

SKRIPSI

**TOKSISITAS FRAKSI EKSTRAK ETANOL DAUN HARENDONG BULU
(*Clidemia hirta* (L.) D. Don) DENGAN METODE *BRINE SHRIMP*
*LETHALITY TEST***



Disusun Oleh:
Mega Rosita Boru Purba
NPM: 200802116

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI
UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
YOGYAKARTA
2025**

**TOKSISITAS FRAKSI EKSTRAK ETANOL DAUN HARENDONG BULU
(*CLIDEMIA HIRTA* (L.) D. DON) DENGAN METODE *BRINE SHRIMP*
*LETHALITY TEST***

SKRIPSI

**Diajukan kepada Program Studi Biologi
Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta
sebagai syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S-1)**



Disusun oleh:
Mega Rosita Boru Purba
NPM: 200802116

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI
UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
YOGYAKARTA
2025**

PENGESAHAN

Mengesahkan skripsi berjudul:

TOKSISITAS FRAKSI EKSTRAK ETANOL DAUN HARENDONG BULU (*CLIDEMIA HIRTA* (L.) D. DON) DENGAN METODE *BRINE SHRIMP* *LETHALITY TEST*

Yang dipersiapkan dan disusun oleh:

Mega Rosita Boru Purba

NPM: 200802116

Konsentrasi Studi: Teknobio – Industri

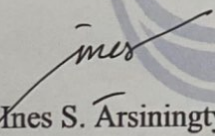

Program Studi Biologi

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
pada hari Selasa, 10 Desember 2024
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat
untuk memperoleh derajat Sarjana S-1

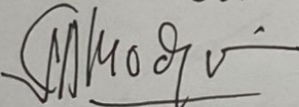
SUSUNAN TIM PENGUJI

Ketua Penguji,

Anggota Penguji,


(apt. Ines S. Arsiningtyas, S.Farm M.Sc., Ph.D.) 
(Dr. apt. Sendy Junedi, S.Farm., M.Sc.)

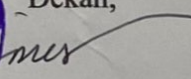
Sekretaris Penguji,


(Drs. Patricius Kianto Atmodjo, M.Si.)

Yogyakarta, 31 Januari 2025

UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI

Dekan,


(apt. Ines Septi Arsiningtyas, S.Farm., M.Sc., Ph.D.)



PENGESAHAN

Mengesahkan Skripsi dengan judul:

**TOKSISITAS FRAKSI EKSTRAK ETANOL DAUN HARENDONG BULU
(*CLIDEMIA HIRTA* (L.) D. DON) DENGAN METODE *BRINE SHRIMP*
*LETHALITY TEST***

Yang dipersiapkan dan disusun oleh:

Mega Rosita Boru Purba

NPM: 200802116

Konsentrasi Studi: Teknobio – Industri

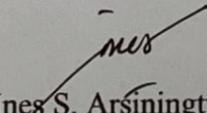
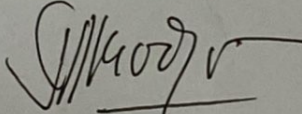
Program Studi Biologi

Dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diujikan pada 10 Desember 2024

Menyetujui,

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Pendamping,


(apt. Ines S. Arsiningtyas, S.Farm., M.Sc., Ph.D.)  (Drs. P. Kianto Atmodjo, M.Si.)

PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME

Saya yang membuat pernyataan di bawah ini:

Nama : Mega Rosita Boru Purba

NPM : 200802116

Judul Skripsi : Toksisitas Fraksi Ekstrak Etanol Daun Harendong Bulu (*Clidemia hirta* (L.) D. Don) Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test*

Berdasarkan surat pernyataan ini, saya menyatakan bahwa naskah skripsi yang saya buat merupakan asli dan hasil karya saya sendiri. Naskah skripsi ini saya buat sesuai dengan tata cara penulisan ilmiah dan etika dalam melakukan penelitian skripsi. Apabila naskah saya di kemudian hari ditemukan adanya bukti plagiarisme, maka saya siap menerima sanksi yang berlaku.

Yogyakarta, 24 September 2024

Yang menyatakan,



Mega Rosita Boru Purba

KATA PENGANTAR

Atas berkat Tuhan Yesus Kristus, penulis ucapkan syukur atas terselesaikan penelitian dan naskah skripsi dengan judul “Toksistas Fraksi Ekstrak Etanol Daun Harendong Bulu (*Clidemia hirta* (L.) D. Don) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test*. Hal ini menjadi syarat dan kewajiban untuk mendapatkan gelar sarjana dalam bidang sains di Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta. Penulis berharap skripsi bermanfaat bagi peneliti lainnya. Pelaksanaan dan penulisan laporan skripsi ini tidak dapat selesai tanpa dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Tuhan Yesus Kristus, karena atas berkat dan anugrah-Nya penulis mampu bertahan dalam melaksanakan dan menyusun laporan skripsi dengan baik.
2. Keluarga tercinta yaitu, Bapak Ali Barencon Purba, Mamak Rosmelina Sinaga yang telah memberikan dukungan finansial, Abang Juniarmen Jaya Purba, Adik Jesika Yolanda Purba dan Duta Mikael Purba yang telah memberikan semangat kepada penulis untuk terus berjuang menyelesaikan skripsi.
3. Ibu apt. Ines Septi Arsiningtyas, S.Farm., M.Sc., Ph.D selaku dosen pembimbing utama penulis selama penelitian skripsi yang telah memberikan bimbingan, arahan dan dukungan finansial kepada penulis dalam menyelesaikan laporan skripsi.
4. Bapak Drs. P. Kianto Atmodjo, M.Si selaku dosen pembimbing pendamping yang telah memberikan bimbingan kepada penulis dalam menyelesaikan proses skripsi.
5. Ibu Fransiska Romana selaku staff laboratorium Teknobiologi-Industri yang telah membantu penulis selama proses penelitian di laboratorium Universitas Atma Jaya Yogyakarta.
6. Staff Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta yang telah membantu dalam pembuatan surat menyurat untuk kelancaran dan keberhasilan penelitian skripsi.

7. Diri sendiri yang telah berjuang dari awal perkuliahan hingga proses penelitian skripsi berakhir.
8. Miranda, Titin, Clara, Yanti, Lisa, Nadya, Vioni, Mary, Fioresta, Anin, Sophie, Ekles, Kak Disa, Angel, Ryan dan teman kuliah lainnya yang telah membantu dan menghibur penulis selama proses perkuliahan sampai penelitian skripsi selesai.
9. Penulis mempersembahkan skripsi ini untuk Boris Bokir, Indra Jegel, Bene Dion, dan Oki Rengga dari *group* 'AGAK LAEN' yang menjadi penghibur dan penyemangat penulis dalam pengerjaan skripsi ini.
10. D'mitriev Abraham Hariyanto "Abe Cekut" yang telah menghibur penulis sehingga penulis semangat dalam menyelesaikan penelitian tugas akhir ini.

Penulis menyadari bahwa laporan skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan dan jauh dari kata sempurna. Penulis berharap semoga dengan adanya penelitian dan naskah skripsi ini dapat memberikan inspirasi dan bermanfaat bagi teman-teman, peneliti dan adik-adik tingkat yang akan melanjutkan penelitian lanjutan dari penelitian ini. Penulis berharap apapun kekurangan dari naskah skripsi ini mohon dimaklumi serta adanya kritik dan saran yang dapat membangun.

Yogyakarta, 04 September 2024

Mega Rosita Boru Purba

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PENGESAHAN.....	ii
PENGESAHAN.....	iii
PENYATAAN BEBAS PLAGIARISME.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
INTISARI.....	xv
ABSTRACT	xvi
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian.....	5
D. Manfaat Penelitian.....	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	6
A. Tumbuhan Harendong Bulu (<i>Clidemia hirta</i> (L.) D. Don)	6
1. Deskripsi dan Klasifikasi	6
2. Senyawa Metabolit Sekunder.....	8
B. Pembuatan Simplisia	10
C. Standardisasi Simplisia.....	12
D. Ekstraksi	14
E. Fraksinasi	19
F. Senyawa Fitokimia.....	19
G. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	24
H. Toksisitas	27
I. Hipotesis.....	31

II. METODE PENELITIAN	32
A. Tempat dan Waktu Penelitian.....	32
B. Alat dan Bahan.....	32
C. Rancangan Percobaan.....	33
D. Alur Penelitian	35
E. Cara Kerja	35
1. Determinasi Tumbuhan (<i>Clidemia hirta</i>).....	35
2. Penyiapan Simplisia dan Pembuatan serbuk Harendong Bulu	36
3. Standardisasi Simplisia	36
a. Penetapan Kadar Sari Larut Air atau Etanol	36
b. Penetapan Kadar Abu Total	37
c. Penetapan Susut Pengeringan.....	37
d. Penetapan Kadar Air.....	38
4. Penyarian dan Perhitungan Rendemen	38
5. Fraksinasi Ekstrak Daun Harendong Bulu.....	39
6. Analisis Kandungan Fitokimia Kualitatif	40
a. Flavonoid.....	40
b. Tanin	40
7. Kromatografi Lapis Tipis.....	41
8. Analisis Kandungan Fitokimia Kuantitatif	42
a. Penetapan Kadar Fenolik Total.....	42
1. Pembuatan Kurva Standar Asam Galat.....	42
2. Pengukuran Kadar Fenolik Total	42
b. Penetapan Kadar Flavonoid Total	43
1. Pembuatan Kurva Standar Kuersetin	43
2. Pengukuran Kadar Flavonoid Total	44
c. Penetapan Kadar Tanin Total	45
1. Pembuatan Kurva Standar Asam Tanat.....	45
2. Pengukuran Kadar Tanin Total	46
9. Persiapan dan Analisis Toksisitas dengan Metode BSLT	47
10. Analisis Statistik Data.....	49

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	50
A. Pembuatan Simplisia dan Serbuk Halus Daun Harendong Bulu	50
B. Standardisasi Simplisia	51
C. Ekstraksi Daun Harendong Bulu	56
D. Fraksinasi Ekstrak Daun Harendong Bulu.....	58
E. Analisis Senyawa Fitokimia Kualitatif Ekstrak Fraksi Daun Harendong Bulu.....	61
F. Analisis Senyawa Flavonoid Ekstrak Fraksi Daun Harendong Bulu dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis	65
G. Analisis Senyawa Fitokimia Kuantitatif Ekstrak Fraksi Daun Harendong Bulu.....	70
1. Flavonoid Total	71
2. Senyawa Fenolik Total	75
3. Tanin Total.....	79
H. Analisis Toksisitas Ekstrak Fraksi Daun Harendong Bulu (<i>Clidemia hirta</i> (L.) D. Don) dengan BSLT	84
V. SIMPULAN DAN SARAN.....	94
1. Simpulan.....	94
2. Saran.....	94
DAFTAR PUSTAKA	95
LAMPIRAN	111

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Daun Harendong Bulu (<i>C. Hirta</i>).....	6
Gambar 2. Struktur Fenol.....	20
Gambar 3. Reaksi Senyawa Fenol dengan Reagen <i>Folin-Ciocalteu</i>	21
Gambar 4. Struktur Senyawa Flavonoid.....	21
Gambar 5. Reaksi Flavonoid dengan NaOH.....	22
Gambar 6. Reaksi Flavonoid dengan Aluminium klorida ($AlCl_3$).....	22
Gambar 7. Struktur Kuersetin	23
Gambar 8. Siklus Hidup <i>Artemia salina</i>	30
Gambar 9. Larva <i>Artemia salina</i> perbesaran 70 μm	31
Gambar 10. Alur Penelitian.....	35
Gambar 11. Simplisia Daun Harendong Bulu.....	50
Gambar 12. Serbuk Daun Harendong Bulu Setelah Penghalusan (A) dan Setelah Pengayakan (B).....	51
Gambar 13. Ekstrak Etanol 70% Daun Harendong Bulu	57
Gambar 14. Fraksinasi Etil Asetat dan Fraksi Air Daun Harendong Bulu.....	59
Gambar 15. Hasil Pemekatan Fraksi Etil Asetat (A) dan Fraksi Air (B).....	60
Gambar 16. Hasil Analisis Kualitatif Flavonoid Ekstrak Etanol 70% (A), Fraksi Etil Asetat (B) dan Fraksi Air (C) Daun Harendong Bulu.....	63
Gambar 17. Hasil Analisis Kualitatif Tanin Ekstrak Etanol 70% (A), Fraksi Etil Asetat (B) dan Fraksi Air (C) Daun Harendong Bulu.....	64
Gambar 18. Hasil Pengukuran Flavonoid dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis pada Panjang Gelombang 254 nm (A) dan 366 nm (B).....	67
Gambar 19. Kurva Standar Kuersetin.....	72

Gambar 20.	Struktur Flavonoid Glikosida (A) dan Aglikon (B)	74
Gambar 21.	Kurva Standar Asam Galat	76
Gambar 22.	Kurva Standar Asam Tanat	81
Gambar 23.	Struktur Tanin Terhidrolisis (A) dan Terkondensasi (B).....	83
Gambar 24.	Larva Udang <i>A. salina</i> Berumur 48 Jam Sebelum Pengujian (A) dan Setelah Pengujian dalam 24 Jam (B)	87

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1.	Klasifikasi tingkat LC ₅₀ dalam uji toksisitas..... 28
Tabel 2.	Rancangan percobaan uji kuantitatif flavonoid, fenolik dan tanin..... 34
Tabel 3.	Rancangan percobaan konsentrasi ekstrak etanol 70%, fraksi etil asetat dan fraksi air daun harendong bulu (<i>Clidemia hirta</i> (L.) D. Don dengan larva udang (<i>Artemia salina</i>)..... 34
Tabel 4.	Hasil pengukuran kadar abu total simplisia daun harendong bulu (<i>Clidemia hirta</i> (L.) D. Don) 52
Tabel 5.	Hasil pengukuran susut pengeringan simplisia daun harendong bulu (<i>Clidemia hirta</i> (L.) D. Don) 53
Tabel 6.	Hasil pengukuran kadar air simplisia daun harendong bulu (<i>Clidemia hirta</i> (L.) D. Don)..... 54
Tabel 7.	Hasil pengukuran kadar sari larut air simplisia daun harendong bulu (<i>Clidemia hirta</i> (L.) D. Don) 55
Tabel 8.	Hasil pengukuran kadar sari larut etanol simplisia daun harendong bulu (<i>Clidemia hirta</i> (L.) D. Don)..... 56
Tabel 9.	Hasil ekstrak etanol 70% dan fraksi ekstrak etil asetat dan fraksi air daun harendong bulu (<i>Clidemia hirta</i> (L.) D. Don)..... 60
Tabel 10.	Hasil pengujian fitokimia kualitatif ekstrak etanol 70% dan fraksi etil asetat dan fraksi air daun harendong bulu (<i>Clidemia hirta</i> (L.) D. Don) 62
Tabel 11.	Hasil pengukuran absorbansi larutan standar kuersetin..... 71
Tabel 12.	Hasil penetapan kadar flavonoid total ekstrak etanol 70%, daun harendong bulu (<i>Clidemia hirta</i> (L.) D. Don)..... 73
Tabel 13.	Hasil penetapan kadar flavonoid total fraksi etil asetat dan fraksi air daun harendong bulu (<i>Clidemia hirta</i> (L.) D. Don)..... 73
Tabel 14.	Hasil pengukuran absorbansi larutan standar asam galat..... 76
Tabel 15.	Hasil penetapan kadar fenolik total ekstrak etanol 70% daun

	harendong bulu (<i>Clidemia hirta</i> (L.) D. Don).....	77
Tabel 16.	Hasil penetapan kadar fenolik total fraksi etil asetat dan fraksi air daun harendong bulu (<i>Clidemia hirta</i> (L.) D. Don).....	77
Tabel 17.	Hasil pengukuran absorbansi larutan standar asam tanat.....	80
Tabel 18.	Hasil penetapan kadar tanin total ekstrak etanol 70% daun harendong bulu (<i>Clidemia hirta</i> (L.) D. Don).....	81
Tabel 19	Hasil penetapan kadar tanin total fraksi etil asetat dan fraksi air daun harendong bulu (<i>Clidemia hirta</i> (L.) D. Don).....	82
Tabel 20.	Hasil mortalitas larva udang ekstrak etanol 70%, fraksi etil asetat dan fraksi air daun harendong bulu (<i>Clidemia hirta</i> (L.) D. Don).....	85
Tabel 21.	Hasil LC ₅₀ ekstrak etanol 70%, fraksi etil asetat dan fraksi air daun harendong bulu (<i>Clidemia hirta</i> (L.) D. Don).....	88
Tabel 22.	Rekapitulasi senyawa metabolit sekunder ekstrak etanol 70% daun harendong bulu (<i>Clidemia hirta</i> (L.) D. Don).....	90
Tabel 23.	Rekapitulasi senyawa metabolit sekunder ekstrak fraksi daun harendong bulu (<i>Clidemia hirta</i> (L.) D. Don).....	91

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Determinasi Tumbuhan Harendong Bulu.....	112
Lampiran 2. Perhitungan Rendemen Ekstrak Etanol 70% dan Ekstrak Fraksi.....	113
Lampiran 3 Standardisasi Simplisia.....	116
Lampiran 4 Hasil Absorbansi Fitokimia Kuantitatif.....	120
Lampiran 5 Dokumentasi Fitokimia Kuantitatif.....	121
Lampiran 6 Perhitungan Konsentrasi dan Persiapan Fitokimia Kuantitatif.....	123
Lampiran 7 Hasil Absorbansi Kuersetin, Asam Galat dan Asam Tanat	128
Lampiran 8 Perhitungan Senyawa Flavonoid, Fenolik dan Tanin.....	130
Lampiran 9 Analisis Data Statistik Hasil Pengujian Fitokimia Kuantitatif.....	145
Lampiran 10 Toksisitas Ekstrak Etanol 70%, Fraksi Etil Asetat dan Fraksi Air Daun Harendong Bulu.....	147
Lampiran 11 Analisis Probit Toksisitas Ekstrak Etanol 70%, Fraksi Etil Asetat dan Fraksi Air Daun Harendong Bulu.....	148
Lampiran 12 Analisis Regresi LC50 Ekstrak Etanol 70%, Ekstrak Fraksi Etil Asetat dan Ekstrak Fraksi Air Daun Harendong Bulu.....	154

INTISARI

Indonesia merupakan negara yang memiliki kekayaan tumbuhan yang sangat tinggi dan digunakan sebagai obat tradisional serta bahan baku di industri farmasi. Kebutuhan masyarakat pada obat tradisional semakin meningkat sehingga memerlukan pengembangan Obat Bahan Alam (OBA) dengan daun harendong bulu (*Clidemia hirta* (L.) D. Don). Tujuan penelitian yaitu mengetahui senyawa metabolit sekunder dan mengetahui nilai LC_{50} yang terkandung didalam fraksi etil asetat dan air dari ekstrak etanol 70%. Daun harendong bulu diekstraksi lalu ekstrak yang didapatkan difraksinasi cair-cair dengan pelarut etil asetat dan air. Uji toksisitas dilakukan dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test*. Dalam uji toksisitas digunakan beberapa konsentrasi dari kontrol, ekstrak dan fraksi yaitu 50; 75; 100; 250; 500 $\mu\text{g/mL}$ (ppm). Parameter toksisitas yang diamati yaitu mortalitas larva udang *A. salina* setelah 24 jam perlakuan ekstrak etanol 70%, fraksi etil asetat dan fraksi air daun harendong bulu pada tiap konsentrasi. Data diuji secara statistik menggunakan korelasi dan regresi serta analisis probit. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak etanol 70%, fraksi etil asetat dan fraksi air daun harendong bulu memiliki efek toksik yang ditunjukkan dengan nilai LC_{50} dengan kategori “toksik” sebesar 130,32 $\mu\text{g/mL}$ pada ekstrak etanol 70%, 190,19 $\mu\text{g/mL}$ pada fraksi etil asetat dan ekstrak yang berpotensi dikembangkan sebagai obat bahan alam ekstrak fraksi air karena nilai LC_{50} lebih tinggi sebesar 198,82 $\mu\text{g/mL}$ pada fraksi air. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa, ekstrak etanol 70%, fraksi etil asetat dan fraksi air daun harendong bulu mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid, fenolik, tanin serta menunjukkan kategori toksik.

Kata Kunci: **Harendong bulu, Fitokimia, Fraksinasi, Toksisitas**

ABSTRACT

Indonesia is a country that has a very high wealth of plants which are used as traditional medicine and raw materials in the pharmaceutical industry. The public's need for traditional medicines is increasing, necessitating the development of Natural Medicines (OBA) using harendong bulu (*Clidemia hirta* (L.) D. Don) leaves. The aim of the research is to determine secondary metabolite compounds and determine the LC₅₀ value contained in the ethyl acetate and water fractions of 70% ethanol extract. Harendong bulu leaves are extracted and then the extract obtained is liquid-liquid fractionated using the solvent ethyl acetate and water. The toxicity test was carried out using the *Brine Shrimp Lethality Test* method. In the toxicity test several concentrations of control, extract and fraction were used, namely 50; 75; 100; 250; 500 µg/mL (ppm). The toxicity parameters observed were the mortality of *A. salina shrimp* larvae after 24 hours of 70% ethanol extract treatment, ethyl acetate fraction and water fraction of harendong bulu leaves at each concentration. The data was tested statistically using correlation and regression as well as probit analysis. The research results showed that 70% ethanol extract, the ethyl acetate fraction and the water fraction of harendong bulu leaves have a toxic effect as indicated by the LC₅₀ value in the "toxic" category of 130.32 µg/mL in the 70% ethanol extract, 190.19 µg/mL in the ethyl acetate fraction and the extract which has the potential to be developed as a natural medicine for extracting water fractions because the LC₅₀ value is higher at 198.82 µg/mL in the water fraction. Based on the research results, it can be concluded that the 70% ethanol extract, ethyl acetate fraction and water fraction of harendong bulu leaves contain secondary metabolite compounds of flavonoids, phenolics and tannins and show a toxic category.

Keywords: **Harendong Bulu, Phytochemicals compounds, Fractionation, Toxicity**