

SKRIPSI

**EFEK FRAKSI ETIL ASETAT DAUN SEMANGGI
(*Marsilea crenata* Presl.) TERHADAP AKTIVITAS
LOKOMOTOR IKAN ZEBRA (*Danio rerio*) YANG
DIINDUKSI ROTENON**



FARLY AVINDA

**FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS AIRLANGGA
DEPARTEMEN ILMU KEFARMASIAN
SURABAYA**

2022

SKRIPSI

**EFEK FRAKSI ETIL ASETAT DAUN SEMANGGI
(*Marsilea crenata* Presl.) TERHADAP AKTIVITAS
LOKOMOTOR IKAN ZEBRA (*Danio rerio*) YANG
DIINDUKSI ROTENON**

FARLY AVINDA

**FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS AIRLANGGA
DEPARTEMEN ILMU KEFARMASIAN
SURABAYA
2022**

Lembar Pengesahan

**Efek Fraksi Etil Asetat Daun Semanggi (*Marsilea crenata*
Presl.) Terhadap Aktivitas Lokomotor Ikan Zebra (*Danio*
rerio) Yang Diinduksi Rotenon**

SKRIPSI

**Dibuat untuk memenuhi syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi pada
Fakultas Farmasi Universitas Airlangga
2022**

Oleh:

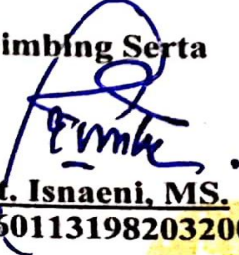
**Farly Avinda
NIM. 051811133027**

Skripsi ini telah disetujui pada tanggal 23 Agustus 2022 oleh:

Pembimbing Utama


Prof. Dr. apt. Mangestuti Agil, MS.
NIP. 195004221980022001

Pembimbing Serta


Dr. apt. Isnaeni, MS.
NIP. 195601131982032003

Pembimbing Serta


Dr. apt. Yudi Purnomo, M. Kes.
NPP. 205.02.00005

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Farly Avinda

NIM : 051811133027

adalah mahasiswa Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga, menyatakan dengan sesungguhnya bahwa Naskah Tugas Akhir/Skripsi yang saya tulis dengan judul:

Efek Fraksi Etil Asetat Daun Semanggi (*Marsilea crenata* Presl.) Terhadap Aktivitas Lokomotor Ikan Zebra (*Danio rerio*) Yang Diinduksi Rotenon

adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri. Apabila di kemudian hari diketahui bahwa isi Naskah Skripsi ini merupakan hasil plagiasi, maka saya bersedia menerima sanksi berupa pembatalan kelulusan dan atau pencabutan gelar yang saya peroleh.

Demikian surat pernyataan ini saya buat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Surabaya, 31 Juli 2022

Y
an,
TOL 20
METERA
TEMPEL
B0260AJX937771437
Farly Avinda

NIM 051811133027

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Farly Avinda

N I M : 051811133027

menyatakan bahwa demi kepentingan perkembangan ilmu pengetahuan,
saya menyetujui abstrak Skripsi yang saya tulis dengan judul:

Efek Fraksi Etil Asetat Daun Semanggi (*Marsilea crenata* Presl.)

**Terhadap Aktivitas Lokomotor Ikan Zebra (*Danio rerio*) Yang
Diinduksi Rotenon**

untuk dipublikasikan atau ditampilkan di internet atau media lain yaitu
Digital Library Perpustakaan Universitas Airlangga untuk kepentingan
akademik, sebatas sesuai dengan Undang-Undang Hak Cipta.

Demikian surat pernyataan ini saya buat untuk dapat dipergunakan
sebagaimana mestinya.

Surabaya, 31 Juli 2022

Yang membuat pernyataan,



Farly Avinda

NIM 051811133027

KATA PENGANTAR

Segala puji syukur Saya panjatkan atas kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan ridho-Nya sehingga Saya dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Efek Fraksi Etil Asetat Daun Semanggi (*Marsilea crenata* Presl.) Terhadap Aktivitas Lokomotor Ikan Zebra (*Danio rerio*) Yang Diinduksi Rotenon”** guna memenuhi syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga dengan baik dan lancar. Proses penyusunan skripsi ini juga tidak luput dari bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, Saya ingin menyampaikan rasa terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Prof. Dr. apt. Mangestuti Agil, MS., Dr. apt. Isnaeni, MS dan Dr. apt. Yudi Purnomo, M.Kes. selaku dosen pembimbing yang telah memberikan kesempatan Saya untuk melakukan penelitian ini serta atas dukungan, bimbingan, dan masukan yang membangun sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik.
2. Dr. apt. Wiwied Ekasari, M.Si dan apt. Suciati, S.Si., M.Phil., Ph.D selaku dosen penguji yang telah memberikan banyak masukan sehingga mempermudah dalam penyempurnaan naskah skripsi.
3. Prof. Dr. Mohammad Nasih, S.E., M.T., Ak., CA selaku rektor Universitas Airlangga atas segala kesempatan yang telah diberikan selama menjalani perkuliahan di Universitas Airlangga.
4. Prof. Junaidi Khotib, S.Si, M.Kes., Ph.D, Apt. Selaku dDekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga atas segala kesempatan yang telah diberikan selama menjalani perkuliahan di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.
5. Prof. Dr. apt. Suharjono, MS selaku dosen wali yang telah membantu dan membimbing Saya sebagai mahasiswa di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.
6. Ibu, Ayah dan Kakak perempuan Saya yang telah memberikan doa, membantu dalam hal finansial serta dukungan moril selama menjalani perkuliahan dan mengerjakan penelitian untuk skripsi sehingga semua kegiatan dapat berjalan dengan lancar.
7. Para civitas akademika Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Laboratorium Sentral Ilmu Hayati dan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Brawijaya, Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang, dan Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan UIN Malang yang telah banyak membantu dalam penelitian ini.

8. Nur Milenia Rosyadi selaku rekan tim Saya dalam melakukan penelitian uji aktivitas lokomotor yang banyak membantu dan saling bertukar pikiran mengenai penelitian ini.
 9. Rekan seperjuangan tim semanggi lokomotor lain yang turut membantu dalam memberikan pendapat sehingga penelitian dapat berjalan dengan baik.
 10. Teman-teman kelas C angkatan 2018 yang turut saling memberikan semangat dan dukungan dalam menjalani dunia perkuliahan selama 4 tahun ini.
 11. Semua pihak yang tidak bisa Saya sebutkan satu-persatu yang telah berkontribusi secara langsung dalam perkuliahan maupun menyelesaikan skripsi.
- Dengan demikian Saya ucapkan banyak terimakasih kepada semua pihak yang terlibat pada penelitian ini. Semoga skripsi ini bermanfaat untuk pengembangan penelitian selanjutnya.

.
Wassalamualaikum wr.wb.

Surabaya, 31 Juli 2022

Penulis

RINGKASAN

EFEK FRAKSI ETIL ASETAT DAUN SEMANGGI (*Marsilea crenata* Presl.) TERHADAP AKTIVITAS LOKOMOTOR IKAN ZEBRA (*Danio rerio*) YANG DIINDUKSI ROTENON

Farly Avinda

Defisiensi estrogen mempengaruhi homeostatis hormonal yang dapat berasosiasi penurunan fungsi neurologis sehingga meningkatkan risiko neurodegeneratif. Beberapa mekanisme pada sistem saraf pusat (SSP) mengalami gangguan seperti penurunan permeabilitas *blood brain barrier* (BBB), disfungsi mitokondria serta neuroinflamasi. Salah satu penyebab utama terjadinya neurodegeneratif yaitu neuroinflamasi. Neuroinflamasi yang berkepanjangan dapat menyebabkan kematian pada sel (nekrosis dan apoptosis) sebagai respon.

Tanaman semanggi air (*Marsilea crenata* Presl.) merupakan tanaman yang cukup terkenal di Provinsi Jawa Timur terutama di Surabaya. Daun semanggi banyak dikonsumsi sebagai lalapan oleh kebanyakan wanita yang sudah memasuki masa menopause dan para konsumen ini biasa memakannya secara turun temurun (Laswati & Maha, 2011). Melalui uji *radioimmunoassay* (RIA) telah dibuktikan bahwa pada daun *Marsilea crenata* Presl. memiliki konsentrasi *estrogen-like compound* yang cukup tinggi (Laswati, 2011). Golongan senyawa yang memiliki aktivitas mirip estrogen adalah senyawa fitoestrogen. Fitoestrogen memiliki aktivitas biologis yang mirip dengan hormon seks utama wanita, 17- β -estradiol (Gorzkiwicz *et al.*, 2021). Kesamaan struktural menyebabkan fitoestrogen dapat mengikat reseptor estrogen (ER) dan memberikan efek anti-estrogenik atau pro-estrogenik karena memiliki cincin fenolik yang memungkinkan untuk mengikat reseptor estrogen pada manusia. Stilbene, Coumestan, lignan, dan flavonoid, triterpenoid termasuk dalam golongan senyawa fitoestrogen.

Fraksi etil asetat daun semanggi (*Marsilea crenata* Presl.) mengandung senyawa flavonoid yang diduga memiliki aktivitas antineuroinflamasi dan mampu menghambat penurunan aktivitas lokomotor akibat paparan radikal bebas. Isoflavon merupakan golongan senyawa flavonoid yang memiliki konsentrasi paling tinggi dalam fitoestrogen. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk membuktikan pengaruh fraksi etil asetat daun semanggi (*Marsilea crenata* Presl.) sebagai agen antineuroinflamasi yang digambarkan oleh aktivitas lokomotor.

Objek penelitian adalah 50 ekor ikan zebra (*Danio rerio*) betina usia 4-5 bulan yang dipapar rotenon selama 28 hari sebagai induktor. Semua ikan dibagi menjadi lima kelompok: kelompok normal (tanpa perlakuan), kelompok kontrol perlakuan (5 ppb rotenon), terdapat tiga kelompok perlakuan dosis fraksi etil asetat yang berbeda yaitu 2,5 ppm (D1), 5 ppm (D2), dan 10 ppm (D3). Hasil data yang diperoleh dianalisis statistik menggunakan *one way* ANOVA dan dilanjutkan dengan uji LSD.

Berdasarkan perhitungan secara statistik menunjukkan bahwa kelompok normal dan kelompok kontrol perlakuan menunjukkan perbedaan yang bermakna pada kecepatan berenang ikan dan AUC. Rerata AUC $\pm$ SD aktivitas lokomotor masing-

masing kelompok adalah $45,09 \pm 1,63$ (normal), $30,00 \pm 1,36$ (kontrol perlakuan), $38,82 \pm 0,99$ (D1), $43,20 \pm 0,76$ (D2) dan $38,22 \pm 1,77$ (D3). Analisis secara statistik pada semua kelompok dosis menunjukkan perbedaan bermakna dengan kelompok kontrol perlakuan ($p < 0,05$) dalam menghambat penurunan aktivitas lokomotor ikan zebra namun antar kelompok dosis tidak terdapat perbedaan yang bermakna. Dosis 5 ppm memiliki rata-rata kecepatan berenang ikan zebra yang meningkat tiap minggunya dan nilai persentase penghambatan penurunan aktivitas lokomotor tertinggi dibandingkan dengan dosis lainnya..

ABSTRACT

Effects of Ethyl Acetate Fraction Clover Leaves (*Marsilea crenata* Presl.) Against Rotenon-Induced Zebra Fish (*Danio rerio*) Locomotor Activity

Farly Avinda

Estrogen deficiency increasing the risk of neurodegeneration caused by neuroinflammation. *Marsilea crenata* Presl. contains phytoestrogen compounds that have estrogen-like activity. Ethyl acetate fraction *Marsilea crenata* Presl. which thought to have phytoestrogen compounds. The aim of this study was to prove the effect of the ethyl acetate fraction *Marsilea crenata* Presl. as an antineuroinflammatory agent described by locomotor activity of zebrafish.

The object of the research was 50 female zebrafish (*Danio rerio*) aged 4-5 months which exposed to rotenone as an induction for 28 days. All fish divided into five groups: normal group (without treatment), treatment control (5 ppb rotenone), and three treatment groups with doses of ethyl acetate fraction, namely 2,5 ppm (D1), 5 ppm (D2), and 10 ppm (D3). The results of the data obtained were statistically analyzed using one way ANOVA and continued with LSD test.

Based on statistical analysis, it shown that normal and treatment control group showed significant differences in fish swimming speed and AUC. The mean AUC $\pm$ SD locomotor activity of each group was $45,09 \pm 1,63$ (normal), $30,00 \pm 1,36$ (treatment control), $38,82 \pm 0,99$ (D1), $43,20 \pm 0,76$ (D2) and $38,22 \pm 1,77$ (D3). Statistical analysis in all dose groups showed significant differences with treatment control group ($p < 0.05$) in inhibiting the decrease in zebrafish locomotor activity but between dose groups there was no significant difference. The 5 ppm dose had an average zebrafish's swimming speed that increased every week and the highest percentage of inhibition decreased locomotor activity compared to other doses.

Keywords : Locomotor activity, ethyl acetate fraction, *Marsilea crenata* Presl.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI.....	iv
SURAT PERNYATAAN UNTUK PUBLIKASI <i>ON LINE</i>	v
KATA PENGANTAR.....	vi
RINGKASAN.....	viii
ABSTRAK.....	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
DAFTAR SINGKATAN.....	xvii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	3
1.4. Manfaat Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Tinjauan Tentang Tanaman Semanggi (<i>Marsilea crenata</i> Presl.).....	5
2.1.1. Klasifikasi <i>Marsilea crenata</i> Presl.....	5
2.1.2. Habitat-Morfologi <i>Marsilea crenata</i> Presl.....	5
2.1.3. Kandungan <i>Marsilea crenata</i> Presl.....	6
2.1.4. Manfaat <i>Marsilea crenata</i> Presl.....	6
2.2. Tinjauan tentang Ekstraksi.....	6
2.2.1. Ekstrak dan Ekstraksi.....	6
2.2.2. Jenis-Jenis Metode Ekstraksi.....	6
2.2.2.1. Ekstraksi Menggunakan Pelarut.....	7
2.2.2.2. Distilasi Uap.....	9
2.2.2.3. Cara Ekstraksi Lainnya.....	9
2.3. Tinjauan tentang Pelarut.....	11
2.4. Tinjauan tentang Fraksinasi Cair-Cair.....	12

2.5. Tinjauan tentang Fitoestrogen.....	13
2.6. Tinjauan tentang Estrogen.....	14
2.7. Tinjauan tentang Reseptor Estrogen	16
2.8. Tinjauan tentang Neurodegeneratif.....	17
2.9. Tinjauan tentang Neuroinflamasi	18
2.10. Tinjauan tentang Rotenon.....	19
2.11. Tinjauan tentang Uji <i>In Vivo</i> Pada Ikan zebra	20
2.12. Tinjauan tentang Aktivitas Lokomotor Pada Ikan zebra	21

BAB III KERANGKA KONSEPTUAL

3.1. Landasan Teoritik.....	23
3.2. Skema Kerangka Konseptual.....	25
3.3. Hipotesis.....	26

BAB IV METODE PENELITIAN

4.1. Jenis dan Rancangan Penelitian	27
4.1.1. Jenis Penelitian.....	27
4.1.2. Rancangan Penelitian.....	27
4.2. Waktu dan Tempat Penelitian.....	27
4.3. Populasi dan Sampel.....	28
4.3.1. Populasi.....	28
4.3.2. Sampel.....	28
4.4. Variabel Penelitian.....	28
4.4.1. Variabel Bebas.....	28
4.4.2. Variabel Tergantung.....	28
4.4.3. Variabel Terkontrol.....	28
4.4.4. Definisi Operasional.....	28
4.5. Alat dan Bahan Penelitian.....	29
4.5.1. Alat.....	29
4.5.2. Bahan.....	29
4.6. Prosedur Penelitian.....	29
4.6.1. Penyiapan Bahan.....	29
4.6.2. Pembuatan Ekstrak Etanol 96%	29
4.6.3. Pembuatan Fraksi Etil Asetat	30
4.6.4. Uji Aktivitas Lokomotor Ikan zebra (<i>Danio rerio</i>) Fraksi Etil Asetat Daun <i>M. crenata</i> Presl. Untuk Mengetahui Aktivitas Anti Neuroinflamasi ..	31

4.7. Analisis Data.....	34
4.8. Kerangka Operasional.....	35
BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	
5.1. Hasil Penelitian.....	36
5.1.1. Penyiapan Bahan.....	36
5.1.2. Pembuatan Ekstrak Etanol 96%.....	36
5.1.3. Pembuatan Fraksi Etil Asetat	37
5.1.4. Aktivitas Lokomotor Ikan zebra (<i>Danio rerio</i>)	37
5.2. Pembahasan.....	40
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	
6.1. Kesimpulan.....	46
6.2. Saran.....	46
DAFTAR PUSTAKA	47
LAMPIRAN.....	55

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
II.1 Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi komponen bioaktif	11
V.1. Nilai Kadar Air Serbuk Simplisia Kering Daun Semanggi (<i>Marsilea crenata</i> Presl.)	36
V.2. Jumlah simplisia, ekstrak, dan rendemen ekstrak yang diperoleh pada proses ekstraksi	36
V.3. Jumlah ekstrak, fraksi, dan rendemen fraksi yang diperoleh pada proses fraksinasi	37
V.4. Rerata Aktivitas Lokomotor Ikan Zebra + SD Untuk Kelompok Normal, Kontrol Perlakuan, dan Perlakuan Dosis Yang Diinduksi Rotenon	37
V.5. Rerata AUC + SD Untuk Kelompok Normal, Kontrol Perlakuan, dan Perlakuan Dosis Pada Ikan Zebra Yang Diinduksi Rotenon	39

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Tanaman <i>Marsilea crenata</i> Presl	5
2.2 Struktur Kimia Golongan Senyawa Isoflavon	14
2.3 Mekanisme Signaling Reseptor Estrogen	16
2.4 Struktur Reseptor Estrogen ER α dan ER β	17
2.5 Ikan Zebra (<i>Danio rerio</i>)	20
3.1 Skema Kerangka Konsep	25
4.1 Perekaman dan Pembacaan Aktivitas Lokomotor	33
5.1 Grafik Rerata Aktivitas Lokomotor Fraksi Etil Asetat Pada Ikan Zebra Yang Diinduksi Rotenon	38
5.2 Histogram Rerata AUC (<i>Area Under Curve</i>) Aktivitas Lokomotor Pada Ikan Zebra Yang Diinduksi Rotenon	39
5.3 Perbedaan Pigmen Ikan Zebra (<i>Danio rerio</i>) Kelompok Kontrol Perlakuan	43

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1 Hasil Uji Analisis Statistik	56
2 Preparasi Larutan Rotenon dan Sampel Fraksi Etil Asetat Daun Semanggi (<i>Marsilea crenata</i> Presl.)	65
3 Surat Keterangan Determinasi Tanaman	68
4 Surat Keterangan Laik Etik	69
5 Proses Ekstraksi, Fraksinasi, dan Uji Aktivitas Lokomotor	70

DAFTAR SINGKATAN

BBB	: Blood Brain Barrier
AD	: Alzheimer's Disease
PD	: Parkinson Disease
ALS	: Amyotrophic Lateral Sclerosis
HRT	: Hormone Replace Therapy
GIT	: Gastrointestinal Tract
RIA	: Radioimmunoassay
ER	: Estrogen Receptor
NO	: Nitric Oxide
DNA	: Deoxyribo Nucleic Acid
ATP	: Adenosine Triphosphate
ROS	: Reactive Oxygen Species
DMSO	: Dimethyl Sufoxide
UV	: Ultraviolet
UAE	: Ultrasonic Assisted Extraction
EDC	: Endocrine Disrupting Chemicals
SSP	: Sistem Saraf Pusat
DA	: Dopamin