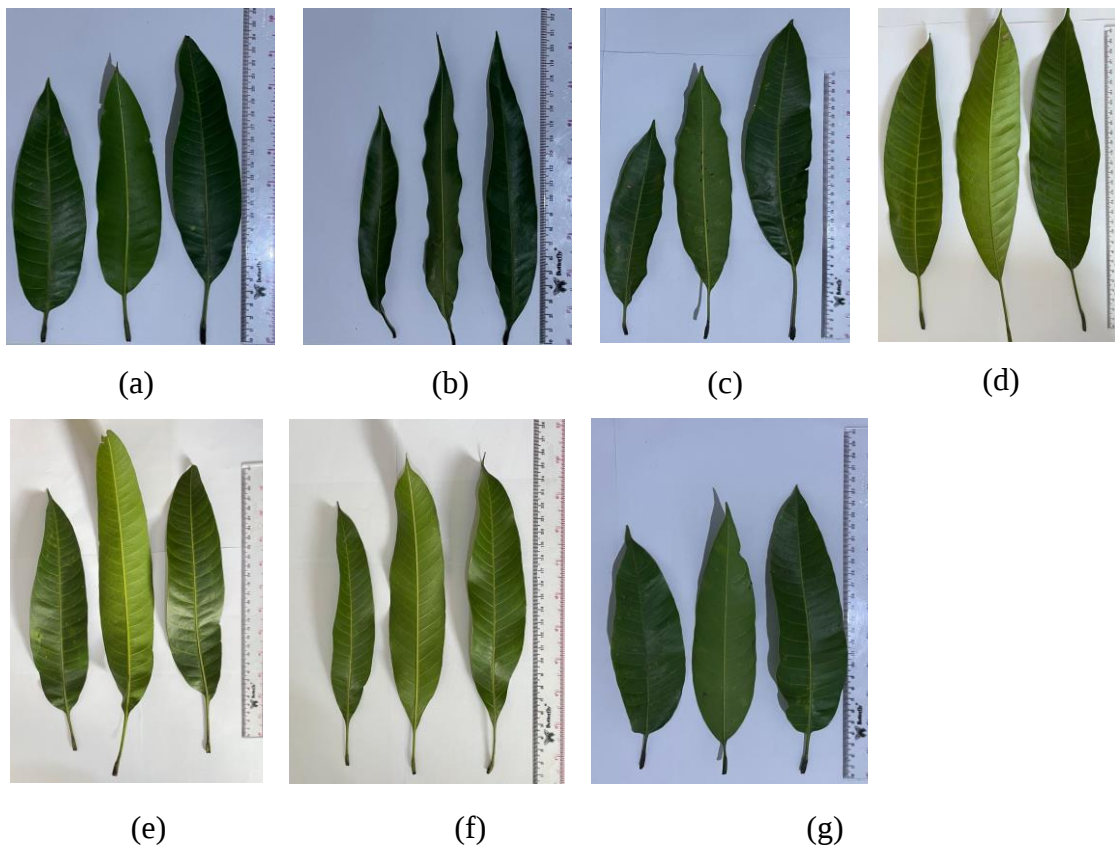


BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Penyiapan Bahan

Penyiapan bahan pada penelitian ini yaitu pengumpulan sampel, determinasi, dan pengolahan sampel menjadi simplisia. Tujuh jenis daun mangga sebagai bahan penelitiannya yaitu daun mangga gedong gincu, mangga kiojay, mangga apel, mangga madu, mangga kweni, mangga arumanis, dan mangga indramayu yang diperoleh dari daerah Majalengka Jawa Barat pada bulan Januari-Februari 2023. Selanjutnya, determinasi dilakukan di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Universitas Padjajaran. Tujuan dari determinasi ialah untuk memastikan kebenaran dari jenis tumbuhan yang akan diteliti. Dengan kata lain, determinasi merupakan salah satu cara pemastian kebenaran tumbuhan yang akan diteliti sehingga dapat menjamin kebenaran spesies yang dimaksud. Hasil determinasi menunjukkan semua mangga memiliki nama ilmiah *Mangifera Indica* L, suku Anacardiaceae, sedangkan surat hasil determinasi ditunjukkan pada lampiran 3.



Gambar V.1 Makroskopik daun mangga, (a) gedong gincu, (b) apel, (c) arumanis, (d) kweni, (e) kiojay, (f) madu, (g) indramayu

Tahapan berikutnya adalah pengolahan sampel menjadi simplisia. Setelah dilakukan penimbangan, lalu dilanjutkan sortasi basah yaitu mencuci bahan dengan air yang mengalir sehingga terbebas dari kotoran atau bahan asing. Gambar V.1 menunjukkan gambar makroskopik daun yang digunakan dalam penelitian dan Tabel V.1 menunjukkan hasil uji makroskopiknya.

Tabel V.1 Hasil Uji Makroskopik Daun Mangga

No.	Sampel Daun	Kode	Warna	Aroma	Rasa	Ukuran (Cm)	
						Panjang	Lebar
1.	Mangga arumanis	M-AM	Hijau	Wangi khas	Hambar	24-37	4,5-6
2.	Mangga apel	M-AP	Hijau tua	Sangat wangi	Hambar	16-21,5	3-4,5
3.	Mangga gedong gincu	M-GD	Hijau	Wangi khas	Agak pahit	21-24,5	4-5,5
4.	Mangga indramayu	M-IM	Hijau	Wangi khas	Agak pahit	22-25,5	5,5-6,5
5.	Mangga kweni	M-KW	Hijau tua	Wangi khas	Hambar	30-33	8,5-9
6.	Mangga kiojay	M-KJ	Hijau	Wangi khas	Hambar	30-35	6,5-7
7.	Mangga madu	M-MD	Hijau	Wangi khas	Hambar	21,5-25,5	4,5-5,5

Berdasarkan Tabel V.1 sebagian besar daun mangga berwarna hijau, memiliki aroma wangi yang khas, dan memiliki rasa yang hambar. Jika ditinjau dari segi ukuran, maka daun mangga kweni dan daun mangga kiojay memiliki ukuran yang panjang dibandingkan jenis daun mangga lainnya yaitu mencapai 30 hingga 35 cm, dan memiliki lebar dengan kisaran 6,5 hingga 9 cm.

Proses pengolahan sampel dilanjutkan dengan tahapan pengeringan bahan menggunakan alat oven pada suhu 50°C selama 12 jam dengan tujuan mengurangi kadar air bahan sehingga pertumbuhan mikroorganisme pada simplisia dapat dihindari dan simplisia dapat disimpan pada jangka waktu yang lama.

Proses penyiapan bahan berikutnya adalah sortasi kering. Prosedur ini dilakukan untuk memilah benda asing dari tanaman yang tidak diperlukan maupun pengotor lain dari simplisia yang hendak digunakan. Simplisia diserbukan dengan cara digiling untuk memperbesar luas permukaan dan memperkecil ukuran partikel dengan harapan pada saat proses ekstraksi kandungan kimia yang terekstrak akan lebih optimal. Serbuk simplisia di simpan pada wadah yang tertutup dan terhindar dari cahaya matahari. Masing-masing simplisia diberi kode untuk mempermudah penulisan maupun pengolahan.

5.2 Karakterisasi Simplisia

Karakterisasi simplisia merupakan suatu parameter yang bertujuan untuk mengenali mutu serta kualitas yang digunakan meliputi penetapan kadar air, kadar abu tidak larut asam, kadar sari larut air, kadar abu total, kadar sari larut etanol.

Tujuan dari masing-masing karakterisasi simplisia diantaranya penetapan kadar abu total untuk menguraikan kandungan mineral bahan fisiologis serta non-fisiologis, kadar abu tidak larut asam ditujukan untuk mengetahui jumlah kadar abu yang diperoleh dari luar seperti pengotor dari tanah atau pasir, penetapan kadar sari larut etanol untuk mengetahui kadar senyawa yang larut dalam etanol, penetapan kadar sari larut air untuk mengetahui kadar senyawa yang larut dalam air, penetapan kadar air ditujukan untuk memberikan batasan maksimal besarnya air pada simplisia. Tabel V.2 menunjukkan hasil karakterisasi simplisia pada penelitian ini.

Tabel V.2 Hasil Karakterisasi Simplisia Daun Mangga

Sampel	Hasil % (b/b)*				
	Kadar abu total	Kadar abu tidak larut asam	Kadar sari larut etanol	Kadar sari larut air	Kadar air
M-AM	10,00±0,5	4,05±0,86	19,33±4,72	19,66±5,50	5,58±0,59
M-AP	10,33±0,57	4,66±0,28	14,00±1,73	20,33±3,21	4,69±0,78
M-GD	9,05±0,5	4,83±0,28	14,33±5,77	21,33±5,13	5,08±0,21
M-IM	10,05±0,5	5,00±0	15,33±2,51	21,66±8,62	6,27±0,35
M-KW	9,66±1,54	4,83±0,28	11,33±3,21	19,33±2,51	5,53±0,61
M-KJ	9,83±0,28	4,83±0,28	16,00±6,24	23,66±2,08	5,62±0,78
M-MD	9,83±0,76	5,00±0	11,00±1,73	21,33±3,21	5,57±1,04

Hasil ditampilkan dalam kadar rata-rata ±SD, (n=3)

Berdasarkan Tabel V.2 dapat dilihat hasil karakterisasi simplisia daun mangga pada penelitian ini. Hasil yang diperoleh menunjukkan kadar abu total tertinggi dimiliki oleh daun mangga Apel yang mencapai 10,33% sedangkan rata-rata daun mangga lainnya hanya sekitar 9,85 %. Ini berarti daun mangga indramayu memiliki kandungan mineral yang tinggi dibandingkan jenis daun mangga lainnya. Hasil tertinggi pada kadar abu tidak larut asam dimiliki oleh daun mangga indramayu dan daun mangga madu, keduanya mencapai 5,00%, sedangkan rata-rata jenis daun mangga lainnya sekitar 4,73%. Ini artinya kedua jenis daun mangga tersebut memiliki tingkat cemaran eksternal yang tinggi akibat faktor lingkungan. Mengingat sebagian besar jenis daun mangga tersebut tumbuh di daerah Majalengka yang berdampingan dengan area pabrik sehingga rentan terkontaminasi polutan. Kemudian, hasil kadar sari larut etanol

tertinggi dicapai oleh daun mangga arumanis yang mencapai 19,33% sedangkan rata-rata jenis daun mangga lainnya hanya mencapai 13,66%, sedangkan hasil kadar sari larut air tertinggi dimiliki oleh daun mangga kiojay yang mencapai 23,66% dibandingkan daun mangga lainnya yang memiliki rata-rata 20,6%. Adapun hasil kadar air tertinggi dimiliki oleh daun mangga indramayu yaitu sebesar 6,27%, sedangkan jenis daun mangga lainnya memiliki rata-rata 5,34%. Artinya, daun mangga indramayu akan rentan mengalami kerusakan akibat aktivitas dari biologis internal (metabolisme) maupun mikroba perusak yang masuk. Berdasarkan uraian tersebut, keseluruhan jenis daun mangga yang diteliti memiliki karakterisasi simplisia yang berbeda-beda.

5.3 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia ialah uji kualitatif yang bertujuan untuk mengidentifikasi golongan senyawa yang terkandung didalam simplisia. Golongan senyawa yang diuji pada identifikasi golongan senyawa ini adalah uji flavonoid, alkaloid, kuinon, tanin, saponin, fenol, steroid/ triterpenoid.

Tabel V.3 Hasil Skrining Fitokimia Simplisia Daun Mangga

Pengujian	Mangga Arumanis	Mangga Apel	Mangga Gedong	Mangga Indramayu	Mangga Kweni	Mangga Kiojay	Mangga Madu
Alkaloid	-	-	-	-	-	-	-
Flavonoid	+	+	+	+	+	+	+
Kuinon	+	+	+	+	+	+	+
Saponin	+	-	-	+	-	-	-
Fenol	+	+	+	+	+	+	+
Tanin	+	+	+	+	+	+	+
Steroid/ Triterpenoid	+	+	+	+	+	+	+

Keterangan = (+) Mengandung golongan senyawa yang diuji
 = (-) Tidak mengandung golongan senyawa yang diuji

Hasil pengujian yang dilakukan menunjukkan seluruh simplisia mengandung senyawa golongan tanin, flavonoid, kuinon, fenol dan steroid/triterpenoid, sedangkan seluruh simplisia tidak mengandung alkaloid. Namun, ada dua jenis daun mangga yang mengandung saponin yaitu daun mangga arumanis dan daun mangga indramayu.

5.4 Pembuatan Ekstrak

Ekstraksi dapat didefinisikan sebagai proses untuk menarik semua komponen kimia yang terkandung dalam sampel. Ekstraksi pada ketujuh simplisia dalam penelitian ini dilakukan secara maserasi. Maserasi merupakan metode ekstraksi cara dingin yang dilakukan dengan cara merendam sampel selama 24 jam pada jumlah pelarut tertentu. Proses yang pertama dilakukan adalah menimbang masing-masing simplisia sebanyak 100 g kemudian dimaserasi dengan total pelarut etanol 96% 1000 mL atau dengan perbandingan 1:10 yang dibagi menjadi 3 kali pengulangan sebanyak 400 mL, 300 mL, 300 mL. Kemudian, simplisia disaring menggunakan kain batis dan kertas saring sebanyak 3 kali penyaringan.

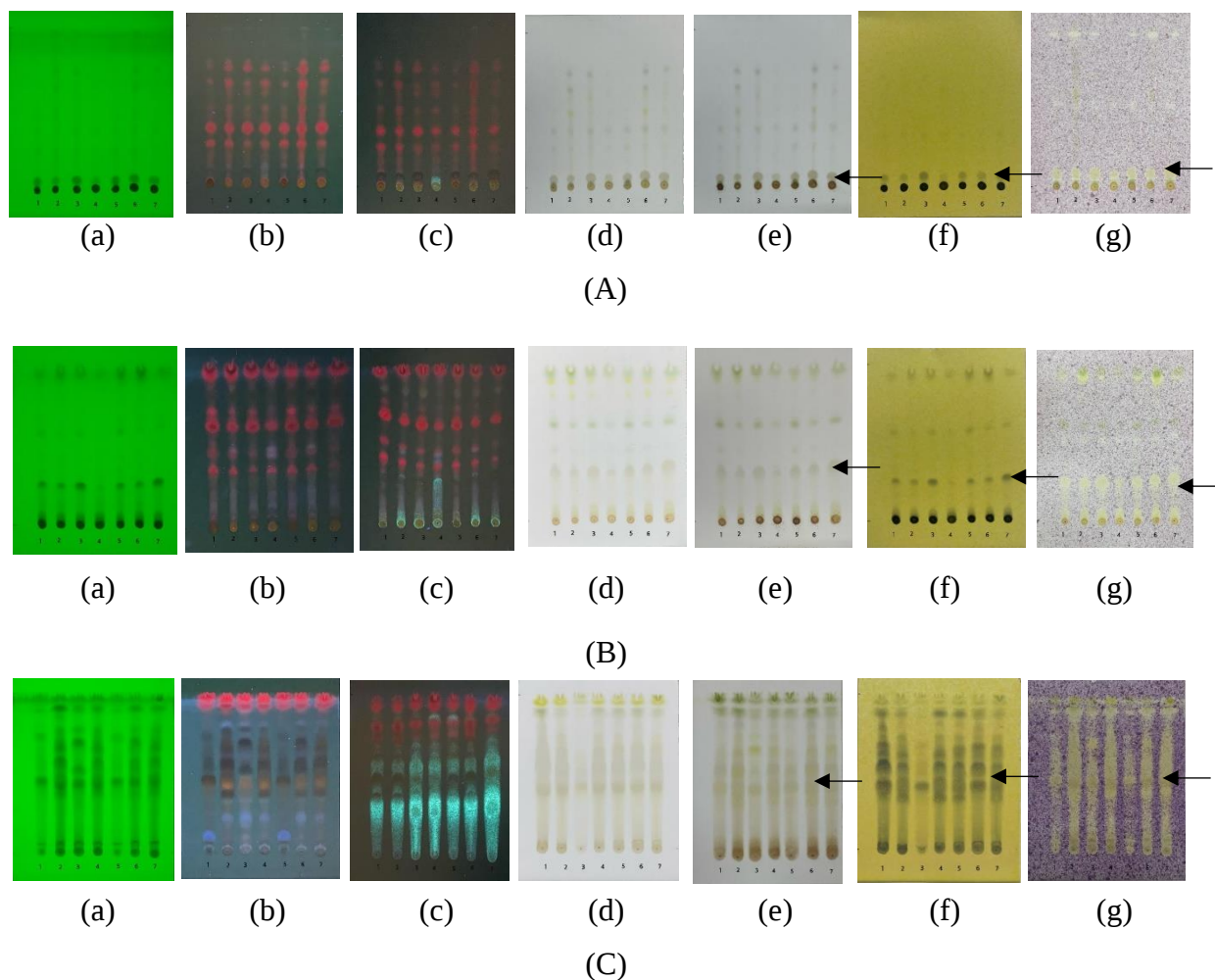
Tabel V.4 Hasil Rendemen Ekstrak Daun Mangga

Sampel	Kode Sampel	Berat Ekstrak (gram)	Rendemen (%)
Mangga Arumanis	M-AM	16,19	16,19
Mangga Apel	M-AP	20,04	20,04
Mangga Gedong	M-GD	14,64	14,64
Mangga Indramayu	M-IM	17,96	17,96
Mangga Kweni	M-KW	10,46	10,46
Mangga Kiojay	M-KJ	16,73	16,73
Mangga Madu	M-MD	10,64	10,64

Berdasarkan tabel V.4 hasil rendemen ekstrak terbesar adalah daun mangga apel yaitu sebesar 20,04%, sedangkan rendemen ekstrak terkecil adalah daun mangga kweni yaitu sebesar 10,46%. Semakin tinggi nilai dari rendemen, maka ekstrak yang akan dihasilkan semakin banyak. Oleh karena itu, jumlah ekstrak daun mangga apel lebih banyak dibandingkan jenis daun mangga lainnya.

5.5 Pemantauan Ekstrak

Tujuan dari pemantauan ekstrak adalah untuk melihat kandungan senyawa tertentu yang terdapat pada ekstrak dan sebagai uji kualitatif aktivitas antioksidan. Pemantauan dilakukan terhadap flavonoid, fenol, dan senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan.



Gambar V.2 Kromatogram lapis tipis ekstrak mangga, fase diam silika gel F₂₅₄, fase gerak (A) n-heksana-etil asetat (7:3), (B) kloroform-metanol (9:1), (C) etil asetat-metanol- air (8:1:1), (a) sinar UV λ 254 nm, (b) sinar UV λ 366 nm, (c) AlCl₃ 5% di bawah sinar UV λ 366 nm, (d) sinar tampak, (e) H₂SO₄ 10%, (f) FeCl₃ 10%, (g) DPPH 0,2%, (1) M-AM, (2) M-IM, (3) M-AP, (4) M-KW, (5) M-GD, (6) M-KJ, (7) M-MD.

Pemantauan ekstrak dilakukan dengan kromatografi lapis tipis dengan sistem yang menggunakan plat silika gel F₂₅₄ sebagai fase diam, fase gerak yang digunakannya diantaranya adalah n-heksana-etil asetat (7:3), kloroform-metanol (9:1), etil asetat-metanol-air (8:1:1) dengan menggunakan penampak bercak AlCl₃ 5% (MeOH), H₂SO₄ 10% (MeOH), FeCl₃ 10% (MeOH), dan DPPH 0,2% (MeOH). Penggunaan fase gerak yang berbeda ditujukan untuk menyesuaikan dengan kepolaran senyawa yang pada ekstrak, sehingga diharapkan fase gerak dapat memisahkan bercak yang terkandung dalam suatu ekstrak sehingga kromatogram yang dihasilkan dapat memberikan gambaran untuk kandungan kimia yang terkandung pada masing-masing ekstrak. Hasil ditunjukkan pada gambar V.2.

Hasil pemantauan semua ekstrak mangga terdapat bercak yang berfluoresensi berwarna hijau di bawah sinar lampu UV λ 366 nm setelah disemprotkan menggunakan penampak bercak AlCl_3 5% dalam metanol yang menandakan adanya golongan flavonoid. Pada plat yang disemprotkan penampak bercak FeCl_3 10% semua ekstrak terdapat bercak berwarna hijau kehitaman dengan latar kuning kecoklatan yang menandakan keberadaan senyawa golongan fenol.

Penyemprotan plat dengan larutan DPPH 0,2% dalam metanol membentuk bercak kuning dengan latar belakang warna ungu menandakan adanya senyawa yang mengandung aktivitas antioksidan. Dari hasil pemantauan menunjukkan bahwa secara kualitatif semua ekstrak positif mengandung senyawa dengan aktivitas antioksidan. Bercak warna kuning yang terbentuk setelah penyemprotan larutan DPPH 0,2% yang disebabkan oleh adanya senyawa yang mampu mendonorkan atom hidrogen sehingga terjadi oksidasi pada DPPH ditandai dengan menghilangnya warna ungu dari larutan DPPH.

5.6 Pengujian Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan pada pengujian kuantitatif terhadap ekstrak daun mangga menggunakan DPPH sebagai radikal bebas. Metode ini berdasarkan pada pengukuran absorbansi DPPH yang teroksidasi oleh sampel uji pada saat diinkubasi sehingga didapat nilai absorbansi yang rendah dibandingkan dengan nilai absorbansi kontrol (larutan stok DPPH-metanol = 1:1). Pemilihan metode ini berdasarkan pada kesederhanaan pengerjaan dari aspek instrumen yang diperlukan maupun cara menetapkan aktivitas antioksidannya.

Pengujian aktivitas antioksidan panjang gelombang DPPH yang diperoleh pada pengujian ini yaitu λ 515 nm dalam pelarut metanol sesuai dengan pustaka yang menyatakan bahwa panjang gelombang maksimal untuk DPPH ada pada rentang λ 515-520 nm. Pengukuran absorbansi selanjutnya akan dilakukan pada panjang gelombang tersebut.

Selanjutnya dibuat kurva kalibrasi DPPH. Seri konsentrasi yang dibuat adalah 20, 30, 40, 50, 60, 70 dan 80 $\mu\text{g/ml}$. Tiap konsentrasi diambil 2 mL dan ditambahkan 2 mL metanol, diinkubasi selama 30 menit di tempat gelap pada suhu ruang guna menghindari terjadinya penguraian pada larutan DPPH, kemudian absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer sinar tampak. Konsentrasi kontrol dipilih berdasarkan konsentrasi yang memiliki nilai absorbansi 0,7-0,8, maka dipilih konsentrasi 70 $\mu\text{g/mL}$ menghasilkan absorbansi sekitar 0,839 sebagai larutan stok

DPPH. Tujuan pemilihan nilai absorbansi adalah untuk memaksimalkan penurunan absorbansi DPPH oleh sampel ekstrak dan masih memenuhi hukum Lambert-Beer (Molyneux, 2004).

Tabel V.5 Nilai IC_{50} Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Mangga dan vitamin C

SAMPEL	Kode	$IC_{50} \pm SD$ ($\mu\text{g/mL}$)
Mangga Arumanis	M-AM	33,157 $\pm$ 0,898
Mangga Apel	M-AP	29,493 $\pm$ 0,812
Mangga Gedong	M-GD	28,168 $\pm$ 0,230
Mangga Indramayu	M-IM	48,686 $\pm$ 6,742
Mangga Kweni	M-KW	44,859 $\pm$ 0,104
Mangga Kiojay	M-KJ	32,690 $\pm$ 0,052
Mangga Madu	M-MD	35,338 $\pm$ 0,511
VITAMIN C		7,90 $\pm$ 0,01

Hasil ditampilkan dalam rata-rata $\pm$ SD, (n=3)

Nilai IC_{50} ditentukan dengan menggunakan persamaan regresi linear ($y=bx+a$) yang diperoleh dari kurva kalibrasi antara konsentrasi (x) dengan % inhibisi (y). Masing-masing ekstrak dibuat 7 konsentrasi dalam metanol, kemudian diambil 4 mL dan tambahkan 4 mL larutan stok DPPH 70 $\mu\text{g/mL}$ dibuat secara triplo, kemudian diinkubasi 30 menit pada tempat yang gelap. Pada proses inkubasi ini terjadi reaksi pendonoran proton dari larutan uji yang memiliki aktivitas antioksidan pada DPPH. Absorbansi yang diukur pada panjang gelombang 515 nm. Aktivitas antioksidan sampel akan ditunjukkan dengan kemampuan sampel untuk memudarkan warna ungu dari senyawa radikal bebas DPPH. Hal ini disebabkan oleh kemampuan senyawa antioksidan untuk bereaksi dengan atom N tidak berpasangan yang dimiliki oleh DPPH untuk berikatan dengan cara mendonorkan elektron (atom H) sehingga membentuk *diphenylpicrylhydrazin* yang stabil (Molyneux, 2004).

Selanjutnya dibuat kurva kalibrasi dan nilai IC_{50} dihitung dengan menggunakan nilai y dengan 50Y merupakan nilai peredaman 50% atau disebut dengan variabel tak bebas, X menunjukkan nilai IC_{50} dari sampel ekstrak uji. Nilai IC_{50} menunjukkan konsentrasi yang dapat menurunkan 50% radikal bebas DPPH. Nilai IC_{50} yang semakin kecil diartikan sebagai aktivitas antioksidan yang semakin tinggi. Hasil uji aktivitas antioksidan sampel ekstrak terhadap DPPH menunjukkan secara kuantitatif ekstrak sampel yang dapat meredam radikal bebas karena nilai $IC_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$ termasuk kategori sangat kuat dengan rentang 28,168 - 48,686 $\mu\text{g/mL}$. Ekstrak etanol mangga gedong (M-GD) memiliki aktivitas paling kuat dengan nilai IC_{50} 28,168 $\mu\text{g/mL}$.