

Bab VI Hasil Dan Pembahasan

Penelitian uji aktivitas antioksidan ekstrak tanaman keluarga asteraceae dilakukan secara *in vitro* dengan menggunakan metode DPPH dengan pembanding vitamin C yang dilakukan di Laboratorium Terpadu Politeknik Kesehatan Bandung, serta uji aktivitas antihiperlipidemia ekstrak daun sembung dilakukan secara *in vivo* pada hewan uji yang diinduksi oleh makanan tinggi karbohidrat lemak dan propiltiourasil selama bulan Februari sampai dengan Mei 2019 di Laboratorium Farmakologi Sekolah Tinggi Farmasi Bandung

VI.1 Hasil Ekstraksi

Determinasi tanaman merupakan langkah awal yang dilakukan dalam suatu penelitian yang menggunakan sampel berupa tanaman. Tujuan dilakukannya determinasi adalah untuk mengetahui atau memastikan kebenaran identitas tanaman yang digunakan dan menghindari terjadinya kesalahan dalam pengambilan sampel. Hasil Determinasi tanaman yang dilakukan di ITB (Institut Teknologi Bandung) Jatinangor Bandung, mengidentifikasi bahwa tanaman yang digunakan pada penelitian ini merupakan keluarga Asteraceae.

Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini didapat dari dua tempat, dimana tanaman sembung dan tanaman bandotan di dapat dari pekebunan daerah Taraju–Tasikmalaya, sedangkan tanaman sambung nyawa, tanaman insulin, dan tanaman afrika di dapat dari Balai Pemeliharaan Tanaman Tradisional dan Obat (BALITRO) Bogor. Tanaman yang digunakan sudah diterima dalam keadaan

kering kemudian tanaman dihaluskan dengan menggunakan alat penghalus agar tanaman menjadi serbuk. Tujuan pembuatan serbuk dari tanaman adalah untuk mendapatkan ukuran partikel yang kecil sehingga luas permukaan simplisia yang bersentuhan dengan cairan penyari menjadi lebih besar dan mempermudah cairan penyari menembus simplisia. Luas permukaan yang besar akan mengoptimalkan pembasahan serbuk simplisia oleh cairan penyari sehingga hasil penyarian menjadi lebih optimal.

Tabel VI.1 Data bobot tanaman segar, bobot ekstrak dan rendemen simplisia

No	Nama Tanaman	Bobot tanaman segar (kg)	Bobot ekstrak (gram)	Randemen (%)
1	Daun Afrika	3,25	285,46	8,72
2	Daun Bandotan	2,5	235,75	9,43
3	Daun Insulin	2,340	318,90	13,63
4	Daun Sambung nyawa	2,3	128,04	5,57
5	Daun Sambung	1,850	151,69	8,2

VI.2. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan terhadap simplisia dan ekstrak etanol daun insulin (*Tithonia diversifolia* (Hemsl.), Sambung nyawa (*Gynura Procumbens*), Bandotan (*Ageratum conyzoides* L), Daun Sambung (*Blumea balsamifera* (L) dan Afrika (*Vernonia amygdalina*) dengan tujuan untuk mengetahui golongan senyawa kimia yang terkandung didalamnya. Metode yang dilakukan dengan penambahan pereaksi kimia yang akan menghasilkan reaksi positif terhadap golongan senyawa dari tanaman tersebut

Tabel VI.2 Hasil skrining fitokimia simplisia ekstrak insulin, Sambung nyawa, Bandotan, Daun Sembung dan Afrika

Penguji n	Sambung nyawa		sembung		Bandotan		Insulin		Afrik a	
	S	E	S	E	S	E	S	E	S	E
Alkaloid	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Flavonoi d	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Saponin	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+
Steroid	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+
Tanin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kuinon	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Keterangan: (S) = Simplisia

(E) = Ekstrak

(+) = Terdeteksi golongan senyawa yang diuji

(-) = Tidak terdeteksi golongan senyawa yang diuji

Berdasarkan hasil skrining fitokimia simplisia dan ekstrak etanol dari kelima tanaman dari keluarga asteraceae positif mengandung senyawa golongan flavonoid, tannin dan kuinon akan tetapi untuk senyawa golongan alkaloid saponin dan steroid dari kelima tanaman memiliki hasil yang bervariasi.

VI.3 Karakterisasi Ekstrak

Karakterisasi simplisia merupakan salah satu standarisasi simplisia, karakterisasi simplisia bertujuan untuk mengetahui mutu dan kualitas simplisia yang digunakan. pemeriksaan karakterisasi simplisia meliputi penetapan kadar air, kadar abu total, kadar sari larut air, dan kadar sari larut etanol. Hasil karakterisasi dapat dilihat pada tabel VI.3 dibawah ini

Karakteristik	Hasil Karakterisasi				
a. Identitas	Afrika	Bandotan	Insulin	Sambung nyawa	Sembung
b. Kadar air	4,19%	7,25%	6,89%	6,05%	4,67%
c. Kadar abu	0,83%	0,94%	0,61%	0,37%	0,83%
d. kadar sari larut air	11,31%	9,96%	9,33%	11,16%	11,06%
e. kadar sari larut etanol	1,75%	2,08%	1,93%	1,31%	2,38%

Tabel VI.3 Data Karakteristik Simplisia

Pengujian karakterisasi simplisia ini dilakukan sebagai upaya untuk menjamin bahwa produk akhir (obat, ekstrak, atau produk ekstrak) mempunyai nilai parameter tertentu yang konstan dan ditetapkan (dirancang dalam formula) terlebih dahulu (Depkes RI, 2000).

Pengujian kadar air dilakukan untuk menetapkan jumlah kandungan air yang terdapat dalam suatu simplisia. Hal ini dilakukan karena jika kadar air dalam suatu simplisia melebihi kadar maksimal, maka simplisia tersebut akan menjadi media yang baik untuk pertumbuhan mikroba. Menurut Materia Medika Indonesia, kadar air yang di perbolehkan terkandung dalam simplisia adalah 10%. Selain pengujian kadar air dilakukan juga pengujian kadar abu. Abu adalah bahan sisa (residu) berupa oksida logam yang berasal dari proses pemijaran atau oksidasi komponen anorganik suatu bahan. Tujuan dari pengujian kadar abu ini adalah untuk mengetahui kadar mineral, kemurnian, dan keberadaan kontaminan.

Selanjutnya dilakukan pengujian kadar sari yang larut air dan etanol. Penetapan sari merupakan metode kuantitatif untuk mengetahui

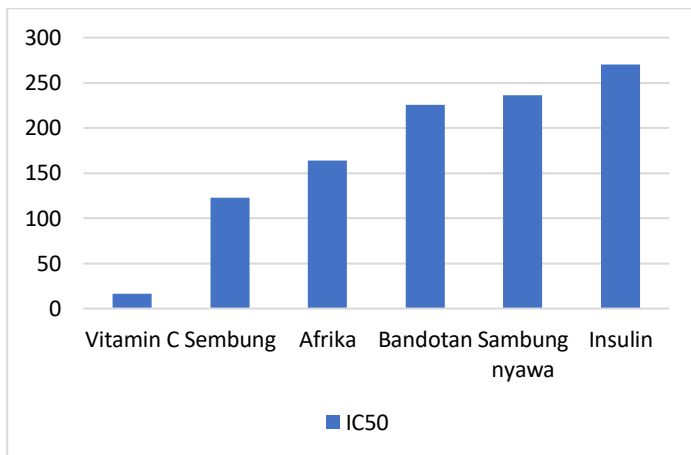
jumlah kandungan senyawa dalam simplisia yang dapat tersari dalam pelarut tertentu. Penetapan kadar sari juga bermanfaat agar dapat mengetahui pelarut yang efektif dan efisien dalam proses ekstraksi.

VI.4 Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan secara kuantitatif dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Pengujian secara kuantitatif ini dilakukan untuk mengetahui absorbansi DPPH yang tersisa setelah ditambahkan ekstrak. Jika suatu senyawa memiliki aktivitas sebagai antioksidan, maka akan terjadi penurunan nilai absorbansi DPPH pada panjang gelombang 515,4 nm. Penurunan absorbansi DPPH diukur terhadap absorbansi kontrol yaitu absorbansi DPPH dalam metanol p.a tanpa penambahan bahan uji. Penurunan absorbansi DPPH ditunjukkan dengan terjadinya degradasi warna DPPH dari warna ungu menjadi warna kuning. Proses degradasi warna DPPH berbanding lurus dengan konsentrasi ekstrak yang ditambahkan. Dari nilai absorbansi DPPH yang diperoleh dapat ditentukan nilai persentasi penghambatan radikal DPPH (% inhibisi). Dari nilai % inhibisi dapat ditentukan nilai IC_{50} (*inhibitory concentration*). Nilai IC_{50} merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak (ppm) yang mampu menghambat proses oksidasi sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan (Zuhra, Tarigan & Sihotang, 2008, pp.10). Hasil data aktivitas antioksidan dari kelima tanaman bisa dilihat pada tabel VI.4 dan gambar grafik dibawah ini:

Tabel VI.4. Nilai IC₅₀ (*Inhibitory Concentration*) ekstrak tanaman keluarga Asteraceae

No	Nama Tanaman	Persamaan Linear	IC ₅₀
1	Ekstrak Daun Afrika	$y = 0,2217x + 13,8392$ R = 0,990	163,624
2	Ekstrak Daun Bandotan	$y = 0,1815x + 9,1667$ R = 0,991	225,602
3	Ekstrak Daun Insulin	$Y = 0,184523x - 0,23809$ R = 0,991	270,467
4	Ekstrak Daun Sambung nyawa	$y = 0,20833x - 0,83333$ R = 0,998	236,379
5	Ekstrak daun Sembung	$y = 0,38095x - 3,5714$ R = 0,998	122,181
6	Vitamin C	$Y = 2,6488x + 5,7143$ R = 0,995	16,79



Gambar 6.1 Grafik IC₅₀

Hasil uji aktivitas antioksidan secara kuantitatif dari masing-masing ekstrak menunjukkan bahwa ekstrak daun sembung memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi dibandingkan dengan ekstrak daun sambung nyawa, ekstrak daun bandotan, ekstrak daun afrika, dan

ekstrak daun insulin, meski ekstrak daun sembung memiliki aktivitas antioksidan yang sedang dengan nilai IC_{50} 122 $\mu\text{g/mL}$ dan tidak sebanding dengan vitamin C yang memiliki nilai IC_{50} 16,79 $\mu\text{g/mL}$.

VI.5 Uji Nilai Total Fenolik

Penentuan kandungan senyawa fenolik total dengan menggunakan metode Folin-Ciocalteu dilakukan berdasarkan kemampuan reagen Folin-Ciocalteu mengoksidasi gugus hidroksil (OH) dari senyawa golongan fenol. Pereaksi Folin-Ciocalteu merupakan larutan kompleks ion polimerik yang berisi campuran air, natrium tungstate, natrium molibdat, litium sulfat, asam klorida pekat, asam fosfat dan bromin. Senyawa fenol merupakan metabolit sekunder tanaman komponen paling penting dalam kualitas nutrisi buah dan sayur pada tanaman.

Senyawa fenolik memiliki aktivitas sebagai anti oksidan. Antioksidan fenolik biasanya digunakan untuk mencegah terjadinya kerusakan akibat reaksi oksidasi. Fungsi senyawa fenolik sebagai penangkap radikal bebas dari ion-ion logam yang rusak. Senyawa fenolik akan memakan radikal bebas dan dapat menetralkan radikal bebas sehingga akan menghasilkan radikal yang stabil.

Tabel VI.5. Data hasil absorbansi larutan standar asam galat

Konsentrasi asam galat ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi	Persamaan linear
10 ppm	0,2	$y = 0,0298x - 0,094$ $R = 0,9943$
15 ppm	0,35	
20 ppm	0,5	
25 ppm	0,68	
30 ppm	0,78	

Pada penentuan kadar senyawa fenolik perlu dibuat suatu kurva standar yang menggunakan asam galat. Dari kurva standar yang memberikan hubungan antara konsentrasi asam galat dengan absorbansinya sehingga dapat menentukan konsentrasi dari sampel dengan menggunakan regresi linier. Asam galat digunakan sebagai standar karena asam galat merupakan salah satu jenis golongan senyawa fenolik yang efektif untuk membentuk senyawa kompleks dengan reagen folin-ciocalteu.

Prinsip dari metode ini adalah oksidasi gugus fenolik hidroksil. Fenolat hanya terdapat pada larutan basa tetapi pada pereaksi Folin-Ciocalteu dan produknya tidak stabil pada kondisi basa. Selama reaksi berlangsung gugus fenolik-hidroksil beraksi dengan pereaksi folin-ciocalteu, membentuk kompleks fosfotungstat – fosfomolibdat berwarna biru. Prinsip pembentukan warna biru didasarkan pada reduksi pereaksi folin-ciocalteu oleh gugus fenolik.

Dari data hasil perhitungan fenolik didapat kandungan kadar senyawa fenolik pada ekstrak daun sembung sebesar $9,2617 \pm 0,151$ dan pada ekstrak daun afrika sebesar $8,0928 \pm 0,1586$. Hasil uji terhadap total fenol masing-masing diketahui pada tabel VI.6 dibawah ini:

Tabel VI.6 Data nilai total fenolik dari 2 tanaman dengan nilai aktivitas antioksidan paling kuat

Tanaman	Ket	Abs	Kandungan fenolik (Ug/ml)	Kandungan fenolik total (mg)	Rata – rata +/- SD
Sembun g	Repl 1	0,458	0,0185	9,2617	9,2617
	Repl 2	0,467	0,0188	9,4128	+/-
	Repl 3	0,449	0,0182	9,1107	0,151
Afrika	Repl 1	0,385	0,0161	8,0369	8,0928
	Repl 2	0,381	0,0159	7,9698	+/-
	Repl 3	0,399	0,0165	8,2718	0,1586

Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun sembung memiliki kandungan senyawa fenolik paling tinggi dibandingkan dengan ekstrak daun afrika yang artinya ekstrak daun sembung memiliki penghambatan radikal bebas lebih baik dibandingkan dengan ekstrak daun afrika karena semakin tinggi kandungan senyawa fenolik pada suatu sampel maka semakin banyak radikal bebas yang mampu dihambat dan semakin kuat aktivitas dari antioksidannya (Zuhra, Tarigan & Sihotang, 2008, pp.10). Maka dari data di atas tanaman yang digunakan untuk diuji sebagai antihiperlipidemia terhadap jumlah kolesterol total dan trigliserida adalah tanaman sembung. Berikut merupakan hasil dari perhitungan korelasi antara antioksidan terhadap kolesterol total dan korelasi antara antiosidan terhadap trigliserida.

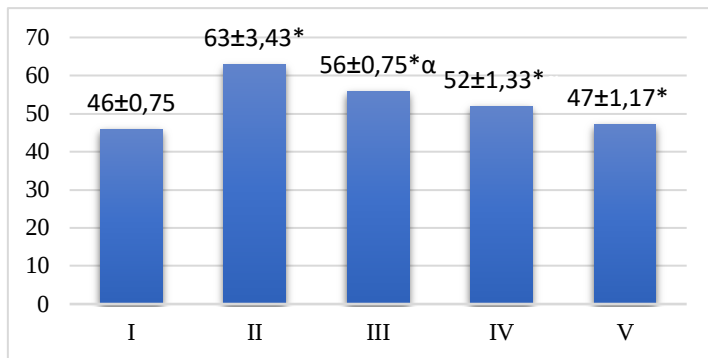
VI.6 Pemantauan profil lipid

Pemantauan lipid dilakukan dengan menggunakan hewan uji tikus jantan putih galur Wistar dengan usia dua bulan dan berat 200-250 gram. Adanya aktivitas antihiperlipidemia dari ekstrak etanol daun

sembung ditunjukkan dengan perubahan kadar profil lipid dalam darah kolesterol total dan trigliserida setelah perlakuan 21 hari yang diolah dengan uji ANNOVA menggunakan software SPSS.

VI.7 Kolesterol Total

Hasil rata-rata kolesterol total dapat dilihat pada gambar 6.2



Gambar 6.2 Rerata kadar kolesterol total

Keterangan :

- Kelompok I : kontrol negatif
- Kelompok II : kontrol positif
- Kelompok III : kelompok uji 50 mg/kg
- Kelompok IV : kelompok uji 100 mg/kg
- Kelompok V : kelompok uji 200 mg/kg
- * : berbeda bermakna dengan control negative
- @ : berbeda bermakna dengan control positif

Dari gambar 6.2 dapat dilihat pada kontrol positif terjadi kenaikan kolesterol total. Hal tersebut terjadi karena pemberian induksi propiltiourasil dapat meningkatkan kadar kolesterol karena propiltiourasil merupakan obat hipertiroid yang bekerja menghambat

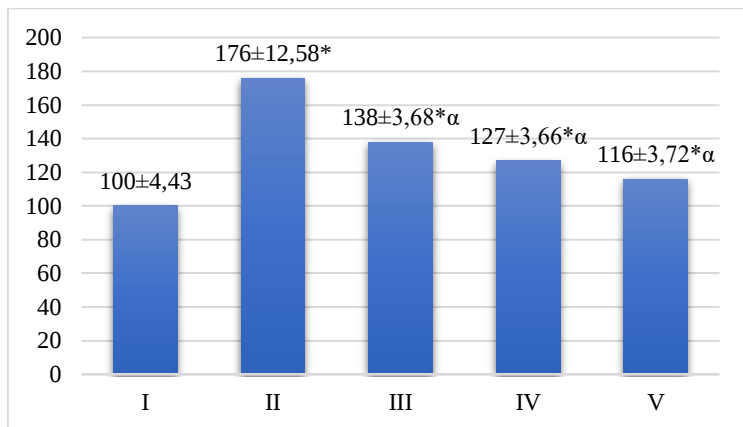
sel-sel tiroid sehingga produksi hormon tiroid terhambat dan mengakibatkan hipotiroidisme, pengaruh hipotiroidisme pada metabolisme lipoprotein dapat meningkatkan kadar kolesterol (Febrina, 2010).

Dengan induksi pakan karbohidrat, lemak dan PTU selama 21 hari sudah mampu menaikkan kadar kolesterol dalam darah tetapi secara statistik kontrol uji (50 mg/kg BB, 100 mg/kg BB, dan 200 mg/kg BB) terjadi perbedaan yang bermakna artinya terjadi penurunan kolesterol total yang signifikan dibandingkan dengan kontrol positif.

Uji *One-Way ANOVA* pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan menunjukkan bahwa kelima perlakuan tersebut memiliki perbedaan yang bermakna dengan dihasilkan nilai uji F sebesar 0.000 dengan nilai signifikansi $p=0,000$ atau nilai $p<0,05$.

VI.8 Triglicerida

Hasil rata-rata trigliserida dapat dilihat pada gambar 6.3



Gambar 6.3 Rerata kadar trigliserida

Keterangan :

Kelompok I	: kontrol negatif
Kelompok II	: kontrol positif
Kelompok III	: kelompok uji 50 mg/kg
Kelompok IV	: kelompok uji 100 mg/kg
Kelompok V	: kelompok uji 200 mg/kg
*	: berbeda bermakna dengan control negative
@	: berbeda bermakna dengan control positif

Dari gambar grafik 6.3 dapat dilihat pada kontrol positif terjadi kenaikan kadar trigliserida. Hal tersebut terjadi karena pemberian pakan tinggi karbohidrat yang dapat meningkatkan pembentukan piruvat dan asetil-CoA kemudian asam-asam lemak ini mengalami esterifikasi dengan triosefosfat yang dihasilkan dari glikolisis menjadi trigliserida, asupan karbohidrat yang berlebihan akan disimpan dalam bentuk lemak dibawah kulit dan akan terjadi obesitas yang berkaitan erat dengan peningkatan kadar trigliserida (Hidayanti, 2011)

Pada penelitian ini dilanjutkan dengan uji *One-Way ANOVA* untuk mengetahui perbedaan antara semua kelompok perlakuan termasuk kelompok kontrol negatif dan kelompok positif. Hipotesis pada uji *One-Way ANOVA* ini adalah $H_0: \alpha = 0$ (data antara kelima kelompok tidak ada perbedaan), atau $H_a: \alpha \neq 0$ (data antara kelima kelompok terdapat perbedaan) dengan kriteria uji yaitu H_0 di`tolak apabila signifikansi $P\text{-value} < 0,05$.

Uji *One-Way ANOVA* pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan menunjukkan bahwa kelima perlakuan tersebut memiliki perbedaan yang bermakna dengan dihasilkan nilai uji F sebesar 0.000 dengan nilai signifikansi $p=0,000$ atau nilai $p<0,05$ maka

hipotesis H_0 ditolak. Hal ini menunjukkan terdapat perbedaan selisih trigliserida.

VI.9 Hubungan antara antioksidan dengan kolesterol total

Tabel VI.7 Korelasi antara kolesterol total dengan antioksidan

Correlations			
		Sembung	CH
Pearson Correlation	Sembung	1.000	.708
	kolesterol	.708	1.000
Sig. (1-tailed)	Sembung	.	.058
	kolesterol	.058	.
N	Sembung	6	6
	kolesterol	6	6

Dari hasil perhitungan, didapat koefisien korelasi antara kolesterol total dengan antioksidan $r = 0,708$, ini berarti terdapat hubungan yang kuat antara kolesterol total dengan antioksidan. Jika diinterpretasikan menurut kriteria dalam Sugiono (2014) maka eratnya korelasi kolesterol total dengan antioksidan adalah kuat karena berkisar antara 0.60-0.799 dan arahnya positif, ini berarti apabila konsentrasi antioksidan meningkat maka akan mempengaruhi konsentrasi kolesterol total.

VI.10 Hubungan antara antioksidan dengan trigliserida

Tabel VI.8 Korelasi antara trigliserida dengan antioksidan

Correlations			
		Sembung	Trigliserida
Pearson Correlation	Sembung	1.000	.671
	Trigliserida	.671	1.000
Sig. (1-tailed)	Sembung	.	.072
	Trigliserida	.072	.
N	Sembung	6	6
	Trigliserida	6	6

Dari hasil perhitungan, didapat koefisien korelasi antara trigliserida dengan antioksidan $r = 0,671$, ini berarti terdapat hubungan yang kuat antara trigliserida dengan antioksidan. Jika diinterpretasikan menurut kriteria dalam Sugiono (2014) maka eratnya korelasi trigliserida dengan antioksidan adalah kuat karena berkisar antara 0.60-0.799 dan arahnya positif, ini berarti apabila konsentrasi antioksidan meningkat maka akan mempengaruhi konsentrasi trigliserida.