

**UJI TOKSISITAS EKSTRAK N-HEKSAN, ETIL ASETAT, DAN ETANOL  
96% DAUN KENIKIR (*Cosmos caudatus* Kunth) DENGAN  
MENGUNAKAN METODE *BRINE SHRIMP LETHALITY TEST* (BSLT)**

**TOXICITY TEST OF N-HEXAN, ETHYL ASTETATE, AND ETHANOL  
96% EXTRACTS KENIKIR (*Cosmos caudatus* Kunth) LEAVES BY USING  
THE *BRINE SHRIMP LETHALITY TEST* (BSLT) METHODS**



Diajukan kepada Prodi S1 Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan  
Universitas Muhammadiyah Makassar untuk Memenuhi sebagian Persyaratan  
guna Memperoleh gelar Sarjana Farmasi

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI  
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MAKASSAR**

**2025**

**PERNYATAAN PERSETUJUAN PEMBIMBING  
PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI**

**FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MAKASSAR**

**UJI TOKSISITAS EKSTRAK N-HEKSAN, ETIL ASETAT, DAN ETANOL  
96% DAUN KENIKIR (*Cosmos caudatus* Kunth) DENGAN  
MENGUNAKAN METODE *BRINE SHRIMP LETHALITY TEST* (BSLT)**

**USRA THAMRIN**

**105131106120**

Skripsi ini telah disetujui dan diperiksa oleh Pembimbing skripsi  
Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan  
Universitas Muhammadiyah Makassar

Makassar, 13 Februari 2025

Menyetujui Pembimbing,

**Pembimbing I**

**Pembimbing II**

  
apt, Sri Widvastuti, S.Si., M.KM

  
apt, Anshari Masri, S.Farm., M.Si

**PANITIA SIDANG UJIAN**

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI  
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MAKASSAR**

**Skripsi dengan judul “UJI TOKSISITAS EKSTRAK N-HEKSAN, ETIL ASETAT, DAN ETANOL 96% DAUN KENIKIR (*Cosmos caudatus* Kunth) DENGAN MENGGUNAKAN METODE *BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BSLT)*”.**

Telah diperiksa, disetujui, serta dipertahankan dihadapan Tim Penguji Skripsi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Makassar pada:

**Hari/Tanggal : Kamis 13 Februari 2025**

**Waktu : 09.00 – selesai**

**Tempat : Ruang F Lantai 4**

**Ketua Tim Penguji I :**

**apt. Fitvatun Usman, S.Si., M.Si**

**Anggota Tim Penguji**

**Anggota Penguji 1**

**Anggota Penguji 2**

**Syafruddin, S.Si., M.Kes.**

**apt. Sri Widvastuti, S.Si., M.KM**

**Anggota Penguji 3**

**apt. Anshari Masri, S.Farm., M.Si**

## PERNYATAAN PENGESAHAN

### DATA MAHASISWA :

Nama Mahasiswa : Usra Thamrin  
Tempat/Tanggal Lahir : Nggele, 17 Juli 2002  
Tahun Masuk : 2020  
Peminatan : Farmasi  
Nama Pembimbing Akademik : apt. Sulaiman, S.Si., M.Si  
Nama Pembimbing Skripsi : 1. apt. Sri Widyastuti, S.Si., M.KM  
2. apt. Anshari Masri, S.Farm., M.Si

### JUDUL PENELITIAN :

**“UJI TOKSISITAS EKSTRAK N-HEKSAN, ETIL ASETAT, DAN ETANOL 96% DAUN KENIKIR (*Cosmos caudatus* Kunth) DENGAN MENGGUNAKAN METODE *BRINE SHRIMP LETHALITY TEST* (BSLT)”.**

Menyatakan bahwa yang bersangkutan telah melaksanakan tahap ujian usulan skripsi, penelitian skripsi dan ujian akhir skripsi, untuk memenuhi persyaratan akademik dan administrasi untuk mendapatkan Gelar Sarjana Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhamadiyah Makassar.

Makassar, 13 Februari 2025

Mengesahkan,



**apt. Sulaiman, S.Si., M.Si**  
Ketua Program Studi Sarjana Farmasi

## PERNYATAAN TIDAK PLAGIAT

Yang bertanda tangan dibawah ini,

Nama Mahasiswa : Usra Thamrin

Tempat/Tanggal Lahir : Nggele, 17 Juli 2002

Tahun Masuk : 2020

Peminatan : Farmasi

Nama Pembimbing Akademik : apt. Sulaiman, S.Si., M.Si

Nama Pembimbing Skripsi : 1. apt. Sri Widyastuti, S.Si., M.KM  
2. apt. Anshari Masri, S.Farm., M.Si

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan kegiatan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul :

**“ UJI TOKSISITAS EKSTRAK N-HEKSAN, ETIL ASETAT, DAN ETANOL 96% DAUN KENIKIR (*Cosmos caudatus* Kunth) DENGAN MENGGUNAKAN METODE *BRINE SHRIMP LETHALITY TEST* (BSLT)”.**

Apabila suatu saat nanti saya melakukan tindakan plagiat, maka saya akan menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian surat pernyataan ini saya buat sebenar-benarnya.

Makassar, 13 Februari 2025

**Usra Thamrin**  
NIM. 105131106120



## RIWAYAT HIDUP



Nama : Usra Thamrin  
Ayah : Thamrin Sanya  
Ibu : Nurdian La Isa  
Tempat, Tanggal Lahir : Nggele, 27 Juli 2002  
Agama : Islam  
Alamat : Jln. Sultan Alauddin 3  
Nomor Telepon/HP : 082129697926  
Email : [usrathamrin2@gmail.com](mailto:usrathamrin2@gmail.com)

## RIWAYAT PENDIDIKAN

SD INPRES 1 DESA NGGELE

SMP NEGERI 1 TALIABU BARAT

SMA NEGERI 1 TALIABU BARAT

Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Makassar

(2020-2025)

FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MAKASSAR  
SKRIPSI, NOVEMBER 2024

UJI TOKSISITAS EKSTRAK N-HEKSAN, ETIL ASETAT, DAN  
ETANOL 96% DAUN KENIKIR (*Cosmos caudatus* Kunth) DENGAN  
MENGUNAKAN METODE *BRINE SHRIMP LETHALITY TEST*  
(BSLT)

ABSTRAK

**Latar Belakang Penelitian:** Daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) memiliki manfaat antikanker, antiinflamasi, dan antimikroba. Namun, data toksisitasnya masih terbatas. Senyawa seperti flavonoid, fenol, dan saponin berpotensi toksik. Uji toksisitas pada larva *Artemia salina* penting untuk mengetahui profil keamanan tanaman ini dalam pengembangan obat.

**Tujuan Penelitian:** untuk menilai toksisitas ekstrak daun kenikir yang diekstraksi dengan pelarut n-heksan, etil asetat, dan etanol 96% terhadap larva udang *Artemia salina* Leach menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) serta menentukan nilai  $LC_{50}$  dan mengidentifikasi senyawa bioaktifnya.

**Metode Penelitian:** Penelitian ini menggunakan pendekatan eksperimental dengan desain laboratorium, di mana ekstrak daun kenikir diperoleh melalui maserasi bertingkat dengan pelarut n-heksan, etil asetat, dan etanol 96%. Toksisitas terhadap larva *Artemia salina* diuji menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) untuk menentukan nilai  $LC_{50}$  setiap ekstrak. Uji fitokimia mengidentifikasi senyawa bioaktif seperti fenol, flavonoid, tanin, dan saponin yang berkontribusi pada aktivitas toksik yang diamati.

**Hasil Penelitian:** Ekstrak daun kenikir dari berbagai pelarut menunjukkan sifat sangat toksik dengan nilai  $LC_{50}$  di bawah 100 ppm, dipengaruhi oleh kandungan senyawa fenol, flavonoid, tanin, dan saponin yang teridentifikasi melalui uji fitokimia. Berdasarkan hasil BSLT, ekstrak etil asetat memiliki toksisitas tertinggi ( $LC_{50}$  1,383 ppm), diikuti oleh ekstrak etanol (3,328 ppm) dan ekstrak n-heksana (8,440 ppm). Hasil ini menegaskan bahwa jenis pelarut memengaruhi kandungan bioaktif dan tingkat toksisitas ekstrak daun kenikir

**Kata Kunci:** Uji Toksisitas, *Cosmos caudatus* Kunth, BSLT  $LC_{50}$ , N-heksan , Etil Asetat, Etanol 96%

FACULTY OF MEDICINE AND HEALTH SCIENCES  
UNIVERSITY OF MUHAMMADIYAH MAKASSAR  
THESIS, NOVEMBER 2024

**TOXICITY TEST OF N-HEXAN, ETHYL ASTETATE, AND ETHANOL  
96% EXTRACTS KENIKIR (*Cosmos caudatus* Kunth) LEAVES BY USING  
THE BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BSLT) METHODS**

**ABSTRACT**

**Research Background:** The kenikir leaf (*Cosmos caudatus* Kunth) has anticancer, anti-inflammatory, and antimicrobial benefits. However, toxicity data on this plant is still limited. Compounds such as flavonoids, phenols, and saponins have the potential to be toxic. Toxicity testing on *Artemia salina* larvae is important to assess the safety profile of this plant in drug development.

**Objective:** This study aims to evaluate the toxicity of kenikir leaf extracts obtained with n-hexane, ethyl acetate, and ethanol 96% solvents on *Artemia salina* Leach larvae using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT), as well as to determine the LC<sub>50</sub> value and identify the bioactive compounds.

**Research Method:** This study employed an experimental approach with a laboratory design, where kenikir leaf extracts were obtained through sequential maceration with n-hexane, ethyl acetate, and ethanol 96%. Toxicity against *Artemia salina* larvae was tested using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) to determine the LC<sub>50</sub> of each extract. Phytochemical tests identified bioactive compounds such as phenols, flavonoids, tannins, and saponins that contribute to the observed toxic activity.

**Research Results:** The kenikir leaf extracts from various solvents showed highly toxic properties with LC<sub>50</sub> values below 100 ppm, influenced by the presence of phenols, flavonoids, tannins, and saponins as identified in the phytochemical tests. Based on the BSLT results, the ethyl acetate extract showed the highest toxicity with an LC<sub>50</sub> of (1,383 ppm), followed by the ethanol extract (3,328 ppm) and the n-hexane extract (8,440 ppm). These results confirm that the solvent type affects the bioactive content and toxicity level of kenikir leaf extracts.

**Keywords:** Toxicity Test, *Cosmos caudatus* Kunth, BSLT, LC<sub>50</sub>, N-hexane, Ethyl Ecetate, and Ethanol 96%



## KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim.

Puji syukur penulis haturkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, atas berkat rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis masih diberi kesehatan dan kesempatan untuk dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “UJI TOKSISITAS EKSTRAK N-HEKSAN, ETIL ASETAT, DAN ETANOL 96% DAUN KENIKIR (*Cosmos caudatus* Kunth) DENGAN MENGGUNAKAN METODE *BRINE SHRIMP LETHALITY TEST* (BSLT)”. Shalawat dan salam senantiasa tercurahkan kepada junjungan Nabi Besar Muhammad SAW, manusia panutan bagi seluruh umat manusia.

Skripsi ini dapat selesai dengan baik tidak terlepas dari dukungan dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada Ayahanda Thamrin dan Ibunda Nurdian yang selalu memberikan semangat dan do'a yang tidak pernah putus untuk saya, serta segenap keluarga tercinta yang telah memberikan bantuan moral maupun do'anya. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Gagaring Pagalung, M.Si., Ak. C.A BPH Universitas Muhammadiyah Makassar
2. Bapak Prof. Dr. H. Ambo Asse, M.Ag., selaku Rektor Universitas Muhammadiyah Makassar.
3. Ibu Prof. Dr. dr. Suryani As'ad, M.Sc, Sp.GK(K) selaku Dekan FKIK Universitas Muhammadiyah Makassar yang telah memberikan sarana dan prasarana sehingga penulis dapat menyelesaikan Pendidikan dengan baik.

4. Bapak apt. Sulaiman, S.Si., M.Kes., selaku ketua Program Studi S1 Farmasi.
5. Ibu apt. Sri Widyastuti, S.Si., M.K.M., sebagai pembimbing pertama dan Bapak apt. Anshari Masri, S.Farm., M.SI., sebagai pembimbing kedua yang selalu sabar dalam membimbing penulis untuk menyusun dan menyelesaikan skripsi.
6. Ibu apt. Fityatun Usman, S.Si., M.Si sebagai ketua penguji dan Bapak Syafruddin, S.Si., M.Kes. sebagai anggota penguji yang tiada hentinya memberikan saran dan masukan kepada peneliti demi kesempurnaan skripsi ini.
7. Bapak Haryanto, S.Farm., M.Biomed yang sudah membantu dan mendampingi selama proses penelitian sampai penyusunan skripsi.
8. Seluruh Dosen dan staf Program Studi Sarjana Farmasi Universitas Muhammadiyah Makassar yang telah memberikan ilmu pengetahuan yang tak ternilai.
9. Kedua orang tua tercinta, Ibunda Nurdian dan ayahanda Thamrin Sanya, yang senantiasa memberikan dukungan baik moral maupun materi dan mengupayakan yang terbaik untuk kehidupan penulis. Terima kasih atas segala pengorbanan, kerja keras, dan kesabaran yang luar biasa dalam setiap langkah hidup penulis, serta kasih sayang dan do'a yang tiada henti.
10. Keluarga besar Farmasi terkhusus teman seperjuangan angkatan 20 (MILLEPOUM). Untuk B20 Farmasi terimakasih telah kebersamai

penulis yang sudah menjadi keluarga, teman yang saling menguatkan sampai hari ini, sudah berjuang sejauh ini, sudah kuat sampai tamat.

11. Terkhusus untuk teman-temanku masnia, wulan, hadistia, dan riska, teman yang banyak terlibat dalam proses penyelesaian skripsi saya. Terima kasih untuk orang-orang baik ini yang selalu ada saat saya butuh pertolongan, terima kasih sudah menjadi teman yang baik selama masa-masa sulit dari awal hingga akhir.

12. Teruntuk diri sendiri, terima kasih karena tidak menyerah, terima kasih karena sudah kuat. Tidak masalah untuk lelah yang tiap hari di rasakan akhirnya sekarang bisa di selesaikan dari yang awalnya tidak yakin sekarang sudah dibuktikan. Hebat.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran dan kritik demi kesempurnaan skripsi ini.

Makassar, 13 Februari 2025

Usra Thamrin  
105131106120

## DAFTAR ISI

<b>PERNYATAAN PERSETUJUAN PEMBIMBING</b> .....	i
<b>PERNYATAAN PENGESAHAN</b> .....	iii
<b>PERNYATAAN TIDAK PLAGIAT</b> .....	iv
<b>DAFTAR RIWAYAT HIDUP</b> .....	v
<b>ABSTRAK</b> .....	vi
<b>ABSTRACT</b> .....	vii
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	viii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xi
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xiii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xiv
<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b> .....	1
A. Latar Belakang .....	1
B. Rumusan Masalah .....	5
C. Tujuan Penelitian .....	5
D. Manfaat Penelitian .....	6
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	7
A. Kenikir ( <i>Cosmos caudatus</i> Kunth) .....	7
B. Ekstraksi .....	13
C. Skrining Fitokimia .....	16
D. Hewan Uji .....	18
E. Uji Toksisitas <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT) .....	20
F. Kerangka Konsep .....	25
<b>BAB III METODE PENELITIAN</b> .....	26
A. Jenis Penelitian .....	26
B. Waktu dan Lokasi Penelitian .....	26
C. Alat dan Bahan .....	26
D. Prosedur Kerja .....	27
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	34
A. Hasil Penelitian .....	34
B. Pembahasan .....	36

<b>BAB V PENUTUP</b> .....	48
A. Kesimpulan .....	48
B. Saran.....	48
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	49
<b>LAMPIRAN</b> .....	55





## DAFTAR TABEL

Tabel 4.1. Hasil Rendamen Ekstrak Daun Kenikir .....	34
Tabel 4.2 Uji Skrining Fitokimia .....	34
Tabel 4.3 Hasil Tokisistas Ekstrak Etanol .....	35
Tabel 4.4 Hasil Tokisistas Ekstrak Etil Asetat .....	35
Tabel 4.5 Hasil Tokisistas Ekstrak N-Heksan .....	36
Tabel 4.6 Kategori Toksisotas Berdasarkan Nilai LC <sub>50</sub> .....	36



## DAFTAR GAMBAR

Gambar.2.1. Kenikir ( <i>Cosmos caudatus</i> Kunth) .....	7
Gambar 2.2. Larva Udang. ( <i>Artemia salina</i> Leach ).....	18



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja.....	55
Lampiran 2. Pembuatan Pereaksi .....	58
Lampiran 3. Perhitungan .....	60
Lampiran 4. Penyiapan Sampel dan Pembuatan Ekstrak .....	71
Lampiran 5. Skrining Fitokimia.....	73
Lampiran 6. Uji Toksisitas .....	75
Lampiran 7. Jumlah kematian larva udang ( <i>Artemia salina</i> Leach) .....	77
Lampiran 8. Surat Izin Penelitian .....	79
Lampiran 9. Surat Keterangan Layak Etik.....	80
Lampiran 10. Surat Keterangan Bebas Plagiat.....	81
Lampiran 11. Hasil Bebas Plagiat.....	82



## BAB I

### PENDAHULUAN

#### A. Latar Belakang

Obat-obatan tradisional telah lama digunakan untuk pengobatan berbagai penyakit dan semakin populer karena dianggap memiliki risiko efek samping yang lebih rendah dibandingkan dengan obat-obatan medis modern. Jamu tradisional seringkali tidak menimbulkan kekhawatiran tentang efek samping karena bahan-bahannya yang alami, sehingga banyak orang lebih memilih pengobatan tradisional sebagai alternatif (Kumontoy, 2023). Berbagai tanaman obat telah banyak diteliti untuk kandungan kimia dan manfaat kesehatannya. Namun, masih ada sejumlah tanaman yang tingkat toksisitasnya belum diketahui secara pasti, sehingga penelitian lebih lanjut diperlukan untuk memahami potensi toksisitasnya (Firmansyah & Sandistira, 2020).

Salah satu tanaman yang digunakan secara tradisional sebagai obat adalah daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth), yang tumbuh alami dan sering dimanfaatkan dalam berbagai masakan (Dwiyanti *et al.*, 2014). Kenikir adalah tanaman dari keluarga *Asteraceae* yang berasal dari Amerika dan beberapa wilayah tropis lainnya. Di Indonesia, kenikir umumnya digunakan sebagai lalapan atau hidangan pembuka karena rasanya yang unik dan aromanya yang khas (Saputri *et al.*, 2023). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa daun kenikir mengandung senyawa seperti saponin, minyak atsiri, dan

flavonoid polifenol. Kandungan lain seperti hiroksigenol dan koniferil alkohol dalam akarnya diketahui dapat meningkatkan nafsu makan, mengurangi gangguan lambung, memperkuat tulang, serta bertindak sebagai pengusir serangga (Saputri *et al.*, 2023). Selain itu, daun kenikir juga diketahui memiliki sifat antioksidan, antimikroba, anti-inflamasi, dan antijamur, serta kaya akan mineral seperti kalium, magnesium, fosfor, besi, dan kalsium. Tanaman ini secara tradisional digunakan di Jawa Timur untuk menurunkan tekanan darah dan meningkatkan sirkulasi darah (Setiawan, 2018).

Uji toksisitas terhadap daun kenikir telah dilakukan sebelumnya oleh Kusuma *et al.* (2018), yang menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% dari daun kenikir memiliki nilai  $LC_{50}$  sebesar 142 ppm, sedangkan ekstrak etanol 96% memiliki nilai  $LC_{50}$  sebesar 139 ppm terhadap *Artemia salina* Leach. Toksisitas merujuk pada efek berbahaya yang dapat menyebabkan gangguan fungsional, biokimia, atau fisiologi, yang pada gilirannya dapat merusak kesehatan tubuh secara keseluruhan. Toksisitas dapat diamati dari perubahan pada organ tubuh seperti hati, ginjal, dan jantung yang biasanya berwarna kecoklatan. Zat toksik dapat mengubah warna organ-organ ini menjadi kuning atau hitam, yang menandakan adanya perlemakan atau kematian sel pada organ tersebut. Selain itu, perubahan bentuk dan bobot organ juga dapat menunjukkan kerusakan atau gangguan fungsi akibat paparan zat toksik (Vina, 2018).



Uji toksisitas dilakukan untuk mengetahui nilai  $LC_{50}$  suatu zat serta memahami mekanisme kerjanya dan organ target yang terlibat.  $LC_{50}$  mengacu pada konsentrasi zat yang dapat menyebabkan kematian 50% dari hewan uji dalam waktu tertentu (Firmansyah & Sandistira, 2020). Menurut Clarkson (2004), nilai  $LC_{50}$  diukur dengan kadar zat yang dapat membunuh 50% hewan uji dalam jangka waktu tertentu. Berdasarkan nilai  $LC_{50}$ , bahan dapat digolongkan sebagai sangat toksik, toksik sedang, toksik rendah, atau tidak toksik. Salah satu metode yang sering digunakan untuk uji toksisitas adalah *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), yang menggunakan larva udang (*Artemia salina* Leach) karena metode ini relatif murah, cepat, dan dapat dipercaya untuk mengukur toksisitas senyawa terhadap sel (Simatupang, 2022).

Untuk ekstraksi senyawa bioaktif dari tanaman, metode maserasi dapat digunakan karena memberikan ekstraksi yang baik tanpa memerlukan pemanasan, yang dapat merusak zat aktif. Metode ini memungkinkan untuk memperoleh senyawa bioaktif dengan lebih efisien (Mierza *et al.*, 2023). Dalam penelitian ini, digunakan tiga jenis pelarut dengan tingkat polaritas yang berbeda, yaitu n-heksana (non-polar), etil asetat (semi-polar), dan etanol (polar), yang dapat mempengaruhi hasil ekstraksi senyawa bioaktif. Perbedaan polaritas pelarut dapat mempengaruhi kelarutan senyawa-senyawa dalam tanaman, sehingga mempengaruhi tingkat toksisitas ekstrak yang dihasilkan (Hidayah *et al.*, 2017).

Penggunaan pelarut yang tepat sangat penting untuk memperoleh hasil ekstraksi yang optimal, karena setiap pelarut memiliki kemampuan untuk melarutkan metabolit sekunder dengan cara yang berbeda (Qulub et al., 2022). Oleh karena itu, uji toksisitas dengan menggunakan ekstrak daun kenikir dari berbagai jenis pelarut ini akan memberikan gambaran mengenai batas LC<sub>50</sub> dan perbedaan toksisitas yang dihasilkan, serta senyawa bioaktif yang terlibat dalam efek toksiknya (Yuliani et al., 2019).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui nilai LC<sub>50</sub> dari pelarut n-heksan, etil asetat, etanol 96% yang berbeda terhadap ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* kunth).

Sebagaimana dalam Al-Qur'an surah Al-Ar'rad ayat 4 :



وَفِي الْأَرْضِ قِطْعٌ مَّتَجَوَّرَاتٌ وَجَنَّتٌ مِّنْ أَعْنَابٍ وَزَرْعٌ  
وَنَخِيلٌ صِنَوَانٌ وَغَيْرُ صِنَوَانٍ يُسْقَى بِمَاءٍ وَاحِدٍ وَنَفْضُلٌ  
بَعْضُهَا عَلَى بَعْضٍ فِي الْأَكْلِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ  
يَعْقِلُونَ

Artinya :

“Di bumi terdapat bagian-bagian yang berdampingan, kebun- kebun anggur, tanaman-tanaman, dan pohon kurma yang bercabang dan yang tidak bercabang. (Semua) disirami dengan air yang sama,tetapi Kami melebihkan tanaman yang satu atas yang lainnya dalam hal rasanya. Sesungguhnya pada

yang demikian itu benar-benar (terdapat) tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi kaum yang mengerti” (QS Ar’rad:4).

Berdasarkan penjelasan ayat di atas tertulis air yang sama yang turun dari langit, bermacam-macam tanaman tumbuh dengan karakteristik yang berbeda-beda, baik dalam rasa, manfaat, maupun bentuknya. Sebagai manusia yang dianugerahi akal yang baik, kita diminta untuk memanfaatkan sumber daya alam dengan sebaik mungkin dan terus mengembangkan ilmu pengetahuan dari apa yang telah diberikan oleh Tuhan.

Berdasarkan latar belakang diatas, peneliti tertarik untuk melakukan uji toksisitas ekstrak n-heksan, etil asetat, dan etanol 96% daun kenikir (*Cosmos caudatus* kunth) menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)..

#### **B. Rumusan Masalah**

1. Apakah daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) memiliki efek toksisitas terhadap larva udang (*Artemia salina* Leach) menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)?
2. Berapakah nilai  $LC_{50}$  ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) yang diekstraksi dengan pelarut n-heksan, etil asetat, etanol 96 % terhadap larva udang (*Artemia salina* Leach)?

### C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui efek toksisitas ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) terhadap larva udang (*Artemia salina* Leach) menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).
2. Menentukan nilai  $LC_{50}$  ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) yang diekstraksi dengan pelarut n-heksan, etil asetat, dan etanol 96% terhadap larva udang (*Artemia salina* Leach).

### D. Manfaat Penelitian

1. Bagi Masyarakat  
Menambah informasi tentang tumbuhan kenikir yang berpotensi sebagai tanaman obat.
2. Bagi Institusi  
Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang potensi toksisitas ekstrak n-heksan, etil asetat, etanol 96% daun kenikir sehingga dapat digunakan sebagai alternatif dalam pengembangan obat-obat alami sebagai pengobatan serta pencegahan dari penyakit kanker.
3. Bagi Peneliti
  - a. Sebagai salah satu syarat mendapatkan gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas Muhammadiyah Makassar.
  - b. Dapat menambah pengalaman peneliti dalam melakukan uji toksisitas terutama pada tanaman kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth).

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth)

##### 1. Klasifikasi Kenikir

Klasifikasi dari kenikir adalah sebagai berikut :

Regnum : Plantae  
Division : Tracheophyta  
Class : Magnoliopsida  
Order : Asterales  
Family : Asteraceae  
Genus : *Cosmos*  
Species : *Cosmos caudatus* Kunth

(Anto & Prasetyani, 2022).



Gambar.2.1. Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth)  
Sumber : Dokumentasi Pribadi

##### 2. Sejarah Tanaman Kenikir

Kenikir berasal dari Amerika tropis yang tersebar luas di daerah tropis dengan nama binomial (*Cosmos caudatus* Kunth). Nama ini



disampaikan oleh Karl Sigismund Kunth di tahun 1820 dan dianggap sebagai nama yang sah telah dipublikasikan. Kenikir merupakan salah satu species dari genus *Cosmos* yang terdiri dari 26 species dari keluarga/famili *Asteraceae/Compositae*. Tumbuhan ini diketahui mempunyai beberapa nama atau penyebutan yang berbeda-beda pada masing-masing daerah (Anto & Prasetiani, 2022).

### 3. Penyebaran Kenikir

Daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) memiliki penyebaran yang luas di daerah tropis, termasuk Amerika Latin, Asia Tenggara, Cina, dan Indonesia. Di Indonesia, tanaman kenikir tumbuh di berbagai daerah seperti Sumatera, Jawa, Sulawesi, Kalimantan, Ambon, dan Nusa Tenggara Timur. Tanaman ini sering disebut sebagai kenikir di Indonesia. Menurut penelitian oleh Van de Bergh, *Cosmos caudatus* Kunth dapat tumbuh baik di daerah dengan ketinggian yang tidak terlalu tinggi, dengan paparan sinar matahari yang cukup, serta dapat hidup di pegunungan dengan ketinggian hingga 1.600 mdpl (Van Den Bergh, 1994).

### 4. Nama Daerah Kenikir

Secara umum, *Cosmos caudatus* Kunth dikenal oleh masyarakat di Jawa Tengah dengan sebutan kenikir, sementara di daerah Jawa Barat dikenal sebagai (randa midang), yang merupakan istilah untuk kenikir. Di berbagai negara, kenikir juga dikenal dengan nama lain seperti (*yellow far flower*) di Inggris. Di Malaysia, kenikir dikenal sebagai (ulma raja) atau (king of salad), yang artinya adalah raja sayuran (Javadi *et al.*, 2015).

## 5. Morfologi Kenikir

Daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) termasuk dalam jenis tanaman perdu yang tingginya berkisar antara 75 hingga 100 cm. Batangnya berkayu dan berbentuk segi empat, dengan cabang yang banyak. Tinggi batang tanaman kenikir biasanya antara 1 hingga 3 meter tergantung pada lokasi dan kondisi lingkungannya.

Bagian bawah batang berwarna coklat dan menjadi tempat melekatnya akar tanaman, sementara bagian atas batang berwarna hijau dan bercabang, menjadi tempat melekatnya daun. Akar tanaman kenikir terdiri dari akar tunggang putih (*Radix primaria*), akar cabang (*Radix lateralis*) yang tumbuh tegak, dan akar tunggangnya lebar (Hakim *et al.*, 2015).

Daunnya bersifat majemuk, saling bersilangan, lancip, dan pipih, dengan panjang sekitar 15-20 cm dan berwarna hijau. Tanaman kenikir memiliki bunga majemuk yang terdapat di ujung batang, dengan tangkai bunga sepanjang 25 cm. Bunganya memiliki beragam warna seperti pink, orange, dan kuning, dengan mahkota bunga yang terdiri dari 8 helai.

Benang sari menyerupai tabung, dan kepala sari berwarna coklat kehitaman dengan putik yang berambut. Biji kenikir berbentuk seperti jarum, terletak di ujung biji, dan berfungsi sebagai alat perbanyakan, dengan panjang biji sekitar 1 cm. Buahnya memiliki tekstur keras, berbentuk jarum, dengan ujung berambut (Hakim *et al.*, 2015).

Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) merupakan tanaman perdu dengan tinggi 75-100 cm, batang tegak, berbentuk segiempat, beralur membujur, bercabang banyak, batang muda berbulu, beruas-ruas, warna hijau keunguan. Daun majemuk, tumbuh bersilang, berhadapan, ujung runcing, tepi rata, panjang tangkai 25 cm. Mahkota bunga terdiri dari delapan helai daun. Benang sari berbentuk tabung, putik berambut, warna hijau kekuningan, serta bunga berwarna merah.

Buah berbentuk jarum, keras, ujungnya berambut, berwarna hijau saat masih muda dan berubah menjadi coklat setelah tua. Sedangkan akarnya tunggang dan berwarna putih. Kenikir menyukai tempat tumbuh yang langsung terkena sinar matahari dengan tanah berpasir atau berbatu, berlempung, liat berpasir atau berlempung dengan kelembaban sedang atau lebih stroke (Anto & Prasetyani, 2022).

#### 6. Kandungan Kenikir

Daun kenikir yang diekstrak menggunakan etanol dan pelarut lain menunjukkan adanya senyawa aktif seperti flavonoid, saponin, terpenoid, alkaloid, tanin, dan minyak atsiri yang memiliki potensi sebagai antimikroba (Dwiyanti *et al.*, 2014). Daun kenikir kaya akan antioksidan, fenol, flavonoid, polifenol, dan vitamin C yang tinggi. Selain itu, juga mengandung berbagai komponen bioaktif seperti asam askorbat sebanyak 108,83 mg/100g, kuersetin 51,28 mg/100g, asam klorogenat 4,54 g/100g (Indriyani *et al.*, 2021).

Ekstrak kenikir mengandung flavonoid, tanin, asam lemak, saponin, dan terpenoid. Daun kenikir memiliki kandungan senyawa yang serupa dengan batang dan bunganya. Flavonoid pada kenikir memiliki sifat antibakteri yang sangat bermanfaat bagi kesehatan. Selain flavonoid, kenikir juga mengandung tanin yang memiliki sifat antibakteri.

Senyawa tanin dapat merusak membran sel bakteri dan mengganggu fungsi enzim, yang mempengaruhi metabolisme bakteri dan menghambat pertumbuhannya. Tanaman kenikir ini memiliki efek antibakteri dan juga dapat menyebabkan infeksi saluran pernapasan (Masitah *et al.*, 2023).

Daun kenikir memiliki kapasitas antioksidan yang tinggi setara dengan kapasitas antioksidan 2400 mg asam L- askorbat acid equivalent antioxidant capacity (AEAC) per 100 g berat segar. Daun kenikir segar mengandung total fenol 1,52 mg GAE/g dan kadar flavonoid sebesar 143 mg/100 g dengan kandungan flavonoid jenis kuersetin paling tinggi sebesar 51,3 mg/100 g (Irwan *et al.*, 2017).

#### 7. Khasiat Kenikir

Daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) secara tradisional digunakan untuk meningkatkan sirkulasi darah, mencegah kerutan pada wajah, menurunkan suhu tubuh, dan menghilangkan bau mulut. Banyak dimanfaatkan sebagai tanaman obat oleh masyarakat. Secara empiris, kenikir dapat digunakan untuk meningkatkan pencernaan, mengatasi batuk, menyembuhkan luka, dan mengobati infeksi cacing.

Kenikir juga dimanfaatkan sebagai obat-obatan karena mengandung senyawa fenolik yang cukup tinggi. Senyawa fenolik tersebut memiliki berbagai manfaat kesehatan, termasuk sebagai antioksidan, antikanker, antijamur, antiinflamasi, dan antimikroba (Putranto *et al.*, 2018).

Daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) memiliki potensi sebagai sayuran berkhasiat obat karena memiliki kemampuan menetralkan radikal bebas. Secara tradisional daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) ini juga digunakan sebagai obat penambah nafsu makan, penguat tulang, atau lemah lambung. Selain itu dari hasil penelitian modern, daun kenikir juga dapat menyembuhkan berbagai jenis penyakit seperti gastritis, kanker, malaria, jantung, hipertensi, kolesterol dan stroke (Anto & Prasetiani, 2022).

Penelitian terbaru mengindikasikan bahwa (*Cosmos caudatus* Kunth) merupakan sumber alami yang sangat baik dari antioksidan, antimikroba, anti-inflamasi, antijamur, serta kaya akan mineral seperti kalsium, fosfor, besi, magnesium, dan kalium. Di Jawa Timur, secara tradisional digunakan untuk mengurangi tekanan darah dan untuk meningkatkan sirkulasi darah di Amerika tropis.

Studi lain menunjukkan bahwa itu mungkin memiliki efek penghambatan tumor potensial, mengurangi panas tubuh, sebagai agen antipenuaan. Selain itu, daun muda adalah antara herbal yang memiliki aktivitas antioksidan tinggi dan daun konsumsi pada tahap kematangan

yang berbeda merupakan faktor penting dalam mempengaruhi senyawa fenolik dan sifat sensoris (Setiawan, 2018).

## **B. Ekstraksi**

Ekstraksi adalah proses penarikan kandungan kimia yang dapat larut dari suatu serbuk simplisia, sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut. Ekstraksi sebagai proses pemisahan suatu zat dari campurannya dengan menggunakan pelarut. Pelarut yang digunakan harus dapat mengekstrak substansi yang diinginkan tanpa melarutkan material lainnya (Anto & Prasetiani, 2022).

Ekstraksi merupakan suatu proses penyarian suatu senyawa aktif dari suatu bahan atau simplisia nabati atau hewani dengan menggunakan pelarut tertentu yang cocok. Pembuatan ekstrak (ekstraksi) bisa dilakukan dengan berbagai metode, sesuai dengan sifat dan tujuannya (Depkes RI, 2000).

Salah satu metode yang digunakan untuk penemuan obat tradisional adalah metode ekstraksi. Pemilihan metode ekstraksi tergantung pada sifat bahan dan senyawa yang akan diisolasi. Ekstraksi merupakan suatu proses dalam upaya penarikan senyawa kimia dari suatu tumbuhan, dimana senyawa tersebut akan terlarut dalam cairan pelarut yang sesuai.

Ekstrak merupakan hasil dari proses ekstraksi tersebut yang biasanya merupakan sediaan kental. Ekstrak tersebut dapat menjadi sediaan kental karena sebelumnya telah terjadi proses penguapan pelarut dan massa yang tidak diperlukan (Dewatikasari, 2020).



Terdapat beberapa teknik ekstraksi yang dapat digunakan untuk mengisolasi senyawa aktif dari bahan alam, diantaranya ekstraksi maserasi, sokletasi, refluks, sonikasi, destilasi dan lain-lain. Efektivitas ekstraksi sangat bergantung pada kondisi-kondisi percobaan yang digunakan seperti waktu ekstraksi, sampel-pelarut, dan jenis pelarut (Hamka *et al.*, 2022).

a. Metode Maserasi

Maserasi adalah salah satu metode pemisahan senyawa dengan cara perendaman menggunakan pelarut organik pada temperatur tertentu. Proses maserasi sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam karena selain murah dan mudah dilakukan, dengan perendaman sampel tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel, sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut.

Selain itu, metode maserasi adalah metode ekstraksi di mana bahan direndam dalam pelarut yang sesuai dengan senyawa aktif yang akan diekstraksi. Proses ini dilakukan dengan pemanasan rendah atau sama sekali tanpa pemanasan (Yasacaxena *et al.*, 2023).

b. Metode Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses terdiri dari tahapan pengembangan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya terus-menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat).

c. Metode Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan menggunakan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

d. Metode Soxhlet

Soxhlet adalah ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang selalu baru dan yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstrak kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

Metode sokletasi, teknik panas yang digunakan berulang-ulang, dapat menghasilkan ekstrak yang lebih banyak, penggunaan pelarut yang lebih rendah (efisiensi bahan), penggunaan waktu yang lebih cepat, dan ekstraksi sampel yang sempurna. Selain itu, panas tidak menghancurkan aktivitas biologis, sehingga metode ini dapat digunakan dalam pencarian induk obat (Yasacaxena *et al.*, 2023).

e. Metode Digesti

Digesti adalah maserasi kinetic (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan, yaitu secara umum dilakukan pada temperature 40-50°C.

f. Metode Infus

Infundasi adalah proses penyarian yang umumnya dilakukan untuk menyari zat kandungan aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati. Proses ini dilakukan pada temperatur 90°C selama 15 menit.

g. Metode Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama dan temperatur sampai titik didih air, yakni 30 menit pada suhu 90-100°C.

(Endah, 2017).

**C. Skrining Fitokimia**

Senyawa adalah zat kimia tunggal yang terbentuk dari dua atau lebih unsur kimia, yang berikatan dan dapat diuraikan menjadi komponen yang lebih sederhana. Senyawa ini dapat dikelompokkan sebagai senyawa aktif atau senyawa non-aktif (Alfiyanti, et al., 2019).

Uji fitokimia merupakan uji kualitatif yang digunakan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif yang terdapat dalam sampel. Golongan senyawa aktif yang diuji berupa alkaloid, flavonoid, saponin, terpenoid dan steroid (Yara, et al., 2023)

1. Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa aktif dari tumbuhan yang berfungsi sebagai obat dan sebagai aktivator yang kuat untuk sel imun, memungkinkan penghancuran bakteri, virus, jamur, dan sel kanker. Alkaloid memiliki aktivitas antimikroba dengan cara menghambat enzim esterase, DNA, dan RNA polimerase, serta mengganggu respirasi sel. Alkaloid juga berperan dalam proses interkalasi DNA. Alkaloid bekerja dengan merusak membran sel. Alkaloid berikatan kuat dengan ergosterol sehingga membentuk pori-pori yang mengakibatkan kebocoran pada

membran sel, menyebabkan kerusakan permanen dan kematian sel pada jamur (Maisarah, *et al.*, 2023).

## 2. Flavanoid

Flavonoid merupakan kelompok senyawa polifenol yang diklasifikasikan berdasarkan struktur kimianya dan proses biosintesisnya. Struktur dasar flavonoid terdiri dari dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh rantai karbon (C6-C3-C6). Flavonoid terbagi menjadi beberapa jenis, termasuk flavon, flavanon, flavonol, katekin, flavanol, kalkon, dan antosianin. Pengelompokan flavonoid ini didasarkan pada variasi struktur, terutama substitusi karbon pada cincin aromatik sentral, yang menghasilkan berbagai aktivitas farmakologis (Alfarid dan Amalia, 2016).

## 3. Tanin

Tanin merupakan senyawa polifenol yang mengandung gugus hidroksil kompleks dan memiliki berbagai bentuk, dengan berat molekul tinggi antara 500 hingga 20.000 Da. Tanin termasuk dalam kelompok senyawa metabolit sekunder yang ditemukan pada tanaman dan diproduksi oleh tanaman itu sendiri (Hersil, *et al.*, 2023).

## 4. Steroid

Steroid adalah senyawa turunan dari hidrokarbon 1,2-Siklopentenoperhidrofenantrena. Senyawa ini ditemukan di alam pada hewan dan tumbuhan. Pada hewan, steroid berperan penting dalam berbagai hormon dan aktivitas biologis lainnya, sementara pada

tumbuhan, steroid banyak ditemukan baik pada tumbuhan tingkat tinggi maupun rendah. Secara umum, steroid pada tumbuhan terdapat dalam bentuk sterol. Tumbuhan tingkat tinggi biasanya mengandung fitosterol seperti sitosterol ( $\beta$ -sitosterol), stigmasterol, dan kompesterol (Suryelita, *et al.*, 2017).

#### D. Hewan Uji



Gambar 2.2. larva udang (*Artemia salina* Leach)  
Sumber: Dokumentasi Pribadi

##### 1. Klasifikasi Larva Udang (*Artemia salina* Leach) :

- Regnum : Animalia
- Phylum : Arthropoda
- Class : Crustacea
- Subclass : Branchiopoda
- Ordo : Anostraca
- Family : Artemiidae
- Genus : Artemia
- Spesies : *Artemia salina* Leach. (Emslie, 2003; Mudjiman)

## 2. Morfologi

*Artemia salina* Leach. dewasa biasanya memiliki panjang tubuh sekitar 8-10 mm, bahkan bisa mencapai 15 mm tergantung pada lingkungan di mana mereka hidup. Tubuhnya memanjang dengan setidaknya 20 segmen dan dilengkapi dengan sekitar 10 pasang phyllopodia pipih, yang mirip dengan daun dan bergerak dengan ritme teratur. Biasanya berwarna putih pucat, merah muda, hijau, atau transparan, dan umumnya hanya hidup beberapa bulan. Mereka memiliki mulut dan sepasang mata pada antena mereka (Emslie, 2003).

Telur *Artemia salina* Leach. berbentuk bulat berlekuk dalam keadaan kering dan bulat penuh dalam keadaan basah. Warnanya coklat dan diselubungi oleh cangkang yang tebal dan kuat. Cangkang ini berfungsi untuk melindungi embrio terhadap pengaruh kekeringan, benturan keras, sinar ultraviolet dan mempermudah pengapungan.

## 3. Habitat

*Artemia salina* memiliki ketahanan yang luar biasa terhadap perubahan lingkungan dan dapat hidup di berbagai salinitas air. Mereka dapat hidup mulai dari air laut yang memiliki kandungan garam sekitar 2,9-3,5% hingga *Great Salt Lake* yang memiliki konsentrasi garam sekitar 25-35%, bahkan bisa mentolerir hingga 50% konsentrasi garam yang hampir jenuh.

Meskipun beberapa ditemukan di rawa-rawa garam di tepi pantai, mereka tidak pernah ditemukan di lautan karena keberadaan predator yang



terlalu banyak. *Artemia* juga dapat ditemui di kolam penguapan buatan manusia yang digunakan untuk menghasilkan garam dari laut.

Mereka memiliki insang yang membantu mereka mengatasi kandungan garam yang tinggi dengan menyerap dan mengeluarkan ion-ion secara tepat, serta menghasilkan air seni yang kental dari kelenjar rahang atas. Suhu air di habitat mereka juga bervariasi luas, mulai dari sekitar enam hingga 37°C, dengan suhu reproduksi optimal sekitar 25°C atau suhu ruangan. Salah satu keuntungan dari habitat yang asin adalah minimnya pemangsa, namun kekurangannya adalah ketersediaan makanan yang terbatas bagi mereka (Emslie, 2003).

#### E. Uji Toksisitas *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Uji toksisitas akut merupakan salah satu jenis uji praklinik yang sangat penting. Uji ini bertujuan untuk menilai dampak toksik suatu zat yang terjadi dalam waktu singkat setelah pemberian atau paparan dengan dosis tertentu. Hasil kuantitatif yang diperoleh dari uji toksisitas akut ini adalah nilai LD<sub>50</sub> (lethal dose 50), yang menggambarkan dosis yang menyebabkan kematian pada 50% dari subjek uji. Berdasarkan nilai LD<sub>50</sub> tersebut, suatu senyawa dapat dikategorikan sebagai bahan yang sangat toksik (*extremely toxic*) hingga bahan yang hampir tidak toksik (*practically non-toxic*). Selain itu, data kualitatif yang diperoleh mencakup pengamatan klinis, morfologis, serta mekanisme terjadinya efek toksik (Makiyah & Tresnayanti, 2017).

Jenis jenis uji Toksisitas umum diantaranya (Sukaeningsih, *et al.*, 2021):

### 1. Uji Toksisitas Akut

Uji toksisitas akut bertujuan untuk mendeteksi efek toksik yang timbul dalam waktu singkat setelah pemberian zat uji. Proses pengujian ini dilakukan melalui pemberian dosis tunggal atau beberapa dosis dalam kurun waktu 24 jam, umumnya secara oral.

### 2. Uji Toksisitas Subkronik

Pengujian toksisitas subkronik dilakukan untuk mengevaluasi efek toksik suatu senyawa yang diberikan secara berulang pada hewan percobaan selama periode kurang dari tiga bulan.

### 3. Uji Toksisitas Kronik

Uji toksisitas kronik dilakukan untuk menilai efek toksik berulang dalam jangka waktu panjang, umumnya selama sebagian besar atau sepanjang umur hewan percobaan. Sebagai contoh, uji ini dilakukan selama 18 bulan untuk mencit, 24 bulan untuk tikus, serta berkisar antara 7 hingga 10 tahun untuk hewan seperti anjing dan monyet.

Pengujian toksisitas spesifik meliputi beberapa jenis uji berikut:

#### 1. Uji Teratogenesis

Uji ini bertujuan untuk mengidentifikasi adanya kelainan pada janin akibat pemberian zat uji selama masa pembentukan organ (organogenesis). Pengujian ini mengevaluasi adanya kelainan pada bagian luar janin (morfologi), jaringan lunak, serta tulang rangka.

## 2. Uji Sensitisasi Kulit

Uji ini dilakukan untuk menentukan potensi suatu zat dalam menyebabkan reaksi sensitisasi pada kulit.

## 3. Uji Mutagenik

Uji mutagenik berfungsi untuk menilai apakah zat uji memiliki potensi untuk menyebabkan mutasi atau tidak.

Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) adalah salah satu pendekatan yang digunakan untuk skrining tanaman obat yang berpotensi sebagai agen antikanker, karena metode ini lebih ekonomis, cepat, mudah untuk dikembangkan, dan tidak memerlukan aturan etika yang ketat dalam penggunaan bahan uji. Untuk menentukan nilai toksisitas, nilai mortalitas dianalisis dengan menggunakan metode analisis probit untuk menghitung *Lethal Concentration* ( $LC_{50}$ ) pada setiap fraksi. Fraksi yang menunjukkan aktivitas paling tinggi kemudian dipisahkan lebih lanjut menggunakan metode Kromatografi Vakum Cair (KVC), dan setiap fraksi yang dihasilkan diidentifikasi dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Selanjutnya, fraksi yang aktif dan menunjukkan hasil baik diuji kembali dengan BSLT untuk mengetahui nilai  $LC_{50}$  sebelum dan setelah proses KVC, serta untuk mengidentifikasi senyawa aktif yang berpengaruh dalam fraksi tersebut (Ningdyah, *et al.*, 2015).

Metode *Brine Shrimp Lethality Test* adalah salah satu cara yang digunakan untuk memfilter awal senyawa-senyawa yang diduga memiliki senyawa aktif. Penelitian ini menggunakan *Artemia salina* Leach sebagai hewan

uji, dengan parameter utama untuk menunjukkan aktivitas biologis suatu senyawa adalah jumlah kematian *Artemia salina* Leach.

Metode ini melibatkan penentuan LC<sub>50</sub> selama 24 jam. Jika suatu ekstrak tanaman atau fraksi ekstrak tanaman memiliki LC<sub>50</sub> kurang dari 1000 ppm, dapat disimpulkan bahwa ekstrak tersebut memiliki aktivitas seperti sitotoksik, antimikroba, dan pestisida (Erawaty *et al.*, 2017).

Metode *Brine Shrimp Lethality Test* digunakan untuk uji toksisitas. Prinsip *Brine Shrimp Lethality Test* yaitu dengan melakukan pengamatan parameter-parameter toksisitas terhadap larva *Artemias alina* dimana hewan uji akan dipaparkan dengan ekstrak uji yang telah dibuat dengan varian konsentrasi berbeda dan dilakukan pengamatan selama waktu tertentu. Tingkat ketoksikan dinyatakan dalam LC<sub>50</sub> (Fardiaz *et al.*, 2023).

Table 1. Tabel Probit

Nilai LC <sub>50</sub>	Tingkat Ketoksikan
LC <sub>50</sub> > 1.000 mg/L	Tidak Toksik
LC <sub>50</sub> 500 - 1.000 mg/L	Toksik Rendah
LC <sub>50</sub> 100 – 500 mg/L	Toksik Sedang
LC <sub>50</sub> 0 – 100 mg/L	Sangat Toksik

Sumber : Clarkson, 2004

Suatu ekstrak dikatakan aktif berdasarkan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) jika memiliki LC<sub>50</sub> kurang dari 1000 ppm. Jika hasil uji BSLT menunjukkan bahwa ekstrak tumbuhan tersebut aktif, maka dapat dilanjutkan ke penelitian lebih lanjut untuk mengisolasi senyawa aktifnya dalam upaya

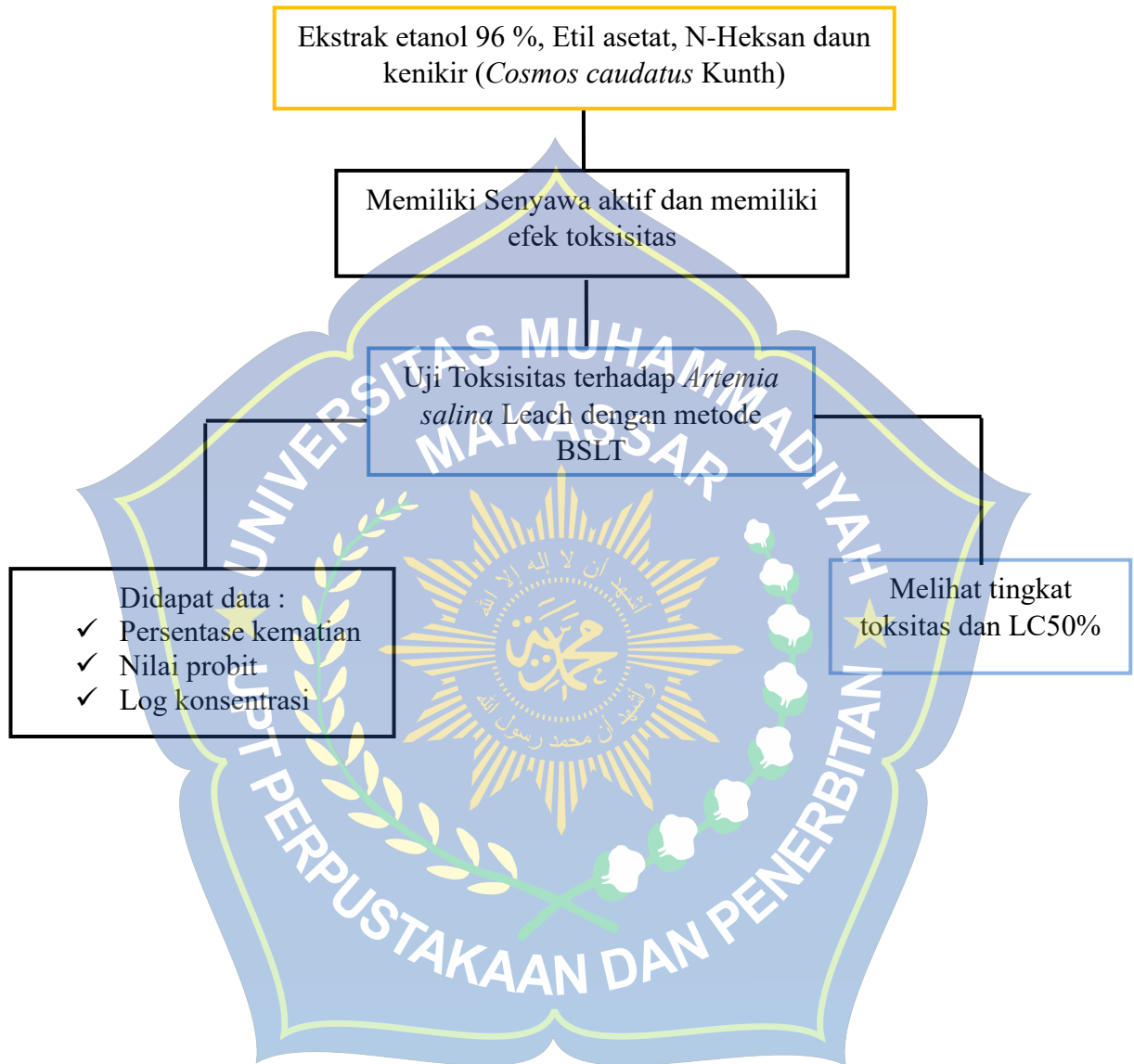
pengembangan obat alternatif. Selain itu, ekstrak tersebut juga dapat dikembangkan untuk penelitian lebih lanjut guna meneliti potensi khasiat lainnya (Erawaty *et al.*, 2017).

Nilai  $LC_{50}$  adalah konsentrasi senyawa atau ekstrak yang dapat mematikan larva udang *Artemia salina* Leach hingga 50% dibandingkan terhadap kontrol. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam. Jumlah larva udang yang mati dicatat kemudian dihitung persentase kematiannya. Data yang diperoleh diolah dengan menggunakan analisis probit (Walean *et al.*, 2021).

Larva *Artemia salina* Leach dianggap mewakili organisme zoologis untuk uji kematian secara *in vivo*. Hasil uji menunjukkan adanya korelasi positif dari sifat toksisitas senyawa uji terhadap hambatan proliferasi terhadap karsinoma nasofaring.

Untuk mengetahui potensi suatu tanaman sebagai bahan antikanker, maka perlu dilakukan penelitian awal, yaitu uji toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). BSLT merupakan salah satu metode yang banyak digunakan untuk skrining senyawa antikanker baru yang berasal dari tanaman. Metode BSLT telah terbukti memiliki korelasi dengan aktivitas antikanker (Chusniasih *et al.*, 2020).

## F. Kerangka Konsep



Keterangan :

: Variabel Bebas / Independen

: Variabel Terikat / Dependen



## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Jenis Penelitian**

Jenis Penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental yang dilakukan di laboratorium yaitu uji toksisitas ekstrak n-heksan, etil asetat, dan etanol 96% daun kenikir (*Cosmos caudatus* kunth) menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

#### **B. Waktu dan Lokasi Penelitian**

Penelitian ini dilakukan selama kurang dari 1 bulan di laboratorium Farmakognosi-Fitokimia, dan Farmakologi Toksikologi Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Makassar.

#### **C. Alat dan Bahan**

##### 1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari aluminium foil, aerator, alat penerang (lampu pijar), blender, kertas whatman, mikropipet, penangas air, PH meter, *rotary evaporator*; seperangkat alat gelas, sendok tanduk, seperangkat alat maserasi, seperangkat alat penetasan telur larva udang, tip, timbangan duduk, timbangan analitik, vial.

## 2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah air laut, akuades, dimethyl sulfoxide (DMSO), ekstrak daun kenikir, etanol 96%, etil asetat, larva udang (*Artemia salina* Leach), n-heksan.

## D. Prosedur Kerja

### 1. Pengumpulan sampel

Pengambilan sampel di peroleh dari Desa Julukanaya Dusun Cambaya Kecamatan Pallangga. Sampel yang digunakan berupa simplisia dari daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth).

### 2. Pengolahan sampel

Pengumpulan bahan baku sebanyak 4,5 kg sampel Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) kemudian disortasi basah (pemisahan dari kotoran-kotoran). Kemudian dilakukan penyucian tujuannya untuk menghilangkan tanah dan kotoran lainnya yang menempel pada daun. Pencucian ini dilakukan menggunakan air yang mengalir dan bersih.

Setelah itu ditiriskan dilakukan perajangan kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan sampai kering. setelah kering diremas dan dihaluskan sampai menjadi serbuk menggunakan blender. Simpan serbuk didalam toples dan serbuk siap untuk diekstrak (Arina *et al.*,2023).

### 3. Ekstraksi

Ekstraksi simplisia dilakukan menggunakan metode maserasi bertingkat dengan pelarut n-heksan, etil asetat, dan etanol 96%. Sebanyak

500 gram simplisia ditimbang menggunakan timbangan yang telah dikalibrasi untuk memastikan akurasi, kemudian dimasukkan ke dalam wadah maserasi. Pada tahap pertama, simplisia direndam dalam 2,5 liter pelarut n-heksan. Wadah ditutup rapat dan campuran dibiarkan selama 3 x 24 jam pada suhu ruang dengan pengadukan sesekali untuk memastikan perendaman sempurna. Setelah maserasi selesai, campuran disaring untuk memisahkan filtrat dari residu. Filtrat n-heksan disimpan, sementara residu dikeringkan.

Tahap kedua dilanjutkan dengan merendam residu yang telah kering dalam 2,5 liter pelarut etil asetat selama 3 x 24 jam dengan prosedur yang sama. Setelah penyaringan, residu dikeringkan kembali dan digunakan untuk maserasi tahap ketiga dengan pelarut etanol 96% sebanyak 2,5 liter. Perendaman dengan etanol juga dilakukan selama 3 x 24 jam pada suhu ruang, diikuti dengan penyaringan untuk memisahkan filtrat dari residu.

Filtrat dari setiap tahap pelarut diproses dengan di kering angin-anginkan untuk menghilangkan pelarut dan mendapatkan ekstrak kental. Ekstrak yang dihasilkan dari setiap tahap disimpan dalam wadah tertutup rapat di lingkungan yang kering. (Diharmi A *et al.*, 2024) :

Efisiensi proses dievaluasi dengan menghitung rendemen ekstraksi menggunakan rumus rendemen

$$\text{Rendamen (\%)} = \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Simplisia Awal}} \times 100 \%$$

(Hasan *et al.*, 2023).

#### 4. Skrining Fitokimia

##### a. Uji alkaloid

Diambil 1 gram ekstrak daun kenikir di masukkan kedalam tabung reaksi dengan 1 ml HCl 2N dan 9 ml aquades, dipanaskan 2 menit, didinginkan, lalu disaring. Filtrat diuji alkaloid dengan reagen Mayer, Dragendorff, dan Liebermann-Burchard masing-masing 3 tetes di 3 tabung reaksi. Uji positif ditandai endapan putih, jingga, dan coklat berturut-turut (Nurjannah *et al.*, 2022).

##### b. Uji saponin

Sebanyak 2 gram ekstrak daun kenikir dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 10 mL air panas, lalu dikocok vertikal selama 10 detik hingga terbentuk buih. Selanjutnya, ditambahkan 1 tetes HCl 2N dan dikocok kembali selama 10 detik. Buih setinggi 1-10 cm yang stabil selama minimal 10 menit menunjukkan keberadaan saponin (Rahmasiahi *et al.*, 2023).

##### c. Uji fenol

Sebanyak 0,5 gram ekstrakdaun kenikir ditimbang, lalu ditambahkan 2 mL pelarut dan ditambahkan 3 tetes FeCl<sub>3</sub> 1%. Perubahan warna menjadi hijau, biru, atau merah menunjukkan hasil positif untuk senyawa fenolik (Widiawati *et al.*, 2023).

##### d. Uji flavonoid

Sebanyak 1 gram ekstrak daun kenikir ditimbang, lalu ditambahkan 2 mg bubuk magnesium sulfat dan 3 tetes HCl pekat.

Campuran dimasukkan ke dalam tabung reaksi, dikocok, dan diamati perubahannya. Munculnya warna merah, kuning, atau jingga pada larutan menandakan keberadaan senyawa flavonoid (Rahmasiahi *et al.*,2023).

e. Uji Steroid

Sebanyak 2 gram ekstrak pekat diuapkan di cawan porselen menggunakan penangas air hingga terbentuk residu. Residu dilarutkan dengan 0,5 mL kloroform, 0,5 mL asam asetat anhidrat, lalu ditambahkan 2 mL asam sulfat pekat melalui dinding tabung. Munculnya cincin kecokelatan atau ungu di tepi larutan menandakan adanya triterpenoid, sedangkan cincin biru kehijauan menunjukkan keberadaan steroid (Rahmasiahi *et al.*,2023).

f. Uji tanin

Ekstrak daun kenikir ditimbang sebanyak 20 mg, ditambahkan 2 tetes larutan  $\text{FeCl}_3$  1%. Reaksi positif senyawa tanin ditandai dengan adanya warna hijau kehitaman (Safitri *et.al.*, 2013)

5. Uji toksisitas

a. Penyiapan Larva udang (*Artemia salina* Leach)

Pemilihan telur udang dilakukan dengan merendam telur udang dalam aquadest selama 1 jam. Telur yang baik akan mengendap sedangkan telur yang kurang baik akan mengapung. Timbang telur *Artemia salina* Leach sebanyak 50 mg, Masukkan telur ke dalam bejana penetas, Pastikan telur terdistribusi merata di kedua ruang, Isi

bejana penetas dengan air laut saring, Pasang *aerator* dan nyalakan untuk mengalirkan oksigen ke dalam air, Nyalakan lampu pijar untuk menerangi ruang terbuka, Pantau proses penetasan. Telur akan menetas dalam waktu 24-48 jam, Setelah larva menetas, mereka akan berkumpul di ruang terang, Kumpulkan larva dengan memindahkannya ke wadah lain. (Wirasari *et al.*, 2023).

b. Pembuatan larutan stok

Pembuatan larutan stok dimulai dengan menimbang 100 mg ekstrak daun kenikir, kemudian melarutkannya dalam 50 mL pelarut. Jika ekstrak tidak larut atau sulit larut, tambahkan 1-2 tetes DMSO 1%. Setelah itu, tambahkan air laut hingga volume total mencapai 50 mL. Aduk larutan hingga homogen untuk mendapatkan larutan stok dengan konsentrasi 2000 ppm (Togelang *et al.*, 2023).

c. Pembuatan konsentrasi larutan uji

Untuk pembuatan larutan uji, pertama-tama siapkan vial yang telah dikalibrasi, kemudian masukkan 3 mL air laut bebas protozoa ke masing-masing vial. Selanjutnya, tambahkan larutan uji dengan konsentrasi yang berbeda sebagai berikut, untuk konsentrasi 1000 ppm, ambil 5 mL dari larutan stok 2000 ppm. untuk 100 ppm, ambil 0,5 mL dari larutan stok 2000 ppm. untuk 10 ppm, ambil 0,05 mL dari larutan stok 2000 ppm. dan untuk 1 ppm, ambil 0,005 mL dari larutan stok 2000 ppm. Sebagai kontrol negatif, gunakan 10 mL air laut bebas protozoa tanpa larutan tambahan (Togelang *et al.*, 2023).



d. Uji toksisitas

Uji toksisitas dilakukan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dengan larva udang *Artemia salina* Leach berumur 48 jam. Sebanyak 10 ekor larva udang dimasukkan ke dalam vial uji menggunakan mikropipet 200  $\mu$ L yang telah berisi Larutan uji dengan konsentrasi bertingkat (1000 ppm, 100 ppm, 10 ppm, 1 ppm, dan 0 ppm sebagai kontrol negatif) kemudian di cukupkan dengan air laut bebas protozoa hingga mencapai volume total 10 mL dalam setiap vial yang berisi larva. Masing-masing konsentrasi diuji dalam tiga replikasi untuk memastikan akurasi hasil.

Seluruh vial diinkubasi selama 24 jam di bawah pencahayaan yang memadai untuk mendukung kelangsungan hidup larva. Setelah periode inkubasi, jumlah larva yang mati dalam setiap vial dihitung, dan persentase kematian larva untuk masing-masing konsentrasi larutan uji dianalisis. Konsentrasi yang menyebabkan kematian 50% larva ( $LC_{50}$ ) ditentukan. Senyawa dinyatakan toksik apabila nilai  $LC_{50}$  kurang dari 1000 ppm, sedangkan nilai  $LC_{50}$  lebih dari 1000 ppm menunjukkan sifat non-toksik.

Menghitung Persen Kematian Larva :

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

(Yani *et al.*, 2023).

## 6. Analisis Data

Untuk melihat besarnya nilai dari  $LC_{50}$  yang dapat mematikan larva *Artemia salina* Leach sampai 50% dilakukan perhitungan statistik dengan analisa probit (*probability unit*). Efek toksisitas dianalisis dari pengamatan dengan persen kematian. Setelah mengetahui % Mortalitas larva *Artemia salina* Leach, kemudian dicari nilai probit melalui tabel probit dan diregresikan secara linier (Wirasari *et al.*, 2023).



## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. Hasil Penelitian

##### 1. Uji Ekstraksi

Tabel 4. 1 Hasil Rendamen Ekstrak Daun Kenikir

No.	Pelarut	Berat Simplisia	Berat Ekstrak	Rendemen
1.	Etanol 96%	500g	28,3g	5,66%
2.	Etil Asetat	500g	25,6g	5,11%
3.	n-heksan	500g	15,6g	3,12%

##### 2. Uji Skrining Fitokimia

Tabel 4. 2 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Kenikir

Golongan Senyawa	Parameter	Pustaka	Ekstrak Etanol	Ekstrak Etil Asetat	Ekstrak n-heksan
Alkaloid	Mayer Dragendorff Burchard	(Nurjannah <i>et al.</i> , 2022)	-	-	-
Flavonoid	Magnesium	(Rahmasiahi <i>et al.</i> , 2023)	+	-	-
Saponin	HCl	(Rahmasiahi <i>et al.</i> , 2023)	+	+	+
Tanin	FeCl <sub>3</sub> 1%	(Safitri <i>et al.</i> , 2013)	+	+	+
Fenol	FeCl <sub>3</sub> 1%	(Widiawati <i>et al.</i> , 2023)	+	+	-
Steroid	Asam anhidrat Asam sulfat	(Rahmasiahi <i>et al.</i> , 2023)	+	+	+

### 3. Uji Toksisitas LC<sub>50</sub>

Tabel 4. 3 Hasil Uji Toksisitas Ekstrak Etanol

Replikasi	Konsentrasi (µg/mL)	Larva Mati	% Kematian	Log Konsentrasi (x)	Probit (y)	LC50 (ppm)
1	1000	10	100	3	8,95	3,817
	100	8	80	2	5,84	
	10	6	60	1	5,25	
	1	4	40	0	4,75	
	Kontrol (-)	0	0	0	0	
2	1000	10	100	3	8,95	3,083
	100	8	80	2	5,84	
	10	6	60	1	5,25	
	1	5	50	0	5	
	Kontrol (-)	0	0	0	0	
3	1000	10	100	3	8,95	3,083
	100	8	80	2	5,84	
	10	6	60	1	5,25	
	1	5	50	0	5	
	Kontrol ()	0	0	0	0	

Tabel 4. 4 Hasil Uji Toksisitas Ekstrak Etil Asetat

Replikasi	Konsentrasi (µg/mL)	Larva Mati	% Kematian	Log Konsentrasi (x)	Probit (y)	LC50 (ppm)
1	1000	8	80	3	5,84	1,141
	100	7	70	2	5,52	
	10	6	60	1	5,25	
	1	5	50	0	5	
	Kontrol (-)	0	0	0	0	
2	1000	8	80	3	5,84	1,869
	100	8	80	2	5,84	
	10	6	60	1	5,25	
	1	5	50	0	5	
	Kontrol (-)	0	0	0	0	
3	1000	8	80	3	5,84	1,141
	100	7	70	2	5,52	
	10	6	60	1	5,25	
	1	5	50	0	5	
	Kontrol (-)	0	0	0	0	

Tabel 4.5 Hasil Uji Toksisitas Ekstrak N-Heksan

Replikasi	Konsentrasi (µg/mL)	Larva Mati	% Kematian	Log Konsentrasi (x)	Probit (y)	LC50 (ppm)
1	1000	10	100	3	8,95	9,501
	100	6	60	2	5,25	
	10	4	40	1	4,75	
	1	2	20	0	4,16	
	Kontrol (-)	0	0	0	0	
2	1000	10	100	3	8,95	9,105
	100	5	50	2	5	
	10	5	50	1	5	
	1	2	20	0	4,16	
	Kontrol (-)	0	0	0	0	
3	1000	10	100	3	8,95	6,715
	100	6	60	2	5,25	
	10	5	50	1	5	
	1	3	30	0	4,48	
	Kontrol (-)	0	0	0	0	

Tabel 4.6 Kategori Toksik Berdasarkan Nilai LC<sub>50</sub>

Kelompok Sampel	Nilai LC <sub>50</sub> (ppm)			Rata Rata (ppm)	Kategori Toksik	Pustaka
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3			
Ekstrak Etanol	3,817	3,083	3,083	3,328	Sangat Toksik	(Andini A., 2021)
Ekstrak Etil Asetat	1,141	1,869	1,141	1,383	Sangat Toksik	
Ekstrak N-Heksan	9,501	9,105	6,715	8,440	Sangat Toksik	

## B. Pembahasan

Dalam penelitian ini sampel yang digunakan adalah daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) yang diperoleh di Desa Julukanaya Dusun Cambaya Kecamatan Pallangga. Setelah pengambilan sampel sebanyak 4,5 kg kemudian dilakukan sortasi basah lalu pencucian untuk menghilangkan kotoran yang menempel, lalu dicuci dengan air mengalir dan bersih. Setelah

itu dilakukan perajangan dan dikeringkan dengan cara di angin-anginkan. . setelah kering di serbukan kemudian di ayak dengan ayakan no 8. Simpan serbuk didalam toples dan serbuk siap untuk diekstrak.

Sebanyak 500 gram serbuk sampel ditimbang, kemudian diekstraksi menggunakan pelarut yang bervariasi berdasarkan tingkat kepolarannya. Tujuannya adalah untuk memastikan bahwa senyawa-senyawa yang ada dalam daun kenikir dapat terlarut sesuai dengan tingkat kepolaran pelarut yang digunakan. Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi bertingkat, dimulai dengan pelarut non polar n-heksana, dilanjutkan dengan pelarut semi-polar etil asetat, dan akhirnya menggunakan etanol 96% untuk senyawa polar (Diharmi A *et al.*, 2024).

Prinsip utama dalam maserasi bertingkat adalah mengekstrak senyawa aktif yang dapat larut dalam pelarut sesuai dengan tingkat kepolarannya. Senyawa nonpolar akan terlarut dengan n-heksana, senyawa semi-polar dengan etil asetat, dan senyawa polar dengan etanol 96%. Setelah masing-masing pelarut digunakan, ampas hasil penyaringan dikeringkan untuk memastikan bahwa pelarut tidak mempengaruhi proses ekstraksi lanjutan dengan pelarut lain yang berbeda kepolarannya. Proses ekstraksi bertingkat ini memungkinkan pemisahan senyawa berdasarkan sifat kepolarannya, meningkatkan efisiensi pemisahan dan pemurnian senyawa aktif (Diharmi A *et al.*, 2024).

Proses maserasi dilakukan dengan merendam serbuk sampel dalam pelarut selama 3 x 24 jam, dengan pengadukan sesekali. Pengadukan ini



bertujuan untuk membantu kelarutan senyawa aktif dalam pelarut. Dengan pengadukan, pergerakan pelarut di sekitar serbuk sampel menjadi lebih dinamis, yang mempercepat proses ekstraksi. Pengadukan memastikan bahwa pelarut dapat berinteraksi lebih efektif dengan senyawa-senyawa dalam sampel, membantu senyawa tersebut untuk terlarut lebih cepat dan merata. Selain itu, pengadukan juga mencegah terbentuknya lapisan konsentrasi tinggi di sekitar serbuk sampel, sehingga perbedaan konsentrasi tetap terjaga dan ekstraksi berlangsung secara lebih efisien (Diharmi A *et al.*, 2024).

Selain itu, perendaman ini memiliki kegunaan penting lainnya, yaitu untuk mempercepat proses transfer senyawa aktif dari dalam serbuk sampel ke pelarut. Selama perendaman, senyawa-senyawa yang larut akan lebih mudah diekstraksi karena interaksi antara pelarut dan matriks sampel. Dengan waktu perendaman yang cukup panjang, senyawa-senyawa yang sulit larut pun memiliki kesempatan untuk terlarut dengan baik dalam pelarut yang digunakan (Diharmi A *et al.*, 2024).

Filtrat hasil maserasi dari masing-masing pelarut kemudian diuapkan dengan cara di kering anginkan untuk mendapatkan ekstrak pekat yang akan digunakan dalam uji selanjutnya. Penguapan di biarkan sampai ekstrak sudah cukup pekat.

% Rendemen dari ekstraksi menggunakan pelarut etanol 96%, etil asetat, dan n-heksan terhadap simplisia masing-masing adalah 5,66%, 5,11%, dan 3,12%, yang menunjukkan bahwa pelarut etanol 96% memberikan hasil

ekstraksi tertinggi diikuti oleh etil asetat dan n-heksan dengan perbedaan yang cukup signifikan.

Uji fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa aktif yang terdapat dalam tanaman. Pada penelitian ini, pengujian dilakukan dengan mengambil sedikit sampel dari ekstrak etanol dan memasukkannya ke dalam tabung reaksi, kemudian menambahkan reagen yang sesuai untuk mendeteksi senyawa yang akan diidentifikasi. Uji fitokimia ini mencakup identifikasi kelompok senyawa alkaloid, steroid, saponin, fenol, flavonoid dan tanin.

Pengujian alkaloid di peroleh hasil negatif, dilakukan dengan menambahkan 1 gram ekstrak sampel ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan HCl. Penambahan HCl bertujuan untuk meningkatkan kelarutan alkaloid, mengingat senyawa alkaloid bersifat basa dan lebih mudah diekstraksi dalam kondisi asam. Untuk mendeteksi keberadaan alkaloid secara kualitatif, digunakan reagen Dragendorff, Mayer dan Liebermann Burchard. Jika ekstrak positif mengandung alkaloid, reagen Dragendorff akan menghasilkan warna oranye kekuningan, sementara reagen Mayer akan menghasilkan endapan berwarna putih (Mailuhu *et al.*, 2017)

Pengujian keberadaan saponin mendapatkan hasil positif, dilakukan melalui uji busa, di mana ekstrak sampel ditambahkan akuades dan dikocok selama satu menit. Keberadaan saponin ditandai dengan terbentuknya busa setinggi 1–10 cm yang bertahan selama 10 menit. Busa ini terbentuk karena struktur senyawa saponin memiliki dua bagian, yaitu rantai sapogenin nonpolar dan rantai samping polar yang larut dalam air. Sifat ini

menjadikannya sebagai surfaktan yang menurunkan tegangan permukaan dan memungkinkan pembentukan busa. Saponin terlarut dalam ketiga ekstrak (etanol, etil asetat, dan n-heksan). Saponin adalah senyawa amfipatik, sehingga bisa larut dalam pelarut polar (etanol, etil asetat) maupun pelarut non-polar seperti n-heksan, yang menunjukkan kelarutannya yang cukup luas (Tunny *et al.*, 2020).

Pengujian keberadaan fenol mendapatkan hasil positif, untuk mendeteksi senyawa fenolik, digunakan reagen seperti larutan  $\text{FeCl}_3$  (besi klorida) dan asam klorida (HCl). Hasil positif pada uji fenolik ditandai dengan perubahan warna menjadi ungu atau biru kehitaman, disebabkan karena ion  $\text{Fe}^{3+}$  bereaksi dengan gugus keto pada fenolik yang bersifat sebagai logam pengkelat yang menunjukkan keberadaan senyawa fenolik dalam ekstrak (Harborne, 1996).

Pengujian flavonoid mendapatkan hasil positif, dilakukan dengan melarutkan sedikit ekstrak sampel kemudian menambahkan logam Mg dan HCl pekat terjadi perubahan warna hijau muda menjadi jingga. Reduksi dengan magnesium dan asam klorida pekat menghasilkan warna kemerahan pada ekstrak tanaman uji. Penambahan HCl pekat berfungsi untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikon, dengan cara memutus ikatan O-glikosil melalui reaksi substitusi elektrofilik. Flavonoid umumnya ditemukan dalam bentuk O-glikosida, di mana gugus hidroksil flavonoid terikat pada gula melalui ikatan hemiasetal yang tidak stabil terhadap asam. Flavonoid Hanya terlarut dalam ekstrak etanol, yang merupakan pelarut polar. Flavonoid

cenderung larut dalam pelarut polar, sehingga ini sesuai dengan sifat kimia dari senyawa ini (Tunny *et al.*, 2020)

Uji fitokimia untuk mendeteksi tanin mendapatkan hasil yang positif, dilakukan dengan menambahkan larutan  $\text{FeCl}_3$  ke dalam ekstrak. Reaksi positif ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi hijau kehitaman, yang mengindikasikan adanya senyawa kompleks antara ion Fe dan tanin. Pembentukan kompleks ini terjadi karena ikatan kovalen koordinasi antara atom logam dan atom non-logam. Tanin terlarut dalam etanol, etil asetat, dan n-heksan. Tanin adalah senyawa yang umumnya larut dalam pelarut polar dan dapat juga larut dalam pelarut non-polar, yang menjelaskan mengapa senyawa ini ditemukan dalam ketiga ekstrak tersebut. (Effendy, 2007)

Uji steroid mendapatkan hasil yang positif, dengan ekstrak dilarutkan dengan kloroform, ditambahkan pereaksi Liebermann-burchard ditandai dengan merah kecoklatan positif steroid. Mekanisme reaksi positif untuk steroid dengan pereaksi Liebermann Burchard melibatkan beberapa tahapan kimia yang mendeteksi keberadaan gugus hidroksil (-OH) pada struktur steroid, serta keberadaan ikatan rangkap yang khas pada senyawa ini. Steroid terlarut dalam etanol, etil asetat, dan n-heksan. Steroid merupakan senyawa lipofilik dan umumnya larut dalam pelarut non-polar seperti n-heksan, tetapi juga dapat larut dalam pelarut polar seperti etanol dan etil asetat (Muniah *et al.*, 2024).

Senyawa yang memberikan efek toksisitas yakni senyawa flavonoid dan steroid diketahui memiliki aktivitas biologis yang signifikan dalam

menghambat fungsi saluran pencernaan larva. steroid bekerja dengan cara mempengaruhi membran sel larva, yang dapat menyebabkan gangguan metabolisme dan perkembangan. Flavonoid berperan sebagai senyawa antioksidan yang dapat mengganggu proses pencernaan dengan menghambat enzim pencernaan penting, sehingga mengurangi kemampuan larva untuk mencerna nutrisi secara optimal. (Yani D f., 2023)

Mekanisme lain dari flavonoid bertindak sebagai antioksidan yang efektif dalam mencegah fragmentasi DNA yang disebabkan oleh oksigen reaktif, seperti radikal hidroksil. Radikal bebas ini dapat memicu kerusakan sel yang menjadi tahap awal pembentukan sel kanker. Kombinasi aktivitas saponin dan flavonoid menjadikannya senyawa penting dalam penelitian untuk pengendalian biologis dan pencegahan penyakit degeneratif. (Nuralifah., 2021).

Saponin dapat menurunkan aktivitas enzim pencernaan larva, yang menghambat proses degradasi nutrisi serta mengurangi efisiensi penyerapan makanan. Hal ini menyebabkan gangguan metabolisme yang berdampak pada pertumbuhan dan perkembangan larva. (Yani D f., 2023). Senyawa golongan saponin memiliki kemampuan mengikat oksigen yang terdapat di dalam air, sehingga menyebabkan penurunan kadar oksigen terlarut. Kondisi ini dapat menyebabkan larva *Artemia salina* Leach mengalami kematian akibat kekurangan oksigen yang dibutuhkan untuk respirasi. (Nuralifah., 2021).

Sementara itu, tanin bekerja dengan cara menghambat kemampuan larva dalam mencerna makanan, sekaligus mempengaruhi reseptor perasa di

area mulut larva. Akibatnya, larva mengalami penurunan nafsu makan dan kesulitan dalam mengonsumsi makanan secara efektif. (Yani D f., 2023).

Senyawa fenol memiliki aktivitas biologis yang bervariasi tergantung pada konsentrasinya. Pada konsentrasi tinggi, senyawa ini bertindak sebagai toksin yang dapat merusak dinding sel pada larva dengan mengganggu integritas membran plasma dan menyebabkan agregasi protein di dalam sel, yang berujung pada disfungsi seluler dan kematian sel. Sebaliknya, pada konsentrasi rendah, fenol mampu menghambat aktivitas dan multiplikasi enzim secara *in vitro*, yang dapat memperlambat proses metabolisme penting dalam larva. (Puspitasari E., 2018).

Persiapan penelitian dimulai dengan menetas telur *Artemia salina* Leach selama 48 jam sebelum dilakukan pengujian. Proses penetasan dilakukan dengan merendam telur *A. salina* dalam 1,5 liter air laut yang ditempatkan dalam wadah khusus dilengkapi dengan aerator. Fungsi aerator adalah untuk mempertahankan kadar oksigen terlarut yang optimal selama proses penetasan. Wadah penetasan diletakkan di ruang dengan pencahayaan yang memadai untuk menjaga suhu lingkungan tetap hangat dan merangsang proses penetasan, karena cahaya berperan penting dalam mendukung pertumbuhan dan perkembangan larva. Setelah 48 jam telur akan menetas menjadi larva *A. salina*, yang kemudian siap digunakan sebagai hewan uji dalam penelitian (Togelang *et al.*, 2023).

Pembuatan larutan konsentrasi ekstrak daun kenikir menggunakan pelarut etanol 96%, etil asetat, dan n-heksana dilakukan untuk keperluan uji



bioaktivitas. Sebanyak 100 mg ekstrak kental dari masing-masing pelarut ditimbang secara akurat, kemudian dilarutkan terlebih dahulu dalam 1–2 tetes dimetil sulfoksida (DMSO) untuk memastikan ekstrak terdispersi dengan baik. Selanjutnya, larutan tersebut diencerkan dengan air laut hingga mencapai volume total 50 mL, menghasilkan larutan induk dengan konsentrasi 2000 ppm. Larutan induk ini kemudian digunakan untuk menyiapkan seri larutan uji dengan konsentrasi bertingkat, yaitu 1000 ppm, 100 ppm, 10 ppm, dan 1 ppm. Sebagai kontrol negatif, digunakan air laut steril bebas protozoa dengan cara menyaring dan disterilkan di autoklaf sehingga bebas dari protozoa. Untuk memastikan bahwa efek yang diamati berasal dari senyawa uji, bukan dari faktor lingkungan atau kontaminan lainnya (Togelang *et al.*,2023).

Pengujian toksisitas dilakukan dengan menetasnya telur *Artemia salina* dalam wadah berisi air laut, kemudian digunakan setelah 48 jam untuk memastikan larva telah berkembang cukup untuk diuji. Ekstrak kental yang telah dilarutkan dalam 50 mL air laut menghasilkan larutan induk dengan konsentrasi 2000 ppm, yang kemudian digunakan untuk menyiapkan larutan dengan konsentrasi bertingkat. Pengujian dilakukan dengan konsentrasi 1000, 100, 10, dan 1 ppm, masing-masing diulang tiga kali (triplo), untuk memperoleh data yang akurat mengenai efek toksik senyawa pada larva. Setiap vial yang telah dikalibrasi dimasukkan 10 mL air laut dan diberi tanda batas untuk memastikan volume yang tepat dalam setiap percobaan. Untuk konsentrasi 1000 ppm, 3 mL air laut dimasukkan, kemudian 5000  $\mu$ L larutan

induk ditambahkan, diikuti dengan 10 larva dan 1–2 tetes ragi, lalu volume ditambah hingga tanda batas. Prosedur serupa dilakukan untuk pembuatan konsentrasi 100 ppm (500  $\mu$ L larutan induk), 10 ppm (50  $\mu$ L larutan induk), dan 1 ppm (5  $\mu$ L larutan induk), dengan pengenceran yang disesuaikan untuk menguji rentang konsentrasi yang relevan. Kontrol positif hanya menggunakan 10 mL air laut untuk memastikan bahwa efek yang diamati berasal dari senyawa uji. Semua vial dibiarkan selama 24 jam pada suhu kamar untuk memungkinkan pengamatan respons larva terhadap perlakuan tersebut (Togelang *et al.*,2023).

Uji toksisitas ekstrak daun kenikir dilakukan untuk menilai efek toksik dari tiga jenis ekstrak (etanol 96%, etil asetat, dan n-heksana) terhadap larva *Artemia salina*, dengan mengukur konsentrasi (ppm), persen kematian, logaritma konsentrasi (Log Konsentrasi), probit, dan perhitungan statistik terkait. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi pola kematian larva akibat berbagai konsentrasi ekstrak dan menganalisis hubungan antara konsentrasi ekstrak dengan respons kematian larva, yang dapat digunakan sebagai indikator toksisitas. Perhitungan statistik seperti kuadrat log konsentrasi dan probit bertujuan untuk memperoleh pemodelan yang lebih akurat, termasuk nilai  $LC_{50}$  yang menggambarkan konsentrasi ekstrak yang mematikan 50% larva (Yani *et al.*,2023).

Ekstrak daun kenikir dari pelarut etanol 96%, etil asetat, dan n-heksana menunjukkan sifat sangat toksik dengan nilai  $LC_{50}$  di bawah 100 ppm berdasarkan pengujian terhadap larva *Artemia salina*. Sifat toksisitas

yang tinggi ini mengindikasikan potensi biologis ekstrak daun kenikir dalam mengganggu fungsi vital larva, yang berujung pada kematian. Hasil yang konsisten pada berbagai pelarut menunjukkan bahwa senyawa-senyawa bioaktif yang diekstraksi memiliki efek toksik yang signifikan, dengan pengaruh yang berbeda tergantung jenis pelarut yang digunakan.

Pengujian *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) mencatat bahwa ekstrak etil asetat memiliki toksisitas tertinggi ( $LC_{50}$  1,383 ppm), diikuti oleh ekstrak etanol (3,328 ppm) dan ekstrak n-heksana (8,440 ppm).

Kriteria tingkat toksisitas suatu senyawa berdasarkan nilai  $LC_{50}$  dikelompokkan sebagai berikut: senyawa dengan  $LC_{50} \leq 30$  ppm dikategorikan sebagai sangat toksik, yang dapat menyebabkan efek berbahaya signifikan meskipun dalam konsentrasi rendah. Senyawa dengan  $LC_{50}$  antara 31 ppm hingga 1000 ppm tergolong toksik, yang berarti memiliki potensi bahaya dalam paparan sedang hingga tinggi. Sementara itu, senyawa dengan  $LC_{50}$  lebih dari 1000 ppm diklasifikasikan sebagai tidak toksik, menunjukkan tingkat keamanan relatif lebih tinggi dalam kondisi penggunaan normal. (Andini A., 2021)

Tingkat toksisitas ini mengonfirmasi bahwa pemilihan pelarut memengaruhi komposisi dan efektivitas ekstrak. Etil asetat sebagai pelarut menengah lebih unggul dalam mengekstrak senyawa dengan aktivitas biologis tinggi dibandingkan pelarut lainnya. Temuan ini menekankan bahwa daun kenikir memiliki potensi yang kuat untuk dikembangkan dalam aplikasi

toksikologi atau pengendalian hayati berbasis ekstrak tumbuhan dengan efisiensi yang dipengaruhi oleh metode ekstraksi.



## BAB V

### PENUTUP

#### A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat di simpulkan sebagai berikut :

1. Ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) menunjukkan tingkat toksisitas yang sangat tinggi terhadap larva *Artemia salina* Leach berdasarkan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), dengan semua nilai  $LC_{50}$  berada di bawah 100 ppm, yang mengindikasikan potensi bioaktivitas ekstrak tersebut.
2. Nilai  $LC_{50}$  ekstrak daun kenikir berbeda tergantung pada jenis pelarut yang digunakan, dengan ekstrak etil asetat memiliki toksisitas tertinggi ( $LC_{50}$  1,383 ppm), diikuti oleh ekstrak etanol (3,328 ppm) dan ekstrak n-heksana (8,440 ppm). Perbedaan ini menegaskan bahwa jenis pelarut berpengaruh signifikan terhadap hasil ekstraksi senyawa aktif yang menentukan tingkat toksisitas.

#### B. Saran

Disarankan untuk melakukan analisis lebih mendalam terhadap kandungan senyawa bioaktif menggunakan metode kromatografi atau spektroskopi guna mengidentifikasi komponen utama yang berkontribusi terhadap tingkat toksisitas, sehingga potensi penggunaan ekstrak daun kenikir dalam aplikasi farmasi atau pengendalian hayati dapat dikembangkan secara lebih efektif dan aman.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alfiyanti, D., Nurulita, S., & Widowati, W. (2019). *Klasifikasi Fungsi Senyawa Aktif Data Berdasarkan Kode Simplified Molecular Input Line Entry System (SMILES) menggunakan Metode <sup>1</sup> K-Nearest Neighbor*. *Jurnal Pengembangan Teknologi Informasi dan Ilmu Komputer*, 3(1), 62-69.
- Alfarid, M. F., & Amalia, R. (2016). *Flavonoid: Struktur, Biosintesis, dan Perannya dalam Tumbuhan*. *Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia*, 6(1), 1-12.
- Anto, E. J., & Prasetiani, L. D. (2022). *Monograf Khasiat Daun Kenikir (Cosmos caudatus) Untuk Hati (Liver) (H. Lim, H. A. Silitonnga, & M. B. Tarigan (eds.))*. Penerbit Yayasan Wiyata Bestari Samasta.
- Andini, A. (2021). *Toksikologi Lingkungan*. Deepublish.
- Arina, P., Sari, R. P., & Wulandari, C. F. (2023). *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kenikir (Cosmos caudatus L.) Menggunakan Metode DPPH*. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*, 16(1), 13-18.
- Chusniasih, C., dkk. (2020). *Uji Aktivitas Antikanker Ekstrak Etanol Daun Katuk (Sauropus androgynus L. Merr) Terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7 Secara In Vitro*. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 17(1), 1-10.
- Clarkson, C., Maharaj, V.J., Crouch, N.R., Grace, O.M., Pillay, P., Matsabisa, M. G., Bhagwandin, N., Smith, P.J., Folb, P.I. 2004. *In vitro antiplasmodial activity of medicinal plants native to or naturalized in South Africa*. *J Ethnopharm.* 92, 177-191.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Jendral Pengawas Obat dan Makanan, Jakarta.
- Dewatikasari, Whika Febria. (2020). *Perbandingan Pelarut Kloroform Dan Etanol Terhadap Rendemen Ekstrak Daun Lidah Mertua (Sansevieria Trifasciata Prain.) Menggunakan Metode Maserasi*. *Journal.Uin-Alauddin*, 5(September), 125–132. [Http://Journal.Uin-Alauddin.Ac.Id/Index.Php/Psb/](http://Journal.Uin-Alauddin.Ac.Id/Index.Php/Psb/)
- Diharmi, A., Edison, Ilza, M., Dahlia, & Saputra, R. (2024). *Aktivitas antioksidan, total fenolik, flavonoid dan saponin anggur laut (Caulerpa lentillifera) diekstrak dengan pelarut yang berbeda polaritas*. *Jurnal Agrotek: Jurnal Teknologi Industri Pertanian*, 16(1), 1-10. <https://journal.trunojoyo.ac.id/agrotek/article/download/12240/pdf>
- Dwiyanti, F., et al. (2014). *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kenikir (Cosmos caudatus Kunth)*. *Jurnal Kimia FMIPA Universitas Riau*, 3(2), 1-6
- Effendy. (2007). *Telaah Kimia: Senyawa Alam*. Penerbit Andi.
- Endah, S. R. N. (2017). *Pembuatan Ekstrak Etanol Dan Penapisan Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Sintok (Cinnamomun Sintoc Bl.)*. *Jurnal*



- Hexagro*, 1(2), 29–35. <https://doi.org/10.36423/Hexagro.V1i2.95>.
- Emslie, S. 2003. *Artemia salina* Leach-Brine Shrimp-Ses Monkeys.
- Erawaty D., A. Fridayanti., L. Rijai., (2017). *Identifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder dan uji bioaktivitas terhadap larva udang (artemia salina leach.) Ekstrak daun kecapi (sandoricum koetjape merr.)*. Jurnal Sains dan Kesehatan. 2016. Vol 1. No 6.
- Fardiaz., Kholisatun N. A., Intan D., Diana Ayu Savitri., Iman S. P., Lalu H. H., (2023). *Acute Toxicity Test of The Jamu Turmeric Tamarind on Artemia Salina Leach Larvae*. Jurnal Biologi Tropis, 23 (3): 263 – 269.
- Firmansyah, & Sandistira, A. (2020). *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Daun Talas (Colocasia Esculenta L.) Terhadap Larva Udang (Artemia Salina Leach) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test* Artikel History. *Journal.Yamasi.Ac.Id*, 4(1), 79–86. [Http://](http://)
- Hamka, Z., Arief Nnoena, R., & Arsyia Putri Azmin, R. (2022). *Pengaruh Metode Maserasi Bertingkat Terhadap Nilai Rendemen Dan Profil Kromatografi Lapis Tipis (Klt) Ekstrak Daun Kemangi (Ocimum Basilicum L.)*. Jurnal Kesehatan Yamasi, 6(1), 154–162. [Http://journal.yamasi.ac.id](http://journal.yamasi.ac.id)
- Hasan, H., Andy Suryadi, A. M., Bahri, S., & Widiastuti, N. L. (2023). *Penentuan Kadar Flavonoid Daun Rumput Knop (Hyptis Capitata Jacq.) Menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis*. *Journal Syifa Sciences And Clinical Research*, 5(2), 200–211. <https://doi.org/10.37311/jsscr.V5i2.19371>
- Hakim M. A. R. dan M. Rahmad Suhartanto., (2015). *Penentuan Masak Fisiologi dan Ketahanan Benih Kenikir (Cosmos caudatus Kunth) terhadap Desikasi*. J. Hort. Indonesia 6(2): 84-90.
- Harborne, J.B. (1996). *Metode Fitokimia: Cara Mengidentifikasi Senyawa Tumbuhan*. Bandung: Penerbit ITB.
- Hidayah, N., Sari, R. P., & Wulandari, C. F. (2017). *Uji Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Daun Kelor (Moringa oleifera L.) dengan Metode Ekstraksi Bertingkat*. Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi, 10(2), 117-124.
- Indriyani L. K. D., L. P. Wrasati., L. Suhendra., (2021). *Kandungan Senyawa Bioaktif Teh Herbal Daun Kenikir (Cosmos caudatus Kunth.) pada Perlakuan Suhu Pengeringan dan Ukuran Partikel*. Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri. Vol. 9, No. 1, 109-118.
- Irwan, S., Fitriani, D., & Syah, U. M. (2017). *Total phenolic content, flavonoid content, and antioxidant activity of Cosmos caudatus L. leaves from different altitudes*. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 109(1), 012017. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022316622091283>

- Javadi, N., F. Abas, A. Mediani, A.A. Hamid, A.Khatib, S. Simoh, K. Shaari. (2015). *Effect of storage time on metabolite profile and alpha- glucosidase inhibitor y activity of Cosmos caudatus leaves e GCMS based metabolomics approach*. J. Food Drug Anal. 23(3): 433–441.
- Juliastini R., G. A. R. Saputri., Niken Feladita., (2023). *Uji Efek Antidiare Ekstrak Etanol Daun Kenikir (Cosmos caudatus Kunth) Metode Transit Intestinal Dengan Metode Proteksi*. Jurnal Ilmu Kedokteran dan Kesehatan, Vol. 10, No. 2.
- Kumontoy, W. (2023). *Peran Obat Tradisional dalam Meningkatkan Pelayanan Kesehatan Primer di Indonesia*. Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi, 16(1), 25-30.
- Kusuma, I.J., Prasetyorini, P. and Wardatun, S. (2018) „*Toksistas Ekstrak Daun Kenikir (Cosmos caudatus Kunth) Dengan Perbedaan Metode Dan Jenis Pelarut Berbeda.*“; Jurnal Online Mahasiswa (JOM) Bidang Farmasi, 1(1)
- Mailuhu, L., et al. (2017). *Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Gedi (Abelmoschus manihot L.) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus*. Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia, 5(2), 85-92.
- Maisarah, M., & Chatri, M. (2023). *Karakteristik dan Fungsi Senyawa Alkaloid sebagai Antifungi pada Tumbuhan*. Jurnal Serambi Biologi, 8(2), 231-236. <sup>1</sup> (Artikel ini secara khusus membahas karakteristik dan fungsi senyawa alkaloid sebagai antifungi pada tumbuhan.)
- Masitah, Teguh P., Muhammad I. P., Reynaldi F. H., Prita Asminitya S., Feby D., Volta S., (2023). *Analisis kandungan metabolik sekunder pada daun kenikir (Cosmos caudatus Kunth.) dengan pelarut methanol , etanol , dan etil asetat*. Bioedukasi vol 14. No 2
- Makiyah, S. N., & Tresnayanti, S. (2017). *Uji Toksistas Akut Ekstrak Etanol Daun Binahong (Anredera cordifolia (Tenore) Steenis) pada Mencit*. Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia, 4(1), 1-7.
- Mierza, V., Nurawaliah, C. M., Fatharani, A., Muldianah, D., & Rahmawati, D. S. (2023). Literature Review: *Standardisasi Senyawa Zingiberene*. Jurnal Farmasetis, 12(1), 43–54.
- Muaja A. D., Harry S. J. Koleangana., Max R. J. Runtuwene., 2013. *Uji Toksistas dengan Metode BSLT dan Analisis Kandungan Fitokimia Ekstrak Daun Soyogik (Saurauia bracteosa DC) dengan Metode Soxhletasi*. Jurnal MIPA UNSRAT online 2 (2) 115-118.
- Muhammad H M., Siti Hani Istiqomah., Abdul Hadi Kadarusno., (2018). *Pemanfaatan Sabun Mandi Batang Ekstrak Kenikir (Cosmos caudatus) sebagai Repelen Aedes aegypti*. Jurnal Kesehatan Lingkungan.
- Ningdyah, S. A., dkk. (2015). *Skrining Fitokimia dan Uji Sitotoksik Ekstrak Metanol Daun Gedi (Abelmoschus manihot L.) terhadap Larva Udag*

- (*Artemia salina* L.). *Proceeding of The 2nd International Conference on Pharmacy*, 187-194.
- Nuralifah., P. H. (2021). *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Air Dan Ekstrak Etanol Daun Kacapiring (Gardenia jasminoides Ellis) Terhadap Larva Artemia Salina Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*, 98-106, Vol 1 (2).
- Nurjannah, I., Mustariani, B. A. A., & Suryani, N. (2022). *Skrining Fitokimia dan Uji Antibakteri Ekstrak Kombinasi Daun Jeruk Purut (Citrus hystrix) dan Kelor (Moringa oleifera L.) sebagai Zat Aktif pada Sabun Antibakteri*. *SPIN Jurnal Kimia & Pendidikan Kimia*, 4(1), 23–36.
- Puspitasari E., R. H. (2018). *Uji Toksisitas dengan Menggunakan Metode Brine Shrimp Lethality Test (Bslt) Pada Ekstrak Mangrove (Avicennia Marina, Rhizophora Mucronata, Sonneratia Alba dan Xylocarpus Granatum) yang Berasal dari Banyuasin, Sumatera Selatan*. *Jurnal Biologi Tropis*, 91- 103, 18 (1).
- Putranto A. W., S. R. Dewi., Ni'matul Izza., D. R. Yuneri., M. Yeniaska S. Dachi dan S. H. Sumarlan., (2018). *Ekstraksi Senyawa Fenolik Daun Kenikir (Cosmos caudatus) Menggunakan Microwave Assisted Extraction (MAE)*. *Jurnal Rona Teknik Pertanian*, 11 (1).
- Qulub, S., Sari, R. P., & Wulandari, C. F. (2022). *Optimasi Metode Ekstraksi dan Fraksinasi Senyawa Bioaktif Daun Kelor (Moringa oleifera L.) Menggunakan Metode Kromatografi Cair Vakum*. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*, 15(1), 43-50
- Rachmawati F., V. Rantelino., (2018). *Uji Toksisitas dan Fitokimia Ekstrak Suruhan (Peperomia pellucida L. Kunth)*. *Bunga Rampai Saintifika FK UKI (Nomor 7)*.
- Rahmasiahi, Hadiq, S., & Yulian, T. (2023). *Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Daun Pandanwangi (Pandanus amaryllifolius Roxb)*. *Journal of Pharmaceutical Science and Herbal Technology*, 1(1), 34–39.
- Safitri, A., et al. (2013). *Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kenikir (Cosmos caudatus Kunth)*. *Jurnal Kimia FMIPA Universitas Riau*, 2(1), 1-6.
- Saputri, D. A., Sari, R. P., & Wulandari, C. F. (2023). *Potensi Daun Kenikir (Cosmos caudatus L.) sebagai Sumber Antioksidan Alami*. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*, 16(1), 31-36.
- Setiawan, D. (2018). *Potensi Tanaman Kenikir (Cosmos caudatus L.) sebagai Obat Tradisional*. *Jurnal Kesehatan Nusantara*, 4(2), 71-76.
- Simatupang, B. M. (2022). *Digunakan Masyarakat Menggunakan Metode Test The Toxicity Of The Ethanol Fraction Of Medicinal Plants Used By The Community Using The Brine Shrimp Lethality Test Method*. 3(1).

- Sukaeningsih, A., dkk. (2021). *Uji Toksisitas Akut dan Subkronik Ekstrak Etanol Daun Salam (Syzygium polyanthum (Wight) Walp) pada Mencit. Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik*, 18(1), 1-8.
- Syavira Yusviar., Esti Tyastirin, M.KM2., Saiful Bahri, M.Si., (2023). *Uji Toksisitas Air Limbah Deterjen Terhadap Larva Artemia salina Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*. Universitas Islam Negeri Sunan Ampel Surabaya.
- Surya, D. A. (2018). *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Daun Kenikir (Cosmos caudatus L.) Terhadap Larva Artemia Salina Leach Menggunakan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*. *Jurnal Kesehatan Nusantara*, 5(2), 117-122.
- Suryelita, dkk. (2017). *Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Steroid dari Daun Cemara Natal (Cupressus funebris Endl)*. *Jurnal Kimia FMIPA Universitas Riau*, 6(1), 1-6.
- Tandi, N. M., Sari, R. P., & Wulandari, C. F. (2023). *Potensi Tanaman Obat Indonesia dalam Mencegah dan Mengatasi Gangguan Metabolik*. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*, 16(1), 19-24.
- Togelang, I. P., Wulandari, C. F., & Sari, R. P. (2023). *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kenikir (Cosmos caudatus L.) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus dan Escherichia coli Secara In Vitro*. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*, 16(1), 1-6.
- Tunny, N. J., et al. (2020). *Recent Advances in Nanotechnology-Aided Materials in Combating Microbial Resistance and Functioning as Antibiotics Substitutes*. <sup>1</sup> *PubMed*.
- Van den Bergh, M.H. 1994. *Cosmos caudatus* Kunth. p. 152-153. In J.S. Siemonsma Piluek, (Eds.). *Plant Resources of South-East Asia Vegetables*. Prosea Foundation.
- Vina, D.A. 2018, 'Uji toksisitas akut ekstrak etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap tikus putih jantan galur wistar menggunakan fixed dose method', Skripsi, S.Farm, Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Indralaya, Indonesia.
- Walean, R. F., dkk. (2021). *Uji Toksisitas Ekstrak Daun Lamun (Enhalus acoroides) Terhadap Larva Udang Artemia salina*. *Jurnal Biologi dan Pendidikan Biologi*, 8(2), 123-132.
- Widiawati, & Qodri, U. L. (2023). *Analisis Fitokimia Dan Penentuan Kadar Fenolik Total Pada Ekstrak Etanol Tebu Merah Dan Tebu Hijau (Saccharum Officinarum L.)*. *Tinctura*, 4(2), 109–118.
- Wirasari, D. R., Sari, R. P., & Wulandari, C. F. (2023). *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Daun Kelor (Moringa oleifera L.) Terhadap Larva Udang Artemia Salina Leach Menggunakan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*, 16(1), 7-12.



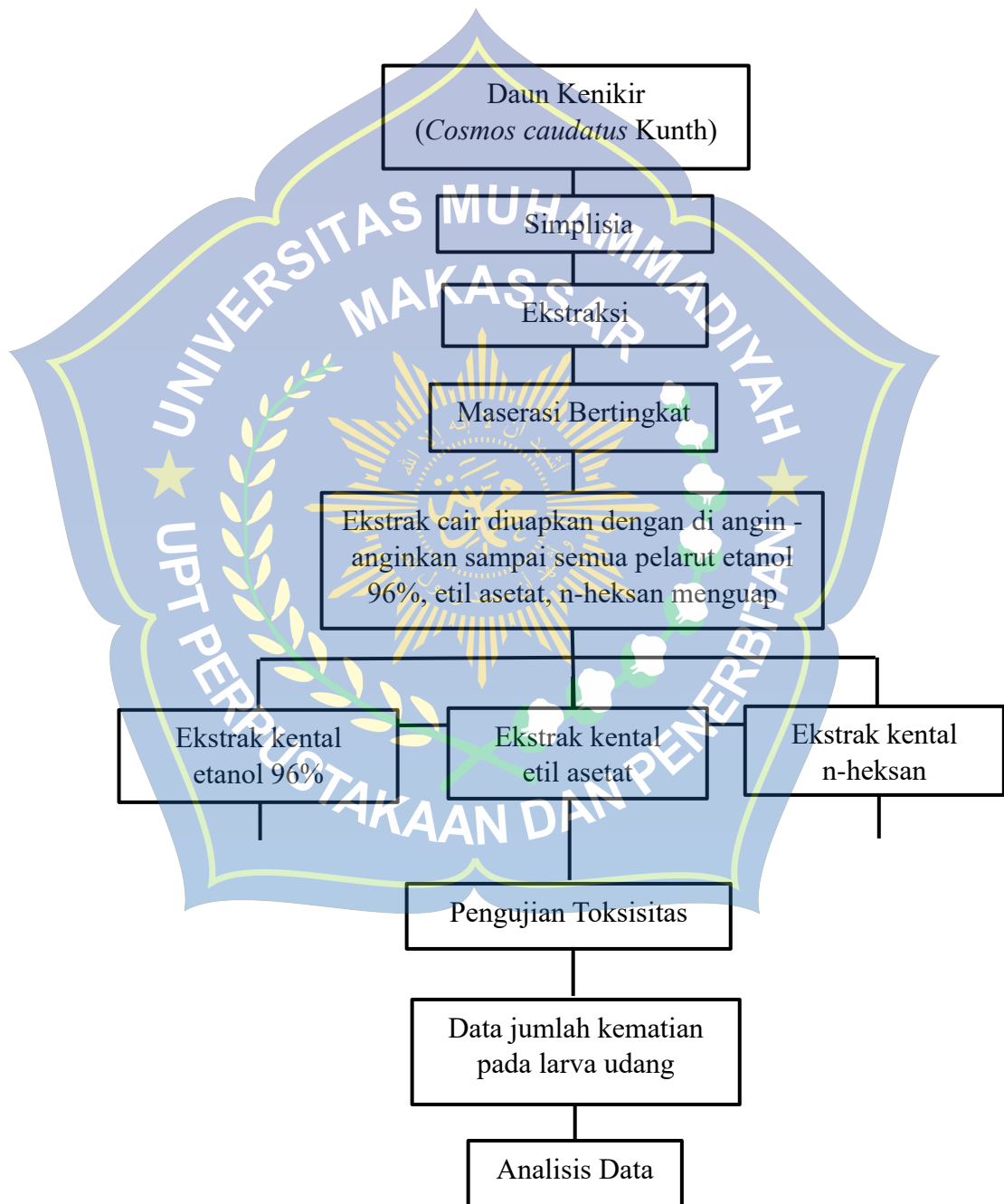
- Yani, E., Sari, R. P., & Wulandari, C. F. (2023). *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Daun Sirih (Piper betle L.) Terhadap Larva Udang Artemia Salina Leach Menggunakan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*, 16(1), 1-6.
- Yasacaxena, L. N. Y., Defi, M. N., Kandari, V. P., Weru, P. T. R., Papilaya, F. E., Oktafera, M., & Setyaningsih, D. (2023). Review: Extraction Of Temulawak Rhizome (*Curcuma Xanthorrhiza* Roxb.) And Activity As Antibacterial. *Jurnal Jamu Indonesia*, 8(1), 10–17. <https://doi.org/10.29244/Jji.V8i1.265>.
- Yuliani, D. F., Sari, R. P., & Wulandari, C. F. (2019). *Uji Toksisitas Ekstrak Daun Kenikir (Cosmos caudatus L.) dengan Metode Probit pada Larva Udang Artemia salina Leach*. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*, 12(2), 79-84.
- Yani D f., R. N. (2023). Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Kerai Payung (*Filicium Decipiens*) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Spin, Jurnal Kimia & Pendidikan Kimia*, 27-36, Vol 5 No (1).
- Yara, R., et al. (2023). Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*). *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia*, 11(1), 1-8.



## LAMPIRAN

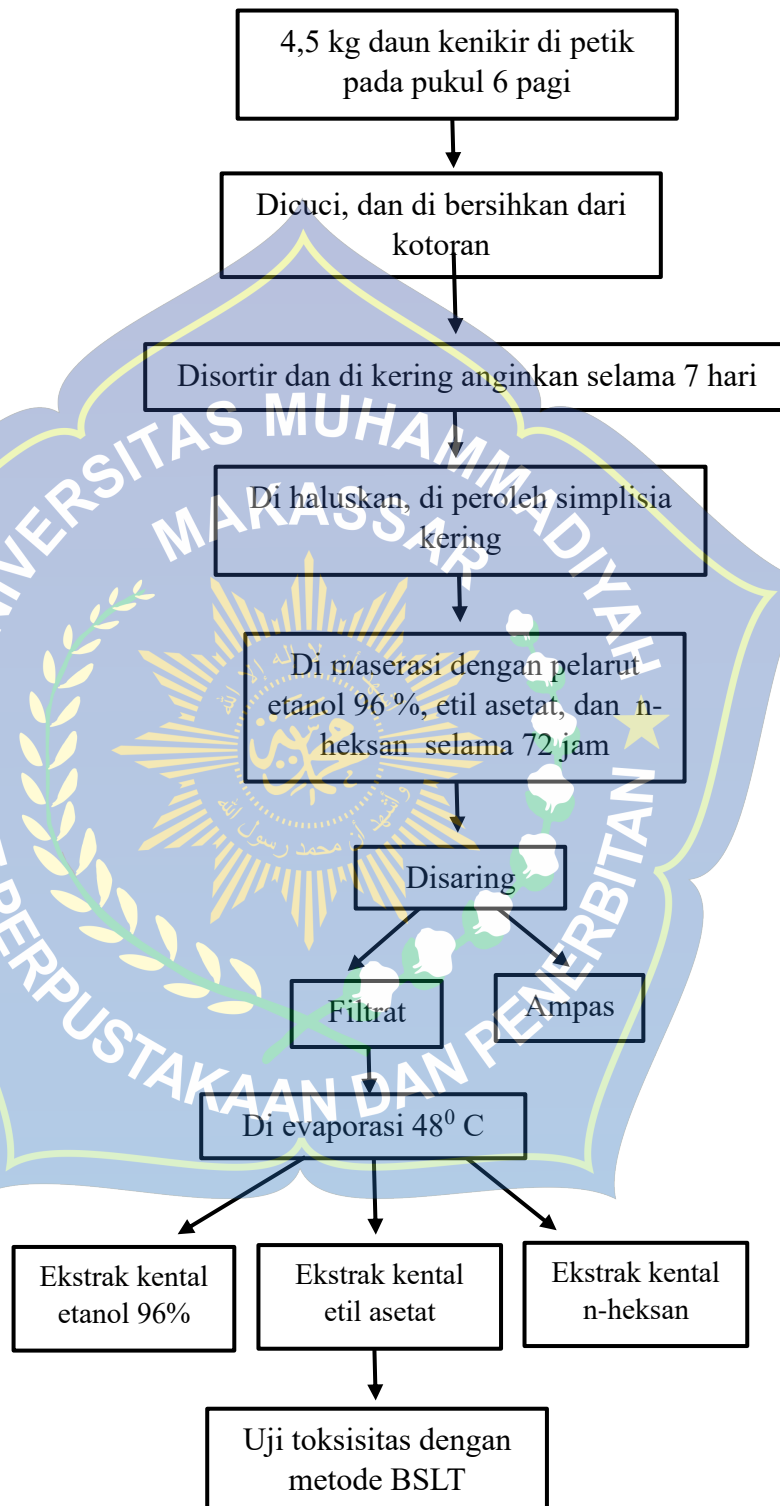
### Lampiran 1. Skema Kerja

#### 1. Skema Penelitian

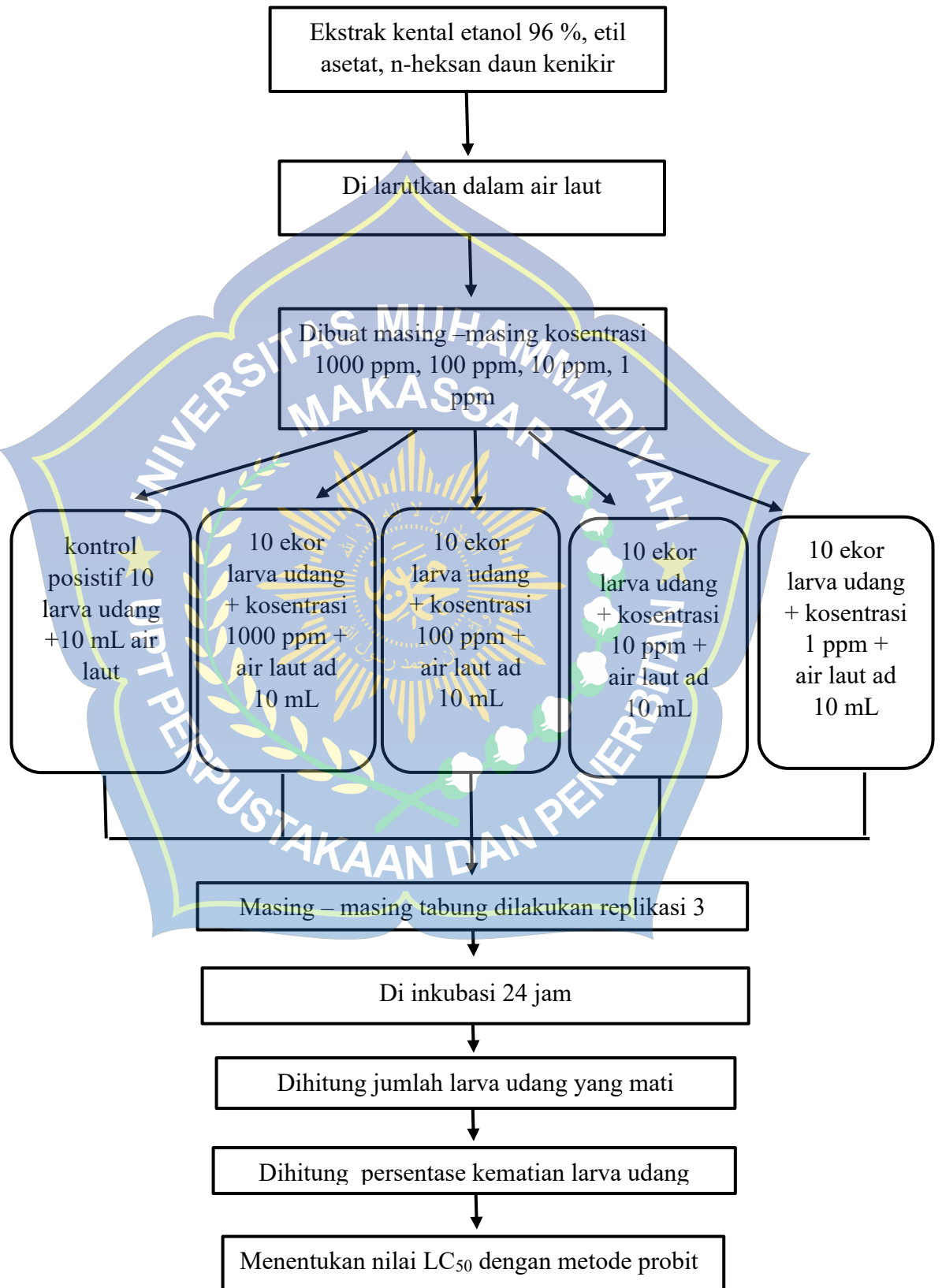




## 2. Skema Maserasi



### 3. Skema uji toksisitas metode BSLT



## Lampiran 2. Pembuatan Pereaksi

### 1. Pembuatan Pereaksi Mayer

Sebanyak 5 gram kalium iodida dilarutkan dalam 10 ml air suling. Kemudian ditambahkan larutan 1,36 gram HgCl dalam 60 ml air suling. Larutan dikocok dan ditambahkan air suling hingga 100 ml.

### 2. Pereaksi dragendorf

Sebanyak 8 gram bismuth nitrat dilarutkan dalam asam nitrat 20 ml kemudian dicampur dengan larutan kalium iodida sebanyak 27,2 gram dalam 50 ml air suling. Campuran didiamkan sampai memisah sempurna. Larutan jernih diambil dan diencerkan dengan air secukupnya hingga 100 ml.

### 3. Pereaksi bouchardat

Sebanyak 4 gram kalium iodida ditimbang, dilarutkan dalam air suling secukupnya, lalu ditambahkan 2 gram iodium kemudian ditambahkan air suling hingga diperoleh larutan 100 ml.

### 4. FeCl<sub>3</sub>

Ditimbang FeCl<sub>3</sub> 1% sebanyak 1 g. Kemudian dipindahkan dalam beaker glass dan dilarutkan dengan sedikit aquadets sambil di aduk. Dipindahkan dalam labu ukur 100 mL dan ditanda bataskan dengan aquadets.

### 5. Pembuatan HCL 2N

Larutan HCL di buat dengan pengenceran bertingkat dari HCL p.a 37 % =12,06 N. HCL 12,6 N di encerkan menjadi 2 N dengan mengambil

16, 58 mL HCL 12,06 N. Dimaukkan kedalam labu ukur 100 mL yang sebelumnya telah diisi dengan sedikit aquadest, aduk dan tambahkan aquadest sampai tanda batas.



### Lampiran 3. Perhitungan

#### 1. Perhitungan Rendemen Ekstrak

$$\begin{aligned}\text{Rendemen Ekstrak Etanol 96\%} &= \frac{\text{Berat ekstrak kental yang diperoleh}}{\text{Berat simplisia yang dimaserasi}} \times 100 \% \\ &= \frac{28,3 \text{ g}}{500 \text{ g}} \times 100 \% \\ &= 5,66 \%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Rendemen Ekstrak Etil Asetat} &= \frac{\text{Berat ekstrak kental yang diperoleh}}{\text{Berat simplisia yang dimaserasi}} \times 100 \% \\ &= \frac{25,6 \text{ g}}{500 \text{ g}} \times 100 \% \\ &= 5,12 \%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Rendemen Ekstrak N-Heksan} &= \frac{\text{Berat ekstrak kental yang diperoleh}}{\text{Berat simplisia yang dimaserasi}} \times 100 \% \\ &= \frac{15,6 \text{ g}}{500 \text{ g}} \times 100 \% \\ &= 3,12 \%\end{aligned}$$

#### 2. Perhitungan Pengenceran

Larutan stok : 100 mg / 50 mL = 2000 ppm

a. 1000 ppm

$$V_1 M_1 = V_2 M_2$$

$$2000 V_1 = 10 \times 1000$$

$$V_1 = \frac{10,000}{2000} = 5 \text{ mL} \rightarrow 5000 \mu\text{L}$$

b. 100 ppm

$$V_1 M_1 = V_2 M_2$$

$$2000 V_1 = 10 \times 100$$

$$V_1 \frac{1000}{2000} = 0,5 \text{ mL} \rightarrow 500 \mu\text{L}$$

c. 10 ppm

$$V_1 M_1 = V_2 M_2$$

$$2000 V_1 = 10 \times 10$$

$$V_1 = \frac{100 \text{ mL}}{2000} = 0,05 \text{ mL} \rightarrow 50 \mu\text{L}$$

d. 1 ppm

$$V_1 M_1 = V_2 M_2$$

$$2000 V_1 = 1 \times 10$$

$$V_1 = \frac{10 \text{ mL}}{2000} = 0,005 \rightarrow 5 \mu\text{L}$$

### 3. Perhitungan LC<sub>50</sub>

Perhitungan Kematian Larva Udang berdasarkan Analisis Probit

$$\text{Slope (b)} = \frac{\sum(x) \cdot \sum(y) - n \sum(xy)}{(\sum(x)^2 - n \sum(x^2))}$$

$$\text{Intersipe (a)} = \frac{\sum(x) \cdot \sum(xy) - \sum(x)^2 \sum(y)}{(\sum(x)^2 - n \sum(x^2))}$$

$$Y = a + bx$$

Ket

Y = Probit

X = Log Konsentrasi/dos

a. Ekstrak Etanol

1. Etanol Replikasi I

Konsentrasi	Mati	% kematian	Log konsentrasi (x)	Probit (y)	X <sup>2</sup>	Y <sup>2</sup>	XY
1000	10	100	3	8,95	9	80,17053	26,8614
100	8	80	2	5,84	4	34,1056	11,68
10	6	60	1	5,25	1	27,5625	5,25
1	4	40	0	4,75	0	22,5625	0
Kontrol +	0	0	0	0	0	0	0
Total			6	24,7938	14	164,4011	43,7914

$$\begin{aligned} \text{Nilai } b &= \frac{6 \times 24,7938 - 4 \times 43,7914}{(6)^2 - 4 \times 14} \\ &= \frac{148,74 - 175,1656}{36 - 56} \\ &= \frac{-26,4256}{-20} = 1,3213 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Nilai } a &= \frac{6 \times 43,7914 - 14 \times 24,79}{(6)^2 - 4 \times 14} \\ &= \frac{262,7484 - 347,06}{36 - 56} \\ &= \frac{-84,3116}{-20} = 4,2156 \end{aligned}$$

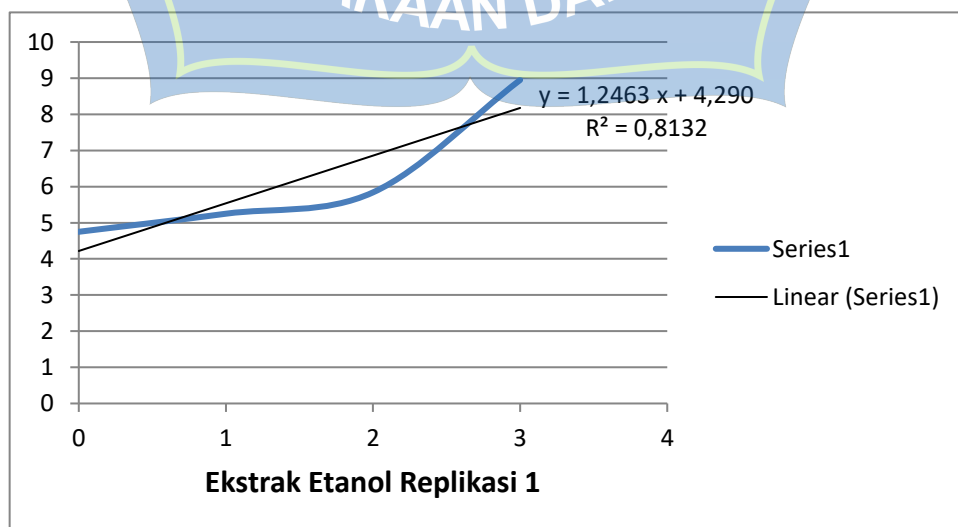
$$Y = a + bx$$

$$5 = 4,2156 + 1,3213X$$

$$X = \frac{5 - 4,2156}{1,3213}$$

$$X = \frac{0,7844}{1,3213} = 0,5937$$

$$\begin{aligned} \text{Nilai LC}_{50} &= \text{antilog } 0,5937 \\ &= 3,817 \text{ ppm} \end{aligned}$$





## 2. Etanol Replikasi II

Konsentrasi	Mati	% kematian	Log konsentrasi (x)	Probit (y)	X <sup>2</sup>	Y <sup>2</sup>	Xy
1000	10	100	3	8,95	9	80,17053	26,8614
100	8	80	2	5,84	4	34,1056	11,68
10	6	60	1	5,25	1	27,5625	5,25
1	5	50	0	5	0	25	0
Kontrol +	0	0	0	0	0	0	0
Total			6	25,04	14	166,8386	43,7914

$$\begin{aligned} \text{Nilai } b &= \frac{6 \times 25,04 - 4 \times 43,7914}{(6)^2 - 4 \times 14} \\ &= \frac{150,24 - 175,1656}{36 - 56} \\ &= \frac{-24,9256}{-20} = 1,2463 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Nilai } a &= \frac{6 \times 43,7914 - 14 \times 25,04}{(6)^2 - 4 \times 14} \\ &= \frac{262,7484 - 350,56}{36 - 56} \\ &= \frac{-87,8116}{-20} = 4,3906 \end{aligned}$$

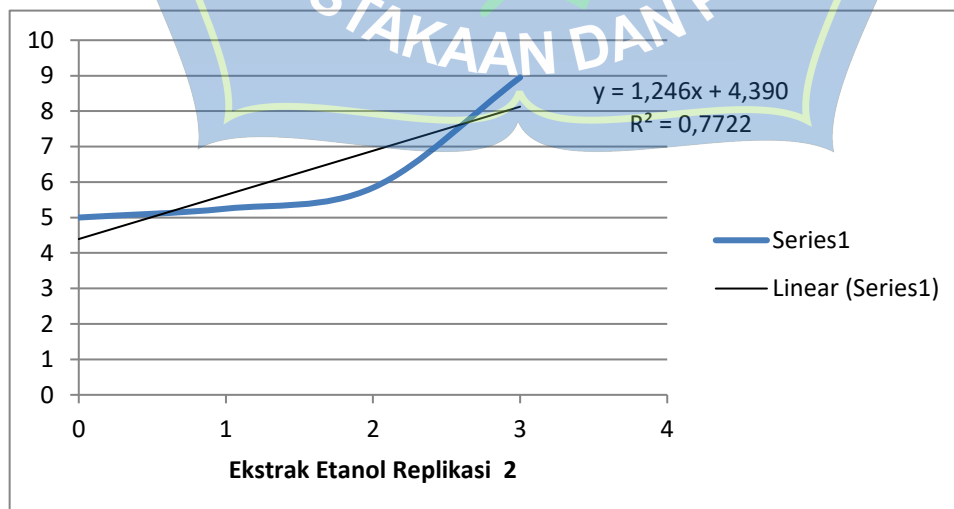
$$Y = a + bx$$

$$5 = 4,3906 + 1,2463X$$

$$X = \frac{5 - 4,3906}{1,2463}$$

$$X = \frac{0,6094}{1,2463} = 0,4886$$

$$\begin{aligned} \text{Nilai LC } 50 &= \text{antilog } 0,4886 \\ &= 3,083 \text{ ppm} \end{aligned}$$



### 3. Etanol Replikasi III

Konsentrasi	Mati	% kematian	Log konsentrasi (x)	Probit (y)	X <sup>2</sup>	Y <sup>2</sup>	Xy
1000	10	100	3	8,95	9	80,17053	26,8614
100	8	80	2	5,84	4	34,1056	11,68
10	6	60	1	5,25	1	27,5625	5,25
1	5	50	0	5	0	25	0
Kontrol +	0	0	0	0	0	0	0
Total			6	25,04	14	166,8386	43,7914

$$\begin{aligned} \text{Nilai } b &= \frac{6 \times 25,04 - 4 \times 43,7914}{(6)^2 - 4 \times 14} \\ &= \frac{150,24 - 175,1656}{36 - 56} \\ &= \frac{-24,9256}{-20} = 1,2463 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Nilai } a &= \frac{6 \times 43,7914 - 14 \times 25,04}{(6)^2 - 4 \times 14} \\ &= \frac{262,7484 - 350,56}{36 - 56} \\ &= \frac{-87,8116}{-20} = 4,3906 \end{aligned}$$

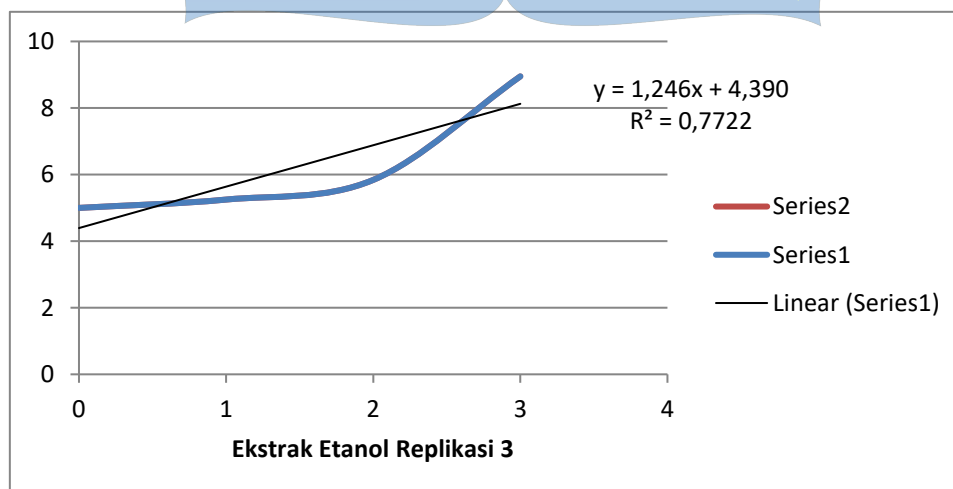
$$Y = a + bx$$

$$5 = 4,3906 + 1,2463X$$

$$X = \frac{5 - 4,3906}{1,2463}$$

$$X = \frac{0,6094}{1,2463} = 0,4886$$

$$\begin{aligned} \text{Nilai LC } 50 &= \text{antilog } 0,4886 \\ &= 3,083 \text{ ppm} \end{aligned}$$



b. Ekstrak Etil Asetat

1. Etil Asetat Replikasi I

Konsentrasi	Mati	% kematian	Log konsentrasi (x)	Probit (y)	X <sup>2</sup>	Y <sup>2</sup>	Xy
1000	8	80	3	5,84	9	34,1056	17,52
100	7	70	2	5,52	4	30,4704	11,04
10	6	60	1	5,25	1	27,5625	5,25
1	5	50	0	5	0	25	0
Kontrol +	0	0	0	0	0	0	0
Total			6	21,61	14	117,1385	33,81

$$\begin{aligned} \text{Nilai } b &= \frac{6 \times 21,61 - 4 \times 33,81}{(6)^2 - 4 \times 14} \\ &= \frac{129,66 - 135,24}{36 - 56} \\ &= \frac{-5,58}{-20} = 0,279 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Nilai } a &= \frac{6 \times 33,81 - 14 \times 21,61}{(6)^2 - 4 \times 14} \\ &= \frac{202,86 - 302,54}{36 - 56} \\ &= \frac{-99,68}{-20} = 4,984 \end{aligned}$$

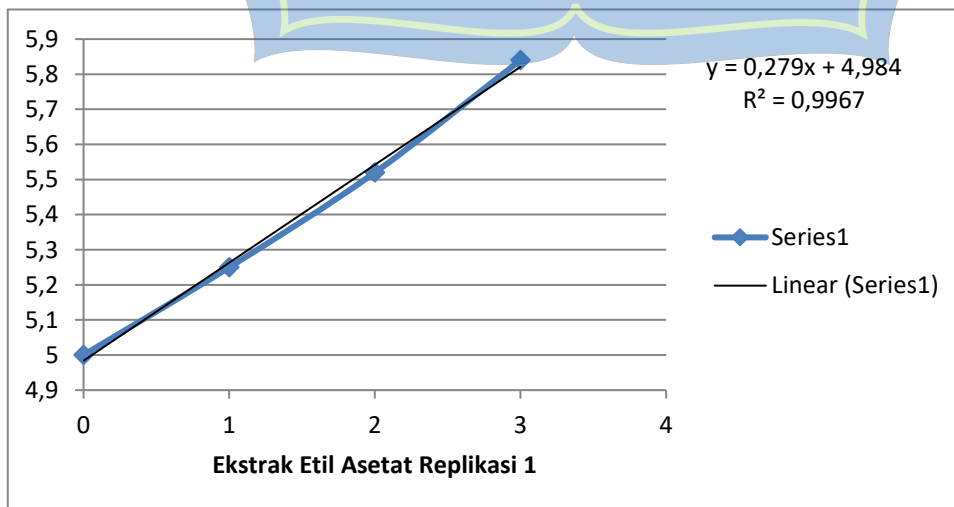
$$Y = a + bx$$

$$5 = 4,984 + 0,279X$$

$$X = \frac{5 - 4,984}{0,279}$$

$$X = \frac{0,016}{0,279} = 0,057$$

$$\begin{aligned} \text{Nilai LC } 50 &= \text{antilog } 0,057 \\ &= 1,141 \text{ ppm} \end{aligned}$$



## 2. Etil Asetat Replikasi II

Konsentrasi	Mati	% kematian	Log konsentrasi (x)	Probit (y)	X <sup>2</sup>	Y <sup>2</sup>	Xy
1000	8	80	3	5,84	9	34,1056	17,52
100	8	80	2	5,84	4	34,1056	11,68
10	6	60	1	5,25	1	27,5625	5,25
1	5	50	0	5	0	25	0
Kontrol +	0	0	0	0	0	0	0
			6	21,93	14	120,7737	34,45

$$\begin{aligned} \text{Nilai } b &= \frac{6 \times 21,93 - 4 \times 34,45}{(6)^2 - 4 \times 14} \\ &= \frac{131,58 - 137,80}{36 - 56} \\ &= \frac{-6,22}{-20} = 0,311 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Nilai } a &= \frac{6 \times 34,45 - 14 \times 21,93}{(6)^2 - 4 \times 14} \\ &= \frac{206,7 - 305,02}{36 - 56} \\ &= \frac{-99,68}{-20} = 4,916 \end{aligned}$$

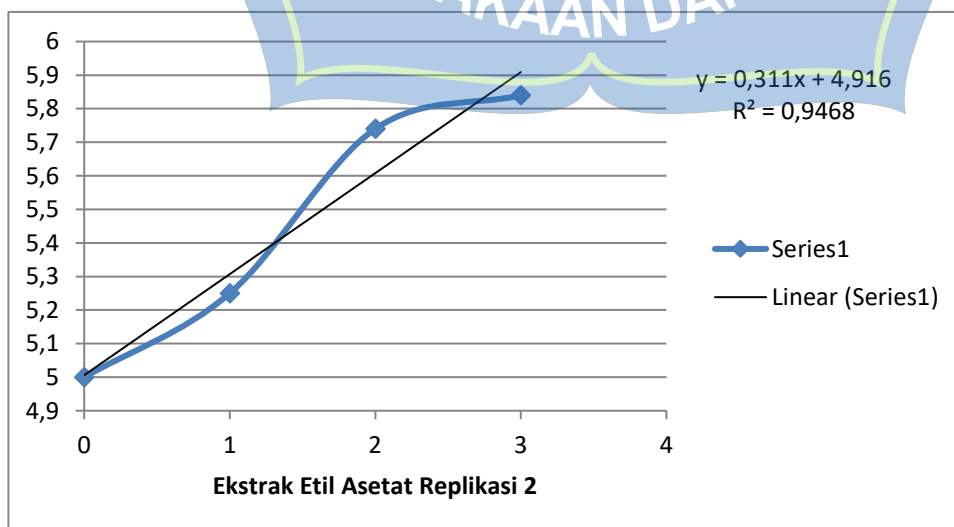
$$Y = a + bx$$

$$5 = 4,916 + 0,311X$$

$$X = \frac{5 - 4,916}{0,311}$$

$$X = \frac{0,084}{0,311} = 0,270$$

$$\begin{aligned} \text{Nilai LC } 50 &= \text{antilog } 0,270 \\ &= 1,869 \text{ ppm} \end{aligned}$$



### 3. Etil Asetat Replikasi III

Konsentrasi	Mati	% kematian	Log konsentrasi (x)	Probit (y)	X <sup>2</sup>	Y <sup>2</sup>	Xy
1000	8	80	3	5,84	9	34,1056	17,52
100	7	70	2	5,52	4	30,4704	11,04
10	6	60	1	5,25	1	27,5625	5,25
1	5	50	0	5	0	25	0
Kontrol +	0	0	0	0	0	0	0
Total			6	21,61	14	117,1385	33,81

$$\begin{aligned} \text{Nilai } b &= \frac{6 \times 21,61 - 4 \times 33,81}{(6)^2 - 4 \times 14} \\ &= \frac{129,66 - 135,24}{36 - 56} \\ &= \frac{-5,58}{-20} = 0,279 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Nilai } a &= \frac{6 \times 33,81 - 14 \times 21,61}{(6)^2 - 4 \times 14} \\ &= \frac{202,86 - 302,54}{36 - 56} \\ &= \frac{-99,68}{-20} = 4,984 \end{aligned}$$

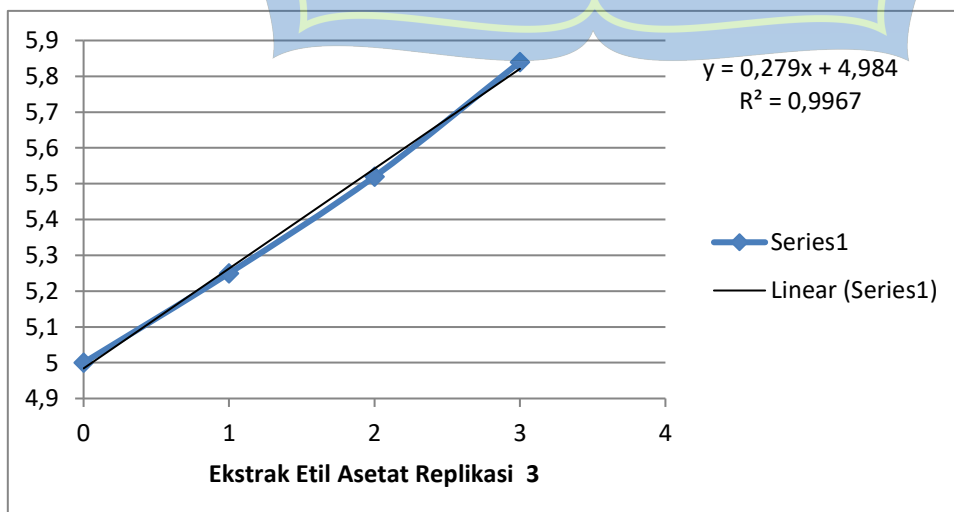
$$Y = a + bx$$

$$5 = 4,984 + 0,279X$$

$$X = \frac{5 - 4,984}{0,279}$$

$$X = \frac{0,016}{0,279} = 0,057$$

$$\begin{aligned} \text{Nilai LC } 50 &= \text{antilog } 0,057 \\ &= 1,141 \text{ ppm} \end{aligned}$$



c. Ekstrak N-Heksan

1. Heksan Replikasi I

Konsentrasi	Mati	% kematian	Log konsentrasi (x)	Probit (y)	X <sup>2</sup>	Y <sup>2</sup>	Xy
1000	10	100	3	8,95	9	80,1025	26,85
100	6	60	2	5,25	4	27,5625	10,5
10	4	40	1	4,75	1	22,5625	4,75
1	2	20	0	4,16	0	17,3056	0
Kontrol +	0	0	0	0	0	0	0
Total			6	23,11	14	147,5331	42,1

$$\begin{aligned} \text{Nilai } b &= \frac{6 \times 23,11 - 4 \times 42,1}{(6)^2 - 4 \times 14} \\ &= \frac{138,66 - 168,4}{36 - 56} \\ &= \frac{-29,74}{-20} = 1,487 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Nilai } a &= \frac{6 \times 42,1 - 14 \times 23,11}{(6)^2 - 4 \times 14} \\ &= \frac{252,6 - 323,54}{36 - 56} \\ &= \frac{-70,94}{-20} = 3,547 \end{aligned}$$

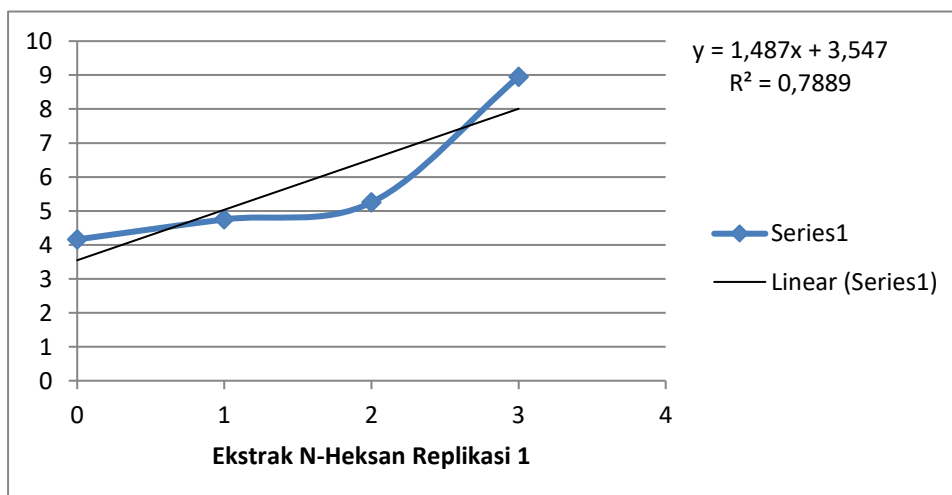
$$Y = a + bx$$

$$5 = 3,547 + 1,487X$$

$$X = \frac{5 - 3,547}{1,487}$$

$$X = \frac{1,453}{1,487} = 0,977$$

$$\begin{aligned} \text{Nilai LC } 50 &= \text{antilog } 0,977 \\ &= 9,501 \text{ ppm} \end{aligned}$$





## 2. Heksan Replikasi II

Konsentrasi	Mati	% kematian	Log konsentrasi (x)	Probit (y)	X <sup>2</sup>	Y <sup>2</sup>	Xy
1000	10	100	3	8,95	9	80,1025	26,85
100	5	50	2	5	4	25	10
10	5	50	1	5	1	25	5
1	2	20	0	4,16	0	17,3056	0
Kontrol +	0	0	0	0	0	0	0
Total			6	23,11	14	147,4081	41,85

$$\begin{aligned} \text{Nilai } b &= \frac{6 \times 23,11 - 4 \times 41,85}{(6)^2 - 4 \times 14} \\ &= \frac{138,66 - 167,4}{36 - 56} \\ &= \frac{-28,74}{-20} = 1,437 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Nilai } a &= \frac{6 \times 41,85 - 14 \times 23,11}{(6)^2 - 4 \times 14} \\ &= \frac{251,1 - 323,54}{36 - 56} \\ &= \frac{-72,44}{-20} = 3,622 \end{aligned}$$

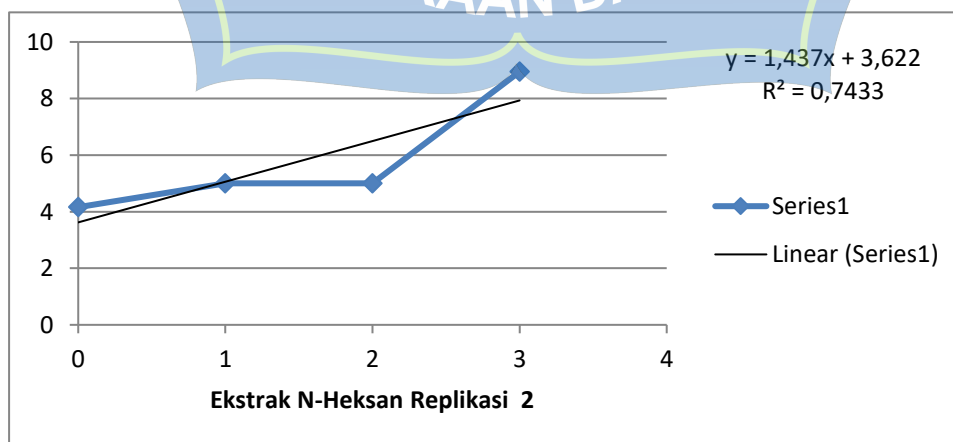
$$Y = a + bx$$

$$5 = 3,622 + 1,437X$$

$$X = \frac{5 - 3,622}{1,437}$$

$$X = \frac{1,378}{1,437} = 0,959$$

$$\begin{aligned} \text{Nilai LC}_{50} &= \text{antilog } 0,959 \\ &= 9,105 \text{ ppm} \end{aligned}$$



### 3. Heksan Replikasi III

Konsentrasi	Mati	% kematian	Log konsentrasi (x)	Probit (y)	X <sup>2</sup>	Y <sup>2</sup>	Xy
1000	10	100	3	8,95	9	80,1025	26,85
100	6	60	2	5,25	4	27,5625	10,5
10	5	50	1	5	1	25	5
1	3	30	0	4,48	0	20,0704	0
Kontrol +	0	0	0	0	0	0	0
Total			6	23,68	14	152,7354	42,35

$$\begin{aligned} \text{Nilai } b &= \frac{6 \times 23,68 - 4 \times 42,35}{(6)^2 - 4 \times 14} \\ &= \frac{142,08 - 169,4}{36 - 56} \\ &= \frac{-27,32}{-20} = 1,36 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Nilai } a &= \frac{6 \times 42,35 - 14 \times 23,68}{(6)^2 - 4 \times 14} \\ &= \frac{254,1 - 331,52}{36 - 56} \\ &= \frac{-77,42}{-20} = 3,871 \end{aligned}$$

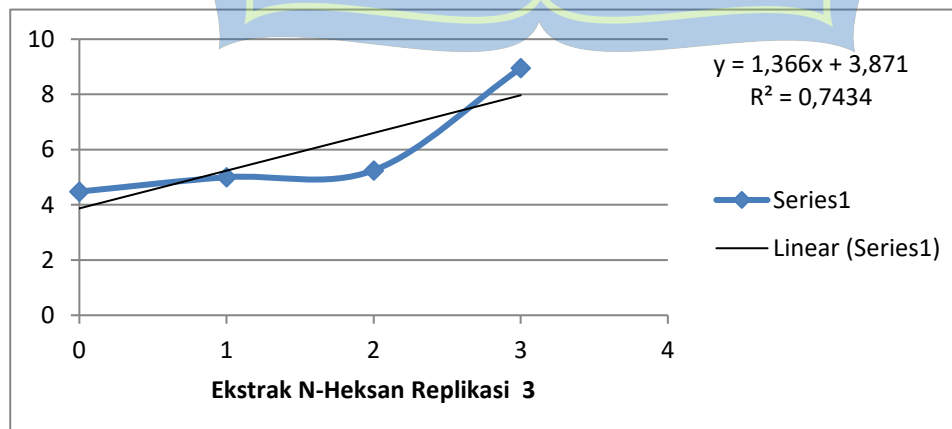
$$Y = a + bx$$

$$5 = 3,871 + 1,366X$$

$$X = \frac{5 - 3,871}{1,366}$$

$$X = \frac{1,129}{1,366} = 0,827$$

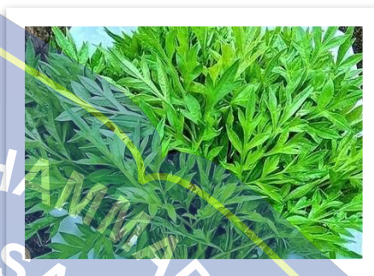
$$\begin{aligned} \text{Nilai LC}_{50} &= \text{antilog } 0,827 \\ &= 6,715 \text{ ppm} \end{aligned}$$



**Lampiran 4. Penyiapan Sampel dan Pembuatan Ekstrak**



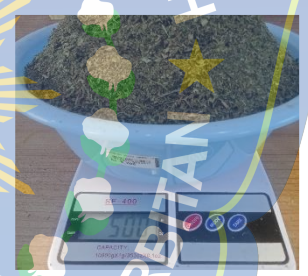
**Gambar 4.1. Pengambilan Sampel**



**Gambar 4.2. Sortasi Basah**



**Gambar 4.3. Pengeringan Sampel**



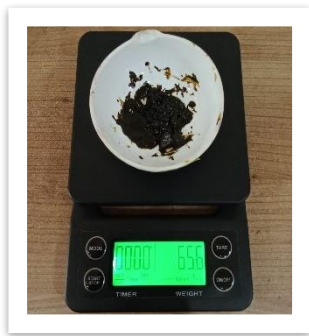
**Gambar 4.4. Penimbangan simplisia kering**



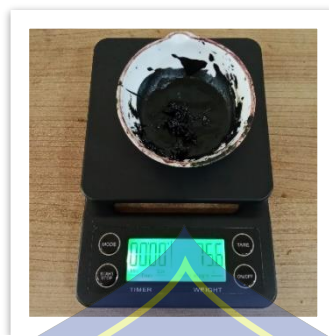
**Gambar 4.5. Proses maserasi selama 2 x 24 jam**



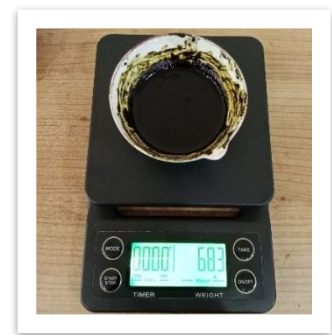
**Gambar 4.6. pengeringan simplisia**



3. Ekstrak N-heksan



2. Ekstrak Etil asetat



1. Ekstrak Etanol 96%

**Gambar 4.11.** Ekstrak kental kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth)



## Lampiran 5. Skrining Fitokimia



Gambar 5.1. Uji senyawa Alkaloid



Gambar 5.2. Uji senyawa Saponin

Gambar 5.3. Uji senyawa Fenol



Gambar 5.4. Uji senyawa Flavonoid



Gambar 5.5. Uji senyawa Tanin



**Gambar 5.6.** Uji senyawa Steroid





## Lampiran 6. Uji Toksisitas



**Gambar 6.1.** Penimbangan telur larva udang



**Gambar 6.2.** Larva udang yang sudah menetas



**Gambar 6.5.** Larutan induk ekstrak N-heksan



**Gambar 6.6.** Larutan induk ekstrak Etil asetat



**Gambar 6.7.** Larutan induk ekstrak Etanol 96%



**Gambar 6.8.** Diinkubasi selama 24 jam



**Gambar 6.9.** Pengamatan larva mati dan hidup



**Lampiran. 7.** Jumlah kematian larva udang (*Artemia salina* Leach)

Ekstrak Etanol 96 %	Kosentrasi	Jumlah kematian	
		Hidup	Mati
R1 Etanol 96 %	1000 ppm	0	10
R1 Etanol 96 %	100 ppm	2	8
R1 Etanol 96 %	10 ppm	4	6
R1 Etanol 96 %	1 ppm	6	4
R1 kontrol (+)	0	0	0
R2 Etanol 96 %	1000 ppm	0	10
R2 Etanol 96 %	100 ppm	2	8
R2 Etanol 96 %	10 ppm	4	6
R2 Etanol 96 %	1 ppm	5	5
R2 kontrol (+)	0	0	0
R3 Etanol 96 %	1000 ppm	0	10
R3 Etanol 96 %	100 ppm	2	8
R3 Etanol 96 %	10 ppm	4	6
R3 Etanol 96 %	1 ppm	5	5
R3 kontrol (+)	0	0	0

Esktrak Etil asetat	Kosentrasi	Jumlah kematian	
		Hidup	Mati
R1 Etil asetat	1000 ppm	2	8
R1 Etil asetat	100 ppm	3	7
R1 Etil asetat	10 ppm	4	6
R1 Etil asetat	1 ppm	5	5
R1 kontrol (+)	0	0	0
R2 Etil asetat	1000 ppm	2	8
R2 Etil asetat	100 ppm	2	8
R2 Etil asetat	10 ppm	4	6
R2 Etil asetat	1 ppm	5	5
R2 kontrol (+)	0	0	0
R3 Etil asetat	1000 ppm	2	8
R3 Etil asetat	100 ppm	3	7
R3 Etil asetat	10 ppm	4	6
R3 Etil asetat	1 ppm	5	5
R3 kontrol (+)	0	0	0

Esktrak N- Heksan	Kosentrasi	Jumlah kematian	
		Hidup	Mati
R1 N- Heksan	1000 ppm	0	10
R1 N- Heksan	100 ppm	4	6
R1 N- Heksan	10 ppm	6	4
R1 N- Heksan	1 ppm	8	2
R1 kontrol (+)	0	0	0
R2 N- Heksan	1000 ppm	0	10
R2 N- Heksan	100 ppm	5	5
R2 N- Heksan	10 ppm	5	5
R2 N- Heksan	1 ppm	8	2
R2 kontrol (+)	0	0	0
R3 N- Heksan	1000 ppm	0	10
R3 N- Heksan	100 ppm	4	6
R3 N- Heksan	10 ppm	5	5
R3 N- Heksan	1 ppm	7	3
R3 kontrol (+)	0	0	0



Lampiran 8. Surat Izin Penelitian

**MAJELIS PENDIDIKAN TINGGI PIMPINAN PUSAT MUHAMMADIYAH  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MAKASSAR**  
LEMBAGA PENELITIAN PENGEMBANGAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT  
Jl. Sultan Alauddin No. 259 Telp.866972 Fax (0411)865588 Makassar 90221 e-mail :jp3m@unismuh.ac.id

Nomor : 4928/05/C.4-VIII/IX/1446/2024 **09 September 2024 M**  
Lamp : 1 (satu) Rangkap Proposal **06 Rabiul awal 1446**  
Hal : Permohonan Izin Penelitian

Kepada Yth,  
Ketua Lab Farmasi  
Universitas Muhamamdiyah Makassar  
di -  
Makassar

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Berdasarkan surat Dekan Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Makassar, nomor: 112/05/A.6-VIII/IX/46/2024 tanggal 4 September 2024, menerangkan bahwa mahasiswa tersebut di bawah ini:

Nama : **USRA THAMRIN**  
No. Stambuk : **10513 1106120**  
Fakultas : **Kedokteran dan Ilmu Kesehatan**  
Jurusan : **Farmasi**  
Pekerjaan : **Mahasiswa**

Bermaksud melaksanakan penelitian/pengumpulan data dalam rangka penulisan Skripsi dengan judul :

**"UJI TOKSISITAS EKSTRAK DAUN KENIKIR (COSMOS CAUDATUS KUNTH) MENGGUNAKAN BERBAGAI PELARUT TERHADAP LARVA UDANG (ARTEMIA SALINA LEACH) DENGAN METODE BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BLST)"**

Yang akan dilaksanakan dari tanggal 13 September 2024 s/d 13 Nopember 2024.

Sehubungan dengan maksud di atas, kiranya Mahasiswa tersebut diberikan izin untuk melakukan penelitian sesuai ketentuan yang berlaku.  
Demikian, atas perhatian dan kerjasamanya diucapkan Jazakumullahu khaeran

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Ketua LP3M,  
  
**Dr. Mimi Arief Muhsin, M.Pd.**  
NIM 1127761



## Lampiran 9. Surat Keterangan Layak Etik



**KOMITE ETIK PENELITIAN KESEHATAN**  
**POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES MAKASSAR**  
Jalan Wijaya Kusuma Raya No. 46, Rappocini, Makassar  
E-mail: [kepknolkesmas@poltekkes-mks.ac.id](mailto:kepknolkesmas@poltekkes-mks.ac.id)



---

**KETERANGAN LAYAK ETIK**  
DESCRIPTION OF ETHICAL EXEMPTION  
"ETHICAL EXEMPTION"  
No.: 1315/M/KEPK-PTKMS/X/2024

Protokol penelitian yang diusulkan oleh :  
The research protocol proposed by

**Peneliti Utama** : Usra Thamrin  
Principal in Investigator

**Nama Institusi** : Universitas Muhammadiyah Makassar  
Name of the Institution

Dengan Judul:  
Title  
"Uji toksisitas ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) menggunakan berbagai pelarut terhadap larva udang (*Artemia salina* Leach) dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)"  
*"Toxicity test of (*Cosmos caudatus* Kunth) leaf extract using various solvents on (*Artemia salina* Leach) larvae with the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method."*

Dinyatakan layak etik sesuai 7 (tujuh) Standar WHO 2011, yaitu 1) Nilai Sosial, 2) Nilai Ilmiah, 3) Pemerataan Beban dan Manfaat, 4) Risiko, 5) Bujukan/Eksploitasi, 6) Kerahasiaan dan Privacy, dan 7) Persetujuan Setelah Penjelasan, yang merujuk pada Pedoman CIOMS 2016. Hal ini seperti yang ditunjukkan oleh terpenuhinya indikator setiap standar.

Declared to be ethically appropriate in accordance to 7 (seven) WHO 2011 Standards, 1) Social Values, 2) Scientific Values, 3) Equitable Assessment and Benefits, 4) Risks, 5) Persuasion/Exploitation, 6) Confidentiality and Privacy, and 7) Informed Consent, referring to the 2016 CIOMS Guidelines. This is as indicated by the fulfillment of the indicators of each standard.

Pernyataan Layak Etik ini berlaku selama kurun waktu tanggal 07 November 2024 sampai dengan tanggal 07 November 2025.

Declaration of ethics applies during the period November 07, 2024 until November 07, 2025.



November 07, 2024  
Professor and Chairperson,  
  
**Santi Sinala, S.Si, M.Si, Apt**  
Ketua KEPK Poltekkes Makassar





## Lampiran 10. Surat Keterangan Bebas Plagiat

**MAJELIS PENDIDIKAN TINGGI PIMPINAN PUSAT MUHAMMADIYAH  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MAKASSAR  
UPT PERPUSTAKAAN DAN PENERBITAN**  
Alamat kantor: Jl.Sultan Alauddin NO.259 Makassar 90221 Tlp.(0411) 866972,881593, Fax.(0411) 865588

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

**SURAT KETERANGAN BEBAS PLAGIAT**

**UPT Perpustakaan dan Penerbitan Universitas Muhammadiyah Makassar,  
Menerangkan bahwa mahasiswa yang tersebut namanya di bawah ini;**

Nama : Usra Thamrin  
Nim : 105131106120  
Program Studi : Farmasi  
Dengan nilai:

No	Bab	Nilai	Ambang Batas
1	Bab 1	6 %	10 %
2	Bab 2	3 %	25 %
3	Bab 3	5 %	10 %
4	Bab 4	2 %	10 %
5	Bab 5	2 %	10 %

Dinyatakan telah lulus cek plagiat yang diadakan oleh UPT- Perpustakaan dan Penerbitan Universitas Muhammadiyah Makassar Menggunakan Aplikasi Turnitin.

Demikian surat keterangan ini diberikan kepada yang bersangkutan untuk dipergunakan seperlunya.

Makassar, 06 Februari 2025  
Mengetahui  
Kepala UPT- Perpustakaan dan Penerbitan,

  
Nursmah S. Hum, M.I.P  
NBM. 964 391

Jl. Sultan Alauddin no 259 makassar 90222  
Telepon (0411)866972,881 593,fax (0411)865 588  
Website: [www.library.unismuh.ac.id](http://www.library.unismuh.ac.id)  
E-mail : [perpustakaan@unismuh.ac.id](mailto:perpustakaan@unismuh.ac.id)

**Lampiran 11. Hasil Bebas Plagiat**



# BAB I Usra Thamrin -105131106120

## ORIGINALITY REPORT

**6%** SIMILARITY INDEX      **6%** INTERNET SOURCES      **4%** PUBLICATIONS      **%** STUDENT PAPERS

### PRIMARY SOURCES

1	<a href="http://digilibadmin.unismuh.ac.id">digilibadmin.unismuh.ac.id</a> Internet Source	3%
2	<a href="http://repositori.uin-alauddin.ac.id">repositori.uin-alauddin.ac.id</a> Internet Source	2%
3	<a href="http://www.coursehero.com">www.coursehero.com</a> Internet Source	1%
4	Mutia Sari, Azwin Apriandi, Made Suhandana. "UJI TOKSISITAS EKSTRAK DAUN BERUWAS LAUT (Scaevola taccada) DENGAN METODE BRINE SHRIMP LETHALITY TEST(BSLT)", Marinade, 2020 Publication	1%

Exclude quotes  Off      Exclude matches  Off  
Exclude bibliography  Off

BAB II Usra Thamrin  
-105131106120

by Tahap Tutup

Submission date: 06-Feb-2025 02:16PM (UTC+0700)  
Submission ID: 2581076700  
File name: SKRIPSI\_USRA\_THAMRIN\_BAB\_2.docx (430.22K)  
Word count: 3052  
Character count: 22450



## BAB II Usra Thamrin -105131106120

### ORIGINALITY REPORT

**3%** SIMILARITY INDEX      **3%** INTERNET SOURCES      **1%** PUBLICATIONS      **%** STUDENT PAPERS

#### PRIMARY SOURCES

<b>1</b>	eprints.umm.ac.id Internet Source	<b>1%</b>
<b>2</b>	text-id.123dok.com Internet Source	<b>1%</b>
<b>3</b>	de.scribd.com Internet Source	<b>1%</b>
<b>4</b>	eprints.unwahas.ac.id Internet Source	<b>&lt;1%</b>

Exclude quotes  Off

Exclude matches  Off

Exclude bibliography  Off

# BAB III UsraThamrin

-105131106120

by Tahap Tutup

**Submission date:** 06-Feb-2025 02:17PM (UTC+0700)  
**Submission ID:** 2581076946  
**File name:** SKRIPSI\_USRA\_THAMRIN\_BAB\_3.docx (35.56K)  
**Word count:** 1247  
**Character count:** 8658



BAB III Usra Thamrin -105131106120

ORIGINALITY REPORT

5%	5%	1%	%
SIMILARITY INDEX	INTERNET SOURCES	PUBLICATIONS	STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	jurnal.fkip.untad.ac.id Internet Source	2%
2	www.scribd.com Internet Source	1%
3	repository.ub.ac.id Internet Source	1%
4	www.researchgate.net Internet Source	1%

Exclude quotes  Off      Exclude matches  Off  
Exclude bibliography  Off



BAB IV Usra Thamrin  
-105131106120

by Tahap Tutup

**Submission date:** 06-Feb-2025 02:17PM (UTC+0700)  
**Submission ID:** 2581077129  
**File name:** SKRIPSI\_USRA\_THAMRIN\_BAB-4.docx (49.96K)  
**Word count:** 2566  
**Character count:** 17812

## BAB IV Usra Thamrin -105131106120

### ORIGINALITY REPORT

**2%** SIMILARITY INDEX  
**2%** INTERNET SOURCES  
**0%** PUBLICATIONS  
**%** STUDENT PAPERS

### PRIMARY SOURCES

1	<a href="http://eprints.unika.ac.id">eprints.unika.ac.id</a> Internet Source	<1%
2	<a href="http://rizkiekaxii.blogspot.com">rizkiekaxii.blogspot.com</a> Internet Source	<1%
3	<a href="http://123dok.com">123dok.com</a> Internet Source	<1%
4	<a href="http://repository.uinjkt.ac.id">repository.uinjkt.ac.id</a> Internet Source	<1%

Exclude quotes  Off  
Exclude bibliography  Off

Exclude matches  Off

BAB V Usra Thamrin  
-105131106120

by Tahap Tutup

**Submission date:** 06-Feb-2025 02:18PM (UTC+0700)  
**Submission ID:** 2581077372  
**File name:** SKRIPSI\_USRA\_THAMRIN\_BAB\_5.docx (43.76K)  
**Word count:** 2004  
**Character count:** 14194

BAB V Usra Thamrin -105131106120

ORIGINALITY REPORT

**2%** SIMILARITY INDEX      **2%** INTERNET SOURCES      **1%** PUBLICATIONS      **%** STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

**1** repository.up.ac.za Internet Source **1%**

**2** repository.up.ac.id Internet Source **<1%**

Exclude quotes  Off  
Exclude bibliography  Off

Exclude matches  Off

