



**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 Mangkoka” 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**

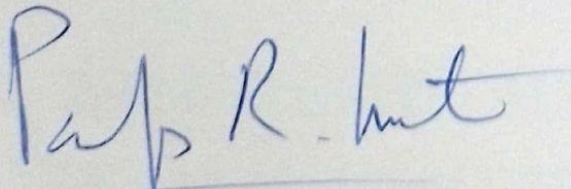
NAMA : DHARMA YANTI

NPM/NIM : 541222005

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

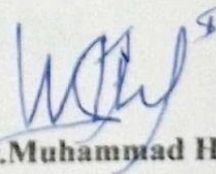
DISETUJUI OLEH

Pembimbing



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

Pembimbing



(Prof. Dr. Muhammad Hanafi M.Sc)

UNIVERSITAS PANCASILA
PROGRAM MAGISTER ILMU KEFARMASIAN

PENGESAHAN TESIS
MAGISTER FARMASI
PEMINATAN: OBAT BAHAN ALAM

PERBANDINGAN METODE EKSTRAKSI MASERASI DENGAN METODE REFLUKSI
TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN TOKSISITAS DARI DAUN MANGKOK
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.

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
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 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, antiosidan, toksisitas

Daftar Pustaka : 32

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 $IC_{50} = 37.13$ 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: *Leaves mangkokan, antiosidan, toxicity*

References: *32*

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. Shirly 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

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN PENGESAHAN.....	i
ABSTRAK.....	ii
ABSTRACT.....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR LAMPIRAN	viii
DAFTAR GAMBAR... ..	ix
DAFTAR TABEL... ..	x
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang.....	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Manfaat Penelitian	3
D. Tujuan Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
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 (BSLT)	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 ₅₀	44
2. Hasil Analisis Statistik Data LC ₅₀	46
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	48
DAFTAR PUSTAKA	49

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran	
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 ₅₀ dari Ekstrak Air.....	73
17. Uji Independen dan Normalitas Maserasi – Refluks Etil Asetat (BSLT)	74
18. Uji T Independen LC ₅₀ Ekstrak Etil Asetat.....	75
19. Uji Independen dan Normalitas Maserasi – Refluks Heksan (BSLT)	76
20. Uji T Independen LC ₅₀ 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

	Halaman
Gambar	
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- β -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

	Halaman
Tabel	
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 Mangkoka 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.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Botani

1. Klasifikasi

Dunia	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Apiales
Familia	: Araliaceae
Genus	: <i>Nothopanax</i>
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 mangkogan 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 mangkogan 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 turunnya 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 fraksinasi 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 μ 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 $LC_{50} < 1000$ 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 hydroxyanisole* (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 negatif radikal bebas antioksidan dapat dibagi menjadi dua golongan yaitu antioksidan

pengecang 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 (λ 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 45⁰C kemudian lebih lanjut di panaskan di tangas air pada suhu 70⁰C. 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 45⁰C kemudian lebih lanjut di panaskan di tangas air pada suhu 70⁰C. 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 45⁰C kemudian lebih lanjut di panaskan di tangas air pada suhu 70⁰C. 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 45⁰C kemudian lebih lanjut di panaskan di tangas air pada suhu 70⁰C.

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 Pemanding

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 %, H₂SO₄(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 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. 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 μ L larutan induk di pipet ke dalam reaksi yang telah ditara 5,0 ml untuk mendapatkan konsentrasi 5,10,25,50 dan 100 μ 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 μ 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°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 IC_{50} (Inhibition Concentration 50) adalah konsentrasi antioksidan (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	Xi	Z	F τ	F _s	F τ - F _s
1					
2					
3					

Keterangan :

Xi = Angka pada data

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

F τ = Probabilitas komulatif normal

F_s = Probabilitas komulatif empiris

Signifikansi uji : nilai terbesar dari |F τ - F_s| dibandingkan dengan nilai tabel Kolmogorov-Smirnov, H₀ diterima jika nilai terbesar dari |F τ - F_s| < nilai tabel Kolmogorov-Smirnov. H₀ ditolak dan H₁ diterima jika nilai terbesar dari |F τ - F_s| > 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 :

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

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

H0 = data homogen , jika F hitung \leq F tabel,

H1 = 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.

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

F0 = angka pada data

Fe = angka yang diharapkan

H0 = data independens jika χ^2 hitung \leq χ^2 tabel

H1 = data tak independen jika χ^2 hitung $>$ χ^2 tabel

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

2. Metode Statistik Pemanding

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

S² = standar deviasi kuadrat

n = jumlah data

H₀ = data 1 dan data 2 sama jika T hitung ≤ T tabel

H₁ = 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

H₀ = tak berbeda nyata, jika H hitung < H tabel

H₁ = 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 mikroorganisme 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 Homogentas data antioksidan pada Lampiran 9 menyatakan data antioksidan homogen. Uji Homogentas 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 IC₅₀ dari Antioksidan

1.1 Uji Banding antara Proses Maserasi dan Refluks Air.

Data IC₅₀ 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 H₀ dan diterima H₁, 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_{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 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 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 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 prseses 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 ditiap 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 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 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 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 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 4th ed. New York : Saunders College Publishing hal 161-162. 2000
10. Creswell CJ, Runquist OA, Campbell MM. Analisis Spektrum Senyawa Organik . Diterjemahkan Padamawinata K. Bandung : Penerbit ITB Bandung ; 1982
11. Silvester M, Webster FX, Kiemle DJ. Spectrometric Identification of Organic Compounds 7th 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

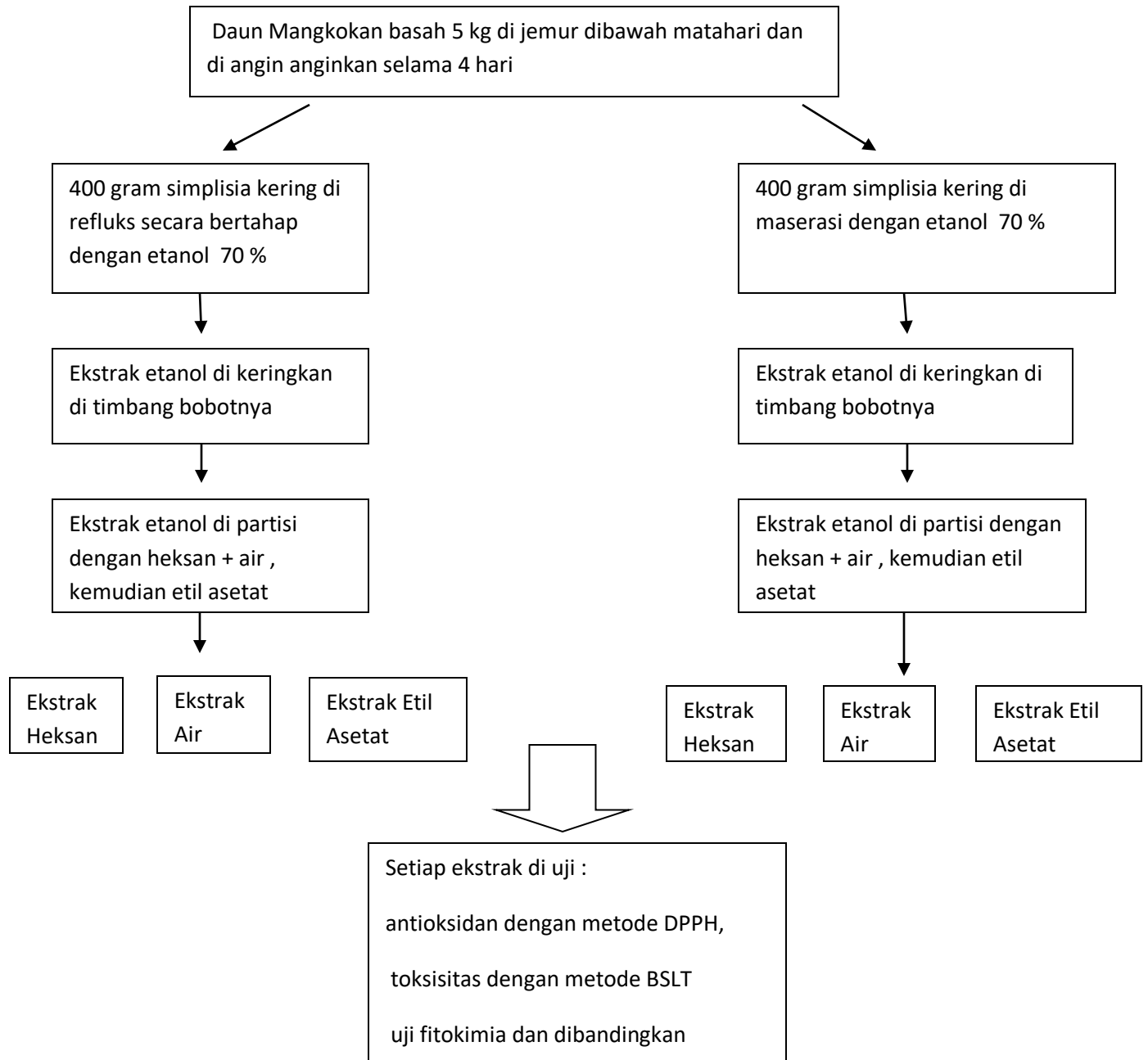
C. Kesimpulan

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

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

Lampiran 1. Skema Kerja Percobaan



Lampiran 2 Determinasi Tanaman Simplisia.



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(Indonesian Institute of Sciences)
PUSAT PENELITIAN BIOLOGI
(Research Center for Biology)

Jl. Raya Jakarta - Bogor Km. 46 Cibinong 16911, Indonesia P.O Box 25 Cibinong
Telp. (021) 87907636 - 87907604 Fax. 87907612

Cibinong, 28 Februari 2014

Nomor : 274/IPH.1.02/If.8/II/2014
Lampiran : -
Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.
Bpk./Ibu/Sdr(i). **Dharma Yanti, S.Pd.**
NPM : 5412220005
Mhs. Univ. Pancasila
Srengseng Sawah, Jagakarsa
Jakarta - 12640

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor, adalah sebagai berikut :

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1	Daun Mangkokan	<i>Polyscias scutellaria</i> (Burm.f.) Fosberg	Araliaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Kepala Bidang Botani
Pusat Penelitian Biologi-LIPI,


Dr. Joeni Setijo Rahajoe
NIP. 196706241993032004

Lampiran 3. Berat Ekstrak

1. Refluks

Botol refluks kosong = 149,54 gram

Botol refluks + ekstrak = 199,77 gram

Ekstrak = 50,23 gram

Kadar air :

Cawan petri kosong = 35,55 gram

Cawan petri + ekstrak sebelum pemanasan = 36,86 gram

Cawan petri + ekstrak setelah pemanasan = 36,72 gram

Kadar air = $\frac{0,14}{3,31} \times 100 \% = 4,2296 \%$

2. Maserasi

Botol refluks kosong = 148,95 gram

Botol refluks + ekstrak = 235,18 gram

Ekstrak = 86,23 gram

Kadar air :

Cawan petri kosong = 36,47 gram

Cawan petri + ekstrak sebelum pemanasan = 38,94 grm

Cawan petri + ekstrak setelah pemanasan = 38,85 gram

Kadar air = $\frac{0,09}{2,47} \times 100 \% = 3,6437 \%$

3. 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

Lampiran 4. Hasil percobaan BSLT

HASIL UJI TOKSISITAS DENGAN METODE BSLT

PERCOBAAN I

NO	SAMPEL	KADAR (mg/L)	AM	AH	M/T	% KEMATIAN	LC 50 (mg/L)
1	MASERASI AIR	0	2	43	2/45	4,44	58,507
		10	5	40	6/45	13,33	
		100	39	6	38/45	84,44	
		1000	45	0	45/45	100	
2	MASERASI ETIL ASETAT	0	2	43	2/45	4,44	1630
		10	2	43	2/45	4,44	
		100	9	36	9/45	20	
		1000	13	32	13/45	28,88	
3	MASERASI HEKSAN	0	2	43	2/45	4,44	6,05
		10	39	6	39/45	86,66	
		100	45	0	45/45	100	
		1000	45	0	45/45	100	
4	REFLUKS AIR	0	2	43	2/45	4,44	59,382
		10	6	39	6/45	13,33	
		100	38	7	38/45	84,44	
		1000	45	0	45/45	100	
5	REFLUKS ETIL ASETAT	0	2	43	2/45	4,44	2085
		10	2	43	2/45	4,44	
		100	4	41	4/45	8,88	
		1000	9	36	9/45	20	
6	REFLUKS HEKSAN	0	2	43	2/45	4,44	6,481
		10	8	37	6/45	13,33	
		100	45	0	45/45	100	
		1000	45	0	45/45	100	

PERCOBAAN II

NO	SAMPEL	KADAR (mg/L)	AM	AH	M/T	% KEMATIAN	LC 50 (mg/L)
1	MASERASI AIR	0	1	44	1/45	2,22	59,06
		10	4	41	4/45	8,88	
		100	40	5	40/45	88,88	
		1000	45	0	45/45	100	
2	MASERASI ETIL ASETAT	0	1	44	1/45	2,22	1630
		10	3	42	3/45	6,66	
		100	10	35	10/45	22,22	
		1000	13	32	13/45	28,88	
3	MASERASI HEKSAN	0	1	44	1/45	2,22	5,982
		10	41	4	41/45	91,11	
		100	45	0	45/45	100	
		1000	45	0	45/45	100	
4	REFLUKS AIR	0	1	44	1/45	2,22	61,92
		10	5	40	5/45	11,11	
		100	38	7	38/45	84,44	
		1000	45	0	45/45	100	
5	REFLUKS ETIL ASETAT	0	1	44	1/45	2,22	1988
		10	1	44	1/45	2,22	
		100	9	36	9/45	20	
		1000	10	35	10/45	22,22	
6	REFLUKS HEKSAN	0	1	44	2/45	2,22	6,214
		10	4	41	6/45	13,33	
		100	45	0	45/45	100	
		1000	45	0	45/45	100	

PERCOBAAN III

NO	SAMPEL	KADAR (mg/L)	AM	AH	M/T	% KEMATIAN	LC 50 (mg/L)
1	MASERASI AIR	0	2	43	2/45	4,44	59.382
		10	6	39	6/45	13,33	
		100	38	7	38/45	84,44	
		1000	45	0	45/45	100	
2	MASERASI ETIL ASETAT	0	2	43	2/45	4,44	1678
		10	2	43	2/45	4,44	
		100	6	38	6/45	15,55	
		1000	12	35	12/45	22,22	
3	MASERASI HEKSAN	0	2	43	2/45	4,44	5,822
		10	40	5	40/45	88,88	
		100	45	0	45/45	100	
		1000	45	0	45/45	100	
4	REFLUKS AIR	0	2	43	2/45	4,44	60,628
		10	5	40	5/45	11,11	
		100	38	7	38/45	84,44	
		1000	45	0	45/45	100	
5	REFLUKS ETIL ASETAT	0	2	43	2/45	4,44	2055
		10	2	43	2/45	4,44	
		100	7	38	7/45	15,55	
		1000	10	35	10/45	22,22	
6	REFLUKS HEKSAN	0	2	43	2/45	4,44	6,05
		10	39	6	6/45	13,33	
		100	45	0	45/45	100	
		1000	45	0	45/45	100	

PERCOBAAN IV

NO	SAMPEL	KADAR (mg/L)	AM	AH	M/T	% KEMATIAN	LC 50 (mg/L)
1	MASERASI AIR	0	2	43	2/45	4,44	58,174
		10	7	38	6/45	13,33	
		100	38	7	38/45	84,44	
		1000	45	0	45/45	100	
2	MASERASI ETIL ASETAT	0	2	43	2/45	4,44	1619
		10	2	43	2/45	4,44	
		100	4	41	4/45	8,88	
		1000	12	33	12/45	26,66	
3	MASERASI HEKSAN	0	2	43	2/45	4,44	5,822
		10	38	7	6/45	15,55	
		100	45	0	45/45	100	
		1000	45	0	45/45	100	
4	REFLUKS AIR	0	2	43	2/45	4,44	60,628
		10	5	40	5/45	11,11	
		100	36	9	36/45	80	
		1000	45	0	45/45	100	
5	REFLUKS ETIL ASETAT	0	2	43	2/45	4,44	1999
		10	2	43	2/45	4,44	
		100	6	39	6/45	13,33	
		1000	10	35	10/45	22,22	
6	REFLUKS HEKSAN	0	2	43	2/45	4,44	6,268
		10	38	7	6/45	15,55	
		100	45	0	45/45	100	
		1000	45	0	45/45	100	

Lampiran 5. Hasil Percobaan Antioksidan

PERCOBAAN I

NO	SAMPEL	KADAR (mg/L)	SERAPAN BLANGKO	SERAPAN SAMPEL	% INHIBISI	PERSAMAAN REGRESI	IC50 (mg/L)
1	VIT C	3	0,783	0,448	42,78	$y = 5,95 x + 32,27$	2,979
		6		0,219	72,03		
		8		0,108	89,72		
		10		0,054	93,1		
		12		0,032	95,91		
2	REFLUX AIR	5	0,783	0,742	5,23	$y = 0,593 x + 2,944$	79,354
		10		0,686	12,38		
		25		0,640	18,26		
		50		0,572	26,94		
		100		0,276	64,75		
3	REFLUX ETIL ASETAT	5	0,783	0,73	6,76	$y = 0,75 x + 5,977$	58,697
		10		0,646	17,49		
		25		0,616	21,33		
		50		0,415	46,99		
		100		0,158	79,82		
4	REFLUX HEKSAN	5	0,783	0,763	2,55	$y = 0,195 x + 6,341$	223,892
		10		0,713	8,93		
		25		0,675	13,79		
		50		0,625	20,17		
		100		0,600	23,37		
5	MASERASI AIR	5	0,783	0,702	10,34	$y = 0,604 x + 7,685$	70,059
		10		0,646	17,49		
		25		0,600	23,37		
		50		0,54	31,81		
		100		0,226	71,1		
6	MASERASI ETIL ASETAT	5	0,783	0,635	18,9	$y = 0,702 x + 23,56$	37,663
		10		0,563	28,09		
		25		0,427	45,46		
		50		0,218	72,16		
		100		0,105	86,59		
7	MASERASI HEKSAN	5	0,783	0,774	1,15	$y = 0,265 x + 1,824$	181,796
		10		0,750	4,21		
		25		0,703	11,37		
		50		0,665	15,07		
		100		0,565	27,84		

PERCOBAAN II

No	SAMPEL	KADAR (mg/L)	SERAPAN BLANGKO	SERAPAN SAMPEL	% INHIBISI	PERSAMAAN REGRESI	IC50 (mg/L)
1	VIT C	3	0,79	0,447	43,41	$y = 5,888 x + 33,18$	2,856
		6		0,217	72,53		
		8		0,078	90,12		
		10		0,049	93,79		
		12		0,034	95,69		
2	REFLUX AIR	5	0,79	0,745	5,69	$y = 0,597 x + 3,714$	77,53
		10		0,685	13,29		
		25		0,636	19,49		
		50		0,571	27,72		
		100		0,27	65,82		
3	REFLUX ETIL ASETAT	5	0,79	0,745	5,69	$y = 0,784 x + 4,783$	57,674
		10		0,669	15,31		
		25		0,609	22,91		
		50		0,418	47,09		
		100		0,143	81,89		
4	REFLUX HEKSAN	5	0,79	0,768	2,78	$y = 0,197 x + 6,427$	221,182
		10		0,730	7,59		
		25		0,672	14,93		
		50		0,622	21,21		
		100		0,607	23,16		
5	MASERASI AIR	5	0,79	0,701	11,265	$y = 0,613 x + 8,449$	67,783
		10		0,649	17,85		
		25		0,598	24,3		
		50		0,530	32,91		
		100		0,218	72,4		
6	MASERASI ETIL ASETAT	5	0,79	0,636	19,49	$y = 0,712 x + 23,89$	36,671
		10		0,565	28,48		
		25		0,425	46,2		
		50		0,217	72,53		
		100		0,093	88,22		
7	MASERASI HEKSAN	5	0,79	0,769	2,65	$y = 0,264 x + 2,494$	181,796
		10		0,748	5,31		
		25		0,705	10,75		
		50		0,67	15,18		
		100		0,562	28,86		

PERCOBAAN III

No	SAMPEL	KADAR (mg/L)	SERAPAN BLANGKO	SERAPAN SAMPEL	% INHIBISI	PERSAMAAN REGRESI	IC50 (mg/L)
1	VIT C	3	0,785	0,450	42,67	$y = 6,002x + 31,83$	3,027
		6		0,223	71,59		
		8		0,081	89,68		
		10		0,053	93,29		
		12		0,031	96,05		
2	REFLUX AIR	5	0,785	0,744	5,22	$y = 0,595x + 3,292$	78,5
		10		0,682	13,12		
		25		0,639	18,59		
		50		0,569	27,51		
		100		0,273	65,22		
3	REFLUX ETIL ASETAT	5	0,785	0,740	5,73	$y = 0,772x + 5,089$	58,174
		10		0,656	16,43		
		25		0,610	22,29		
		50		0,420	46,49		
		100		0,147	81,27		
4	REFLUX HEKSAN	5	0,785	0,770	1,91	$y = 0,2x + 5,612$	221,94
		10		0,725	7,64		
		25		0,678	13,63		
		50		0,628	20		
		100		0,605	22,93		
5	MASERASI AIR	5	0,785	0,699	10,95	$y = 0,613x + 7,858$	68,747
		10		0,65	17,19		
		25		0,602	23,56		
		50		0,535	32,19		
		100		0,221	71,97		
6	MASERASI ETIL ASETAT	5	0,785	0,638	18,72	$y = 0,702x + 23,56$	371,791
		10		0,56	28,66		
		25		0,426	45,73		
		50		0,216	72,48		
		100		0,098	87,51		
7	MASERASI HEKSAN	5	0,785	0,77	1,91	$y = 0,264x + 1,966$	181,947
		10		0,749	4,58		
		25		0,701	10,57		
		50		0,668	14,9		
		100		0,560	28,66		

PERCOBAAN IV

N o	SAMPEL	KADAR (mg/L)	SERAPAN BLANGKO	SERAPAN SAMPEL	% INHIBISI	PERSAMAAN REGRESI	IC50 (mg/L)
1	VIT C	3	0,789	0,445	43,59	$y = 5,95 x + 32,27$	2,979
		6		0,218	72,03		
		8		0,085	89,23		
		10		0,050	93,66		
		12		0,030	96,19		
2	REFLUX AIR	5	0,789	0,740	6,21	$y = 0,593 x + 2,944$	78,09
		10		0,680	13,85		
		25		0,635	19,52		
		50		0,570	27,75		
		100		0,274	65,27		
3	REFLUX ETIL ASETAT	5	0,789	0,755	4,31	$y = 0,803 x + 2,789$	58,793
		10		0,699	11,41		
		25		0,614	22,18		
		50		0,413	47,65		
		100		0,150	80,98		
4	REFLUX HEKSAN	5	0,789	0,760	3,67	$y = 0,174 x + 5,278$	222,752
		10		0,712	9,75		
		25		0,670	15,08		
		50		0,638	19,14		
		100		0,615	22,05		
5	MASERASI AIR	5	0,789	0,700	1,128	$y = 0,598 x + 8,407$	69,553
		10		0,648	17,87		
		25		0,602	23,7		
		50		0,538	31,81		
		100		0,218	71,1		
6	MASERASI ETIL ASETAT	5	0,789	0,633	19,77	$y = 0,693 x + 24,33$	37,041
		10		0,566	28,26		
		25		0,424	46,26		
		50		0,215	72,75		
		100		0,108	86,31		
7	MASERASI HEKSAN	5	0,789	0,771	2,28	$y = 0,257 x + 2,592$	182,466
		10		0,747	5,32		
		25		0,709	11,28		
		50		0,672	14,83		
		100		0,567	28,13		

Lampiran 6. Hasil Uji Fitokimia

Sampel	Fenolik	Flavanoida	Saponin	Steroid	Terpenoid	Alkaloida	Quinon
Refluks							
Ekstrak Air	+	+	+	-	-	+	+
Ekstrak Etil Asetat	+	+	-	+	-	+	+
Ekstrak Heksan	-	-	-	+	+	-	-
Maserasi							
Ekstrak Air	+	+	+	-	-	+	+
Ekstrak Etil Asetat	+	+	-	+	-	+	+
Ekstrak Heksan	-	-	-	+	+	-	-

Lampiran 7. Hasil Uji Normalitas Antioksidan

UJI NORMALITAS KADAR ANTIOKSIDAN DAUN MANGKOKAN DENGAN METODE
KOLMOGOROV SMIRNOV

NO	Xi	Z	F _τ	F _s	F _τ -F _s
1	36.671	-1.013316934	0.155454401	0.041666667	0.113787734
2	37.041	-1.008049652	0.156715313	0.083333333	0.07338198
3	37.1791	-1.006083675	0.15718766	0.125	0.03218766
4	37.6638	-0.999183537	0.158852895	0.166666667	0.007813772
5	57.6747	-0.71431045	0.237517616	0.208333333	0.029184283
6	58.1748	-0.707191078	0.239723871	0.25	0.010276129
7	58.6973	-0.699752823	0.242040841	0.291666667	0.049625826
8	58.793	-0.698390447	0.242466524	0.333333333	0.090866809
9	68.747	-0.556686341	0.288870875	0.375	0.086129125
10	68.783	-0.556173849	0.289046007	0.416666667	0.127620659
11	69.553	-0.545212209	0.292803788	0.458333333	0.165529546
12	70.059	-0.538008846	0.295285471	0.5	0.204714529
13	77.53	-0.431652468	0.332997009	0.541666667	0.208669657
14	78.09	-0.423680367	0.335899468	0.583333333	0.247433866
15	78.5	-0.417843649	0.338030717	0.625	0.286969283
16	79.354	-0.405686194	0.342486594	0.666666667	0.324180073
17	179.9469	1.026343846	0.847635232	0.708333333	0.139301898
18	181.7962	1.052670288	0.853753935	0.75	0.103753935
19	181.9469	1.054815638	0.854245174	0.791666667	0.062578508
20	182.466	1.062205491	0.855928796	0.833333333	0.022595463
21	221.1827	1.613372397	0.946668187	0.875	0.071668187
22	221.9402	1.624156089	0.94782875	0.916666667	0.031162083
23	222.752	1.635712789	0.949050144	0.958333333	0.009283189
24	223.8923	1.651945981	0.950727218	1	0.049272782
JUMLAH	2588.4339				
RATA RATA	107.8514125				
STANDAR DEVIASI	70.24496494				

F_t-F_s tertinggi 0,32418

F tabel 0,269

F tabel < selisih F tertinggi

H₀ ditolak

data tidak normal

Lampiran 8. Hasil Uji Normalitas BSLT

UJI NORMALITAS KADAR LC 50 (BSLT) DAUN MANGKOKAN DENGAN METODE KOLMOGOROV SMIRNOV

NO	Xi	Z	F τ	Fs	I F τ -Fs I
1	5.822	-0.716807808	0.236746347	0.041666667	0.19507968
2	5.822	-0.716807808	0.236746347	0.083333333	0.153413013
3	5.982	-0.716625431	0.236802624	0.125	0.111802624
4	6.05	-0.716547921	0.236826544	0.166666667	0.070159878
5	6.05	-0.716547921	0.236826544	0.208333333	0.028493211
6	6.214	-0.716360986	0.236884239	0.25	0.013115761
7	6	-0.716299434	0.236903238	0.291666667	0.054763428
8	6.481	-0.716056645	0.236978186	0.333333333	0.096355147
9	58.174	-0.657134279	0.25554729	0.375	0.11945271
10	58.507	-0.656754709	0.255669325	0.416666667	0.160997341
11	59.069	-0.656114112	0.255875353	0.458333333	0.202457981
12	59.382	-0.655757338	0.255990135	0.541666666	0.285676525
13	59.382	-0.655757338	0.255990135	0.541666666	0.285676525
14	60.628	-0.654337083	0.25644733	0.625	0.36855267
15	60.628	-0.654337083	0.25644733	0.626	0.36955267
16	61.92	-0.652864394	0.256921853	0.666666667	0.409744814
17	1619	1.12197625	0.869063731	0.708333333	0.160730398
18	1630	1.134514622	0.871710628	0.75	0.121710628
19	1652	1.159591364	0.876892391	0.791666667	0.085225724
20	1678	1.189227514	0.882824925	0.833333333	0.049491592
21	1988	1.542581613	0.938533839	0.875	0.063533839
22	1999	1.555119984	0.940041252	0.916666667	0.023374585
23	2055	1.618951692	0.947271171	0.958333333	0.011062162
24	2085	1.65314725	0.95084955	1	0.04915045
JUMLAH	15232.379				
RATA RATA	634.6824583				
STANDAR DEVIASI	877.3069317				

Ft-Fs terbesar 0.409744814

f tabel 0.269

H0 ditolak data tak normal

Lampiran 9. Uji Homogenitas Data Antioksidan

UJI HOMOGENITAS ANTIOKSIDAN

NO	MASERASI (X)	REFLUX (Y)	M.M	R.R
1	68.747	79.354	4726.150009	6297.057316
2	68.783	78.5	4731.101089	6162.25
3	70.059	77.53	4908.263481	6010.9009
4	69.553	78.09	4837.619809	6098.0481
5	37.6638	58.6973	1418.56183	3445.373027
6	36.671	58.1748	1344.762241	3384.307355
7	37.1791	57.6747	1382.285477	3326.37102
8	37.041	58.793	1372.035681	3456.616849
9	181.7962	223.8923	33049.85833	50127.762
10	181.9469	221.9402	33104.67442	49257.45238
11	179.9469	221.1827	32380.88682	48921.78678
12	182.446	222.752	33286.54292	49618.4535
JUMLAH	1151.8329	1436.581	156542.7421	236106.3792

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

$$Sx^2 = \sqrt{\frac{12(156542,7421) - (1151,8329)^2}{12(11)}} = 64,6414$$

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

$$Sy^2 = \sqrt{\frac{12(236106,3792) - (1436,581)^2}{12(11)}} = 76,3520$$

$$F = \frac{s \text{ terbesar}}{s \text{ terkecil}} = \frac{76,3520}{64,6414} = 1,1811$$

Harga F tabel pada $\alpha = 0,05$, derajat pembilang = $12-1 = 11$, derajat penyebut = $12-1 = 11$, 2,82

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

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

$1,811 \leq 2,82$, H_0 diterima data homogen

Lampiran 10. Uji Homogenitas Data BSLT

UJI HOMOGENITAS BSLT

NO	MASERASI (X)	REFLUX (Y)	M.M	R.R
1	5.822	6.05	33.895684	36.6025
2	5.822	6.214	33.895684	38.613796
3	5.982	6.268	35.784324	39.287824
4	6.05	6.481	36.6025	42.003361
5	59.382	58.174	3526.221924	3384.214276
6	60.628	58.507	3675.754384	3423.069049
7	60.628	59.069	3675.754384	3489.146761
8	61.92	59.382	3834.0864	3526.221924
9	1619	1988	2621161	3952144
10	1630	1999	2656900	3996001
11	1652	2055	2729104	4223025
12	1678	2085	2815684	4347225
JUMLAH	6845.234	8387.145	10837701	16532374.16

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

$$Sx^2 = \sqrt{\frac{12(10837701) - (6845,234)^2}{12(11)}} = 793,893$$

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

$$Sy^2 = \sqrt{\frac{12(16532374,16) - (8387,145)^2}{12(11)}} = 984,9022$$

$$F = \frac{s \text{ terbesar}}{s \text{ terkecil}} = \frac{984,9022}{793,893} = 1,240$$

Harga F tabel = 2,82 ($\alpha = 0,05$, derajat pembilang = 12-1 = 11, derajat penyebut = 12-1 = 11)

H0 = data homogen , jika F hitung \leq F tabel,

H1 = data tak homogen , jika F hitung $>$ F tabel

1,240 \leq 2,82 , H0 diterima data homogen

Lampiran 12. Uji T Independen Antioksidan Ekstrak Air

AIR			
Maserasi		Reflux	
	68.783		77.53
	68.747		78.09
	69.553		78.5
	70.0579		79.354
jumlah	277.1409	jumlah	313.474
rata rata	69.285225	rata rata	78.3685
stdev	0.635254859	stdev	0.767929467
stdev kuadrat	0.403548736	stdev kuadrat	0.589715667

$$F = \frac{S^2}{S^2} = \frac{0,5897}{0,40354} = 1,4599, \quad F \text{ tabel } 9,28 \quad (\alpha = 0,05, dk = 3, dp = 3)$$

F hitung < F table maka data tersebut memiliki varian yang sama sehingga menggunakan rumus

$$T = \frac{X1 - X2}{\sqrt{\frac{(n1-1)s1^2 + (n2-1)s2^2}{n1+n2-2} \left[\frac{1}{n1} + \frac{1}{n2} \right]}}$$

$$T = \frac{78,3685 - 69,2852}{\sqrt{\frac{(4-1)0,5897 + (4-1)0,4035}{8-2} \left[\frac{1}{4} + \frac{1}{4} \right]}} = 18,2286$$

T tabel = 2,353

H0 = data 1 dan data 2 sama jika T hitung ≤ T tabel

H1 = ada perbedaan yang nyata dari data 1 dan data2 jika T hitung > T tabel

Thitung = 18,2286 > T tabel = 2,353 maka H0 ditolak H1 diterima artinya ada perbedaan nyata pada proses reflux dan maserasi dengan menggunakan pelarut air .

Lampiran 13. Uji Independen dan Normalitas Maserasi – Refluks Etil Asetat (Antioksidan)

TES INDEPENDENS ANTIOKSIDAN MASERASI -REFLUX ETIL ASETAT

MASERASI (F0)	(FE)	REFLUX (F0)	(FE)	JUMLAH F0
36.671	36.6999	57.6747	57.6457	94.3457
37.041	37.0384	58.1748	58.1773	95.2158
37.6638	37.4839	58.6973	58.8771	96.3611
37.1791	37.3326	58.793	58.6394	95.9721

JUMLAH 148.5548 233.3396

F0	FE	[F0-FE]	[F0-FE] ²	[F0-FE] ² /F0
36.671	36.6999	0.0289	0.00083521	2.27578E-05
37.041	37.0384	0.0026	6.76E-06	1.82513E-07
37.6638	37.4839	0.1799	0.03236401	0.000863411
37.1791	37.3326	0.1535	0.02356225	0.000631144
57.6747	57.6457	0.029	0.000841	1.45891E-05
58.1748	58.1773	0.0025	6.25E-06	1.0743E-07
58.6973	58.8771	0.1798	0.03232804	0.000549077
58.793	58.6394	0.1536	0.02359296	0.00040234

0.002483608

H0 = data independens jika χ^2 hitung $\leq \chi^2$ tabel

H1= data tak independen jika χ^2 hitung $> \chi^2$ tabel

Harga χ^2 ($\alpha=0,05$) (k-1), (n-1) (1,3) = 7,815

Harga χ^2 hitung = 0,00248

χ^2 hitung $\leq \chi^2$ tabel atau 0,00248 $<$ 7,815 maka H0 diterima

UJI NORMALITAS EKSTRAK ETIL ASETAT

NO	Xi	Z	F τ	Fs	I F τ -Fs I
1	36.671	-0.975986405	0.164535601	0.125	0.039535601
2	37.041	-0.943352832	0.172750231	0.25	0.077249769
3	37.1791	-0.931172571	0.175882152	0.375	0.199117848
4	37.6638	-0.888422589	0.18715674	0.5	0.31284326
5	57.674	0.876454005	0.809608365	0.625	0.184608365
6	58.1748	0.920623988	0.821376613	0.75	0.071376613
7	58.6973	0.966707887	0.833154958	0.875	0.041845042
8	58.793	0.975148516	0.835256702	1	0.164743298

JUMLAH 381.894

RATA RATA 47.73675

STANDAR DEVIASI 11.33801653

HARGA TABEL 0,457

selisih tertinggi 0,3128

h0 diterima data normal

Lampiran 14. Uji T Independen Antioksidan Ekstrak Etil Asetat

Etil Asetat			
Maserasi		Reflux	
	36.671		57.6747
	37.041		58.1748
	37.6638		58.6973
	37.1791		58.793
jumlah	148.5549	jumlah	233.3398
rata rata	37.138725	rata rata	58.33495
stdev	0.410548717	stdev	0.517263766
stdev kuadrat	0.168550249	stdev kuadrat	0.267561803

$$F = \frac{S^2}{s^2} = \frac{0,26756}{0,16855} = 1,5874, \text{ F tabel } 9,28 (\alpha = 0,05, dk = 3, dp = 3)$$

F hitung < F table maka data tersebut memiliki varian yang sama sehingga menggunakan rumus

$$T = \frac{X1 - X2}{\sqrt{\frac{(n1-1)s1^2 + (n2-1)s2^2}{n1+n2-2} \left[\frac{1}{n1} + \frac{1}{n2} \right]}}$$

$$T = \frac{58,3349 - 37,1387}{\sqrt{\frac{(4-1)0,2675 + (4-1)0,1685 \left[\frac{1}{4} + \frac{1}{4} \right]}}{8-2}} = 64,2014$$

T tabel = 2,353

H0 = data 1 dan data 2 sama jika T hitung ≤ T tabel

H1 = ada perbedaan yang nyata dari data 1 dan data2 jika T hitung > T tabel

T hitung = 64,2014 > T tabel = 2,353 maka H0 ditolak H1 diterima artinya ada perbedaan nyata pada proses reflux dan maserasi dengan menggunakan pelarut etil asetat .

Lampiran 15. Uji Independen dan Normalitas Maserasi – Refluks Heksan (Antioksidan)

TES INDEPENDENS ANTIOKSIDAN MASERASI -REFLUX HEKSAN

MASERASI (F0)	(FE)	REFLUX (F0)	(FE)	JUMLAH F0
181.7962	181.086	221.1827	221.8928	402.9789
181.9469	181.4941	221.9402	222.3929	403.8871
179.9469	180.9602	222.752	221.7386	402.6989
182.446	182.5956	223.8923	223.7426	406.3383

JUMLAH 726.136 889.7672

F0	FE	[F0-FE]	[F0-FE] ²	[F0-FE] ² /F0
181.7962	181.086	0.7102	0.50438404	0.002785329
181.9469	181.4941	0.4528	0.20502784	0.001129667
179.9469	180.9602	1.0133	1.02677689	0.005674048
182.446	182.5956	0.1496	0.02238016	0.000122567
221.1827	221.8928	0.7101	0.50424201	0.002272458
221.9402	222.3929	0.4527	0.20493729	0.00092151
222.752	221.7386	1.0134	1.02697956	0.004631488
223.8923	223.7426	0.1497	0.02241009	0.00010016

0.017637226

H0 = data independens jika χ^2 hitung $\leq \chi^2$ tabel

H1= data tak independen jika χ^2 hitung $> \chi^2$ tabel

Harga χ^2 ($\alpha=0,05$) (k-1), (n-1) (1,3) = 7,815

Harga χ^2 hitung = 0,01763

χ^2 hitung $\leq \chi^2$ tabel atau 0,01763 $<$ 7,815 maka H0 diterima

UJI NORMALITAS EKSTRAK HEKSAN

NO	Xi	Z	F τ	Fs	I F τ -Fs I
1	179.9469	-1.007081821	0.156947728	0.125	0.031947728
2	181.7962	-0.922594493	0.178109283	0.25	0.071890717
3	181.9469	-0.915709596	0.179909615	0.375	0.195090385
4	182.466	-0.891993935	0.186198092	0.5	0.313801908
5	221.1827	0.876821577	0.809708221	0.625	0.184708221
6	221.9402	0.911428807	0.818965259	0.75	0.068965259
7	222.752	0.948516793	0.828566786	0.875	0.046433214
8	223.8923	1.000612667	0.841492948	1	0.158507052

JUMLAH 1615.9232

RATA RATA 201.9904

STANDAR DEVIASI 21.88848964

HARGA TABEL 0,457

selisih tertinggi 0,3138

h0 diterima data normal

Lampiran 16. Uji T Independen Antioksidan Ekstrak Heksan

Heksan			
Maserasi		Reflux	
	181.7962		221.1827
	181.9469		221.9402
	179.9469		222.752
	182.446		223.8923
jumlah	726.136	jumlah	889.7672
rata rata	181.534	rata rata	222.4418
stdev	1.093902138	stdev	1.160044491
stdev kuadrat	1.196621887	stdev kuadrat	1.34570322

$$F = \frac{S^2}{S^2} = \frac{1,3457}{1,1966} = 1,1246, \quad F \text{ tabel } 9,28 \quad (\alpha = 0,05, dk = 3, dp = 3)$$

F hitung < F table maka data tersebut memiliki varian yang sama sehingga menggunakan rumus

$$T = \frac{X1 - X2}{\sqrt{\frac{(n1-1)s1^2 + (n2-1)s2^2}{n1+n2-2} \left[\frac{1}{n1} + \frac{1}{n2} \right]}}$$

$$T = \frac{222,4418 - 181,534}{\sqrt{\frac{(4-1)1,3457 + (4-1)1,1966}{8-2} \left[\frac{1}{4} + \frac{1}{4} \right]}} = 51,3124$$

T tabel = 2,353

H0 = data 1 dan data 2 sama jika T hitung ≤ T tabel

H1 = ada perbedaan yang nyata dari data 1 dan data2 jika T hitung > T tabel

T hitung = 51,3124 > T tabel = 2,353 maka H0 ditolak H1 diterima artinya ada perbedaan nyata pada proses reflux dan maserasi dengan menggunakan pelarut heksan .

Lampiran 17. Uji Normalitas dan Uji Anova Satu Jalur pada Ekstrak Maserasi (Antioksidan)

UJI NORMALITAS MASERASI ANTIOKSIDAN

NO	Xi	Z	F _τ	F _s	I F _τ -F _s I
1	36.671	-0.917399769	0.179466597	0.08333333	0.096133264
2	37.041	-0.911677297	0.180969309	0.16666667	0.014302643
3	37.1791	-0.909541423	0.181532201	0.25	0.068467799
4	37.6638	-0.902044985	0.183516486	0.33333333	0.149816847
5	68.747	-0.421307848	0.33676515	0.41666667	0.079901516
6	68.783	-0.420751067	0.336968433	0.5	0.163031567
7	69.553	-0.408842139	0.341327757	0.58333333	0.242005577
8	70.058	-0.401031738	0.344198379	0.66666667	0.322468288
9	179.9469	1.298525424	0.902946577	0.75	0.152946577
10	181.7962	1.327126957	0.907766655	0.83333333	0.074433322
11	181.9469	1.329457705	0.908151495	0.91666667	0.008515172
12	182.466	1.337486178	0.909468005	1	0.090531995

JUMLAH	1151.8519	HARGA TABEL	0,375
RATA RATA	95.98765833	selisih tertinggi	0,32246
STANDAR DEVIASI	64.65737222	h0 diterima	data normal

ANOVA SATU JALUR MASERASI ANTIOKSIDAN

	AIR	HEKSAN	EA		
	68.747	179.9469	36.671		
	68.783	181.7962	37.041		
	69.553	181.9469	37.1791		
	70.058	182.466	37.6638		
JUMLAH	277.141	726.156	148.5549	1151.8519	1326762.8
KUADRAT	76807.1339	527302.5363	22068.558	626178.2285	

KUADRAT DATA

	AIR.AIR	H.H	EA.EA	
	4726.15001	32380.88682	1344.7622	
	4731.10109	33049.85833	1372.0357	
	4837.61981	33104.67442	1382.2855	
	4908.12336	33293.84116	1418.5618	
JUMLAH	19202.9943	131829.2607	5517.6452	156549.9002

$$JKT = \sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{N} = 156549,9002 - 1326762,8/12 = 45990,2306$$

$$JKP = \frac{\sum T^2}{n} - \frac{(\sum X)^2}{N} = \frac{626178,2285}{4} - \frac{1326762,8}{12} = 45984,8875$$

$$JKG = JKT - JKP = 45990,2306 - 45984,8875 = 5,3430$$

$$KTP = JKP / P - 1 = 45984,8875 / 3 - 1 = 22992,4437$$

$$KTG = JKG / P(N-1) = 5,3430 / 3(4-1) = 5,3430 / 9 = 0,5936$$

$$F \text{ HIT} = KTP / KTG = 22992,4437 / 0,5936 = 38729,5514$$

F TABEL 4,26 ($\alpha = 0,05$, dk = 2, dp = 9) ,

H0 = maserasi menghasilkan data yang setara pada tiap tiap pelarut jika F hitung < F tabel

H1 = maserasi memberikan perbedaan nyata pada tiap tiap pelarut jika F hitung > F tabel

F hitung = 38729,5514 > F tabel = 4,26 , H0 ditolak H1 diterima , maserasi memberikan perbedaan nyata pada tiap tiap pelarut.

Lampiran 18. Uji Normalitas dan Uji Anova Satu Jalur pada Ekstrak Refluks (Antioksidan)

UJI NORMALITAS REFLUKS ANTIOKSIDAN					
NO	Xi	Z	F _τ	F _s	I F _τ -F _s I
1	57.674	-0.812564895	0.208233783	0.083333333	0.124900449
2	58.1748	-0.806005808	0.21011975	0.16666667	0.043453084
3	58.6973	-0.799162511	0.212098093	0.25	0.037901907
4	58.793	-0.797909107	0.212461619	0.333333333	0.120871714
5	77.53	-0.552506513	0.290300687	0.41666667	0.12636598
6	78.09	-0.545172071	0.292817589	0.5	0.207182411
7	78.5	-0.539802211	0.294666721	0.583333333	0.288666612
8	79.354	-0.528617186	0.298535518	0.66666667	0.368131149
9	221.1827	1.328944367	0.908066837	0.75	0.158066837
10	221.9402	1.33886551	0.90969277	0.833333333	0.076359437
11	222.752	1.349497832	0.911411442	0.91666667	0.005255225
12	223.8923	1.364432591	0.913784272	1	0.086215728

JUMLAH	1436.5803	HARGA TABEL	0,375
RATA RATA	119.715025	selisih tertinggi	0,36813
STANDAR DEVIASI	76.35208633	h0 diterima	data normal

UJI ANOVA SATU JALUR

	AIR	HEKSAN	EA		
	77.53	221.1827	57.674		
	78.09	221.9402	58.1748		
	78.5	222.752	58.6973		
	79.354	223.8923	58.793		
JUMLAH	313.474	889.7672	233.3391	1436.5803	2063762.96
KUADRAT	98265.9487	791685.6702	54447.136	944398.7545	

KUADRAT DATA

	AIR.AIR	H.H	EA.EA	
	6010.9009	48921.78678	3326.2903	
	6098.0481	49257.45238	3384.3074	
	6162.25	49618.4535	3445.373	
	6297.05732	50127.762	3456.6168	
JUMLAH	24568.2563	197925.4547	13612.588	236106.2985

$$JKT = \sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{N} = 236106,2985 - 2063762,96 / 12 = 64126,2981$$

$$JKP = \frac{\sum T^2}{n} - \frac{(\sum X)^2}{N} = \frac{944398,7545}{4} - \frac{1326762,8}{12} = 64119,38072$$

$$JKG = JKT - JKP = 64126,2981 - 64119,38072 = 6,9173$$

$$KTP = JKP/P - 1 = 64119,38072/3 - 1 = 32059,69$$

$$KTG = JKG/P(N-1) = 6,9173 / 3(4-1) = 6,9173/9 = 0,7685$$

$$F \text{ HIT} = KTP/KTG = 32059,69/0,7685 = 41717,2283$$

F TABEL 4,26 ($\alpha = 0,05$, dk = 2, dp = 9) ,

H0 = maserasi menghasilkan data yang setara pada tiap tiap pelarut jika F hitung < F tabel

H1 = maserasi memberikan perbedaan nyata pada tiap tiap pelarut jika F hitung > F tabel

F hitung = 41717,2283 > F tabel = 4,26 , H0 ditolak H1 diterima, metode refluks memberikan perbedaan nyata pada tiap tiap pelarut.

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			

LAPORAN UJI ANTIOKSIDAN

No	Sampel	Kadar (µg/ml)	Serapan Blangko	Serapan Sampel	Persen inhibisi (%)	Persamaan Regresi	IC 50 (µg/ml)
1	Vitamin C	3	0,783	0,448	42,78	Y= 32,27 + 5,950 x	2,9798
		6		0,219	72,03		
		8		0,080	89,72		
		10		0,054	93,10		
		12		0,032	95,91		
2	Ekstrak reflux air	5	0,783	0,742	5,23	Y = 2,944 + 0,593 X	79,3540
		10		0,686	12,38		
		25		0,640	18,26		
		50		0,572	26,94		
		100		0,276	64,75		
3	Ekstrak reflux etil asetat	5	0,783	0,730	6,76	Y=5,977+0,75x	58,6973
		10		0,646	17,49		
		25		0,616	21,33		
		50		0,415	46,99		
		100		0,158	79,82		
4	Ekstrak reflux heksan	5	0,783	0,753	3,83	Y=7,866 + 0,310 x	135,9161
		10		0,703	10,22		
		25		0,616	21,33		
		50		0,573	26,82		
		100		0,500	36,14		

5	Ekstrak maserasi air	5	0,783	0,702	10,34	$Y = 0,604x + 7,685$	70,0579
		10		0,646	17,49		
		25		0,600	23,37		
		50		0,540	31,03		
		100		0,226	71,13		
6	Ekstrak maserasi etil asetat	5	0,783	0,635	18,90	$Y = 0,702x + 23,56$	37,6638
		10		0,563	28,09		
		25		0,427	45,46		
		50		0,218	72,16		
		100		0,105	86,59		
7	Ekstrak maserasi heksan	5	0,783	0,774	1,15	$Y = 0,265x + 1,824$	181,7962
		10		0,750	4,21		
		25		0,703	11,37		
		50		0,665	15,07		
		100		0,563	27,84		

Lampiran 19. Uji Statistik Data Antioksidan dengan Anova Dua Jalur dengan Interaksi

	MASERASI				REFLUKS				TJB	KUADRAT TJB
	KUADRAT SUBTOTAL	SUBTOTAL	DATA	KUADRAT	KUADRAT SUBTOTAL	SUBTOTAL	DATA	KUADRAT		
AIR			68.747	4726.150009			79.354	6297.0573		
			68.783	4731.101089			78.5	6162.25		
			70.059	4908.263481			77.53	6010.9009	590.615	348826
Σ AIR	76807.688	277.142	69.553	4837.619809	98265.949	313.5	78.09	6098.0481		
ETIL ASETAT			37.6638	1418.56183			58.6973	3445.373		
			36.671	1344.762241			58.1748	3384.3074		

			37.1791	1382.285477			57.6747	3326.371	381.894	145843
ΣEA	22068.558	148.555	37.041	1372.035681	54447.462	233.3	58.793	3456.6168		
HEKSANA			181.7962	33049.85833			223.8923	50127.762		
			181.9469	33104.67442			221.9402	49257.452		
			179.9469	32380.88682			221.1827	48921.787	1615.9	2611143
Σ HEKSAN	527273.49	726.136	182.446	33286.54292	791685.67	889.8	222.752	49618.454		3105812
Σ KUADRAT DATA				156542.7421				236106.38		392649
Σ JUMLAH KOLOM			1151.8329				1436.581			2588.41
ΣKUADRATKOLOM	626149.74				944399.08					1570549
KUADRAT TJK			1326719				2063765			

$$JKT = \sum_{i=1}^b \sum_{j=1}^k \sum_{k=1}^n x_{ijk}^2 - \frac{T^2}{bkn} = 392649,1213 - (2588,41)^2 / 24 = 113487,1831$$

$$JKB = \frac{\sum_{i=1}^b T_i^2}{kn} - \frac{T^2}{bkn} = \frac{3105812,327}{4 \times 2} - \frac{6699866,3288}{24} = 109064,6027$$

$$JKK = \frac{\sum_{j=1}^k T_j^2}{bn} - \frac{T^2}{bkn} = \frac{1326719,03 + 2063764,97}{4 \times 3} - \frac{6699866,3288}{24} = 3378,3951$$

$$JK(BK) = \frac{\sum_{i=1}^b \sum_{j=1}^k T_{ij}^2}{n} - \frac{\sum_{i=1}^b T_i^2}{kn} - \frac{\sum_{j=1}^k T_j^2}{bn} + \frac{T^2}{bkn} = \frac{1570548,818}{4} + \frac{6699866,3288}{24} - 388226,549 - 282540,333 = 1032,225$$

$$JKG = JKT - JKB - JKK - JK(BK) = 113487,1831 - 3378,3951 - 1032,255 - 109064,627 = 11,906$$

$$S_1^2 = \frac{JKB}{B-1} = 54532,30135$$

$$S_2^2 = \frac{JKK}{K-1} = 3378,3951$$

$$S_3^2 = \frac{JKBK}{(k-1)(b-1)} = 516,1275$$

$$S_4^2 = \frac{JKG}{bk(n-1)} = 0,6614$$

Untuk baris H0 diterima jika F hitung < F α (v1,v2), (v1 = b-1 =3, v2= kb(n-1) = 18,

$$F_{\alpha} 0,05 (3,18) = 3,16$$

$$F1 = \frac{S_1^2}{S_4^2} = \frac{54532,30135}{0,6614} = 82449,8058$$

F1 = 82449,8058 > 3,16 = Fα 0,05 (3,18) maka H0 ditolak, H1 diterima bahwa ada perbedaan nyata antara proses refluks dan maserasi.

Untuk kolom H0 diterima jika F hitung < F α (v1,v2), (v1 = k-1 =1, v2= kb(n-1) = 18,

H1= data tak independen jika χ^2 hitung $>$ χ^2 tabel

Harga χ^2 ($\alpha=0,05$) (k-1), (n-1) (1,3) = 7,815

Harga χ^2 hitung = 0,0585

χ^2 hitung \leq χ^2 tabel atau 0,0585 $<$ 7,815 maka H0 diterima

UJI NORMALITAS EKSTRAK AIR BSLT

NO	Xi	Z	F τ	Fs	I F τ -Fs I
1	68.747	-1.036953508	0.149878762	0.125	0.024878762
2	68.783	-1.029604838	0.151597772	0.25	0.098402228
3	69.553	-0.872424946	0.191488298	0.375	0.183511702
4	70.058	-0.769339433	0.220845917	0.5	0.279154083
5	77.53	0.755917903	0.77515079	0.625	0.15015079
6	78.09	0.870230552	0.807912789	0.75	0.057912789
7	78.5	0.953923741	0.829938877	0.875	0.045061123
8	79.354	1.128250529	0.870392935	1	0.129607065

JUMLAH	590.615	HARGA TABEL	0,457
RATA RATA	73.826875	selisih tertinggi	0,279
STANDAR DEVIASI	4.898845474	h0 diterima data normal	

Lampiran 21. Uji T Independen LC50 dari Ekstrak Air

AIR			
REFLUX		MASERASI	
	59.382		58.507
	61.92		57.645
	60.628		59.382
	60.628		58.174
jumlah	242.558	jumlah	233.708
rata rata	60.6395	rata rata	58.427
stdev	1.03621925	stdev	0.728916548
stdev kuadrat	1.073750333	stdev kuadrat	0.531319333

$$F = \frac{S^2}{S^2} = \frac{1,0737}{0,5313} = 2,0208, \text{ F tabel } 9,28 (\alpha = 0,05, dk = 3, dp = 3)$$

F hitung $<$ F table maka data tersebut memiliki varian yang sama sehingga menggunakan rumus

1988	2025.9473	37.9473	1439.997577	0.710777411
2.945101683				

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

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

Harga χ^2 ($\alpha=0,05$) (k-1), (n-1) (1,3) = 7,815

Harga χ^2 hitung = 2,9451

χ^2 hitung $\leq \chi^2$ tabel atau 2,9451 $<$ 7,815 maka H_0 diterima

UJI NORMALITAS EKSTRAK ETIL ASETAT BSLT

NO	X_i	Z	F_τ	F_s	$ F_\tau - F_s $
1	36.671	-0.975986405	0.164535601	0.125	0.039535601
2	37.041	-0.943352832	0.172750231	0.25	0.077249769
3	37.1791	-0.931172571	0.175882152	0.375	0.199117848
4	37.6638	-0.888422589	0.18715674	0.5	0.31284326
5	57.674	0.876454005	0.809608365	0.625	0.184608365
6	58.1748	0.920623988	0.821376613	0.75	0.071376613
7	58.6973	0.966707887	0.833154958	0.875	0.041845042
8	58.793	0.975148516	0.835256702	1	0.164743298

JUMLAH 381.894

HARGA TABEL 0,457

RATA RATA 47.73675

selisih tertinggi 0,3128

STANDAR DEVIASI 11.33801653

h_0 diterima data normal

Lampiran 23. Uji T Independen LC 50 Ekstrak Etil Asetat

Etil Asetat			
Maserasi		Reflux	
	1630		2085
	1652		2055
	1619		1999
	1678		1988
jumlah	6579	jumlah	8127
rata rata	1644.75	rata rata	2031.75
stdev	26.06881918	stdev	46.05341102
stdev kuadrat	679.5833333	stdev kuadrat	2120.916667

$$F = \frac{S^2}{S^2} = \frac{2120,917}{679,583} = 3,1209, \text{ F tabel } 9,28 \text{ (} \alpha = 0,05, dk = 3, dp = 3 \text{)}$$

6.214	6.3375	0.1235	0.01525225	0.002406667
6.05	6.1691	0.1191	0.01418481	0.002299332
6.268	6.824	0.556	0.309136	0.04530129

0.055428128

H0 = data independens jika χ^2 hitung $\leq \chi^2$ tabel

H1= data tak independen jika χ^2 hitung $> \chi^2$ tabel

Harga χ^2 ($\alpha=0,05$) (k-1), (n-1) (1,3) = 7,815

Harga χ^2 hitung = 0,0554

χ^2 hitung $\leq \chi^2$ tabel atau 0,0554 $<$ 7,815 maka H0 diterima

UJI NORMALITAS EKSTRAK HEKSAN BSLT

NO	Xi	Z	F τ	Fs	I F τ -Fs I
1	179.9469	-1.007081821	0.156947728	0.125	0.031947728
2	181.7962	-0.922594493	0.178109283	0.25	0.071890717
3	181.9469	-0.915709596	0.179909615	0.375	0.195090385
4	182.466	-0.891993935	0.186198092	0.5	0.313801908
5	221.1827	0.876821577	0.809708221	0.625	0.184708221
6	221.9402	0.911428807	0.818965259	0.75	0.068965259
7	222.752	0.948516793	0.828566786	0.875	0.046433214
8	223.8923	1.000612667	0.841492948	1	0.158507052

JUMLAH 1615.9232

HARGA TABEL 0,457

RATA RATA 201.9904

selisih tertinggi 0,3138

STANDAR DEVIASI 21.88848964

h0 diterima data normal

Lampiran 25. Uji T Independen LC₅₀ Ekstrak Etil Asetat

Heksan			
maserasi		reflux	
	6.05		6.481
	5.982		6.214
	5.822		6.65
	5.822		6.268
jumlah	23.676	jumlah	25.613
rata rata	5.919	rata rata	6.40325
stdev	0.115394974	stdev	0.20086376
stdev kuadrat	0.013316	stdev kuadrat	0.04034625

$$F = \frac{S^2}{s^2} = \frac{0,0403}{0,0133} = 3,0300 \quad F \text{ tabel } 9,28 \quad (\alpha = 0,05, dk = 3, dp = 3)$$

F hitung < F table maka data tersebut memiliki varian yang sama sehingga menggunakan rumus

$$T = \frac{X1 - X2}{\sqrt{\frac{(n1-1)s1^2 + (n2-1)s2^2}{n1+n2-2} \left[\frac{1}{n1} + \frac{1}{n2} \right]}}$$

$$T = \frac{6,4032 - 5,919}{\sqrt{\frac{(4-1)0,0133 + (4-1)0,0403}{8-2} \left[\frac{1}{4} + \frac{1}{4} \right]}} = 4,1811$$

T tabel = 2,353

H0 = data 1 dan data 2 sama jika T hitung ≤ T tabel

H1 = ada perbedaan yang nyata dari data 1 dan data2 jika T hitung > T tabel

T hitung = 4,1811 > T tabel = 2,353 maka H0 ditolak H1 diterima artinya ada perbedaan nyata pada proses reflux dan maserasi dengan menggunakan pelarut air pada penetapan LC50 .

Lampiran 26. Uji Normalitas dan Uji Kruskal Wallis pada Ekstrak Maserasi (BSLT)

UJI NORMALITAS KADAR LC ₅₀ (BSLT) MASERASI DENGAN METODE KOLMOGOROV SMIRNOV					
NO	Xi	Z	Fτ	Fs	I Fτ-Fs I
1	5.822	-0.711196556	0.238481221	0.166666667	0.071814555
2	5.822	-0.711196556	0.238481221	0.166666667	0.071814555
3	5.982	-0.710995017	0.238543662	0.25	0.011456338
4	6.05	-0.710909363	0.238570202	0.333333333	0.094763132
5	59.382	-0.643731568	0.259874758	0.416666667	0.156791909
6	60.628	-0.642162088	0.260383973	0.583333333	0.32294936
7	60.628	-0.642162088	0.260383973	0.583333333	0.32294936
8	61.92	-0.640534665	0.26091253	0.666666667	0.405754137
9	1619	1.320786885	0.906713783	0.75	0.156713783
10	1630	1.334642652	0.909003334	0.833333333	0.075670001
11	1652	1.362354185	0.913456932	0.916666667	0.003209734
12	1678	1.395104179	0.918507787	1	0.081492213

JUMLAH 6845.234
 RATA RATA 570.4361667
 STANDAR DEVIASI 793.8932807

HARGA TABEL 0,375
 selisih tertinggi 0,4057
 h0 ditolak data tak normal

KRUSKAL WALLIS MASERASI						
	HEKSAN	RANK HEKSAN	AIR	RANK AIR	ETIL ASETAT	RANK EA
	5.822	1	58.174	5	1619	9
	5.822	2	58.507	6	1630	10
	5.982	3	59.069	7	1652	11
	6.05	4	59.382	8	1678	12

JUMLAH 23.676 10 235.132 26 6579 42
 KUADRAT 560.552976 100 58834.38 676 43283241 1764

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

$$H = \frac{12}{12(13)} \left\{ \frac{676}{4} + \frac{1764}{4} + \frac{100}{4} \right\} - 3(12+1) = 9,8461$$

H tabel $\chi^2 = 5,999$ (df = r-1 = 3-1 = 2, $\alpha = 0,05$)

H0 = proses maserasi menghasilkan data yang sama (tak berbeda nyata) , H hitung < H tabel

H1= proses maserasi menghasilkan data yang berbeda nyata , H hitung > H tabel

H hitung = 9,841 > H tabel= 5,999, H0 di tolak, H1 diterima

Lampiran 27. Uji Normalitas dan Uji Kruskal Wallis pada Ekstrak Refluks (BSLT)

UJI NORMALITAS KADAR LC ₅₀ (BSLT) REFLUX DENGAN METODE KOLMOGOROV SMIRNOV					
NO	Xi	Z	Ft	Fs	I Ft-Fs I
1	6.05	-0.7035	0.240872103	0.083333333	0.15753877
2	6.214	-0.703333486	0.240923973	0.166666667	0.074257307
3	6	-0.703278658	0.240941054	0.25	0.009058946
4	6.481	-0.703062393	0.241008434	0.333333333	0.0923249
5	58.174	-0.650576983	0.257659796	0.416666667	0.15900687
6	58.507	-0.650238878	0.257768966	0.5	0.242231034
7	59.069	-0.649668263	0.257953264	0.583333333	0.325380069
8	59.382	-0.649350465	0.258055937	0.666666667	0.40861073
9	1988	1.308831631	0.904704305	0.75	0.154704305
10	1999	1.320000252	0.906582533	0.833333333	0.0732492
11	2055	1.376858685	0.915722029	0.916666667	0.000944638
12	2085	1.40731856	0.920333526	1	0.079666474

JUMLAH 8387.145 HARGA TABEL 0,375
 RATA RATA 698.92875 selisih tertinggi 0,4086
 STANDAR DEVIASI 984.9022743 h0 ditolak data tak normal

KRUSKAL WALLIS REFLUX						
	HEKSAN	RANK HEKSAN	AIR	RANK AIR	ETIL ASETAT	RANK EA
	6.05	1	59.382	5	1988	9
	6.214	2	60.628	6	1999	10
	6.268	3	60.628	7	2055	11
	6.481	4	61.92	8	2085	12
JUMLAH	25.013	10	242.558	26	8127	42
KUADRAT	625.6502	100	55287.06	676	66048129	1764

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

$$H = \frac{12}{12(13)} \left\{ \frac{676}{4} + \frac{1764}{4} + \frac{100}{4} \right\} - 3(12+1) = 9,8461$$

$$H \text{ tabel } \chi^2 = 5,999 \text{ (df = r-1 = 3-1 = 2, } \alpha = 0,05)$$

H0 = proses maserasi menghasilkan data yang sama (tak berbeda nyata) , H hitung < H tabel

H1= proses maserasi menghasilkan data yang berbeda nyata , H hitung > H tabel

H hitung = 9,841 > H tabel= 5,999, H0 di tolak, H1 diterima