

## **BAB VI**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **Pengumpulan Bahan**

Penyiapan bahan dilakukan dengan pengumpulan bahan simplisia untuk melakukan tahapan proses uji lebih lanjut. Daun dandang gendis dandang gendis diperoleh dari tiga daerah, Balitro daerah Bogor, Lembang dan Jogjakarta. Dari data determinasi yang dilakukan di Departement Biologi Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Padjadjaran Bandung diperoleh informasi bahwa tanaman uji yang digunakan daun dandang gendis diklasifikasikan dalam kingdom Plantae, divisi spermatophyta, sub divisi angiospermae, family Acanthaceae, genus *Clinacanthus*, dan spesies *Clinacanthus nutans* (Burm.f.) L.

Bagian daun tanaman uji dibersihkan terlebih dahulu dari pengotor lainnya, kemudian dilakukan. Proses pencucian dilakukan menggunakan air mengalir yang bertujuan agar seluruh kotoran yang melekat baik tanah, debu, dan pengotor lainnya dapat hilang. Selanjutnya dilakukan perajangan yang bertujuan untuk memperluas permukaan bahan. Semakin luas permukaan maka bahan akan semakin cepat kering, permukaan yang keringpun akan rata. Proses selanjutnya yaitu proses pengeringan. Pengeringan dilakukan menggunakan oven. Pengeringan bertujuan untuk menurunkan kadar air yang terkandung di dalam dalam daun dandang gendis sehingga bahan baku tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri. Proses pengeringan dilakukan selama 3 hari. Proses selanjutnya adalah

penggilingan daun dilakukan dengan cara di blender. Simplisia serbuk daun di simpan pada tempat yang baik.

### **Karakterisasi Simplisia**

Karakterisasi simplisia merupakan salah satu parameter standarisasi simplisia, yang bertujuan untuk mengetahui mutu dan kualitas simplisia yang digunakan. Dikarenakan mutu dan kualitas simplisia dapat mmempengaruhi suatu pengujian sehingga perlu dilakukan. Pemeriksaan karakterisasi simplisia ini meliputi kadar air, kadar sari larut air, kadar sari larut etanoll, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, dan susut pengeringan.

**Tabel VI.I Karakterisasi Simplisia**

| No | Karakterisasi              | Hasil % (b/b) |            |         |
|----|----------------------------|---------------|------------|---------|
|    |                            | Bogor         | Jogjakarta | Lembang |
| 1  | Kadar Sari Larut           | 35,71         | 42,91      | 32,80   |
|    | Air                        |               |            |         |
| 2  | Kadar Sari Larut Etanol    | 40,91         | 43,82      | 39,84   |
| 3  | Kadar Abu Total            | 13,38         | 11.03      | 16,24   |
| 4  | Kadar Abu Tidak Larut Asam | 1,25          | 0.88       | 1,15    |
| 5  | Susut Pengeringan          | 9,89          | 8,68       | 9,35    |

Prinsip dari pemeriksaan kadar sari adalah melarutkan bahan dengan pelarut baik etanol atau air untuk ditentukan jumlah solut yang identik dengan jumlah senyawa kandungan secara gravimetri. Tujuannya untuk memberikan gambaran awal jumlah kandungan senyawa. Dari data di atas menunjukkan bahwa senyawa yang larut etanol lebih tinggi dibandingkan yang larut air. Pemeriksaan kadar abu bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal suatu bahan. Kadar abu total paling tinggi terdapat pada daun dandang gendis dari lembang sebesar 16,24. Pemeriksaan kadar abu larut air untuk menentukan abu fisiologis sedangkan kadar abu tidak larut asam untuk menentukan abu non fisiologis, abu yang berasal dari pasir dan tanah yang menempel. Susut pengeringan dilakukan untuk memberikan batasan maksimal (rentang) tentang besarnya senyawa yang hilang saat proses pengeringan. Pemeriksaan susut pengeringan bertujuan untuk melihat berapa banyak senyawa yang hilang atau tersusut pada proses pengeringan.

### **Skrinning Fitokimia**

Pemeriksaan ini dilakukan sebagai skrinning awal sebelum melakukan uji aktivitas antioksidan, tujuannya untuk mengetahui adanya golongan besar senyawa yang terdapat pada tanaman. Pemeriksaan penapisan fitokimia simplisia yang dilakukan meliputi pemeriksaan senyawa golongan alkaloid, flavonoid, saponin, kuinon, tannin dan steroid/triterpenoid. Hasil dari penapisan fitokimia dapat dilihat pada tabel.

**Tabel VI.2 Skrinning Fitokimia**

| No | Skrinning Fotokimia  | Hasil % (b/b) |            |         |
|----|----------------------|---------------|------------|---------|
|    |                      | Bogor         | Jogjakarta | Lembang |
| 1  | Alkaloid             | +             | +          | +       |
| 2  | Flavonoid            | +             | +          | +       |
| 3  | Saponin              | +             | -          | +       |
| 4  | Tanin                | +             | +          | +       |
| 5  | Kuinon               | -             | -          | -       |
| 6  | Steroid/Triterpenoid | +             | +          | +       |

Keterangan :

(+) = Mengandung senyawa yang diuji

(-) = Tidak mengandung senyawa yang diuji

Berdasarkan hasil penapisan fitokimia yang dilakukan menunjukkan bahwa adanya alkaloid pada daun dandang gendis. Adanya flavonoid pada daun dandang gendis dari semua daerah dengan ditunjukkan terbentuknya warna pada lapisan amil alkohol. Saponin terdapat pada daun dandang gendis dari bogor dan lembang dengan ditunjukkan terbentuknya busa tahan lama (stabil) pada lapisan cairan. Adanya tanin pada daun dadang gendis dengan ditunjukkan terbentuknya warna hijau kehitaman setelah ditambahkan pereaksi  $\text{FeCl}_3$  1% dan steroid dengan terbentuknya warna hijau kebiruan setelah ditambahkan pereaksi *Lieberman-Buchard*.

### **Ekstraksi**

Ekstraksi daun dandang gendis dilakukan dengan ekstraksi cara dingin menggunakan metode maserasi. Pemilihan metode ekstraksi

cara dingin dilakukan dengan alasan untuk menghindari dan meminimalisir teroksidasinya senyawa yang dapat menyebabkan rusaknya senyawa yang terkandung didalam simplisia akibat proses pemanasan. Sedangkan pemilihan metode maserasi karena metode ini yang sering umum digunakan dan relatif mudah. Simplisia daun dandang gendis dari beberapa daerah masing-masing sebanyak 200 g di maserasi menggunakan pelarut n-heksan, kemudian didiamkan selama 24 jam. Kemudian ambil maseratnya dilakukan sebanyak 3 kali. Setelah simplisia kering masukkan pelarut etyl asetat didiamkan selama 24 jam. Kemudian ambil maseratnya, dilakukan sebanyak 3 kali. Setelah itu lakukan kembali dengan menggunakan pelarut etanol 96% , didiamkan selama 24 jam. Kemudian ambil maseratnya, dilakukan sebanyak 3 kali.

**Tabel VI.3. Rendemen Ekstrak**

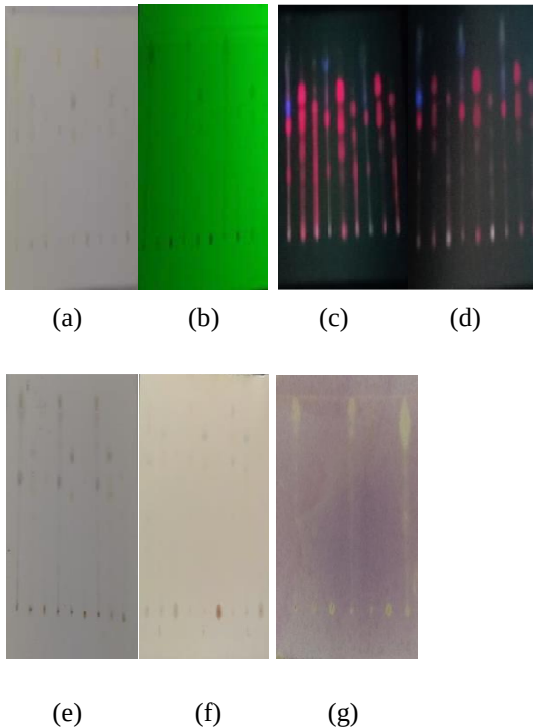
| Ekstrak     | Hasil % (b/b) |            |         |
|-------------|---------------|------------|---------|
|             | Bogor         | Jogjakarta | Lembang |
| n-Heksana   | 2,20          | 2,23       | 3,08    |
| Etyl asetat | 3,16          | 2,65       | 2,74    |
| Etanol      | 6,82          | 9,05       | 7,23    |

### **Pengujian Kualitatif**

Pada pengujian secara kualitatif dilakukan dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan fase diam silika gel GF<sub>254</sub> pra salut, fase gerak yang digunakan dengan tiga pengembang yaitu non polar, semi polar dan polar. Penggunaan tiga pengembang yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda bertujuan untuk melihat pola kromatogram senyawa dari ekstrak. Bercak yang membaerikan intensitas warna

dengan penampak bercak spesifik fenol, flavonoid dan antioksidan yang paling baik akan terdeteksi. Penampak bercak yang digunakan yaitu DPPH 0,2%, sitroborat,  $\text{FeCl}_3$  1% dalam metanol dan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  10%.

Adapun hasil kualitatif ekstrak adalah sebagai berikut :



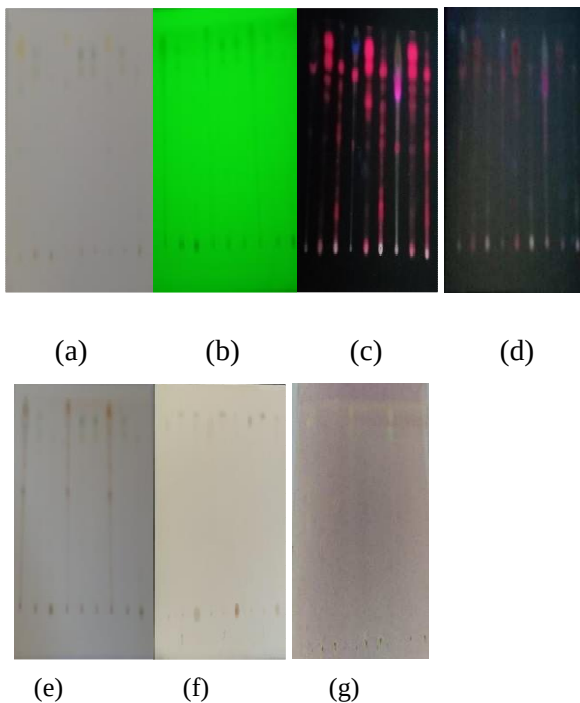
Gambar VI.1: Pola Kromatogram Ekstrak n-heksan Menggunakan Fase Gerak n-heksan – Etil Asetat (7:3)

Keterangan: Kromatogram Lapis Tipis menggunakan plat silica  $\text{GF}_{254}$ ,

1. Ekstrak n-heksan bogor, 2. Ekstrak etil asetat bogor, 3. Ekstrak etanol bogor, 4. Ekstrak n-heksan jogjakarta, 5. Ekstrak etil asetat

jogjakarta, 6. Ekstrak etanol jogjakarta, 7.ekstrak n-heksan lembang, 8. Ekstrak etil asetat lembang, 9. Ekstrak etanol lembang, pemantauan (a). Visual, (b). Sinar UV  $\lambda$  254 nm, (c). Sinar UV  $\lambda$  366 nm, (d). Penampak bercak sitroborat dengan sinar UV  $\lambda$  366 , (e). Penampak bercak  $\text{H}_2\text{SO}_4$  10% dalam metanol, (f)  $\text{FeCl}_3$  1%, (g). Penampak bercak DPPH 0,2 % dalam metanol.

Dari hasil pengujian dengan pengembang yaitu n-Heksan:Etil Asetat (7:3) setelah disemprot penampak bercak DPPH 0,2% dalam metanol. Hasil menunjukan bahwa ekstrak n-heksan daun dandang gendis dari Bogor, Jogjakarta dan Lembang terdapat senyawa antioksidan dengan adanya intensitas warna (bercak) kuning dengan latar ungu yang muncul. Kemudian dengan penampak bercak sitroborat menunjukan positif dengan munculnya warna kuning pada ekstrak. Dengan penampak bercak  $\text{FeCl}_3$  1% menunjukan hasil positif terdapat warna hitam pada ekstrak. Dari hasil dapat disimpulkan bahwa senyawa yang berperan baik sebagai fenol dan flavonoid terdistribusi dalam pengembang yang dipilih. Sedangkan senyawa yang berperan baik sebagai antioksidan terdistribusi dalam pengembang non polar.

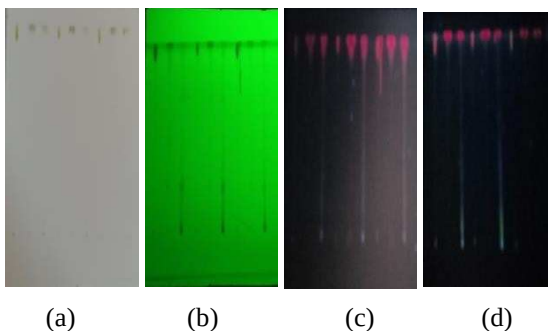


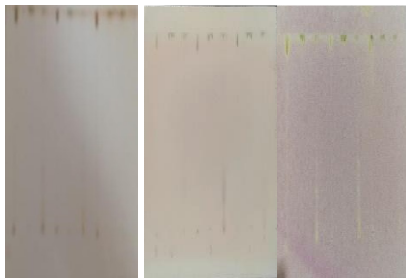
Gambar VI.2: Pola Kromatogram Ekstrak Etil asetat Menggunakan Fase Gerak Etil Asetat - Toluena (7:3)

Keterangan: Kromatogram Lapis Tipis menggunakan plat silika GF<sub>254</sub>, 1. Ekstrak n-heksan bogor, 2. Ekstrak etil asetat bogor, 3. Ekstrak etanol bogor, 4. Ekstrak n-heksan jogjakarta, 5. Ekstrak etil asetat jogjakarta, 6. Ekstrak etanol jogjakarta, 7.ekstrak n-heksan lembang, 8. Ekstrak etil asetat lembang, 9. Ekstrak etanol lembang, pemantauan (a). Visual, (b). Sinar UV  $\lambda$  254 nm, (c). Sinar UV  $\lambda$  366 nm, (d). Penampakan bercak sitroborat dengan sinar UV  $\lambda$  366 , (e). Penampakan bercak H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10% dalam metanol, (f) FeCl<sub>3</sub> 1%, (g). Penampakan bercak DPPH 0,2 % dalam metanol.



Dari hasil pengujian dengan pengembang yaitu etil asetat:toluene (7:3) setelah disemprot penampak bercak DPPH 0,2 % dalam metanol. Hasil menunjukan bahwa ekstrak etil asetat daun dandang gendis dari bogor, jogjakarta dan lembang tidak terdapat senyawa antioksidan karena tidak muncul (bercak) kuning dengan latar ungu pada ekstrak. Kemudian dengan penampak bercak sitroborat menunjukan positif dengan munculnya warna kuning pada ekstrak. Dengan penampak bercak  $\text{FeCl}_3$  1% menunjukan hasil negatif karena tidak munculnya warna hitam pada ekstrak. Dari hasil dapat disimpulkan bahwa senyawa yang berperan baik sebagai fenol dan DPPH tidak terdistribusi baik dalam pengembang yang dipilih. Sedangkan senyawa yang berperan baik sebagai flavonoid terdistribusi dalam pengembang semi polar.





(d)

(f)

(g)

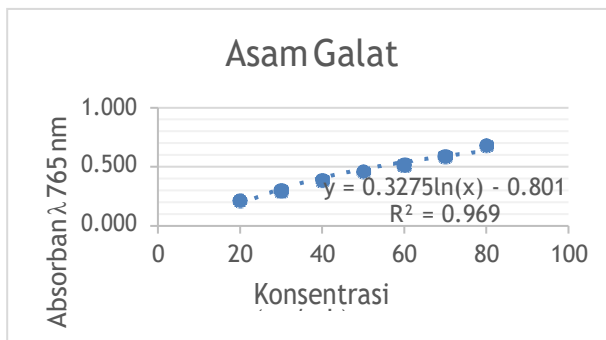
Gambar VI.2: Pola Kromatogram Ekstrak Etanol Menggunakan Fase Gerak Etil Asetat-Asam Format-Air (8:1:1)

Dari hasil pengujian dengan pengembang yaitu Etil asetat:Asam format:Air (8:1:1) setelah disemprot penampak bercak DPPH 0,2 % dalam metanol. Hasil menunjukan bahwa ekstrak etanol daun dandang gendis terdapat senyawa antioksidan dengan adanya intensitas warna (bercak) kuning dengan latar ungu yang muncul. Kemudian dengan dengan penampak bercak sitroborat negatif tidak munculnya warna kuning pada ekstrak. Dengan penampak bercak  $\text{FeCl}_3$  1% menunjukan hasil positif karena muncul warna hitam pada ekstrak. Dari hasil dapat disimpulkan bahwa senyawa yang berperan baik sebagai fenol terdistribusi dalam pengembang yang dipilih. Sedangkan senyawa flavonoid tidak terdistribusi baik dalam pengembang yang dipilih.

### **Penetapan Kadar Fenol Total**

Setelah dilakukan uji kualitatif melalui pemantauan KLT selanjutnya dilakukan penetapan kadar fenol total. Penetapan kadar fenol total

bertujuan untuk mengetahui jumlah fenol yang terdapat pada daun dandang gendis. Uji kandungan fenol total dianalisis menggunakan reagen folin *Folin Ciocalteu* yang dilarutkan dalam aquadest (1:10). Sebanyak 0,5 mL sampel ekstrak dari ekstrak larutan induk ditambahkan 5 mL reagen *Folin Ciocalteu* inkubasi 5 menit, kemudian larutan tersebut ditambahkan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  1M dan inkubasi selama 15 menit, kemudian ukur absorbansinya pada panjang gelombang 765nm.



Gambar VI.4: Kurva kalibrasi standar asam galat pada  $\lambda$  765 nm

Dari hasil kurva kalibrasi asam galat diperoleh persamaan regresi linier ( $y=bx+a$ ), 'a' = 0,0708 , 'b' = 0,0076 dan kuadrat koefisien relasinya ( $r^2$ ) = 0,9958

Setelah kurva kalibrasi asam galat diperoleh selanjutnya dilakukan pengukuran terhadap kesembilan sampel ekstrak uji pengukuran dilakukan sebanyak tiga kali (triplo). Data absorbansi hasil pengukuran dimasukkan kedalam kurva kalibrasi asam galat dimana absorbansi sampel uji yang didapat sebagai "y" sehingga didapat

nilai “x” sebagai ekivalen, persentasi kadar fenol total di hitung dengan : sampel ekivalen ( $\mu\text{g/mL}$ ) x volume total metanol (mL) / berat sampel (mg) x 100 (factor pengenceran jika dilakukan). Hasil kadar fenol total tertera pada tabel dibawah ini:

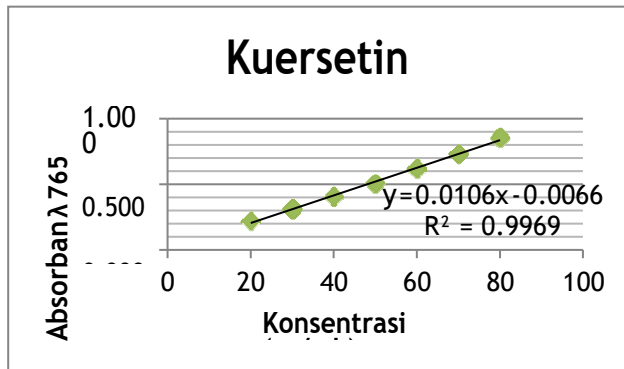
**Tabel VI.4 Kadar Fenol Total**

| <b>Sampel Ekstrak Daun Dandang Gendis</b> | <b>Kadar Fenol Total (%) (mg GAE/mg Sampel)</b> |
|-------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| Bogor (n-heksan)                          | 17,55                                           |
| Bogor (etyl asetat)                       | 0,89                                            |
| Bogor (etanol)                            | 6,42                                            |
| Jogjakarta (n-heksan)                     | 17,88                                           |
| Jogjakarta (etyl asetat)                  | 1,52                                            |
| Jogjakarta (etanol)                       | 7,90                                            |
| Lembang (n-heksan)                        | 18,17                                           |
| Lembang (etyl asetat)                     | 1,30                                            |
| Lembang (etanol)                          | 6,98                                            |

Dari hasil tabel diatas disimpulkan bahwa sampel yang memiliki persentase kadar paling tinggi terdapat pada ekstrak n-heksan Lembang dengan persentasi kadar sebesar 18,17mg GAE/100mg ekstrak. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan fenol yang terdapat pada ekstrak n-heksan Lembang paling banyak dibandingkan ekstrak daun yang lainnya.

### Penetapan Kadar Flavonoid Total

Penetapan kadar flavonoid total pada ekstrak daun dandang gendis dilakukan secara kolorimetri menggunakan metode Ordon. Teknik penetapan metode ini menggunakan pereaksi  $\text{AlCl}_3$  2% dalam etanol p.a. Sebanyak 2 mL sampel ekstrak uji dari larutan induk ditambahkan 2 mL pereaksi  $\text{AlCl}_3$  2%. Perbandingan volume (1:1) inkubasi 1 jam, kemudian ukur absorbansinya menggunakan spektrofotometri UV-Visibel pada panjang gelombang 420nm.



Gambar VI.5: Kurva kalibrasi standar kuersetin pada  $\lambda$  420 nm

Dari kurva kalibrasi diatas diperoleh persamaan regresi linier ( $y=bx+a$ ), 'a' = 0,0066 , 'b' = 0,0396 dan kuadrat koefisien relasinya ( $r^2$ ) = 0,9969. Setelah kurva kalibrasi kuersetin diperoleh selanjutnya dilakukan pengukuran terhadap kesembilan sampl ekstrak uji, pengukuran dilakukan sebanyak tiga kali (triplo). Data absorbansi hasil pengukuran dimasukkan kedalam kurva kalibrasi kuersetin dimana absorbansi sampel uji yang didapat sebagai 'y' sehingga

didapat nilai “k” sebagai ekivalen, persentasi kadar flavonoid total dihitung dengan : sampel ekivalen ( $\mu\text{g/mL}$ ) x volume total etanol (mL) + berat sampel (mg) x 100. Hasil kadar flavonoid total tertera pada tabel dibawah ini:

**Tabel VI.5 Kadar Flavonoid Total**

| <b>Sampel Ekstrak Daun<br/>Dandang Gendis</b> | <b>Kadar Flavonoid Total (%) (mg<br/>QE/mg Sampel)</b> |
|-----------------------------------------------|--------------------------------------------------------|
| Bogor (n-heksan)                              | 25,09                                                  |
| Bogor (etyl asetat)                           | 28,528                                                 |
| Bogor (etanol)                                | 11,41                                                  |
| Jogjakarta (n-heksan)                         | 28,91                                                  |
| Jogjakarta (etyl asetat)                      | 31,390                                                 |
| Jogjakarta (etanol)                           | 12,93                                                  |
| Lembang (n-heksan)                            | 22,73                                                  |
| Lembang (etyl asetat)                         | 29,314                                                 |
| Lembang (etanol)                              | 14,16                                                  |

Dari hasil tabel diatas disimpulkan bahwa sampel yang memiliki persentase kadar paling tinggi terdapat pada ekstrak etyl asetat jogjakarta dengan persentasi kadar sebesar 31,390 mg QE/100mg ekstrak. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan flavonoid yang terdapat pada ekstrak etyl asetat jogjakarta paling banyak dibandingkan ekstrak daun yang lainnya.

### **Uji Aktivitas Antioksidan**

Potensi antioksidan diuji secara kuantitatif dengan menggunakan spektrofotometri terhadap ekstrak menggunakan metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) sebagai radikal bebas. DPPH merupakan serbuk berwarna ungu tua, larut dalam alkohol dan metanol. Bila dilarutkan akan berwarna ungu dan apabila bereaksi dengan senyawa peredaman radikal bebas warna ungu tersebut akan memudar.

Pemeriksaan aktivitas antioksidan pada daun dandang gendis dilakukan secara spektrofotometri dengan mereaksikan sampel dengan larutan DPPH dengan perbandingan (1:1) pada panjang gelombang 516 nm yang merupakan panjang gelombang maksimum DPPH dari hasil pengukuran pada konsentrasi DPPH 60 ppm. Metode DPPH dipilih karena sederhana, mudah cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel. Pada saat pengukuran dilakukan ditempat gelap, hal ini untuk menghindari terurainya larutan DPPH yang mudah teroksidasi. Sebelum dilakukan pengukuran sampel yang telah ditambahkan DPPH, dilakukan penginkubasian selama 30 menit, pada saat inilah terjadi reaksi pendonoran proton yang berasal dari ekstrak sampel yang memiliki aktivitas antioksidan dari sampel mengakibatkan terjadinya perubahan warna dari yang semula ungu menjadi kuning pucat dan kemudian diukur pada panjang gelombang serapan maksimum DPPH. Semakin pekat warna perubahan warna kuning yang terjadi semakin kuat pula aktivitas antioksidannya. Proses pengukuran setiap masing-masing seri konsentrasi dilakukan tiga kali (triplo), hal ini bertujuan untuk melihat akurasi dan presisinya.

Selanjutnya dari data absorbansi yang didapat dilakukan perhitungan untuk mencari peredaman 50% (% inhibisi) persen penurunan absorbansi DPPH dengan menggunakan rumus :  $(\% I = A_o - A_s / A_o \times 100\%)$ . “ $A_o$ ” merupakan absorbansi larutan baku stok DPPH. Proses selanjutnya dilakukan perhitungan nilai  $IC_{50}$  pada ekstrak uji dengan menggunakan persamaan regresi linier antara konsentrasi sampel (ppm) terhadap persen inhibisi “ $y$ ” merupakan nilai peredaman 50% (%inhibisi) atau disebut juga variable tak bebas. Sedangkan “ $x$ ” merupakan hasil nilai  $IC_{50}$  ekstrak. Nilai  $IC_{50}$  menunjukkan nilai konsentrasi efektif dimana konsentrasi yang menurunkan 50% radikal bebas DPPH dalam ekstrak.

Besarnya aktivitas antioksidan dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier antara konsentrasi terhadap % peredaman sehingga diperoleh nilai  $IC_{50}$ . Nilai  $IC_{50}$  ini menunjukkan besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat menangkap radikal bebas sebesar 50%. Hasil uji aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi sampel dalam menangkap radikal bebas dan dapat ditandai dengan nilai absorbansi yang semakin kecil. Berikut hasil uji aktivitas antioksidan dari masing-masing sampel.



**Tabel VI.6 Nilai IC<sub>50</sub>**

| Sampel Ekstrak Daun      | IC <sub>50</sub> | R <sup>2</sup> |
|--------------------------|------------------|----------------|
| Bogor (n-heksan)         | 42,562           | 0.9744         |
| Bogor (etyl asetat)      | 519,45           | 0,9827         |
| Bogor (etanol)           | 1839,28          | 0,9744         |
| Jogjakarta (n-heksan)    | 80,815           | 0.9867         |
| Jogjakarta (etyl asetat) | 643,29           | 0,9813         |
| Jogjakarta (etanol)      | 1752,22          | 0,9903         |
| Lembang (n-heksan)       | 66,492           | 0,9983         |
| Lembang (etyl asetat)    | 1143,45          | 0,9912         |
| Lembang (etanol).        | 2094,17          | 0,9933         |
| Vitamin C                | 8,077            | 0,9826         |

Keterangan :

IC<sub>50</sub> = Konsentrasi yang dibutuhkan untuk menurunkan 50% absorbansi DPPH

R<sup>2</sup> = Kuadrat koefisien korelasi persamaan regresi linier.

Berdasarkan hasil uji aktivitas antioksidan sampel daun dandang gendis dengan menggunakan metode DPPH secara kuantitatif menunjukkan bahwa ekstrak daun dandang gendis pelarut n-heksan memiliki aktivitas yang paling aktif dibandingkan dengan ekstrak daun yang lainnya. Oleh karena itu ekstrak daun dandang gendis dapat meredam radikal bebas IC<sub>50</sub> yaitu 42,562 µg/mL (ppm).