingga pada pereaksi dragendroff dan warna putih atau kuning pada pereaksi mayer maka positif mengandung alkaloid (Lisa, *dkk.*, 2022).

b. Uji Kandungan Flavonoid

Sebanyak 1 ml ekstrak yang di ambil dan di masukan kedalam tabung reaksi. Ditambahkan pada sampel berupa serbuk magnesium 2 mg dan di berikan 3 tetes HCl pekat. Sampel dikocok dan di amatiperubahan yang akan terjadi, terbentuknya warna merah, atau jingga pada larutan yang menunjukkan adanya flavonoid (Lisa, *dkk.*, 2022).

c. Uji Kandungan Saponin

Sebanyak 1 ml Ekstrak diambil dan ditambahkan 5 ml aquadest panas, kemudian di kocok kuat selama 10 menit, hasil positif di tunjukkan dengan bentuknya buih yang stabil selama kurang lebih 7 menit ketika di tambahkan HCl 2 N, menunjukkan adanya saponin (Lisa, *dkk.*, 2022).

d. Uji Kandungan Tanin

Sebanyak 1 ml ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, di tambahkan dengan 10 tetes FeCl_3 10% .ekstrak positif mengandung tanin apabila menghasilkan warna hijau kehitaman atau biru kehitaman (Lisa, *dkk.*, 2022).

e. Uji Kandungan Triterpenoid dan Steroid

Sampel dihaluskan lalu diekstraksi dengan asam asetat glasial. Ekstrak yang dihasilkan ditempatkan dalam dua tabung reaksi dan ditambahkan asam sulfat pada masing-masing tabung reaksi. Terbentuknya warna hijau atau biru kehijauan menunjukkan adanya steroid. Jika terdapat warna merah atau ungu, hal ini menandakan adanya triterpenoid (Abriyani, *dkk.*, 2022).

3.3.3. Penetasan Larva Udang (*Artemia salina* Leach)

Larva *Artemia* yang akan ditetaskan diletakan dalam wadah yang dibagi menjadi dua bagian. Kemudian ditambahkan 1 L air laut buatan yang telah disaring dengan kertas saring. Satu sisi aquarium ditutupi dengan lakban hitam sedangkan sisi lainnya dibiarkan terbuka. Ditambahkan $\pm 50\text{mg}$ telur udang *Artemia salina* dan biarkan di bawah lampu selama 48 jam hingga telur menetas (Rohmah, *dkk.*, 2019).

3.3.4. Pembuatan Konsentrasi Larutan Uji

Larutan induk dibuat dengan melarutkan sampel sebanyak 1 g ke dalam 1000 mL air laut buatan. Untuk sampel yang sukar larut, tambahkan 5-10 mL dimetil sulfoksida (DMSO) 0,1% atau Tween 80. Kemudian, 1, 2, 4, 6, dan 8 mL larutan stok dipipet hingga diperoleh konsentrasi 100, 200, 400, 600, dan 800 ppm.

Masing-masing konsentrasi dan kontrol diulang sebanyak tiga kali (Rohmah, *dkk.*, 2019).

3.3.5. Prosedur Uji Toksisitas Dengan Metode BSLT

Pengenceran larutan uji dibuat dengan konsentrasi 100 ppm, 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm, dan 800 ppm dibuat dari larutan stok dengan konsentrasi 1000 ppm. Sebanyak 10 ekor larva udang ditempatkan dalam botol vial uji. Air laut kemudian ditambahkan ke setiap botol uji dan setiap konsentrasi diulang empat kali. Sampel kontrol dilakukan dengan perlakuan yang sama tanpa menambahkan larutan sampel ke dalam tabung reaksi. Setelah 24 jam dilakukan pengamatan dengan menghitung jumlah larva yang masih hidup dan yang mati (Rohmah, *dkk.*, 2019). Kemudian dilakukan perhitungan % mortalitasnya menggunakan persamaan berikut:

$$\% \text{ mortalitas} = \frac{\text{Rata-rata larva mati}}{\text{Jumlah Larva Uji}} \times 100$$

3.4. Analisis Data

Data yang dikumpulkan adalah data primer yang didapatkan dari jumlah larva udang yang mati 24 jam setelah perlakuan pada tiap-tiap konsentrasi ekstrak fraksinasi etil asetat biji telang (*Clitoria ternatea* L.). Data hasil penelitian dari uji toksisitas akan dianalisis dengan analisis probit menggunakan *Microsoft Excel* untuk menentukan nilai LC_{50} , serta disajikan dalam bentuk tabel dan diagram/grafik.

DAFTAR PUSTAKA

- Abriyani, E., Yuniarsih, N., Fikayuniar, L., Sulastrri, D., Farmasi, F., Buana, U., Karawang, P., & Karawang, I. (2022). Skrining Fitokimia Ekstrak Daun *Clitoria ternatea* L Dan Uji Toksisitas Terhadap Larva Udang *Artemia Salina*. In *Skrining Fitokimia Ekstrak ... Journal of Pharmacopolium* (Vol. 5, Issue 2).
- Adrianta, K. A. (2021). *Phytochemical Identification of Magenta Leaf Extract (Peristrophe Bivalvis (L.) Merr) and Acute Toxicity Test on Male White Mice with LD50 Determination*. *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 7(2), 136–141.
- Afrianto, W. F., Tamnge, F., & Hasanah, N. L. (2020). Review : *A relation between ethnobotany and bioprospecting of edible flower Butterfly Pea (Clitoria ternatea) in Indonesia*. *Asian Journal of Ethnobiology*, 3(November), 51–61.
- Amini, A., Hamdin, C. D., Muliasari, H., & Subaidah, W. A. (2020). Efektivitas Formula Krim Tabir Surya Berbahan Aktif Ekstrak Etanol Biji Wali (*Brucea javanica* L. Merr). *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 10(1), 50–58.
- Angriani, L. (2019). Potensi Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria Ternatea*) Sebagai Pewarna Alami Lokal Pada Berbagai Industri Pangan (*The Potential Of Extract Butterfly Pea Flower (Clitoria ternatea L.) as a Local Natural Dye for Various Food Industry*). *Canrea Journal*, 2(1).
- Apriani, I., Susanti, R., & Purwanti, N. U. (2022). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Melinjo (*Gnetum Gnemon* L.) Terhadap Tikus Putih Betina (*Rattus Norvegicus* L.) Galur Wistar. *Jurnal Kesehatan Khatulistiwa*, 8(2), 8.
- Budiasih, K. S. (2017). Potensi Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) Sebagai Antifungi *Candida albicans* , *Malassezia furfur* , *Pitosporum*. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 1(2), 30–36.
- Campbell, S. M., Pearson, B. J., & Marble, S. C. (2020). *Substrate Type and Temperature on Germination Parameters of Butterfly Pea*. 0610(June).
- Cholifaturrosyida, A. (2022). Analisis Potensi Antigastritis Asam Fenolik Biji Telang (*Clitoria Ternatea* L.) Secara In Silico. *Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang*.
- Departemen Kesehatan RI. (1985). *Cara Pembuatan Simplisia*. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan.

- Departemen Kesehatan RI. (2000). Parameter Standar Umum Ekstrak Tanaman Obat. In *Departemen Kesehatan RI* (Vol. 1, pp. 10–11). Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan.
- Dewatisari, W. F., Rumiyan, L., & Rakhmawati, I. (2018). Rendemen dan Skrining Fitokimia pada Ekstrak Daun *Sansevieria* sp. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 17(3), 197–202.
- Endang, C. P. (2020). Kembang telang (*Clitoria ternatea* L.): pemanfaatan dan bioaktivitas. *EduMatSains*, 4(2), 111–124.
- Febriana, F., & Oktavia, A. I. (2019). Perbedaan Kadar Flavonoid Total Dari Ekstrak Daun Kejibeling (*Strobilanthus crispus* L. Blume) Hasil Metode Maserasi Dan Perkolasi. *Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang*, 1–8.
- Guenther, E., & Ketaren, S. (Penerjemah). (1987). Minyak Atsiri. In D. oleh R. S. K. dan R. & Mulyono (Eds.), *Jakarta, UI Press*.
- Hujjatusnaini, N., Indah, B., Afriti, E., Widyastuti, R., & Ardiansyah. (2021). *Buku Referensi Ekstraksi*. Insitut Agama Islam Negeri Palangkaraya.
- Kurniawidjaja, M., Lestari, F., Tejamaya, M., & Ramdhan, D. H. (2021). Konsep Dasar Toksikologi Industri. In *Fkm Ui*.
- Lestari, D., Kartika, R., Marlina, E., Studi, P. S., & Jurusan, K. (2019). Uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine Bulbosa* (Mill.) Urb) Dan Uji Toksisitas Akut Fraksi Aktif. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 1(1).
- Lisa Potti, Amelia Niwele, & Arni Mardiana Souliisa. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Buah Pepaya (*Carica Papaya* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dengan Menggunakan Metode Difusi Sumuran. *Jurnal Rumpun Ilmu Kesehatan*, 2(1), 109–121.
- Marliza, H., & Oktaviani, D. (2021). Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol Daun Kemumu (*Colacasia Gigantea Hook.F*) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Bencoolen Journal of Pharmacy*, 1(1), 38–45.
- Marliza, H., Oktaviani, D., Analis, A., Putra, K., & Batam, J. (2021). Program Studi S1 Farmasi Universitas Bengkulu Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol Daun Kemumu (*Colacasia gigantea Hook.f*) Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). In *Bencoolen Journal of Pharmacy* (Vol. 2021, Issue 1).
- Marpaung, A. M. (2020). Tinjauan manfaat bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) bagi kesehatan manusia. *Journal of Functional Food and Nutraceutical*, 1(2), 63–85.

- Marpaung, M. P., & Septiyani, A. (2020). Penentuan Parameter Spesifik Dan Nonspesifik Ekstrak Kental. *Journal of Pharmacopolium*, 3(2), 58–67.
- Nirwana, P. C. (2019). *Studi O-Metilasi Pada Sintesis Senyawa 1-Metoksi Naftalen Dengan Variasi Jumlah Mol Dimetil Karbonat (Dmc) Dan Variasi Waktu Refluks Berbasis Green Chemistry*. Dmc, 6–7.
- Nugroho, A. (2017). Buku Ajar: Teknologi Bahan Alam. In *Lambung Mangkurat University Press* (Issue November).
- Octavini, S. dan P. (2023). Efek Antidiabetes Fraksi N-Heksana, Etil Asetat, Dan Air Dari Bunga Telang (*Clitoria Ternatea* L.) Pada Tikus Jantan yang Diinduksi *Streptozotocin-Nikotinamid*. *Jurusan Farmasi, Fakultas Kesehatan, Universitas Harapan Bangsa*.
- Prasetyo, B., Ma'arif, A. S., Pratiwi, D. W., Udaibah, W., & Abidin, Z. (2021). Skrining Fitokimia Dan Analisis Gc-Ms Dari Ekstrak Batang Punica Granatum (Studi Ayat Mengenai Delima Dan Qs. Ali Imran [3]: 191). *Prosiding Konferensi Integrasi Interkoneksi Islam Dan Sains*, 3, 127–137.
- Prasetyo, & Inorah, E. (2013). *Pengelolaan Tanaman Obat Bahan Simplisia*. Badan Penerbit Fakultas Pertanian UNIB.
- Putri, F. E., Diharmi, A., & Karnila, R. (2023). Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Pada Rumput Laut Coklat (*Sargassum plagyophyllum*) Dengan Metode Fraksinasi. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pertanian Indonesia*, 15(1), 40–46.
- Ramdhini, R. N. (2023). Standardisasi Mutu Simplisia Dan Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.). *Jurnal Kesehatan: Jurnal Ilmiah Multi Sciences*, 13(1), 32–38.
- Rohmah, J., Setiyo Rini, C., & Eka Wulandari, F. (2019). Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Selada Merah (*Lactuca sativa* var. Crispa) Pada Berbagai Pelarut Ekstraksi Dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test). In *Jurnal Kimia Riset* (Vol. 4, Issue 1).
- Rohmawati Bareta, A., Linirin Widiastuti, E., & Nuning Nurcahyani, D. (2023). Uji Sitotoksitas Taurin Dan Ekstrak Etanol Makroalga Cokelat Dengan Metode Bslt (Brine Shrimp Lethality Test) [Cytotoxicity Test Of Taurine And Brown Macroalgae Ethanol Extract Using Bslt (Brine Shrimp Lethality Test) Method]. *Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati. Universitas Lampung*.
- Safitri, I., Nuria, M. C., & Puspitasari, A. D. (2018). Perbandingan Kadar Flavonoid Dan Fenolik Total Ekstrak Metanol Daun Beluntas (*Pluchea Indica* L.) Pada Berbagai Metode Ekstraksi. *Jurnal Inovasi Teknik Kimia*, 3(1).
- Shen, Y., Du, L., Zeng, H., Zhang, X., Prinyawiatkul, W., Alonso-Marengo, J. R.,

- & Xu, Z. (2016). *Butterfly pea (Clitoria ternatea) seed and petal extracts decreased HEP-2 carcinoma cell viability. International Journal of Food Science and Technology, 51(8), 1860–1868.*
- Surya, A. (2018). Toksisitas Eksrtak Metanol Kulit Jengkol (*Pithecellobium Jiringa*) Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* Terhadap Larva Udang (*Artemia Salina*). *Jurnal Rekayasa Sistem Industri, 3(2), 149–153.*
- Sutedi, E. (2020). *Potency Of Clitoria Ternatea As Forage For Livestock. Indonesian Bulletin of Animal and Veterinary Sciences, 23(2), 51–62.*
- Temarwut, F. F., Duppa, M. T., Syamsuddin, S., Maryam, & Riskah. (2019). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Air Daun Binahong (*Androdera cordifolia*(Ten.)Steenis) Terhadap Larva Udang (*Artemia salina*) Dengan Metode *Brine Shrimp Lethally Test* (BSLT). *FitoMedicine: Journal Pharmacy and Sciences, 10(2), 36–44.*
- Ulya, K. H., Listyani, T. A., & Wardani, T. S. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi N-Heksan, Fraksi Etil Asetat Dan Fraksi Air Biji Pepaya (*Carica Papaya* L.) Terhadap Bakteri *Salmonella typhi* ATCC 13311. *Jurnal Jamu Kusuma, 2(2), 89–95.*
- Yurleni. (2018). Penggunaan Beberapa Metode Ekstraksi Pada Rimpang Curcuma Untuk Memperoleh Komponen Aktif Secara Kualitatif. *Faculty of Animal Science, Jambi University. Jambi Indonesia., 11.*

L

A

M

P

I

R

A

N

