

KOREKSI KADAR FLAVONOID DAN TOKSISITAS DALAM EKSTRAK TEMPUYUNG (*SONCHUS ARVENSIS*) DAN PEGAGAN (*CENTELLA ASIATICA*)

Fajar Budi Sulaksono ¹⁾, Syamsudin AB ²⁾

¹⁾Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik Universitas Muhammadiyah Jakarta
Syamsudin.ab@ftumj.ac.id

ABSTRAK. Penelitian ini dilakukan selama dua bulan sejak 6 April sampai dengan 6 Juni 2009 di Laboratorium Uji Pusat Studi Biofarmaka Jalan Taman Kencana No. 3 Bogor. Bahan penelitian (unit sampel) adalah daun pegagan (*Centella asiatica*) tempuyung (*Sonchus arvensis*) yang diambil dari perkebunan kampus IPB. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui apakah ada pengaruh dari flavonoid yang terambil terhadap daya toksisitas terhadap larva udang (*Artemia salina*) pada ekstrak tempuyung (*Sonchus arvensis*) dan pegagan (*Centella asiatica*). Berdasarkan percobaan flavonoid yang terambil tidak berpengaruh terhadap sifat toksisitas dikarenakan pada sampel tempuyung maserasi yang memiliki flavonoid sebesar 0,0216% (b/b) hanya memiliki nilai LC50 sebesar 254.9644 dengan program SPSS, sedangkan untuk sampel tempuyung refluks Jpmg memiliki kadar flavonoid sebesar 0,0102% (b/b) memiliki nilai LC50 sebesar 7.555.855 dengan Program SPSS. Kemudian untuk sampel pegagan maserasi yang memiliki kadar flavonoid kecil yaitu sebesar 0,0088% (b/b) juga memiliki nilai LC50 yang kecil sebesar 611.508 dengan program SPSS, sedangkan untuk sampel pegagan refluks yang memiliki kadar flavonoid lebih kecil yaitu 0,0128% (b/b) memiliki kadar flavonoid sebesar 11.214.722 dengan program SPSS, oleh karena itu tidak selamanya ada korelasi antara kadar flavonoid dan nilai toksisitas pada ekstrak tempuyung dan pegagan, kadar flavonoid yang tinggi tidak selamanya memiliki daya toksisitas yang tinggi

Kata Kunci: Flavonoid, larva udang (*Artemia salina*), maserasi, pegagan (*Centella asiatica*), tempuyung (*Sonchus arvensis*),

PENDAHULUAN

Dewasa ini kebutuhan hidup manusia disegala bidang kehidupan seperti kebutuhan obat-obatan, sandang, pangan dan papan yang berkualitas semakin meningkat. Fenomena ini mendorong manusia mengusahakan berbagai macam solusi. Salah satunya dititik beratkan pada keberadaan hutan tropika yang menyimpan banyak sumber daya alam hayati yang di dalamnya termasuk sumber daya nabati. Sumber daya tersebut berkisar antara 20.000-30.000 spesies, 25% diantaranya telah diteliti dan diketahui keberadaannya, 10% dimanfaatkan untuk keperluan seperti, sandang, pangan, papan, obat-obatan dan pertanian. Sisanya masih sebuah misteri yang masih harus diteliti lebih jauh lagi (Hidayat 2002).

Sumber daya alam nabati merupakan sumber metabolit primer dan sekunder yang dapat dimanfaatkan di antaranya sebagai bahan baku obat pada industri farmasi, pengawet makanan atau suplemen makanan pada industri pangan dan sebagai pestisida alami yang ramah lingkungan pada sektor pertanian. Berbagai macam penelitian tentang tumbuhan obat banyak dilakukan di berbagai negara di dunia termasuk di Indonesia. Penelitian terhadap tanaman obat ini dilakukan dengan mencari senyawa bioaktif dalam suatu tumbuhan yang nantinya bisa digunakan sebagai obat.

Laboratorium Uji Pusat Studi Biofarmaka melakukan penelitian tentang khasiat dan manfaat tanaman-tanaman herbal baik untuk obat-obatan pada bidang kesehatan maupun dalam dunia pertanian. Salah satu penelitiannya adalah mengukur kadar metabolit sekunder dan pengujian toksisitas dari

beberapa jenis tanaman herbal. Penelitian ini meliputi identifikasi secara kuantitatif kadar Flavonoid dan menguji seberapa besar efek farmakologisnya dengan uji toksisitas pada larva udang *Artemia Salina Leach*. Tumbuhan yang diuji adalah Tempuyung

(*Sonchus arvensis*) dan Pegagan (*Centella asiatica*). Tumbuhan yang memiliki kadar flavonoid yang tinggi biasa digunakan sebagai tumbuhan obat-obatan pada masyarakat (Markham 1988). Oleh karena itu, penting dilakukan percobaan untuk membuktikan adanya korelasi antara kadar flavonoid dan daya toksisitas dari ekstrak tempuyung (*Sonchus arvensis*) dan pegagan (*Centella asiatica*).

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan dan Alat:

Bahan-bahan yang digunakan ialah simplisia tempuyung, pegagan, etanol 96%, kertas saring Whatman 24, alumunium foil, air laut, larutan twin 80, larva udang, larutan heksametilentetramina 0,5%, HC1 25%, akuades, larutan A1C1₃ 2% dalam larutan asam asetat glasial, larutan asam asetat glasial 5% dalam metanol, larutan etil asetat, aseton dan larutan standar kuarsetin.

Alat-alat yang digunakan ialah alat-alat gelas, neraca analitik, pengaduk mekanik, sudip, rotavapor, pendingin tegak, *waterbath*, kuvet dan Spektrofotometer UV-VIS.

Metode Penelitian

Ekstraksi

Ditimbang dengan teliti dalam neraca analitik untuk ekstraksi maserasi, 100,0047 gram sampel tempuyung yang telah dihaluskan lalu ditambahkan 500 ml etanol teknis 96%. Setelah itu campuran diaduk dengan alat pengaduk selama 6 jam Setelah selesai diaduk selama 6 jam, larutan kemudian didiamkan selama 24 jam, kemudian saring larutan dan tampung filtrat dalam Erlenmeyer 500 mL.

Kemudian residu kembali di ekstrak dengan 500 mL etanol teknis 96%, lalu diaduk kembali dengan alat pengaduk selama 6 jam, setelah itu didiamkan kembali selama 24 jam. Setelah didiamkan selama 24 jam, larutan kembali disaring dan filtrat disatukan dalam Erlenmeyer 500 mL. Kemudian filtrat dipekatkan menggunakan rotavapor sampai ekstrak menjadi pekat. Prosedur diulangi untuk sampel pegagan.

Ditimbang dengan teliti untuk ekstraksi refluks 100,0134 gram simplisia kering, lalu masukan sampel pada Erlenmeyer asah. Erlenmeyer asah yang sudah berisi sampel, ditambahkan 500 mL etanol teknis 96% kemudian direfluks selama 2 jam pada suhu 80°C, dihitung pada saat larutan mulai mendidih. Setelah direfluks selama 2 jam pada suhu 80°C, larutan kemudian disaring dengan kertas saring Whatman, lalu filtrat hasil penyaringan ditampung dalam Erlenmeyer 500 mL. Residu dari sisa penyaringan yang pertama dimasukan kembali dalam Erlenmeyer asah kemudian ditambahkan dengan 500 mL etanol 96%. Setelah ditambahkan dengan etanol 96%, residu direfluks selama 2 jam pada suhu 80°C. Waktu dihitung saat larutan mulai mendidih. Setelah direfluks selama 2 jam larutan disaring dan filtrat hasil penyaringan disatukan dengan filtrat hasil penyaringan yang pertama dalam Erlenmeyer 500 mL. Kemudian filtrat yang telah disatukan dipekatkan menggunakan Rotavapor sampai ekstrak menjadi pekat. Prosedur diulangi untuk sampel tempuyung.

Uji Toksisitas terhadap Larva Udang

Penetasan telur

Telur udang sebanyak 2 mg ditempatkan pada Erlenmeyer 500 mL berisi air laut. Gelas piala diberi aerator dan dibiarkan selama 48 jam. Telur akan menetas dalam 48 jam dan larva siap untuk diuji.

Penyiapan sampel

Masing-masing ekstrak tempuyung dan pegagan dengan 2 metode ekstraksi yang

berbeda, masing-masing ditimbang sebanyak 50 mg ke dalam gelas piala 50 mL. Setelah itu sampel ditambahkan dengan 3 tetes larutan twin 80, lalu sampel dilarutkan dengan sedikit air laut sambil diaduk dengan gelas pengaduk. Setelah larut, sampel dimasukan ke dalam labu takar 25 mL dan ditambahkan dengan air laut sampai tera untuk membuat larutan sampel dengan konsentrasi 500 ppm untuk tempuyung maserasi, 1000 ppm untuk tempuyung refluks dan pegagan maserasi, lalu 2000 ppm untuk pegagan refluks.

Uji bioaktivitas

Pada tiap sumur dimasukan 10 ekor larva udang dan 1 mL air laut. Pada tiap sumur dilakukan pengenceran dari masing-masing larutan stok sehingga konsentrasi ekstrak dalam sumur menjadi 10 ppm, 50 ppm, dan 250 ppm untuk ekstrak tempuyung maserasi, 10 ppm, 100 ppm, dan 500 ppm untuk sampel tempuyung refluks dan pegagan maserasi lalu 500 ppm, 750 ppm dan 1000 ppm untuk sampel pegagan refluks. Sebagai kontrol negatif digunakan larva udang dengan 2 ml air laut (tanpa ekstrak). Sumur dibiarkan terbuka selama 24 jam, setelah 24 jam dihitung jumlah larva udang yang mati (tidak menunjukkan gerakan) atau yang hidup (terus bergerak). LC50 ditentukan dengan membuat kurva hubungan antara mortalitas dengan konsentrasi ekstrak atau dapat diolah menggunakan program SPSS.

Kadar Flavonoid Ekstrak Tempuyung dan Pegagan Dengan Metode Spektrofotometri UV

Pembuatan larutan induk

Ekstrak yang setara dengan 200 mg simplisia dimasukkan ke dalam labu alas bulat, kemudian ditambahkan dengan 1 ml larutan heksametilenteramina (HMT), 20 ml aseton dan 2 mL larutan HCl, kemudian dihidrolisis dengan cara direfluks selama 30 menit. Campuran disaring menggunakan kertas saring, filtrat dimasukan ke dalam labu takar 100 liter. Filtrat dalam labu takar ditambah dengan aseton sampai 100 ml.

Diambil 20 ml filtrat, dimasukkan ke dalam corong pisah, ditambahkan 20 ml air dan diekstraksi tiga kali masing-masing dengan 15 ml etil asetat. Fraksi etil asetat dikumpulkan dan ditambah dengan etil asetat sampai 50 ml dalam labu takar.

Pembuatan larutan standar

5 mg kuarsetin ditimbang, ditambah dengan larutan asam asetat glasial 5% dalam metanol sampai 50 ml untuk membuat larutan standar dengan konsentrasi 100 ppm. Kemudian larutan standar kuarsetin 100 ppm diencerkan untuk membuat larutan standar dengan konsentrasi 75 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 10 ppm, dan 5 ppm

Pembuatan larutan blanko

Asam asetat glasial dalam metanol ditambah dengan 1 ml pereaksi AlCl₃ kemudian ditepatkan dengan larutan asam asetat glasial sampai 25 ml dalam labu takar.

Pembuatan larutan sampel

10 ml larutan induk diambil, kemudian ditambah dengan 1 ml larutan AlCl₃ dan larutan asam asetat glasial sampai 25 ml dalam labu takar.

Metode Analisa Data Pengukuran

Pengukuran dilakukan 30 menit setelah penambahan AlCl₃ menggunakan spektrofotometer ultraviolet pada panjang gelombang 370,8 nm dengan pembanding kuarsetin atau sebagai larutan standar kuarsetin.

HASIL DAN PEMBAHASAN

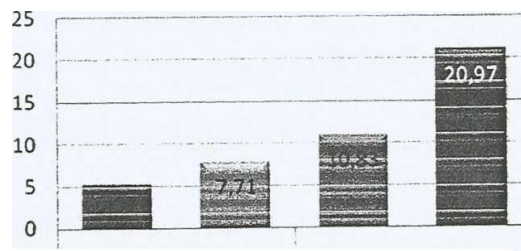
Data Hasil

Tabel 1. Data Ekstrak Tempuyung dan Pegagan

Sampel	Jenis ekstraksi	Rendemen (%)
Tempuyung	Maserasi	5.07
	Refluks	7.71
Pegagan	Maserasi	10.83

Refluks 20.97

Hasil Rendemen Ekstrak Tempuyung dan Pegagan



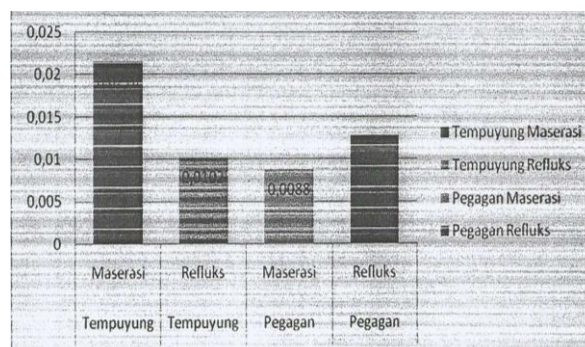
Gambar 1. Hasil Rendemen Ekstrak Tempuyung dan Pegagan

Flavonoid total dengan metode Spektrofotometri

Hasil pada percobaan dapat dilihat pada tabel 2 berikut:

Tabel 2. Data kadar flavonoid dalam ekstrak tempuyung dan pegagan

Sampel	Jenis ekstraksi	Rerata (%) (b/b) flavonoid dalam sampel
Tempuyung	Maserasi	0.0216
	Refluks	0.0102
Pegagan	Maserasi	0.0088
	Refluks	0.0128



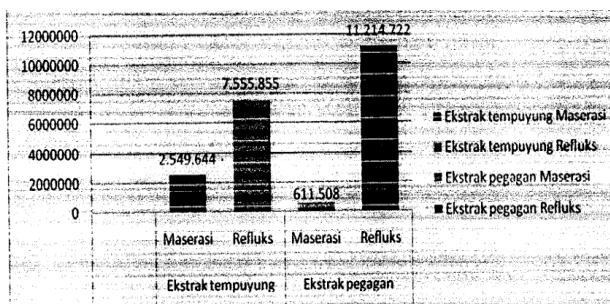
Gambar 2. Rerata (%) (b/b) flavonoid dalam sampel

Uji toksisitas pada ekstrak tempuyung dan pegagan

Pengujian toksisitas yang dilakukan terhadap tiap ekstrak diperoleh hasil seperti ditunjukkan pada tabel 3 berikut:

Tabel 3 Data hasil nilai LC50 sampel ekstrak tempuyung dan pegagan

Bahan Uji	Cara Ekstraksi	Konsentrasi (ppm)	% mortalitas Rata-rata	Nilai LC50 (SPSS)
Ekstrak Tempuyung	Maserasi	10	25	254.9644
		50	22.5	
		250	50	
	Refluks	10	0	755.5855
		100	5	
Ekstrak Pegagan	Maserasi	10	42.5	61.1508
		100	57.5	
		500	77.5	
	Refluks	500	17.5	1121.4772
		750	47.5	
		1000	37.5	



Gambar 3. Nilai LC50 menggunakan metode SPSS

Pada percobaan bila ditampilkan hasil antara kadar flavonoid dan daya toksisitas, dapat dilihat pada tabel 4 berikut:

Tabel 4. Data korelasi antara kadar flavonoid dan daya toksisitas

Bahan Uji	Cara Ekstraksi	Nilai LC50 (SPSS)	Kadar Flavonoid % (b/b) dalam sampel
Ekstrak Tempuyung	Maserasi	254.9644	0.0216
	Refluks	755.5855	0.0102
Ekstrak Pegagan	Maserasi	61.1508	0.0088
	Refluks	1121.4772	0.0128

Pembahasan

Metode Ekstraksi.

Metode ekstraksi yang digunakan pada percobaan ialah metode ekstraksi maserasi dan refluks. Pada percobaan, sampel tempuyung dan pegagan diekstraksi dengan etanol teknis 96%, karena alkohol adalah pelarut serbaguna yang baik untuk ekstraksi (Harborne 2006). Masing-masing sampel diekstraksi dengan maserasi dan refluks. Perlakuan

ini dimaksudkan agar dapat diketahui, pengaruh dari metode ekstraksi terhadap penentuan kadar flavonoid dan daya toksisitas. Hasil yang diperoleh dari ekstraksi pada sampel pegagan dan tempuyung dapat dilihat pada Tabel 1 berikut:

Tabel 5 Data Ekstrak Tempuyung dan Pegagan

Sampel	Jenis ekstraksi	Rendemen (%)
Tempuyung	Maserasi	5.07

Pegagan	Refluks	7,71
	Maserasi	10.83
	Refluks	20.97

Berdasarkan data hasil ekstraksi tabel 1, untuk mendapatkan hasil rendemen yang tinggi metode refluks lebih baik dari pada metode maserasi. Hal ini dikarenakan metode refluks adalah metode ekstraksi yang menghasilkan ekstrak yang lebih pekat dibandingkan metode ekstraksi maserasi. Pada metode ekstraksi refluks sampel diekstraksi menggunakan suhu yang tinggi sedangkan metode ekstraksi maserasi berlangsung pada suhu kamar. Pada suhu tinggi daya interaksi pelarut terhadap sampel akan tinggi, oleh karena itu senyawa yang terkandung dalam sampel lebih mudah terlarut atau terambil ke dalam pelarut yang digunakan. Oleh karena itu metode ekstraksi refluks menghasilkan sampel yang pekat, sedangkan ekstrak yang dihasilkan metode maserasi cenderung lebih encer. Perbedaan hasil ekstraksi inilah yang menyebabkan hasil rendemen yang dihasilkan metode ekstraksi refluks lebih tinggi dibandingkan metode maserasi.

Karena ekstrak yang dihasilkan lebih pekat, maka pada saat sampel dipekatkan pada rotavapor ekstrak pekat yang dihasilkan lebih banyak dan pelarut teknis yang didapatkan kembali lebih sedikit dibandingkan dengan metode maserasi yang menghasilkan pelarut mumi lebih banyak. Pada metode ekstraksi refluks rendemen yang dihasilkan dari sampel tempuyung sebesar 7.71% dan pegagan sebesar 20.97%. Sedangkan hasil rendemen metode ekstraksi maserasi dari sampel tempuyung sebesar 5.07% dan pegagan sebesar 10.83%. Sedangkan, bila dilihat dari segi jumlah pelarut yang digunakan antara metode ekstraksi refluks dan maserasi, kedua metode ekstraksi ini cenderung sama dalam penggunaan jumlah pelarut.

Ekstrak yang diperoleh dijernihkan dengan penyaringan, lalu dipekatkan dengan *rotatory evaporator* atau *rotavapor*. Pemekatan ekstrak dengan *rotavapor* ini dapat meningkatkan kualitas hasil ekstraksi, karena *rotavapor* memekatkan larutan menjadi volume kecil tanpa terjadi percikan pada suhu antara 30 dan 50°C (Harborne 2006). Prinsip pemekatan dengan *rotavapor* adalah pelarut yang digunakan untuk melarutkan sampel akan menguap dan masuk ke dalam kondensor. Pada saat sampai dalam kondensor, pelarut akan mengembun dan jatuh kedalam labu yang digunakan untuk menampung pelarut. Sehingga pada saat pemekatan dengan *rotavapor* pelarut murni bisa didapatkan kembali dan kemungkinan ekstrak yang didapat masih terkandung pelarut kecil. Semakin kering ekstrak yang didapat dari proses pemekatan dengan *rotavapor*, akan semakin baik kualitas dari ekstrak tersebut. Karena pada saat ekstrak diuji lebih lanjut dengan pengujian aktivitas ekstrak maka hasil yang didapat akan menunjukkan aktivitas yang sebenarnya dari ekstrak tersebut tanpa ada pengaruh dari pelarut yang masih ada dalam ekstrak dan kemungkinan masih adanya pelarut yang menempel pada ekstrak sangat kecil. Oleh karena itu, pemekatan

dengan *rotavapor* ini sangat penting untuk memperbanyak jumlah sampel yang terkandung pada ekstrak yang didapat. Karena bisa saja terjadi pada saat pengujian aktivitas sampel yang seharusnya aktif, menjadi tidak aktif terhadap organisme uji hanya karena jumlah sampel yang terkandung dalam ekstrak sedikit.

Flavonoid total dengan metode Spektrofotometri

Berdasarkan hasil percobaan, ekstrak simplisia yang setara dengan 200 mg direfluks kembali dengan aseton dan HC1 25%. Fungsi dari HC1 25% adalah untuk menghidrolisis senyawa flavonoid dalam bentuk glikosida dalam sampel dan penambahan aseton bertujuan untuk mengikat senyawa flavonoid dalam bentuk glikosida lain yang sedikit polar dalam air (Robinson 1995). Sehingga pada percobaan, diharapkan semua flavonoid dalam sampel dapat terambil. Setelah semua flavonoid diharapkan terambil ketika proses refluks, selanjutnya sampel diekstraksi dengan etil asetat. Etil asetat adalah pelarut organik yang bersifat sedikit polar. Penambahan etil asetat bertujuan untuk memisahkan senyawa golongan flavonoid dari senyawa yang lebih polar seperti karbohidrat. Etil asetat juga berguna untuk mengambil katekin dan proantosianidin yang termasuk dalam golongan senyawa flavonoid (Robinson 1995). Pada percobaan, digunakan standar sebagai pembanding adalah kuarsetin.

Percobaan menggunakan pereaksi $AlCl_3$, pereaksi $AlCl_3$ akan berikatan dengan sampel atau standar kuarsetin membentuk kompleks warna fluoresensi kimling-hijau. Keberadaan cincin aromatik terkonjugasi dan kompleks hijau yang terbentuk dengan pereaksi $AlCl_3$ akan menyebabkan flavonoid menunjukkan pita serapan kuat pada daerah spektrum UV dan spektrum tampak (Harborne 2006). Panjang gelombang yang digunakan pada pengukuran menggunakan spektrofotometer adalah 370.8 nm. Pada

percobaan standar kuarsetin membentuk kompleks warna hijau, sedangkan untuk sampel tempuyung maserasi, tempuyung refluks, pegagan maserasi dan pegagan refluks membentuk kompleks warna yang tak sama seperti standar. Setelah penambahan $AlCl_3$, standar dan sampel didiamkan dulu selama 30 menit sebelum diukur pada spektrofotometer (BPOM 2005). Hal ini bertujuan agar semua komponen flavonoid yang terdapat pada standar dan sampel membentuk kompleks warna dengan sempurna. Hasil pada percobaan dapat dilihat pada tabel 6 berikut:

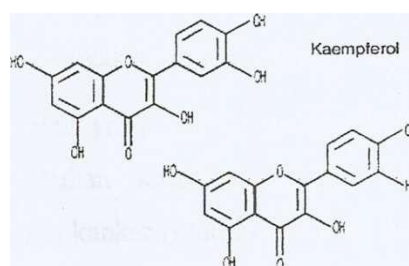
Tabel 6 Data kadar flavonoid dalam ekstrak tempuyung dan pegagan

Sampel	Jenis ekstraksi	Rerata (%) (b/b) flavonoid dalam sampel
Tempuyung	Maserasi	0.0216
	Refluks	0.0102
Pegagan	Maserasi	0.0088
	Refluks	0.0128

Hasil yang diperoleh pada percobaan, sampel pegagan refluks memiliki kadar flavonoid total sebesar 0.0128% (b/b) Sedangkan sampel pegagan maserasi memiliki kadar flavonoid lebih kecil daripada sampel pegagan refluks, yaitu sebesar 0.0088% (b/b) (Tabel 6). Kadar flavonoid pada pegagan refluks lebih tinggi dibandingkan dengan pegagan maserasi, hal ini dimungkinkan karena pada sampel pegagan metode ekstraksi refluks, hampir semua senyawa yang terkandung dalam ekstrak tersebut dapat terambil akibat metode ekstraksi yang menggunakan pemanasan. Hal tersebut mungkin juga ditunjang dengan komponen flavonoid yang terdapat dalam pegagan bersifat tahan panas, sehingga flavonoid dalam sampel pegagan banyak menyerap radiasi pada panjang gelombang 370.8 nm.

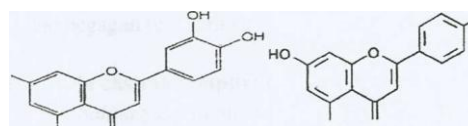
Flavonoid yang terkandung pada sampel tempuyung maserasi pada percobaan sedikit lebih tinggi daripada sampel

tempuyung refluks (Tabel 6). Kadar flavonoid total dalam tempuyung maserasi sebesar 0.0216% (b/b). Sedangkan kadar flavonoid total pada sampel tempuyung refluks sedikit lebih rendah yaitu 0.0102% (b/b). Hal ini dapat terjadi karena tidak semua flavonoid bersifat tahan panas. Sifat ini bergantung pada sejauh mana kandungan flavonoid dalam bahan alam memiliki gugus OH agar setiap senyawa didalamnya dapat berikatan hidrogen dengan kuat sehingga untuk memutus ikatan ini diperlukan energi yang kuat.



Gambar 4. Struktur kaempferol dan kuarsetin

Dilihat dari strukturnya, apigenin dan luteolin (Gambar 5) memiliki gugus OH yang lebih sedikit dibandingkan dengan kaempferol dan kuarsetin (Gambar 4) sebagai standar yang memiliki gugus OH yang lebih banyak. Dilihat dari mayoritas kandungan flavonoidnya yang lebih banyak apigenin dan luteolin dari pada kaempferol, bisa disimpulkan bahwa ikatan hidrogen antar ikatannya cenderung lemah dan mudah rusak atau terputus dengan panas. Ikatan yang telah terputus terurai menjadi bentuk yang lain, sehingga senyawa yang terurai tersebut menjadi bentuk lain yang tidak bisa menyerap radiasi pada panjang gelombang 370.8 nm. Hal inilah yang menyebabkan kadar flavonoid dalam tempuyung refluks lebih rendah dari pada kadar flavonoid dalam tempuyung maserasi.



Gambar 5. Luteolin dan apigenin

Tempuyung dengan metode ekstraksi maserasi, cenderung lebih kecil kemungkinan komponen rusak, karena pada tahap awal ekstraksi, metode ini tidak melibatkan pemanasan, sehingga pemanasan hanya terjadi pada saat preparasi sampel untuk kadar flavonoid. Sedangkan untuk sampel tempuyung maserasi, dari awal ekstraksi, metode ini sudah melibatkan pemanasan sehingga pada tahap preparasi sampel kadar flavonoid, pemanasan yang kedua dimungkinkan menimbulkan efek yang lebih hebat yang berpengaruh dalam pemutusan ikatan. Pada flavonoid, tidak semua golongan flavonoid dapat berikatan dengan sempurna dengan pereaksi warna $AlCl_3$ membentuk kompleks warna, karena pereaksi warna untuk flavonoid tidak hanya $AlCl_3$ 2%, tetapi bisa dengan $FeCl_3-K_3Fe(CN)_6$ (1:1) dengan hasil biru dan pereaksi Folin Ciocalteu (Harborne 2006).

Tumbuhan herbal yang diduga mengandung banyak flavonoid biasanya digunakan sebagai bahan untuk pengobatan. Karena flavonoid diduga bisa digunakan sebagai anti kanker (Markham 1988). Dari pernyataan tersebut tersirat bahwa ada korelasi antara kadar flavonoid dengan daya toksisitas terhadap larva udang. Oleh karena itu pada percobaan ini juga dilakukan analisis toksisitas ekstrak tempuyung dan pegagan terhadap larva udang (*Artemia Salina Leach*).

Uji toksisitas pada ekstrak tempuyung dan pegagan

Organisme uji *A. Salina* yang digunakan untuk uji toksisitas diperoleh dari hasil penetasan menggunakan air laut dengan bantuan aerator untuk memenuhi kadar oksigen yang terlarut. Gelembung udara yang berasal dari aerator dengan kekuatan sedang juga berfungsi mengaduk telur sehingga telur tidak mengendap pada dasar wadah yang dapat menyebabkan telur sulit menetas akibat kekurangan oksigen (Wardani

2008). Larva udang yang digunakan berumur 48 jam. Pada umur tersebut, larva *A. Salina* bersifat peka Hal ini disebabkan membran sel larva masih lunak sehingga memudahkan senyawa asing dalam air laut masuk ke dalam tubuh larva dan menyebabkan kematian (Wardani 2008). Pemeriksaan toksisitas pada larva udang merupakan pemeriksaan toksisitas awal yang diperlukan untuk mengetahui berapa konsentrasi yang dapat menyebabkan keracunan. Tingkat konsentrasi yang dapat menyebabkan keracunan dapat ditentukan, salah satunya dengan letal konsentrasi 50% (LC50). LC50 adalah konsentrasi dari suatu bahan yang menyebabkan 50% kematian dalam suatu populasi. LC50 dapat digunakan untuk menentukan toksisitas awal dari suatu zat. Data mortalitas hewan uji yang diperoleh dapat diolah untuk mendapatkan nilai LC50 dengan selang kepercayaan 95% (Wardani 2008). Pengujian toksisitas yang dilakukan terhadap tiap ekstrak diperoleh hasil seperti ditunjukkan pada tabel 7 berikut:

Tabel 7 Data hasil nilai LC50 sampel ekstrak tempuyung dan pegagan

Bahan uji	Cara ekstraksi	Konsentrasi (ppm)	mortalitas Rata-rata	Nilai LC50 (SPSS)
Ekstrak tempuyung	Maserasi	10 50 250	25 22.5 50	254.96 44
	Refluks	10 100 500	0 5 22.5	755.58 55
Ekstrak pegagan	Maserasi	10 100 500	42.5 57.5 77,5	61.150 8
	Refluks	500 750 1000	17.5 47.5	1121.4 772

			37.5	
--	--	--	------	--

Data lengkap dari tabel di atas bisa dilihat pada Lampiran 5, 6, 7 dan 8. Bila melihat hasil yang diperoleh pada percobaan, terlihat bagaimana pengaruh metode ekstraksi terhadap aktivitas komponen yang terkandung didalam sampel sangat besar. Pada sampel herba tempuyung, nilai LC50 dari metode ekstraksi refluks lebih besar dibandingkan nilai LC50 pada metode ekstraksi maserasi. Pada tempuyung refluks, nilai LC50 sebesar 755.5855 ppm sedangkan pada tempuyung maserasi nilai LC50 sebesar 254.9644 ppm (Tabel 3). Hal yang sama juga terjadi pada sampel pegagan, dimana metode ekstraksi sangat berpengaruh pada nilai LC50 yang diperoleh pada percobaan. Pada pegagan refluks, nilai LC50 sebesar 1121.4772 ppm sedangkan pada pegagan maserasi nilai LC50 sebesar 61.1508 ppm (Tabel 3). Pada kedua sampel yang diujikan, nilai LC50 sampel yang diekstraksi menggunakan metode maserasi lebih toksik dibandingkan dengan sampel yang diekstraksi dengan metode refluks. Konsentrasi yang kecil pada nilai LC50 menjadi ukuran bahwa pada konsentrasi yang kecil, sampel ini memiliki toksisitas yang cukup untuk membunuh setengah dari populasi larva udang yang digunakan sebagai organisme uji pada percobaan. Sampel yang diekstraksi dengan metode refluks memiliki kemungkinan komponen yang terkandung di dalamnya rusak akibat pemanasan. Mengingat metode ekstraksi ini memiliki kemungkinan rusaknya komponen lebih besar dibanding metode maserasi yang sama sekali tidak melibatkan pemanasan. Nilai LC50 masing-masing ekstrak ini menjadi batas penentuan ragam konsentrasi, mengingat dalam formula obat akan lebih aman jika dibuat di bawah nilai LC50-nya. Tumbuhan herbal yang diduga mengandung banyak flavonoid biasanya digunakan sebagai bahan untuk pengobatan. Dari pernyataan tersebut bisa diartikan bahwa semakin banyak flavonoid yang terkandung pada sampel seharusnya sampel akan bersifat semakin

toksik pada larva udang sebagai organisme uji. Pada percobaan bila ditampilkan hasil antara kadar flavonoid dan daya toksisitas, dapat dilihat pada tabel 3. Hal ini dimungkinkan pada pegagan, senyawa yang bersifat lebih toksik terhadap organisme uji adalah senyawa lain diluar golongan flavonoid. Oleh karena itu bisa dikatakan bahwa tidak ada pengaruh dari flavonoid yang terambil terhadap daya toksisitas atau tidak selamanya ada korelasi antara kadar flavonoid dengan daya toksisitas pada ekstrak tempuyung dan pegagan yang telah dilakukan pada penelitian ini.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan percobaan Flavonoid yang terambil tidak berpengaruh terhadap daya toksisitas dikarenakan pada sampel tempuyung maserasi yang memiliki kadar Flavonoid sebesar 0,0216% (b/b) hanya memiliki nilai LC50 sebesar 2.549.644 dengan program SPSS, sedangkan untuk sampel tempuyung Refluks yang memiliki kadar Flavonoid sebesar 0,0102% (b/b) memiliki nilai LC50 sebesar 7.555.855 dengan Program SPSS. Kemudian untuk sampel Pegagan maserasi yang memiliki kadar Flavonoid kecil yaitu sebesar 0,0088% (b/b) juga memiliki nilai LC50 yang kecil sebesar 611.508 dengan program SPSS, sedangkan untuk sampel Pegagan refluks yang memiliki kadar Flavonoid lebih tinggi yaitu 0,0128% (b/b) memiliki kadar Flavonoid sebesar 11.214.722 dengan program SPSS, oleh karena itu tidak selamanya ada korelasi antara kadar flavonoid dan nilai toksisitas pada ekstrak tempuyung dan pegagan, kadar flavonoid yang tinggi tidak selamanya memiliki daya toksisitas yang tinggi.

Saran

Perlu diadakan identifikasi lebih lanjut terhadap kandungan senyawa selain golongan flavonoid pada daun pegagan dan tempuyung dengan metode Fitokimia. Sehingga dapat diketahui senyawa lain

seperti alkaloid yang kemungkinan mempengaruhi daya toksisitas dalam ekstrak tempuyung dan pegagan.

DAFTAR PUSTAKA

Harborne J.B. 1987. *Metoda Fitokimia*. Padmawinata K, Soediro I, penerjemah. Bandung: Penerbit ITB. Tejemahan dari: *Phytochemical Method*.

Hidayat Mochamad Gelar. 2002. *Penapisan Fitokimia Dan Uji Toksisitas Pada Ekstrak Daun Kaliandra Merah* (skripsi). Bogor: Fakultas MIPA Institut Pertanian Bogor.

Markham K.R., 1988, *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Padmawinata K, penerjemah. Bandung: Penerbit ITB. Tejemahan dari: *Techniques of Flavonoid Identification*.

Robinson Trevor. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Padmawinata K, penerjemah. Bandung: Penerbit ITB. Tejemahan dari: *The Organic Constituents of Higher Plants*.

Wardani Chintya Galuh Tri. 2008. *Potensi Ekstrak Tempuyung dan Meniran Sebagai Antiasam Urat : Aktivitas Inhibisinya Terhadap Xantin Oksidase* (Skripsi). Bogor: Fakultas MIPA Institut Pertanian Bogor.