

PENGARUH VARIASI LAMA PENYIMPANAN UMBI YAKON (*Smallanthus sonchifolius*) TERHADAP KEMAMPUAN TOKSISITAS PADA LARVA UDANG

Artemia salina Leach

THE EFFECT OF LONG VARIATION OF YACON TUBERS (*Smallanthus sonchifolius*) ON TOXICITY CAPABILITY IN SHRIMP LARVAE *Artemia salina* Leach

Nur Indah Wiji Asih dan Leny Yuanita*

Departement of Chemistry, Faculty of Matematics and Natural Sciences

State University of Surabaya

Jl. Ketintang Surabaya (60231), telp 031-8298761

*Corresponding author, email : lenyyuanita@unesa.ac.id

Abstrak. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh variasi lama penyimpanan umbi yakon terhadap kadar senyawa flavonoid dan kemampuan toksisitas. Digunakan variasi lama penyimpanan 1, 6, dan 13 hari. Isolasi umbi yakon menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol. Uji kadar senyawa flavonoid menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan metode kolorimetri, sedangkan uji kemampuan toksisitas menggunakan metode *Brine Shrimp Lethlity Test* (BSLT) dengan hewan coba larva udang *Artemia salina* Leach. Hasil menunjukkan bahwa kadar senyawa flavonoid mengalami penurunan selama proses penyimpanan dan bersifat toksik. Berdasarkan hasil ANOVA *One Way* menunjukkan berpengaruh nyata lama penyimpanan umbi yakon terhadap kematian larva udang pada lama penyimpanan 1 hari, namun pada lama penyimpanan 6 dan 13 hari tidak berpengaruh nyata.

Kata Kunci : Umbi yakon, lama penyimpanan, kadar senyawa flavonoid, toksisitas

Abstract. The study aims to determine the effect of variations in storage time of flavonoid contents and toxicity of yacon tubers. The variations of storage time 1, 6, and 13 days. Isolation of yacon tubers using maceration method with ethanol solvent. Flavonoid compounds test with UV-Vis spectrofotometry, while the toxicity test the *Brine Shrimp Lethlity Test* (BSLT) uses experiment animals *Artemia salina* Leach shrimp larvae. The results showed that the levels of flavonoid compounds decreased during the storage process and toxic. The results of one-way ANOVA showed a significant effect on the storage of yacon tubers to the death of shrimp larvae of 1 day, but at 6 and 13 days had no significant effect.

Keywords : Yacon tuber, storage time, flavonoid compounds, toxicity

PENDAHULUAN

Peningkatan kesadaran masyarakat akan pentingnya hidup sehat telah menyebabkan pergeseran tuntutan konsumen terhadap bahan pangan. Bahan pangan banyak diminati konsumen bukan saja yang memiliki komposisi gizi baik serta penampakan dan cita rasa yang menarik, tetapi juga mempunyai fungsi fisiologis tertentu bagi tubuh [1]. Di Indonesia banyak sekali tanaman yang dikenal berkhasiat sebagai obat salah satunya adalah umbi yakon [2]. Tanaman yakon berhasil ditanam di Desa Argosari dan daunnya diolah menjadi teh oleh petani di desa tersebut [3].

Tanaman yakon mengandung senyawa aktif antara lain *phenol*, *chlorogenic*, *ferulic*, *fuktooligosakarida*, *flavonoid*, *alkaloid*, *saponin*, *tanin*, *glikosida*, dan *steroid* [4]. Salah satu metabolit sekunder yang memiliki kemampuan toksisitas adalah flavonoid. Flavonoid juga merupakan senyawa polifenol yang mengandung 15 atom karbon dalam inti dasarnya yang tersusun dalam komposisi C6-C3-C6 yaitu dua cincin aromatik (cincin benzen tersubstitusi) yang dihubungkan oleh rantai alifatik tiga karbon [5].

Selama proses penyimpanan terjadi penurunan kandungan flavonoid sehingga terjadi peningkatan proses oksidasi. Proses oksidasi oleh oksigen yang juga menurunkan jumlah senyawa flavonoid selama penyimpanan, karena lebih besar paparan untuk teroksidasi. Senyawa flavonoid tidak stabil terhadap perubahan pengaruh salah satunya oksidasi, sehingga apabila teroksidasi kandungannya akan berubah dan fungsi sebagai bahan aktif akan menurun.

Dari berbagai tanaman, perlu dilakukan uji khasiat terhadap bahan aktifnya yang berpotensi sebagai toksisitas yang kemungkinan untuk antikanker. *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) merupakan salah satu metode untuk menguji bahan – bahan yang bersifat toksik dengan menggunakan larva udang *Artemia salina Leach* sebagai hewan uji. metode ini dapat digunakan sebagai penapisan awal senyawa yang bersifat sitotoksik [6]. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh variasi lama penyimpanan umbi yakon terhadap kadar senyawa flavonoid dan kemampuan toksisitas.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi seperangkat alat gelas kimia, seperangkat alat ekstraksi dengan metode maserasi, seperangkat alat penyaring pompa vakum, seperangkat alat penyaring buchner, *vakum rotary evaporator*, seperangkat alat kromatografi cair vakum (KCV), seperangkat alat kromatografi lapis tipis (KLT), lampu UV 245 nm, spektrofotometer UV-Vis, timbangan analitik, tabung reaksi, pipet tetes, pinset, spatula aluminium, botol vial, mikropipet, penganduk, chamber, dan pensil.

Bahan yang digunakan meliputi umbi yakon, aquades, etanol 96%, *n*-heksan, etil asetat, metanol, kloroform, HCl pekat, logam Mg, air laut, telur larva udang *Artemia salina Leach*, AlCl₃ 10%, kalium asetat 1M, kertas

saring, DMSO, pelat KLT, tissue, dan silika gel.

PROSEDUR PENELITIAN

a. Pengumpulan dan Penyiapan Sampel

Sebanyak ±20 kg umbi yakon yang telah diberi perlakuan lama penyimpanan pada rentang suhu 25–30 °C. Sebanyak ± 3 kg umbi yakon setiap lama penyimpanan, dibersihkan kulit luar dari kotoran dengan air, dikupas dan dicuci kembali hingga bersih kemudian dipotong kecil – kecil. Setelah itu dihaluskan menggunakan blander sehingga diperoleh slurry yang siap diekstraksi.

b. Isolasi dan Identifikasi Senyawa

Sebanyak ±3 kg sampel berupa slurry umbi yakon dimaserasi dengan pelarut etanol 96% selama 1 x 24 jam diulang sebanyak 3 kali dan disaring menggunakan corong Buchner. Kemudian ekstrak etanol dipekatkan dengan *vakum rotary evaporator* pada suhu 50 °C lalu dipartisi dengan menggunakan pelarut *n*-heksan ke dalam corong pisah dan dipekatkan kembali dengan *vakum rotary evaporator* pada suhu 50 °C. Hasil yang didapatkan ditimbang dan diuji fitokimia. Selanjutnya dipisahkan dengan kromatografi cair vakum (KCV). Hasil pemisahan kemudian dimonitor dengan KLT. Hasil dari monitor KLT yang memiliki nilai R_f yang setara digabungkan. Selanjutnya diidentifikasi dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 200 – 400 nm [7].

c. Pengujian Kualitatif dan Kuantitatif Senyawa Flavonoid

1. Pengujian Sampel Secara Kualitatif

Diambil ± 1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya ditambahkan 1 mg logam Mg dan 5 tetes HCl pekat [8].

2. Pengujian Sampel Secara Kuantitatif

a) Pembuatan larutan standar

Ditimbang sebanyak 10 mg baku standar kuersetin. Kemudian dilarutkan dengan 10 mL etanol 96%

dan diaduk hingga homogen. Kemudian dipipet dengan mikropipet sebanyak 1 mL dan dilarutkan dengan 10 mL etanol 96%. Selanjutnya dibuat konsentrasi larutan standar sebanyak 2, 4, 6, 8, dan 10 mL dengan menggunakan mikropipet. Dari masing – masing konsentrasi di larutkan dengan etanol 96% sebanyak 10 mL. Diambil masing – masing larutan standar sebanyak 1 mL lalu ditambahkan sebanyak 3 mL etanol 96%, ditambahkan sebanyak 0,2 mL AlCl_3 10%, ditambahkan sebanyak 0,2 mL kalium asetat 1 M, ditambahkan aquades hingga volume 10 mL lalu diaduk hingga homogen. Kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang. Selanjutnya diukur absorbansinya dengan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang antara 400 – 800 nm.

- b) Penentuan kadar senyawa flavonoid
Ditimbang sebanyak 100 mg ekstrak etanol umbi yakon lalu dimasukan kedalam gelas kimia. Kemudian dilarutkan dengan 10 mL etanol 96% dan diaduk hingga homogen. Kemudian dipipet dengan mikropipet sebanyak 1 mL lalu dimasukkan kedalam gelas kimia. Selanjutnya ditambahkan sebanyak 3 mL etanol 96%, ditambahkan sebanyak 0,2 mL AlCl_3 10%, ditambahkan sebanyak 0,2 mL kalium asetat 1 M, ditambahkan aquades hingga volume 10 mL lalu diaduk hingga homogen. Kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang. Selanjutnya diukur absorbansinya dengan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang antara 400 – 800 nm dan diulang sebanyak 3 kali [9].

d. Uji Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

1. Preparasi Udang *Artemia salina* Leach

Penetasan telur dilakukan dengan cara merendam telur tersebut dan dibiarkan telur udang *Artemia salina* Leach dalam toples yang telah diisi air laut hingga menetas dan berusia 48 jam. Hasil dari preparasi tersebut larva udang *Artemia salina* Leach siap digunakan untuk uji BSLT.

2. Uji Toksisitas

Sebanyak ± 5 mg isolat dilarutkan dalam 100 ml etanol. Larutan yang terbentuk disebut larutan induk dengan konsentrasi 5000 $\mu\text{g/mL}$ (ppm). Selanjutnya larutan induk dipipet masing – masing 25 μL , 50 μL , 75 μL , dan 100 μL dengan menggunakan mikropipet dan dimasukkan kedalam masing – masing vial yang berbeda dan ditambahkan 4 mL air laut. Kemudian ditambahkan 1 tetes DMSO pada masing – masing vial lalu diaduk hingga homogen dan dimasukkan sebanyak 10 ekor larva udang *Artemia salina* Leach pada masing – masing vial. Kemudian ditambahkan sebanyak 5 mL air laut pada masing – masing vial dan diulangi sebanyak 3 kali. Campuran tersebut dibiarkan selama 24 jam, lalu dihitung jumlah larva udang *Artemia salina* yang mati. Diulangi dengan prosedur yang sama untuk blanko tanpa penambahan isolat. Hasil yang diperoleh dianalisis probit dengan menggunakan program SPSS 20 untuk memperoleh LC_{50} [6].

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Uji Kadar Senyawa Flavonoid

1. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid

Hasil isolasi dan identifikasi setiap lama penyimpanan dari proses KCV, didapatkan fraksi yang memiliki nilai R_f yang setara pada setiap lama penyimpanan. Hasil nilai R_f yang setara

pada setiap lama penyimpanan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil nilai Rf yang setara pada setiap lama penyimpanan

No	Lama Penyimpanan	Rf (cm)
1.	1 hari	0,82
2.	6 hari	0,75
3.	13 hari	0,80

Berdasarkan Tabel 1, hasil ketiga lama penyimpanan secara berurutan diduga mengandung senyawa flavonoid golongan flavonol dan flavon. Nilai Rf tersebut dapat ditinjau dengan penelitian [10] yang menyatakan bahwa nilai Rf flavonoid sebesar 0,84 cm, sedangkan penelitian [11] menyatakan bahwa nilai Rf flavonoid antara 0,62 cm - 0,75 cm. Hasil tersebut akan diidentifikasi dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang antara 200 – 400 nm. Hasil panjang gelombang setiap lama penyimpanan dapat dilihat pada Tabel 2.

Berdasarkan Tabel 2, ketiga lama penyimpanan menunjukkan adanya karakteristik senyawa flavonoid. Hal ini diperkuat oleh [12] bahwa serapan spektrum flavonoid mempunyai panjang gelombang 300 – 550 nm (Pita I), maka dapat diperkirakan adanya ikatan $\pi \rightarrow \pi^*$ seperti ikatan C=C terkonjugasi,

sedangkan panjang gelombang 210 – 285 (Pita II), maka dapat diperkirakan adanya ikatan $\pi \rightarrow \pi^*$ seperti ikatan C=C terkonjugasi serta ikatan $n \rightarrow \pi^*$ berupa kromofor tunggal seperti ikatan C=O.

Tabel 2. Hasil panjang gelombang setiap lama penyimpanan

No	Lama Penyimpanan	Panjang Gelombang (nm)
1.	1 hari	208 – 219
2.	6 hari	210 – 273
3.	13 hari	220 – 273

2. Pengujian Kualitatif dan Kuantitatif Senyawa Flavonoid

a. Pengujian Kualitatif

Pada pengujian ekstrak etanol umbi yakon setelah direaksikan dengan logam Mg dan HCl larutan berwarna jingga.

b. Pengujian Kuantitatif

Pengujian kuantitatif digunakan larutan standar kuersetin pada panjang gelombang maksimum 435 nm. Nilai absorbansi yang diperoleh kemudian diplotkan ke persamaan regresi linear, yaitu $y = 0,0428x + 0,0417$ dengan R^2 sebesar 0,9999. Hasil kadar senyawa flavonoid per lama penyimpanan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Kadar Senyawa Flavonoid (ppm) Per Lama Penyimpanan

Lama Penyimpanan	Triplo	Absorbansi	Konsentrasi flavonoid (ppm)	Kadar flavonoid (ppm)
1 hari	1	0,126	1,9696	1,9617
	2	0,124	1,9228	
	3	0,127	1,9929	
6 hari	1	0,118	1,7827	1,8917
	2	0,124	1,9228	
	3	0,126	1,9696	
13 hari	1	0,106	1,5023	1,5179
	2	0,107	1,5257	
	3	0,107	1,5257	

Berdasarkan Tabel 3, dapat disimpulkan bahwa semakin lama penyimpanan maka semakin turun kadar senyawa flavonoid yang terdapat dalam sampel. Hal ini disebabkan karena terjadinya peningkatan proses oksidasi oleh oksigen yang juga menurunkan jumlah kandungan senyawa flavonoid selama penyimpanan, karena lebih besar paparan untuk teroksidasi sehingga kandungan senyawa flavonoid akan berubah dan fungsi sebagai bahan aktif akan menurun serta kemampuan toksisitas juga akan menurun. Hal ini diperkuat oleh penelitian [13] yang menyatakan bahwa proses oksidasi oleh oksigen mampu menurunkan jumlah zat aktif terutama senyawa flavonoid.

B. Uji Toksisitas Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Uji toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) merupakan salah satu metode untuk menguji sifat toksik pada suatu senyawa. Metode ini menggunakan larva udang *Artemia salina Leach* sebagai hewan uji. Hasil yang diperoleh kemudian dihitung %kematian dengan persamaan:

$$\% \text{ kematian} = \frac{\text{jumlah udang mati}}{\text{jumlah udang hidup}} \times 100$$

Data presentase kematian larva udang *Artemia salina Leach* dapat dilihat pada Tabel 4.

Berdasarkan Tabel 4, dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi maka semakin besar tingkat kematian pada larva udang. Hal ini dapat dilihat pada konsentrasi 100 ppm disetiap lama penyimpanan. Hasil uji ANOVA *ONE WAY* dapat disimpulkan bahwa pengaruh lama penyimpanan terhadap kematian Larva Udang *Artemia salina Leach* pada lama penyimpanan 1 hari ($p < 0,05$) berpengaruh nyata, sedangkan

pada lama penyimpanan 6 dan 13 hari ($p > 0,05$) tidak berpengaruh. Setelah memperoleh %kematian, kemudian dianalisis probit dengan menggunakan SPSS 20 untuk memperoleh nilai LC_{50} . Hasil Nilai LC_{50} ditunjukkan dalam Tabel 5.

Tabel 4. Data Presentase Kematian Larva Udang *Artemia salina Leach*

Lama Penyimpanan	Konsentrasi (ppm)	Rata – rata kematian <i>Artemia salina Leach</i> (%)	Nilai p
1 hari	25	13,33	p = 0,011
	50	16,67	
	75	23,33	
	100	26,67	
6 hari	25	13,33	p = 0,078
	50	20	
	75	30	
	100	33,33	
13 hari	25	20	p = 0,150
	50	26,67	
	75	30	
	100	33,33	

Keterangan: larva udang *Artemia salina Leach* yang digunakan 10 ekor

Tabel 5. Hasil Nilai LC_{50} Setiap Lama Penyimpanan

Lama Penyimpanan	Nilai LC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	Keterangan
1 hari	31,407	Toksik
6 hari	33,188	Toksik
13 hari	39,093	Toksik

Berdasarkan Tabel 5, dapat disimpulkan bahwa senyawa flavonoid bersifat toksik karena dilihat dari nilai LC_{50} yang didapatkan memiliki nilai LC_{50} direntang 30 – 1000 $\mu\text{g/mL}$. Menurut [5] menyatakan bahwa suatu ekstrak dikatakan sangat toksik dengan nilai $LC_{50} < 30 \mu\text{g/mL}$, dan toksik apabila memiliki nilai LC_{50} 30 – 1000 $\mu\text{g/mL}$, serta tidak toksik dengan nilai $LC_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$. Hal

tersebut dapat ditinjau dari penelitian [14] menyatakan bahwa sejumlah tanaman obat yang mengandung senyawa flavonoid telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri, antivirus, antiradang, antialergi, dan toksisitas sebagai antikanker.

SIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah :

1. Pengaruh variasi lama penyimpanan umbi yacon terhadap kadar senyawa flavonoid mengalami penurunan. Hal ini disebabkan karena adanya proses oksidasi oleh oksigen, sehingga menyebabkan kandungan senyawa flavonoid menurun dan fungsi sebagai bahan aktif juga berubah.
2. Pengaruh variasi lama penyimpanan umbi yacon terhadap kemampuan toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach memiliki sifat toksik dengan nilai LC_{50} sebesar 31,407 $\mu\text{g/mL}$ pada lama penyimpanan 1 hari, nilai LC_{50} sebesar 33,188 $\mu\text{g/mL}$ pada lama penyimpanan 6 hari, dan nilai LC_{50} sebesar 39,093 $\mu\text{g/mL}$ pada lama penyimpanan 13 hari.

DAFTAR PUSTAKA

1. Yuanita, L., Nisa, R. F. 2017. Pengaruh Lama Perebusan Daun Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) Terhadap Kadar Kolesterol Mencit (*Mus musculus*). *Journal of Chemistry*, Vol. 6 No. 1.
2. Anderson, J. E., Goetz, C. M & Mc Laughlin, J. L. 1991. *A Blind Comparison of Simple Bench top Bioassay and Human Tumor Cell Cytotoxicities as Antitumor Prescreens Natural Product Chemistry*. Amsterdam: Elsevier.
3. Yuanita, L., Puspitawati, R.P., Wikandari P. R., Sabtiawan, W.B., Sari, D.A.P. 2016. Budidaya dan Pemanfaatan Tanaman Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) untuk Meningkatkan Potensi Alam dan Pemberdayaan Masyarakat Desa Argosari, Kecamatan Senduro, Kabupaten Lumajang. *Jurnal ABDI* Vol. 2 No. 2, 23-29.
4. Simonovska, Breda et al. 2003. *Investigation of Fenolic Acid in Yacon (Smallanthus sonchifolius) Leaves and Tubers*. Olomouc: University of Olomouc.
5. Markham, K. H. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Edisi 2. Bandung: ITB.
6. Meyer B., Ferrigni, N., and Putnam, J. 1982. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Plant Medical Research*. Vol. 45: pp. 31-34.
7. Sari, Yulfiana Elmerllia. 2012. Eksplorasi Senyawa Flavonoid Pada Ekstrak Maserasi Tanaman Insulin (*Smallanthus sonchifolius*) dengan Metode KLT dan Spektrofotometri UV-Vis dan IR. *Karya Tulis Ilmiah*. Malang: Akademi Analisis Farmasi dan Makanan.
8. Tukiran, 2015. *Kimia Bahan Alam Berbasis Field Study dan Pendekatan Chemo Entrepreneurship*. Surabaya: Unesa University Press.
9. Chang CC, Yang MH, Wen HM, Chern JC. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *J Food Drug Anal*, Vol. 10: pp.178-182.
10. Kusnadi, Kusnadi., dan Devi, Egie Triana. 2017. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Pada Ekstrak Daun Seledri (*Apium graveolens* L.) dengan Metode Refluks. *PSEJ*, Vol. 1: pp. 56-67.
11. Suhendi, A. et al.. 2011. Isolation and Identification of Flavonoids From Dewandaru (*Eugenia uniflora*) Leaf. *Pharmakon*. Vol. 12(2): pp. 73-81.
12. Sastrohamidjojo. 1991. *Spektroskopi*. Yogyakarta: Liberty.

13. Eveline, dkk. 2014. *Studi Aktivitas Antioksidan Selama Penyimpanan*. Semarang: Fakultas Teknik Universitas Wahid Hasyim. Pentanatra(*Ethanol Extract, Journal of applied Sciences*, Vol. 6(8): pp. 1659-1603).
14. Artanti, N. M., Hanafi, M. Y. 2006. Isolation and Identification of Active Antioxsidant Compound from Start Fruit Mistletoe *Dendrophthae*

