

Bab VI Hasil dan Pembahasan

VI.1 Penyiapan Bahan

Pada penyiapan bahan yang dilakukan adalah pengumpulan bahan baku berupa batang dan daun gandaria yang di peroleh dari dari daerah Banua Rantau, Kabupaten Tabalong Kalimantan Selatan. Kemudian dilakukan determinasi di Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru untuk membuktikan kebenarannya. Hasil dari sertifikasi membenarkan bahwa tumbuhan yang diteliti merupakan Gandaria dengan spesies (*Bouea macrophylla* Griff). Hasil determinasi dapat dilihat dilampiran 1.

VI.2 Pengolahan bahan

Sampel yang digunakan adalah daun dan batang gandaria segar masing-masing sebanyak 3kg, kemudian daun dan batang gandaria dicuci terlebih dahulu agar terpisah dari pengotornya seperti pasir, debu, kerikil dan pengotor lainnya. Daun gandaria yang sudah dicuci dilakukan perajangan sedangkan batang gandaria dipatahkan untuk mempermudah pada saat pengeringan dan penggilingan. Setelah dirajang daun dan batang gandaria tersebut dikeringkan dengan cara diangin-anginkan, setelah kering maka dihaluskan dengan cara diblender dan disimpan di wadah tertutup rapat dan terhindar dari kelembapan. Simplisia yang diperoleh dari daun daun gandaria sebesar 900 gram dan batang gandaria sebanyak 900 gram.

VI.3 Karakterisasi simplisia

VI.3.1 Parameter non spesifik

Karakterisasi simplisia dilakukan untuk mengetahui kualitas dan mutu simplisia yang digunakan. Parameter yang biasa digunakan antara lain kadar abu total, kadar abu larut air, kadar abu tidak larut asam, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, dan susut pengeringan.

Tabel VI.1 Hasil Karakteriasi Simplisia

No.	Karakterisasi simplisia	Hasil (% b/b)	
		Daun	Batang
1.	Kadar sari larut air	6,75%	9,26 %
2.	Kadar sari larut etanol	9,95%	10,81%
3.	Kadar abu total	7,3%	6,8%
4.	Kadar abu tidak larut asam	6,25%	2,5%
5.	Susut pengeringan	5,65%	9,38%

Pada penetapan kadar sari larut air dan larut etanol bertujuan untuk memberikan gambaran awal jumlah kandungan suatu senyawa pada simplisia yang larut didalam pelarut air untuk kadar sari larut air, dan untuk kadar sari larut etanol pada simplisia yang larut etanol. Nilai kadar sari larut air yang didapat yaitu pada daun gandaria 6,75% dan pada batang gandaria yaitu 9,26% lebih rendah dibandingkan dengan kadar sari larut etanol yaitu pada daun gandaria 9,95% dan pada batang gandaria 10,81%. Hal ini menunjukkan tingginya senyawa pada

daun dan batang gandaria yang larut dalam etanol lebih banyak dibandingkan dengan senyawa yang larut dalam air.

Pada penetapan kadar abu bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal dari suatu simplisia. Tingginya kadar abu yang didapatkan menunjukkan tingginya kandungan senyawa anorganik atau mineral dalam simplisia. Dari pengujian yang dilakukan didapatkan kadar abu total pada daun gandaria yaitu 7,3% dan pada batang gandaria yaitu 6,8%. Penetapan kadar abu tidak larut asam dilakukan dengan tujuan menentukan kadar abu eksternal seperti pasir dan tanah yang menempel pada simplisia. Hasil penetapan kadar abu tidak larut asam yang diperoleh dari daun gandaria sebesar 6,25% dan pada batang gandaria yaitu 2,5%. Selanjutnya dilakukan uji susut pengeringan pengujian ini bertujuan untuk mengetahui seberapa besar senyawa yang hilang atau menyusut saat proses pengeringan pada suhu 105°C. Adapun hasil yang diperoleh adalah pada daun gandaria diperoleh 5,65% sedangkan pada batang yaitu 9,38%. Oleh karena itu dapat dikatakan bahwa di dalam batang gandaria terdapat senyawa yang mudah menguap dibandingkan pada daunnya.

VI.3.2 Parameter spesifik

Pada penetapan parameter spesifik bertujuan untuk memberikan identitas objektif. parameter spesifik meliputi uji makroskopik. Pada pengujian makroskopik dilakukan dengan menggunakan pancaindra terhadap bahan tumbuhan yang digunakan meliputi pemeriksaan bentuk, ukuran dan warna.

VI.4 Penapisan fitokimia

Penapisan fitokimia dilakukan untuk mengetahui golongan besar senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalam simplisia daun dan batang gandaria. Hasil yang diperoleh digunakan sebagai informasi awal untuk mengetahui senyawa kimia apa saja yang terkandung dalam simplisia daun dan batang gandaria (*Bouea macrophylla* Griff). Skrining fitokimia meliputi: pemeriksaan alkaloid, flavonoid, tanin, kuinon, saponin, kuinon dan steroid/triterpenoid. Berdasarkan hasil yang diperoleh pada daun dan batang gandaria terdapat senyawa flavonoid, tannin, saponin, kuinon, steroid/triterpenoid dan tidak mengandung senyawa alkaloid. Berikut hasil dari skrining fitokimia daun dan batang gandaria :

Tabel VI.2 Hasil penapisan fitokimia

No.	Senyawa	Daun	Batang
1.	Tanin	+	+
2.	Saponin	+	+
3.	Flavonoid	+	+
4.	Kuinon	+	+
5.	Steroid/triterpenoid	+	+
6.	Alkaloid	-	-

Keterangan :

(+) dideteksi terdapat senyawa

(-) dideteksi tidak terdapat senyawa

VI.5 Pembuatan ekstrak

Daun dan batang gandaria yang telah diserbukkan kemudian dilakukan ekstraksi dengan metode refluks dengan cara ekstraksi bertingkat menggunakan tiga pelarut berbeda kepolaran yaitu, n-heksan, etil asetat, dan metanol. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan perbandingan 100 gram : 500 mL (1 : 5) yang dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali dengan waktu masing masing 3 jam. Setelah melakukan ekstraksi didapat ekstrak cair, kemudian dilakukan proses pemekatan menggunakan *rotary vaporator* pada suhu 40°C dan vakum untuk n-heksan 335 mbar, etil asetat 240 mbar dan metanol 337 mbar. Sehingga diperoleh ekstrak pekat. Hasil randemen ekstrak dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel VI.3 Hasil Randemen Ekstrak

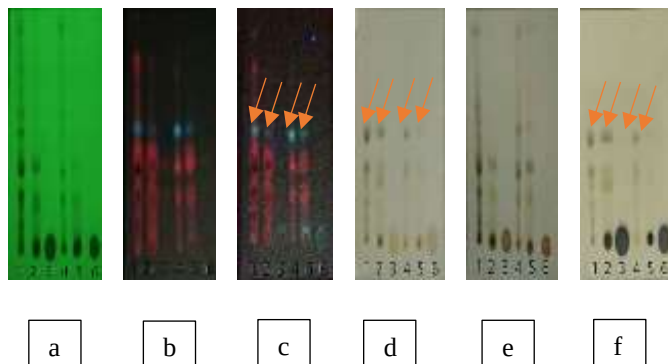
	Pelarut	Berat	Ekstrak	Randemen
Simplisia		Sampel	Kental	(%)
		(g)	(g)	
Daun	N-heksana		30,39	7,6
	Etil Asetat	400 g	15,79	3,95
	Metanol		49	12,25
Batang	N-heksana		5,91	1,97
	Etil Asetat	300 g	3,87	1,29
	Metanol		41,66	13,89

Dari proses ekstraksi diperoleh ekstrak kental dari tiga pelarut yang berbeda kepolaran. Persentase randemen ekstrak yang paling besar yaitu pada simplisia yang diekstraksi dengan pelarut metanol.

VI.6 Pemantauan ekstrak

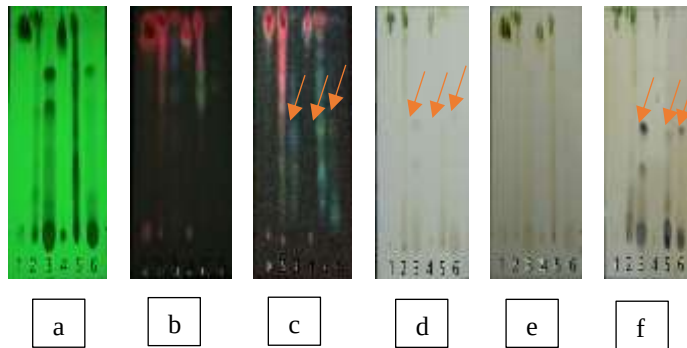
Pemantauan ekstrak bertujuan untuk melihat ada tidaknya senyawa dalam ekstrak dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menggunakan pengembang yang sesuai pada eluen pada eluen n-Heksan-Etil asetat (8:2), eluen Kloroform-Metanol (8:2) dan eluen Etil asetat-Asam format-Air (9:0,5:0,5). Dengan menggunakan penampak bercak H_2SO_4 10% (MeOH), sitroborat, AlCl_3 5% (MeOH) dan FeCl_3 10% dalam air.

1. Pengembang non polar n-Heksan-Etil asetat (8:2)



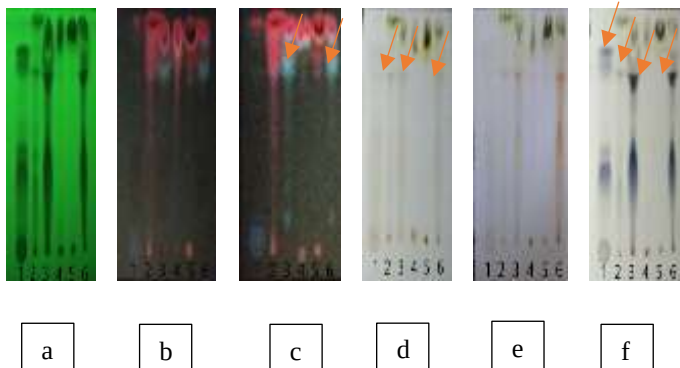
Keterangan : Hasil kromatogram KLT ekstrak dan fraksi dengan pengembang non polar. Fase diam silika gel F_{254} dan pengembang n-heksana-etil asetat (7:3), (1) ekstrak n-heksan daun, (2) ekstrak etil asetat daun, (3) ekstrak methanol daun, (4) ekstrak n-heksan batang, (5) ekstrak etil asetat batang, (6) ekstrak methanol batang, (a) sinar UV 254 nm, (b) sinar UV 366 nm, (c) penampak bercak sitroborat, (d) penampak bercak AlCl_3 5% (MeOH), (e) visual penampak bercak H_2SO_4 10% (MeOH), (f) visual penampak Bercak FeCl_3 .

2. Pengembang semi polar kloroform-metanol (8:2)



Keterangan : Hasil kromatogram KLT ekstrak dan fraksi dengan pengembang non polar. Fase diam silika gel F₂₅₄ dan pengembang n-heksana-etil asetat (7:3), (1) ekstrak n-heksan daun, (2) ekstrak etil asetat daun, (3) ekstrak methanol daun, (4) ekstrak n-heksan batang, (5) ekstrak etil asetat batang, (6) ekstrak methanol batang, (a) sinar UV 254 nm, (b) sinar UV 366 nm, (c) penampak bercak sitroborat, (d) penampak bercak AlCl₃ 5% (MeOH), (e) visual penampak bercak H₂SO₄ 10% (MeOH), (f) visual penampak Bercak FeCl₃.

3. Pengembang polar Etil asetat-Asam format-Air (9:0,5:0,5)



Keterangan : Hasil kromatogram KLT ekstrak dan fraksi dengan pengembang non polar. Fase diam silika gel F₂₅₄ dan pengembang n-heksana-etil asetat (7:3), (1) ekstrak n-heksan daun, (2) ekstrak etil aseat daun, (3)ekstrak methanol daun , (4) ekstrak n-heksan batang, (5) ekstrak etil asetat batang, (6) ekstrak methanol batang, (a) sinar UV 254 nm, (b) sinar UV 366 nm, (c) penampak bercak sitroborat, (d) penampak bercak $AlCl_3$ 5% (MeOH), (e) visual penampak bercak H_2SO_4 10% (MeOH), (f) visual penampak Bercak $FeCl_3$.

Penampak bercak sitroborat dalam metanol menunjukan hasil positif flavonoid pada ekstrak daun dan batang gandraia hal ini ditandai dengan terbentuknya bercak warna hijau terang. Hasil yang diperoleh pada pengembang non polar, semi polar dan polar diduga terdapat senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan yaitu pada golongan flavonoid dan fenolat yang ditandai dengan bercak biru kehijauan pada saat disemprot menggunakan penampak bercak sitroborat. Penampak bercak $AlCl_3$ berfungsi untuk melihat senyawa flavonoid yang lebih spesifik. $AlCl_3$ hanya bereaksi terhadap senyawa flavonoid

yang memiliki gugus $-OH$ pada posisi atom C nomor 5' dan atau 3', 4' (Markham, 1998). Penampak bercak H_2SO_4 10% akan menghasilkan bercak hitam secara visual yang diamati setelah dipanaskan agar bercak yang timbul semakin tampak, pada pengembangan polar terdapat warna kuning itu menandakan adanya senyawa flavonoid. Penampak bercak $FeCl_3$ digunakan untuk mengetahui adanya senyawa golongan fenolat yang terdapat didalam ekstrak. Dari hasil pemantauan menunjukan adanya warna hijau kehitaman yang menunjukan adanya gugus fenolik. Dimana bercak kehitaman yang timbul terjadi karena adanya ikatan antara gugus hidroksil pada fenol dengan Fe.

VI.7 Uji aktivitas antiinflamasi

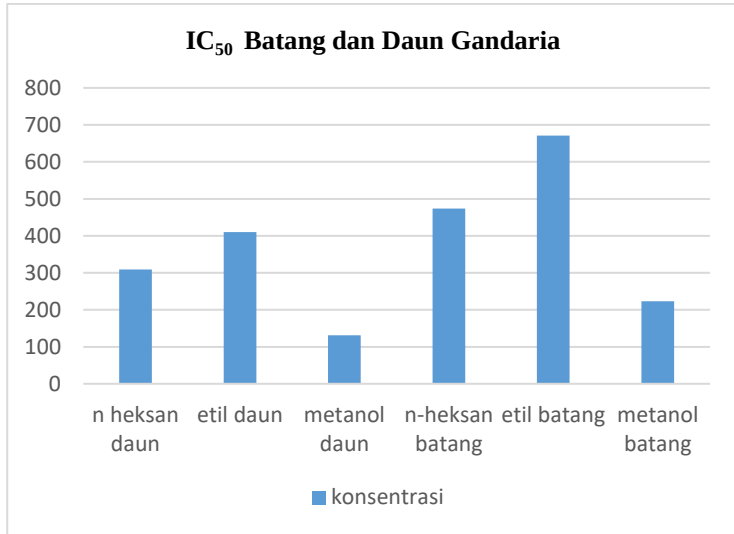
Uji aktivitas antiinflamasi yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu dengan menggunakan metode stabilitas membran sel darah merah. Stabilisasi dari membran sel darah merah digunakan sebagai metode untuk mengetahui aktivitas antiinflamasi secara invitro. Hal ini dikarenakan membran sel darah merah mirip dengan membran lisosom (Shenoy et al., 2010; Leelaprakash and Dass, 2011) yang dapat mempengaruhi proses inflamasi, yaitu dengan cara mencegah pelepasan enzim dari dalam lisosom selama proses inflamasi berlangsung (Lutfiana, 2013). Dengan demikian, stabilisasi membran sel darah merah yang diinduksi dengan larutan hipotonik dapat digunakan sebagai ukuran untuk mengindikasikan stabilisasi dari membran lisosom (Manivannana and Sukumar, 2007).

Pada pengujian antiinflamasi dari daun dan batang *gandaria* terlebih dahulu dibuat larutan induk dengan konsentrasi 1000 ppm yang dilarutkan dengan larutan isosalin. Kemudian dilakukan pengenceran konsentrasi sebanyak 5 seri konsentrasi yaitu 50, 100, 200, 400, 800 ppm, selanjutnya dilakukan preparasi larutan uji yang ditambahkan dengan 2 mL hiposalin, 1 mL dapar posfat (PH 7,4), dan 0,5 mL suspensi darah. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C, kemudian dilakukan sentrifugasi dan pengukuran absorbansi dari sampel uji. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri dengan panjang gelombang 560 nm. Sampel uji yang memiliki aktivitas antiinflamasi dilihat dari penurunan absorbansinya. Semakin besar konsentrasi yang digunakan maka semakin kecil absorbansinya, sehingga kestabilan pada membran semakin besar. Semakin kecil serapan yang terdeteksi pada campuran larutan uji, maka membran sel darah merah semakin stabil dan sedikit mengalami lisis (Lutfiana, 2013) . Kemudian dihitung persen inhibisinya, persen inhibisi adalah kemampuan suatu sampel untuk menstabilisasi sel darah merah yang didapat dari perbandingan antara absorbansi kontrol uji dengan larutan uji. Selanjutnya dilakukan pengukuran antiinflamasi pada ekstrak n-heksan, etil asetat, metanol pada daun dan batang *gandaria*.

Berdasarkan hasil penelitian ini pada ekstrak metanol daun dan batang *gandaria* memiliki IC_{50} terbesar masing-masing yaitu 131,47 ppm dan 223,29 ppm dibanding ekstrak n-heksan yaitu pada daun 309,75 ppm dan batang 474,7 ppm sedangkan ekstrak etil asetat berturut-turut yaitu 480,26 ppm dan 671,58 ppm. Nilai IC_{50} larutan standar diperoleh yaitu 54,08 ppm. Hasil ini menunjukkan bahwa aktivitas stabilisasi

membrane ekstrak metanol daun dan batang gandaria paling baik dibandingkan dengan ekstrak n- heksan dan etil asetat namun lebih lemah dari larutan standar yaitu natrium diklofenak. Nilai IC_{50} tersebut digunakan untuk menunjukkan efektivitas ekstrak dalam menghambat denaturasi protein yaitu persentase penghambatan denaturasi protein mencapai nilai 50%.

Skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak batang dan daun gandaria mengandung senyawa saponin, tannin, triterpenoid, steroid dan flavonoid. Beberapa penelitian mengungkapkan bahwa ada hubungan antara kemampuan senyawa-senyawa tersebut dalam menstabilkan membran dan sebagai penghambat proses enzimatis selama inflamasi berlangsung. Senyawa flavonoid yang diduga memiliki aktivitas antiinflamasi dengan menghambat kerja enzim siklooksigenase dan lipooksigenase dalam mengubah asam arakidonat menjadi prostaglandin yang merupakan mediator inflamasi (Muralidhar, dkk, 2010). Selain itu senyawa flavonoid bertanggung jawab terhadap stabilitas membran sel darah merah dari hemolisis yang diinduksi larutan hipotonis (Manivannana, dkk, 2007). Oleh karena itu, aktivitas antiinflamasi ekstrak batang dan daun gandaria kemungkinan disebabkan adanya flavonoid di dalam ekstrak.



Gambar VI.1 IC₅₀ Uji aktivitas antiinflamasi