

Jurnal Ilmiah Farmasi
FITOFARMAKA
Scientific Journal of Pharmacy

RESEARCH ARTICLES

1. AKTIVITAS EKSTRAK TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) TERHADAP PROLIFERASI DAN DIFERENSIASI SEL OTAK BESAR ANAK TIKUS BERUMUR TIGA HARI SECARA IN VITRO
Min Rahminiwati, Ita Juwita, Ani Murtisari, Latifah K Darusman
2. UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL AKAR, KULIT BATANG DAN DAUN TANAMAN SAMBILOTO (*Andrographis paniculata* Ness.) DENGAN METODE LINOLEAT - TIOSIANAT
Sri Wardatun
3. TOKSISITAS BEBERAPA EKSTRAK RIMPANG CABANG TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) PADA LARVA UDANG (*Artemiasalina* Leach.)
Prasetyorini, Ike Yulia Wiendarlina, Anisa Bela Peron
4. IDENTIFIKASI MUTASI PADA DAERAH DNA POLIMERASE DAN HBsAg VIRUS HEPATITIS B
Cysilia K Hindarto, Tina Rostinawati, Debbie S Retnoningrum



DAFTAR ISI

Susunan Redaksi	i
Ucapan Terima Kasih	ii
Pengantar Redaksi	iii
Daftar Isi	iv
1. AKTIVITAS EKSTRAK TEMULAWAK (<i>Curcuma xanthorrhiza</i> Roxb.) TERHADAP PROLIFERASI DAN DIFERENSIASI SEL OTAK BESAR ANAK TIKUS BERUMUR TIGA HARI SECARA IN VITRO	37 - 44
<i>Min Rahminiwati, Ita Juwita, Ani Murtisari, Latifah K Darusman</i>	
2. UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL AKAR, KULIT BATANG DAN DAUN TANAMAN SAMBILOTO (<i>Andrographis paniculata</i> Ness.) DENGAN METODE LINOLEAT - TIOSIANAT	46 - 49
<i>Sri Wardatun</i>	
3. TOKSISITAS BEBERAPA EKSTRAK RIMPANG CABANG TEMULAWAK (<i>Curcuma xanthorrhiza</i> Roxb.) PADA LARVA UDANG (<i>Artemiasalina</i> Leach.)	50 - 57
<i>Prasetyorini, Ike Yulia Wiendarlina, Anisa Bela Peron</i>	
4. IDENTIFIKASI MUTASI PADA DAERAH DNA POLIMERASE DAN HBsAg VIRUS HEPATITIS B	58 - 66
<i>Cysilia K Hindarto, Tina Rostinawati, Debbie S Retnoningrum</i>	

Hasil analisis statistik dengan uji Duncan ($\alpha=0,01$) diperoleh bahwa potensi antioksidan dari ekstrak daun 0,5%, ekstrak kulit batang 0,5% dan akar pada konsentrasi (0,1; 0,25; dan 0,5%) tidak berbeda nyata dengan kontrol positif. Berdasarkan hasil tersebut ekstrak daun pada konsentrasi 0,5%, ekstrak kulit batang pada konsentrasi 0,5% dan ekstrak akar pada konsentrasi 0,1; 0,25 dan 0,5% memiliki aktivitas antioksidan yang lebih besar dibanding vitamin E dan memiliki kemampuan sebagai antioksidasi yang lebih baik dibanding ekstrak daun dan kulit batang sambiloto pada konsentrasi yang lebih rendah

KESIMPULAN

1. Daya antioksidan ekstrak etanol daun pada konsentrasi 0,5%, memiliki daya antioksidan sebesar 76,63%, ekstrak kulit batang pada konsentrasi 0,5% memiliki daya antioksidan 75,93%, dan ekstrak akar pada konsentrasi 0,1; 0,25 dan 0,5% masing-masing memiliki daya antioksidan 75,59; 79,37; dan 78,32%. Sedangkan daya antioksidan vitamin E sebesar 75,37%.
2. Ekstrak etanol daun pada konsentrasi 0,5%, ekstrak kulit batang pada konsentrasi 0,5% serta ekstrak akar pada konsentrasi 0,1; 0,25 dan 0,5% memiliki aktivitas antioksidan lebih baik dibandingkan aktivitas antioksidan vitamin E.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui senyawa bioaktif yang berperan sebagai antioksidan dan menentukan kadarnya.

DAFTAR PUSTAKA

Dalimartha, S dan S.Moeryati.1998.Awet Muda Dengan Tumbuhan Obat dan Diet Suplemen.*Trubus Agrawidya*. Jakarta.Hal: 120-125.

Dyatmiko, W.,MH Sentosa dan AF Hafid.2000. *Aktivitas Penangkapan Radikal Bebas Dalam Sistem Molekuler dan Seluler Sari Rimpang Tanaman Obat Zingiberaceae*. Lembaga Penelitian Universitas Airlangga. Pusat Penelitian Obat Tradisional Universitas Airlangga. Surabaya.

Harti, S., S.Zuraina dan E.Sukarti, 1991.*Survey Produsen Jamu Gendong di Surabaya*. Pusat Penelitian Obat Tradisional Unika Widya Mandala. Surabaya.

Heyne, K. 1987 *Tumbuhan Berguna Indonesia*.Jilid 3.Yayasan Sarana Wana jaya. Jakarta.

Limiyati, A.D dan Y.S. Essay. 2003. Uji Antioksidan, Antiradikal Bebas Dan Penentuan EC 50 Ekstrak Diklorometana Serta Ekstrak Metanol Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata* Burn.F.Ness.). *Jurnal Obat Bahan Alam*.Vol.1. No.2. Surabaya.

Leswara, D., dan N. Katrin. 1998. Perbandingan Daya Antioksidan Beberapa Jenis Benalu Menggunakan Metode Spektrofotometri. *Warta TumbuhanObat*. Jakarta. Vol 4. Hal 10-12.

Kikuzaki, H., S.Hara., K.Yayoi., dan N. Nakatani. 1999. Antioxidative Phenylpropanoids From Berries Of *Pimenta dioica*. *Journal OfPhytochemistry*. 52 : 1307-1312.

Maat.2001 Manfaat Tanaman Obat Asli Indonesia Bagi Kesehatan. Lokakarya Pengembangan Agribisnis Berbasis Biofarmaka. Jakarta

Muliawati, E.S. 2002. Kajian Tingkat Serapan Hara, Pertumbuhan dan Produksi Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) pada Beberapa Komposisi Media Tanam dan Tingkat Penyiraman. *Prosiding Simposium Nasional II Tumbuhan Obat dan aromatik APINMAP*. Bogor. Hal 251-252

Prapanza, I dan L.A. Marianto, SP. 2003.*Khasiat dan Manfaat Sambiloto: Raja Pahit Penakluk Penyakit*. Agromedia .

TOKSISITAS BEBERAPA EKSTRAK RIMPANG CABANG TEMULAWAK (*Curcumaxanthorrhiza* Roxb.) PADA LARVA UDANG (*Artemiasalina* Leach.)

Prasetyorini¹, Ike Yulia Wiendarlina², Anisa Bela Peron²

¹Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Pakuan

²Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Pakuan

ABSTRAK

Pengujian toksisitas beberapa ekstrak rimpang temulawak hasil ekstraksi dengan metode yang berbeda telah dilakukan terhadap larva udang *Artemiasalina* dengan menggunakan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi, soxhletasi dan refluks. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi adalah etanol 96%. Toksisitas diukur dengan menghitung jumlah larva udang yang mati, kemudian nilai LC_{50} untuk setiap ekstrak ditentukan dengan menggunakan *Probit Analisis Method*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai LC_{50} ekstrak yang diperoleh dengan metode maserasi, soxhlet dan refluks berturut-turut adalah 14.87 ppm, 19.13 ppm dan 35.92 ppm. Ekstrak rimpang temulawak dengan metode maserasi merupakan ekstrak teraktif. Hasil penapisan fitokimia menunjukkan bahwa dalam ekstrak hasil maserasi tersebut dapat diidentifikasi adanya senyawa golongan alkaloid, flavonoid, steroid, kuinon dan triterpenoid.

Kata kunci : Antitumor, Toksisitas dan *Artemia salina*

PENDAHULUAN

Tumor adalah suatu penyakit sel dengan ciri gangguan atau kegagalan mekanisme pengatur multiplikasi dan fungsi homeostatis lainnya yang terjadi pada organisme multiseluler. Jenis tumor ada 2 macam, yaitu tumor jinak dan tumor ganas. Tumor jinak mempunyai sifat tidak banyak mengganggu organ yang terkena, dan pertumbuhannya sangat lambat atau bahkan tidak menyebar. Tumor ganas mempunyai sifat yang sangat berbeda, karena mempunyai pertumbuhan yang sangat cepat yang menyebabkan gangguan pada fungsi organ yang terkena, selain itu sifat tumor ganas yang sangat ditakuti adalah daya sebar yang sangat cepat. Tumor ganas ini dikenal dengan sebutan kanker, dan penyebab kanker disebut karsinogen (Sidik, *et al.* 1992).

Tahap-tahap penting pembentukan sel kanker adalah inisiasi dengan terjadinya perubahan DNA, promosi yang meliputi perkembangbiakan sel dan perubahan

menjadi premalignant, serta tahap progresi dan invasi (penyusupan ke jaringan sekitar) dan metastasis yaitu penyebaran melalui pembuluh darah dan pembuluh getah bening (Schunack *et al.* 1990).

Karena banyaknya faktor endogen dan eksogen yang berperan pada timbulnya tumor atau kanker, maka pencegahan ataupun pengobatannya menjadi sesuatu yang cukup kompleks. Beberapa obat yang dinyatakan sebagai antikanker sebenarnya merupakan analog sintetik dari obat-obat yang sudah dikenal efektif. Sebagian diantaranya merupakan bahan alam yang diisolasi dari mikroorganisme atau tumbuhan, serta sebagian lain mewakili upaya dalam rancangan obat yang rasional berdasarkan kemampuannya untuk menghambat kerja enzim atau komponen lain yang esensial untuk pertumbuhan sel tumor. Salah satu bahan alam yang pernah diteliti aktivitasnya untuk aktivitas antitumor adalah temulawak (WHO, 1999).

Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) adalah salah satu tanaman obat

yang sering digunakan oleh masyarakat Indonesia sebagai obat tradisional, tanaman ini termasuk ke dalam famili *Zingiberaceae*. Temulawak adalah tanaman monokotil yang tidak memiliki akar tunggang, akar yang dimiliki berupa rimpang yang terdiri dari rimpang utama (induk) dan rimpang samping (cabang). Rimpang induk atau rimpang utama berbentuk jorong atau gelendong, sedangkan rimpang samping atau rimpang cabang berupa akar yang menggembung pada ujungnya membentuk umbi. Rimpang samping atau cabang yang dihasilkan setiap kali pemanenan jumlahnya hampir sama dengan rimpang utama, tetapi rimpang cabang ini selalu dibuang karena dianggap tidak mempunyai khasiat obat, untuk itu perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui kandungan zat berkhasiat dan potensi sebagai tanaman obat. Rimpang temulawak diketahui memiliki banyak manfaat diantaranya sebagai antihepatitis, antihiperlipidemia, antiinflamasi, antitumor, antioksidan, antikarsinogenik, antimikroba, antiviral dan detoksifikasi (WHO, 1999)

Penelitian terdahulu terhadap rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.), diketahui bahwa rimpang temulawak merupakan salah satu bagian tanaman yang dimanfaatkan dalam mencegah dan mengobati berbagai penyakit. Rimpang temulawak mengandung dua komponen utama yaitu 1,6-2,2% kurkuminoid dan 1,48-1,63% minyak atsiri, selain itu rimpang temulawak segar juga mengandung selulosa, pati, protein, mineral (Depkes, 1992). Pemanfaatan bahan tanaman sebagai bahan obat sangat ditentukan oleh kandungan zat aktif yang dikandung dalam bahan tanaman tersebut. Mendapatkan bahan aktif dari dalam tanaman juga sangat ditentukan oleh bagaimana cara atau metode mengambilnya. Disamping metode mengambil bahan aktif tersebut juga ditentukan oleh pelarut yang digunakan.

Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) adalah metode menguji aktivitas

suatu senyawa menggunakan hewan uji berupa larva udang *Artemia salina* Leach. Metode ini merupakan salah satu metode yang banyak digunakan dalam memandu pencarian senyawa anti kanker yang berasal dari tumbuhan. Metoda ini telah digunakan sejak 1956 untuk berbagai pengamatan bioaktivitas antara lain untuk mengetahui residu pestisida, anestetik lokal, senyawa turunan morfin, mikotoksin, karsinogenitas suatu senyawa (Meyer, 1982). Metode ini merupakan bioassay yang cepat, murah, dapat dipercaya dan hasil yang diperoleh sering dihubungkan dengan aktivitas sitotoksik yang merupakan syarat utama obat-obat antitumor. Sementara, hasil ekstraksi dengan metode yang berbeda juga akan menghasilkan ekstrak yang berbeda. Berdasarkan alasan yang telah diuraikan, maka perlu dilakukan penelitian tentang pengaruh metode ekstraksi rimpang cabang temulawak terhadap toksisitas larva *A. salina* dengan uji BSLT. Penelitian ini juga untuk mengetahui apakah rimpang cabang temulawak mempunyai bioaktivitas seperti rimpang induk. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya pengaruh metode ekstraksi rimpang cabang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) terhadap toksisitas larva udang (*Artemia salina* Leach.).

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan dari bulan Desember 2006 sampai Februari 2007 di Laboratorium Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pakuan dan Laboratorium Uji Biofarmaka, Bogor. Bahan yang digunakan adalah rimpang cabang temulawak yang didapat dari Kebun Percobaan Balai Penelitian Tanaman Industri di Sukamulya Sukabumi, telur *Artemia salina* Leach., etanol 96%, aquades, air laut, Tween 80, Pereaksi Dragendorf, Pereaksi Mayer, Pereaksi Wagner, NH₃, CHCl₃, H₂SO₄ 2M, serbuk Mg, HCl pekat, Amil alkohol, FeCl₃ 10%, Dietil eter, H₂SO₄ pekat, CH₃COOH

anhidrat, metanol, NaOH 10%, Toluene, Etil Asetat, Asam Format. Alat-alat yang digunakan antara lain: alat-alat kaca, evaporator, bejana kromatografi, lempeng tetes, plat kromatografi, silica gel GF₂₅₄, cawan penguap, neraca analitik, eksikator.

Penelitian dilakukan dalam dua tahap. Tahap pertama adalah analisis pendahuluan yang meliputi pengujian kadar air, kadar abu, dan uji fitokimia terhadap serbuk simplisia kering rimpang cabang temulawak. Tahap kedua adalah ekstraksi, metode ekstraksi yang digunakan untuk pengambilan ekstrak adalah tiga metode yaitu maserasi, soxhletasi dan refluks. Metode ekstraksi yang berbeda dilakukan untuk melihat pengaruh suhu pada keaktifan tiap ekstrak terhadap toksisitas larva udang *A. salina* dan perolehan rendemen. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi rimpang cabang temulawak adalah etanol 96%. Penggunaan etanol dimaksudkan agar semua senyawa kimia baik yang kurang polar, semi polar sampai polar dapat terekstraksi semaksimal mungkin. Umumnya etanol dapat mengekstraksi senyawa alkaloid, sterol, saponin, flavonoid, antrakuinon dan glikosida (Harborne, 1987). Selanjutnya menguji senyawa yang terekstrak terhadap larva udang *Artemia salina* Leach. yang telah berumur 48 jam. Ekstrak yang menunjukkan toksisitas paling tinggi kemudian dilakukan Uji KLT dan fitokimia.

Uji Fitokimia

Uji fitokimia didasarkan pada identifikasi warna dan endapan yang terbentuk, uji fitokimia yang dilakukan yaitu meliputi: alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid/steroid dan kuinon. Uji Alkaloid dilakukan dengan menimbang 1 gram sampel ditambahkan beberapa tetes NH₃ lalu dihaluskan dan tambahkan 5 mL kloroform kemudian disaring, filtrat ditambahkan beberapa tetes asam sulfat 2M, lalu dikocok sehingga terbentuk dua lapisan. Lapisan asam

dipisahkan, kemudian larutan dibagi ke dalam 3 tabung reaksi. Ke dalam masing-masing tabung ditambahkan pereaksi Dragendorf, pereaksi Mayer dan pereaksi Wagner. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan warna merah jingga pada pereaksi Dragendorf, endapan putih pada pereaksi Mayer dan endapan coklat pada pereaksi Wagner.

Uji steroid-triterpenoid dilakukan dengan menimbang 1 gram sampel ditambah etanol panas sambil diaduk kemudian disaring, selanjutnya filtrat dipanaskan hingga kering, kemudian tambahkan 1 tetes H₂SO₄ pekat dan 1 tetes CH₃COOH anhidrat. Bila dihasilkan warna hijau atau biru menandakan adanya steroid sedangkan warna merah atau ungu menandakan sampel positif mengandung triterpenoid.

Uji flavonoid, saponin, sanin dilakukan dengan menimbang 5 gram serbuk simplisia masukkan dalam gelas piala tambahkan 100 mL aquadest dan dididihkan selama 5 menit, kemudian disaring dan filtratnya digunakan untuk pengujian. Sebanyak 10 mL filtrat ditambahkan serbuk magnesium, 0,2 mL HCl pekat lalu ditambahkan amil alkohol. Campuran dikocok dan biarkan memisah. Senyawa flavonoid ditandai dengan terbentuk warna merah, kuning, jingga pada lapisan amil alkohol.

Uji saponin dilakukan dengan pengocokan 10 mL filtrat dalam tabung reaksi tertutup selama 10 detik kemudian dibiarkan selama 10 menit. Adanya saponin ditandai dengan terbentuknya busa yang stabil. Uji tanin dilakukan dengan menambahkan kedalam 10 mL filtrat beberapa tetes FeCl₃ 1%. Identifikasi tanin ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru / hijau kehitaman. Uji kuinon dilakukan dengan menimbang 1 gram sampel ditambahkan metanol kemudian dipanaskan dan disaring, selanjutnya filtrat diuji dengan menambahkan 3 tetes NaOH 10%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah dari filtrat.

Ekstraksi Dan Persiapan Larutan Uji

Sebanyak 25 g serbuk rimpang cabang temulawak diekstraksi dengan 250 ml etanol 96% dengan menggunakan peralatan Soxhlet selama 8 jam, pelarut dihilangkan dengan rotari evaporator. Residu di timbang dan ditentukan % randemen dengan membandingkan berat residu dibagi dengan berat serbuk simplisia kali 100 persen. Dengan cara yang sama dapat dihitung rendemen ekstrak yang menggunakan metode ekstraksi maserasi dan refluks. Ekstrak yang diperoleh dengan metode sokletasi dibuat larutan induk dengan konsentrasi 2000 ppm dengan melarutkan 20 mg ekstrak kering dalam air laut sampai menjadi volume 10 ml. Selanjutnya dari larutan induk dibuat larutan uji dengan konsentrasi 100, 50, 25, 10 dan 5 ppm dalam 10 ml air laut. Ekstrak yang sukar atau tidak larut dibantu dengan penambahan 1 tetes tween-80 sebelum ekstrak diencerkan.

Uji Toksisitas Terhadap Larva Udang

Telur *Artemia salina* L. ditetaskan dalam gelas piala ukuran 1 liter yang diisi dengan air laut yang telah disaring. Penetasan dibantu dengan pemberian aerasi dan cahaya lampu TL agar menetas sempurna, setelah satu hari telur udang akan menetas menjadi larva. Setelah 48 jam, sebanyak 10 ekor larva udang (1ml) dimasukkan ke dalam vial uji kemudian ditambahkan larutan ekstrak sehingga konsentrasi akhir dalam vial adalah 5,10, 25, 50 ppm. Setiap konsentrasi dilakukan 3x ulangan, kontrol dilakukan tanpa penambahan larutan ekstrak. Setelah 24 jam, larva udang yang mati di hitung. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan *Probit Analisis Method* untuk menentukan LC_{50} dengan selang kepercayaan 95%. Senyawa dengan nilai $LC_{50} < 1000$ ppm dikatakan memiliki potensi bioaktivitas.

Kromatografi Lapis Tipis

Pemilihan larutan pengembang untuk memperoleh pemisahan komponen yang

baik dan mengetahui jumlah komponen pada ekstrak teraktif dilakukan dengan cara KLT. Sebanyak 5 µl ekstrak etanol 96% menggunakan metode maserasi ditotolkan ditempat-tempat tertentu pada plate yang telah disediakan kemudian keringkan. Plate lalu dielusi dalam bejana yang berisi cairan pengelusi. Eluen yang digunakan adalah toluen dan etil asetat (3:1) dan 3 tetes asam format. Setelah cairan pengelusi mencapai tinggi tertentu pada plate, plate diangkat kemudian keringkan pada suhu ruangan. Hasil KLT diamati dengan menggunakan lampu UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm kemudian dihitung Nilai Rf dari masing-masing noda.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Karakterisasi Simplisia

Sebelum proses ekstraksi, simplisia yang akan diekstrak terlebih dahulu dilakukan karakterisasi terlebih dahulu. Karakterisasi simplisia dilakukan dengan menetapkan kadar air dan kadar abu simplisia. Hasil karakterisasi simplisia rimpang cabang temulawak (*Curcuma xanthorriza* Roxb.) disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Penetapan Kadar Air dan Kadar Abu Serbuk Simplisia Rimpang Cabang *Curcuma xanthorriza* Roxb.

Simplisia	Kadar air (%)	Kadar abu (%)
Rimpang cabang <i>Curcuma xanthorriza</i> Roxb	7,44	8,82

Dari Tabel 1 terlihat bahwa simplisia yang digunakan memenuhi kriteria persyaratan sebagai simplisia yang baik (Depkes RI, 1985)

Hasil Penapisan Fitokimia

Pemeriksaan senyawa metabolit sekunder pada serbuk rimpang cabang temulawak dilakukan dengan pengujian terhadap senyawa alkaloid, flavanoid, saponin, kuinon, tannin, dan steroid/triterpenoid. Hasil penapisan

fitokimia rimpang cabang temulawak disajikan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Penapisan Fitokimia Rimpang Cabang Temulawak

Golongan senyawa	Standar	Hasil analisis	Kesimpulan
Alkaloid	Endapan putih	Ada endapan	+
Steroid	Warna hijau/biru	Warna hijau	+
Triterpenoid	Warna merah/ungu	Warna merah	+++
Flavanoid	Merah kekuningan	kuning	++
Tanin	Biru kehitaman	Tidak berubah warna	-
Saponin	Busa stabil	Busa tidak stabil	-
Kuinon	Warna merah	Warna merah	+++

Hasil Ekstraksi

Hasil ekstraksi diketahui bahwa metode maserasi menghasilkan nilai rendemen yang paling rendah dibandingkan dengan metode refluks dan soxhlet yaitu 7,91% (Tabel 3). Hasil yang paling baik ditunjukkan oleh nilai rendemen ekstrak dengan metode soxhletasi yaitu 11,52%. Besarnya rendemen yang dihasilkan oleh soxhletasi dibandingkan maserasi dan refluks antara lain disebabkan karena serbuk simplisia disari oleh cairan pelarut yang murni, sehingga dapat menyari zat aktif lebih banyak karena adanya daur ulang pelarut yang digunakan untuk mengekstrak sampel pada soxhletasi. Daurlang pelarut dihasilkan melalui proses sirkulasi yang terjadi secara otomatis setiap jamnya. Proses sirkulasi pada waktu ekstraksi menyebabkan senyawa yang terdapat di dalam sampel dapat terekstrak kembali secara maksimum sebab kejenuhan pelarut dapat dicegah karena pelarut yang jenuh akan mengurangi kelarutan senyawa-senyawa ke

dalam pelarut sehingga rendemen yang dihasilkan akan berkurang.

Hal lain yang menyebabkan tingginya rendemen hasil soxhletasi dibandingkan maserasi dan refluks adalah cairan pelarut yang diperlukan lebih sedikit dan secara langsung diperoleh hasil yang lebih pekat. Keadaan tersebut berbeda dengan yang terjadi pada ekstrak hasil maserasi, yaitu karena tidak terjadi sirkulasi secara otomatis setiap jamnya sehingga tidak ada penggantian pelarut, hal ini menyebabkan pelarut lama-kelamaan akan jenuh sehingga kemampuan melarutkan senyawa dalam sampel akan berkurang akibatnya rendemen yang dihasilkan sedikit dibandingkan soxhlet dan refluks. Rendemen ekstrak yang dihasilkan pada refluks tidak terlalu banyak seperti pada soxhlet hal ini karena metode ini tidak sesuai untuk senyawa yang termolabil seperti minyak atsiri, karena terjadinya pemanasan yang terus-menerus.

Tabel 3. Rendemen Rimpang Cabang Temulawak Dengan Berbagai Metode Ekstraksi

No	Metode Ekstraksi	Berat sample (g)	Berat residu (g)	Rendemen (%)
1	Maserasi	25	1.98	7.91
2	Soxletasi	25	2.88	11.52
3	Refluks	25	2.40	9.60

Hasil Uji Toksisitas Dengan *Brine Shrimp Lethality Test*

Hasil ekstraksi berupa ekstrak kental dari tiap pelarut, selanjutnya diuji toksisitasnya terhadap larva udang dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Lethal Concentration 50% (LC₅₀) diketahui dengan menghitung jumlah larva udang yang mati karena pengaruh ekstrak. Rekapitulasi nilai LC₅₀ setiap fraksi dapat dilihat pada Tabel 6. Pada uji pendahuluan dibuat konsentrasi ekstrak 1000, 500, 100 dan 50 ppm. Setiap konsentrasi dilakukan 3 kali pengulangan, untuk kontrol dilakukan tanpa penambahan ekstrak tetapi dengan penambahan Tween 80 sebanyak 1

tetes. Setelah 24 jam, larva yang diberi ekstrak refluks masih terdapat larva yang hidup tetapi untuk larva yang diberi ekstrak maserasi dan soxhlet semua larva mati. Hasil pengamatan pengaruh ekstrak terhadap kematian larva disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Rata-rata jumlah larva mati dalam *Brine Shrimp Lethality Test*

Metode ekstraksi	Konsentrasi ekstrak (ppm)				
	Kontrol	50	100	500	1000
Maserasi	0	10	10	10	10
Sokletasi	0	10	10	10	10
Refluk	0	3	9	9	10

Kematian larva tersebut disebabkan konsentrasi ekstrak yang terlalu tinggi sehingga konsentrasi ekstrak yang digunakan diturunkan menjadi 50, 25, 10, 5 ppm. Hasil pengamatan pengaruh ekstrak terhadap kematian larva dalam air laut yang mengandung ekstrak etanol maserasi, sokletasi dan refluks masing-masing pada konsentrasi 50, 25, 10, dan 5 ppm disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Rata-rata jumlah larva mati pada *Brine Shrimp Lethality Test*

Metode Ekstraksi	Konsentrasi ekstrak (ppm)				
	Kontrol	5	10	25	50
Maserasi	0	0,33	3,2	8,3	10
Sokletasi	0	1	3,5	6	10
Refluks	0	0,33	2,1	4,3	7

Selanjutnya data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan Probit Analisis Method untuk menentukan LC_{50} dengan selang kepercayaan 95%. Hasil analisis menggunakan Probit Analisis Method disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6. Rata-rata LC_{50} (ppm) Ekstrak Etanol 96% Rimpang Cabang Temulawak

No	Jenis metode ekstraksi	LC_{50} (ppm)
1	Maserasi	14.87
2	Soxlet	10.13
3	Refluks	35.92

Meyer (1982) menyebutkan bahwa ekstrak dengan $LC_{50} \leq 30$ ppm tergolong kategori sangat toksik, sedangkan 31 ppm $< LC_{50} \leq 1000$ ppm tergolong kategori toksik. Berdasarkan statmen Meyer, maka nilai LC_{50} 14,87 ppm (Tabel 6) maka ekstrak etanol 96% rimpang cabang temulawak dengan menggunakan metode maserasi tergolong kedalam kategori sangat toksik. Sedangkan ekstrak etanol 96% rimpang cabang temulawak dengan metode refluks dengan nilai LC_{50} 35,92 ppm tergolong ke dalam kategori toksik. Ekstrak etanol 96% rimpang cabang temulawak dengan menggunakan soxhlet dengan nilai LC_{50} 19,13 ppm sama seperti ekstrak maserasi tergolong ke dalam kategori sangat toksik. Nilai LC_{50} terkecil dihasilkan oleh ekstrak etanol 96% maserasi sehingga ekstrak tersebut merupakan ekstrak teraktif yang akan digunakan untuk uji lebih lanjut. Ekstrak ini memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang lebih banyak dibandingkan ekstrak lainnya.

Dibandingkan dengan ekstrak dengan metode maserasi dan soxhlet, ekstrak dengan metode refluks mempunyai nilai LC_{50} 35,92 dan jika diuraikan berdasarkan LC_{50} , maka diketahui ekstrak refluks rimpang cabang temulawak yang paling tidak aktif (toksisitas rendah) tetapi masih tergolong ke dalam kategori toksik, hal ini disebabkan oleh adanya pemanasan yang terus-menerus pada proses ekstraksi yang menyebabkan senyawa yang terkandung dalam ekstrak tidak semua terbawa karena mungkin ada senyawa yang tidak tahan pemanasan sehingga yang senyawa yang tinggal dalam ekstrak hanya senyawa yang tahan terhadap panas. Begitu pula pada ekstrak soxhlet, karena proses ekstraksi dengan cara panas sehingga senyawa yang termolabil tidak terbawa. Tetapi untuk ekstrak maserasi, karena metode ini merupakan ekstraksi dengan cara dingin maka hampir semua komponen bioaktif baik yang bersifat polar, semi

polar dan non polar terbawa dalam ekstrak. Hasil penelitian menunjukkan bahwa suhu pada proses ekstraksi dapat mempengaruhi keaktifan tiap ekstrak terhadap toksisitas larva udang *Artemia salina*.

Hasil Fitokimia Ekstrak Teraktif

Penapisan fitokimia bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa apa yang terkandung di dalam ekstrak teraktif, ekstrak teraktif adalah ekstrak etanol 96% dengan metode maserasi. Berdasarkan hasil penapisan fitokimia terhadap serbuk dan ekstrak maserasi menunjukkan bahwa ekstrak positif kuat mengandung senyawa kuinon, positif sedang mengandung senyawa triterpenoid, dan positif lemah mengandung steroid, alkaloid dan flavonoid, tetapi tidak ditemukan adanya saponin dan tannin.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

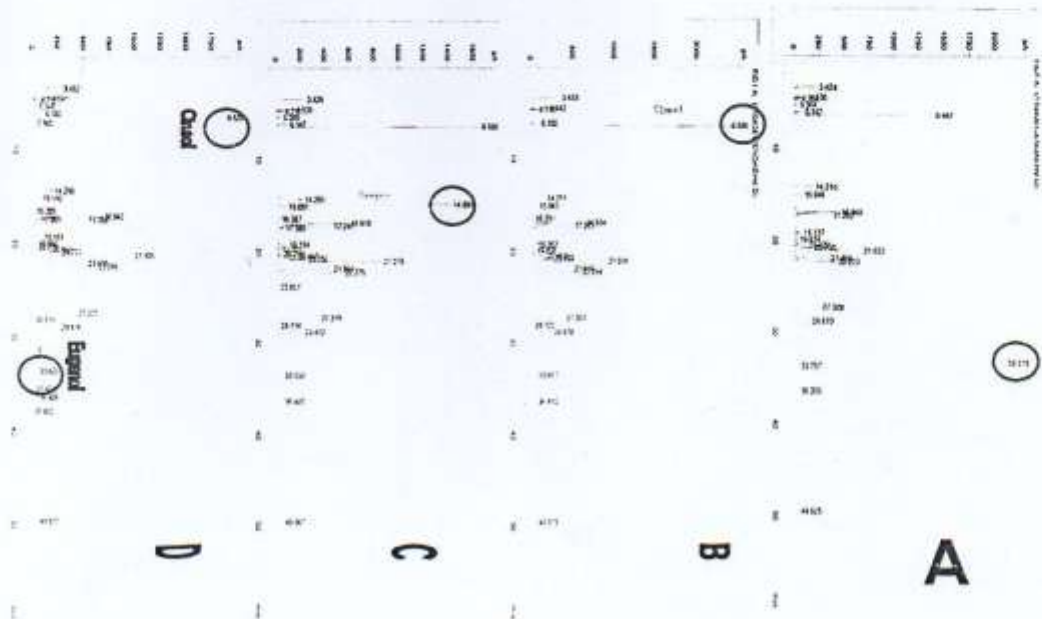
Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% dengan metode maserasi merupakan ekstrak yang mempunyai toksisitas paling

kuat dbandingkan dengan ekstraksi dengan metode socklet dan refluks. Nilai LC₅₀ untuk ekstrak etanol rimpang cabang temulawak dengan metode maserasi, soxhlet dan refluks berturut-turut sebagai berikut: 14.87 ppm, 19.13 ppm dan 35.92 ppm.

Hasil penapisan fitokimia dari ekstrak etanol 96% (maserasi) menunjukkan terdapatnya senyawa golongan alkaloid, flavonoid, steroid, kuinon dan triterpenoid pada ekstrak tersebut.

Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengisolasi dan mengidentifikasi komponen bioaktif yang terkandung dalam ekstrak etanol 96% rimpang cabang temulawak dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Preparatif.
2. Masyarakat dapat memanfaatkan rimpang cabang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) sebagai obat tradisional seperti rimpang induk temulawak karena telah diketahui mempunyai aktivitas biologis.



DAFTAR PUSTAKA

- Darwis SN, Haiyah S, Madjo ABD. 1991. *Tumbuhan Obat Famili Zingiberaceae*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Industri. Bogor.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1979. *Farmakope Indonesia*. Edisi III. Departemen Kesehatan RI. Jakarta.
- _____ . 1979. *Materia Medika Indonesia*. Jilid III Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta
- Harborne JB. 1996. *Metode Fitokimia Penuntun Cara dan Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terbitan kedua. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nicols DE & McLaughlin JL. 1982. *Brine Shrimp: A Covenant General Bioassay for active Plant constituent*. Planta Medica.
- Schunack, w.,K. Mayer dan M. Haake.1990. *Senyawa Obat*. Ed.ke-2. Terjemahan J.R. Wattimena dan S.Subito.gajah mada Universitas Press., Yogyakarta.
- Sidik, Moelyono dan Ahmad Muhtadi. 1992. *Temulawak*. Yayasan Pengembangan Bahan Alami Phyto Medica. Jakarta.
- WHO.1999. *WHO Monograph on selected medicinal plants*.Vol 1. ISBN 92—125178. Geneva: WHO.www.psa@deptan.go.id