



**UNIVERSITAS PANCASILA  
PROGRAM MAGISTER ILMU KEFARMASIAN**

**TESIS**

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

**Oleh :**

**DHARMA YANTI  
NPM : 541222005**

**Disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh  
gelar Magister Farmasi pada Universitas Pancasila**

**JAKARTA  
2014**

**PERNYATAAN TESIS DAN SUMBER INFORMASI**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini menyatakan bahwa tesis dengan judul “Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dengan Metode Refluks terhadap Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas dari Daun Mangkokan“ adalah karya saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar akademik, baik di Universitas Pancasila maupun di Perguruan Tinggi lain. Informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah dicantumkan dalam daftar rujukan yang dituliskan dalam tesis ini.

Jakarta, 12 Maret 2015

Materai Rp 6.000,00

Dharma Yanti  
NPM: 541222005

**UNIVERSITAS PANCASILA  
PROGRAM MAGISTER ILMU KEFARMASIAN**

**PERSETUJUAN THESIS  
MAGISTER FARMASI  
PEMINATAN : OBAT BAHAN ALAM**

**NAMA** : **DHARMA YANTI**  
**NPM/NIM** : **541222005**  
**JUDUL** : **PERBANDINGAN METODE EKSTRAKSI MASERASI  
DENGAN METODE REFLUKS TERHADAP AKTIVITAS  
ANTIOKSIDAN DAN TOKSISITAS DARI DAUN  
MANGKOKAN *Nothopanax scutellarium* Merr**

**DISETUJUI OLEH**

**Pembimbing**

**(Prof. Dr. Partomuan Simanjuntak, M.Sc)**

**Pembimbing**

**(Prof. Dr. Muhammad Hanafi M.Sc)**

i

**UNIVERSITAS PANCASILA  
PROGRAM MAGISTER ILMU KEFARMASIAN**

**PENGESAHAN TESIS  
MAGISTER FARMASI  
PEMINATAN: OBAT BAHAN ALAM**

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

Oleh  
**DHARMA YANTI**  
NPM : 541222005

Dipertahankan dihadapan Penguji Tesis  
Program Magister Ilmu Kefarmasian Universitas Pancasila  
Pada Tanggal 18 Oktober 2014

Mengesahkan,  
Ketua Program Magister Ilmu Kefarmasian

**Prof. Dr. Shirly Kumala, M.Biomed, Apt.**

**Penguji Tesis:**

- |   |    |       |
|---|----|-------|
| 1. Prof. Dr. Shirly Kumala, M.Biomed, Apt | 1. | _____ |
| 2. Dra. Anny Victor Purba, M.Sc,PhD, Apt  | 2. | _____ |
| 3. Dr. Ratna Djamil. M.Si, Apt            | 3. | _____ |
| 4. Prof.Dr. Partomuan Simanjuntak, M.Sc   | 4. | _____ |
| 5. Prof.Dr. Muhammad Hanafi, M.Sc         | 5. | _____ |

### **PEDOMAN PENGGUNAAN TESIS**

Tesis Magister Farmasi tidak dipublikasikan, namun terdaftar dan tersedia di perpustakaan Universitas Pancasila Jakarta dan terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada pengarang. Referensi kepustakaan diperkenankan dicatat, tetapi pengutipan atau peringkasan hanya dapat dilakukan seizin pengarang dan harus disertai dengan kebiasaan ilmiah untuk menyebutkan sumbernya.

Memperbanyak atau menerbitkan sebagian atau seluruh isi tesis haruslah seizin Direktur Program Pascasarjana Universitas Pancasila.

Perpustakaan yang meminjam tesis ini untuk keperluan anggotanya harus mengisi nama dan tanda tangan peminjam dan tanggal peminjaman.

**Nama** : Dharma Yanti  
**NPM/NIM** : 541222005  
**Judul** : Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dengan Metode Refluks terhadap Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas dari Daun Mangkoka *Nothopanax scutellarium* Merr  
**Program Studi** : Program Magister Ilmu Kefarmasian

## **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 Mangkoka. Daun Mangkoka 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<sub>50</sub>) 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<sub>50</sub>) 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<sub>50</sub>) 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<sub>50</sub>) 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<sub>50</sub> dan LC<sub>50</sub> 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, antiosidan, toksisitas

Daftar Pustaka : 32

ii

**Name** : *Dharma Yanti*

**NPM / NIM** : *541222005*

**TITLE** : *Comparison of Maceration and Reflux Extraction Methods against Antioxidant and Toxicity Activity Asssay of Mangkokan Leaves Nothopanax scutellarium Merr*

**Study program** : *Master Program in Pharmaceutical Science*

#### **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 method. 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<sub>50</sub> = 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<sub>50</sub> = 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:** *Leaves mangkokan, antiosidan, toxicity*

**References:** 32

iii

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala karunia dan anugerah-Nya sehingga penyusunan tesis ini dapat selesai dengan baik. Tesis dengan judul **PERBANDINGAN METODE EKSTRAKSI MASERASI DENGAN METODE REFLUKS TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN TOKSISITAS DARI DAUN MANGKOKAN *Nothopanax scutellarium* Merr** ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Magister Ilmu Kefarmasian di Universitas Pancasila Jakarta.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Prof. Dr. Shirley Kumala, M.Biomed, Apt selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Kefarmasian Universitas Pancasila.
2. Prof. Dr. Partomuan Simanjuntak, M.Sc selaku pembimbing tesis yang telah memberikan bimbingan, motivasi dan saran dalam penyusunan tesis ini.
3. Prof. Dr. Muhammad Hanafi, M.Sc selaku pembimbing tesis yang telah memberikan bimbingan, motivasi dan saran dalam penyusunan tesis ini.

4. Keluarga dan sahabat yang telah memberikan semangat kepada penulis.
5. Seluruh Dosen Magister Ilmu Kefarmasian Fakultas Farmasi Universitas Pancasila.
6. Staf sekretariat Magister Ilmu Kefarmasian Fakultas Farmasi Universitas Pancasila.

Penulis menyadari bahwa tesis ini masih jauh dari sempurna, maka kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan untuk kemajuan di masa yang akan datang. Akhir kata, semoga tesis ini dapat memberikan informasi yang bermanfaat bagi semua pihak.

Jakarta, Februari 2015

Penulis

iv

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	i
<b>ABSTRAK</b> .....	ii
<b>ABSTRACT</b> .....	iii
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	iv
<b>DAFTAR ISI</b> .....	v
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	viii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> ... ..	ix
<b>DAFTAR TABEL</b> ... ..	x
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
A. Latar Belakang.....	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Manfaat Penelitian .....	3
D. Tujuan Penelitian .....	3
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
A. Tinjauan Botani.....	4
1. Klasifikasi.....	4
2. Sinonim.....	5



3. Morfologi Tumbuhan.....	5
4. Khasiat dan Kegunaan.....	5
5. Kandungan Kimia.....	6
B. Ekstraksi.....	9
1. Cara Dingin.....	9
2. Cara Panas.....	10
C. Toksisitas terhadap Larva Udang $(Daphnia)$ .....	11
D. Radikal Bebas.....	11
E. Antioksidan.....	12
F. Metode Peredaman Radikal Bebas dengan Metode DPPH.....	13
G. Spektrofotometer UV-Vis.....	13
H. Kromatografi Gas-Spektrometer Massa.....	15
1. Prinsip Kerja.....	15
2. Instrumen.....	15

### **BAB III RANCANGAN PENELITIAN**

A. Prinsip Penelitian.....	18
B. Tahap Penelitian .....	19
C. Tempat Penelitian .....	20
D. Analisis Data.....	21

### **BAB IV BAGIAN, ALAT DAN METODE PENELITIAN**

A. Bahan.....	22
B. Alat.....	22
C. Metode Penelitian.....	22
1. Determinasi Tanaman.....	22
2. Penyediaan Bahan.....	22
3. Pembuatan Ekstrak.....	23
4. Pengujian Parameter Ekstrak.....	24
5. Penapisan Fitokimia.....	25
6. Analisis Ekstrak dengan Kromatografi Lapis Tipis.....	27
7. Uji Toksisitas dengan Metode BSLT.....	27
8. Uji Antioksidan dengan Metode DPPH.....	28

9. Analisis Ekstrak dengan Kromatografi Gas-Spektrometer Massa	30
D. Metode Statistik.....	30

**BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN**

A. Determinasi Tanaman.....	33
B. Hasil Ekstraksi.....	33
1. Hasil Organoleptik Ekstrak.....	33
2. Hasil Rendemen.....	33
3. Hasil Kadar Air.....	34
4. Hasil Kadar Abu Total.....	35
5. Hasil Kadar Abu Tidak Larut Asam.....	35
6. Hasil Berat Ekstrak Partisi.....	36
C. Hasil Uji Fitokimia.....	36
D. Hasil Uji Antioksidan dengan Metode DPPH.....	39
E. Hasil Uji Toksisitas dengan Metode BSLT.....	40
F. Hasil Analisis KG-SM.....	41
G. Hasil Analisis Statistik	
1. Hasil Analisis Statistik Data IC <sub>50</sub> .....	44
2. Hasil Analisis Statistik Data LC <sub>50</sub> .....	46
<b>BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>48</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>49</b>

**DAFTAR LAMPIRAN**

Lampiran	Halaman
1. Skema Kerja Penelitian.....	52

2. Determinasi Tanaman Simplisia.....	53
3. Hasil percobaan BSLT .....	54
4. Hasil Percobaan Antioksidan.....	58
5. Hasil Uji Normalitas Antioksidan.....	62
6. Hasil Uji Normalitas BSLT .....	63
7. Uji Homogenitas Data Antioksidan .....	64
8. Uji Homogenitas Data BSLT .....	65
9. Uji Independen dan Normalitas Ekstrak Air (Antioksidan).....	66
10. Uji T Independen Antioksidan Ekstrak Air.....	67
11. Uji Independen dan Normalitas Ekstrak Etil Asetat (Antioksidan)	68
12. Uji T Independen Antioksidan Ekstrak Etil Asetat .....	69
13. Uji Independen dan Normalitas Ekstrak Heksan (Antioksidan)...	70
14. Uji T Independen Antioksidan Ekstrak Heksan .....	71
15. Uji Independen dan Normalitas Maserasi – Refluks Air (BSLT)	72
16. Uji T Independen LC <sub>50</sub> dari Ekstrak Air.....	73
17. Uji Independen dan Normalitas Maserasi – Refluks Etil Asetat (BSLT)	74
18. Uji T Independen LC <sub>50</sub> Ekstrak Etil Asetat.....	75
19. Uji Independen dan Normalitas Maserasi – Refluks Heksan (BSLT)	76
20. Uji T Independen LC <sub>50</sub> Ekstrak Heksan.....	77
21. Perbesaran Kromatogram KG Etil Asetat Hasil dari Maserasi...	78
22. Perbesaran Kromatogram KG Etil Asetat Hasil dari Maserasi...	79

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
II. 1. Pohon <i>Notopanax scutellarium</i> Merr .....	4
II. 2. Struktur Umum Flavonoida .....	6
II. 3 Rumus Umum Oleanolat Glikosida Daun Mangkokan .....	7
II. 5 Struktur Spinasterol.....	8

II. 6.	Struktur 3-O- $\beta$ -D-Glucopyranosyl stigmasterol .....	9
V. 1	Kromatogram Lapis Tipis Ekstrak.....	38
V. 2	Kromatogram KG Ekstrak Etil Asetat dengan Metode Maserasi...	42
V. 3	Kromatogram KG Ekstrak Heksan dengan Metode Maserasi.....	43

### DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>		<b>Halaman</b>
IV. 1.	Uji Normalitas Kolmogorov Smirnov.....	30
V. 1.	Hasil Organoleptik Ekstrak Daun Mangkoka.....	33
V. 2.	Hasil Rendemen Ekstrak.....	34
V. 3	Hasil Kadar Air.....	34
V. 4	Hasil Kadar Abu Total.....	35
V. 5	Hasil Kadar Abu Tidak Larut Asam.....	35
V. 6	Hasil Berat Ekstrak Partisi.....	36
V. 7	Hasil Uji Fitokimia.....	37
V. 8	Hasil Uji Antioksidan.....	40
V. 9	Hasil Uji Toksisitas.....	40
V. 10	Hasil Pemisahan Ekstrak Etil Asetat dengan KG-SM.....	41
V. 11	Hasil Pemisahan Ekstrak Heksan dengan KG-SM.....	43

**BAB I****PENDAHULUAN****A. Latar belakang**

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.

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 dengan menggunakan daun Mangkokan sebagai sampel.

**B. Perumusan Masalah**

Rumusan masalah terhadap penelitian ini adalah :

1. Apakah metode maserasi menghasilkan ekstrak dengan jumlah dan kualitas yang tak berbeda nyata dengan ekstrak yang dihasilkan metode refluks.?
2. Apakah metode refluks yang lebih menghemat waktu dapat menggantikan metode maserasi ?

**C. Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan membandingkan metode ekstraksi maserasi dengan metode refluks.

**D. Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat memberi manfaat yaitu memberikan informasi ilmiah tentang senyawa yang terkandung pada daun Mangkokan dan memberikan informasi tentang hasil dari metode ekstraksi maserasi dan refluks.

## TINJAUAN PUSTAKA

### A. Tinjauan Botani

#### 1. Klasifikasi

Dunia	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Apiales
Familia	: Araliaceae
Genus	: Nothopanax
Species	: <i>Nothopanax scutellarium</i> Merr



Gambar 1, *Nothopanax scutellarium* Merr.

#### 2. Sinonim

Daun Mangkokan memiliki sinonim nama latin yang berbeda *Polyscias scutellaria* (Burm.f) Fosberg, *Nothopanax cochleatus*, *Panax cochleatus*. Daun mangkokan memiliki nama daerah yang berbeda, diantaranya godong mangkokan (Jawa), mamanan (Sunda), puring (Madura), mangko-mangko (Makasar), papeda (Ambon), saucer leaf, shell leaf (Inggris).

#### 3. Uraian Tanaman

Daun mangkokan memiliki morfologi yang khas dan unik, yaitu berwarna hijau dengan urat daun terlihat jelas, menyukai tempat terbuka yang terkena sinar matahari atau sedikit terlindung, dan dapat tumbuh pada ketinggian 1-200 m di atas permukaan laut . Daun mangkokan ini termasuk tanaman perdu tahunan, tumbuh tegak dengan tinggi 1-3 meter. Tumbuhan ini memiliki batang berkayu, bentuknya bulat, panjang dan lurus. Daunnya tunggal , bertangkai, agak tebal dan mempunyai bentuk daun bulat dan bertepi menekuk ke atas hingga menyerupai mangkok, karenanya orang menyebutnya sebagai daun mangkokan dan pada zaman dahulu orang sering menggunakannya sebagai pengganti wadah makanan. Morfologi yang lain dari daun ini adalah mempunyai pangkal daun terbelah, tepi bergerigi, diameter 6-12 cm, pertulangan menyirip dan berwarna hijau tua. Berbunga majemuk dengan bentuk payung dan berwarna hijau. Buahnya buah buni, pipih, hijau. Biji kecil, keras dan berwarna coklat .

Tanaman ini sering kita temui sebagai tanaman pagar. Penanaman tumbuhan daun mangkokan pun tergolong mudah, hanya perlu potongan batang lalu tanam di tanah hingga masuk beberapa cm. Selain sebagai tanaman hias, daun Mangkokan digunakan sebagai sayur pada gulai otak. Daunnya yang muda enak di makan dan beraroma khas .

#### 4. Khasiat dan Kegunaan

Daun Mangkokan berkhasiat sebagai obat perangsang pertumbuhan rambut , obat bengkak dan peluruh air seni., melancarkan pengeluaran ASI, bau badan, obat luka dan luka bakar dan sebagai antiinflamasi . Untuk obat rambut rontok dipakai  $\pm$  25 gram daun segar dicuci dan dirajang kecil-kecil, ditambah minyak kelapa  $\pm$  100 ml dan diremas-remas kemudian diperas. Hasil perasan dioleskan seperti minyak rambut, sambil kulit kepala dipijat-pijat.

#### 5. Kandungan Kimia

Daun mangkokan mengandung kalsium oksalat, enzim peroksidase, amigdalin, fosfor, besi, lemak, protein, serta vitamin A, B1, C, alkaloida, saponin , triterpenoid, dan flavonoida (2). Jenis flavonoida yang terkandung di dalam daun mangkokan adalah flavonol seperti kuersetin, kaemferol dan mirisetin dan flavone seperti luteolin dan apigenin (3)

### **B. Ekstraksi**



Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan dari bahan padat maupun cair dengan bantuan pelarut. Pelarut yang digunakan harus dapat mengekstrak substansi yang diinginkan tanpa melarutkan material lainnya. Ekstraksi bertujuan untuk menarik komponen kimia yang terdapat dalam simplisia, dimana senyawa polar diekstraksi dengan pelarut polar dan senyawa nonpolar diekstraksi dengan pelarut nonpolar. Berdasarkan energi yang digunakan ekstraksi dapat dilakukan dengan dua cara yaitu cara panas dan cara dingin, proses ekstraksi harus memperhatikan kestabilan senyawa yang diisolasi. Untuk senyawa yang stabil terhadap panas dapat dilakukan dengan ekstraksi cara panas, namun yang tidak tahan panas dapat digunakan ekstraksi cara dingin agar senyawa tersebut tidak rusak. (8)

### **1. Maserasi**

Istilah maserasi berasal dari bahasa latin "*macerare*" yang artinya mengairi, melunakkan, merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana. Bahan jamu yang dihaluskan sesuai dengan syarat farmakope (umumnya terpotong-potong atau diserbuk kasarkan) disatukan dengan bahan ekstraksi. Rendaman tersebut disimpan terlindungi dari cahaya langsung (mencegah reaksi yang dikatalisis cahaya atau perubahan warna) dan dikocok kembali. Pengocokan dilakukan agar cepat mendapat kesetimbangan antara bahan yang diekstraksi dalam bagian sebelah dalam sel dengan yang masuk ke dalam cairan. Keadaan tanpa pengocokan selama maserasi menyebabkan turunya perpindahan bahan aktif.

Dalam referensi lain disebutkan bahwa maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Proses pengerjaan dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam pelarut. Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Anonim, 1986). Keuntungan dari metode maserasi yaitu prosedur dan peralatannya sederhana (Agoes, 2007).

### **2. Refluks**

Metode refluks adalah metode ekstraksi komponen dengan cara mendidihkan campuran antara contoh dan pelarut yang sesuai pada suhu dan waktu tertentu. Serta uap yang terbentuk diembunkan dalam kondensor agar kembali ke labu reaksi. Pada umumnya metode refluks digunakan untuk ekstraksi bahan-bahan yang sulit dipisahkan. Pada kondisi ini jika dilakukan pemanasan biasa maka pelarut akan menguap sebelum reaksi berjalan sampai selesai (Sirait, 2007).

Prinsip dari metode refluks adalah penarikan komponen kimia yang dilakukan dengan cara sampel dimasukkan ke dalam labu alas bulat bersama-sama dengan cairan penyari lalu dipanaskan, uap-uap cairan penyari terkondensasi pada kondensor bola menjadi molekul-molekul cairan penyari yang akan turun kembali menuju labu alas bulat, akan menyari kembali sampel yang berada pada labu alas bulat, demikian seterusnya berlangsung secara berkesinambungan sampai penyarian sempurna, penggantian pelarut dilakukan sebanyak 3 kali setiap 3-4 jam. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan dan dipekatkan. Keuntungan dari metode ini adalah digunakan untuk mengekstraksi sampel-sampel yang mempunyai tekstur kasar dan tahan pemanasan langsung. Kerugian metode ini adalah membutuhkan volume total pelarut yang besar dan sejumlah manipulasi dari operator (Harbone, 1987).

### **C. Toksisitas terhadap Larva Udang (*Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*)**

Suatu cara yang cepat dan murah dalam bioassay untuk skrining dan fraksionasi fisiologi aktif dari ekstrak tanaman, Mayer, et al, 1992 telah melakukan penelitian menggunakan hewan yang sangat kecil berkulit tebal yaitu udang laut (*brine shrimp*) sebagai bahan uji bioassay secara umum. Telur udang *Anemia salina Leach* dapat diperoleh dengan mudah dan murah di toko hewan peliharaan. Bila ditempatkan di air laut maka telur akan menetas dalam waktu 48 jam menjadi larva. Larva tersebut dapat segera digunakan untuk bermacam-macam sistem bioassay. Aplikasi yang pernah digunakan adalah untuk analisis residu pestisida, mikotoksin, polusi sungai, anestetik, uji sejenis morfin, dan senyawa-senyawa toksin dalam lingkungan laut.

Cara uji *Brine shrimp* ini cukup sederhana untuk ekstrak crude, fraksi atau senyawa-senyawa murni dibuat konsentrasi 10, 100, 500 dan 1000 ppm (ug/mL) pada alat uji yang mengandung 100  $\mu$ L air laut (vial yang mengandung 5 mL air laut) dan 10 ekor

udang dengan 3 kali pengulangan. Setelah 24 jam diamati jumlah kematian, kemudian dihitung dengan cara regresi linier atau dimasukkan dalam program untuk menentukan  $LC_{50}$  dengan batas/ limit kepercayaan 95 %. Toksisitas suatu senyawa cukup berarti bila  $LC_{50} < 1000 \text{ ug/mL}$ .

Bioassay *brine shrimp* sangat menguntungkan karena cepat hanya 24 jam, murah, sederhana karena tidak memerlukan tehnik-tehnik aseptik, mudah dilakukan untuk pengujian dalam jumlah banyak, tidak perlu peralatan khusus, diperlukan sampel yang relatif kecil hanya 2-20 mg, tidak diperlukan serum hewan (Jerry, 1990).

#### **D. Radikal Bebas**

Radikal bebas adalah molekul yang sangat reaktif karena memiliki elektron yang tidak berpasangan pada orbital luarnya sehingga dapat bereaksi dengan molekul sel tubuh dengan cara mengikat elektron sel tersebut, dan menyebabkan reaksi berantai yang menghasilkan radikal bebas baru. Radikal bebas dapat bereaksi dengan komponen sel baik komponen struktural ( molekul penyusun membran ) maupun komponen fungsional yaitu enzim dan DNA.

Radikal bebas dapat dibentuk melalui dua cara yaitu secara eksogen dan endogen. Secara eksogen radikal bebas didapat dari polusi luar melalui jalan pernafasan, digesti/makanan dan penyerapan kulit. Secara endogen radikal bebas diproduksi secara terus menerus pada tubuh manusia sebagai konsekuensi dari metabolisme normal melalui sistem transport normal dan aktivitas oksidasi seperti siklooksigenase. Radikal bebas diproduksi di dalam sel oleh mitokondria, membrane plasma, lisosom, peroksisom, retikulum endoplasma dan inti sel.

Beberapa kerusakan yang dapat timbul oleh serangan radikal bebas antara lain kerusakan protein, DNA, peroksidasi lipid, kerusakan membran sel terutama penyusun membrane yang berupa asam lemak tidak jenuh yang merupakan bagian dari fosfolipid dan mungkin juga menimbulkan autoimun dan proses penuaan.

#### **E. Antioksidan**

Secara alamiah tubuh manusia mempunyai pertahanan endogen untuk meredam dampak negatif radikal bebas yaitu berupa senyawa antioksidan. Antioksidan adalah suatu senyawa yang dapat menetralkan dan melawan zat toksik atau radikal bebas dan

menghambat terjadinya oksidasi pada sel sehingga mengurangi terjadinya kerusakan sel. Berdasarkan sumbernya antioksidan dapat digolongkan menjadi dua golongan yaitu antioksidan alamiah dan sintetik. Antioksidan sintetik diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia seperti *butylated hydroxyansole* (BHA) dan *butylated hydroxytoluene* (BHT) sangat efektif dalam menghambat reaksi oksidasi lemak. Antioksidan alami diperoleh dari hasil ekstraksi bahan alami antara lain flavonoid, senyawa polifenol, vitamin C, E dan betakaroten dapat diperoleh dari sumber alami seperti rempah, herbal, sayur-mayur dan buah. Sumber sumber alamiah memiliki kelebihan karena kemungkinan lebih aman dikonsumsi.

Antioksidan dapat berupa enzim atau nonenzim. Antioksidan berupa enzim yang terdapat dalam tubuh adalah katalase, superoksida dismutase dan glutathion peroksidase. Zat *scavenger* (pembersih) nonenzim adalah vitamin E, vitamin A, vitamin C, betakaroten, metionin, selenium dan tirosin. Berdasarkan mekanisme pencegahan dampak negative radikal bebas antioksidan dapat dibagi menjadi dua golongan yaitu antioksidan pencegah yang mengurangi kecepatan inisiasi (permulaan) rantai reaksi dan antioksidan pemecah rantai yang akan memotong perbanyakkan reaksi berantai.

Proses penghambatan oksidasi lipid oleh antioksidan terjadi melalui berbagai mekanisme yaitu pemberian elektron, pemberian hydrogen, penambahan lipid pada cincin aromatik antioksidan dan pembentukan kompleks antara lipid dan cincin aromatik.

## **F. Spektrofotometer UV-VIS**

Spektrofotometer ultraviolet (UV-VIS) dapat digunakan untuk analisa kualitatif dan analisa kuantitatif tapi penggunaannya dalam penentuan struktur senyawa organik masih terbatas. Senyawa-senyawa yang dapat dianalisa dengan spektrofotometer UV-VIS adalah senyawa-senyawa yang mempunyai gugus kromofor.

Spektrofotometer UV-VIS digunakan untuk mengukur transisi-transisi diantara tingkatan-tingkatan elektronik. Transisi tersebut biasanya antara orbital ikatan (orbital pasangan bebas) dengan orbital non ikatan (orbital anti ikatan). Keuntungan selektif dari spektrofotometer UV-VIS adalah dapat menentukan gugus karakteristik dalam molekul-molekul yang sangat kompleks. Parameter yang diperoleh dari spektrofotometer UV-VIS

adalah harga panjang gelombang maksimum ( $\lambda$  maks) dan absorban (A) dari senyawa yang dianalisa.(11)

### **BAB III**

## **RANCANGAN 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 45<sup>0</sup>C kemudian lebih lanjut di panaskan di tangas air pada suhu 70<sup>0</sup>C. Ekstrak etanol yang di peroleh di partisi, 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 didapat di keringkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 45<sup>0</sup>C kemudian lebih lanjut di panaskan di tangas air pada suhu 70<sup>0</sup>C. Enam ekstraksi yang kering di uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH, di uji aktivitas toksisitas dengan

metode BSLT dan diuji secara kualitatif dengan fitokimia. Data yang diperoleh di perbandingkan secara statistik

## **B. Tahap Penelitian**

### **1. Pengumpulan Simplisia**

Pengumpulan simplisia dilakukan untuk persiapan dalam melakukan percobaan. Simplisia yang dipergunakan dalam percobaan ini adalah daun Mangkokan (*Nothopanax scutellarium* Merr ) yang diperoleh dari Kebun Raya Bogor.

### **2. Identifikasi Tanaman**

Identifikasi tanaman dilakukan untuk mengetahui kepastian identitas dari tanaman mangkokan.

### **3. Preparasi simplisia.**

Daun Mangkokan yang diperoleh di cuci bersih, kemudian di jemur, diangin anginkan di ruang terbuka, ketika hari mulai panas, wadah di tutup kain kasa sehingga tidak beterbangan, simplisia yang sudah kering dihaluskan dan diayak dengan pengayak B30.

### **4. Ekstraksi**

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 75% dengan metode refluks dan maserasi. Hasil ekstrak yang diperoleh dari maserasi dan refluks dikeringkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 45<sup>0</sup>C kemudian lebih lanjut di panaskan di tangas air pada suhu 70<sup>0</sup>C. Ekstrak etanol yang di peroleh di partisi, 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 didapat di keringkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 45<sup>0</sup>C kemudian lebih lanjut di panaskan di tangas air pada suhu 70<sup>0</sup>C.

#### **5. Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH**

Enam ekstrak yang diperoleh diuji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH sebanyak 4 kali ulangan.

#### **6. Uji Toksisitas dengan Metode BSLT**

Enam ekstrak yang diperoleh diuji aktivitas toksisitas dengan metode BSLT sebanyak 4 kali ulangan

#### **7. Uji Fitokimia**

Uji fitokimia yang dilakukan yaitu uji fenolik, flavanoida, saponin, steroid, terpenoid, quinon dan alkaloid.

### **C. Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April - Juni 2014. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Pusat Penelitian Kimia LIPI Biotech Cibinong.

### **D. Analisis Data**

#### **1. Metode Statistik.**

##### **a. 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.

### **b. Metode Statistik Pembeding**

Metode statistik yang digunakan pada penelitian ini adalah uji T independens dengan varians yang sama, anova satu jalur, Kruskal Wallis.

## **BAB IV**

### **BAHAN, ALAT DAN METODE PENELITIAN**

#### **A. Bahan**

Bahan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah daun Mangkokan (*Nothopanax scutellarium* Merr) etanol, metanol, hexana, kloroform, etil asetat, pereaksi



feri klorida 5 %, pereaksi natrium hidroksida 10 %, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>(p), HCl, pereaksi Dragendorf, Mayer, vitamin C, DPPH (1,1-diphenil-2-pikrilhidrazil), serbuk Mg, air laut, larva udang.

## **B. Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah gelas ukur 50 ml, gelas beaker 250 ml, gelas erlenmeyer 250 ml, corong saring, tabung reaksi, neraca analitis, alat pengering, *rotary evaporator*, labu ekstraksi, tangas air, labu alas 500 ml, spatula, batang pengaduk, pipet tetes, botol vial, bejana, inkubator, spektrofotometer UV dan kertas saring.

## **C. Metode Penelitian**

### **1. Determinasi Tanaman**

Determinasi terhadap tanaman daun Mangkokan dilakukan di Herbarium Bogoriense Pusat Penelitian Biologi LIPI, Cibinong.

### **2. Penyediaan Sampel**

Daun Mangkokan yang digunakan pada penelitian ini dikumpulkan pada bulan April 2014 dari Kebun Raya Bogor 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 dianginkan 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.

### **3. Pembuatan Ekstrak**

**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 1 liter dan didiamkan selama 24 jam pada suhu kamar.

Hasil maserasi disaring dan filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan penguap putar vakum pada suhu lebih kurang 45°C, 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 1 liter etanol teknis. Proses refluks dilakukan selama 3 jam pada suhu 100 °C.

Hasil refluks disaring dan filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan penguap putar vakum pada suhu lebih kurang 45°C, 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*.

**4. Penapisan Fitokimia (Kualitatif)**

Uji penapisan fitokimia bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa yang terdapat pada ke tiga jenis fraksi daun Mangkokan 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. 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. (14)

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

### **a. Penetasan Kista *Artemia salina* Leach**

Kista *Artemia salina* Leach 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* Leach 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 menggunakan analisis probit.

## **6. 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 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  $\mu\text{L}$  larutan induk di pipet ke dalam reaksi yang telah ditara 5,0 ml untuk mendapatkan konsentrasi 5,10,25,50 dan 100  $\mu\text{g/mL}$ . Ke dalam masing masing tabung ditambahkan dengan methanol pro analisis sampai 5,0 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  $\mu\text{L}$  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  $\mu\text{g/mL}$ .

**e. Pengukuran Serapan Peredaman Radikal Bebas DPPH**

Larutan uji dengan beberapa konsentrasi diinkubasi dalam penangas air 37  $^{\circ}\text{C}$  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 :

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

Nilai  $\text{IC}_{50}$  (Inhibition Concentration 50 ) adalah konsentrasi antioksidan ( $\text{mg/mL}$ ) 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  $IC_{50}$ . Ekstrak dinyatakan aktif jika nilai  $IC_{50}$  kurang dari  $100 \mu\text{g/mL}$ .

#### D. 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.

Rumus :

NO	$X_i$	Z	$F_\tau$	$F_s$	$ F_\tau - F_s $
1					
2					
3					

Keterangan :

$X_i$  = Angka pada data

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

$F_\tau$  = Probabilitas kumulatif normal

$F_s$  = Probabilitas kumulatif empiris

Signifikansi uji : nilai terbesar dari  $|F_\tau - F_s|$  dibandingkan dengan nilai tabel Kolmogorov-Smirnov,  $H_0$  diterima jika nilai terbesar dari  $|F_\tau - F_s| <$  nilai tabel

Kolmogorov-Smirnov.  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima jika nilai terbesar dari  $|F\tau - Fs| >$  nilai tabel Kolmogorov-Smirnov.  $H_0$  diterima artinya data terdistribusi normal.  $H_1$  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 :

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

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

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

c. Uji Independens Chi Square

Uji independens adalah pengujian untuk mengetahui apakah data yang satu memiliki keterkaitan dengan data yang lain.

$$\chi^2 = \sum \left( \frac{|F_o - F_e|^2}{F_e} \right) \qquad F_e = \frac{\sum \text{baris} \times \sum \text{kolom}}{\sum \text{data}}$$

$F_0$  = angka pada data

$F_e$  = angka yang diharapkan

$H_0$  = data independens jika  $\chi^2$  hitung  $\leq$   $\chi^2$  tabel

$H_1$  = data tak independen jika  $\chi^2$  hitung  $>$   $\chi^2$  tabel

Harga tabel  $\chi^2$  pada  $\alpha = 0,05$  dengan derajat pembilang = k-1, derajat penyebut = n-1.



## 2. Metode Statistik Pembeding

Metode statistik yang digunakan pada penelitian ini adalah uji T independens dengan varians yang sama, anova satu jalur, Kruskal Wallis.

### a. 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 varians yang sama dan uji T independens dengan varians 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 varians 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<sup>2</sup> = standar deviasi kuadrat

n = jumlah data

H<sub>0</sub> = data 1 dan data 2 sama jika T hitung ≤ T tabel

H<sub>1</sub> = ada perbedaan yang nyata dari data 1 dan data2 jika T hitung > T tabel .

Rumus untuk menguji variansi =

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

### b. Uji Kruskal Walis

Uji Kruskal Walis merupakan tes nonparametrik yang menguji tiga rata rata dengan satu faktor yang berpengaruh.

$$H = \frac{12}{N(N+1)} \left\{ \frac{w_1^2}{n_1} + \dots + \frac{w_r^2}{n_r} \right\} - 3(N+1)$$

N = jumlah data total.

n = jumlah data dalam tiap kelompok

w = jumlah ranking dalam tiap kelompok

H<sub>0</sub> = tak berbeda nyata, jika H hitung < H tabel

H<sub>1</sub> = data yang berbeda nyata, jika H hitung > H tabel

c. Anova Satu Jalur

Anova satu jalur merupakan tes parametrik yang menguji tiga rata rata dengan satu faktor yang berpengaruh.

$$JKT = \sum x^2 - \frac{(\sum X)^2}{N}$$

$$JKK = \frac{\sum T^2}{n} - \frac{(\sum X)^2}{N}$$

$$JKG = JKT - JKP$$

$$KTP = JKP / P - 1$$

$$KTG = JKG / P(N-1)$$

$$F \text{ HIT} = KTP / KTG$$

## BAB V 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, seperti tertera pada lampiran 2.

### 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 5.1

Tabel 5.1. Organoleptik Ekstrak Daun Mangkokan

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

## 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 5.2

Tabel 5.2 Hasil Rendemen Ekstrak

No	Simplisia serbuk yang di ekstraksi	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 ekstrak	86,52		50,23	
	Rata rata rendemen		21,63		12,55

## 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 mikroorganismenya selama penyimpanan. Kadar air yang terlalu tinggi dapat mengakibatkan rendahnya konsentrasi zat aktif. Hasil rendemen dapat dilihat pada Tabel 5.3

Tabel 5.3 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 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 Tabel 5.4.

Tabel 5.4 Berat Ekstrak Partisi

Pelarut	Refluks			Maserasi		
	Botol kosong (g)	Botol + isi (g)	Ekstrak (g)	Botol kosong (g)	Botol + isi (g)	Ekstrak (g)
Heksan	150,18	152,54	2,36	149,54	154,34	4,80
Etil Asetat	129,70	124,82	4,88	144,42	151,00	6,58
Air	145,74	186,00	40,26	140,54	208,52	67,98

#### 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 5.5.

Tabel 5.5 Hasil Uji Fitokimia

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

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.

#### D. 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  $IC_{50}$ . Hasil percobaan dapat dilihat pada Tabel 5.6, lebih lengkap lagi dapat dilihat pada Lampiran 5.

Tabel 5.6 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	2,979	2,856	3,027	2,979
Reflux air	79,354	77,530	78,500	78,090
Reflux etil asetat	58,697	57,674	58,174	58,793
Reflux heksan	223,892	221,182	221,940	222,752
Maserasi air	70,059	67,783	68,747	69,553
Maserasi etil asetat	37,663	36,671	37,179	37,041
Maserasi heksan	181,796	181,796	181,947	182,466

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. Nilai  $IC_{50}$  yang memadai pada ekstrak air dan etil asetat diduga karena pada keduanya terkandung senyawa fenolik dan flavonoida.

#### E. 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  $LC_{50}$ , *Lethal concentration 50* yaitu dosis tunggal suatu zat yang akan membunuh 50% hewan uji, semakin kecil nilai  $LC_{50}$  maka daya toksiknya terhadap hewan uji semakin tinggi pula. Suatu sampel dikatakan sangat toksik jika  $LC_{50} < 30$  bpj, toksik jika  $LC_{50} = 30-1000$  bpj dan tidak beracun jika mempunyai  $LC_{50} > 1000$  bpj. Hasil  $LC_{50}$  dapat dilihat pada tabel 5.7, selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 3.

Tabel 5.7. 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	59,382	61,920	60,628	60,628
Reflux etil asetat	2085	1988	2055	1999
Reflux heksan	6,481	6,214	6,050	6,268
Maserasi air	58,507	59,06	59,382	58,174
Maserasi etil asetat	1630	1630	1678	1619
Maserasi heksan	6,050	5,982	5,822	5,822

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 air dan refluks air memiliki  $LC_{50} = 1644,75$  bpj dan  $2031,75$  bpj, keduanya termasuk tidak beracun. Berdasarkan uji fitokimia, yang menyebabkan racun pada ekstrak air adalah saponin dan yang menyebabkan racun pada ekstrak heksan adalah terpenoid.

#### F. 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 dapat dilihat pada Lampiran 7, hasil uji tersebut menyatakan secara keseluruhan data normalitas tidak normal. Hasil uji normalitas data BSLT dapat dilihat pada Lampiran 8, hasil uji tersebut menyatakan secara keseluruhan data BSLT tidak

normal. Uji Homogentitas data antioksidan pada Lampiran 9 menyatakan data antioksidan homogen. Uji Homogentitas data antioksidan pada Lampiran 10 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 5 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
4. Uji Banding Ekstrak Air, Etil Asetat dan Heksan pada Metode Maserasi
5. Uji Banding Ekstrak Air, Etil Asetat dan Heksan pada Metode Refluks.

### **1. Hasil Analisis IC<sub>50</sub> dari Antioksidan**

#### **1.1 Uji Banding antara Proses Maserasi dan Refluks Air.**

Data IC<sub>50</sub> dari maserasi dan refluks air, di uji normalitasnya dan didapatkan bahwa data keduanya normal, maka dilanjutkan dengan uji banding parametrik, yaitu uji T, untuk menentukan apakah uji T independens ataukah uji T berpasangan yang akan di gunakan maka dilakukan uji Independens, dengan hasil menyatakan bahwa ke dua kelompok data independens satu sama lain, berdasarkan uji independens maka kita menggunakan uji T independens. Terdapat dua uji T independens yaitu uji T independens dengan varians yang sama dan uji T independens dengan varians yang berbeda, maka dilakukan uji F untuk menentukan apakah kedua data tersebut memiliki varians yang sama atau tidak. Hasil uji statistik diatas dapat dilihat pada Lampiran 11 dan 12. Adapun uji F menyatakan bahwa data memiliki varians yang sama sehingga digunakan uji T Independens dengan varians yang sama. Hasil dari uji T Independens dengan varians yang sama pada kedua data tersebut menyebabkan tertolaknya H<sub>0</sub> dan diterima H<sub>1</sub>, yang artinya ada perbedaan nyata pada proses refluks dan maserasi dengan menggunakan pelarut air terhadap kadar antioksidan. Diketahui bahwa T hitung : 18,2286 lebih besar daripada T tabel 2,353.

#### **1.2 Uji Banding antara Proses Maserasi dan Refluks Etil Asetat**

Data IC<sub>50</sub> dari maserasi dan refluks etil asetat, di uji normalitasnya dan didapatkan bahwa data keduanya normal, maka dilanjutkan dengan uji banding parametrik, yaitu uji

T, untuk menentukan apakah uji T independens ataukah uji T berpasangan yang akan digunakan maka dilakukan uji Independens, dengan hasil menyatakan bahwa ke dua kelompok data independens satu sama lain, berdasarkan uji independens maka kita menggunakan uji T independens. Terdapat dua uji T independens yaitu uji T independens dengan varians yang sama dan uji T independens dengan varians yang berbeda, maka dilakukan uji F untuk menentukan apakah kedua data tersebut memiliki varians yang sama atau tidak. Hasil uji statistik diatas dapat dilihat pada Lampiran 13 dan 14. Adapun uji F menyatakan bahwa data memiliki varians yang sama sehingga digunakan uji T Independens dengan varians yang sama. Hasil dari uji T Independens dengan varians yang sama pada kedua data tersebut menyebabkan tertolaknya  $H_0$  dan diterima  $H_1$ , yang artinya ada perbedaan nyata pada proses refluks dan maserasi dengan menggunakan pelarut etil asetat terhadap kadar antioksidan. Diketahui bahwa  $T_{hitung} : 64,2014$  lebih besar daripada  $T_{tabel} 2,353$ .

### 1.3 Uji Banding antara Proses Maserasi dan Refluks Heksan

Data  $IC_{50}$  dari maserasi dan refluks heksan, di uji normalitasnya dan didapatkan bahwa data keduanya normal, maka dilanjutkan dengan uji banding parametrik, yaitu uji T, untuk menentukan apakah uji T independens ataukah uji T berpasangan yang akan digunakan maka dilakukan uji Independens, dengan hasil menyatakan bahwa ke dua kelompok data independens satu sama lain, berdasarkan uji independens maka kita menggunakan uji T independens. Terdapat dua uji T independens yaitu uji T independens dengan varians yang sama dan uji T independens dengan varians yang berbeda, maka dilakukan uji F untuk menentukan apakah kedua data tersebut memiliki varians yang sama atau tidak. Hasil uji statistik diatas dapat dilihat pada Lampiran 15 dan 16. Adapun uji F menyatakan bahwa data memiliki varians yang sama sehingga digunakan uji T Independens dengan varians yang sama. Hasil dari uji T Independens dengan varians yang sama pada kedua data tersebut menyebabkan tertolaknya  $H_0$  dan diterima  $H_1$ , yang artinya ada perbedaan nyata pada proses refluks dan maserasi dengan menggunakan pelarut etil asetat terhadap kadar antioksidan. Diketahui bahwa  $T_{hitung} : 64,2014$  lebih besar daripada  $T_{tabel} 2,353$ .

### 1.4 Uji Banding Ekstrak Air, Etil Asetat dan Heksan pada Metode Maserasi.



Uji ini dilakukan apakah pelarut yang berbeda pada metode yang sama akan menghasilkan data yang tak berbeda nyata atau berbeda nyata. Sebagai pendahuluan digunakan uji normalitas untuk menentukan digunakannya statistik parametrik atau nonparametrik. Uji normalitas menyatakan bahwa ketiga data kelompok sampel normal, maka digunakan uji parametrik untuk tiga sampel berbeda dengan perlakuan yang sama yaitu uji anova satu arah atau bias disebut anova satu jalur. Uji analisis ini dapat dilihat secara lengkap pada Lampiran 17. Hasil uji analisis ini menyatakan tertolaknya  $H_0$  dan diterimanya  $H_1$  dengan kata lain ada perbedaan yang nyata pada penggunaan pelarut yang berbeda pada proses yang sama yaitu maserasi terhadap kadar antioksidan. Diketahui  $F$  hitung = 38729,5514 lebih besar daripada  $F$  tabel yaitu 4,26.

#### 1.5 Uji Banding Ekstrak Air, Etil Asetat dan Heksan pada Metode Refluks

Uji ini dilakukan apakah pelarut yang berbeda pada metode yang sama akan menghasilkan data yang tak berbeda nyata atau berbeda nyata. Sebagai pendahuluan digunakan uji normalitas untuk menentukan digunakannya statistik parametrik atau nonparametrik. Uji normalitas menyatakan bahwa ketiga data kelompok sampel normal, maka digunakan uji parametrik untuk tiga sampel berbeda dengan perlakuan yang sama yaitu uji anova satu arah atau bias disebut anova satu jalur. Uji analisis ini dapat dilihat secara lengkap pada Lampiran 18. Hasil uji analisis ini menyatakan tertolaknya  $H_0$  dan diterimanya  $H_1$  dengan kata lain ada perbedaan yang nyata pada penggunaan pelarut yang berbeda pada proses yang sama yaitu refluks terhadap kadar antioksidan. Diketahui  $F$  hitung = 4 1717,2283 lebih besar daripada  $F$  tabel yaitu 4,26.

#### 1.6. Uji Anova Dua Jalur dengan Interaksi

Uji ini hanya dilakukan terhadap antioksidan karena setelah di pecah menjadi 5 bagian, dan tiap bagian di uji normalitasnya dengan hasil ke 5 bagian data tersebut normal, maka dilakukan uji anova dua jalur dengan interaksi. Uji Anova dua jalur dengan interaksi adalah uji parametrik yang sesuai untuk dua kelompok data dengan tiga sampel berbeda dan dengan ulangan. Hasil analisis secara lengkap bisa dilihat pada Lampiran 19 dengan hasil :

1.6.1 Untuk baris, yaitu uji banding sekaligus antara ekstrak air refluks dan ekstrak air maserasi, ekstrak heksan refluks dan ekstrak heksan maserasi, ekstrak etil asetat

refluks dan ekstrak etil asetat maserasi, didapat bahwa  $F_1$  hitung (82449,80) lebih besar daripada  $F$  tabel (3,16) yang mengakibatkan tertolaknya  $H_0$  dan diterimanya  $H_1$  atau dengan kata lain ada perbedaannya nyata antara metode maserasi dan refluks di tiap pelarut yang digunakan.

1.6.2. Untuk kolom, yaitu uji banding penggunaan pelarut yang berbeda baik itu maserasi atau refluks, didapat bahwa  $F_2$  hitung (5107,9423) lebih kecil daripada  $F$  tabel (1,18) yang mengakibatkan tertolaknya  $H_0$  dan diterimanya  $H_1$  atau dengan kata lain ada perbedaannya nyata pada penggunaan ke tiga pelarut yang berbeda dengan menggunakan perlakuan yang sama, baik pada kelompok maserasi ataupun refluks.

1.6.3. Untuk interaksi antara pelarut dan proses ekstraksi, didapat bahwa  $F_3$  hitung (780,3506) lebih besar daripada  $F$  tabel (3,16) mengakibatkan tertolaknya  $H_0$  dan diterimanya  $H_1$  atau dengan kata lain ada interaksi yang berbeda nyata pada penggunaan ke tiga pelarut yang berbeda dengan kedua proses ekstraksi yang berbeda.

## **2. Hasil Analisis $LC_{50}$ dari Toksisitas BSLT**

### **2.1 Uji Banding antara Proses Maserasi dan Refluks Air.**

Data  $LC_{50}$  dari maserasi dan refluks air, di uji normalitasnya dan didapatkan bahwa data keduanya normal, maka dilanjutkan dengan uji banding parametrik, yaitu uji T, untuk menentukan apakah uji T independens ataukah uji T berpasangan yang akan di gunakan maka dilakukan uji Independens, dengan hasil menyatakan bahwa ke dua kelompok data independens satu sama lain, berdasarkan uji independens maka kita menggunakan uji T independens. Terdapat dua uji T independens yaitu uji T independens dengan varians yang sama dan uji T independens dengan varians yang berbeda, maka dilakukan uji F untuk menentukan apakah kedua data tersebut memiliki varians yang sama atau tidak. Hasil uji statistik diatas dapat dilihat pada Lampiran 20 dan 21. Adapun uji F menyatakan bahwa data memiliki varians yang sama sehingga digunakan uji T Independens dengan varians yang sama. Hasil dari uji T Independens dengan varians yang sama pada kedua data tersebut menyebabkan tertolaknya  $H_0$  dan diterima  $H_1$ , yang artinya ada perbedaan nyata pada proses refluks dan maserasi dengan

menggunakan pelarut air terhadap kadar toksisitas. Diketahui bahwa T hitung : 3,4927 lebih besar daripada T tabel 2,353.

## 2.2 Uji Banding antara Proses Maserasi dan Refluks Etil Asetat

Data  $LC_{50}$  dari maserasi dan refluks etil asetat, di uji normalitasnya dan didapatkan bahwa data keduanya normal, maka dilanjutkan dengan uji banding parametrik, yaitu uji T, untuk menentukan apakah uji T independens ataukah uji T berpasangan yang akan di gunakan maka dilakukan uji Independens, dengan hasil menyatakan bahwa ke dua kelompok data independens satu sama lain, berdasarkan uji independens maka kita menggunakan uji T independens. Terdapat dua uji T independens yaitu uji T independens dengan varians yang sama dan uji T independens dengan varians yang berbeda, maka dilakukan uji F untuk menentukan apakah kedua data tersebut memiliki varians yang sama atau tidak. Hasil uji statistik diatas dapat dilihat pada Lampiran 22 dan 23. Adapun uji F menyatakan bahwa data memiliki varians yang sama sehingga digunakan uji T Independens dengan varians yang sama. Hasil dari uji T Independens dengan varians yang sama pada kedua data tersebut menyebabkan tertolaknya  $H_0$  dan diterima  $H_1$ , yang artinya ada perbedaan nyata pada proses refluks dan maserasi dengan menggunakan pelarut etil asetat terhadap kadar toksisitas. Diketahui bahwa T hitung : 14,626 lebih besar daripada T tabel 2,353.

## 2.3 Uji Banding antara Proses Maserasi dan Refluks Heksan

Data  $LC_{50}$  dari maserasi dan refluks heksan, di uji normalitasnya dan didapatkan bahwa data keduanya normal, maka dilanjutkan dengan uji banding parametrik, yaitu uji T, untuk menentukan apakah uji T independens ataukah uji T berpasangan yang akan di gunakan maka dilakukan uji Independens, dengan hasil menyatakan bahwa ke dua kelompok data independens satu sama lain, berdasarkan uji independens maka kita menggunakan uji T independens. Terdapat dua uji T independens yaitu uji T independens dengan varians yang sama dan uji T independens dengan varians yang berbeda, maka dilakukan uji F untuk menentukan apakah kedua data tersebut memiliki varians yang sama atau tidak. Hasil uji statistik diatas dapat dilihat pada Lampiran 24 dan 25. Adapun uji F menyatakan bahwa data memiliki varians yang sama sehingga digunakan uji T Independens dengan varians yang sama. Hasil dari uji T Independens

dengan varians yang sama pada kedua data tersebut menyebabkan tertolaknya  $H_0$  dan diterima  $H_1$ , yang artinya ada perbedaan nyata pada proses refluks dan maserasi dengan menggunakan pelarut etil asetat terhadap kadar toksisitas. Diketahui bahwa  $T$  hitung : 4,1811 lebih besar daripada  $T$  tabel 2,353.

#### 2.4 Uji Banding Ekstrak Air, Etil Asetat dan Heksan pada Metode Maserasi.

Uji ini dilakukan apakah pelarut yang berbeda pada metode yang sama akan menghasilkan data yang tak berbeda nyata atau berbeda nyata. Sebagai pendahuluan digunakan uji normalitas untuk menentukan digunakannya statistik parametrik atau non parametrik. Uji normalitas menyatakan bahwa ketiga data kelompok sampel tak normal, maka digunakan uji non parametrik untuk tiga sampel berbeda dengan perlakuan yang sama yaitu uji Kruskal Wallis. Uji analisis ini dapat dilihat secara lengkap pada Lampiran 26. Hasil uji analisis ini menyatakan tertolaknya  $H_0$  dan diterimanya  $H_1$  dengan kata lain ada perbedaan yang nyata pada penggunaan pelarut yang berbeda pada proses yang sama yaitu maserasi terhadap kadar toksisitas. Diketahui  $H$  hitung = 9,841 lebih besar daripada  $H$  tabel yaitu 5,999

#### 2.5 Uji Banding Ekstrak Air, Etil Asetat dan Heksan pada Metode Refluks

Uji ini dilakukan apakah pelarut yang berbeda pada metode yang sama akan menghasilkan data yang tak berbeda nyata atau berbeda nyata. Sebagai pendahuluan digunakan uji normalitas untuk menentukan digunakannya statistik parametrik atau non parametrik. Uji normalitas menyatakan bahwa ketiga data kelompok sampel tak normal, maka digunakan uji non parametrik untuk tiga sampel berbeda dengan perlakuan yang sama yaitu uji Kruskal Wallis. Uji analisis ini dapat dilihat secara lengkap pada Lampiran 27. Hasil uji analisis ini menyatakan tertolaknya  $H_0$  dan diterimanya  $H_1$  dengan kata lain ada perbedaan yang nyata pada penggunaan pelarut yang berbeda pada proses yang sama yaitu maserasi terhadap kadar toksisitas. Diketahui  $H$  hitung = 9,841 lebih besar daripada  $H$  tabel yaitu 5,999

## **BAB IV**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

1. Secara kualitatif, ekstrak maserasi dan refluks menghasilkan data uji fitokimia yang sama.
2. 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.
3. 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.
4. 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 air dan refluks air memiliki  $LC_{50} = 1644,75$  bpj dan  $2031,75$  bpj, keduanya termasuk tidak beracun.
5. Berdasarkan uji statistik, kedua metode yaitu maserasi dan refluks menghasilkan kadar  $IC_{50}$  dan  $LC_{50}$  yang berbeda nyata.
6. Berdasarkan hasil penelitian ini, metode refluks belum dapat menggantikan metode maserasi.

#### **B. Saran**

1. Penelitian ini dapat dilanjutkan dengan isolasi senyawa beracun dari fraksi heksan

### **DAFTAR PUSTAKA**

1. Dalimartha S . Atlas Tumbuhan Indonesia Jilid II. Jakarta : Trubus Agriwijaya ; 1999
2. Haryanto S. Ensiklopedi Tanaman Indonesia. Jakarta: Gramedia ; 2008. Hal 325
3. Hariana A . Tumbuhan Obat dan Khasiatnya cetakan ke V. Jakarta : Penebar Swadaya ; 2008. Hal 180-184.
4. Khare C P. Indian Medicinal Plant .USA: Springer Science; 2007. Hal 513
5. Andarwulan N, Batari R, Sandrasary D A, Bolling B, Wijaya H. Flavonoid Content and Antioxidant Activity of Vegetables from Indonesia. ELSEVIER. 2009. Hal 1231-1235
6. Silbernagl S, Lang F. Color Atlas of Pathophysiology. USA : Thieme New York ; 2006. Hal 48
7. Khopkar SM. Konsep Dasar Kimia Analitik. Penerjemah A. Sastrorahardjo . Jakarta. : UI Press ; 1990 Hal 85-88
8. Stahl E. Analisis Obat secara Kromatografi dan Mikroskopi. Penerjemah Padmawinata K . Bandung : Penerbit ITB ; 1985
9. Skoog DA, Leary JJ. Principles of Instrumental Analysis 4<sup>th</sup> ed. New York : Saunders College Publishing hal 161-162. 2000
10. Creswell CJ, Runquist OA, Campbell MM. Analisis Spektrum Senyawa Organik . Diterjemahkan Padmawinata K. Bandung : Penerbit ITB Bandung ; 1982
11. Silvester M, Webster FX, Kiemle DJ. Spectrometric Identification of Organic Compounds 7<sup>th</sup> ed . New York : Jhon Wiley & Sons ; 2005.
12. Tuyet NTA, Thu NTA, Hang NTT, Phung NKP, Suong NN, Oleanan Saponin from *Polyscias guilfoylei* Bail. Vietnam : Science & Technology Development vol 12 no 10-2009 Vietnam : Ho Chi Minh University ; 2009.
13. Harborne JB, Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan Terbitan kedua. Bandung : Penerbit ITB Bandung ; 1980.

## **BAB IV**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **C. Kesimpulan**

7. Secara kualitatif, ekstrak maserasi dan refluks menghasilkan data uji fitokimia yang sama.
8. 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.
9. 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 mg/L sedangkan refluks etil asetat memiliki rata rata IC 50 = 58,3349 mg/L, disusul fraksi air maserasi dengan rata rata IC 50 = 69,2852 mg/L dan fraksi air refluks dengan rata rata IC 50 = 78,3685 mg/L dan terakhir fraksi heksan dari maserasi memiliki rata rata IC 50 = 181,534 mg/L , fraksi refluks heksan memiliki rata rata IC 50 = 222,4418 mg/L.
10. 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 mg/L disusul fraksi refluks heksan dengan rata rata LC 50 = 6.2532 mg/L. Kesimpulan fraksi heksan dari refluks dan maserasi bersifat sangat toksik. Fraksi maserasi air dan fraksi refluks air memiliki LC 50 = 58,427 mg/ L dan 60,6395 mg/L, keduanya termasuk tidak beracun. Fraksi maserasi air dan refluks air memiliki LC 50 = 1644,75 mg/L dan 2031,75 mg/L, keduanya termasuk tidak beracun.
11. Berdasarkan uji statistik, kedua metode yaitu maserasi dan refluks menghasilkan kadar IC 50 dan LC 50 yang berbeda nyata.
12. Berdasarkan hasil penelitian ini, metode refluks belum dapat menggantikan metode maserasi.

#### **D. Saran**

2. Penelitian ini dapat dilanjutkan dengan isolasi senyawa beracun dari fraksi heksan

PERBANDINGAN METODE EKSTRAKSI MASERASI DAN REFLUKS TERHADAP  
 AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN TOKSISITAS DAUN *Nothopanax Scutellarium* MERR

DHARMA YANTI

FAKULTAS FARMASI  
 UNIVERSITAS PANCASILA  
 JAKARTA  
 2014

TOKSISITAS BERDASARKAN METODE BRINE SHRIMP LETHAL TOKSISITY

Sampel	Kadar	Hidup	Mati	Angka Hidup	Angka Mati	Mati/total
Blangko		15	0	43	2	2/45 = 4,4%
		14	1			
		14	1			
Ekstrak Maserasi Etil asetat	10 ppm	14	1	43	2	2/45 = 4,4 %
		14	1			
		15	0			
	100 ppm	13	2	41	4	4/45 = 8,8%
		14	1			
		14	1			



	1000 ppm	14	1	41	4	4/45 = 8,8 %
		13	2			
		14	1			
Ekstrak maserasi Heksan	10 ppm	0	15	1	44	44/45 = 97,8 %
		0	15			
		1	14			
	100 ppm	0	15	0	45	45/45 = 100 %
		0	15			
		0	15			
	1000 ppm	0	15	0	45	45/45 = 100 %
		0	15			
		0	15			

Nama ekstrak	kadar	hidup	mati	Angka hidup	Angka mati	M/T
Ekstrak Maserasi air	10 ppm	15	0	43	2	2/45 = 4,4%
		14	1			
		14	1			
	100 ppm	11	4	29	16	16/45 = 35,5 %
		9	6			
		9	6			
	1000 ppm	1	14	43	2	43/45 = 95,5%
		1	14			
		0	15			
Ekstrak refluks Etil asetat	10 ppm	15	0	45	0	0/45
		15	0			
		15	0			

