

**UJI TOKSISITAS EKSTRAK ETANOL DAUN LEMPIPI (*Pergularia  
brunoniana* Wight & Arn) DENGAN METODE BSLT (*Brine Shrimp  
Leathality Test*)**

**SKRIPSI**

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat  
Untuk mencapai gelar sarjana farmasi ( S.Farm )



DISUSUN OLEH :

**UTARI OKTARINA**  
**NIM : 20132027**

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

## PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Yang bertanda tangan di bawah ini adalah :

Nama : Utari Oktarina

NIM : 20132027

Program Studi : S1 Farmasi Klinis dan Komunitas

Judul : Uji Toksisitas ekstrak etanol daun lempipi (*Pergularia brunoniana Wight&Arn*) dengan metode bslt (*Brine Shrimp Leathality Teest.*).

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, Oktober 2024  
Yang Membuat Pernyataan

  
  
Utari Oktarina

**LEMBAR PENGESAHAN**

**SKRIPSI DENGAN JUDUL**

**UJI TOKSISTAS EKSTRAK ETANOL DAUN LEMPIPI (*Pergularia  
brunoniana* Wight&Arn) DENGAN METODE BSLT (*Brine Shrimp Leathality  
Test.*)**

Oleh :

**UTARI OKTARINA**

**20132027**

**Skripsi Ini Telah Dipertahankan Di Hadapan Dewan Penguji Sebagai Salah  
Satu Syarat Untuk Menempuh Ujian Sarjana (S1) Farmasi  
Di Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Bengkulu.  
Pada tanggal : 20 September 2024**

**Dewan Penguji:**

**Pembimbing I**



**(Nurwani Purnama Aji, M.Farm., Apt)**

**NIDN : 0208028801**

**Pembimbing II**



**(Luky Dharmavanti, M.Farm., Apt)**

**NIDN : 0211018504**

**Penguji**



**(Yuska Novivanty, M.Farm., Apt)**

**NIDN : 0212118201**

## **MOTTO**

**“Jalani hari ini dengan baik tanpa mencemaskan hari  
berikutnya”**

**“Tidak perlu membandingkan prosesmu dengan proses orang  
lain”**

**“Setiap orang memiliki garis *start* yang berbeda”**

**“Masa depan adalah milik mereka yang menyiapkan hari ini”**

**“Waktumu terbatas jadi jangan sia-siakan dengan menjalani  
kehidupan orang lain”**

## **PERSEMBAHAN**

Alhamdulillah, akhirnya sampai pada titik ini terima kasih atas keberhasilan yang engkau hadiahkan padaku ya Robbi, tak henti-hentinya ku ucapkan syukur padamu ya Robbiku. Akhirnya semua proses yang telah saya lalui untuk menyelesaikan SKRIPSI ini diberi kemudahan dan kelancaran dapat menyelesaikan dengan tepat waktu, ini semua karena ridho dari ALLAH SWT dan doa kedua orang tua saya , Hasil SKRIPSI ini saya persembahkan kepada :

- ❖ Untuk Ibu dan Ayah tercinta, sebagai tanda bakti, hormat, dan rasa terima kasih yang tiada terhingga kupersembahkan karya tulis ilmiah ini kepada Ibu dan Bapak yang telah memberikan kasih sayang, segala dukungan, dan cinta kasih yang tak mungkin dapat kubalas hanya dengan selembar kertas ini. Semoga ini menjadi langkah awal untuk membuat Ibu dan Bapak bahagia. Untuk Ibu dan Bapak yang telah banyak memberiku nasehat dan dukungan serta selalu mendoakanku agar menjadi orang yang lebih baik.
- ❖ Untuk semua keluarga besarku yang telah memberikan motivasi dengan segala keikhlasan agar aku bisa mewujudkan keinginanku.
- ❖ Untuk pembimbing I Nurwani purnama Aji, M.Farm.,Apt, dan Untuk pembimbing II Luky Dharmayanti, M.Farm.,Apt dan untuk penguji ibu Yuska Noviyanty, M.Farm.,Apt terimakasih telah meluangkan waktu dan tenaga untuk membimbingku dalam menyelesaikan karya tulis ilmiah ini.
- ❖ Untuk Sahabat ku alisa anggraini terimakasih sudah menjadi suport sistem dalam keadaan apapun sudah mau di repotkan dalam situasi apapun serta

bantuan dan nasehat serta menguatkan selama ini dan terima kasih..

Sukses untuk kita semua... Aamiin

- ❖ Untuk teman-teman (silvia,maya,yulis,lela) terimakasih sudah mau berjuang bersama sampai saat ini.
- ❖ Untuk teman-teman almamaterku dan teman – teman seperjuanganku yang tak bisa ku sebutkan satu persatu mahasiswa STIKES Al-Fatah Bengkulu angkatan 2020 terkhusus untuk teman-teman kelas semoga kita semua menjadi orang yang sukses. Aaamin
- ❖ Almamaterku.....Terima kasih untuk 4 tahun ini.

## KATA PENGANTAR

Puji Syukur atas kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyusun Skripsi yang berjudul “UJI TOKSISITAS EKSTRAK ETANOL DAUN LEMPIPI (*Pergularia Brunoniana* Wight & Arn) DENGAN METODE BSLT (*Brine Shrimp Leathality Test*)” tepat pada waktunya. Skripsi ini di susun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan S1 Farmasi Klinis & Komunitas di Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Bengkulu. Ucapan terima kasih yang terbesar penulis persembahkan kepada kedua orang tua, karena dengan doa dan kasih sayangnya telah mengiringi perjalanan penulis dalam penyusunan Skripsi. Penulis juga ingin mengucapkan rasa terima kasih yang sedalam-dalamnya atas bantuan dan dukungannya kepada:

1. Ibu Nurwani purnama Aji, M.Farm., Apt selaku pembimbing pertama yang telah memberi waktu dan bimbingannya.
2. Ibu Luky Dharmayanti, M.Farm., Apt selaku pembimbing kedua yang telah memberi waktu dan bimbingannya.
3. Ibu Yuska Noviyanty, M.Farm., Apt selaku penguji
4. Bapak Drs. Djoko Triyono, Apt., MM selaku ketua yayasan Al-Fatah Bengkulu.
5. Ibu Yuska Noviyanty, M.Farm., Apt selaku Ketua STIKES Farmasi Al-fatah Bengkulu.

6. Para dosen dan staf karyawan STIKES Farmasi Al-Fatah Bengkulu yang telah memberikan ilmu pengetahuan kepada penulis.
7. Rekan-rekan seangkatan di STIKES Farmasi Al-Fatah Bengkulu dan
8. Semua pihak yang telah membantu hingga terselesaikannya Karya Tulis ilmiah ini.

Penulis menyadari bahwa Skripsi ini masih banyak terdapat kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun. Akhir kata penulis berharap semoga Skripsi yang penulis susun ini dapat memberikan manfaat untuk pembangunan ilmu pengetahuan khususnya tentang farmasi dan bagi pembaca sekalian

Bengkulu, agustus 2024

Penulis



## INTISARI

Daun lempipi merupakan salah satu tanaman yang sering dikonsumsi oleh masyarakat, terutama masyarakat Kaur, Bengkulu Selatan. Ada banyak senyawa yang terkandung didalam daun lempipi antara lain alkaloid, flavonoid, tannin, saponin dan steroid. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah ekstrak etanol daun lempipi (*pergularia bruniana wigh &arn*) berefek toksisitas terhadap larva *Artemia Salina* dan mengetahui nilai  $LC_{50}$  dari toksisitas dari daun lempipi (*pergularia bruniana wigh &arn*) .

Metode yang digunakan untuk mengekstraksi kandungan kimia dalam daun lempipi adalah dengan metode maserasi menggunakan pelarut alkohol 96% yang diuapkan menggunakan *Rotary Evaporator* untuk mendapatkan ekstrak kental. Lalu dilakukan uji parameter spesifik dan non spesifik, dilanjutkan uji skrining fitokimia. untuk uji toksisitas ini menggunakan larva *Artemia Salina* sebagai hewan uji untuk mengetahui uji toksisitas dengan daun lempipi.

Dari hasil uji toksisitas ekstrak etanol daun lempipi (*pergularia bruniana wigh &arn.*) dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) menggunakan larva *Artemia salina* Leach berumur 48 jam, dengan konsentrasi 10, 100, 1000  $\mu\text{g/ml}$  mendapatkan hasil  $LC_{50}$  sebesar = 21,28629  $\mu\text{g/ml}$  bersifat sangat toksik .

**Kata kunci** : uji toksisitas,daun lempipi (*pergularia bruniana wight &arn*),  
BSLT(*Brine Shrimp Lethality Test*).

**Daftar Acuan** : 28 (2012- 2021)

## DAFTAR ISI

|                                                                   |             |
|-------------------------------------------------------------------|-------------|
| <b>PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN .....</b>                          | <b>ii</b>   |
| <b>LEMBAR PENGESAHAN .....</b>                                    | <b>iii</b>  |
| <b>MOTTO .....</b>                                                | <b>iv</b>   |
| <b>PERSEMBAHAN.....</b>                                           | <b>v</b>    |
| <b>KATA PENGANTAR.....</b>                                        | <b>vii</b>  |
| <b>INTISARI .....</b>                                             | <b>ix</b>   |
| <b>DAFTAR ISI.....</b>                                            | <b>x</b>    |
| <b>DAFTAR GAMBAR.....</b>                                         | <b>xii</b>  |
| <b>DAFTAR TABEL .....</b>                                         | <b>xiii</b> |
| <b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>                                      | <b>xiv</b>  |
| <b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>                                     | <b>1</b>    |
| 1.1 Latar Belakang.....                                           | 1           |
| 1.2 Batasan Masalah .....                                         | 3           |
| 1.3 Rumusan Masalah .....                                         | 3           |
| 1.4 Tujuan Penelitian.....                                        | 3           |
| 1.5 Manfaat Penelitian.....                                       | 4           |
| <b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....</b>                              | <b>5</b>    |
| 2.1 Kajian Teori.....                                             | 5           |
| 2.2.1 Daun Lempipi ( <i>Pergularia brunoniana</i> wight&Arn)..... | 5           |
| 2.2 Kerangka Konsep .....                                         | 25          |
| <b>BAB III METODOLOGI PENELITIAN .....</b>                        | <b>27</b>   |
| 3.1 Jenis dan Lokasi Penelitian.....                              | 27          |
| 3.1.1 Jenis Penelitian .....                                      | 27          |
| 3.1.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....                            | 27          |
| 3.2 Instrumen Penelitian / Pengumpulan Data.....                  | 27          |
| 3.2.1 Alat-alat yang digunakan.....                               | 27          |
| 3.2.2 Bahan-bahan yang digunakan.....                             | 27          |
| 3.3 Metode Penelitian.....                                        | 28          |
| 3.3.1 Pengambilan Sampel .....                                    | 28          |

|                                          |                                 |           |
|------------------------------------------|---------------------------------|-----------|
| 3.3.2                                    | Verifikasi Tanaman .....        | 28        |
| 3.3.3                                    | Pengelolaan sampel .....        | 28        |
| 3.3.4                                    | Proses Ekstraksi.....           | 29        |
| 3.3.5                                    | Uji Skrining Fitokimia.....     | 30        |
| 3.3.6                                    | Uji Parameter Non Spesifik..... | 32        |
| 3.3.1                                    | Uji Toksisitas.....             | 34        |
| <b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b> |                                 | <b>37</b> |
| A.                                       | Hasil Penelitian.....           | 37        |
| <b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>  |                                 | <b>46</b> |
| 5.1                                      | Kesimpulan.....                 | 46        |
| 5.2                                      | Saran.....                      | 46        |
| 5.2.1                                    | Bagi Akademik .....             | 46        |
| 5.2.3                                    | Bagi Masyarakat.....            | 47        |
| <b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>               |                                 | <b>48</b> |
| <b>LAMPIRAN.....</b>                     |                                 | <b>51</b> |

## DAFTAR GAMBAR

|                                                                       |    |
|-----------------------------------------------------------------------|----|
| Gambar 1 Daun Lempipi ( <i>Pergularia brunoniana</i> wight&Arn) ..... | 5  |
| Gambar 2 Larva Udang ( <i>Artemia salina</i> Leach).....              | 8  |
| Gambar 3 Kerangka Konsep Penelitian .....                             | 26 |

## DAFTAR TABEL

|                                                                                                              |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabel I Kategori toksisitas berdasarkan nilai LC <sub>50</sub> .....                                         | 19 |
| Tabel II Hasil Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Lempipi ( <i>Pergularia brunoniana wigh&amp;Arn</i> ) .....     | 38 |
| Tabel III Susut Pengeringan dari Uji Non Spesifik .....                                                      | 38 |
| Tabel IV Penetapan Kadar Air dari uji non spesifik .....                                                     | 38 |
| Tabel V Uji Organoleptik.....                                                                                | 39 |
| Tabel VI Hasil Skrining Fitokimia.....                                                                       | 42 |
| Tabel VII Hasil Uji Toksisitas Extrak Etanol Daun Lempipi ( <i>Pergularia brunoniana wigh&amp;Arn</i> )..... | 43 |

## DAFTAR LAMPIRAN

|                                                                                                                                                                     |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Lampiran 1. Verifikasi Tanaman .....                                                                                                                                | 52 |
| Lampiran 2. Skema Kerja Pembuatan Simplisia daun lempipi ( <i>Pergularia brunoniana</i> Wight&Arn).....                                                             | 53 |
| Lampiran 3. Skema Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Lempipi ( <i>Pergularia brunoniana</i> Wight&Arn).....                                                              | 53 |
| Lampiran 4. Proses Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Lempipi ( <i>Pergularia brunoniana</i> Wight&Arn).....                                                             | 54 |
| Lampiran 5. Alat .....                                                                                                                                              | 57 |
| Lampiran 6. Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Lempipi ( <i>Pergularia burniana</i> Wight&Arn).....                                                         | 58 |
| Lampiran 7. Perhitungan Parameter Spesifik dan Non Spesifik.....                                                                                                    | 59 |
| Lampiran 8. Pehitungan pengenceran.....                                                                                                                             | 61 |
| Lampiran 9. Penyiapan larva .....                                                                                                                                   | 62 |
| Lampiran 10. Uji Toksisitas Ekstrak Daun Lempipi ( <i>pergularia Brunoniana</i> Wight & Arn) Dengan Metode <i>BSLT</i> ( <i>Brine Shrimp Leathality Test</i> )..... | 63 |
| Lampiran 11. Hasil Uji Toksisitas Extrak Etanol Daun Lempipi ( <i>Pergularia brunoniana wigh&amp;Arn</i> ).....                                                     | 64 |
| Lampiran 12. Nilai probit .....                                                                                                                                     | 65 |

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan oleh penelitian sebelumnya ekstrak etanol daun lempipi (*Pergularia brunoniana wight & Arn*) Telah diketahui mengandung senyawa flavonoid Dalam ekstrak etanol daun lempipi (*Pergularia brunoniana wight & Arn*) memiliki kadar flavonoid sebesar 3,9633 % (Rahmadona,2023).

Memanfaatkan daun lempipi (*Pergularia brunoniana wight & Arn*) sebagai obat tradisional karena telah dilakukan pengujian kandungan metabolit sekunder dan positif mengandung senyawa flavonoid yang berkhasiat sebagai antioksidan, dan anti bakteri (Rahmadona,2023).

Pengujian toksisitas dilakukan untuk mengetahui apakah daun lempipi (*Pergularia brunoniana wight & Arn*) bersifat toksik atau tidak selanjutnya menentukan nilai LC<sub>50</sub> nya untuk mengetahui jumlah konsentrasi penyebab ketoksikan daun lempipi (*Pergularia brunoniana wight & Arn*). Salah satu metode yang baik digunakan untuk pengujian toksisitas adalah dengan menggunakan larva udang jenis *Artemia salina Leach*. Dalam metode ini *A. salina Leach* dipakai sebagai bioindikator. Metode ini mudah dikerjakan, murah, waktu deteksi singkat dan dapat di pertanggung jawabkan.

Sampel yang bersifat toksisitas disebabkan oleh adanya kandungan senyawa metabolit sekunder, oleh karena itu dilakukan pengujian metabolit

sekunder untuk mendeteksi golongan senyawa kimia yang terdapat dalam sampel. Metode ini merupakan salah satu dari pendekatan yang lazim digunakan untuk mencari komponen senyawa kimia tanaman yang memiliki aktivitas biologi. Biasanya, tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat memiliki sifat toksik (racun) terhadap penyakit karena adanya senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam tanaman tersebut.

Untuk mengidentifikasi senyawa dari Daun lempipi (*Pergularia brunoniana* Wigh&Arn) yang dapat berpotensi efek sitotoksik, maka perlu diketahui tentang nilai *Lethal Concentration* 50 ( $LC_{50}$ ).  $LC_{50}$  adalah kadar yang menyebabkan kematian 50% hewan uji pada percobaan selama waktu tertentu. Berdasarkan  $LC_{50}$  dapat diketahui tingkat aktivitas suatu senyawa. Senyawa hasil isolasi atau ekstrak tanaman kurang 1000  $\mu\text{g/ml}$ , maka senyawa tersebut dapat diduga memiliki efek sitotoksik (Wahyu dkk 2015).

Metode yang sering digunakan untuk mengetahui potensi efek sitotoksik suatu senyawa adalah *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Kelebihan metode ini adalah cukup praktis, murah, sederhana dan cepat tapi tidak mengesampingkan kekuatannya untuk skrining awal tanaman berpotensi antikanker dengan menggunakan hewan uji larva artemia (*Artemia salina* L.). Prinsip metode ini adalah uji toksisitas akut terhadap artemia dengan penentuan nilai  $LC_{50}$  setelah perlakuan 24 jam (Wahyu dkk 2015).



## 1.2 Batasan Masalah

- a. Untuk mengetahui toksisitas pada Daun lempipi (*Pergularia brunoniana* Wigh&Arn) berefek toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach .
- b. Untuk mengetahui nilai  $LC_{50}$  dari toksisitas pada Daun lempipi (*Pergularia brunoniana* Wigh&Arn) terhadap larva *Artemia salina* Leach .

## 1.3 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah di atas maka dirumuskan suatu permasalahan sebagai berikut:

- a Apakah Toksisitas yang terdapat pada Daun lempipi (*Pergularia brunoniana* Wigh &Arn) berefek toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach ?
- b Berapakah nilai  $LC_{50}$  dari toksisitas daun lempipi (*Pergularia brunoniana* Wigh&Arn) terhadap larva *Artemia salina* Leach ?

## 1.4 Tujuan Penelitian

- a. Untuk mengetahui hasil toksistas pada Daun lempipi (*Pergularia brunoniana* Wigh&Arn) yang berefek toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach ?
- b. Untuk mengetahui nilai  $LC_{50}$  dari toksisitas pada daun lempipi (*Pergularia brunoniana* Wigh&Arn) terhadap larva *Artemia salina* Leach?

## 1.5 Manfaat Penelitian

### 1. Untuk Peneliti

Hasil dari penelitian ini diharapkan menjadi referensi untuk memberikan informasi secara ilmiah tentang efek toksisitas dari Daun lempipi (*Pergularia brunoniana* Wigh&Arn) terhadap larva udang (*Artemia salina* Leach) yang dapat mendukung pengembangan ekstrak Daun lempipi (*Pergularia brunoniana* Wigh&Arn) sebagai sumber senyawa bioaktif.

### 2. Untuk Institusi

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah, pengetahuan serta gambaran penemuan senyawa bioaktif dari ekstrak Daun lempipi (*Pergularia brunoniana* Wigh&Arn)

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Kajian Teori**

##### **2.2.1 Daun Lempipi (*Pergularia brunoniana* wight&Arn)**



**Gambar 1 Daun Lempipi ( *Pergularia brunoniana* wight&Arn)**

Tumbuhan lempipi memiliki batang dengan cabang-cabangnya melilit di pepohonan, pagar atau apa saja di sekitarnya, sedangkan bentuk daunnya menyirip, dan memiliki bunga sebagai alat produksi. Tanaman lempipi memiliki batang melilit atau merayap tinggi di sekitar pepohonan berkisar 500 cm hingga 1M, dan termasuk kategori tumbuhan basah yang batangnya mudah patah, helaian daun berbentuk seperti menyirip, pangkal membulat atau melekuk menyerupai bentuk jantung dan setiap tepiannya licin dan lurus meruncing yang bersambungan dan didukung tangkai daun dengan panjang tangkai 3-4 cm yang memiliki warna hijau dan ujung meruncing dan tulang daun menyirip berupa alur. Batang berbulat panjang dengan alur yang

agak dalam pada masing-masing sisinya, bercabang banyak, berwarna hijau. Permukaan daun agak mengkilap dan berambut halus panjang dengan 1-2 cm, lebar 3-6 cm berwarna kehijauan sampai hijau tua. Bunga berbentuk untaian bunga bersusun, muncul pada pucuk tangkai batang berwarna keoren-ornamen, buah lempipi memiliki diameter 1- 1cm berwarna hijau. Tanaman lempipi memiliki aroma bau yang khas dan rasa yang agak pahit manis sifatnya dingin (Setiyawan, 2017)

**a. Deskripsi Daun lempipi (*Pergularia brunoniana* Wight & Arn)**

Daun lempipi (*Pergularia brunoniana* Wight & Arn) adalah tanaman daun-daunan yang mudah tumbuh hampir di semua iklim. Pemanfaatan tanaman ini sebagai obat tradisional sangat bervariasi dan terutama pada bagian daun lempipi (*Pergularia brunoniana* Wight & Arn).

**b. Klasifikasi Ilmiah Daun Lempipi (*Pergularia brunoniana* Wight & Arn)**

Tanaman lempipi memiliki sinonim (*Pergularia brunoniana*, Wight & Arn, *Poh-pohan*, *Lampinak*, *Tang-tang Angin*, *Pepino*.)

Berikut taksonomi tanaman daun lempipi

|         |                                            |
|---------|--------------------------------------------|
| Ordo    | : Gentianales                              |
| Familia | : Apocynaceae                              |
| Genus   | : Marsdenia                                |
| Spesies | : <i>Marsdenia brunoniana</i> Wight & Arn  |
| Sinonim | : <i>Pergularia brunoniana</i> Wight & Arn |

**c. Morfologi Daun Lempipi (*Pergularia brunoniana* wight&Arn)**

Tanaman lempipi memiliki batang melilit atau merayap tinggi di sekitar pepohonan berkisar 70-250 cm, dan termasuk kategori tumbuhan basah yang batangnya mudah patah. Daun tunggal, helaian daun berbentuk seperti menyirip, pangkal membulat atau melekok menyerupai bentuk jantung dan setiap tepiannya licin dan lurus meruncing yang bersambungan dan didukung tangkai daun dengan panjang tangkai 3-4 cm yang memiliki warna hijau dan ujung meruncing dan tulang daun menyirip berupa alur. Batang berbulat panjang dengan alur yang agak dalam pada masing-masing sisinya, bercabang banyak, berwarna hijau. Permukaan daun agak mengkilap dan berambut halus panjang dengan 1-2 cm, lebar 3-6 cm berwarna kehijauan sampai hijau tua. Bunga berbentuk untaian bunga bersusun, muncul pada pucuk tangkai batang berwarna orange. Tanaman lempipi memiliki aroma bau yang khas dan rasa yang agak pahit manis sifatnya dingin (Kuswati dkk 2021).

**d. Manfaat Daun Lempipi Bagi Tubuh (*Pergularia brunoniana* wight&Arn)**

Tumbuhan lempipi dimanfaatkan sebagai sayur berkuah banyak seperti tanaman liar lainnya yaitu *Euphorbia pulcherrima*, *Amaranthus spinosus*, *Gynandropsis gynandra*, *Cleome rutidosperma*, dan *Marsdenia brunoniana*. *Euphorbia pulcherrima* merupakan tanaman berkayu tumbuh liar di tanah pekarangan. Daun muda dapat dimanfaatkan sebagai sayur bening, di daerah kaur dijadikan sebagaibahan makanan dan juga sayuran (Kuswati dkk 2021).

**e. Uraian Larva Udang (*Artemia salina* Leach)**



**Gambar 2 Larva Udang (*Artemia salina* Leach)**

**1. Klasifikasi**

|          |                               |
|----------|-------------------------------|
| Divisi   | : Animal                      |
| Phylum   | : Arthropoda                  |
| Kelas    | : Crustaceae                  |
| Subkelas | : Branchiopoda                |
| Ordo     | : Anostraca                   |
| Familia  | : Artemiidae                  |
| Genus    | : Artemia                     |
| Species  | : <i>Artemia salina</i> Leach |

**2. Morfologi**

*Artemia* merupakan kelompok udang-udangan dari *phylum Arthropoda*, *Artemia* hidup di danau-danau garam (berair asin) yang ada diseluruh dunia. Udang ini toleran terhadap selang salinitas yang sangat luas, mulai dari nyaris tawar hingga jenuh garam. Apabila kadar garam kurang dari 6% telur *Artemia* akan tenggelam hingga telur tidak dapat menetas, sedangkan apabila kadar garam lebih dari 25% telur akan berada dalam kondisi tersuspensi, sehingga dapat menetas dengan normal (Purwakusuma, 2009).

Tingkat hidup *Artemia salina* Leach mengalami beberapa tingkatan,

tetapi secara jelas dapat dilihat dalam 3 bentuk yang sangat berlainan yaitu bentuk telur, *nauplius* (larva) dan artemia dewasa.

Secara berkala, pada saat air laut atau danau menguap, partikel-partikel yang berwarna coklat, berdiameter sekitar 0,2-0,3 mm akan naik kepermukaan, oleh angin akan di bawa hanyut ke darat. Partikel tersebut merupakan telur-telur inaktif atau tidur dari *Artemia salina* Leach. Sepanjang telur-telur tersebut terhidrasi dan dalam keadaan *diapause*, akan memiliki ketahanan dan kestabilan dalam penyiapan yang lama.

Jika telur-telur tersebut (yang embrionya dalam keadaan *dispauxe*) direndam dalam larutan bergaram (air laut), telur akan menyerap air laut hingga menggembung. Proses penyerapan ini berlangsung secara *hiperosmotik* yaitu adanya tekanan *osmose* di dalam telur yang lebih tinggi dari pada di luarnya.

Setelah telur menggembung dan metabolisme berlangsung terus, untuk mencapai tingkatan ini dibutuhkan waktu sekitar 15 jam. Terjadinya pemecahan cangkang telur yang keras itu dibantu oleh kegiatan enzim yaitu enzim penetasan pada pH lebih dari 8. Sekitar 17 jam perendaman, embrio yang keluar dari cangkang yang masih dibungkus oleh selaput penetasan tumbuh terus hinggaakhirnya keluar dari selaputnya menjadi makhluk hidup baru, yaitu waktu 19 jam, hingga rata-rata berkisar 24-36 jam. Dalam pengembangan selanjutnya, burayak mengalami *metamorphosis*. Pada tingkatan Instar I, kandungan energi masih cukup tinggi. Sekitar 24 jam kemudian, mereka sudah berubah menjadi Instar II

mulai mempunyai mulut, saluran pencernaan dan dubur. Oleh karenanya mencari makanan. Demikian seterusnya sampai Instar 15. Setelah itu berubah menjadi artemia dewasa. Proses ini biasanya berlangsung 1-3 minggu.

Tubuh terbagi atas bagian kepala, dada dan perut, pada bagian kepala terdapat 2 tungkai mata, 2 antena dan 2 antenula. Dada terbagi atas 11 segmen yang masing-masing mempunyai sepasang kaki renang, sedangkan perut terbagi atas 8 segmen. *Artemia salina* dewasa bentuknya telah sempurna. Reproduksi artemia salina dapat dengan bertelur atau dengan melahirkan anak. Pergantian reproduksi ini dimungkinkan oleh jumlah klorofil dalam makanannya dan factor oksigen dalam lingkungan. Konsentrasi oksigen yang rendah dan klorofil yang tinggi dalam makanannya menyebabkan reproduksi dengan telur, dan sebaliknya akan menyebabkan reproduksi dengan melahirkan anak (Mudjiman, 1998).

Kandungan kimia yang terdapat dalam tubuh *Artemia salina* adalah protein dan asam lemak yang tinggi. Nilai nutrisi Artemia dewasa mempunyai keunggulan, yaitu kandungan proteinnya meningkat dari rata-rata 47% pada nauplius menjadi 60% pada *Artemia* dewasa yang telah dikeringkan (Lestari dkk 2019).

### **3. Lingkungan Hidup**

*Artemia salina* hidup planktonic diperairan berkadar garam tinggi, suhu yang dikehendaki berkisar antara 25°C-30°C, oksigen terlarut sekitar 3 mg/L dan pH antara 7,3–8,4. *Artemia salina* Leach tidak dapat



mempertahankan diri dari pemangsa musuh-musuhnya karena tidak mempunyai alat atau cara untuk membela diri, salah satu cara menghindarkan diri dari pemangsa hewan lain dengan berpindah ke kondisi alam berupa lingkungan hidup berkadar garam tinggi. Pada umumnya pemangsa tidak dapat hidup lagi pada kondisi itu (Mudjiman, 1995). Makanan *Artemia salina* terdiri atas ganggang retnik, bakteri cendawan. Dalam pemeliharaan makanan yang diberikan adalah katul padi, tepung terigu, tepung kedelai dan ragi (Mudjiman, 1995).

#### **4. Perkembangan dan Siklus Hidup**

Perkembangannya yaitu jenis biseksual dan jenis partenogenik. Keduanya dapat terjadi ovovivipar atau avipar. Pada ovovivipar keluar induknya sudah berupa anak yang dinamakan nauplius, sedangkan pada ovipar anak keluar dari induknya berupa telur, bercangkang tebal yang dinamakan siste. Perkembangbiakan jenis biseksual harus melalui proses perkawinan antara induk jantan dan induk betina. Pada jenis parthenogenesis tidak ada perkawinan karena memang tidak pernah ada jantannya. Jadi, betina akan beranak dengan sendirinya tanpa perkawinan (Lestari dkk 2019).

#### **5. Penggunaan *Artemia salina* Leach dalam Penelitian**

Suatu metode uji hayati yang tepat dan murah untuk skrining dalam menentukan toksisitas suatu ekstrak tanaman aktif dengan menggunakan hewan uji *Artemia salina* Leach. *Artemia* sebelumnya telah digunakan dalam bermacam-macam uji hayati seperti uji pestisida, polutan, mikotoksin, anestetik, komponen seperti morfin, kekarsinogenikan dan toksikan dalam air

laut. Uji dengan organisme ini sesuai untuk aktifitas farmakologi dalam ekstrak tanaman yang bersifat toksik. Penelitian dengan menggunakan *Artemia salina* memiliki beberapa keuntungan antara lain cepat, murah dan sederhana.

Penetasan telur *Artemia salina* yang baik perlu memperhatikan beberapa faktor yaitu: hidrasi dari kista-kista, aerasi, penyinaran, suhu, derajat keasaman (pH), dan kepadatan telur dalam media penetasan.

Uji BSLT dilakukan di Laboratorium Fisiologi Hewan Jurusan Biologi UNNES. Populasi hewan uji pada penelitian ini adalah larva *Artemia salina* Leach. Telur *Artemia salina* Leach diperoleh dari BBPBAP Jepara. Penetasan dan pemilihan telur *Artemia salina* Leach dilakukan dengan merendam telur artemia pada air laut dengan salinitas 30 ‰ di petri dish. Telur yang baik akan tenggelam dan yang kurang baik akan mengapung. Setelah 24 jam telur yang telah menetas dipindah pada petri yang berbeda agar tidak terjadi kerancuan umur larva. Larva diambil secara acak sebanyak 50 larva, kemudian dibagi menjadi 5 kelompok, masing-masing 10 larva dan ditempatkan pada flakon berisi 5ml air laut. Dengan cara yang sama, dibuat 5 kelompok pengulangan. Kelompok kontrol (K) tanpa diberi ekstrak, kelompok perlakuan 1 (Kp1) diberi 1 µg/ml ekstrak, Kp2 diberi 2 µg/ml ekstrak, Kp3 diberi 5 µg/ml ekstrak, dan Kp4 diberi 10 µg/ml ekstrak. Flakon ditempatkan pada suhu kamar dan tidak terkena sinar matahari langsung selama 24 jam. Setelah 24 jam dihitung larva yang mati pada setiap flakon dan dicatat pada tabel. Nilai LC<sub>50</sub> diperoleh dengan analisis probit

menggunakan SPSS 21.0 for window (Putri dkk 2021) .

#### **6. *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)***

Metode BSLT merupakan langkah pertama untuk uji toksisitas suatu ekstrak atau senyawa. Metode ini merupakan metode hayati yang sederhana, cepat, murah, dan dapat dipercaya. Daya toksisitas suatu senyawa dapat diketahui dengan menghitung jumlah kematian larva *Artemia salina* dengan parameter *Lethal concentration* 50 ( $LC_{50}$ ). Suatu ekstrak dinyatakan bersifat toksik menurut metode BSLT ini jika memiliki  $LC_{50}$  kurang dari 1000  $\mu\text{g/ml}$ . jika hasil uji BSLT menunjukkan bahwa ekstrak tumbuhan bersifat toksisitas maka dapat dikembangkan ke penelitian lebih lanjut untuk mengisolasi senyawa toksisitas tumbuhan sebagai usaha pengembangan obat alternatif anti kanker.

Belakangan ini telah banyak pengujian tentang toksisitas yang dikembangkan untuk pencarian produk alam yang potensial sebagai bahan antineoplastic. Metode pengujian tersebut antara lain *Simple Brench-Top Bioassay* (terdiri dari *Brine Lethality Test*), *Lemna Minor Bioassay* dan *Crown-Gall Potato disc bioassay*) dan pengujian pada sel telur bulubabi. Pengujian efek toksik dengan larva *Artemia salina* dihitung dengan metode  $LC_{50}$  yang mana kematian setelah 6 jam pemaparan dimasukkan dalam kategori  $LC_{50}$  akut dan pemaparan setelah 24 jam digolongkan  $LC_{50}$  kronis, dan dalam pengerjaannya biasanya digunakan  $LC_{50}$  setelah 24 jam meningkat kelarutan ekstrak yang sukar larut membutuhkan waktu lebih panjang (Mc Laughlin, 1991).

Metode ini sering digunakan untuk praskrining terhadap senyawa aktif yang terkandung di dalam ekstrak tanaman karena murah, mudah (tidak perlu kondisi aseptis) dan dapat dipercaya. Sifat sitotoksik dapat diketahui berdasarkan jumlah kematian larva pada konsentrasi tertentu. Suatu ekstrak dikatakan toksik jika memiliki nilai  $LC_{50}$  kurang dari 1000  $\mu\text{g/ml}$  setelah waktu 24 jam (Indriyani, Soetjipto, 2008). Pengujian ini dipertimbangkan sebagai uji pendahuluan toksisitas dan digunakan untuk mengetahui toksin jamur, toksisitas ekstrak tanaman, logam berat, toksin *cyanobacteria*, pestisida, dan uji sitotoksitas bahan pembuatan gigi

Uji toksisitas larva *Artemia salina* (*Brine Shrimp Lethality Test*) sering dianalogkan dengan kemampuan suatu bahan obat yang memiliki efek antikanker. Metode ini disarankan untuk digunakan pada skrining senyawa bioaktif bahan alam karena menunjukkan adanya korelasi dengan metode sitotoksik in vitro lainnya (Lestari et al. 2019)

## **7. Toksisitas**

Toksisitas ialah efek berbahaya dari suatu bahan obat pada organ target. Uji toksisitas dilakukan untuk mengetahui tingkat keamanan dan keberbahayaan zat yang akan diuji. Adapun sumber zat toksik dapat berasal dari bahan alam maupun sintetik. Toksisitas diukur dengan mengamati kematian hewan percobaan. Kematian dari hewan percobaan dianggap sebagai respon dari pengaruh senyawa yang diuji, sehingga hubungan dari respon dengan menggunakan kematian sebagai jawaban toksis adalah titik awal untuk mempelajari toksisitas (Shahidi dkk 1994).

Toksisitas diidentifikasi sebagai kemampuan suatu zat untuk menimbulkan kerusakan. Toksisitas merupakan suatu sifat relative dari zat kimia dan sejauh menyangkut diri manusia secara langsung maupun tidak langsung. Toksisitas selalu menunjukkan ke suatu efek berbahaya atau mekanisme biologi tertentu. Toksisitas merupakan istilah relatif yang biasa dipergunakan dalam membandingkan suatu zat kimia lebih toksik dari zat kimia lainnya. Perbandingan antara zat kimia seperti itu sangat tidak informatif, kecuali jika pernyataan itu melibatkan informasi tentang mekanisme biologi yang sedang dipermasalahkan dan juga dalam kondisi bagaimana zat kimia tersebut berbahaya. Karena itu, pendekatan toksikologi adalah dari segi tentang berbagai efek zat kimia atas berbagai system biologi dengan penekanan pada sistem mekanisme efek berbahaya zat kimia itu dan kondisi dimana efek berbahaya itu terjadi. Kematian merupakan salah satu diantara beberapa kriteria toksisitas. Salah satu caranya ialah menggunakan senyawa dengan dosis maksimal, kemudian kematian hewan uji dicatat. Angka kematian hewan dihitung sebagai harga median *Lethal Dose* ( $LD_{50}$ ) atau median *Lethal Concentration* ( $LC_{50}$ ).

Uji toksisitas dibagi 2 golongan yaitu uji toksisitas tak khas (akut, subkronis dan kronis) dan uji toksisitas khas yang meliputi potensi teratogenik, mutagenik dan karsinogenik.

#### a. Uji Toksisitas Akut

Uji ini dirancang untuk menentukan efek toksik suatu senyawa yang

akan terjadi dalam masa pemejanaan dengan waktu yang singkat atau pemberiannya dengan takaran tertentu. Uji ini dilakukan dengan cara pemberian konsentrasi tunggal senyawa uji pada hewan uji. Takaraan konsentrasi yang dianjurkan paling tidak empat peringkat konsentrasi, berkisar dari konsentrasi terendah yang tidak atau hampir tidak mematikan seluruh hewan uji sampai dengan konsentrasi tertinggi yang dapat mematikan seluruh atau hamper seluruh hewan uji. Biasanya pengamatan dilakukan selama 24 jam, kecuali pada kasus tertentu selama 7-14 hari.

b. Uji Toksisitas Subkronis atau Subakut

Dilakukan dengan memberikan zat kimia yang sedang diuji tersebut secara berulang-ulang terhadap hewan uji selama kurang dari 3 bulan. Uji ini ditujukan untuk mengungkapkan spektrum efek toksik senyawa uji, serta untuk melihatkan apakah spektrum toksik itu berkaitan dengan takaran konsentrasi.

c. Uji Toksisitas Kronis

Dilakukang dengan memberikan zat kimia secara berulang-ulang pada hewan uji selama lebih dari 3 bulan atau sebagian besar dari hidupnya. Meskipun pada penelitian digunakan waktu lebih pendek, tetapi tetap lebih lambatdibandingkan Uji Toksisitas Akut maupun Uji Toksisitas Sub Akut.

Belakangan ini telah banyak pengujian tentang toksisitas yang dikembangkan untuk pencarian produk alam yang potensial sebagai bahan antineoplastik. Metode pengujian tersebut antara lain *Simple Brench-Top*

*Biassay* (terdiri dari *Brine Shrimp Lethality test*, *Lemna Minor Bioassay* dan *Crown-Gall Potato disc bioassay*) dan pengujian pada sel telur bulu babi.

Dengan berdasarkan pemikiran bahwa efek farmakologi adalah toksikologi sederhana pada osis yang rendah dan sebagian besar senyawa antitumor adalah sitotoksik, maka *Brine Shrimp Lethality test* dapat digunakan sebagai uji pendahuluan senyawa antitumor. Senyawa yang mempunyai kemampuan membunuh sel kanker dalam kultur sel. Pengujian ini adalah pengujian letalitas yang sederhana dan tidak spesifik untuk aktifitas tumor, tetapi merupakan indikator toksisitas yang baik dan menunjukkan korelasi yang kuat dengan pengujian antitumor lainnya seperti uji sitotoksitas dan uji leukemia tikus. Karena kesederhanaan prosedur pengerjaan, biaya yang rendah serta korelasinya terhadap pengujian toksisitas dan pengujian antitumor menjadikan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) sebagai uji hayati pendahuluan untuk aktifitas antitumor yang sesuai dan dapat dilakukan secara rutin di Laboratorium dengan fasilitas sederhana.

Uji toksisitas sebagai skrining awal dapat dilakukan dengan berbagai metode antara lain adalah metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) adalah suatu metode uji guna untuk menentukan toksisitas suatu senyawa bahan alam dengan cepat, murah dan cukup akurat untuk penapisan ekstrak bahan aktif dengan menggunakan hewan uji *Artemia Salina Leach* yang berumur 48 jam.

#### 1) Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Pengujian efek toksisitas dengan larva udang *Artemia salina* dihitung dengan metode LC<sub>50</sub> yang mana kematian setelah 6 jam pemaparan dimasukkan dalam kategori LC<sub>50</sub> akut dan pemaparan setelah 24 jam digolongkan LC<sub>50</sub> kronis, dan dalam pengerjaannya biasanya digunakan LC<sub>50</sub> setelah 24 jam mengingat kelarutan ekstrak yang sukar larut membutuhkan waktu yang lebih panjang (Mc Laughlin 1991: 107-110).

Uji toksisitas menggunakan larva *Artemia salina* (*Brine Shrimp Lethality Test*) sering dianalogkan dengan kemampuan suatu bahan obat yang memiliki efek antikanker. Metode ini disarankan untuk digunakan pada skrining senyawa bioaktif bahan alam karena menunjukkan adanya korelasi dengan metode sitotoksik in vitro lainnya (Carballo, *et al.*, 2002).

Metode ini sering digunakan untuk praskrining terhadap senyawa aktif yang terkandung di dalam ekstrak tanaman karena murah, mudah (tidak perlu kondisi aseptis) dan dapat dipercaya. Sifat sitotoksik dapat diketahui berdasarkan jumlah kematian larva pada konsentrasi tertentu.

Uji pendahuluan toksisitas digunakan untuk mengetahui toksin jamur, toksisitas ekstrak tanaman, logam berat, toksin *cyanobacteria*, pestisida, dan uji sitotoksitas bahan pembuatan gigi

Uji toksisitas akut dengan hewan uji *Artemia salina* dapat digunakan sebagai uji pendahuluan pada penelitian yang mengarah ke uji sitotoksik, karena ada kaitan antara uji sitotoksik akut dengan uji sitotoksik jika harga LC<sub>50</sub> dari toksisitas akut < 1000 µg/ml (Mayer *et al.*, 1982).

## 2) *Lemna Minor* Bioassay



Metode ini terutama digunakan sebagai uji pendahuluan terdapat bahan yang dapat menghambat dan meningkatkan pertumbuhan tanaman. Dengan pengujian ini dapat diamati bahwa senyawa antitumor alami juga dapat menghambat pertumbuhan Lemna, walaupun korelasinya dengan pengujian antitumor lainnya kurang baik. Oleh karena itu pengujian ini lebih diarahkan untuk mencari herbisida dan stimulant pertumbuhan tanaman baru.

### 3) *Crown-Gall Potato Bioassay*

Metode ini merupakan metode pengujian toksisitas yang relative cepat pengerjaannya, tidak mahal, tidak memerlukan hewan percobaan serta menunjukkan korelasi yang sangat baik dengan uji antitumor lainnya. *Crown-Gall* merupakan suatu penyakit neoplastic pada tumbuhan yang disebabkan bakteri gram negatif *Agrobacterium tumefaciens* yang selanjutnya menyebabkan pertumbuhan jaringan tumor secara otonom dan tidak dipengaruhi oleh mekanisme kontrol normal tumbuhan. Pengujian dilakukan dengan mengukur kemampuan suatu senyawa menghambat pertumbuhan tumor *Crown-Gall* pada umbi kentang yang di infeksi dengan bakteri *Agrobacterium tumefaciens*

**Tabel I Kategori toksisitas berdasarkan nilai LC<sub>50</sub>**

| Kategori      | Nilai LC <sub>50</sub> |
|---------------|------------------------|
| Sangat toksik | < 30                   |
| Toksik        | 30 – 100               |
| Tidak toksik  | > 1000                 |

## 8. Pengelolaan Sampel

### 1. Pengambilan sampel

Pengambilan sampel adalah suatu proses pengumpulan sampel dari populasi yang akan di gunnakan dalam sebuah penelitian.

### 2. Sortasi basah

Sortasi basah adalah pemilihan hasil panen ketika tanaman masih segar. Sortasi basah dilakukan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan asing seperti tanah, kerikil, rumput, batang, daun, akar yang telah rusak serta pengotor lainnya yang harus dibuang. Tanah mengandung bermacam-macam mikroba dalam jumlah yang tinggi. Oleh karena itu, pembersihan simplisia dan tanah yang terikut dapat mengurangi jumlah mikroba awal.

### 3. Pencucian

Pencucian dilakukan untuk menghilangkan tanah dan pengotor lainnya yang melekat pada bahan simplisia. Pencucian dilakukan dengan air bersih ,misalnya air dari mata air, air sumur dan PDAM karena air untuk mencuci sangat mempengaruhi jenis dan jumlah mikroba awal simplisia. Misalnya jika air yang digunakan untuk pencucian kotor, maka jumlah mikroba pada permukaan bahan simplisia dapat bertambah dan air yang terdapat pada permukaan bahan tersebut dapat mempercepat pertumbuhan mikroba. Bahan simplisia yang mengandung zat mudah larut dalam air yang mengalir, pencucian hendaknya dilakukan dalam waktu yang sesingkat mungkin.

#### 4. Perajangan

Beberapa jenis simplisia perlu mengalami perajangan untuk memperoleh proses pengeringan, pengepakan dan penggilingan. Semakin tipis bahanyangakan dikeringkan maka semakin cepat penguapan air, sehingga mempercepat waktu pengeringan. Akan tetapi, irisan yang terlalu tipis juga menyebabkan berkurangnya atau hilangnya zat berkhasiat yang mudah menguap, sehingga mempengaruhi komposisi, bau, rasa yang diinginkan. Perajangan dapat dilakukan dengan pisau, dengan alat mesin perajangan khusus sehingga diperoleh irisan tipis atau potongan dengan ukuran yang dikehendaki.

#### 5. Pengeringan

Proses pengeringan sudah dapat menghentikan proses enzimatik dalam sel bila kadar airnya dapat mencapai  $<10\%$ . Hal-hal yang perlu diperhatikan dari proses pengeringan adalah suhu pengeringan, kelembaban udara ,waktu pengeringan dan luas permukaan bahan.Suhu yang terbaik pada pengeringan adalah tidak melebihi  $60^{\circ}\text{C}$ , tetapi bahan aktif yang tidak tahan pemanasan atau mudah menguap harus dikeringkan pada suhu serendah mungkin ,misalnya  $30^{\circ}\text{C}$  sampai  $45^{\circ}\text{C}$ . Terdapat dua cara pengeringan yaitu pengeringan alamiah (dengan sinar matahari langsung atau dengan diangin-anginkan) dan pengeringan buatan dengan menggunakan instrumen.

#### 6. Sortasi kering

Sortasi kering adalah pemilihan bahan setelah mengalami proses pengeringan. Pemilihan dilakukan terhadap bahan yang terlalu gosong atau bahan yang rusak. Sortasi kering merupakan tahap akhir pembuatan simplisia. Tujuannya adalah untuk memisahkan benda-benda asing seperti bagian tanaman yang tidak diinginkan atau pengotor lainnya yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering.

#### 7. Penyimpanan

Setelah tahap pengeringan dan sortasi kering selesai maka simplisia perlu ditempatkan dalam suatu wadah tersendiri agar tidak saling bercampur antara simplisia satu dengan lainnya. Untuk persyaratan wadah yang akan digunakan sebagai pembungkus simplisia adalah harus inert, artinya tidak bereaksi dengan bahan lain, tidak beracun, mampu melindungi bahan simplisia dari cemaran mikroba, kotoran, serangga, penguapan bahan aktif serta dari pengaruh cahaya, oksigen dan uap air.

#### 10. Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses penyarian zat aktif dari tanaman obat yang bertujuan untuk menarik komponen kimia yang terdapat dalam bagian tanaman obat tersebut (Kamila 2019).

Metode ekstraksi adalah proses pemisahan senyawa dari matriks atau simplisia dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Tujuan dari ekstraksi adalah menarik atau memisahkan senyawa dari campurannya atau simplisia. Ada beberapa cara ekstraksi yang dapat digunakan,

pemilihan metode ini dilakukan dengan memerhatikan sifat dari senyawa, pelarut yang digunakan, dan alat yang tersedia (Nurainun dkk 2021) .

Dalam pemilihan metode ekstraksi perlu banyak pertimbangan antara lain cara ekstraksi yang akan mempengaruhi hasil ekstrak yang didapat. Metode ekstraksi secara dingin bertujuan untuk mengekstrak senyawa-senyawa yang terdapat dalam simplisia yang tidak tahan panas (Haeria dkk 2016).

Adapun cara ekstraksi antara lain

a. Cara dingin (Hanani, 2014).

#### 1. Maserasi

Maserasi adalah cara ekstraksi simplisia dengan merendam dalam pelarut pada suhu kamar sehingga kerusakan dapat diminimalisir.

Metode yang digunakan pada penelitian kali ini yaitu metode maserasi, digunakan metode maserasi karena mudah dan sangat menguntungkan dalam isolasi bahan alam, saat perendaman sampel akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan diluar sel, sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma terlarut dalam pelarut organik. Ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan.

#### 2. Perkolasi

Metode perkolasi serbuk sampel dibasahi secara perlahan

dalam sebuah perkolator (wadah silinder yang dilengkapi dengan kran dibagian bawahnya). Pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah.

b. Cara panas

Metode panas digunakan apabila senyawa-senyawa yang terkandung dalam simplisia sudah dipastikan tahan panas.

Metode ekstraksi yang membutuhkan panas diantaranya :

1. Refluks

Refluks adalah cara ekstraksi dengan pelarut pada suhu titik didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relative konstan dengan adanya pendingin balik.

2. Soxhlet

Soxhlet adalah cara ekstraksi menggunakan pelarut organik pada suhu didih dengan alat soxhlet.

3. Digestasi

Digesti adalah proses maserasi yang cara kerjanya hamper sama dengan maserasi, hanya saja digesti menggunakan pemanasan rendah pada suhu 40 50°C. Metode ini biasanya digunakan untuk simplisia yang tersari baik pada suhu biasa.

4. Infusa

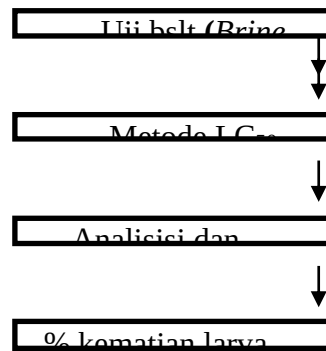
Infusa adalah cara ekstraksi dengan menggunakan pelarut air, pada suhu 96-98°C selama 15-20 menit (dihitung setelah suhu mencapai 96°C tercapai).

5. Dekokta

Dekokta adalah cara ekstraksi yang hamper sama dengan infusa tetapi perbedaannya terletak pada lamanya waktu pemanasan yaitu 30 menit dan suhu nya mencapai titik didih air.

## **2.2 Kerangka Konsep**

|           |
|-----------|
| Ekstraksi |
|-----------|



**Gambar 3 Kerangka Konsep Penelitian**



## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **3.1 Jenis dan Lokasi Penelitian**

##### **3.1.1 Jenis Penelitian**

Penelitian ini adalah penelitian kuantitatif yang dilakukan secara eksperimental laboratorium. Perlakuan dengan pemberian ekstrak metanol Daun lempipi (*Pergularia brunoniana* Wight & Arn) terhadap larva *Artemia salina* Leach.

##### **3.1.2 Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium fitokimia di sekolah tinggi kesehatan Al-Fatah kota Bengkulu penelitian dilakukan bulan maret -agustus 2024

#### **3.2 Instrumen Penelitian / Pengumpulan Data**

##### **3.2.1 Alat-alat yang digunakan**

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu, lumpang dan alu besar, timbangan analitik, kertas saring, aluminium foil, labu ukur, corong pisah, beaker glass, rotary evaporator, pipet tetes, pipet mikro. Bahan yang digunakan tanaman daun lempipi (*Pergularia brunoniana* Wight & Arn) (Syari dkk 2018).

##### **3.2.2 Bahan-bahan yang digunakan**

Daun lempipi (*Pergularia brunoniana* Wight & Arn), etanol, n-heksana, etil asetat, larva udang *Artemia salina* (Syari dkk 2018).

### **3.3 Metode Penelitian**

#### **3.3.1 Pengambilan Sampel**

Pada penelitian ini yang digunakan sebagai sampel yaitu tanaman dari daun lempipi (*Pergularia brunoniana* Wigh&Arn) yang di dapat di kaur Bengkulu selatan.

#### **3.3.2 Verifikasi Tanaman**

Verifikasi daun lempipi (*Pergularia brunoniana* Wigh&Arn). Akan dilakukan di laboratorium biologi Universitas Bengkulu.

#### **3.3.3 Pengelolaan sampel**

##### **a. Sortasi Basah**

Sampel daun lempipi (*Pergularia brunoniana* Wigh&Arn) setelah dikumpulkan kemudian dilakukan pemisahan atau pemilihan tanaman yang masih segar dan sisa-sisa kotoran zat asing, ranting, dan yang berbeda atau tanaman lain serta tanah yang menempel pada tanaman (Depkes RI, 2000).

##### **b. Pencucian**

Pencucian daun lempipi (*Pergularia brunoniana* Wigh&Arn) dilakukan dengan menggunakan air bersih yaitu air keran atau air mengalir agar sampel yang di gunakan bersih dari kotoran yang melekat.

c. Perajangan

Perajangan daun lempipi (*Pergularia brunoniana* Wigh&Arn) dilakukan dengan menggunakan pisau yang tajam tidak tumpul guna agar zat karat tidak menempel pada sampel yang akan digunakan. Perajangan ini dilakukan untuk memperluas permukaan bahan baku agar mudah kering dalam proses pengeringan.

d. Pengeringan

Pengeringan daun lempipi (*Pergularia brunoniana* Wigh&Arn) dilakukan dengan cara di oven pada suhu kamar 15-30°C atau tidak terkena sinar matahari langsung. Pencucian dilakukan dengan menggunakan air bersih yaitu air keran atau air mengalir agar sampel yang di gunakan bersih dari kotoran yang melekat (Depkes RI, 2000).

e. Penyimpanan

Penyimpanan daun lempipi (*Pergularia brunoniana* Wigh&Arn) yang sudah kering disimpan dalam wadah tertutup agar mutu simplisia daun lempipi terjaga dan tidak tercampur dengan yang lain.

### 3.3.4 Proses Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi yaitu maserasi dengan merendam serbuk daun lempipi (*Pergularia brunoniana* Wigh&Arn) 200 g sampel kering kedalam etanol 96 % sampai terendam. Maserasi dilakukan dalam botol gelap yang tertutup selama 2-5 hari dengan sekali

dilakukan pengocokan kemudian ekstrak di saring untuk mendapatkan ekstrak cair. Ekstrak yang didapat diuapkan dengan *rotary evaporator* dengan pelarut dididih panas 65-75°C. Dengan kecepatan 50 rpm sehingga didapatkan ekstrak kental (Depkes RI,2000).

### 3.3.5 Uji Skrining Fitokimia

#### 1) Identifikasi Kadar Alkaloid

Diambil sampel sebanyak 0,5 gram ditimbang, kemudian ditambahkan 1 ml asam klorida 2N dan 9 mL aqua dest, dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit, didinginkan lalu disaring. Filtrat dipakai untuk tes alkaloid. Diambil 3 tabung reaksi, lalu ke dalam masing-masing tabung reaksi dimasukkan 0,5 mL filtrat. Tabung pertama ditambahkan 2 tetes pereaksi Mayer, tabung kedua ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendorff dan tabung ketiga ditambahkan 2 tetes Bourchardat. Terbentuknya endapan kuning pada tabung pertama, endapan jingga pada tabung kedua dan endapan coklat pada tabung ketiga menunjukkan adanya alkaloid (Hasibuan & Edrianto, 2021)

#### 2) Identifikasi Kadar Terpenoid dan Steroid

Diambil sampel sebanyak 1 gram lalu ditambahkan 20 mL kloroform dan diletakkan didalam tabung reaksi yang kering, kemudian ditambahkan pereaksi Liebermann Burchard (asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat). Reaksi positif akan ditunjukkan dengan adanya cincin

berwarna jingga/ungu untuk triterpenoid dan steroid dengan warna hijau kebiruan (Hasibuan & Edrianto, 2021).

### 3) Identifikasi Kadar Saponin

Diambil sampel sebanyak 0,5 gram lalu dimasukan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 10 mL aquadest yang di panaskan kemudian dinginkan lalu dikocok kuat-kuat selama 10 detik, timbul busa tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm, ditambahkan 1 tetes asam klorida 2N, bila buih tidak hilang menunjukan adanya saponin (Hasibuan & Edrianto, 2021).

### 4) Identifikasi Kadar tanin

Diambil sampel sebanyak 0,5 gram lalu dilarutkan dengan 10 mL aquadest, kemudian disaring menggunakan kertas saring. Selanjutnya filtrate yang diperoleh diambil sebanyak 2 mL kemudian ditambahkan 2 tetes pereaksi  $\text{FeCl}_3$  1%. Jika terbentuk warna biru atau hijau kehitaman menunjukan adanya tannin (Hasibuan & Edrianto, 2021).

### 5) Identifikasi Kadar Flavonoid

Diambil sampel sebanyak 0,5 gram simplisia kemudian ditambahkan 10 mL aquadest panas, didihkan selama 10 menit dan disaring dalam keadaan panas, filtrat yang diperoleh kemudian diambil 5 mL lalu ditambahkan 0,1 gram serbuk Mg dan 1 mL asam klorida (HCl) pekat dan 2 mL amil alkohol, dikocok dan dibiarkan memisah.

Flavonoid positif jika terjadi warna merah, kuning, jingga, pada lapisan amil alcohol (Hasibuan & Edrianto, 2021).

### 3.3.6 Uji Parameter Non Spesifik

#### 1) Susut Pengeringan

1 g ekstrak ditimbang dalam cawan yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu 105°C selama 30 menit dan ditimbang. Ratakan dengan menggoyangkan hingga merupakan lapisan setebal (5-10 mm). Lalu dikeringkan pada suhu penetapan hingga bobot tetap. Buka tutupnya, biarkan cawan dalam desikator hingga suhu kamar. Kemudian dicatat bobot tetap yang diperoleh (Marpaung & Septiyani, 2020). Persentase susut pengeringan dihitung dengan rumus:

$$\text{susut pengeringan} = \frac{\text{bobot ekstrak kering (g)}}{\text{bobot ekstrak basar (g)}} \times 100\%$$

#### 3) Penetapan Kadar Air

Sebanyak 1 g ekstrak ditimbang dalam cawan yang telah ditara. Lalu dikeringkan pada suhu 105°C selama  $\pm 3$  jam di dalam oven. Kemudian dimasukkan cawan dalam desikator hingga suhu kamar dan dicatat bobot tetap yang diperoleh (Marpaung & Septiyani, 2020). Rumus dalam menentukan kadar air yaitu:

$$\text{kadar air} = \frac{A - B}{A} \times 100\%$$

keterangan :

A : bobot sampel sebelum dipanaskan

B : bobot sampel setelah dipanaskan

a. Parameter Spesifik

1) Uji Organoleptik

Dilakukan melalui pengujian identitas ekstrak dan organoleptis untuk mengetahui bentuk, warna, bau, dan rasa dari simplisia (Marpaung & Septiyani, 2020).

2) Penetapan kadar sari larut air

1 g ekstrak dimaserasi dengan 20 mL air-kloroform selama 24 jam menggunakan labu bersumbat sambil berkali-kali dikocok selama 6 jam pertama. Kemudian didiamkan selama 18 jam dan disaring. Sebanyak 4 mL filtrat diuapkan dalam cawan dangkal berdasarkan rata yang telah ditara. Kemudian residu dipanaskan pada suhu 105°C hingga diperoleh bobot tetap (Marpaung & Septiyani, 2020). Kadar sari larut air dihitung dengan rumus:

$$\text{kadar sari larut air} = \frac{\text{berat sari etanol (g)}}{\text{berat ekstrak (g)}} + \frac{20}{4} \times 100\%$$

3) Penetapan kadar sari larut etanol

1 g ekstrak dimaserasi dengan 20 mL etanol 96%, selama 24 jam dengan menggunakan labu bersumbat sambil berkali-kali dikocok selama 6 jam pertama. Kemudian didiamkan selama 18 jam dan disaring cepat

untuk menghindarkan penguapan etanol. Sebanyak 4 mL filtrat diuapkan dalam cawan dan gkal berdasarkan rata yang telah ditara dengan didiamkan sampai pelarutnya menguap dan tersisa residunya. Lalu dipanaskan residu pada suhu 105°C hingga diperoleh bobot tetap (Marpaung & Septiyani, 2020). Kadar sari larut etanol dihitung dengan rumus:

$$\text{kadar sari larut air} = \frac{\text{berat sari etanol (g)}}{\text{berat ekstrak (g)}} + \frac{20}{4} \times 100\%$$

### 3.3.1 Uji Toksisitas

#### a. Penyiapan larva Udang

Disiapkan bejana untuk penetasan telur udang. Di satu ruang dalam bejana tersebut diletakkan lampu untuk menghangatkan suhu dalam penetasan, sedangkan di ruang sebelahnya diberi air laut. Kedalam air laut dimasukkan + 50-100 mg telur udang untuk ditetaskan. Pada bagian telur ditutup dengan aluminium foil, dan lampu dinyalakan selama Pembuatan Konsentrasi Sampel 48 jam untuk menetaskan telur. Diambil larva udang yang akan diuji dengan pipet.

Ekstrak daun lempipi (*Pergularia brunoniana* Wigh&Arn) ditimbang sebanyak 50 mg. Kemudian ekstrak tersebut dilarutkan dalam pelarut etanol sebanyak 5 ml sehingga diperoleh konsentrasi 10000 µg/ml sebagai larutan



stok. Untuk membuat konsentrasi 10 µg/ml, 100 µg/ml dan 1000 µg/ml, maka dari larutan stok tersebut dipipet ke dalam vial masing-masing 5 µl, 50 µl, dan 500 µl menggunakan mikropipet. (irma,2017)

b. Pelaksanaan uji toksisitas

Pengujian sampel dilakukan dengan cara memasukkan masing-masing sampel ke dalam vial yang kemudian diuapkan dengan diangin-anginkan hingga pelarutnya hilang. Selanjutnya vial diisi air laut 1 ml lalu dimasukkan 10 ekor *Artemia salina* Leach. Umur 48 jam yang sehat (bergerak aktif) dipilih secara acak lalu dimasukkan ke dalam vial yang berisi sampel yang bebas pelarut menggunakan pipet tetes kemudian ditambahkan air laut sampai 5 ml.

Satu tetes suspensi ragi *Saccharomyces cereviceae* (3 mg/10 ml air laut) ditambahkan ke dalamnya sebagai makanan *Artemia salina* Leach. Vial diletakkan di bawah lampu penerangan selama 24 jam. Setelah 24 jam jumlah larva yang mati dihitung dengan bantuan kaca pembesar. Persen kematian larva dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{ kematian larva} = \frac{\text{jumlah larva uji yang mati}}{\text{Jumlah Larva uji}} \times 100 \%$$

c. Analisis dan Pengolahan Data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan dihitung dengan menggunakan analisis probit untuk mendapatkan LC<sub>50</sub>.

Persamaan regresi:

$$Y=ax+b$$

$$LC_{50}=\text{arc log } x$$

Keterangan:

X: log konsentrasi

a: intercept (garis potong)

y: nilai probit

b: slope(kemiringan dari garis regresi linear)

data hasil penelitian uji toksisitas diolah dan disajikan dalam bentuk table kurva data dari uji toksisitas tersebut kan dianalisis dengan analisis probit serta menggunakan Microsoft office excel untuk mencari regresi linier dengan hubungan antara nilai probit dengan log konsentrasi. nilai  $LC_{50}$  dapat dihitung dengan memasukkan nilai 5 (probit 50% kematian hewan uji) sebagai y sehingga dihasilkan x sebagai nilai log konsentrasi antilog nilai x tersebut merupakan nilai  $LC_{50}$ . data yang di peroleh di analisis dengan menggunakan aplikasi Microsoft excel.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. Hasil Penelitian

##### 1. Hasil Ekstraksi Daun Lempipi

Hasil maserasi 1000 gram daun lempipi(*pergularia brunoniana wigh & arn*) yang telah kering dengan metode maserasi dengan menggunakan pelarut metanol diperoleh ekstrak kering 770 gram.

##### 2 Hasil Verifikasi Tanaman Telah dilakukan verifikasi tanaman

Dilaboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Univesitas Bengkulu, bisa di lihat Hasil verifikasi menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar-benar daun lempipi (*Pergularia brunoniana wigh & Arn*) dengan nomor surat : 144/UN30.28.LAB.BIOLOGI/AM/2024

Klasifikasi tanaman sebagai berikut:

|         |                                  |
|---------|----------------------------------|
| Kingdom | : Plantae                        |
| Divisio | : Magnoliophyta                  |
| Class   | : Magnoliopsida                  |
| Ordo    | : Gentianales                    |
| Familia | : Apocynaceae                    |
| Genus   | : Marsedenia                     |
| Sinonim | : Pergularia brunoniana wigh&Arn |

**Tabel II Hasil Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Lempipi (*Pergularia brunoniana wigh&Arn*)**

| simplisia |          | Jumlah pelarut | Hasil ekstrak kental | redemen |
|-----------|----------|----------------|----------------------|---------|
| basah     | kering   |                |                      |         |
| 1000 gram | 770 gram | 19.000 ml      | 145,184 gram         | 18,83%  |

### 3. Hasil Uji Spesifik Dan Non Spesifik Ekstrak Etanol Daun Lempipi (*Pergularia brunoniana wigh&Arn*)

#### a. Uji Non Spesifik

**Tabel III Susut Pengeringan dari Uji Non Spesifik**

| Pengujian         | I     | II    | III   | Rata-Rata | Syarat | Keterangan      |
|-------------------|-------|-------|-------|-----------|--------|-----------------|
| Susut Pengeringan | 7,73% | 7,78% | 7,84% | 7,78%     | <10%   | Memenuhi Syarat |

hasil 3 kali pengujian susut pengeringan yang di dapatkan nilai rata-rata 7,78% nilai tersebut memenuhi syarat ,karena nilai susut pengeringan yang baik < 10% . Tujuan dari susut pengeringan untuk mengetahui kadar air dan senyawa volatil yang terkandung didalam ekstrak. Kadar air sebaiknya lebih kecil dari 10%. Apabila kadar air lebih besar dari 10% akan menyebabkan terjadinya proses enzimatik dan kerusakan oleh mikroba (Manoi, 2006).

**Tabel IV Penetapan Kadar Air dari uji non spesifik**

| Pengujian | I    | II   | III  | Rata-Rata | Syarat | Keterangan      |
|-----------|------|------|------|-----------|--------|-----------------|
| Kadar Air | 4,4% | 4,2% | 2,1% | 3,5%      | <8,9%  | Memenuhi Syarat |

hasil 3 kali pengujian penetapan kadar air yang di dapatkan nilai rata-rata

3,5% nilai tersebut memenuhi syarat ,karena nilai susut pengeringan yang baik < 8,7%. Tujuan penetapan kadar air jumlah air yang tinggi dapat menjadi media tumbuhnya bakteri dan jamur yang dapat merusak senyawa yang terkandung di dalam simplisi

#### **a. Uji Spesifik**

##### **1. Uji Organoleptik**

Parameter organoleptik bertujuan memberikan pengenalan awal simplisia dan ekstrak berupa bentuk, warna, dan bau. Data ini dapat digunakan sebagai dasar untuk menguji simplisia dan ekstrak selama penyimpanan, dan hal tersebut tentu saja dapat mempengaruhi khasiatnya (Kartikasari dkk, 2014). Pada uji organoleptis ekstrak diperoleh hasil konsistensi berupa cairan kental karena hasil maserat dilakukan evaporasi sehingga mengalami penguapan. Warna ekstrak yang dihasilkan adalah warna hijau kehitaman dan bau yang khas.

**Tabel V Uji Organoleptik**

| sedian               | organoleptis |             |              |
|----------------------|--------------|-------------|--------------|
|                      | bau          | Warna       | konsentrasi  |
| ekstrak daun lempipi | Khas lempipi | Hijau pekat | Cairab pekat |

## 2 . Penetapan kadar sari larut air

### a. Penetapan kadar sari larut air

$$\text{kadar sari larut air} = \frac{0,10 \text{ gram}}{1 \text{ gram}} \times \frac{20}{4} \times 100\% = 50\%$$

### b. Penetapan kadar sari larut etanol

$$\text{kadar sari larut etanol} = \frac{0,17 \text{ gram}}{1 \text{ gram}} \times \frac{20}{4} \times 100\% = 85\%$$

Syarat kadar sari larut air dan kadar sari larut etanol yaitu <100% (Dayanti, Aulia Rachma dan Saptawati, 2022). Jadi, penetapan kadar sari larut air dan penetapan kadar sari larut etanol pada penelitian ini memenuhi syarat.

## 4. Uji Skrining Fitokimia

Uji pendahuluan dilakukan untuk mengetahui kandungan kimia dari ekstrak etanol daun lempipi (*Pergularia brunoniana* Wight&Arn). Senyawa alkaloid merupakan senyawa yang mengandung atom nitrogen dan bersifat basa sehingga untuk mengekstraknya dibutuhkan penambahan asam klorida. Penambahan asam klorida bertujuan untuk mengekstrak alkaloid yang bersifat basa dengan menggunakan larutan asam. Senyawa alkaloid akan berinteraksi dengan ion tetraiodomerkurat (II) sehingga membentuk senyawa kompleks dan mengendap. Hal ini dikarenakan ion merkuri merupakan ion logam berat yang mampu mengendapkan senyawa alkaloid yang bersifat basa.

Identifikasi senyawa flavonoid ditambahkan serbuk Mg dan HCl

akan mereduksi inti benzopiron yang terdapat didalam struktur flavonoid sehingga terjadi perubahan warna.

Senyawa tanin adalah senyawa yang bersifat polar karena adanya gugus OH, ketika sampel ditambahkan  $\text{FeCl}_3$  1% akan terjadi perubahan warna seperti biru atau hijau kehitaman yang menandakan adanya senyawa tanin.

Buih yang dihasilkan pada identifikasi saponin bersifat stabil. Penambahan HCl mampu membuat busa lebih mantap dan stabil . Busa yang timbul disebabkan karena senyawa saponin mengandung senyawa yang sebagian larut dalam air (*hidrofilik*) dan senyawa yang larut dalam pelarut nonpolar (*hidrofobik*) sebagai surfaktan yang dapat menurunkan tegangan permukaan. Saat digojok, gugus *hidrofil* akan berikatan dengan air sedangkan gugus *hidrofob* akan berikatan dengan udara sehingga membentuk buih (Sulistyarini dkk., 2016).

Reaksi triterpenoid dengan pereaksi *Liebermann-Bouchard* menghasilkan warna merah-ungu sedangkan steroid memberikan warna hijau-biru. Hal ini didasari oleh kemampuan senyawa triterpenoid dan steroid membentuk warna oleh  $\text{H}_2\text{SO}_4$  dalam pelarut asam asetat anhidrid. Perbedaan warna yang dihasilkan oleh triterpenoid dan steroid disebabkan perbedaan gugus pada atom C-4

**Tabel VI Hasil Skrining Fitokimia**

| senyawa             | reagen                                                                                                                                                                                                                                | Persyratan mmi                                               | pengamat<br>an               | ket |
|---------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|------------------------------|-----|
| <b>Alkoid</b>       | 0,5 gram ekstrak + 1 ml Hcl 2N + 9 ml aquadest panaska dalam waktu 2-3 menit dinginkan saring filtrat. -3 tetes filtrat + 2 tetes pereaksi mayer                                                                                      | <b>Endapan kuning</b>                                        | <b>Endapan kuning</b>        | +   |
| <b>Flavonoid</b>    | 0,5 gram ekstrak etanol+ 10 ml larutan aquadest panas,didih 10 menit dan di saring keadaan panas +filtrat yang di peroleh di ambil 5 ml+ 0,1 gram serbuk mg dan 1 ml asam klorida pekat 2 ml amil alkohol dikocok dan biarkan memisah | <b>Warna merah ,kuning,jingga,p ada lapisan amil alkohol</b> | <b>Warna kuning</b>          | +   |
| <b>Tanin</b>        | 0,5 gram ekstrak + 10 ml aquadest kemudian filtrat di ambil 2 ml + 2 tetes preaksi FeCl <sub>3</sub> 1%                                                                                                                               | <b>Warna biru atau hijau kehitaman</b>                       | <b>Warna hijau kehitaman</b> | +   |
| <b>saponin</b>      | 0,5 gram ekstrak+ 10 ml aquadest panaskan kocok 10 menit +1 tetes asam klorida 2n                                                                                                                                                     | <b>Bila buih tidak hilang</b>                                | <b>Buih tidak hilang</b>     | +   |
| <b>Steroid</b>      | 1 gram + 20 ml kloroform+ pereaksi asam asetat anhidrat+asam sulfat pekat                                                                                                                                                             | <b>Hijau kebiruan</b>                                        | <b>hIjau kebiruan</b>        | +   |
| <b>Triterpenoid</b> | 1 gram + 20 ml kloroform+ pereaksi asam asetat anhidrat+asam sulfat pekat                                                                                                                                                             | <b>Berwarna jingga/ ungu</b>                                 | <b>Hijau kebiruan</b>        | -   |

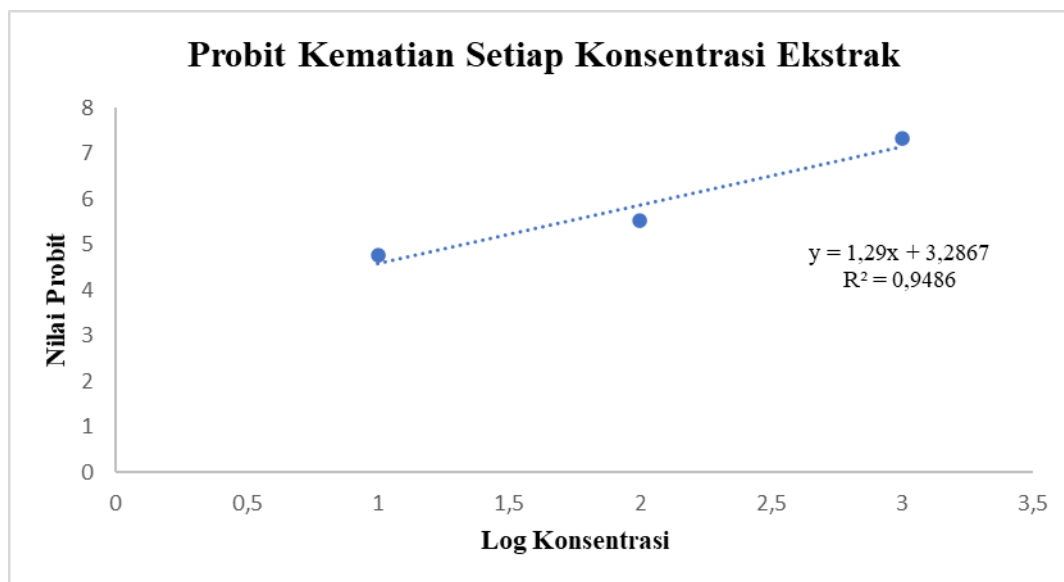
### 1. Uji BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)

Skrining toksisitas ekstrak metanol daun lempipi (*pergularia bruniana wigh &arn.*) dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) menggunakan larva *Artemia salina Leach* berumur 48 jam, dengan konsentrasi 10, 100, 1000 µg/ml.



**Tabel VII Hasil Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Lempipi (*Pergularia brunoniana* wigh&Arn)**

| Konsentrasi uji      | Log konsentrasi | Jumla larva uji (ekor) | Jumla larva yang mati |    |    |           | Persen kematian | Nilai Probit |
|----------------------|-----------------|------------------------|-----------------------|----|----|-----------|-----------------|--------------|
|                      |                 |                        | 1                     | 2  | 3  | Rata-rata |                 |              |
| 1000 µg/ml           | 3               | 30                     | 10                    | 10 | 10 | 10        | 33,3333<br>3333 | 4,56         |
| 100 µg/ml            | 2               | 30                     | 7                     | 6  | 8  | 7         | 23,3333<br>3333 | 4,23         |
| 10 µg/ml             | 1               | 30                     | 3                     | 4  | 4  | 4         | 13,3333<br>3333 | 3,77         |
| LC50= 21,28629 µg/ml |                 |                        |                       |    |    |           |                 |              |



**Gambar 3. Grafik Perbandingan Log Konsentrasi dengan Nilai**

Tabel IV menunjukkan perbandingan antara log konsentrasi dengan nilai probit. Dari tabel IV data yang diperoleh dibuat grafik seperti pada gambar 3 dan diperoleh hasil regresi linier  $y=1,29x+3,286$  dengan nilai korelasi sebesar 0,948. Nilai  $LC_{50}$  ditentukan dengan cara memasukkan nilai  $y=5$  dalam persamaan regresi linier kemudian dihitung antilognya.

Berdasarkan hasil perhitungan regresi diperoleh :

$$y= ax+b$$

$$y= 5$$

$$a= 3,2867$$

$$b= 1,29$$

$$r= 0,9486$$

Sehingga diperoleh persamaan Regresi :

Nilai  $LC_{50}$  :

$$Y = a + bx$$

Untuk  $\log LC_{50} (y) =$

$$5 = 3,2867 + 1,29x$$

$$x = \frac{5 - 3,2867}{1,29} = 1,3281$$

Sehingga  $LC_{50} = \text{Antilog } x$   
 $= \text{Antilog } 1,3286$

$$= 21,28629 \mu\text{g/ml}$$

Menurut Meyer *et al.* (1982) menuliskan bahwa suatu ekstrak memiliki aktivitas toksik apabila dapat membunuh 50% hewan uji pada konsentrasi  $< 1000 \mu\text{g/mL}$ . Selain itu berpotensi sebagai pertisida.berdasarkan hasil analisis probit LC50 pada ekstrak daun lempipi menunjukkan bahwa memiliki sifat toksisitas.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

Dari hasil penelitian tersebut diambil kesimpulan :

1. ekstrak daun lempipi ( *pergularia bruniana wigh &arn*) Berefek toksisitas dengan menggunakan metode BSLT(*Brine Shrimp Lethality Test*).
2. nilai  $LC_{50}$  dari ekstrak daun lempipi (*pergularia bruniana wigh &arn*) terhadap larva artemia salina menggunakan metode BSLT mendapatkan hasil sebesar 21,28629  $\mu\text{g/ml}$  .

#### **5.2 Saran**

##### **5.2.1 Bagi Akademik**

Semoga skripsi ini bisa dimanfaatkan sebagai data dan masukan untuk memberikan pemahaman dan mendukung proses pembelajaran yang berkaitan dengan judul skripsi ini.

##### **5.2.2 Bagi Peneliti lanjutan**

1. Disarankan kepada peneliti selanjutnya untuk meneliti daun lempipi (*Pergularia brunoniana Wight&Arn*) dengan menggunakan metode yang berbeda selain bslt.
2. Perlu ada penelitian lebih lanjut terkait ekstrak daun lempipi(*pergularia bruniana wigh &arn*) dengan semacam pelarut.

### 5.2.3 Bagi Masyarakat

Semoga masyarakat dapat memanfaatkan daun lempipi (*Pergularia brunoniana* Wight&Arn)

.

## DAFTAR PUSTAKA

- Djoko, Wahyuni, Shelly Taurhesia, Ratna Djamil, and Partomuan dkk Simanjuntak. 2020. "Standardisasi Ekstrak Etanol Herba Pegagan (*Centella asiatica*)." *Sainstech Farma* 13(2):118–23.
- Kamila, Khintan. 2019. "Efektivitas Ekstrak Tanaman Bidara Upas (*Zizyphus Spinachristi* L) Terhadap Pengendalian Bakteri *Staphylococcus Aureus*." *Skripsi. Universitas Pasundan. Fakultas Keguruan Dan Ilmu Pendidikan* 1(2010):8–25.
- Kuswati, Kuswati, and Widi Cahya Adi. 2021. "Gathering Nutritious Edible Wild Plants Based on Societies Indigenous Knowledge from Sempolan, Jember Regency." *Jurnal Biologi Tropis* 21(2):393–402. doi: 10.29303/jbt.v21i2.2607.
- Lestari, Dwi, Rudi Kartika, and Eva Marlina. 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):1–10. doi: 10.33759/jrki.v1i1.43.
- Nurainun, Nurainun, Yuni Andriani, and Lili Andriani. 2021. "Aktivitas Neuroprotektan Teh Celup Daun Sisik Naga (*pyrrosia piloselloides* (L.) M. G. Price) Terhadap Demensia." *Jurnal Sains Dan Kesehatan* 3(2):255–61. doi: 10.25026/jsk.v3i2.457
- Putri, Rizki Budiyo, WH Nugrahaningsih, and Nur Kusuma Dewi. 2021. "Uji Toksisitas Ekstrak Daun Cassava Terhadap Larva *Artemia Salina* Leach Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test*." *Indonesian Journal of Mathematics and Natural Sciences* 44(2):86–91. doi: 10.15294/ijmns.v44i2.33145.
- Sangi, Meiske S., Lidya I. Momuat, and Maureen Kumaunang. 2012. "uji toksisitas dan skrining fitokimia tepung gabah pelepah aren (*Arenga Pinnata*)." *Jurnal Ilmiah Sains* 12(2):127. doi: 10.35799/jis.12.2.2012.716.
- Syari, Dede Indra, Rhida- Aini, Rudi Hendra Sy, and Hilwan Yuda Teruna. 2018. "uji aktivitas toksisitas dari ekstrak tanaman miana merah (*Coleus Hybridus*) menggunakan metode BSLT ( *Brine Shrimp Lethality Test*)." *Photon: Jurnal Sain Dan Kesehatan* 9(1):164–69. doi: 10.37859/jp.v9i1.1076.
- Syukri, Yandi, Ririk Purwati, Nadia Hazami, Hady Anshory Tahmid, and Annisa Fitria. 2020. "Standardization of Specific and Non-Specific Parameters of Propolis Extract as Raw Material for Herbal Product." *EKSAKTA: Journal of Sciences and Data Analysis* 1(1):36–43. doi: 10.20885/eksakta.vol1.iss1.art6.

- Wahyu Ningdyah, Arimbi, Andi Hairil Alimuddin, and Afghani Jayuska. 2015. "uji toksisitas dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) terhadap hasil fraksinasi ekstrak kulit buah tampoi (*Baccaurea Macrocarpa*).” 4(1):75–83.
- Departemen Kesehatan RI. 2000, Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat (cetakan pertama), Jakarta, Direktorat pengawasan obat dan makanan Direktorat pengawasan obat tradisional
- Hanani, E, 2014, *Analisis Fitokima*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta
- Haeria, Hermawati, & Dg.Pine, A. T. (2016). Penentuan Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Bidara (*Ziziphus spina-christi L.*) Haeria,. *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*, 1(2), 57–61.
- Irma, 2013. uji to Djoko, Wahyuni, Shelly Taurhesia, Ratna Djamil, and Partomuan dkk Simanjuntak. 2020. “*Standardisasi Ekstrak Etanol Herba Pegagan (Centella Asiatica)*.” *Sainstech Farma* 13(2):118–23.
- Kamila, Khintan. 2019. “*Efektivitas Ekstrak Tanaman Bidara Upas (Zizyphus Spinachristi L)* Terhadap Pengendalian Bakteri *Staphylococcus Aureus*.” *Skripsi. Universitas Pasundan. Fakultas Keguruan Dan Ilmu Pendidikan* 1(2010):8–25.
- Kuswati, Kuswati, and Widi Cahya Adi. 2021. “*Gathering Nutritious Edible Wild Plants Based on Societies Indigenous Knowledge from Sempolan, Jember Regency*.” *Jurnal Biologi Tropis* 21(2):393–402. doi: 10.29303/jbt.v21i2.2607.
- Lestari, Dwi, Rudi Kartika, and Eva Marlina. 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):1–10. doi: 10.33759/jrki.v1i1.43.
- Nurainun, Nurainun, Yuni Andriani, and Lili Andriani. 2021. “*Aktivitas Neuroprotektan Teh Celup Daun Sisik Naga (Pyrrosia Piloselloides (L.) M. G. Price) Terhadap Demensia*.” *Jurnal Sains Dan Kesehatan* 3(2):255–61. doi: 10.25026/jsk.v3i2.457.
- Putri, Rizki Budiyo, WH Nugrahaningsih, and Nur Kusuma Dewi. 2021. “*Uji Toksisitas Ekstrak Daun Cassava Terhadap Larva Artemia Salina Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test*.” *Indonesian Journal of Mathematics and Natural Sciences* 44(2):86–91. doi: 10.15294/ijmns.v44i2.33145.

- Sangi, Meiske S., Lidya I. Momuat, and Maureen Kumaunang. 2012. "uji toksisitas dan skrining fitokimia tepung gabah pelepah aren (*arenga pinnata*).” *Jurnal Ilmiah Sains* 12(2):127. doi: 10.35799/jis.12.2.2012.716.
- Syari, Dede Indra, Rhida- Aini, Rudi Hendra Sy, and Hilwan Yuda Teruna. 2018. "uji aktivitas toksisitas dari ekstrak tanaman miana merah (*Coleus Hybridus*) menggunakan metode bslt ( Brine Shrimp Lethality Test).” *Photon: Jurnal Sain Dan Kesehatan* 9(1):164–69. doi: 10.37859/jp.v9i1.1076.
- Syukri, Yandi, Ririk Purwati, Nadia Hazami, Hady Anshory Tahmid, and Annisa Fitria. 2020. "Standardization of Specific and Non-Specific Parameters of Propolis Extract as Raw Material for Herbal Product.” *EKSAKTA: Journal of Sciences and Data Analysis* 1(1):36–43. doi: 10.20885/eksakta.vol1.iss1.art6.
- Wahyu Ningdyah, Arimbi, Andi Hairil Alimuddin, and Afghani Jayuska. 2015. "uji toksisitas dengan metode bslt (brine shrimp lethality test) terhadap hasil fraksinasi ekstrak kulit buah tampoi (*Baccaurea Macrocarpa*).” 4(1):75–83.
- Kamila, K. (2019). Efektivitas Ekstrak Tanaman Bidara Upas (*Zizyphus Spinachristi L*) terhadap Pengendalian Bakteri *Staphylococcus Aureus*. *Skripsi. Universitas Pasundan. Fakultas Keguruan Dan Ilmu Pendidikan*, 1(2010), 8–25.
- Rahmadona, 2023. penetapan kadar flavonoid dari ekstrak etanol daun lempipi (*pergularia brunoniana wight&Arn*) menggunakan metode spektrofotometri uv-vis
- Setiyawan(2017). karakteristik Dan Keragaman Morfologi *Apocynoideae*. Prosiding Seminar Hasil Penelitian dan Pemnfaatn Sumber Daya Alam. *Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang*
- Shahidi, F. *Natural Antioxidant, Chemistry, Health Effect and Application*, AOCS.Press Champaig: Illinois. 1994.
- Syari, D. I., Sy, R. H., & Teruna, H. Y. (2018). Uji Aktivitas Toksisitas Dari Ekstrak Tanaman Miana Merah (*Coleus Hybridus*) Menggunakan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). *Photon: Jurnal Sain dan Kesehatan*, 9(1), 164-169.



**L**

**A**

**M**

**P**

**I**

**R**

**A**

**N**

## Lampiran 1. Verifikasi Tanaman



KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN,  
RISET, DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS BENGKULU  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN  
ALAM  
**LABORATORIUM BIOLOGI**

Jln. WR Supratman Kandang Limun Bengkulu Tel. (0736) 20199 ex. 205

### Surat Keterangan

Nomor : 144./UN30.28.LAB.BIOLOGI/AM/2024

Telah dilakukan verifikasi taksonomi tumbuhan :

|             |                                                                                                                                                                    |
|-------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Ordo        | : Gentianales                                                                                                                                                      |
| Familia     | : Apocynaceae                                                                                                                                                      |
| Nama ilmiah | : <i>Marsdenia brunoniana</i> Wight&Arn.                                                                                                                           |
| Sinonim     | : <i>Pergularia brunoniana</i> (Wight&Arn.) D.Dietr.                                                                                                               |
| Nama daerah | : lempipi                                                                                                                                                          |
| Pelaksana   | : Dra. RR Sri Astuti, M.S.<br>19610328 198901 2 001                                                                                                                |
| Pengguna    | : Resi Puspitasari 20132033<br>Silvia Andriani 20132022<br>Utari Oktarina 20132027<br>Dwi Novitasari 21141018<br>Rafif Nugraha 21141043<br>Yolanda Prenty 21141074 |

Demikian Surat Keterangan ini dibuat untuk dapat digunakan sebagaimana mestinya.



Mengetahui,  
Kepala Laboratorium Biologi

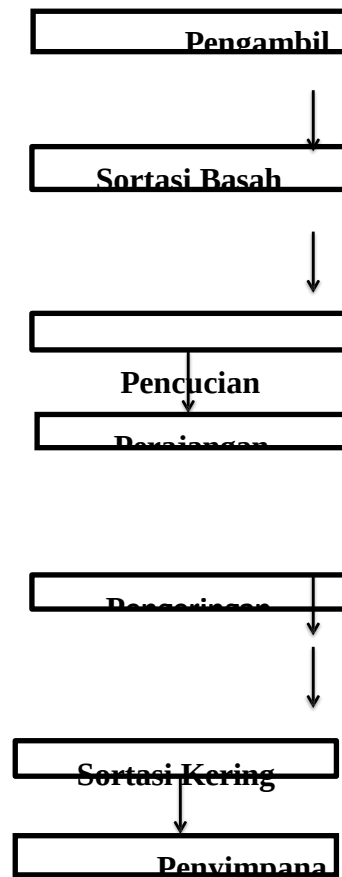
Dedi Satriawan  
NIP. 19841206 200801 1002

12 Februari 2024  
Pelaksana,

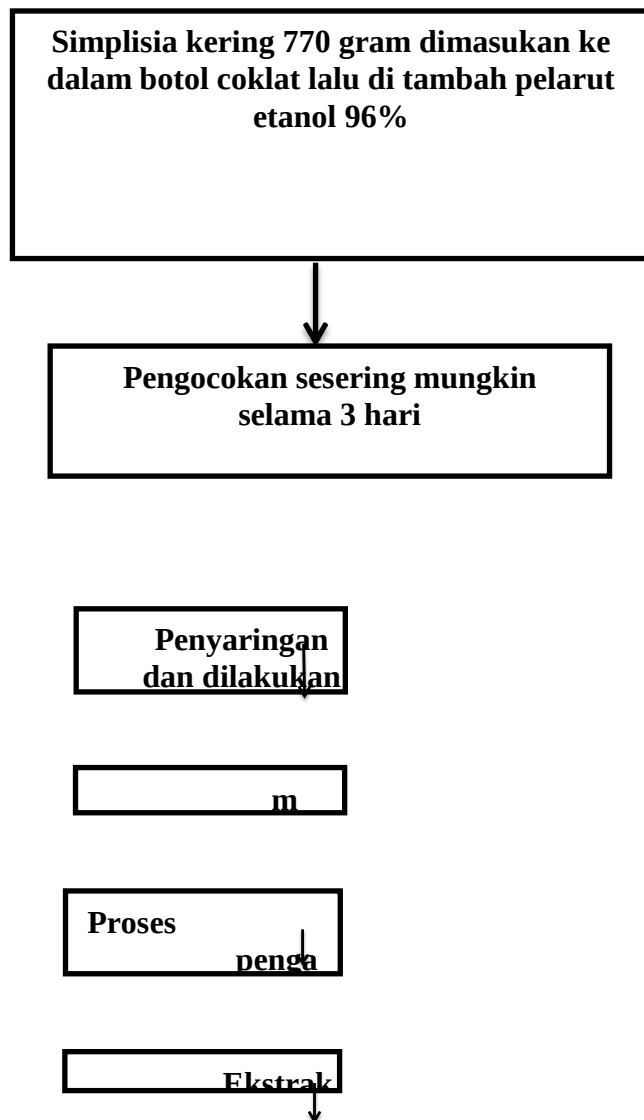
RR Sri Astuti  
NIP. 19610328 198901 2001

Gambar 5. 1 Verifikasi Tanaman

**Lampiran 2. Skema Kerja Pembuatan Simplisia daun lempipi (*Pergularia brunoniana* Wight&Arn)**



**Lampiran 3. Skema Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Lempipi (*Pergularia brunoniana* Wight&Arn)**



Lampiran 4. Proses Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Lempipi (*Pergularia brunoniana* Wight&Arn)



Pengumpulan bahan baku



Sortasi basah



Pencucian



Perajangan



Pengeringan



Sortasi kering



Simplisia kering



Masukan simplisia  
kedalam botol gelap



Penambahan etanol 96%



Penyaringan

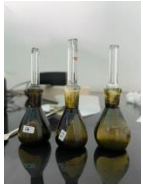


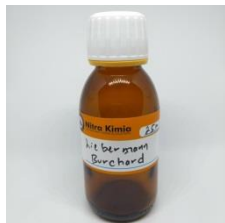
Penguapan  
menggunakan  
*rotary evaporator*



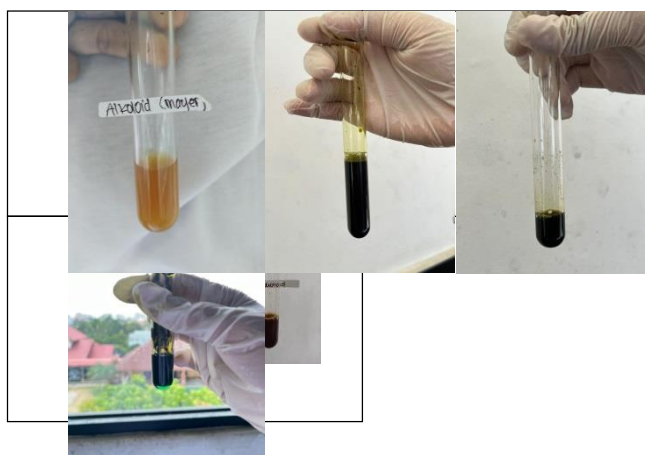
Ekstrak kental

## Lampiran 5. Alat

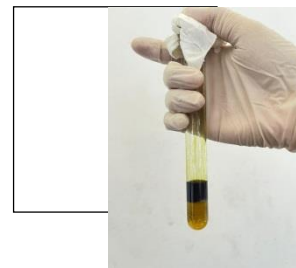
|                                                                                                              |                                                                                                          |                                                                                                               |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  <p>Timbangan Analitik</p>  |  <p>Pisau/Carter</p>    |  <p>Botol Kaca Cokelat</p> |
|  <p>Beaker glass</p>        |  <p>Erlenmeyer</p>      |  <p>Rotary Evaporator</p>  |
|  <p>Gelas ukur</p>        |  <p>Cawan Penguap</p> |  <p>Tabung reaksi</p>    |
|  <p>Rak tabung reaksi</p> |  <p>Labu ukur</p>     |  <p>Pipet tetes</p>      |
|  <p>Kertas saring</p>     |  <p>Oven</p>          |  <p>Piknometer</p>       |

|                                                                                     |                                                                                      |                                                                                       |
|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
|    |     |    |
| Simplisia Kering                                                                    | Etanol 96%                                                                           | NaOH                                                                                  |
|    |     |    |
| Amil alkohol                                                                        | Aquadest                                                                             | Kloroform                                                                             |
|  |  |  |
| Serbuk Magnesium                                                                    | Mayer                                                                                | Liebermann burchard                                                                   |
|  |   |                                                                                       |
| Dragendroff                                                                         | FeCl3                                                                                |                                                                                       |

**Lampiran 6. Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Lempipi  
(*Pergularia burniana* Wight&Arn)**







## Lampiran 7. Perhitungan Parameter Spesifik dan Non Spesifik

### 1. Perhitungan parameter spesifik

#### c. Penetapan kadar sari larut air

$$\text{kadar sari larut air} = \frac{0,10 \text{ gram}}{1 \text{ gram}} \times \frac{20}{4} \times 100\% = 50\%$$

#### d. Penetapan kadar sari larut etanol

$$\text{kadar sari larut etanol} = \frac{0,17 \text{ gram}}{1 \text{ gram}} \times \frac{20}{4} \times 100\% = 85\%$$

Syarat kadar sari larut air dan kadar sari larut etanol yaitu <100% (Dayanti, Aulia Rachma dan Saptawati, 2022). Jadi, penetapan kadar sari larut air dan penetapan kadar sari larut etanol pada penelitian ini memenuhi syarat.

### 2. Perhitungan parameter non spesifik

#### a. Susut Pengeringan

$$\text{susut pengeringan} = \frac{\text{Berat awal} - \text{Berat akhir}}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$$

$$1) \frac{49,5992 - 49,5219}{1} \times 100\% = 7,73\%$$

$$2) \frac{49,5994 - 49,5216}{1} \times 100\% = 7,78\%$$

$$3) \frac{49,5998 - 49,5214}{1} \times 100\% = 7,84\%$$

| Pengujian        | I     | II    | III   | Rata-Rata | Syarat | Keterangan      |
|------------------|-------|-------|-------|-----------|--------|-----------------|
| Susut Pengerinan | 7,73% | 7,78% | 7,84% | 7,78%     | <10%   | Memenuhi Syarat |

b. Penetapan Kadar Air

$$\text{kadar air} = \frac{A - B}{A} \times 100\%$$

keterangan :

A : bobot sampel sebelum dipanaskan

B : bobot sampel setelah dipanaskan

$$1) \frac{20,3 - 19,4}{20,3} \times 100\% = 4,4\%$$

$$2) \frac{19 - 18,2}{19} \times 100\% = 4,2\%$$

$$3) \frac{41,6 - 40,7}{41,6} \times 100\% = 2,1\%$$

| Pengujian | I    | II   | III  | Rata-Rata | Syarat | Keterangan      |
|-----------|------|------|------|-----------|--------|-----------------|
| Kadar Air | 4,4% | 4,2% | 2,1% | 3,5%      | <8,9%  | Memenuhi Syarat |

### Lampiran 8. Pehitungan pengenceran

Stok : 50 mg / 5 ml = 10000 ppm 1) 1000 µg/ml

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 10000 = 5000 \cdot 1000$$

$$V_1 = 500 \mu\text{l}$$

2) 100 µg/ml

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 10000 = 5000 \cdot 100$$

$$V_1 = 50 \mu\text{l}$$

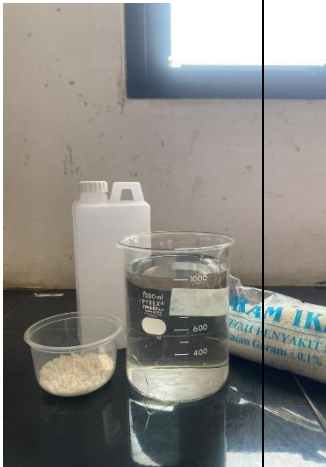
3)  $10 \mu\text{g/ml}$

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 10000 = 5000 \cdot 10$$

$$V_1 = 5 \mu\text{l}$$

### Lampiran 9. Penyiapan larva

|                                                                                                                  |                                                                                                                        |                                                                                                                                               |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  <p>Alat dan bahanyang di</p> |  <p>Telur larva di masukkan di</p> |  <p>Tinggal menunggu larva menetas sampai 48 jam dan</p> |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

|         |             |                               |
|---------|-------------|-------------------------------|
| gunakan | dalam wadah | larva di terangi dengan lampu |
|---------|-------------|-------------------------------|

**Lampiran 10. Uji Toksisitas Ekstrak Daun Lempipi (*pergularia Brunoniana* Wight & Arn) Dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Leathality Test*)**

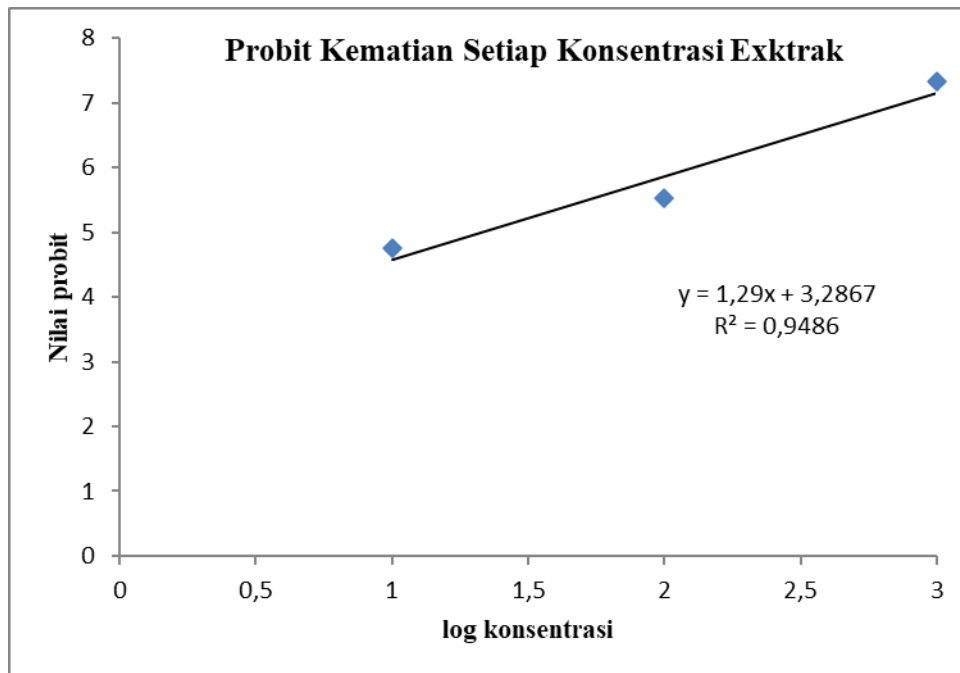
|                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                |                                                                                                                          |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  <p>Timbangan ekstrak</p>                                       |  <p>Etanol 5 ml</p>                                           |  <p>Botol vial yang di gunakan</p>    |
|  <p>Memasukan larutan ke dalam vial sesuai konsentrasi</p>     |  <p>Memasukan larva ke dalm vial menggunakan pipet tetes</p> |  <p>Menunggu larva sampai 24 jam</p> |
|  <p>Sesudah menunggu 24 jam larva bisa di lihat yang mati</p> |                                                                                                                                                |                                                                                                                          |

**Lampiran 11. Hasil Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Lempipi (*Pergularia brunoniana wigh&Arn*)**

| Konsentrasi | Log | Jumla | Jumla larva yang mati | Persen | Nilai |
|-------------|-----|-------|-----------------------|--------|-------|
|-------------|-----|-------|-----------------------|--------|-------|

| uji                   | konsentrasi | larva uji<br>(ekor) | 1  | 2  | 3  | Rata<br>-rata | kematian        | Probit |
|-----------------------|-------------|---------------------|----|----|----|---------------|-----------------|--------|
| 1000 µg/ml            | 3           | 30                  | 10 | 10 | 10 | 10            | 33,33333<br>333 | 4,56   |
| 100 µg/ml             | 2           | 30                  | 7  | 6  | 8  | 7             | 23,33333<br>333 | 4,23   |
| 10 µg/ml              | 1           | 30                  | 3  | 4  | 4  | 4             | 13,33333<br>333 | 3,77   |
| LC50== 21,28629 µg/ml |             |                     |    |    |    |               |                 |        |

### Lampiran 12. Nilai probit





**Lampiran 13. Tabel probit**

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