UJI SKRINING DAN TOKSISITAS DAUN LEMPIPI (*Gymnema inodorum(lour)Decne*.) DENGAN METODE BSLT *(Brine Shrimp Lethality Test)*

KARYA TULIS ILMIAH

Di ajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Madya Farmasi (A.MdFarm)

Oleh:
Alfa Nadinda Azdkia
23161007

YAYASAN AL FATHAH
PROGRAM STUDI D3 FARMASI
SEKOLAH TINGGI KESEHATAN ALFATHAH
BENGKULU
2026

PERNYATAAN DAN KEASLIAN TULISAN

Yang bertanda tangan di bawah ini adalah:

Nama : Alfa Nadinda Azdkia

NIM : 23161007

Program Studi : D3 Farmasi

Judul : UJI SKRINING DAN TOKSISITAS DAUN LEMPIPI (*Gynema inodorum* (lour) *decne.*) DENGAN METODE BSLT (*Brine shrimp lethality test*)

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa Karya Tulis Ilmiah 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, 2026

Yang Membuat Pernyataan,



Alfa Nadinda Azdkia

ii

HALAMAN PENGESAHAN

KARYA TULIS ILMIAH

"UJI SKRINING DAN TOKSISITAS DAUN LEMPIPI (*Gymnema inodorum(lour)Decne.*) DENGAN METODE BSLT *(Brine Shrimp Lethality Test)*

Oleh :

Alfa Nadinda Azdkia
23161007

Karya Tulis Ilmiah Ini Telah Dipertahankan Di Hadapan Penguji Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Menempuh Ujian Diploma (D III) Farmasi Di Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Bengkulu

Pada Tanggal : 13 Mei 2026

Disetujui Oleh :

Pembimbing I	Pembimbing II
Nurwani Purnama A,M.Farm.,Apt	**Herlina, M.Si**
NIDN.0208028801	**NIDN.0201058502**

Penguji

Elvina Triana Putri,M.Farm.,Apt
NIDN: 0330089101

MOTO DAN PERSEMBAHAN

MOTTO:



"Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kemampuannya".

(Qs. Al-Baqarah : 268)

"Perang telah usai, aku bisa pulang Kubaringkan panah dan berteriak MENANG!!!".

(**Nadin Amizah**)

PERSEMBAHAN:

Tiada lembar yang paling indah dalam laporan skripsi ini kecuali lembar persembahan. Dengan mengucap syukur Alhamdulillah sungguh sebuah perjuangan yang cukup panjang yang telah penulis yang telah penulis lalui untuk dapat menyelesaikan KTI ini demi mendapatkan gelar yang sudah penulis impikan dari lama. Rasa syukur dan bahagia yang penulis rasakan ini akan penulis persembahkan juga kepada orang orang yang sangat berarti dalam proses perjalanan penulis, karena berkat doa dan dukungan dari mereka penulis bisa menyelesaikan KTI ini dengan baik. KTI ini penulis persembahkan kepada :

1. Allah SWT, semoga KTI ini menjadi salah satu bentuk ibadah yang dapat bermanfaat di dunia dan di akhirat.
2. Kepada Pembimbing KTI Ibu Nurwani Purnama Aji, M.Farm.,Apt dan Ibu Herlina, M.Si Penulis mengucapkan terimakasih dan penghargaan sebesar-besarnya yang telah sabar, tulus dan ikhlas meluangkan waktu dan pikiran

untuk memberikan bimbingan, motivasi, arahan, dan saran yang berharga kepada penulis selama penyusunan skripsi ini.

3. Kepada Ibu Elvina Triana Putri, M.Farm.,Apt selaku penguji KTI terimakasih atas kritik dan sarannya untuk skripsi ini.
4. Karya ini penulis persembahkan kepada seluruh staf akademik dan non-akademik di lingkungan Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Bengkulu yang telah memberikan dukungan, pelayanan, dan semangat selama masa studi. Terima kasih atas dedikasi dan kerja keras Bapak/Ibu dalam menciptakan suasana kampus yang kondusif, nyaman, dan penuh semangat belajar. Semoga kebaikan dan ketulusan yang diberikan menjadi amal jariyah yang terus mengalir.
5. Kepada Ayah handa tercinta Achmad Bachran cinta pertama penulis, yang rela bekerja jauh ke negara tetangga, melawan ekstrimnya lelautan negara lain. Terimakasih telah memperjuangkan semua hal demi kebahagian penulis, terimakasih telah selalu menyemangatkan penulis dalam setiap langkah yang penulis ambil dalam hidup. Terimakasih atas semua perlindungan dari kerasnya dunia. Terimaksih atas pundak yang selalu kuat menopang penulis untuk mengangat penulis menjadi seseorang yang berpendiidkan. terimaksih untuk setiap keringat air mata yang ayahanda korbankan demi kehidupan penulis. Sehat dan panjang umur selalu lelaki hebatku, pahlawan hidupku. Ayah harus selalu ada di perjuangan dan pencapaian terbaik pnulis
6. Kepada dunia ku ibunda tercinta Noni Yati yang telah banyak melewati hal sulit, sosok luar biasa yang selalu hadir dalam doa dan semangat, yang doannya

menembuas langit dan bumi tanpa henti. Terimaksih atas cinta dan kasih sayang yang tak henti dan tak tertandingi, atas doa yang selalu menyertai setiap langkah penulis hingga sampai di titik ini, terimaksih untuk selalu memprioritaskan pendidikan penulis sampai ke tingkat ini. Terimakasih untuk semua makanan enak yang bunda masak, untuk rumah hangat nyaman dan tenang yang bunda berikan. Maaf untuk semua kekuarangan penulis pada saat menempuh pendidikan, sehat dan panjang umur selalu wanita hebatkan, dunia ku. Bunda harus selalu ada di setiap perjuangan dan pencapian terbaik penulis

7. Kepada Adik lelaki satu satunya penulis, Radithya archard el bahrain terimkasi telah telah menjadi penghibur penulis di titik lelah penulis, terimakasih telah menjadi sosok lelaki yang kuat melawan kehidupan, terimakasih atas semua sabar yang telah di berikan, terimakasih telah menjadi sosok laki-laki yang baik, maaf jika di saat masa pendiidkan penulis jika harus mengalah dalam banyak hal untuk penulis.
8. Kepada keluarga beser tercinta Rahman Balqis family, dan semua keluarga penulis yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, terimkasih atas dukungan dan semangar yang telah diberikan sehingga penulis bisa berada dititik ini, terimakasih atas do'a yang terucap, terimakasih untuk masukkan yang membangun kehidupanku dan masa depan menjadi lebih baik.
9. Kepada M raihan tiaz saputra, seorang yang tidak kalah penting kehadiranya di hidup penulis.Terimakasih telah datang menjadi penerang di tengah kehidupan penulis, terimakasih atas semnagatt yang tak pernah henti di berikan, terimakasih atas semua bantukan baik dari pikiran ataupun moral, terimkasih

untuk sabar yang seluas samudra yang dengan tenang menampung setiap keluh kesah penulis selama perjalanan proses karya ini, Terimkasih untuk cinta yang tidak pernah berubah kasih sayang yang tumbuh sangat tulus, terimkasih atas perjalanan berharga yang berisi banyak pembelajaran untuk kita, terimkasih atas tidak pernah mengeluh menghadapi wanita serumit diriku, terimakasih telah meluluhkan dan menerima semua kacauku. Aku berharap dan berdoa kebahagian selalu hadir di hari hari mu aku berharap kau ada sampai akhir perjuanganku, begitupun aku harap kau selalu melibatkanku dalam proses mu.

10. Kepada sahabat kecilku, yang sudah seperti saudara sendiri, Lestari, fayza zahira, zafira rizki awaliya. Nama yang selalu menemani penulis hampir di setengah umur prnulis, yang tidak sedarah namun searah, yang menjadi peneduh dikala derita tumbuh, yang sama sama sedang belari dalam perjuangan tumbuh bersama mereka adalah hal yang paling di syukuri. Terimakasih atas semua hal yang kalian berikan untuk penulis sampai penulis bisa di titik sekarang.Terimakasih atas semua momen indah yang telah kita ciptakan bersama, terimahkasih untuk kasih sayang, waktu, tenaga, materi yang telah di berikan untuk mendukung penulis. Terimaksih telah menjadi tempat pulang ternyaman dari hiruk pikuk perantauan. Semoga langkah kalian selalu ditemani takdir yang bersahabat dan harapan yang tak pernah lelah berjalan, semoga mimpi kalian selalu di jalan yang kalian doakan dan harapkan.

    I love you kecebong sukses selalu kita

11. Kepada sahabat seperjuangan di bangku perkuliahan Ratih apriliana, Nobelia azahra, Puput anggraini, Azzizah oktaviani, Hena judia novanti. Nama nama

yang menemani setiap langkah penulis di bangku kuliah, nama yang sama sama berjuang demi sebuah gelar. Terimakasih telah menemani penulis melewati masa-masa indahnya perkuliahan baik senang maupun sedih, terimakasih telah banyak membantu paking depan saat penulis di perantauan, terimakasih telah berbagi segala rasa dan semua peristiwa yang akan terjadi, terimakasih untuk semua momment yang kita semua ciptakan. Semoga setelah ini kalian bisa melewati dan menjalani hidup yang kalian impikan dengan takdir yang selalu bersahabat. Terimaksih telah melukis indah kehidupan dan perjalanan kuliahku di dunia prantauan yang tidak mudah ini. Terimakasih untuk semua kebaikan kalian. *Love you gaez, countinue living well*

12. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatau yang telah banyak membantu memberikan pemikiran demi kelancaran dan keberhasilan penyusunan KTI ini.

KATA PENGANTAR

Puji syukur peneliti ucapkan kehadirat Allah SWT, karena atas berkat dan rahmad Nya peneliti dapat menyusun karya tulis ilmiah dengan judul ”Uji skrining dan toksisitas daun lempipi (*Gymnema inodorum (lour) Decne*.) Dengan Metode BSLT *(Brine ShrimpLethality Test)*” sebagai salah satu syarat memperoleh gelar Amd Farmasi di Program Studi D3 Farmasi STIKES Al-Fatah Kota Bengkulu. Dalam proses penyusunan KTI ini peneliti banyak mendapat bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini peneliti menyampaikan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada yang terhormat:

1. Ibu Nurwani Purnama A,M.Farm.,Apt selaku Pembimbing 1 yang telah tulus memberikan bimbingan dan arahan kepada saya dalam penyusunan karya tulis ilmiah ini.
2. Ibu Herlina, M.Si selaku pembimbing 2 yang telah tulus memberikan bimbingan dan arahan kepada saya dalam penyusunan karya tulis ilmiah ini.
3. Ibu Elvina Triana Putri,M.Farm.,Apt selaku penguji dalam seminar hasil karya tulis ilmiah
4. Ibu Betna Dewi, M.Farm., Apt selaku Pembimbing Akademik
5. Ibu Gina Lestari, M.Farm.,Apt Selaku Ketua Sekolah Tinggi Kesehatan Al Fatah Bengkulu.
6. Bapak Drs. Djoko Triyono, Apt., MM Selaku Ketua Yayasan Stikes Al-Fatah Bengkulu.

7. Para Dosen dan Staf Karyawan Stikes Al-Fatah Bengkulu yang telah memberikan ilmu pengetahuan kepada penulis selama menempuh pendidikan di Stikes Al-Fatah Bengkulu.
8. Rekan-rekan seangkatan di Stikes Al-Fatah Bengkulu,yang tidak bisa saya sebutkan satuper satu

Penulis menyadari masih banyak terdapat kekurangan oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun, supaya penulis dapat memperbaiki kesalahan ini. Akhir kata penulis mengucapkan terimakasih dan semoga penelitian ini bisa bermanfaat bagi penulis dan dosen, rekan-rekan sekalian, tenaga kesehatan, civitas akademika, dan para pembaca serta seluruh masyarakat didunia.

Bengkulu, 13 Mei 2026

penulis

DAFTAR ISI

PERNYATAAN DAN KEASLIAN TULISAN .Error! Bookmark not defined.
LEMBAR PENGESAHAN .....Error! Bookmark not defined.
MOTO DAN PERSEMBAHAN iii
KATA PENGANTAR..... viii
DAFTAR ISI.....x
DAFTAR GAMBAR..... xii
DAFTAR TABEL xiii
DAFTAR LAMPIRAN..... xiv
INTISARI xv
BAB I PENDAHULUAN.....1
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
1.5.1 Bagi Akademik..... 4
1.5.2 Bagi Peneliti lanjutan..... 4
1.5.3 Bagi Masyarakat 4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA 5
2.1 Kajian Teori 5
2.1.1 Tanaman Lempipi (*Gymnema inodorum(lour)Decne*) 5
2.1.2 Metode Ekstraksi 8
2.1.3 Skrining Fitokimia 11
2.1.4 Kromatografi lapis tipis 13
2.1.5 Toksikologi 15
2.1.6 Uji Toksisitas Umum 15
2.1.7 Uji Toksisitas Khusus 17
2.1.8 Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)..... 19
2.1.9 Larva Udang (*Artemia Salina* L.) 20
2.2 Kerangka konsep.....22
BAB III METODE PENELITIAN 23
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian 23

3.2 Alat dan Bahan 23
3.2.1 Alat..... 23
3.2.2 Bahan 23
3.3 Rancangan dan Prosedur Kerja Penelitian 24
3.3.1 Pengambilan dan pengelolaan Daun Lempipi (*Gymnema inodorum(lour)Decne*) 24
3.3.2 Pembuatan ekstrak Daun Lempipi (*Gymnema inodorum(lour) Decne*) dengan metode infundasi 24
3.3.3 Uji Skrining Infusa Daun Lempipi (*Gymnema inodorum(lour) Decne*) 25
3.3.4 KLT (kromatografi lapis tipis)..... 26
3.4 Toksisitas 28
3.4.1 Penetasan Telur Larva Udang (*Artemia salina* L.)..... 28
3.4.2 Pembuatan Larutan Uji 29
3.4.3 Prosedur Uji Toksisitas dengan Metode BSLT..... 29
3.5 Analisis Data 30
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN ..... Error! Bookmark not defined.
4.1 Hasil Penelitian.....**Error! Bookmark not defined.**
4.1.1 Hasil dan Pembahasan Verifikasi Tanaman ..... **Error! Bookmark not defined.**
4.1.2 Hasil dan Pembahasan Infusa daun lempipi (*Gynema inodorum (Lour)Decne*).....**Error! Bookmark not defined.**
4.1.3 Hasil dan pembahasan uji skrining daun lempipi *(Gynema inodorum(lour) decne)* .....**Error! Bookmark not defined.**
4.1.4 Hasil dan pembahasan ujiKLT (*Kromatografi Lapis Tipis*) infusa Daun Lempipi (*Gynema inodorum (lour) decne*) ...**Error! Bookmark not defined.**
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....**Error! Bookmark not defined.**
5.1 Kesimpulan.....**Error! Bookmark not defined.**
5.2 Saran .....**Error! Bookmark not defined.**
DAFTAR PUSTAKA.....59
LAMPIRAN..... Error! Bookmark not defined.

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Tanaman bunga lempipi (*Gynema inodorum(lour)Decne*) 5

Gambar 2. Artemia Salina Leach, (Airlangga, 2023) 20

Gambar 3. Kerangka konsep 22

Gambar 4. Reaksi Pada Uji Mayer.....**Error! Bookmark not defined.**

Gambar 5. Reaksi Pada Uji Dragendroff .....**Error! Bookmark not defined.**

Gambar 6. Reaksi Pada Uji Flavonoid.....**Error! Bookmark not defined.**

Gambar 7. Hasil Plat KLT Flavonoid Pada Sinar UV 254 nm ...**Error! Bookmark not defined.**

Gambar 8. Hasil Plat KLT Saponin Pada Sinar UV 254 nm .....**Error! Bookmark not defined.**

Gambar 9. Hasil Plat KLT Terpenoid Pada Sinar UV 254 nm...**Error! Bookmark not defined.**

Gambar 10. Grafik Perbandingan Log Konsentrasi dengan Nilai Probit.....**Error! Bookmark not defined.**

DAFTAR TABEL

Tabel I. Nilai Probit LC50 19

Tabel II. Tabel probit 30

Tabel III. Hasil Uji Organoleptik Infusa Daun lempipi (*Gynema indorum (lour) decne*) .....**Error! Bookmark not defined.**

Tabel IV. Hasil Uji Skrining Fitokimia Infusa infusa daun lempipi (*Gynema inodorum (lour) decne*).....**Error! Bookmark not defined.**

Tabel V. Hasil uji KLT infusa Daun Lempipi (Gynema inodorum (lour) decne).....**Error! Bookmark not defined.**

Tabel VI. Hasil Uji Toksisitas Infusa Daun Lempipi (*Gynema inodorum (lour) decne)*.....**Error! Bookmark not defined.**

Tabel VII. Hasil Perhitungan LC_{50} Daun Lempipi (*Gynema inodorum (lour) decne*).....**Error! Bookmark not defined.**

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Verifikasi tanaman lempipi .....**Error! Bookmark not defined.**

Lampiran 2. Pembuatan infundasi.....**Error! Bookmark not defined.**

Lampiran 3. Evaluasi Infusa .....**Error! Bookmark not defined.**

Lampiran 4. Skrining fitokimia.....**Error! Bookmark not defined.**

Lampiran 5.Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)..**Error! Bookmark not defined.**

Lampiran 6. Uji BSLT .....**Error! Bookmark not defined.**

Lampiran 7. Perhitungan nilai Rf.....**Error! Bookmark not defined.**

Lampiran 8. Perhitungan Pengenceran Larutan Uji..... **Error! Bookmark not defined.**

Lampiran 9. Perhitungan LC_{50} .....**Error! Bookmark not defined.**

INTISARI

Pemanfaatan tanaman obat sebagai sumber bahan alam terus berkembang seiring meningkatnya kebutuhan terhadap bahan obat yang berpotensi memberikan manfaat farmakologis. Salah satu tanaman yang berpotensi dimanfaatkan adalah daun lempipi (*Gymnema inodorum (Lour.) Decne*) yang diketahui mengandung berbagai metabolit sekunder. Namun, informasi mengenai kandungan metabolit sekunder dan toksisitas daun lempipi segar masih terbatas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder serta toksisitas infusa daun lempipi.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan daun lempipi segar yang diekstraksi dengan metode infundasi. Infusa dilakukan skrining fitokimia dan identifikasi menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Uji toksisitas dilakukan dengan metode ***Brine Shrimp Lethality Test*** (BSLT) menggunakan larva *Artemia salina* pada konsentrasi 100, 200, 400, 600, dan 800 ppm dengan tiga kali pengulangan. Pengamatan mortalitas dilakukan selama 24 jam dan nilai LC_{50} dihitung menggunakan regresi linier antara log konsentrasi dan nilai probit.

Hasil penelitian menunjukkan infusa daun lempipi mengandung flavonoid, terpenoid, dan saponin. Hasil KLT menunjukkan nilai Rf flavonoid **0,91**, saponin **0,75,** dan terpenoid **0,78**. Mortalitas larva meningkat seiring peningkatan konsentrasi, dengan kematian tertinggi 20% pada konsentrasi 800 ppm. Nilai LC_{50} diperoleh sebesar **6059,17 ppm**, sehingga infusa daun lempipi dikategorikan tidak toksik terhadap *Artemia salina*.

Kata kunci: daun lempipi, Gymnema inodorum, infusa, skrining fitokimia, BSLT, toksisitas.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Dalam kebutuhan obat tradisional lokal maupun penelitian farmasi modern, tanaman obat tradisional masih semakin banyak digunakan. Salah satu tanaman yang menarik perhatian adalah (*Gymnema inodorum (Lour) Decne*), yang merupakan tanaman yang umum digunakan di Asia Tenggara untuk pengendalian gula darah, antioksidan, dan aktivitas farmakologis lainnya. Sejumlah penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa daun *G. inodorum* mengandung flavonoid, tanin, saponin, dan senyawa fenolik lainnya, yang mendukung aktivitas antioksidan dan biologisnya (Jeytawan *et al*., 2022).

Tanaman genus *Gymnema* dibandingkan dengan tanaman obat lain, informasi mengenai toksisitas dan profil keamanan *G. inodorum* masih relatif terbatas, meskipun terdapat bukti potensi farmakologisnya. Sebelum menyarankan penggunaan klinis atau aplikasi diet, skrining toksisitas sangat penting karena beberapa anggota genus *Gymnema* telah terbukti memiliki efek samping pada hati dan ginjal pada dosis tertentu. Oleh karena itu, sebelum melanjutkan ke tahap pengujian lebih lanjut, studi toksisitas awal yang cepat dan terjangkau diperlukan untuk menyaring potensi konsekuensi berbahaya (Banti, 2021).

Kandungan metabolit sekunder utama yang ditemukan dalam daun *Gymnema inodorum* meliputi fenolik, flavonoid (termasuk kaempferol dan quercetin), asam gymnemik (glikosida triterpenoid), saponin, dan steroid (seperti sterol). Hasil ini sejalan dengan sejumlah penelitian fitokimia yang menunjukkan

bahwa spesies *Gymnema* mengandung steroid, flavonoid, fenol, dan glikosida triterpenoid (Tiwari *et al*., 2014).

Penggunaan infusa daun lempipi secara tradisional umumnya belum didasarkan pada data ilmiah terkait profil toksisitasnya. Padahal, penilaian toksisitas awal sangat penting sebagai dasar untuk menentukan tingkat keamanan suatu bahan alam sebelum dikembangkan lebih lanjut menjadi sediaan obat atau suplemen herbal. Salah satu metode yang banyak digunakan untuk uji toksisitas pendahuluan adalah Brine Shrimp Lethality Test (BSLT), karena metode ini sederhana, cepat, ekonomis, serta mampu memberikan gambaran awal mengenai potensi toksik suatu ekstrak berdasarkan nilai LC_{50} .

Selain itu, skrining fitokimia dan analisis menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) diperlukan untuk mengidentifikasi golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam infusa daun lempipi. Informasi mengenai kandungan senyawa dan tingkat toksisitas ini diharapkan dapat menjadi landasan ilmiah dalam pemanfaatan daun lempipi secara aman serta mendukung pengembangan penelitian lanjutan di bidang farmakognosi dan toksikologi bahan alam.

Belum ada penelitian yang mengungkapkan nilai toksisitas pada daun lempipi segar (*Gymnema inodorum(lour)Decne)*. Oleh karena itu penelitian ini dilakukan untuk mengetahui tosisitas dari daun lempipi segar (*Gymnema inodorum(lour)Decne)* menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Tes* (BSLT)

Berdasarkan uraian tersebut, maka penelitian mengenai uji skrining fitokimia dan toksisitas infusa daun lempipi (Gymnema inodorum (Lour.) Decne)

menggunakan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) perlu dilakukan guna memberikan data ilmiah terkait kandungan senyawa aktif serta tingkat keamanan penggunaannya.

1.2 Batasan Masalah

a. Sampel yang digunakan adalah daun lempipi segar (*Gymnema inodorum(lour)Decne)*

b. Daun lempipi (*Gymnema inodorum(lour)Decne*) dilakukan ekstraksi dengam metode infundasi

c. Ekstrak daun lempipi (*Gymnema inodorum(lour)Decne*) dilakukan uji skrining fitokimia dengan metode tabung, dilanjutkan uji dengan metode Komatografi lapis tipis (KLT)

d. Ekstrak daun lempipi segar (*Gymnema inodorum(lour)Decne*) dilakukan uji toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) menggunakan larva udang (*Artemia salina*).

1.3 Rumusan Masalah

a. Bagaimanakah kandungan metabolit sekunder dari infusa daun lempipi segar (*Gymnema inodorum(lour)Decne*)

b. Bagaimanakah hasil uji toksisitas dari infusa daun lempipi segar (*Gymnema inodorum(lour)Decne*), dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) menggunakan larva udang (*Artemia salina*).

1.4 Tujuan Penelitian

a. Untuk mengetahui metebolit sekunder dari ekstrak infusa daun lempipi segar (*Gymnema inodorum(lour)Decne*)

b. Untuk mengetahui apakah infusa daun lempipi segar (*Gymnema inodorum(lour)Decne*) bersifat toksik menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1 Bagi Akademik

Hasil penelitian ini dapat menjadi wawasan serta menambah pengetahuan bagi perkembangan akademik dan dapat digunakan sebagai referensi untuk penelitian mahasiswa Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Kota Bengkulu.

1.5.2 Bagi Peneliti lanjutan

a. Dapat berfungsi sebagai sumber informasi serta referensi yang bermanfaat bagi mahasiswa dan mahasiswi Stikes Al-Fatah Kota Bengkulu.

1.5.3 Bagi Masyarakat

Memberikan pengetahuan serta informasi bagi masyarakat mengenai variasi senyawa bioaktif dalam infua daun lempipi (*Gymnema inodorum(lour)Decne*). Serta landasan dasar dan informasi mengenai katagori toksisitas dan resiko keamanan dari komsumsi olahan infusa daun lempipi (*Gymnema inodorum(lour)Decne*)

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kajian Teori

2.1.1 Tanaman Lempipi (*Gymnema inodorum(lour)Decne*)



Gambar 1. Tanaman bunga lempipi (*Gynema inodorum(lour)Decne*)

Tanaman lempipi memiliki batang dengan cabang cabang 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 perpohonan berkisaran 500cm hingga 1M dan termasuk kategori tumbuhan basah yang batangnya mudah patah, helaian daun berbrntuk seperti menyirip, pangkal membulat atau melekuk menyerupai jantung dan setiap tepiannya licin dan lurus meruncing yang bersambung dan didukung tangkai daun dengan panjang tangkai 3-4cmyang memiliki warna hijau dan ujung meruncing dan tulang daun menyirip berupa alur. Batang berbulat panjang dengan alur yanng agak dalam pada masing masing ssisinya, bercabang banyak, bewarna hijau. Permukaan daun agak mengkilap dan berambut halus panjang dengan 1-2cm, lebar 3-6cm bewarna kehijauan sampai hijau tua. Bunga berbetuk untaian bunga

bersusun, muncul pada puncak tangkai bewarna keoren orenan, buah lempipi memiliki diameter 1-2cm bewarna hija. Tanaman lempipi memiliki aroma bau yang khas dan rasa yang agak pahit manis sifatnya dingin (Setiyawan, 2017)

Daun-daun sederhana *Gymnema inodorum* tersusun secara bergantian pada batang merambat; daunnya bertekstur membranous, halus (glabrous), berbentuk oval-lonjong hingga oval atau elips lebar, dan memiliki tepi yang utuh. Saat masih muda, daun mungkin sedikit berbulu. Ujung daun seringkali runcing atau berujung pendek, sedangkan pangkal daun umumnya bulat hingga agak tumpul. Sistem urat daun jelas pinnate dengan urat tengah yang menonjol, dan tangkai daun relatif pendek (dikatakan berkisar antara 2 hingga 6 cm pada koleksi yang berbeda). Daun berwarna hijau gelap, bertekstur sedang hingga tipis (membranous), bervariasi dalam ukuran dan bentuk di antara populasi lokal dan aksesion (Kindt, 2024).

a. Deskripsi Lempipi (*gynema inodorum(lour)Decne*)

Tanaman ini dikenal secara lokal sebagai lempipi atau “chiang Da” di Thailand. Tanaman ini (*Gynema inodorum (Lour) Dencee*) merupakan anggota keluarga Apocynaceae dan asli dari Asia tropis dan subtropis. Tanaman ini merupakan tanaman akademik yang populer di Asia Tenggara, terutama di Thailand bagian utara, dan tumbuh secara alami di India, China selatan, Myanmar, Laos, Vietnam, Malaysia, dan Filipina.

Secara historis, G. inodorum telah lama digunakan oleh komunitas tradisional di Thailand dan negara-negara Asia lainnya sebagai sayuran dan tanaman obat, terutama dalam pengobatan tradisional untuk membantu menurunkan kadar gula darah dan meningkatkan sistem kekebalan tubuh. Kata

Latin “odorless,” yang menggambarkan kurangnya aroma kuat pada daun dan kemudahan dalam mengonsumsinya, menjadi asal usul nama spesies inodorum. Selain itu, genus *Gymnema* sendiri pertama kali dijelaskan oleh botanis R. Brown pada tahun 1810, yang kemudian menjadi dasar untuk pengenalan berbagai spesies Gymnema lainnya di Asia, termasuk G. Inodorum (Norkumai *et al.*, 2023).

b. Morfologi Lempipi

Tanaman lempipi, yang diklasifikasikan sebagai tanaman basah dengan batang yang mudah patah, memiliki batang yang melilit atau merayap dengan tinggi sekitar 70 hingga 250 cm. Daunnya tunggal, berbentuk pinnate, dengan pangkal bulat atau melengkung menyerupai bentuk hati, dan tepi halus, lurus, meruncing yang terhubung dan didukung oleh tangkai daun hijau berukuran 3-4 cm dengan ujung meruncing dan urat daun berbentuk alur. Batang panjang, bulat, berwarna hijau dengan alur dalam di kedua sisi dan banyak cabang. Daunnya berwarna hijau hingga hijau tua, panjang 1-2 cm dan lebar 3-6 cm, dengan permukaan sedikit mengkilap yang ditutupi bulu-bulu halus. Di ujung cabang berwarna oranye terdapat kluster bunga. Tanaman lempipi memiliki sifat pendingin, aroma unik, dan rasa sedikit pahit-manis (Kuswati & Adi, 2021).

c. Klasifikasi tanaman Lempipi

Klasifikasi ilmiah dari tanaman lempipi (*Gymnema inodorum (Lour.) Decne*) : Tingkatan Taksonomi Klasifikasi

Kingdom (Kerajaan) : Plantae

Divisi : Tracheophyta (tumbuhan berpembuluh)

Kelas : Magnoliopsida (dikotil)

Ordo : Gentianales

Famili (Suku) : Apocynaceae (sebelumnya termasuk Asclepiadaceae)

Genus : Gymnema

Spesies : Gymnema inodorum (Lour.) Decne

d. Manfaat lempipi bagi tubuh

Tanaman Lempipi digunakan sebagai sayuran dalam sup, mirip dengan tanaman liar lainnya seperti *Euphorbia Pulcherrima, Amaranthusspinosus, Gynandropsisgynandra, Cleomerurutidospermae, dan Marsdenia*. Tanaman berkayu yang tumbuh liar di pekarangan termasuk Brunonia dan Euphorbia pulcherrima. Daun muda dapat digunakan sebagai sayuran segar, dan di wilayah Kaur, daun tersebut digunakan sebagai makanan dan sayuran (Kuswati & Adi, 2021).

e. Kandungan Daun Lempipi (*Gymnema inodorum (Lour.) Decne*)

Asal geografis tanaman, lingkungan sekitar, dan teknik ekstraksi dapat memengaruhi komposisi kimia daun *G. inodorum*. Perbedaan chemotype di antara populasi lokal ditunjukkan oleh peningkatan kandungan fenolik total dan flavonoid pada varietas yang ditanam di wilayah Chiang Mai dan Lampang (Thailand Utara) dibandingkan dengan varietas dari wilayah lain (Norkumai *et al*., 2023).

2.1.2 Metode Ekstraksi

Prosedur ekstraksi melibatkan penggunaan pelarut untuk memisahkan zat kimia dari bahan padat atau cair. Bahan yang diperlukan harus diekstraksi menggunakan pelarut yang tidak melarutkan zat lain. Proses pemisahan suatu zat

dari campurannya disebut ekstraksi. Kelarutan komponen dalam kaitannya dengan komponen lain dalam campuran menjadi dasar untuk ekstraksi menggunakan pelarut. Ada dua jenis ekstraksi yang menggunakan pelarut: metode panas termasuk refluks, ekstraksi Soxhlet, infus, dekok, dan pencernaan, serta metode dingin seperti macerasi dan perkolasi (Tuhuloula *et al*., 2013).

a. Cara Dingin

1) Masarasi

Ekstraksi simplisia menggunakan pelarut dan beberapa putaran pengadukan atau pengocokan pada suhu ruangan dikenal sebagai macerasi. Dari segi teknologi, proses ini melibatkan ekstraksi berdasarkan konsep mencapai konsentrasi kesetimbangan. Proses macerasi kinetik memerlukan pengadukan terus-menerus. Setelah menyaring macerat awal, remacerasi melibatkan penambahan pelarut sekali lagi, dan seterusnya (Depkes RI, 2000).

2) Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (exhaustive extraction) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan tahap maserasi antara tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan ekstrak) terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1- 5 kali bahan (Depkes RI, 2000).

b. Cara Panas

1) Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya

pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna (Depkes RI, 2000).

2) Soxhlet

Soxhlet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Depkes RI, 2000).

3) Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar) yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40 - 50°C (Depkes RI, 2000).

4) Infusa

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih temperatur terukur 96- 98°C) selama waktu tertentu (15 - 20 menit). Infundasi merupakan penyarian yang umum dilakukan untuk menyari kandungan zat aktif yang larut dalam air dari bahan bahan nabati. Penyarian dengan metode ini menghasilkan ekstrak yang tidak stabil dan mudah tercemar oleh kuman dan kapang. Sehingga sari yang diperoleh dengan cara ini tidak boleh disimpan lebih dari 24 jam. Kelebihan metode infusa ini peralatan mudah didapat, sederhana dan biaya yang murah. (Depkes RI, 2000).

5) Dekokta

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama (30°C) dan temperatur sampai titik didih air(Depkes RI, 2000).

6) Destilasi Uap

Destilasi uap adalah ekstraksi senyawa kandungan menguap (minyak atisiri) dari bahan (segar atau simplisia) dengan uap air berdasarkan peristiwa tekanan parsial senyawa kandungan menguap dengan fase uap air dari ketel secara kontinu sampai sempurna dan 12 diakhiri dengan kondensasi fase uap campuran (senyawa kandungan menguap ikut terdestilasi) menjadi destilat air bersama senyawa kandungan yang memisah sempuma atau memisah sebagian Destilasi uap bahan (simplisia) benar-benar tidak tercelup ke air yang mendidih namun dilewati uap air sehingga senyawa kandungan menguap ikut terdestilasi. Destilasi uap dan air bahan (simplisia) bercampur sempurna atau sebagian dengan air mendidih senyawa kandungan menguap tetap kontinu ikut terdestilasi (Depkes RI, 2000).

2.1.3 Skrining Fitokimia

Teknik yang disebut skrining fitokimia digunakan untuk menemukan senyawa bioaktif yang tidak terlihat dalam bahan alami, terutama tumbuhan. Selain memberikan ringkasan tentang jenis senyawa yang terdapat dalam tumbuhan yang diteliti, prosedur skrining ini bertujuan untuk membedakan bahan alami yang mengandung fitokimia tertentu dari yang tidak mengandungnya. Secara umum, skrining fitokimia dilakukan dengan mengamati perubahan warna yang terjadi ketika reagen kimia tertentu ditambahkan ke ekstrak tumbuhan. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa bioaktif seperti terpenoid/steroid, alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin. Teknik ekstraksi dan pemilihan pelarut memiliki dampak yang signifikan terhadap uji ini. Karena hal ini akan mempengaruhi kemampuan pelarut untuk mengekstraksi senyawa fitokimia

tersebut, pemilihan pelarut yang tepat sangat penting (Harahap & Situmorang, 2021).

a. Flavonoid

Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenolik yang paling banyak ditemukan di alam, dengan jumlah yang besar karena adanya variasi dalam tingkat hidroksilasi, alkoksilasi, dan glikosilasi pada strukturnya. Lebih dari 2000 jenis flavonoid yang berasal dari tumbuhan telah diidentifikasi, termasuk senyawa antosianin, flavonol, dan flavon. Antosianin, yang berasal dari bahasa Yunani Lebih dari 2000 jenis flavonoid yang berasal dari tumbuhan telah diidentifikasi, termasuk senyawa antosianin, flavonol, dan flavon. Antosianin, yang berasal dari bahasa Yunani "anthos" (bunga) dan "kyanos" (biru tua), adalah pigmen berwarna yang umumnya ditemukan pada bunga berwarna merah, ungu, dan biru. Pigmen ini juga ada pada bagian lain tanaman seperti buah, batang, daun, dan akar. Flavonoid sebagian besar tersimpan dalam vakuola sel tumbuhan, meskipun proses sintesisnya terjadi di luar vakuola (Julianto, 2019).

a. Alkaloid

Salah satu kelas penting senyawa sekunder yang terdapat pada tumbuhan adalah alkaloid. Senyawa-senyawa ini umumnya terdapat dalam kombinasi yang terdiri dari beberapa alkaloid utama dan beberapa alkaloid minor, bukan secara terpisah. Alkaloid yang dihasilkan oleh tumbuhan bersifat basa, sering memiliki efek fisiologis pada manusia atau hewan lain, dan mengandung satu atau lebih atom nitrogen (biasanya dalam cincin heterosiklik) (Julianto, 2019).

b. Terpenoid

Banyak jenis tumbuhan dan serangga menghasilkan terpen, sekelompok molekul hidrokarbon organik yang melimpah. Selain melindungi tumbuhan dari predator dan herbivora, zat-zat ini umumnya memiliki bau yang kuat. Bahan utama dalam minyak esensial yang dihasilkan oleh berbagai tumbuhan dan bunga adalah terpenoid. Minyak esensial ini digunakan secara luas dalam bidang medis, termasuk aromaterapi, serta dalam produksi parfum (Julianto, 2019).

c. Saponin

Lebih dari 90 genus tumbuhan mengandung saponin, yang merupakan glikosida triterpen dan sterol. Glikosida adalah molekul kompleks yang terdiri dari bagian non-gula (aglikon) dan gula reduksi (glikon). Sifat biologis saponin meliputi hemolisis, toksisitas terhadap ikan, analgesik, antiinflamasi, antibakteri, insektisida, dan penghambatan penyerapan alkohol (Muharrami *et al*., 2017).

2.1.4 Kromatografi lapis tipis

Dalam kromatografi lapis tipis, fase diam dan fase gerak bekerja seperti dua penjaga gerbang yang menentukan nasib tiap molekul. Fase diam biasanya berupa lapisan adsorben halus, misalnya silika atau alumina, yang menempel pada plat kaca. Sementara fase gerak adalah larutan pelarut yang merayap naik melalui gaya kapiler. Senyawa dalam sampel terbagi kecenderungannya: ada yang lebih betah menempel pada fase diam, ada yang lebih suka “menumpang arus” fase gerak. Perbedaan daya tarik inilah yang menyebabkan senyawa terpisah pada jarak berbeda di sepanjang plat KLT (Skoog, 2014).

Metode sederhana untuk menentukan sejauh mana suatu senyawa bergerak relatif terhadap pelarut adalah dengan menggunakan faktor retensi, atau nilai Rf. Perbandingan jarak migrasi senyawa dengan jarak migrasi fase mobile dikenal sebagai nilai Rf. Nilai ini selalu berada antara 0 dan 1. Senyawa yang terikat kuat pada fase stasioner cenderung memiliki nilai Rf yang kecil, sementara senyawa yang lebih suka “mengikuti aliran” fase mobile memiliki nilai Rf yang lebih besar. Nilai Rf yang konsisten dapat membantu dalam identifikasi senyawa dalam sampel yang kompleks (Kellner, 2004).

Polaritas senyawa sangat mempengaruhi pemilihan pelarut pada KLT. Bahan kimia polar tertarik pada pelarut polar seperti etanol atau metanol, sehingga memperpanjang jarak migrasinya. Di sisi lain, bahan kimia nonpolar yang tidak tertarik kuat pada fase diam lebih cocok untuk pelarut nonpolar seperti heksana. Untuk memberikan pemisahan terbaik, kombinasi keduanya sering digunakan untuk menciptakan sistem elusi yang sesuai, seperti menggabungkan "versi ilmiah air dan minyak" (Harris, 2015).

Silika gel merupakan adsorben paling umum digunakan dalam KLT karena sifat polar dan struktur berporinya yang luas. Permukaan silika gel dipenuhi gugus silanol (Si–OH) yang dapat membentuk interaksi kuat dengan senyawa polar melalui ikatan hidrogen dan gaya dipol. Hal ini menyebabkan senyawa polar cenderung tertahan lebih lama pada fase diam sehingga tidak bermigrasi terlalu jauh. Selain itu, ukuran partikel silika gel yang halus memberikan ketelitian lebih tinggi karena memperluas kontak permukaan antara sampel dan adsorben. Silika gel juga stabil terhadap panas, inert terhadap sebagian besar pelarut organik, dan

mampu memberikan pemisahan tajam bahkan untuk senyawa yang memiliki struktur mirip. Dengan keunggulan tersebut, silika gel menjadi pilihan utama dalam analisis fitokimia, identifikasi senyawa metabolit sekunder, hingga pemisahan campuran kompleks dari tanaman obat (Sherma, 2011).

2.1.5 Toksikologi

Istilah Yunani "Toxicon," yang berarti zat berbahaya, dan "logos," yang berarti ilmu penelitian racun, merupakan asal usul kata "toxicology." Toxicology adalah ilmu yang mempelajari racun, yang dapat lebih lanjut membahas efek racun pada tubuh (toxicokinetics) dan respons tubuh terhadap racun atau senyawa kimia yang aktif secara toksikologi (toxicodynamics). Toksikologi berfokus pada pemahaman dan analisis efek kuantitatif zat kimia terhadap sistem metabolisme tubuh. Toksikologi mencakup berbagai aspek, termasuk identifikasi zat beracun, penentuan dosis aman, mekanisme kerja zat berbahaya, dan efek jangka panjang terhadap kesehatan. Tujuan toksikologi adalah melindungi tubuh manusia dan lingkungan dari efek negatif yang mungkin disebabkan oleh zat kimia berbahaya yang terkandung dalam tanaman (Haryanto *et al*., 2021).

2.1.6 Uji Toksisitas Umum

a. Uji Toksisitas Akut Oral

Uji toksisitas akut oral adalah uji yang dapat dilakukan untuk memperoleh informasi mengenai efek toksik yang akan muncul dalam waktu 24 jam setelah pemberian dosis tunggal atau berulang secara oral. Apabila pemberian secara berulang interval waktu akan diberikan dengan waktu tidak kurang dari 3 jam. Parameter yang akan diamati yaitu munculnya efek toksik dan kematian. Hewan

yang menunjukan efek seperti indikasi rasa nyeri, sakit dan stres akan dihitung mati karena pemberian sediaan uji kemudian akan diteliti untuk diulas terkait adanya (Aldi *et al*., 2022).

b. Uji Toksisitas Sub Akut

Uji toksisitas sub akut adalah suatu pengujian untuk mengidentifikasi efek toksik suatu zat pada berbagai tingkat dosis terhadap hewan yang akan diuji. Sediaan uji akan diberikan secara oral setiap hari dengan beberapa tingkat dosis kepada beberapa kelompok hewan uji dengan satu tingkat dosis per kelompok untukjangka waktu 28 hari. Tujuan uji toksisitas akut adalah untuk memperoleh efek paparan yang timbul setelah diberikan sediaan uji secara bertingkat, membantu menentukan dosis yang aman digunakan untuk jangka panjang, serta memahami dosis-respon suatu bahan uji (Aldi et al., 2022).

c. Uji Toksisitas Kronis

Uji toksisitas kronis adalah pengujian untuk mendeteksi efek toksis yang muncul setelah pemberian sediaan uji secara berulang sebagian umur hewan uji. Ujitoksisitas kronik dilakukan selama 9 bulan untuk bahan uji yang telah diketahui aman namun 12 bulan untuk bahan uji yang memiliki potensi toksik. Uji toksisitas kronik harus dilakukan sedemikian rupa sehingga diperoleh informasi toksik secaraumum meliputi efek neurologi, hematologi, fisiologi, biokimia klinis, dan histopatologi. Tujuan dari uji toksisitas kronis untuk mengetahui pengaruh efek toksik setelah pemberian sedian uji secara berulang selama waktu yang panjang, dan untuk mendapatkan tingkat dosis yang tidak menimbulkan efek toksik (Aldi et al., 2022).

d. Uji Toksisitas Sub Kronik

Uji toksisitas sub kronik adalah suatu pengujian untuk mengidentifikasi efek toksik yang akan muncul setelah pemberian dosis secara berulang melalui rute pemberian oral. Prinsip uji toksisitas sub kronik yaitu sediaan diberikan setiap hari kepada kelompok hewan uji sesuai dengan tingkatan dosisnya selama 28 hari atau 90 hari, dan ditambahkan kelompok satelit untuk diamatai apakah terdapat efek tertunda atau efek yang bersifat revesible. Selama pengujian ini hewan uji harus diamati setiap hari untuk melihat kemungkinan efek toksik yang akan muncul. Jika terdapat hewan yang mati selama priode pemberian sediaan uji namun belum melewati priode rigor mortis (kaku) segera lakukan nekropis. Setelah pengamatan organ dan jaringan hewan uji diamati secara makropatologi dan hispatologi. Tujuan dari uji toksisitas sub kronik yaitu untuk mendapatkan data mengenai efek toksik zat yang tidak terdeteksi pada uji toksisitas akut, kemungkinan adanya efek toksik setelah pemaparan sediaan uji secara berulang dalam jangka waktu tertentu (Aldi et al., 2022).

2.1.7 Uji Toksisitas Khusus

a. Uji Teratogenik

Uji teratogenik adalah pengujian untuk mengidentifikasi serta memperoleh informasi adanya abnormalisasi fetus yang dapat terjadi selama masa pembentukan organ akibat pemberian sediaan uji. Teratogenik merupakan zat yang dapat menyebabkan kecacatan atau kerusakan pada janin atau embrio selama masa kehamilan. Zat ini dapat menyebabkan bayi lahir dengan keadaan cacat namun ibunya tidak mengalami atau tidak terdapat tanda toksisitas. Perinsip uji teratogenik

adalah pemberian sediaan uji pada hewan bunting selama masa organogenesis selama kehamilan dengan satu dosis per kelompok. Sehari sebelum hewan uji melahirkan induk dibelah, uterus diambil dan dilakukan evaluasi terhadap fetus (Aldi et al., 2022).

a. Uji Mutagenik

Uji mutagenik adalah suatu uji untuk melihat ada atau tidaknya sifat mutagen dari suatu bahan. Mutagen merupakan suatu zat yang dapat merubah informasi genetikDNA pada suatu organisme. Contoh mutagen diantaranya seperti formaldehid, dioksan, bromida, dan nikotin. Tujuan dari uji mutagenik adalah untuk melihat apakah efek dari suatu zat dapat menyebabkan purubahan atau mutasi pada (Aldi et al., 2022).

b. Uji Karsinogenik

Uji karsinogenik merupakan pengujian yang dilakukan unutk melihat atau mengidentifikasi sifat karsinogenik pada suatu zat setelah pemberian zat secara berulang dengan beberapa tingkat dosis. Zat karsinogenik sendiri merupakan zat yang dapat menyebabkan atau menumbuhkan resiko kanker pada hewan dan manusia. Contoh zat yang memiliki sifat karsinigenik diantaranya vinil klorida, formaldehid, dioksan, benzana, akrilamida. Tujuan uji kersinogenik adalah untuk mengetahui informasi mengenai sifat karsinogenik yang dimiliki oleh suatu bahan, mengidentifikasi organ target karsinogenisitas, mengidentifikasi waktu munculnya neoplasma (Aldi *et al.*, 2022).

2.1.8 Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

Uji toksisitas udang garam (BSLT) menggunakan larva udang garam (Artemia salina) sebagai hewan uji untuk mendeteksi aktivitas biologis dasar guna menilai toksisitas suatu zat atau ekstrak. Jumlah larva udang yang mati akibat menerima zat pada dosis yang telah ditentukan merupakan parameter yang digunakan untuk menilai apakah aktivitas berbahaya terdapat atau tidak pada larva udang Artemia salina.. Karena larva Artemia salina merupakan hewan uji yang sangat baik untuk menentukan bioaktivitas suatu senyawa, metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) digunakan. Metode BSLT untuk pengujian bioaktivitas menggunakan larva udang Artemia salina memiliki beberapa keunggulan, termasuk waktu pengujian yang cepat, tidak memerlukan peralatan khusus, mudah digunakan, jumlah organisme yang besar, kesederhanaan, serta hasil yang representatif dan dapat diandalkan (H. Kurniawan & Ropiqa, 2021).

Jika nilai LC50 suatu senyawa kurang dari 1.000 ppm, senyawa tersebut dianggap memiliki toksisitas akut. LC50 (Konsentrasi Mematikan 50) adalah konsentrasi senyawa yang menyebabkan kematian 50% hewan uji, yaitu larva Artemia salina. Uji ini dapat memberikan informasi tentang organ target yang rusak dan efek toksik spesifik, serta dapat membantu dalam menentukan dosis aman jika digunakan dalam jangka waktu yang lebih lama (H. Kurniawan & Ropiqa, 2021)

Tabel I. Nilai Probit LC50

No	**Nilai LC_{50} ppm**	**Tingkat Toksisitas**
1.	≤ 30	Sangat Toksik
2.	30 - 1000	Toksik
3.	≥ 1000	Tidak toksik

2.1.9 Larva Udang (*Artemia Salina* L.)



Gambar 2. Artemia Salina Leach, (Airlangga, 2023)

Larva udang Artemia salina adalah spesies udang air tawar primitif yang pertama kali ditemukan di Laut Lymington, Inggris, pada tahun 1755. Artemia salina dapat ditemukan di danau air asin di daratan di seluruh dunia, tetapi tidak dapat ditemukan di perairan laut. Larva udang Artemia salina merupakan salah satu organisme yang sangat cocok untuk menentukan bioaktivitas senyawa melalui uji toksisitas menggunakan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) (Alfin, 2018).

Telur Artemia salina berbentuk bulat berlekuk dalam keadaan kering dan bulat penuh dalam keadaan penuh. Mempunyai warna coklat yang diselubungi oleh cangkang yang tebal dan kuat, cangkang larva udang ini berguna untuk melindungi embrio terhadap pengaruh kekeringan, benturan keras dan sinar ultraviolet serta dapat mempermudah laeva untuk mengapung. Cangkang telur terbagi menjadi dua bagian yairu korion (bagian luar) dan kutikula embrionik (bagian dalam)

(Alfin, 2018).

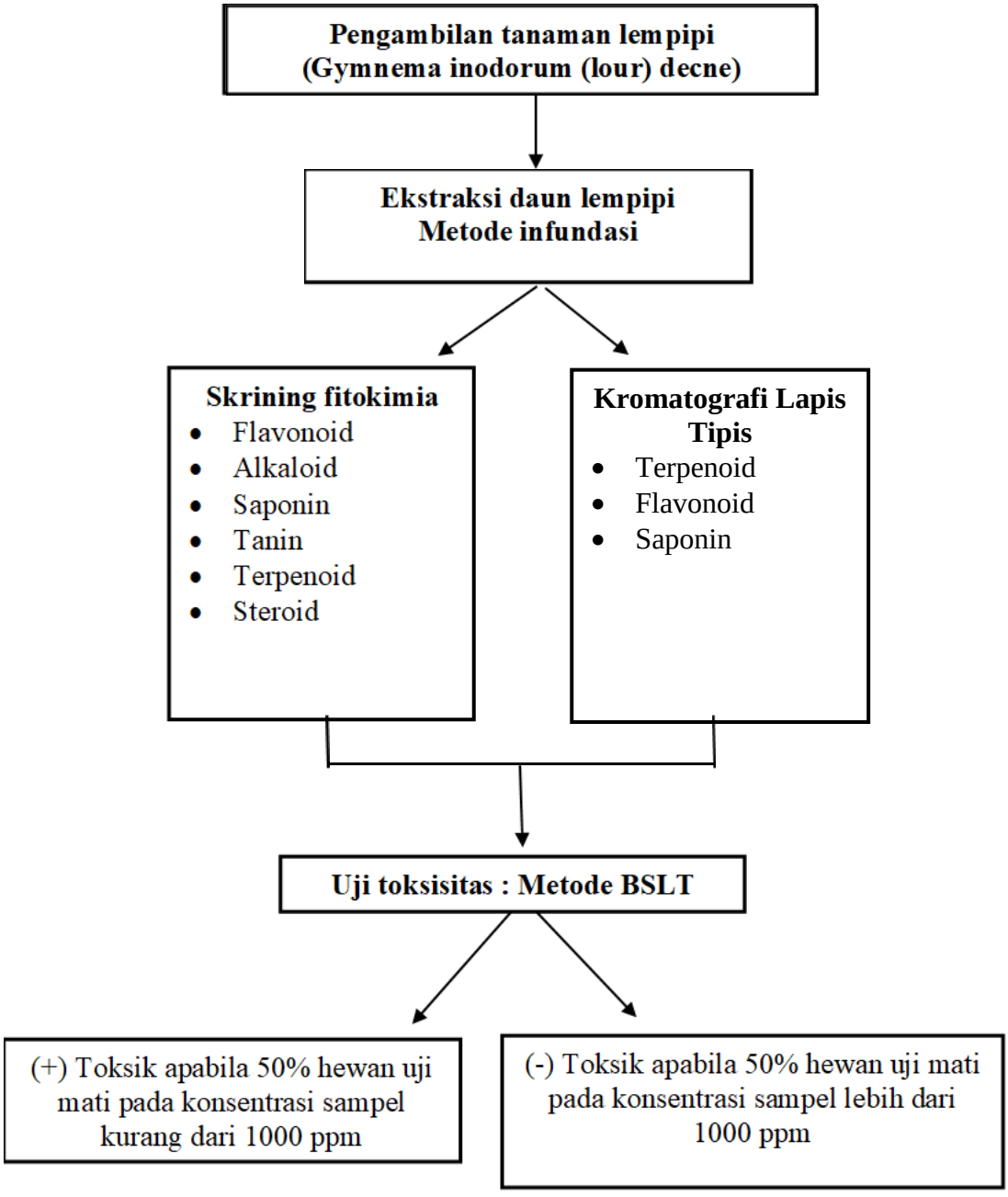
Klasifikasi *Artemia salina* L Menurut (Widyastuti, 2018) Brine Shrimp memiliki klasifikasi sebagai berikut :

Kerjaan	: Animalia
Divisi	: Arthropoda
Subdivisi	: Crustacea
Kelas	: Branchiopoda
Bangsa	: Anostraca
Suku	: Artemiidae
Marga	: Artemia L.
Jenis	: *Artemia salina* Leach

Telur *Artemia Salina* jika disinari oleh sinar matahari atau pada suhu 26-28 ^{0}C maka telur akan menetas setelah 24-48 jam tergantung pada kondisi lingkungan. *Artemia salina* yang baru menetas akan disebut dengan larva yang memiliki ukuran 0,25 mm. *Artemia salina* diperdagangkan dalam bentuk telur istirahat yang disebutkista, kista ini berbentuk bulat berwarna kelabu kecoklatan dengan diameter 300 mikrogram jika dilihat dengan mata telanjang (Alfin, 2018).

Artemia salina ini dapat tumbuh dan berkembang pada air yang mengandung garam. Larutan air garam dapat dibuat dengan melarutkan 30 gram ke dalam 1 liter air. Air laut merupakan media pertumbuhan larva *Artemia salina* yang lebih baik namun banyak orang yang menggunakan garam biasa untuk membuat medianya tanpa addanya penambahan iodium dan zat kimia lainnya karena dapat memperburuk pertumbuhan larva *Artemia salinan* (Alfin, 2018).

2.2 Kerangka konsep



Gambar 3. Kerangka konsep

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan di laboratorium Farmakognosi dan Laboratorium Kimia Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Kota Bengkulu, pada bulan Januari - Juni 2025.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah lampu, wadah Infundasi, timbangan analitik rak dan tabung reaksi, alat-alat gelas, kertas saring, vial, bejana penetesan telur *artemia salina*, aerator, chamber pengembang, pipa kapiler atau mikropipet, gelas ukur, bejana pencampur pelarut, serta lampu UV untuk visualisasi noda fase gerak (campuran pelarut sesuai optimasi) (Skoog, 2014).

3.2.2 Bahan

Bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah Ekstrak Daun Lempipi *(Gymnema inodorum(lour)Decne),* telur *artemia salina*, garam non iodium, kloroform, ammonia,aquadest, Asam sulfat (H_2SO_4), Asam klorida pekat, besi(III) klorida ($FeCl_3$) 1%, magnesium, asam asetat (CH_3COOH), Hcl 2N, pereaksi mayer, pereaksi *dragendrof, Liberman-Bauchardat,* plat KLT (silika gel GF254), fase diam berupa plat silika gel, dan pelarut eluen seperti metanol, etil asetat, kloroform, atau n-heksana tergantung karakter sampel

3.3 Rancangan dan Prosedur Kerja Penelitian

Penelitian toksisitas yang akan dilaksanakan merupakan metode eksperimental, dimana penelitian ini dilakukan dengan cara meneliti dan menganalisis secara langsung sampel uji. Sampel yang digunakan adalah Daun Lempipi (*Gymnema inodorum(lour*)Decne) dan hewan uji yang digunana kan adalah larva udang *Artemia salina*. Urutan tahapan pelaksanaan penelitian meliputi pengumpulan sampel, karakterisasi simplisia, ekstraksi sampel menggunakan metode infundasi, skrining Fitokimia, serta uji toksisitas menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) terhadap larva udang (*Artemia salina* L.).

3.3.1 Pengambilan dan pengelolaan Daun Lempipi (*Gymnema inodorum (lour)Decne*)

Sampel daun diambil dari tanaman yang sehat, berdaun hijau tua, tidak rusak, dan tidak menunjukkan gejala penyakit. Pengambilan dilakukan pada pagi hari ketika kondisi lingkungan masih stabil sehingga daun berada pada keadaan fisiologis yang baik. Pemotongan daun dilakukan menggunakan gunting steril untuk menjaga kebersihan dan mencegah kerusakan jaringan. Daun yang telah dipetik kemudian dimasukkan ke dalam kantong kertas bersih agar tetap kering. Kemudian, di lakukan sortasi basah untuk memisahkan daun rusak, kotoran, serta bagian tanaman lain yang tidak diperlukan.

3.3.2 Pembuatan ekstrak Daun Lempipi (*Gymnema inodorum(lour)Decne*) dengan metode infundasi

Dalam *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, pembuatan infusa dilakukan melalui beberapa tahapan yang terstandar. Proses dimulai dengan menimbang daun lempipi yang telah di rajang sebanyak 10 gram , kemudian

ditambahkan 100 mL air suling dingin ke dalam beker glass. Campuran tersebut dipanaskan hingga mencapai suhu 90°C dan dipertahankan selama 15 menit sambil sesekali diaduk agar pemanasan merata. Setelah pemanasan selesai, cairan disaring selagi panas menggunakan kertas saring untuk memisahkan ampas dari filtrat (Depkes, 2000).

3.3.3 Uji Skrining Infusa Daun Lempipi (*Gymnema inodorum(lour)Decne*)

Skrining fitokimia dilakukan dengan menggunakan berbagai reagen pendeteksi pada plat tetes atau tabung reaksi. Skrining fitokimia ini dilakukan untuk mengetahui kandungan bahan kimia dalam suatu sampel.

a. Uji Flavonoid

Ambil 2 ml larutan infus, tambahkan sedikit bubuk magnesium dan 2 ml HCl 2N. Perubahan warna larutan dari oranye menjadi merah menandakan hasil yang berhasil (Nova, 2020).

b. Uji Alkaloid

Dalam tabung reaksi, tambahkan 2 ml infus, larutan amonia 1%, dan kloroform. Kocok, lalu pipet lapisan kloroform dan tambahkan 2N HCl. Reagen Mayer dan reagen Dragendrof ditambahkan ke masing-masing dari dua bagian larutan akhir. Hasil positif ditandai dengan reagen Mayer menghasilkan endapan putih dan reagen Dragendrof menghasilkan kekeruhan dan endapan berwarna oranye (Nova, 2020).

c. Uji Terpenoid Dan Steroid

Infusa diambil sebanyak 2 ml ditambahkan dengan eter lalu dikocok. Lapisan eter diambil dan diuapkan dengan cawan penguap di atas penangas air.

Filtrat yang didapat ditambahkan pereaksi Liberman-Bauchardat. Hasil positif ditandai dengan munculnya warna merah (Nova, 2020).

d. Uji Saponin

Infusa diambill sebnayak 2 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 ml air panas, setelah itu di dinginkan dan dikocok kuat- kuat selama 10 menit hingga terbentuk buih yang mantap selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1 cm sampai 10 cm, pada penambahan 1 tetes asam klorida 2 N, buih tidak hilang maka ada saponin (Nova, 2020).

e. Uji Tanin

Infusa diambil sebanyak 2 ml di dalam tabung reaksi ditambahkan beberapa tetes larutan FeCl3 1%. Menunjukan adanya perubahan warna biru tua atau hijau menandakan adanya tanin (Nova, 2020).

3.3.4 KLT (kromatografi lapis tipis)

a. Persiapan Plat KLT

Plat silika gel GF254 dipotong sesuai ukuran yang diinginkan, biasanya 5 × 10 cm atau 7 × 5 cm. Bagian bawah plat ditandai dengan garis dasar sejauh 1 cm dari tepi menggunakan pensil. Penandaan ini penting agar penotolan sampel konsisten dan tidak mengganggu jalur migrasi eluen. Plat kemudian dikeringkan terlebih dahulu untuk memastikan tidak ada uap pelarut atau kelembapan yang dapat mengganggu proses migrasi. (Sherma, 2011).

b. Persiapan Fase Gerak

Fase gerak dipilih berdasarkan polaritas senyawa yang akan dipisahkan. Pelarut dicampur dalam rasio tertentu, kemudian dimasukkan ke dalam chamber

hingga mencapai ketinggian ±0,5–1 cm dari dasar. Chamber ditutup dan didiamkan (*pre-saturation*) selama 10–20 menit agar uap pelarut memenuhi ruang dan menghasilkan sistem yang stabil. Langkah ini penting untuk memperoleh pemisahan noda yang tajam dan reprodusi (Lestari, 2020).

1. Indentidikasi senyawa golongan terpenoid
   Fase gerak = Toluen : etil asetat : klorofom (5:1:4)
   Baku pembanding = sitosterol
2. Identifikasi senyawa golongan flavonoid
   Fase gerak = n-butanol : asam asetat : air (4:1:5)
   Baku pembanding : kuarsetin
3. Identifikasi senyawa golongan saponin
   Fase Gerak : kolorofom : methanol : air (13:7:2)
   Baku pembanding : saponin murni ((Bunga & Melastoma, 2020).

c. Penotolan Sampel

Sampel dilarutkan dalam pelarut yang sesuai, lalu diambil menggunakan pipet kapiler atau mikropipet dan ditotolkan tepat pada garis start. Volume totolan biasanya 1–5 µL dan dapat diulang beberapa kali dengan proses pengeringan di antaranya agar titik tetap kecil dan pekat. Penotolan yang terlalu besar akan menyebabkan noda melebar dan menurunkan resolusi pemisahan (Nugraha, 2021).

d. Proses Pengembangan

Setelah sampel ditotolkan, plat KLT dimasukkan secara tegak lurus ke dalam chamber yang telah berisi fase gerak tanpa menyentuh dinding chamber. Fase gerak dibiarkan bergerak naik melalui mekanisme kapilaritas hingga mencapai batas pengembangan (misalnya 3/4 panjang plat). Setelah itu, plat diangkat dan dikeringkan pada suhu ruang. Proses pengembangan harus dilakukan tanpa

guncangan dan dalam chamber tertutup untuk mencegah gangguan aliran pelarut (Wijaya & Susanti, 2022).

e. Visualisasi Noda

Noda yang terbentuk diamati di bawah lampu UV pada panjang gelombang 254 nm atau 366 nm. Bila senyawa tidak berfluoresensi, digunakan pereaksi penampak noda seperti vanillin-sulfuric, Dragendorff, anisaldehyde, atau ninhydrin sesuai jenis senyawa yang dianalisis. Setelah penyemprotan, plat dipanaskan pada suhu tertentu hingga muncul warna noda yang jelas. Visualisasi ini memungkinkan identifikasi pola pemisahan dan intensitas relatif masing-masing senyawa (Amalia, 2023).

f. Penentuan Nilai Rf

Nilai *Retention factor* (Rf) dihitung sebagai perbandingan jarak antara titik sampel terhadap posisi noda dengan jarak yang ditempuh fase gerak dari garis start sampai garis pelarut. Rumus Rf adalah:

$$\text{Rf}= \frac{jarak\ migrasi\ noda}{jarak\ migrasi\ eluen}$$

Nilai Rf digunakan untuk mengidentifikasi senyawa dengan membandingkannya terhadap *standard* pembanding atau literatur. Konsistensi kondisi percobaan sangat penting karena nilai Rf dapat berubah akibat suhu, kelembapan, atau ketidakstabilan fase gerak (Hidayat, 2021).

3.4 Toksisitas

3.4.1 Penetasan Telur Larva Udang (*Artemia salina* L.)

Penetasan telur larva udang dilakukan dalam wadah transparan yang berisi 2 L air laut buatan, dengan mencampurkan 2 L air suling dengan 40 g garam bebas

yodium. Sebuah partisi berlubang membagi wadah menjadi dua bagian: bagian gelap dan bagian terang. Partisi berlubang ini memungkinkan larva yang menetas bergerak secara alami ke area terang. Kemudian, 1 sendok teh telur ditempatkan di bagian gelap, dan bagian gelap wadah ditutupi dengan foil aluminium atau selotip hitam. Kontainer yang diterangi menggunakan lampu untuk menjaga suhu inkubasi antara 25-30 °C. Telur akan menetas dalam waktu 24-36 jam dan secara alami akan bergerak menuju area yang diterangi, memisahkan larva udang dari telur atau cangkang telur. Larva yang bergerak aktif siap digunakan sebagai hewan uji dalam penelitian. (Raihan & Dalimunthe, 2022).

3.4.2 Pembuatan Larutan Uji

Satu gram bahan dilarutkan dalam seribu mililiter air garam sintetis untuk membuat larutan stok. Selanjutnya, 1 mL, 2 mL, 4 mL, 6 mL, dan 8 mL dari larutan stok 1000 ppm dipipet ke dalam masing-masing tabung uji, dan tabung-tabung tersebut diisi dengan 10 mL air laut buatan. Setiap konsentrasi dan kontrol diulang sebanyak 3 kali. (Rohmah *et al.*, 2019)

3.4.3 Prosedur Uji Toksisitas dengan Metode BSLT

Dari larutan 1000 ppm dibuat pengenceran larutan uji dengan konsentrasi 100 ppm, 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm, 800 ppm, dan Sebanyak 10 ekor larva udang dimasukan ke dalam vial yang telah berisi masing-masing 5 konsertasi yang dibuat. Uji blanko dilakukan dengan perlakukan yang sama tanpa menambahkan larutan uji dalam vial. uji. Pengematan 5 konsentarasi yang dibuat. Uji blanko dilakukan dengan perlakukan yang sama tanpa menambahkan larutan uji ke dalam vial uji. Pengamatan dilakuakn setelah 24 jam dengan menghitung jumlah larva yang hidup

dan mati. Kemudian menghitung persentase mortalitas dengan menggunakan persaman sebagai berikut:

% mortalitas = $\frac{akumulasi\ mati}{akumulasi\ hidup}$ X 100

3.5 Analisis Data

Dalam analisi data untuk pengamatan uji toksisita Daun Lempipi *(Gynema inodorum (lour)Decne)* terhadap larva Artemia salina Leach dilakukan dengan perhitungan analisis probit. Perhitungan dilakukan dengan membandingkan antara larva mati terhadap jumlah keseluruhan, sehingga diperoleh persen kematian dilihat dalam nilai tabel probit.

Data hasil penelitian uji toksisitas di olah dan disajikan dalam bentuk tablel kurva data dari uji toksisitas tersebut di analisis dengan analisis probit serta menggunakan microsoft office exceluntuk mencari regresi linier dengan hubungan antara nilai probit dengan log konsentrasi nilai LC50 dapat dihitung degan memasukan nilai 5 (probit 50%kematian hewan uji) sebagai y sehingga di hasilkan x sebagai nilai log konsentrasi antilog nilai x tersebur nilai LC50. Data yang diperoleh di analisis dengan menggunakan aplikasi Microsoft Excel. LC50

Tabel II. Tabel probit

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.46	3.52	3.59	3.66	
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.97	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	4.55	4.58	4.61	4.64	4.67	4.70	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97

50	4.99	5.02	5.05	5.08	5.11	5.13	5.16	5.19	5.21	5.24
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.36	5.39	5.41	5.44	5.46	5.53
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
99	7.33	7.37	7.41	7.46	7.51	7.58	7.76	7.75	7.88	8.09
100	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9

Tabel probit digunakan untuk melihat nilai rata-rata % kematian ujitoksisitas dan mendapatkan nilai

DAFTAR PUSTAKA

Airlangga, U. (2023). *Substitusi Formulasi Pakan bagi Pertumbuhan dan Reproduksi Artemia*. https://unair.ac.id/substitusi-formulasi-pakan-bagi-pertumbuhan-dan-reproduksi-artemia/

Aldi, Y., Sabila, W., Latifah, W., Hardini, H., & Tri Syahbani, K. (2022). *Uji Toksisitas Pegagan Embun*.

Alfin, S. (2018). Toksisitas Ekstrak Metanol Kulit Jengkol (Pithecellobium Jiringa) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test Terhadap Larva Udang (Artemia salina). *Jurnal Rekayasa Sistem Industri*, *3*(2), 149–153.

Amalia, R. (2023). Visualization Reagents in Thin Layer Chromatography of Secondary Metabolites. *Journal of Natural Product Testing*, *11*(2), 88–97.

An, J.-P. (2020). Triterpenoids from Gymnema inodorum Leaves. *Journal of Natural Products*.

Banti, C. N. (2021). Evaluation of Toxicity with Brine Shrimp Assay. *N/A*. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8535733/

Bidkar, A. (2023). Thin layer chromatographic detection of saponins using anisaldehyde sulphuric acid reagent. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Analysis*.

Budiman, F. A., & Hidayat, F. (2021). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Umbi Bit (Beta vulgaris L.) dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test). *Jurnal Health Sains*, *2*(3). https://doi.org/10.46799/jhs.v2i3.129

Bunga, E., & Melastoma, S. (2020). Profile of phytochemistry compound metabolites. *Original Article*, *3*(1), 1–6.

Depkes, R. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan.

Dewi, et al. (2025). Skrining Fitokimia serta Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kelor (Moringa oleifera Lam.) dengan Metode DPPH. *Jurnal Farmasi*.

Febriyani, & Putri, D. (2020). *Efektivitas infusa dan ekstrak metanol biji mahoni (Swietenia macrophylla King) terhadap sitotoksisitas larva udang Artemia salina dengan metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test)*. Universitas Islam Negeri Sunan Ampel Surabaya.

Gartika, M., & dkk. (2018). A terpenoid isolated from Myrmecodia pendans and its potential biological evaluation. *BMC Complementary and Alternative*

Medicine, *18*(151). https://doi.org/10.1186/s12906-018-2196-4

Harahap, S. N., & Situmorang, N. (2021). Skrining Fitokimia Dari Senyawa Metabolit Sekunder Buah Jambu Biji Merah (Psidium Guajava L.). *Edumatsains: Jurnal Pendidikan, Matematika Dan Sains*, *5*(2), 153–164.

Harborne, J. B. (1987). *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Institut Teknologi Bandung.

Harris, D. C. (2015). *Quantitative Chemical Analysis*. W.H. Freeman.

Haryanto, Y. M., Rahimah, S., Muzayyidah, & Salampe, M. (2021). *Toksikologi Dasar*. CV. Eureka Media Aksara.

Hidayat, T. (2021). Rf Value Interpretation in TLC for Compound Identification. *Chemistry Education and Research Journal*, *9*(1), 40–48.

Jeytawan, N. (2022). Phytochemical Profiling and Antioxidant Activity of Gymnema inodorum Leaves. *Plants*.

Jeytawan, N., Likhitwitayawuid, K., & Tengamnuay, P. (2022). Antioxidant and Phytochemical Potential of Gymnema inodorum Leaf Extract. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, *12*(10), 45–52. https://doi.org/10.7324/JAPS.2022.121006

Julianto, T. S. (2019). *Fitokimia: Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia* (Vol. 53, Issue 9). Penerbit Buku Kedokteran EGC.

Kellner, R. (2004). *Analytical Chemistry*. Wiley-VCH.

Khalil, M. I. (1994). Isolation, Identification and Toxicity of Saponins from Beans. *Food Chemistry*, *45*(4), 120–125. https://doi.org/10.1016/0308-8146(94)90120-1

Kindt, R. (2024). Gymnema inodorum (Lour.) Decne. — World Flora Online. In *World Flora Online*. https://worldfloraonline.org/

Kumar, S., Mehta, S., & Verma, P. (2021). Toxicological effects of saponins on aquatic organisms: A review. *Aquatic Toxicology*, *115*(4), 124–136. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2021.124136

Kurniawan, A. (2018). Isolasi dan Identifikasi Alkaloid serta Uji Sitotoksik Metode BSLT. *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*.

Kurniawan, H., & Ropiqa, M. (2021). Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Ekor Kucing (Acalypha Hispida Burm.F.) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, *3*(2), 52–62.

Kurniawan, R. (2023). Optimization of TLC Plate Preparation in Natural Product Analysis. *Journal of Chemical Methods, 7*(4), 112–120.

Kuswati, K., & Adi, W. C. (2021). Gathering Nutritious Edible Wild Plants Based on Societies Indigenous Knowledge from Sempolan, Jember Regency. *Jurnal Biologi Tropis*, *21*(2), 393–402. https://doi.org/10.29303/jbt.v21i2.2607

Lestari, D. (2020). Solvent System Selection in TLC for Herbal Extracts. *Journal of Herb Analysis*, *5*(3), 73–81.

Marliana, S. D., Susanti, N., & Suyono. (2005). Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (Sechium edule Jacq. Swartz). *Biofarmasi*, *3*(1), 26–31.

Maulana, M. (2018). *Profil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak Daun Bidara Arab (Ziziphus spina Cristi. L) Berdasarkan Variasi Pelarut*. *3*(2), 91–102.

Muharrami, L. K., Munawaroh, F., & Ersam, T. (2017). Inventarisasi Tumbuhan Jamu dan Skrining Fitokimia Kabupaten Sampang. *Jurnal Pena Sains, 4*(2), 124–130.

Mulyani, E., Noviyanti, Y., Fauziah, D. W., & Haque, A. F. (2024). Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Daun Ceremai Belanda (Eugenia Uniflora L) Yang Tumbuh Di Kota Bengkulu. *Jfm (Jurnal Farmasi Malahayati), 7*(2), 258–265.

Mustiqawati, E., & Yolandari, S. (2022). Identifikasi Senyawa Saponin Ekstrak Daun Jeruk Nipis (Citrus aurantifolia S.) dengan Kromatografi Lapis Tipis. *Jurnal Promotif Preventif*. https://journal.unpacti.ac.id/index.php/JPP/article/view/516

Mutammimah, N. (2019). Uji Toksisitas Akut Infusa Mengkudu (Morinda Citrifolia L) Pada Artemia Salina Menggunakan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Uji Toksisitas Akut Infusa Mengkudu (Morinda Citrifolia L) Pada Artemia Salina Menggunakan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*, *9*(5), 325–333.

Norkumai, P., Wongkaew, M., Tangpao, T., Sritontip, P., Wongsiri, S., Junmahasathien, T., Lumsangkul, C., & Sommano, S. R. (2023). Relationships between Phenotypes and Chemotypic Characteristics of Local Gymnema inodorum Plants in Northern Thailand. *Horticulturae*, *9*(4), 484. https://doi.org/10.3390/horticulturae9040484

Nova, D. (2020). *Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Jati dan Infusa Daun Jati (Tectona grandis L.S) Dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT)*. *2507*, 1–9.

Novia, D., Samudra, A., & Susanti, N. (2020). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol

Daun Jati Dan Infusa Daun Jati (Tectona grandis L.S) Dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). *2507*, *February*, 1–9.

Nugraha, S. (2021). Sample Application Techniques on TLC and Their Effect on Resolution. *Analytical Laboratory Review*, *3*(1), 28–35.

Octavia, M., Amin, A., Waris, R., & Yuliana, D. (2023). *Identifikasi Organoleptik dan Kelarutan Ekstrak Etanol Daun Pecut Kuda (Stachytarpheta jamaicensis (L.) Vahl) pada Pelarut dengan Kepolaran Berbeda*. *1*(4), 203–211.

Pratiwi, S. A., Februyani, N., Basith, A., Program,), Fakultas, S. F., Kesehatan, I., Nahdlatul, U., Sunan, U., Bojonegoro, G., Yani, A., 10, N., Bojonegoro, K., Timur, J., & Boojonegoro, K. (2023). Skrining dan Uji Penggolongan Fitokimia dengan Metode KLT pada Ekstrak Etanol Kemangi (Ocium basilicum L) dan Sereh Dapur (Cymbopogon ciratus). *Pharmacy Medical Journal*, *6*(2), 2023.

Raihan, & Dalimunthe, G. I. (2022). Uji sitotoksisitas ekstrak etanol bunga telang (Clitoria ternatea L.) dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Journal of Health and Medical Science*, *1*(7), 187–202.

Reichardt, C. (1984). *Solvent Effects in Organic Chemistry*. Verlag Chemie.

Rohmah, J., Rini, C. S., & Wulandari, F. E. (2019). Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Selada Merah (Lactuca sativa var. crispa) Pada Berbagai Pelarut Ekstraksi. *Jurnal Kimia Riset*, *4*(1), 18.

Sari, I. P., Hidayati, A. R., & Muliasari, H. (2023). Perbandingan Aktivitas Antioksidan Infusa Simplisia Segar dan Simplisia Kering Daun Buni (Antidesma bunius L. Spreng) dengan Metode DPPH. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, *5*(5). https://jsk.ff.unmul.ac.id/index.php/JSK/article/download/439/439

Satya, N. A., Pradana, D. L. C., Kolib, A., & Aprilia, C. A. (2021). Brine Shrimp Lethality Test on Aqueous Extract of Caesalpinia sappan L. *Jurnal Farmasi Indonesia*, *13*(1), 62–67. https://doi.org/10.35617/jfionline.v13i1.54

Se.tiyawan. (2017). Karakteristik dan Keragaman Morfologi Apocynoideae. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian Dan Pemanfaatan Sumber Daya Alam*.

Sherma, J. (2011). *Thin Layer Chromatography in Phytochemical Analysis*. CRC Press.

Simaremare, E. S. (2014). Skrining Fitokimia Daun Gatal (Laportea decumana (Roxb.) Wedd). *Pharmacy*, *11*(01), Undefined.

Skoog, D. A. (2014). *Principles of Instrumental Analysis*. Cengage Learning.

Srinuanchai. (2024). Phytochemical Constituents and Antidiabetic Activity of Gymnema inodorum. *Heliyon*.

Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., & Kaur, H. (2014). Phytochemical and Pharmacological Properties of Gymnema: A Review. *Pharmacognosy Reviews*, *8*(16), 73–80. https://doi.org/10.4103/0973-7847.125541

Tuhuloula, A., Budiyarti, L., & Fitriana, E. N. (2013). Karakterisasi Pektin Dengan Memanfaatkan Limbah Kulit Pisang Menggunakan Metode Ekstraksi. *Konversi*, *2*(1), 21.

Ulistyarini, I., Sari, D. A., & Wicaksono, T. A. (2019). Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Batang Buah Naga (Hylocereus polyrhizus). *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*, 56–62.

Widyastuti, R. (2018). Uji Toksisitas Akut Kulit Kentang (Solanum tuberosum L.) Terhadap Larva Artemia salina Leach Dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test). *The Journal of Muhammadiyah Medical Laboratory Technologist*, 1–26.

Wijaya, P., & Susanti, R. (2022). Mobile Phase Optimization in TLC for Alkaloid Profiling. *Indonesian Journal of Chemical Science*, *8*(2), 101–109.

Zhang, W., Xu, M., Feng, Y., Mao, Z., & Yan, Z. (2024). The Effect of Procrastination on Physical Exercise among College Students—The Chain Effect of Exercise Commitment and Action Control. *International Journal of Mental Health Promotion*, *26*(8), 611–622. https://doi.org/10.32604/ijmhp.2024.052730