

BAB VI HASIL DAN PEMBAHASAN

VI.1 Pengumpulan Bahan

Penelitian ini menggunakan daun dan batang gandaria yang diperoleh dari daerah Banua Rantau, Kecamatan Tabalong Kalimantan Selatan. Determinasi tumbuhan gandaria dilakukan di Universitas Lambung Mangkurat Banjarbaru Kalimantan Selatan. Hasil determinasi menunjukkan bahwa tumbuhan gandaria ini memiliki nama latin *Bouea macrophylla* Griff yang termasuk kedalam famili Anacardiaceae. Hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 2.

VI.2 Pengolahan Bahan

Sebelum diolah menjadi simplisia, dilakukan sortasi basah terhadap daun dan batang gandaria untuk memisahkan dari pengotor. Kemudian daun dan batang gandaria dicuci untuk membersihkan dari tanah dan pengotor lainnya. Proses pencucian dilakukan pada air yang mengalir agar seluruh pengotor yang melekat pada daun dan batang dapat hilang. Setelah itu dilakukan perajangan agar memudahkan pada proses pengeringan, selanjutnya dilakukan pengeringan dengan cara pemanasan menggunakan oven pada suhu 45-50 °C selama 3 hari. Tujuan dilakukannya pengeringan ini adalah untuk menurunkan kadar air yang terkandung di dalam bahan. Pengeringan dilakukan agar simplisia tidak mudah rusak, dapat disimpan dalam waktu yang lama, serta tidak mudah ditumbuhi jamur dan bakteri. Selanjutnya dilakukan sortasi kering untuk memisahkan benda-benda asing dan pengotor lain yang masih menempel pada simplisia.

Daun dan batang gandaria selanjutnya dihaluskan dengan cara diserbukkan menggunakan blender untuk memperbesar luas

permukaan sampel, sehingga mempermudah pengeluaran senyawa saat proses ekstraksi.

Selanjutnya dilakukan penyimpanan yaitu dengan ditempatkan dalam satu wadah yang bersih dan tertutup rapat agar simplisia tersebut tidak lembab dan tidak mudah rusak.

VI.3 Karakterisasi Simplisia

Karakterisasi simplisia bertujuan untuk mengetahui mutu dan kualitas dari simplisia yang digunakan. Pada pengujian makroskopik dilakukan dengan menggunakan pancaindera terhadap bahan tumbuhan yang digunakan meliputi pemeriksaan bentuk, ukuran dan warna.

Tabel VI. 1 Hasil Uji Makroskopik

Karakterisasi	Deskripsi
Bentuk	Lanset
Ukuran	$P \pm 30 \text{ cm}$ $L \pm 10 \text{ cm}$
Warna	Hijau
Bentuk	Bulat-lonjong
Ukuran	$D \pm 1 \text{ cm}$ $P \pm 30 \text{ cm}$
Warna	Coklat Muda

Pemeriksaan karakterisasi simplisia meliputi penetapan kadar abu total, penetapan kadar abu tidak larut asam, penetapan kadar sari larut air, penetapan kadar sari larut etanol dan susut pengeringan.

Tabel VI. 2 Hasil Karakterisasi Simplisia

Uji Karakterisasi	Hasil (% b/b)	
	Daun Gandaria	Batang Gandaria
Kadar Abu Total	7,3 %	6,8 %
Kadar Abu Tidak Larut Asam	6,25 %	2,5 %
Kadar Sari Larut Air	6,75 %	9,26 %
Kadar Sari Larut Etanol	9,95 %	10,81 %
Susut Pengeringan	5,65 %	9,38 %

Proses penetapan kadar abu bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal dari suatu bahan. Penetapan kadar abu tidak larut asam dilakukan dengan tujuan menentukan kadar abu eksternal seperti silika dan tanah yang menempel.

Penetapan kadar sari bertujuan untuk mengetahui jumlah kandungan senyawa dalam simplisia yang tersari dalam pelarut tertentu. Berdasarkan hasil yang didapat, nilai kadar sari larut air sebesar pada daun sebesar 6,75 %, dan pada bagian batang sebesar 9,26 % sedangkan nilai kadar sari larut etanol pada bagian daun sebesar 9,95 % dan bagian batang sebesar 10,81 % . Hal ini menunjukkan bahwa tingginya kandungan senyawa yang terlarut dalam etanol dibandingkan senyawa yang larut dalam air. Selanjutnya pada pengujian susut pengeringan bertujuan untuk mengetahui seberapa besar senyawa yang hilang saat proses pengeringan pada suhu 105°C. Besarnya susut pengeringan yang diperoleh sebesar 5,65% pada daun gandaria dan 9,38 % pada bagian batang gandaria.

VI.4 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia bertujuan untuk mengetahui golongan-golongan senyawa metabolit sekunder apa saja yang terkandung didalam simplisia. Penapisan fitokimia meliputi pemeriksaan alkaloid, flavonoid, saponin, kuinon, tanin dan steroid/triterpenoid.

Tabel VI. 3 Hasil Skrining Fitokimia

Golongan Senyawa	Sampel	
	Daun	Batang
Alkaloid	-	-
Flavonoid	+	+
Tanin	+	+
Saponin	+	+
Kuinon	+	+
Steroid/triterpenoid	+	+

Berdasarkan hasil penapisan fitokimia, dapat disimpulkan bahwa pada simplisia daun dan batang gandaria mengandung golongan senyawa flavonoid, tanin, saponin, kuinon dan steroid/triterpenoid. Pada simplisia daun dan batang gandaria tidak mengandung alkaloid.

VI.5 Pembuatan Ekstrak

Ekstraksi yang dilakukan pada tumbuhan gandaria menggunakan metode refluks dengan cara ekstraksi bertingkat menggunakan tiga pelarut yang berbeda kepolaran. Kelebihan dari metode refluks adalah waktu yang dibutuhkan untuk mengekstraksi lebih singkat, penggunaan pelarut lebih sedikit, serta dengan adanya pemanasan dapat mempercepat kelarutan, selain itu secara tradisional masyarakat sering menggunakannya dengan cara direbus. Sedangkan untuk

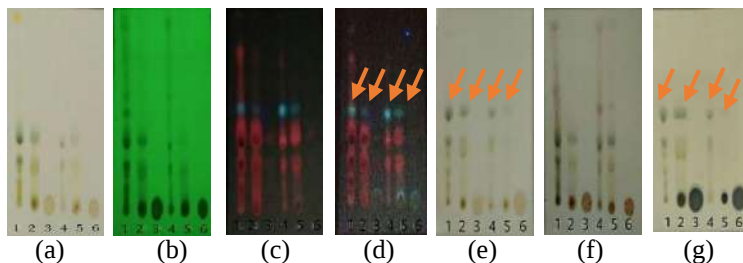
kekurangan dari metode refluks adalah tidak dapat digunakan untuk senyawa yang tidak tahan panas, sampel yang digunakan tidak dapat dalam jumlah besar. Pelarut yang digunakan pada penelitian ini menggunakan pelarut N-heksana, etil asetat dan metanol untuk menarik senyawa berdasarkan kepolarannya.

Tabel VI. 4 Hasil Randemen Ekstrak

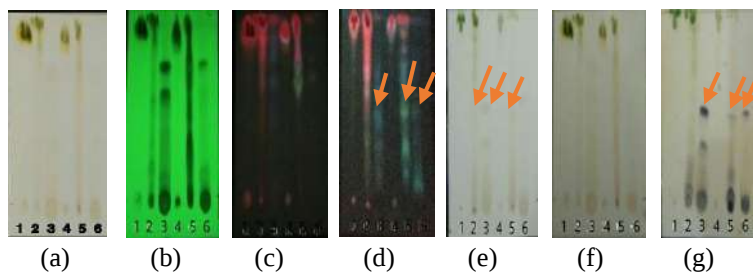
Simplisia	Pelarut	Berat	Ekstrak	Randemen (%)
		Sampel (g)	Kental (g)	
Daun	N-heksana		30,39	7,60 %
	Etil asetat	400 gr	15,79	3,95 %
	Metanol		49	12,25 %
Batang	N-heksana		5,91	1,97 %
	Etil asetat	300 gr	3,87	1,29 %
	Metanol		41,66	13,89 %

VI.6 Pemantauan Ekstrak

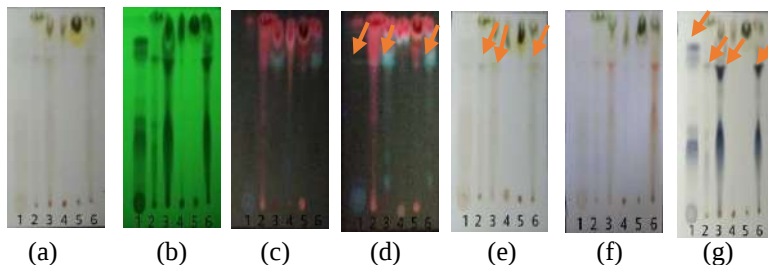
Pemantauan ekstrak dilakukan untuk mengetahui golongan-golongan senyawa metabolit sekunder apa saja yang terkandung di dalam ekstrak gendaria tersebut. Pemantauan dilakukan secara kualitatif dengan metode KLT (Kromatografi Lapis Tipis). Terdapat 3 jenis pengembang yang digunakan antara lain eluen non polar (n-heksana-etil asetat (8:2)), eluen semi polar (Kloroform-metanol (8:2)), eluen polar (eluen Etil asetat-Asam format-Air (9:0,5:0,5)). Penampak bercak yang digunakan yaitu besi (III) klorida 10 %, sitroborat, Alumunium klorida, Asam Sulfat 10%.



Gambar VI. 1 Kromatogram Lapis Tipis pengembang non polar, dengan fase diam silika gel F₂₅₄ pengembang n-heksana-etil asetat (8:2). (a) visual, (b) Sinar UV 254 nm, (c) Sinar UV 366 nm, (d) penampak bercak sitroborat, (e) penampak bercak aluminium (III) klorida, (f) penampak bercak asam sulfat 10% (III), (g) penampak bercak besi (III) klorida.



Gambar VI. 2 Kromatogram Lapis Tipis pengembang semi polar, dengan fase diam silika gel F₂₅₄ pengembang kloroform-metanol (8:2). (a) visual, (b) Sinar UV 254 nm, (c) Sinar UV 366 nm, (d) penampak bercak sitroborat, (e) penampak bercak aluminium (III) klorida, (f) penampak bercak asam sulfat 10% (III), (g) penampak bercak besi (III) klorida.



Gambar VI. 3 Kromatogram Lapis Tipis pengembang polar, dengan fase diam silika gel F_{254} pengembang etil asetat-asam format-air (9:0,5:0,5). (a) visual, (b) Sinar UV 254 nm, (c) Sinar UV 366 nm, (d) penampak bercak sitroborat, (e) penampak bercak alumunium (III) klorida, (f) penampak bercak asam sulfat 10% (III), (g) penampak bercak besi (III) klorida.

Penampak bercak besi (III) klorida digunakan untuk mengetahui adanya senyawa golongan fenolat yang terdapat didalam ekstrak. Dari hasil pemantauan menunjukkan ke enam ekstrak mengandung senyawa fenolat yang ditunjukkan bercak coklat/hitam setelah disemprot besi (III) klorida.

Penampak bercak sitroborat dalam metanol menunjukkan hasil positif flavonoid pada ekstrak n-heksana, etil asetat, dan metanol, hal ini ditandai dengan terbentuknya bercak berwarna kuning kehijauan.

Penampak bercak alumunium klorida dalam etanol menunjukkan hasil positif flavonoid ditandai dengan terbentuknya bercak berwarna kuning kehijauan.

Menurut Javanmardi, dkk (2011) ekstrak tanaman dengan kandungan senyawa fenolat yang tinggi selain memiliki aktivitas antioksidan yang dapat memperbaiki kerusakan jaringan pada pasien diabetes, juga memiliki aktivitas terhadap penghambatan enzim α -glukosidase. Senyawa flavonoid, terpenoid dan turunan gula telah ditemukan efektif menghambat aktivitas enzim α -glukosidase (Jung, dkk., 2006). Dari hasil yang didapatkan, dari 3 eluen yang digunakan ekstrak daun dan batang gandaria mengandung golongan senyawa fenolat, dan flavonoid yang diduga memiliki aktifitas penghambatan enzim α -glukosidase.

VI.7 Uji Aktivitas Penghambat Enzim α -Glukosidase

Uji aktivitas penghambat enzim α -glukosidase dilakukan setelah diketahui konsentrasi optimasi enzim yang akan digunakan. Optimasi konsentrasi enzim dilakukan dengan tujuan untuk memperoleh keadaan yang menggambarkan reaksi enzim dan substrat yang paling optimal. Kondisi tersebut ditunjukkan dengan nilai absorbansi antara 0,7-0,8. Konsentrasi enzim yang digunakan dalam rentang 0,2- 0,8 u/mL serta konsentrasi substrat 15 mM.

Tabel VI. 5 Hasil optimasi konsentrasi enzim

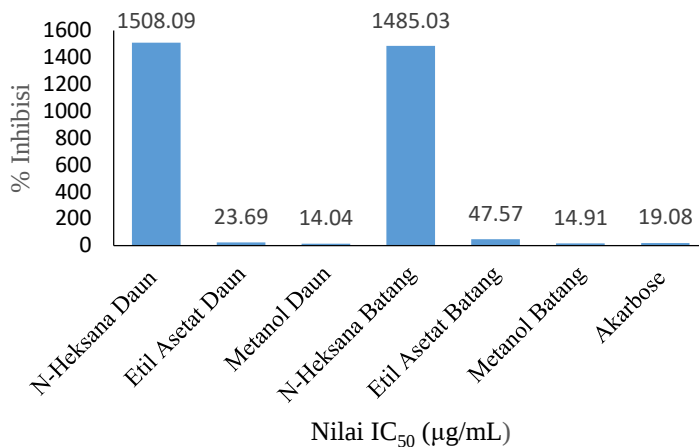
Konsentrasi Enzim (u/mL)	Absorbansi	Absorbansi uji – Absorbansi Blanko
0,2	0.271	0.206
0,3	0.646	0.581
0,4	0.862	0.797
0,5	1.673	1.608
0,6	1.968	1.903
0,7	2.212	2.147
0,8	3.755	3.69
Blanko	0.065	

Dari hasil optimasi enzim, diperoleh konsentrasi optimal enzim adalah 0,4 karena memiliki nilai absorbansi yang paling besar dan berada dalam rentang hukum *Lamber-Beer*.

Aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase ekstrak n-heksana, etil asetat, dan metanol daun dan batang *gandaria* diamati secara *in vitro* menggunakan metode spektrofotometri. Standar pembanding yang digunakan adalah akardose. Prinsip pengujian ini yaitu, dimana enzim α -glukosidase akan menghidrolisis substrat *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosida menjadi glukosa dan *p*-nitrofenol. Aktivitas enzim α -glukosidase ditentukan berdasarkan hasil serapan warna kuning *p*-nitrofenol. Adanya penghambatan enzim α -glukosidase menghasilkan warna yang lebih pudar dibandingkan tanpa adanya aktivitas penghambatan (Sugiwati dkk., 2009). Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang maksimum untuk senyawa *p*-nitrofenol yaitu 405 nm.

Pengujian aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase dari ekstrak daun dan batang *gandaria* dilakukan pada beberapa konsentrasi sampel. Tujuannya adalah untuk mengetahui pengaruh penambahan konsentrasi sampel terhadap aktivitas penghambatan dan untuk memperoleh nilai inhibisi. Semakin besar konsentrasi sampel diharapkan akan semakin besar pula penghambatan aktivitas enzim. Nilai inhibisi selanjutnya digunakan untuk menghitung nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} dapat menunjukkan kekuatan penghambatan sampel ekstrak daun dan batang *gandaria* terhadap enzim. Parameter yang digunakan untuk aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase adalah nilai IC_{50} ,

yaitu bilangan yang menunjukkan konsentrasi terkecil yang dapat menghambat aktivitas enzim α -glukosidase sebesar 50%. Pada pengujian ini, dilakukan pengukuran terhadap absorbansi larutan sampel dan absorbansi kontrol.



Gambar VI. 4 Perbandingan Nilai IC_{50} Ekstrak Daun dan Batang Gandaria dan Akarbose

Dari hasil uji aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase didapatkan hasil nilai IC_{50} akarbose sebesar 19,086 $\mu\text{g/mL}$. Hasil uji menunjukkan bahwa ekstrak daun dan batang metanol memiliki penghambatan enzim yang lebih aktif dibandingkan akarbose dengan nilai yang lebih kecil dari nilai IC_{50} dari akarbose yaitu 14,04 $\mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak metanol daun dan 14,91 $\mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak metanol batang. Ekstrak etil asetat daun dan batang gandaria memberikan nilai IC_{50} sebesar 23,69 $\mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak etil asetat daun dan 47,57 $\mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak etil asetat batang. Ekstrak n-heksana daun sebesar 1.508,09 $\mu\text{g/mL}$ dan ekstrak n-heksana batang sebesar

1.485,03 $\mu\text{g/mL}$. Menurut Ariani, dkk (2017) ekstrak yang memiliki nilai IC_{50} dari 11- 100 dikatakan aktif digunakan sebagai antidiabetes. Sehingga ekstrak metanol dan etil asetat daun dan batang gendaria dikatakan aktif sebagai antidiabetes.

Dua sampel uji menunjukkan daya hambat yang lebih besar dibandingkan dengan akarbose, diduga hal tersebut karena campuran beberapa senyawa aktif tumbuhan gendaria memberikan efek sinergis. Dalam suatu ekstrak tumbuhan, selain beberapa senyawa aktif utama, biasanya juga terdapat banyak senyawa lain yang dapat meningkatkan aktivitas (Priyono, 2009).

Namun belum dapat dipastikan jenis senyawa apa yang bertanggung jawab terhadap penghambatan aktivitas enzim α -glukosidase. Berdasarkan hasil skrining fitokimia dan karakterisasi ekstrak menggunakan KLT. Adanya senyawa flavonoid dan senyawa fenolat yang terkandung pada ekstrak daun dan batang gendaria tersebut diduga memiliki aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase.