

PERBANDINGAN METODE EKSTRAKSI MASERASI DENGAN METODE REFLUKS TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN TOKSISITAS DARI DAUN MANGKOKAN *Nothopanax scutellarium Merr*

Dharma Yanti

Program Studi Farmasi (S1) STIKes Medistra Indonesia, medistra@stikesmi.ac.id, 085709252433

Abstrak

Pemilihan metoda ekstraksi penting untuk menghasilkan ekstrak dengan jumlah ekstrak dan mutu ekstrak yang maksimal. Oleh karena itu telah dilakukan penelitian tentang perbandingan metode ekstraksi maserasi dan refluks pada penetapan kadar aktivitas antioksidan dan toksisitas pada daun Mangkokan. Daun Mangkokan diekstraksi dengan dua metode yaitu maserasi dan refluks dengan menggunakan etanol. Ekstrak etanol yang dihasilkan dipartisi dengan menggunakan pelarut heksan, etil asetat, dan air. Hasil ekstrak partisi itu kemudian diuji aktivitas antioksidannya menggunakan metode DPPH dan diuji toksisitasnya dengan metode BSLT. Rendemen ekstraksi dengan metode maserasi selama 24 jam triplo menghasilkan ekstrak etanol 21,63%, sedangkan rendemen ekstraksi dengan metode refluks selama 3 jam triplo menghasilkan ekstrak etanol 12,55%. Aktivitas antioksidan (rata rata IC_{50}) ekstrak maserasi yang terdiri dari : fraksi etil asetat : fraksi heksan : fraksi air = 37,13 bpj : 181,53 bpj: 69,28 bpj. Aktivitas antioksidan (rata rata IC_{50}) ekstrak refluks yang terdiri dari : fraksi etil asetat : fraksi heksan : fraksi air = 58,33 bpj : 222,44 bpj: 78,36 bpj. Aktivitas toksisitas (rata rata LC_{50}) ekstrak dengan metoda maserasi yang terdiri dari : fraksi etil asetat : fraksi heksan : fraksi air = 1644,75 bpj : 5,91 bpj: 58,42 bpj. Aktivitas toksisitas (rata rata LC_{50}) ekstrak refluks yang terdiri dari : fraksi etil asetat : fraksi heksan : fraksi air = 2031,75 bpj : 6,25 bpj: 60,63 bpj. Kesimpulan fraksi heksan dengan metode refluks dan maserasi bersifat memiliki aktivitas toksisitas yang baik dan fraksi etil asetat dari kedua metoda ekstraksi memiliki aktivitas antioksidan yang baik. Penelitian ini menyimpulkan secara statistik bahwa kedua metode yaitu maserasi dan refluks menghasilkan kadar IC_{50} dan LC_{50} yang berbeda nyata, dimana metode maserasi menghasilkan ekstrak dengan aktivitas antioksidan dan toksisitas terhadap *Artemia salina* yang lebih baik daripada metode refluks. Hasil dari kromatogram KG-SM ekstrak etil asetat diperoleh senyawa yang bersifat sitotoksik yaitu Loliode dan Coniferyl alcohol.

Kata Kunci : Daun Mangkokan, antioksidan, toksisitas

Abstract

A study concerning the comparison of maceration and reflux extraction methods on the antioxidant activity assay and toxicity in leaves mangkokan. Mangkokan leaves extracted by two methods: maceration and reflux using ethanol. Ethanol extract partitioned using hexane, ethyl acetate, and water. The partitioned extracts were then tested their antioxidant activity using DPPH and their toxicity activity were tested with BSLT methode using *Artemia salina* L larva. The yield of extraction by maceration for 24 hours triplo produced ethanol extract of 21.63 %, while the yield of the extraction method triplo reflux for 3 hours resulted in 12.55 % ethanol extract. The best antioxidant activity obtained from the ethyl acetate fraction resulting from the maceration method with an average $IC_{50} = 37.13$ ppm, values antiosidan activity is classified as very active. While the ethyl acetate fraction resulting from the reflux method has an average $IC_{50} = 58.3349$ ppm, followed by the fraction of water by maceration method with an average $IC_{50} = 69.28$ ppm and water fractions with reflux method with an average $IC_{50} = 78.36$ ppm, IC_{50} values last three categorized active. Hexane fraction of maceration method has an average $IC_{50} = 181.53$ ppm, hexane fraction with reflux method has an average $IC_{50} = 222.44$ ppm . Both the hexane fraction has a weak antioxidant activity. Activity toxicity (LC_{50}) is best obtained from the hexane fraction produced by maceration method with an average $LC_{50} = 5.91$ ppm followed by hexane fraction produced by reflux method with an average $LC_{50} = 6.25$ ppm . Conclusion hexane fraction by the method of maceration reflux and is very active. The water fraction and water fraction maceration method with reflux method has $LC_{50} = 58.42$ ppm and 60.63 ppm , including both active. Fraction hexane by maceration method and reflux have $LC_{50} = 1644.75$ ppm and 2031.75 ppm, both including inactive. The study concluded that both methods were statistically the maceration and refluxing generate IC_{50} and LC_{50} levels were significantly different, which produces maceration method extracts with antioxidant activity and toxicity against *Artemia salina* better than the reflux method. From Ethyl Asetat Chromatogram GC-MS, substances were found as citotoksik, Loliode and Coniferyl alcohol.

Keywords: Mangkokan leaves, Antioxidant , Toxicity

PENDAHULUAN

Di antara tumbuhan obat yang belum banyak diteliti, khususnya di Indonesia adalah tumbuhan Mangkokan (*Nothopanax scutellarium* Merr). Daun Mangkokan mempunyai banyak kegunaan, yaitu sebagai tanaman hias, tanaman pagar, sayuran baik mentah maupun matang dan obat. Sebagai obat, daunnya berkhasiat untuk penyembuhan luka bernanah, pembengkakan payudara (antiinflamasi), pencegah rambut rontok, obat borok atau bisul, penghilang bau keringat yang tidak sedap dan peluruh air seni.[1,2]

Daun mangkokan mengandung kalsium oksalat, enzim peroksidase, amigdalin, fospor, besi, lemak, protein, serta vitamin A, B1, C,[3] alkaloida, saponin, triterpenoid, dan flavonoida.[4] Jenis flavonoida yang terkandung di dalam daun mangkokan adalah flavonol seperti kuersetin, kaemferol dan mirisetin dan flavone seperti luteolin dan apigenin.[5]

Daun Mangkokan mengandung senyawa golongan flavonoida, senyawa flavonoida merupakan senyawa polifenol yang mempunyai sifat antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas, sehingga radikal bebas tersebut dapat diredam dan tidak merusak tubuh. Untuk mengetahui apakah daun Mangkokan memiliki kemampuan toksik terhadap sel maka di lakukan uji toksisitas dengan larva udang *Artemia Salina* L sebagai bioindikator (BSLT). Kedua parameter ini biasanya di lakukan sebagai uji pendahuluan pada ekstrak tanaman, sebelum dilakukan bioessay untuk khasiat yang lain.

Mengingat besarnya potensi daun Mangkokan, maka perlu dilakukan penelitian tentang metode ekstraksi yang paling tepat untuk mendapatkan ekstrak yang maksimal secara kuantitatif dan kualitatif.

Ekstraksi adalah salah satu metode persiapan simplisia, agar simplisia itu dapat di manfaatkan secara maksimal dan dapat dengan mudah dijadikan dalam bentuk

sediaan. Secara garis besar ekstraksi dibagi menjadi dua, yaitu ekstraksi menggunakan suhu tinggi dan waktu yang singkat misalnya refluks, infundasi dan ekstraksi yang menggunakan suhu kamar tetapi dalam jangka waktu yang lebih lama misalnya maserasi dan perkolasi.

Metode ekstraksi maserasi ialah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan pada suhu kamar selama 24 jam. Sedangkan metode ekstraksi refluks ialah ekstraksi dengan pelarut pada titik didihnya selama 3 jam dan jumlah pelarut terbatas.[6]

Alasan pemilihan metode ekstraksi maserasi dan refluks karena mempunyai banyak keuntungan dibandingkan dengan metode ekstraksi lainnya. Keuntungan utama metode ekstraksi maserasi yaitu prosedur dan peralatan yang digunakan sederhana, metode ekstraksi maserasi tidak dipanaskan sehingga bahan alam tidak menjadi terurai. Ekstraksi dingin memungkinkan banyak senyawa terekstraksi, meskipun beberapa senyawa memiliki kelarutan terbatas dalam pelarut ekstraksi pada suhu kamar. Sedangkan metode ekstraksi cara panas, refluks, merupakan metode ekstraksi terbaik untuk memperoleh hasil ekstrak yang banyak dan juga pelarut yang di gunakan lebih sedikit (efisiensi bahan pelarut) waktu yang digunakan lebih cepat.[7]

Di zaman yang menginginkan semua hal berlangsung cepat, efisien, seringkali peneliti mengharapkan adanya metode ekstraksi yang cepat dengan ekstrak yang dihasilkan lebih baik secara kuantitatif dan kualitatif. Berdasarkan hal tersebut peneliti tertarik untuk membandingkan hasil ekstrak yang dilakukan secara maserasi dan refluks terhadap aktivitas antioksidan dan toksisitas dengan menggunakan daun Mangkokan sebagai sampel.

METODE PENELITIAN

A. Prinsip Penelitian

Metodologi penelitian meliputi pengumpulan dan preparasi simplisia,

simplisia di ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi dan refluks, masing masing menggunakan berat dan volum pelarut yang sama. Hasil ekstrak yang diperoleh dari maserasi dan refluks dikeringkan dengan rotary evaporator pada suhu 45⁰C kemudian lebih lanjut dipanaskan di tangas air pada suhu 70⁰C. Ekstrak etanol yang diperoleh dipartisi, mula mula dengan pelarut heksan-air dan dilanjutkan dengan air-etil asetat, sehingga didapat ekstrak air, heksan, etil asetat baik dari ekstrak etanol refluks maupun dari ekstrak etanol maserasi.

Enam ekstraksi yang diperoleh dikeringkan dengan rotary evaporator pada suhu 45⁰C kemudian lebih lanjut dipanaskan di tangas air pada suhu 70⁰C. Enam ekstraksi yang kering diuji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH, diuji aktivitas toksisitas terhadap *Artemia salina* dengan metode BSLT dan diuji secara kualitatif dengan fitokimia dan KLT. Data yang diperoleh di perbandingkan secara statistik. Ekstrak dengan aktivitas antioksidan terbaik dan ekstrak dengan aktivitas toksisitas terhadap *Artemia salina* L terbaik di analisis dengan KG-SM untuk mengetahui zat terkandung di dalam ekstrak tersebut.

D. CARA KERJA :

Preparasi Sampel :

1. Pembuatan Simplisia Kering

Daun Mangkokan yang digunakan pada penelitian ini dikumpulkan di rumah penduduk sekitar LIPI Cibinong sebanyak 5 kg berupa daun segar. Selanjutnya dilakukan sortasi untuk dipisahkan dari kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing sehingga dapat mengurangi jumlah pengotor yang ikut terbawa dalam bahan uji kemudian dikeringanginkan hingga kering. Simplisia yang telah kering disortasi kembali dari kotoran-kotoran yang tertinggal. Simplisia yang telah disortir dihaluskan dengan blender lalu diayak dengan ayakan B30 hingga didapat 800 gram serbuk simplisia kemudian serbuk simplisia disimpan dalam wadah bersih, kering dan terlindung dari cahaya. Sampel yang diteliti adalah daun Mangkokan. Daun Mangkokan dikeringkan di udara terbuka, lalu

dihaluskan sampai diperoleh serbuk sebanyak 800 gram.

a. Maserasi

Simplisia serbuk dibagi dua bagian, 400 gram untuk maserasi dan 400 gram untuk refluks. Simplisia untuk maserasi dibagi 4 menjadi 100 gram per bagian, kemudian diletakan ke dalam 4 toples kaca ditambah etanol 75 % sebanyak 750 ml dan didiamkan selama 24 jam pada suhu kamar. Maserasi dilakukan triplo untuk tiap 100 gram. Hasil maserasi disaring dan filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan penguap putar vakum pada suhu lebih kurang 45⁰C, sehingga diperoleh ekstrak etanol dan ampas. Ekstrak etanol difraksinasi 3 bagian, satu bagian di ekstrak tiga kali dengan hexan, satu bagian di ekstrak tiga kalidengan etil asetat dan satu bagian lagi di ekstrak tiga kali dengan air, sehingga di dapat ekstrak hexan, ekstrak air dan ekstrak etil asetat kemudian dipekatkan dengan rotary evaporator.

b. Refluks

Karena terbatasnya wadah refluks, maka dilakukan 4 kali refluks dengan menggunakan 100 gram serbuk simplisia dan 750 ml etanol teknis. Proses refluks dilakukan selama 3 jam pada suhu 100 ⁰C. Refluks dilakukan triplo untuk tiap 100 gram. Hasil refluks disaring dan filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan penguap putar vakum pada suhu lebih kurang 45⁰C, sehingga diperoleh ekstrak etanol dan ampas. Ekstrak etanol difraksinasi 3 bagian, satu bagian di ekstrak tiga kali dengan hexan, satu bagian di ekstrak tiga kali dengan etil asetat dan satu bagian lagi di ekstrak tiga kali dengan air, sehingga di dapat ekstrak hexan, ekstrak air dan ekstrak etil asetat kemudian dipekatkan dengan rotary evaporator.

4. Pengujian Parameter Ekstrak

a. Organoleptik

Tujuannya pengenalan awal yang sederhana seobyektif mungkin. Parameter organoleptik ekstrak adalah penggunaan panca indera mendeskripsikan bentuk dan warna.

b. Persentase Rendemen

Hasil rendemen ekstrak etanol daun mangkokaan dihitung dengan rumus :

$$\% \text{Rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak yang didapat}}{\text{bobot simplisia kering yang diekstraksi}} \times 100\%$$

c. Penetapan Kadar Air

Tujuannya yaitu memberikan batasan minimal atau rentang besaran kandungan air di dalam bahan. Cara kerja menggunakan metode gravimetri yaitu sejumlah ekstrak ditimbang seksama dalam wadah yang telah ditara. Kemudian ekstrak dipanaskan pada suhu 105 °C selama 5 jam dan ditimbang. Pengeringan dilanjutkan dan ditimbang setelah 1 jam sampai perbedaan antara 2 penimbangan berturut turut tidak lebih dari 0,25 %. Penetapan kadar air tidak lebih dari 12%.

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{\text{berat awal} - \text{berat akhir}}{\text{berat awal}} \times 100\%$$

d. Penetapan Kadar Abu Total

Tujuannya yaitu memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuk ekstrak. Sejumlah ekstrak dengan seksama ke dalam krus yang telah ditara, dipijarkan perlahan-lahan hingga arang habis, diinginkan dan timbang. Jika dengan cara ini arang tidak dapat dihilangkan, tambahkan air panas, aduk, saring melalui kertas saring bebas abu. Kertas saring beserta sisa penyaringan dipijarkan dalam krus yang sama. Filtrat di masukkan ke dalam krus, uapkan dan pijarkan sehingga bobot tetap, timbang. Kadar abu total dihitung terhadap berat bahan uji. Kadar abu total tidak lebih dari 1 %.

$$\text{Kadar abu total} = \frac{\text{Berat abu}}{\text{Berat sampel}} \times 100 \%$$

e. Penetapan Kadar Abu Tidak Larut Asam

Abu yang diperoleh pada penetapan kadar abu, dididihkan dengan 25 ml H₂SO₄ encer P selama 5 menit, kumpulkan bagian yang tidak larut dalam asam, saring melalui krus kaca masir atau kertas saring bebas abu, cuci dengan air panas, pijarkan hingga bobot tetap, timbang. Hitung kadar abu yang tidak larut dalam asam terhadap bahan yang telah

dikeringkan di udara. Kadar abu tidak larut asam tidak lebih dari 0,5%.(11)

$$\text{Kadar Abu Tidak Larut Asam} = \frac{\text{Berat abu}}{\text{Berat sampel}} \times 100 \%$$

5. Penapisan Fitokimia (Kualitatif)

Uji penapisan fitokimia bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa yang terdapat pada ke tiga jenis fraksi daun Mangkokaan baik dari maserasi maupun refluks.

a. Uji Fenolik

Sebanyak 0,5 gram ekstrak aktif didalam gelas kimia ditambahkan ke dalam larutan sampel beberapa tetes larutan besi (III) klorida 1%. Jika terdapat senyawa kelompok fenol akan ditandai dengan munculnya warna hijau, merah, ungu atau hitam.

b. Uji Flavonoid

Satu gram sampel diekstraksi dengan 5 ml etanol kemudian tambahkan beberapa tetes HCl pekat dan 1,5 gram logam magnesium. Adanya flavonoid, diindikasikan dari terbentuknya warna pink atau merah magenta dalam waktu 3 menit.

c. Uji Saponin

Kurang lebih 2 gram serbuk sampel dilarutkan dengan 20 ml aquadest, lalu dididihkan menggunakan penangas air, kemudian saring menggunakan kertas saring. Campurkan 10 ml filtrat dengan 5 ml aquadest dan kocok hingga terbentuk busa stabil. Tambahkan olive oil dan kocok dengan keras, adanya saponin ditandai dengan terbentuknya emulsi yang stabil.

d. Uji Steroid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak aktif didalam gelas kimia ditambahkan asam asetat anhidrat 2 ml. Kemudian tambahkan 2 ml asam sulfat pekat. Adanya steroid ditandai dengan perubahan warna dari violet menjadi biru atau hijau .

e. Uji Terpenoid

Sebanyak 2 gram ekstrak dicampur dengan 2 ml kloroform. Kemudian tambahkan dengan hati-hati 3 ml asam sulfat pekat. Terbentuknya

warna coklat kemerahan pada permukaan dalam larutan, menunjukkan adanya terpenoid f. Uji Alkaloid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak aktif ditambah 5 ml HCl 10% kemudian dikocok dan ditambah 5 ml larutan amoniak 10%. Diekstraksi dengan kloroform dan diuapkan. Residu yang terbentuk ditambah 1,5 ml HCl 2% dan dibagi dalam dua tabung. Tabung pertama di tambah 2-3 tetes pereaksi Mayer. Jika terbentuk endapan putih kekuningan menunjukkan adanya alkaloid. Tabung kedua ditambah 2-3 tetes pereaksi Dragendorff, jika terbentuk endapan merah bata menunjukkan adanya alkaloid.

g. Uji Kuinon

Serbuk simplisia sebanyak 1 gram ditambahkan air 50 ml, lalu dipanaskan sampai mendidih. Larutan tersebut disaring dan filtrat ditampung dalam Erlenmeyer kemudian dinginkan. Kemudian ambil 5 ml filtrat ditambah beberapa tetes NaOH 1N terbentuk warna merah. [25]

6. Uji Toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethal Toxicity* (BSLT)

a. Penetasan Telur *Artemia salina*. L

Telur *Artemia salina*. L ditimbang kurang lebih 50 mg dan dimasukkan ke dalam gelas piala yang berisi 500 ml air laut yang sudah disaring kemudian dipasang aerator. Biarkan selama 48 jam dengan pencahayaan lampu TL agar menetas sempurna. Larva yang sudah menetas dipipet ke dalam botol percobaan dan diberi ekstrak sesuai perlakuan.

b. Persiapan Sampel

Pembuatan larutan ekstrak 2000 ppm : sebanyak 40 mg ekstrak ditimbang kemudian dilarutkan dalam 20 ml air laut. Untuk ekstrak yang sukar larut, dapat ditambahkan DMSO 1 % (5 tetes) untuk meningkatkan kelarutan . Konsentrasi 200 ppm dibuat dengan memipet 2 ml larutan konsentrasi 2000 ppm dan ditambahkan air laut sampai 20 ml. Konsentrasi 20 ppm dibuat dengan memipet 2 ml larutan konsentrasi 200 ppm ditambahkan air laut sampai 20 ml. Larutan sampel 1000

ppm dibuat dengan cara memipet 5 ml larutan ekstrak 2000 ppm dan ditambahkan air laut 5ml. Konsentrasi 100 ppm dibuat dengan cara memipet larutan ekstrak 200 ppm sebanyak 5 ml dan ditambahkan air laut 5 ml. Larutan sampel 10 ppm dibuat dengan cara memasukkan 5ml larutan ekstrak 20 ppm dan ditambahkan 5 ml air laut.

c. Uji Bioaktivitas

Uji bioaktivitas dilakukan dengan memasukkan 15 ekor larva udang *Artemia salina*. L yang berumur 48 jam ke dalam botol yang telah berisi larutan ekstrak dan air laut. Untuk setiap konsentrasi dilakukan 3 kali ulangan (triplo). Sebagai kontrol adalah air laut yang tidak diberi ekstrak sampel. Botol percobaan di simpan dibawah pencahayaan lampu TL. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam. Jumlah larva udang yang mati dicatat kemudian dihitung persentase kematiannya. Data yang diperoleh diolah dengan metode probit analisis secara komputerisasi menggunakan SPSS 14 untuk menentukan nilai LC_{50} (*Lethal Concentration* 50) yaitu dosis tunggal suatu zat yang secara statistik dapat membunuh 50 % hewan uji. Suatu ekstrak dikatakan toksik jika $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/ml}$. [15]

7. Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

a. Pembuatan Larutan DPPH 0,4 mM

Sebanyak 7,9 mg DPPH (Mr 394,32) ditimbang, kemudian dilarutkan dengan methanol pro analisis sehingga 50 ml. ditempatkan dalam botol gelap. Untuk setiap pengujian larutan dibuat baru.

b. Pembuatan Larutan Blanko

Sebanyak 1ml larutan DPPH 0,4 mM dipipet ke dalam tabung reaksi yang telah ditara 5ml, kemudian ditambahkan methanol pro analisis sehingga tanda dan dihomogenkan. Mulut tabung dan tabung ditutup dengan aluminium foil.

c. Pembuatan Larutan Uji

Sebanyak 5 mg ekstrak ditimbang kemudian dilarutkan kedalam 10 ml metanol pro analisis (500 bpj), larutan ini merupakan larutan induk.

Sebanyak 50, 100, 250, 500 dan 1000 µL larutan induk di pipet ke dalam reaksi yang telah ditara 5,0 ml untuk mendapatkan konsentrasi 5, 10, 25, 50 dan 100 µg/mL. Methanol pro analisis ditambahkan ke dalam masing masing tabung sampai dengan 5,0 ml, kemudian dihomogenkan. Mulut tabung dan tabung ditutup dengan aluminium foil.

d. Pembuatan Larutan Vitamin C sebagai Kontrol Positif

Sebanyak 3 mg vitamin C ditimbang kemudian dilarutkan dengan methanol pro analisis sampai 10 ml. Volume sebanyak 50, 100, 150, 200, 250 µL dimasukkan ke tabung reaksi terukur 5 ml yang telah ditambahkan 1ml 0,4 mM, kemudian ditambahkan methanol pro analisis sampai tanda 5 ml sehingga di peroleh konsentrasi 3,6,9,12,15 µg/mL.

e. Pengukuran Serapan Peredaman Radikal Bebas DPPH

Larutan uji dengan beberapa konsentrasi diinkubasi dalam penangas air 37⁰C selama 30 menit. Serapan larutan diukur pada panjang gelombang serapan maksimum 517 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

f. Cara Perhitungan

Persentase inhibisi dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Inhibisi} = \frac{\text{Serapan blangko} - \text{Serapan sampel}}{\text{Serapan blangko}} \times 100\%$$

Nilai IC₅₀ (Inhibition Concentration 50) adalah konsentrasi antioksidan (bpj) yang mampu menghambat 50% radikal bebas. Nilai diperoleh dari perpotongan garis antara 50 % daya hambatan dengan sumbu konsentrasi, kemudian dimasukkan ke dalam persamaan Y = a + bx dimana Y= 50 dan nilai X menunjukkan IC₅₀. Ekstrak dinyatakan aktif jika nilai IC₅₀ kurang dari 100 µg/mL.(14)

9. Analisis dengan Kromatografi Gas-Spektrometer Massa

Identifikasi metabolit sekunder dari ekstrak yang memiliki aktivitas antioksidan terbaik dan ekstrak yang memiliki aktivitas toksisitas terhadap Artemia salina dilakukan dengan

menginterpretasikan data-data kromatogram KG-SM.

Isolat murni diidentifikasi dengan spektrometer massa untuk mengetahui waktu retensi dan bobot molekul serta pola fragmentasi dari senyawa hasil uji antioksidan. Kromatogram yang diperoleh dari hasil analisis berupa alur tinggi peak, yang kemudian spektrum analisis dibandingkan dengan data NIST dan Wiley Library.

C. Metode Statistik.

1. Metode Statistik Referral

Metode statistik referral adalah metode statistik yang menunjukkan bahwa jenis data tersebut normal atau tidak normal, homogen atau tidak homogen, independen atau tidak sehingga dari hasil uji tersebut mengarahkan ke uji statistik tertentu. Metode statistik referral yang digunakan adalah uji normalitas Kolmogorov-Smirnov, uji homogenitas variansi, uji independens Chi Square.

a. Uji Normalitas Kolmogorov-Smirnov

Uji normalitas dilakukan untuk mengetahui apakah data terdistribusi normal atau tidak.

Tabel 1. Tabel Uji Normalitas Kolmogorov-Smirnov

No	Xi	Z	F _T	F _S
1				
2				
3				

Keterangan :

Xi = Angka pada data

$$Z = \frac{Xi - X}{SD}$$

F_T = Probabilitas kumulatif normal

F_S = Probabilitas kumulatif empiris

Signifikansi uji : nilai terbesar dari dibandingkan dengan nilai tabel Kolmogorov-Smirnov, H₀ diterima jika nilai terbesar dari < nilai tabel Kolmogorov-Smirnov. H₀ ditolak dan H₁ diterima jika nilai terbesar dari > nilai tabel Kolmogorov-Smirnov. H₀ diterima artinya data terdistribusi normal. H₁ diterima artinya data tidak terdistribusi normal.

b. Uji Homogenitas Variansi

Uji homogenitas adalah pengujian mengenai sama tidaknya variansi dua buah distribusi data atau lebih. Rumus untuk mencari variansi X dan Y :

$$Sx^2 = \sqrt{\frac{n\sum x^2 - (\sum x)^2}{n(n-1)}} \quad Sy^2 = \sqrt{\frac{n\sum y^2 - (\sum y)^2}{n(n-1)}}$$

Rumus untuk mendapatkan F hitung dengan variansi X dan Y, untuk diperbandingkan dengan F tabel :

$$F = \frac{s \text{ terbesar}}{s \text{ terkecil}}$$

Harga F tabel pada $\alpha=0,05$, derajat pembilang = n-1, derajat penyebut = n-1

H_0 = data homogen jika F hitung \leq F tabel,

H_1 = data tak homogen, jika F hitung $>$ F tabel

2. Metode Statistik Pembeding

Metode statistik yang digunakan pada penelitian ini adalah uji T independens dengan variansi yang sama.

Uji T independens

Uji T adalah uji parametrik yang membandingkan dua kelompok data. Uji T yang di ketahui adalah uji T berpasangan dan uji independens, untuk menentukan menggunakan uji berpasangan atau independens adalah data harus diuji dulu dengan uji independens. Jika data independens maka digunakan uji T independens jika data tak independens maka digunakan uji T berpasangan. Uji T independens terdiri dari uji T independens dengan variansi yang sama dan uji T independens dengan variansi yang berbeda. Uji F untuk membedakan variansi yang sama atau tidak diperlukan untuk mengetahui uji T independens dengan varian yang sama atau uji T independens dengan varian yang berbeda yang diperlukan. Penelitian ini hanya menggunakan uji T independens dengan variansi yang sama. Rumus :

$$T = \frac{X_1 - X_2}{\sqrt{\frac{(n_1-1)s_1^2 + (n_2-1)s_2^2}{n_1+n_2-2} \left[\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right]}}$$

X = nilai rata rata kelompok 1

S_2 = standar deviasi kuadrat

n = jumlah data

H_0 = data 1 dan data 2 sama jika T hitung \leq T tabel

H_1 = ada perbedaan yang nyata dari data 1 dan data 2 jika T hitung $>$ T tabel .

Rumus untuk menguji variansi :

$$F = \frac{S^2}{s^2}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi Tanaman

Tanaman dideterminasi di Herbarium Bogoriense, Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi, LIPI, Cibinong. Hasil determinasi menyatakan bahwa tanaman yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah *Nothopanax scutellarium* Merr, suku Araliaceae.

B. Hasil Ekstraksi

1. Hasil Organoleptik Ekstrak

Organoleptik ekstrak bertujuan sebagai pengenalan awal yang sederhana menggunakan panca indra dengan mendeskripsikan bentuk, warna, bau dan rasa. Hasil organoleptik dapat dilihat pada Tabel 2

Tabel 2. Organoleptik Ekstrak Daun Mangkogan

No	Organoleptik	Keterangan	
		Hasil Maserasi	Hasil Refluks
1	Bentuk	Kental	Kental
2	Bau	Khas daun mangkogan	Khas daun mangkogan
3	Warna	Coklat Tua	Coklat Tua

2. Hasil Rendemen

Nilai rendemen menunjukkan keefektifan proses ekstraksi. Efektifitas proses ekstraksi dipengaruhi oleh jenis pelarut yang digunakan sebagai penyari, ukuran partikel simplisia,

metode dan lamanya ekstraksi. Hasil rendemen dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Rendemen Ekstrak

No	Simplisia serbuk yang di ekstraksi (volume pelarut 750 ml 3x)	Bobot ekstrak maserasi (g)	Rendemen maserasi (%)	Bobot ekstrak refluks (g)	Rendemen refluks (%)
1	100 gram	22,01	22,01	12,67	12,67
2	100 gram	21,55	21,55	12,98	12,98
3	100 gram	21,28	21,28	12,60	12,60
4	100 gram	21,68	21,68	11,98	11,98
	Jumlah	86,52	86,52	50,23	50,23
	Rata rata	21,63	21,63	12,55	12,55

Adapun tingginya rata rata rendemen dari metode maserasi dibandingkan dengan metode refluks disebabkan cukupnya waktu kontak yang diperlukan untuk melarutkan zat aktif dari simplisia dan mungkin suhu kamar lebih cocok untuk melarutkan zat aktif daripada suhu tinggi.

3. Hasil Kadar Air

Tujuannya yaitu untuk memberikan batasan minimal atau rentang tentang besarnya kandungan air didalam bahan. Kadar air merupakan salah satu parameter penting yang menentukan daya tahan produk pangan dan terkait dengan aktivitas mikroorganisme selama penyimpanan. Kadar air yang terlalu tinggi dapat mengakibatkan rendahnya konsentrasi zat aktif. Hasil kadar air dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Kadar Air

Ekstrak	Berat cawan kosong	Berat cawan + ekstrak sebelum dipanaskan	Berat cawan + ekstrak sebelum dipanaskan	Kadar air (%)
Maserasi	35,55 gram	36,86 gram	36,72 gram	4,22
Refluks	36,47 gram	38,94 gram	38,83 gram	4,45

4. Hasil Kadar Abu Total

Pada tahap ini ekstrak dipanaskan pada suhu 625 °C hingga senyawa organik serta turunannya

terdestruksi dan menguap sampai tinggal unsur mineral dan anorganik saja. Abu adalah zat anorganik sisa hasil pembakaran suatu bahan organik. Penentuan kadar abu total bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak.

Tabel 5. Hasil Kadar Abu Total

Hasil Ekstrak	Berat cawan kosong (g)	Berat sampel (g)	Berat cawan + ekstrak setelah dipijar (g)	Berat Abu (g)	% Kadar Abu Total
Maserasi	24,8643	1,0000	24,9155	0,0512	5,12
Refluks	24,3649	1,0015	24,4013	0,0364	3,63

Kadar abu hasil ekstraksi maserasi jauh lebih tinggi dibandingkan dari refluks dikarenakan kontak pelarut dengan simplisia maserasi lebih lama dibandingkan refluks. Sehingga lebih banyak senyawa yang terlarut pada metode maserasi termasuk zat anorganik. Kadar abu menunjukkan oksida logam dan mineral yang terdapat dalam bahan tersebut. Abu yang terbentuk merupakan oksida-oksida logam atau yang terbakar.

5. Kadar Abu Tidak Larut Asam

Hasil kadar abu tidak larut asam menunjukkan bahwa unsur anorganik yang tidak larut dalam ekstraksi maserasi sebesar 0,21% dan ekstraksi refluks sebesar 0,169 %. Adanya kandungan abu tidak larut asam yang rendah baik pada hasil ekstraksi maserasi atau refluks menunjukkan adanya pasir atau kotoran lain dalam kadar rendah.

Tabel 6. Hasil Kadar Abu Tidak Larut Asam

Hasil Ekstrak	Berat cawan kosong (g)	Berat sampel (g)	Berat cawan + ekstrak setelah dipijar (g)	Berat Abu (g)	% Kadar Abu Total
Maserasi	41,3934	1,0000	41,3955	0,0021	0,21
Refluks	33,2385	1,0015	33,2402	0,0017	0,169

6. Hasil Berat Ekstrak Partisi

Ekstrak maserasi dan ekstrak refluks kemudian di partisi, mula mula dengan heksan-air dengan menggunakan corong pemisah, kemudian air residu di ekstraksi dengan etil asetat. Akhirnya didapatkan ekstrak heksan, etil asetat, air dari ekstrak maserasi dan ekstrak heksan, etil asetat, air dari ekstrak refluks. Berat masing masing

ekstrak yang didapatkan dapat dilihat dari tinggi berat ekstraksi air baik dari metode maserasi dan metode refluks dibandingkan ekstrak partisi heksan dan etil asetat adalah karena banyaknya senyawa polar yang terkandung dari ekstrak etanol awal, hal ini didukung oleh hasil uji fitokimia dimana ekstrak air mengandung jenis senyawa yang lebih banyak yaitu fenolik, flavanoid, saponin, quinon dan alkaloida. Sedikitnya berat ekstrak partisi heksan baik dari metode maserasi pada metode refluks karena bahan pelarut pengekstrak awal yang digunakan adalah etanol yang lebih mampu melarutkan senyawa polar daripada nonpolar.

Tabel 7. Berat Ekstrak Partisi

Pelarut	Maserasi			Refluks		
	Botol kosong (g)	Botol + isi (g)	Ekstrak (g)	Botol kosong (g)	Botol + isi (g)	Ekstrak (g)
Heksan	149,54	154,34	4,80	150,18	152,54	2,36
Etil Asetat	144,42	151,00	6,58	129,70	124,82	4,88
Air	140,54	213,52	72,98	145,74	187,00	41,26

hasil uji fitokimia hanya dua jenis senyawa yang terkandung dalam ekstrak heksan yaitu steroid dan terpenoid.

C. Hasil Uji Fitokimia

Uji fitokimia merupakan metode pendekatan yang dapat digunakan untuk mengungkapkan keberadaan senyawa-senyawa metabolit sekunder dari tumbuh tumbuhan. Uji fitokimia yang dilakukan yaitu uji fenolik, flavanoida, saponin, steroid, terpenoid, quinon dan alkaloid. Hasil uji fitokimia dapat dilihat pada tabel 8.

Baik ekstrak partisi refluks maupun ekstrak partisi maserasi menghasilkan uji fitokimia yang sama. Ekstrak heksan mengandung senyawa nonpolar yang berasal dari steroid

dan terpenoid. Ekstrak etil asetat yang bersifat semi polar mampu menarik senyawa steroid, yang bersifat nonpolar dan alkaloid, fenolik, flavanoid, quinon yang bersifat polar. Ekstrak air mengandung alkaloid, fenolik, flavanoid, quinon dan saponin

Tabel 8. Hasil Uji Fitokimia.

Sampel	Fenolik	Flavanoid	Saponin	Steroid	Terpenoid	Alkaloid	Quinon
Reflux							
Ekstrak air	+	+	+	-	-	+	+
Ekstrak etil asetat	+	+	-	+	-	+	+
Ekstrak heksan	-	-	-	+	+	-	-
Maserasi							
Ekstrak air	+	+	+	-	-	+	+
Ekstrak etil asetat	+	+	-	+	-	+	+
Ekstrak heksan	-	-	-	+	+	-	-

E. Hasil Uji Antioksidan

Aktivitas antioksidan diuji secara peredaman radikal bebas DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazil) dibandingkan dengan salah satu standar antioksidan yang sudah diketahui, yaitu vitamin C. Hasil uji aktivitas antioksidan dinyatakan sebagai IC_{50} .

Kadar antioksidan dari ekstrak partisi maserasi lebih baik daripada ekstrak partisi refluks. Kadar antioksidan terbaik didapat dari fraksi maserasi etil asetat dengan rata rata $IC_{50} = 37,13$ bpj sedangkan refluks etil asetat memiliki rata rata $IC_{50} = 58,33$ bpj, disusul fraksi air maserasi dengan rata rata $IC_{50} = 69,28$ bpj dan fraksi air refluks dengan rata rata $IC_{50} = 78,36$ bpj dan terakhir fraksi heksan dari maserasi memiliki rata rata $IC_{50} = 181,53$ bpj, fraksi refluks heksan memiliki rata rata $IC_{50} = 222,44$ bpj. Nilai IC_{50} yang memadai pada ekstrak air dan etil asetat diduga karena pada keduanya terkandung senyawa fenolik dan flavonoida.

Hasil percobaan dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Hasil Uji Antioksidan

Sampel	IC ₅₀ Percobaan I (bpj)	IC ₅₀ Percobaan II (bpj)	IC ₅₀ Percobaan III (bpj)	IC ₅₀ Percobaan IV (bpj)
Vitamin C	2,98	2,85	3,02	2,97
Reflux air	79,35	77,53	78,50	78,09
Reflux etil asetat	58,69	57,67	58,17	58,79
Reflux heksan	223,89	221,18	221,94	222,75
Maserasi air	70,06	67,78	68,74	69,55
Maserasi etil asetat	37,66	36,67	37,17	37,04
Maserasi heksan	181,79	181,79	181,94	182,46

F. Hasil Uji Toksisitas dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT).

Uji toksisitas dengan metode BSLT ini merupakan uji toksisitas akut karena efek toksik dari suatu senyawa ditentukan dalam waktu yang singkat, yaitu rentang waktu 24 jam setelah pemberian sampel uji. Hasil uji toksisitas dinyatakan dengan LC₅₀, *Lethal concentration* 50 yaitu dosis tunggal suatu zat yang akan membunuh 50% hewan uji, semakin kecil nilai LC₅₀ maka daya toksiknya terhadap hewan uji semakin tinggi pula. Suatu sampel dikatakan sangat toksik jika LC₅₀ < 30 bpj, toksik jika LC₅₀ = 30 - 1000 bpj dan tidak beracun jika mempunyai LC₅₀ > 1000 bpj. Hasil LC₅₀ dapat dilihat pada tabel 10.

Tabel 10. Hasil Uji BSLT

Sampel	LC ₅₀ Percobaan I (bpj)	LC ₅₀ Percobaan II (bpj)	LC ₅₀ Percobaan III (bpj)	LC ₅₀ Percobaan IV (bpj)
Reflux air	59,38	61,92	60,62	60,62
Reflux etil asetat	2085	1988	2055	1999
Reflux heksan	6,48	6,21	6,05	6,26
Maserasi air	58,50	59,06	59,38	58,17
Maserasi etil asetat	1630	1630	1678	1619
Maserasi heksan	6,050	5,98	5,82	5,82

Berdasarkan uji toksisitas BSLT LC₅₀ ekstrak partisi maserasi umumnya lebih baik dari ekstrak partisi refluks. LC₅₀ terbaik diperoleh dari fraksi heksan maserasi dengan rata-rata LC₅₀ = 5,91 bpj disusul fraksi refluks heksan dengan rata-rata LC₅₀ = 6,25 bpj. Kesimpulan

fraksi heksan dari refluks dan maserasi bersifat sangat toksik (sangat aktif). Fraksi maserasi air dan fraksi refluks air memiliki LC₅₀ = 58,42 bpj dan 60,63 bpj, keduanya termasuk beracun (aktif). Fraksi maserasi air dan refluks air memiliki LC₅₀ = 1644,75 bpj dan 2031,75 bpj, keduanya termasuk tidak beracun (tidak aktif). Berdasarkan uji fitokimia, yang menyebabkan racun pada ekstrak air adalah saponin dan yang menyebabkan racun pada ekstrak heksan adalah terpenoid.

G. Hasil Analisis KG-SM

Sampel yang diuji dengan KG-SM adalah ekstrak yang memiliki aktivitas antioksidan terbaik yaitu ekstrak etil asetat yang dihasilkan dengan metode maserasi dan ekstrak yang memiliki aktivitas toksisitas terhadap *Artemia salina* L yaitu ekstrak heksan yang dihasilkan dengan metode maserasi

1) Ekstrak Etil Asetat yang Dihasilkan oleh Metode Maserasi

Pada Tabel 11. dibawah ini adalah hasil pemisahan dari KG-SM yang berasal dari ekstrak etil asetat.

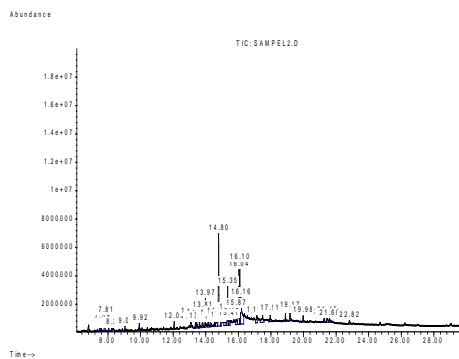
Tabel 11. Senyawa Hasil Pemisahan Ekstrak Etil Asetat Maserasi dengan KG-SM

No	Waktu retensi (menit)	Nama Senyawa	Quality
1	9.05	Methylethylmaleimid(1H-pyrrole-2,5-dione, 3-etil-4-metil)	94
2	9.92	2-methoxy-4-vinylphenol	91
3	13.37	Asam tetradekanoat atau asam miristat	97
4	13.44	4-((1E)-3-Hydroxy-1-propenyl)-2-metoksiphenol	95
5	13.81	Loliolide	95
6	13.97	Neophytadiena	99
7	14.27	Neophytadiena	95
8	14.54	Metil palmitat	98
9	14.79	Asam Heksadekanoat	99
10	15.87	Phytol	91
11	16.04	Asam 9,12-Oktadekadienoat (Z,Z)	99
12	16.09	Asam 9,12,15-Oktadekatrienoat (Z,Z,Z)	95
13	16.16	(Z) 6, (Z)9-Pentadekadien-1-ol	93

14	17.14	Tricosan	97
15	17.95	Tetracosan	98
16	18.89	n-Heneicosan	97
17	19.98	n-Docosan	96
18	21.27	n-Docosan	97
19	22.82	n-Eicosan	98

Senyawa yang ada pada kromatogram ekstrak etil asetat dan memiliki aktivitas farmakologi adalah Loliolide [28,29] dan 4-((1E)-3-Hydroxy-1-propenyl)-2-metoksiphenol yang memiliki sinonim Coniferyl alcohol keduanya memiliki aktivitas sebagai sitotoksik [30].

Gambar 1. Kromatogram KG Ekstrak Etil Asetat dengan Metode Maserasi



2) Ekstrak Heksan yang Dihasilkan oleh Metode Maserasi

Pada Tabel 12. dibawah ini adalah hasil pemisahan dari KG-SM yang berasal dari ekstrak Heksan.

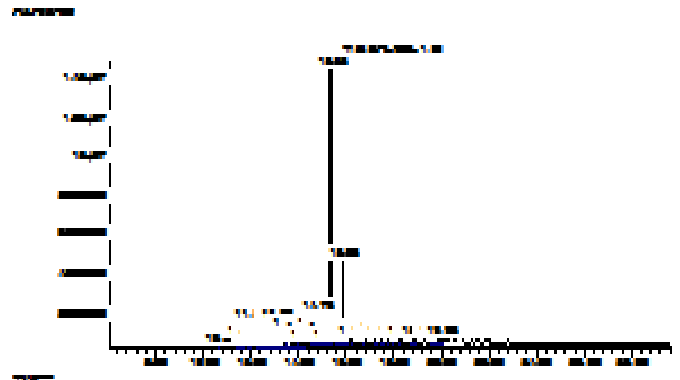
Tabel 12. Senyawa Hasil Pemisahan Ekstrak Heksan Maserasi dengan KG-SM

No	Waktu retensi (menit)	Nama Senyawa	Quality
1	10.67	2,4-diisopropenyl-1-methyl-1-vinylcycloheksan	99
2	11.62	beta-Selinene	99
3	11.69	Naphtalene,2,3,4,4a,5,6-hexahydro-1,4a-dimethyl-7-(1-methyl ethyl)-Eudesma-4(14),11-diene	95
4	11.88	7-epi-alpha-selinen	95
5	12.03	Dihydroactinidiolide	97
6	12.37	Spathulenol	98
7	13.53	2,5,8-trimethyltricyclo[5.3.1.1(3,9)]dodekana-2-anti,8-tnti diol	

8	13.97	Neophytadiena	99
9	14.26	Neophytadiena	92
10	14.53	Methyl palmitat	99
11	14.77	Asam Heksadekanoat atau asam palmitat	98
12	15.72	Methyl ester 9,12-Oktadekadienoat (Z,Z) atau metal linoleat	99
13	15.86	Phytol	95
14	19.96	Eikosan	95

Senyawa yang ada pada kromatogram ekstrak heksan dan memiliki aktivitas farmakologi adalah beta-Selinene [31] yang berfungsi sebagai repellent nyamuk dan Spathulenol sebagai relaksant uterus atau antispasmodikum. [32]

Gambar 2. Kromatogram KG Ekstrak Heksan dengan Metode Maserasi



H. Hasil Analisis Statistik

Uji pendahuluan metode statistik, yaitu uji normalitas dan homogenitas dilakukan untuk menentukan apakah data IC_{50} dan LC_{50} yang diperoleh adalah parametrik atau nonparametrik. Hasil uji normalitas data antioksidan menyatakan secara keseluruhan bahwa data normalitas tidak normal. Hasil uji normalitas data BSLT menyatakan secara keseluruhan data hasil uji BSLT tidak normal. Uji Homogentas data antioksidan menyatakan data antioksidan homogen. Uji Homogenitas data hasil uji BSLT menyatakan data BSLT homogen. Seharusnya digunakan uji nonparametrik terhadap kedua data tersebut, tetapi karena belum ada uji statistik nonparametrik untuk menguji dua perlakuan terhadap multi sampel dengan beberapa ulangan maka data di pecah menjadi 3 bagian. Masing masing bagian di uji statistik pendahuluan kembali. Bagian tersebut adalah :

1. Uji Banding antara Proses Maserasi dan Refluks Air

2. Uji Banding antara Proses Maserasi dan Refluks Etil Asetat

3. Uji Banding antara Proses Maserasi dan Refluks Heksan

Tabel. 13. Hasil uji Statistik data IC₅₀ antara ekstrak maserasi dan refluks

No	Uji Statistik	Uji Normalitas	Uji Tindepen dengan varian yang sama	Keterangan
1	Uji Statistik IC ₅₀ ekstrak air hasil maserasi dan IC ₅₀ ekstrak air hasil refluks	Normal	tertolakn ya H ₀ dan diterima H ₁ , Thitung: 18,22 > Ttabel : 2,35	ada perbedaan nyata pada proses refluks dan maserasi dengan menggunakan pelarut air terhadap kadar antioksidan
2	Uji Statistik IC ₅₀ ekstrak etil asetat hasil maserasi dan IC ₅₀ ekstrak etil asetat hasil refluks	Normal	tertolakn ya H ₀ dan diterima H ₁ , T hitung : 64,2014 lebih besar daripada T tabel 2,353	ada perbedaan nyata pada proses refluks dan maserasi dengan menggunakan pelarut etil asetat terhadap kadar antioksidan
3	Uji Statistik IC ₅₀ ekstrak heksan hasil maserasi dan IC ₅₀ ekstrak heksan hasil refluks	Normal	tertolakn ya H ₀ dan diterima H ₁ , T hitung = 51,3124 > T tabel = 2,353.	ada perbedaan nyata pada proses refluks dan maserasi dengan menggunakan pelarut heksan terhadap kadar antioksidan

Tabel. 14. Hasil uji Statistik data LC₅₀ antara ekstrak maserasi dan refluks

No	Uji Statistik	Uji Normalitas	Uji Tindepen dengan varian yang sama	Keterangan
1	Uji Statistik LC ₅₀ ekstrak air hasil maserasi dan LC ₅₀ ekstrak air hasil refluks	Normal	tertolakn ya H ₀ dan diterima H ₁ , T hitung = 3,4927 > T tabel = 2,353	ada perbedaan nyata pada proses refluks dan maserasi dengan menggunakan pelarut air pada penetapan LC ₅₀
2	Uji Statistik LC ₅₀ ekstrak etil asetat hasil maserasi dan LC ₅₀ ekstrak etil asetat hasil refluks	Normal	tertolakn ya H ₀ dan diterima H ₁ , T hitung = 14,626 > T tabel = 2,353	ada perbedaan nyata pada proses refluks dan maserasi dengan menggunakan pelarut etil asetat pada penetapan LC ₅₀
3	Uji Statistik LC ₅₀ ekstrak heksan hasil maserasi dan LC ₅₀ ekstrak heksan hasil refluks	Normal	tertolakn ya H ₀ dan diterima H ₁ , T hitung = 4,1811 > T tabel = 2,353	ada perbedaan nyata pada proses refluks dan maserasi dengan menggunakan pelarut heksan pada penetapan LC ₅₀

A. Kesimpulan

1. Secara kualitatif, ekstrak maserasi dan refluks menghasilkan data uji fitokimia yang sama. Secara kuantitatif, ekstrak maserasi menghasilkan berat ekstrak yang lebih banyak jika dibandingkan dengan hasil ekstrak refluks. Ekstrak hasil partisi dari maserasi, ekstrak heksan, ekstrak air dan ekstrak etil asetat lebih banyak dari hasilnya dari ekstrak partisi refluks dengan jenis yang sama.

2. Kadar antioksidan dari ekstrak partisi maserasi lebih baik daripada ekstrak partisi refluks. Kadar antioksidan terbaik didapat dari fraksi maserasi etil asetat dengan rata rata $IC_{50} = 37,1387$ bpj sedangkan refluks etil asetat memiliki rata rata $IC_{50} = 58,3349$ bpj, disusul fraksi air maserasi dengan rata rata $IC_{50} = 69,2852$ bpj dan fraksi air refluks dengan rata rata $IC_{50} = 78,3685$ bpj dan terakhir fraksi heksan dari maserasi memiliki rata rata $IC_{50} = 181,534$ bpj, fraksi refluks heksan memiliki rata rata $IC_{50} = 222,4418$ bpj.

3. Berdasarkan uji toksisitas BSLT LC_{50} ekstrak partisi maserasi umumnya lebih baik dari ekstrak partisi refluks. LC_{50} terbaik diperoleh dari fraksi heksan maserasi dengan rata rata $LC_{50} = 5,919$ bpj disusul fraksi refluks heksan dengan rata rata $LC_{50} = 6.2532$ bpj. Kesimpulan fraksi heksan dari refluks dan maserasi bersifat sangat toksik. Fraksi maserasi air dan fraksi refluks air memiliki $LC_{50} = 58,427$ bpj dan $60,6395$ bpj, keduanya termasuk beracun. Fraksi maserasi etil asetat dan refluks etil asetat memiliki $LC_{50} = 1644,75$ bpj dan $2031,75$ bpj, keduanya termasuk tidak beracun.

4. Berdasarkan uji statistik, kedua metode yaitu maserasi dan refluks menghasilkan kadar IC_{50} dan LC_{50} yang berbeda nyata, sehingga dapat disimpulkan bahwa metode refluks belum dapat menggantikan metode maserasi.

B. Saran

Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut untuk mengetahui struktur senyawa aktif yang berpotensi memiliki aktivitas antioksidan dan bersifat toksik sehingga dapat lebih mudah dalam mengembangkannya sebagai bahan obat.

DAFTAR PUSTAKA

1. Khare C P. Indian Medicinal Plant .USA: Springer Science; 2007. p. 513.
2. Dalimartha S. Atlas Tumbuhan Indonesia Jilid II. Jakarta : Trubus Agriwijaya ; 1999. hal. 24-27.

3. Haryanto S. Ensiklopedi Tanaman Indonesia. Jakarta: Gramedia ; 2008. hal. 325.

4. Hariana A . Tumbuhan Obat dan Khasiatnya cetakan ke V. Jakarta : Penebar Swadaya ; 2008. hal.180-184.

5. Andarwulan N, Batari R, Sandrasary DA, Bolling B, Wijaya H. Flavonoid Content and Antioxidant Activity of Vegetables from Indonesia. ELSEVIER. 2009. hal. 1231-1235.

6. Departemen Kesehatan Republik Indonesia Buku Panduan Teknologi Ekstrak. Jakarta : Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan.; 2002. hal. 3, 13-15.

7. Amic D, Beslo D, Trisnajtstic N, Davidovic. Structure Radical Scavenging Activity Relationships of Flavonoids: Croatia Chem Acta 76 (1); 2003. p. 55-61.

8. Heinrich M, Barnes J, Gibbons S, Williams EM, Fundamental of Pharmacognosy and Phytoteraphi. Hungary : ELSEVIER. 2004 .p. 35-36.

9. Paphassarang S, Raynaud J, Lussignol M, A New Oleanolic Glycoside from Polyscias Scutellaria. Journal of Natural Product Vol.33, No 1. Departement du Botanique Biologic Cellulaire et Pharmacognosie Facult de Pharmacie de Lyon Universiti Claude Bernard Lyon . France; 1990.p. 163-166.

10. Chairul, Hui San dan Sutaryo B.S. Isolasi dan Identifikasi Sapogenin dari Daun Mangkokan. Prosiding Simposium Nasional I Tumbuhan Obat dan Aromatik. Jakarta. ; 1996. hal. 113- 118.

11. Hang NTT, Khao Sat Thanh Phan Hoa Hoc Re Cay Dinh lang tron Polyscias scutellaria. Vietnam : Vietnam Univercity; 2008. p. 3-9.

12. Departemen Kesehatan Republik Indonesia Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Jakarta : Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan.; 2000. hal. 9-12.

13. Departemen Kesehatan Republik Indonesia Farmakope Indonesia. Edisi IV. Jakarta : Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan.; 1995. hal. 1002-1007.
14. Mayer B. N, Ferrigni N.R, Putnam J.E Jacobsen L.B Brine Shrimp : A Convenient Bioassay for Active Plant Constituent. *Planta Medika* vol 45; 1982. p. 31-40.
15. Thamrin W, Hedi IJ dan Nursid M. Uji Antioksidan, Toksisitas dan Sitotoksisitas Ekstrak Alga Merah *Rhodomenia palmate*. Vol 11 no 4. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*: 2005. hal. 1-3.
16. Widyastuti S. Uji Toksisitas Ekstrak Daun Iprih (*Ficus glabella* Blume) terhadap *Artemia Salina* Leach dan Profil Kromatografi Lapis Tipis. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Surakarta ; 2008. hal. 14-17.
17. Winarsi, H. Antioksidan alami & Radikal Bebas Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan. Jogjakarta: Kanisius; 2007. hal. 1-4.
18. Mathew S, TE Abraham. Studies of The Antioxidant Activity of *Cinnamomum verum* Bark Extract, through Various In vitro models. *Food Chemistry. International Food Research Journal*. 2010 ;17. hal. 8.
19. Molyneux P. The Use of the stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazil for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin : Science Technology*; 2004. hal. 211-219.
20. Khopkar SM. Konsep Dasar Kimia Analitik. Penerjemah A.Sastrorahardjo. Jakarta : UI Press ; 1990. hal. 85-88.
21. Stahl E. Analisis Obat secara Kromatografi dan Mikroskopi. Penerjemah Padmawinata K . Bandung : Penerbit ITB ; 1985. hal. 25.
22. Mulja M dan Suharman. Analisis Instrumental. Surabaya: Airlangga University Press; 1995. hal. 90-98.
23. Skoog DA, Leary JJ. Principles of Instrumental Analysis 4th ed. New York : Saunders College Publishing; 2000. hal. 161-162.
24. Creswell CJ, Runquist OA, Campbell MM. Analisis Spektrum Senyawa Organik . Diterjemahkan Padmawinata K. Bandung : Penerbit ITB Bandung ; 1982. hal. 121-180.
25. Silvester M, Webster FX, Kiemle DJ. Spectrometric Identification of Organic Compounds 7th ed . New York : Jhon Wiley & Sons ; 2005. p. 50-55.
26. Harborne JB, Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan Terbitan kedua. Bandung : Penerbit ITB Bandung ; 1980. hal. 67-74.
27. Cahyono T. Statistik Terapan untuk Kesehatan Masyarakat. Purworejo: Akademi Kesehatan Lingkungan Purworejo: 2008. hal. 50-75.
28. Cytotoxicity against Human Raji Cells Assessed as Cell Viability at 100 molar Ratio after 48 hours. *Public chem. Bioassay AID* 380236.
<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/assaydata.html?aid=380236>.
29. Yang X, Kang MC, Lee K W, Jeon YJ. Antioxidant Activity and Cell Protective Effect of Loliolide Isolated from *Sargassum ringgoldianum* subsp. *Coreanum* : Departement of Marine Life Science, Jeju National University, Jeju Korea ; 2009. p. 690-756.
30. Cytotoxicity against human OE21 cells after 72 hours by MTT assay. *Public chem.. Bioassay AID* 607594.
<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/assay/assaydata.html?aid=607594>.
31. Wu ST, Damu AG, SU CR, Kuo PC. Terpenoids of *Aristolochia* and Their Biological Activities : Departement of chemistry, National Cheng Kung University, Tainan, Taiwan. 2004. p. 1-6.
32. Miguel MG. Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Essential Oils : A Short Review: Faculdade de Ciencias e Tecnologia, Universidade do Algarve, IBB, Centro de Biotecnologia Vegetal; Portugal; 2010. p. 1-8.

