

BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Determinasi Tanaman Daun Kacang Tujuh Jurai

1. Determinasi Tanaman

Tanaman kacang tujuh jurai di Sumatra barat di daerah Jawa dikenal dengan kacang koro, determinasi dilakukan di Lab. Biologi Universitas Setia Budi Surakarta. Determinasi dilakukan untuk menetapkan kebenaran sampel tanaman kacang tujuh jurai (*Phaseolus lunatus* L.), menghindari terjadinya kesalahan dalam pengumpulan bahan serta menghindari tercampurnya bahan dengan tanaman lain, dilakukan dengan mencocokkan ciri-ciri morfologi yang ada pada tanaman.

Berdasarkan surat keterangan determinasi nomor : 289/DET/UPT-LAB/02/I/2019 dapat dipastikan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar tanaman kacang tujuh jurai atau koro (*Phaseolus lunatus* L.) Hasil determinasi yaitu sebagai berikut :

1b-2b-3b-4b-6b-7b-9a. Golongan 4-41b-42b-43b-54a-55b-57b-58b. Familia 60. Papilionaceae. 1b-5a-5b-6b-7b-9b-10a. 7. Phaseolus. 1b-2a. *Phaseolus lunatus* L. Hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Pengumpulan dan Pengeringan Daun Kacang Tujuh Jurai

Tabel 2. Perhitungan rendemen simplisia daun kacang tujuh jurai

Bobot basah (gram)	Bobot simplisia (gram)	Rendemen % b/b
17000	3200	18,82

Daun kacang tujuh jurai yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Magetan, Jawa Timur pada bulan Januari 2019. Daun kacang tujuh jurai dikeringkan pada oven dengan suhu 53°C. Pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air dan mencegah adanya perubahan kimiawi yang dapat menurunkan mutu dan untuk menghindari tumbuhnya jamur dan bakteri. Hasil perhitungan rendemen simplisia ada di lampiran 5.

3. Hasil Pembuatan Serbuk Daun Kacang Tujuh Jurai

Daun kacang tujuh jurai yang sudah kering kemudian dihaluskan menggunakan mesin penggiling dan diayak dengan ayakan nomor 40 agar

mendapatkan serbuk dengan derajat kehalusan agak kasar dan agar mendapatkan serbuk yang seragam ukurannya (Depkes 2008). Hasil rendemen serbuk simplisia dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Perhitungan rendemen serbuk daun kacang tujuh jurai

Bobot simplisia (gram)	Bobot serbuk simplisia (gram)	Rendemen % b/b
3200	1830	57,19

Hasil presentase bobot kering terhadap bobot basah daun kacang tujuh jurai adalah % b/b. Hasil perhitungan rendemen serbuk daun kacang tujuh jurai dapat dilihat pada Lampiran 5.

4. Hasil Pengujian Kadar Air Serbuk

Penetapan kadar air serbuk daun kacang tujuh jurai dilakukan menggunakan alat *Sterling-Bidwell* dengan cairan pembawa toluen, karena toluen memiliki berat jenis dan titik didih yang lebih rendah dibandingkan air dan tidak tercampur dengan air sehingga memudahkan dalam penetapan kadar air. Hasil penetapan kadar air serbuk daun kacang tujuh jurai dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 4. Hasil penetapan kadar air serbuk daun kacang tujuh jurai

Bobot serbuk (gram)	Volume terbaca (ml)	Kadar (% b/v)
20	1,5	7,5
20	1,6	8
20	1,6	8
Rata-rata ± SD		7,83 ± 0,29

Kadar air serbuk daun kacang tujuh jurai sudah memenuhi syarat yaitu kurang dari 10 % b/v (Depkes 1994). Perhitungan kadar air dapat dilihat pada lampiran 6.

5. Hasil identifikasi kandungan serbuk daun kacang tujuh jurai

Identifikasi kandungan kimia terhadap serbuk daun kacang tujuh jurai bertujuan untuk menetapkan kebenaran kandungan kimia yang terkandung di dalam daun kacang tujuh jurai. Identifikasi senyawa dilakukan terhadap flavonoid, saponin, dan polifenol dibuktikan di Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi. Hasil identifikasi dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil identifikasi kandungan senyawa serbuk daun kacang tujuh jurai

Nama Senyawa	Keterangan	Serbuk
Flavonoid	Warna jingga yang terbentuk pada lapisan amil alkohol menunjukkan adanya senyawa flavonoid (Ciulei 1984) dengan jenis flavon (Fransworth 1966)	+
Saponin	Timbulnya busa hingga selang waktu 10 detik menunjukkan adanya senyawa saponin (Ciulei 1984).	+
Polifenol	Terbentuknya senyawa kompleks warna biru tua kehitaman menunjukkan adanya senyawa polifenol (Halimah 2010).	+

Keterangan :

+ mengandung senyawa

- tidak mengandung senyawa

Hasil identifikasi kandungan senyawa serbuk daun kacang tujuh jurai, bahwa daun kacang tujuh jurai mengandung flavonoid, saponin, dan polifenol.

B. Ekstraksi

1. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun kacang tujuh jurai

Serbuk daun kacang tujuh jurai diekstraksi dengan metode remaserasi karena metode remaserasi sederhana dan cocok untuk senyawa yang tidak tahan terhadap pemanasan (Depkes 2000). Pelarut etanol 70% digunakan karena dapat melarutkan senyawa organik dalam tumbuhan baik yang bersifat polar maupun nonpolar, tidak beracun, tidak mudah ditumbuhi kapang dan kuman, dan pemanasan yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit (Inayati 2010). Proses remaserasi dilakukan pada wadah kaca gelap agar terhindar dari sinar matahari secara langsung, wadah yang digunakan juga harus tertutup untuk menghindari etanol menguap pada suhu kamar. Maserat yang didapatkan kemudian dipekatkan dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 40°C. Tujuan dari evaporasi yaitu untuk meningkatkan konsentrasi padatan dari suatu bahan, dan untuk mengurangi volume pelarut hingga batas tertentu tanpa menyebabkan senyawa-senyawa berkhasiat pada bahan hilang (Sarker *et al.* 2006).

Tabel 6. Rendemen ekstrak etanol daun kacang tujuh jurai

Bobot serbuk (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen % b/b
1830	206	11,25

2. Hasil pengujian kadar air ekstrak

Penetapan kadar air ekstrak daun kacang tujuh jurai dilakukan menggunakan alat *Sterling-Bidwell* dengan cairan pembawa toluen, karena toluen memiliki berat jenis dan titik didih yang lebih rendah dibandingkan air dan tidak tercampur dengan air sehingga memudahkan dalam penetapan kadar air. Hasil penetapan kadar air serbuk daun kacang tujuh jurai dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Hasil penetapan kadar air ekstrak daun kacang tujuh jurai

Bobot serbuk (gram)	Volume terbaca (ml)	Kadar (% b/v)
20	1,3	6,5
20	1,1	5,5
20	1,1	5,5
Rata-rata ± SD		5,83 ± 0,58

Perhitungan kadar air dapat dilihat pada lampiran 7.

3. Hasil identifikasi kandungan ekstrak daun kacang tujuh jurai

Identifikasi kandungan kimia terhadap ekstrak daun kacang tujuh jurai bertujuan untuk menetapkan kebenaran kandungan kimia yang terkandung di dalam daun kacang tujuh jurai. Identifikasi senyawa dilakukan terhadap flavonoid, saponin, dan polifenol dibuktikan di Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi. Hasil identifikasi dapat dilihat pada tabel 9. Gambar dapat dilihat pada lampiran 8.

Tabel 8. Hasil identifikasi kandungan senyawa ekstrak dan serbuk daun kacang tujuh jurai

Nama Senyawa	Keterangan	Ekstrak
Flavonoid	Warna jingga yang terbentuk pada lapisan amil alkohol menunjukkan adanya senyawa flavonoid (Ciulei 1984). dengan jenis flavon (Fransworth 1966)	+
Saponin	Timbulnya busa hingga selang waktu 10 detik menunjukkan adanya senyawa saponin (Ciulei 1984).	+
Polifenol	Terbentuknya warna hijau kehitaman atau biru tua menunjukkan adanya senyawa polifenol (Halimah 2010).	+

Keterangan :

+ mengandung senyawa

- tidak mengandung senyawa

Hasil identifikasi kandungan senyawa serbuk daun kacang tujuh jurai, bahwa daun kacang tujuh jurai mengandung flavonoid, saponin, dan polifenol.

C. Hasil Uji Antiinflamasi

Uji aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol daun kacang tujuh jurai dilakukan pada tikus putih jantan yang berusia 2-3 bulan dengan berat 150-200 gram. Pada perlakuan hewan uji dibagi menjadi 5 kelompok. Kelompok 1 hingga 5 diberikan perlakuan secara berturut-turut.

Penelitian ini menggunakan hewan uji tikus putih jantan, yang telah dipuasakan \pm 8 jam sebelum pengujian, tetap diberi minum. Dari 5 kelompok tersebut masing-masing kaki tikus bagian kiri yang akan diinduksi diberi tanda sampai mata kaki. Kemudian diukur volumenya terlebih dahulu dengan cara memasukkan kaki tikus ke dalam raksa hingga tanda. Setiap tikus diberi perlakuan sesuai kelompoknya. Natrium diklofenak digunakan sebagai kontrol positif pada penelitian ini. Natrium diklofenak merupakan obat antiinflamasi golongan NSAID yang umum digunakan di masyarakat. Natrium diklofenak digunakan sebagai kontrol positif karena mempunyai daya antiinflamasi yang paling kuat dengan efek samping yang kecil dibandingkan obat lainnya (Tjay & Rahardja 2002). Pengukuran volume kaki tikus menggunakan *pletysmograph*.

Data yang diperoleh dalam penelitian ini berupa volume edema normal (T_0) sebelum tikus diinduksi karagenan, terjadi edema setelah sebelumnya dilakukan perlakuan sesuai kelompok uji dan satu jam kemudian diinduksi karagenan pada kaki tikus. Data rata-rata volume edema tikus pada tabel 9. Grafik rata-rata setiap waktu pengukuran volume edema kaki tikus dapat dilihat pada gambar 6.

Tabel 9. Rata-rata volume edema

Kelompok	Rata-rata volume edema \pm SD								
	T ₀	T _{0,5}	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₂₄
I	0,11 \pm 0,00	0,42 \pm 0,03 ^b	0,39 \pm 0,06 ^b	0,39 \pm 0,02 ^b	0,39 \pm 0,02 ^b	0,38 \pm 0,02 ^b	0,38 \pm 0,02 ^b	0,36 \pm 0,04 ^b	0,23 \pm 0,03 ^b
II	0,11 \pm 0,01	0,32 \pm 0,02 ^a	0,28 \pm 0,02 ^a	0,27 \pm 0,02 ^a	0,27 \pm 0,02 ^a	0,27 \pm 0,02 ^a	0,26 \pm 0,02 ^a	0,23 \pm 0,03 ^a	0,18 \pm 0,03 ^a
III	0,11 \pm 0,01	0,39 \pm 0,06 ^b	0,33 \pm 0,04 ^a	0,32 \pm 0,04 ^a	0,30 \pm 0,04 ^a	0,29 \pm 0,03 ^a	0,29 \pm 0,03 ^a	0,24 \pm 0,04 ^a	0,22 \pm 0,02 ^b
IV	0,11 \pm 0,02	0,38 \pm 0,03 ^b	0,29 \pm 0,02 ^a	0,29 \pm 0,02 ^a	0,29 \pm 0,02 ^a	0,28 \pm 0,02 ^a	0,28 \pm 0,02 ^a	0,24 \pm 0,01 ^a	0,21 \pm 0,02
V	0,11 \pm 0,01	0,35 \pm 0,04 ^a	0,28 \pm 0,03 ^a	0,28 \pm 0,03 ^a	0,28 \pm 0,03 ^a	0,27 \pm 0,03 ^a	0,27 \pm 0,02 ^a	0,23 \pm 0,02 ^a	0,21 \pm 0,01

Keterangan :

I = Kontrol negatif (CMC Na)

II = Kontrol positif (Natrium diklofenak 4,5 mg/kg BB)

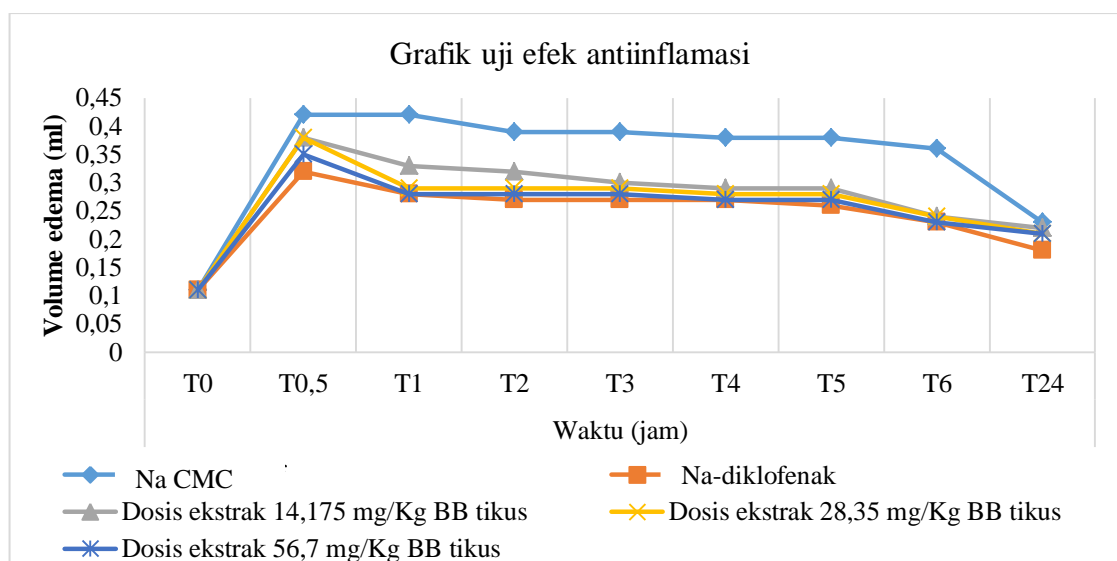
III = Ekstrak daun kacang tujuh jurai 14,175 mg/kg BB

IV = Ekstrak daun kacang tujuh jurai 28,350 mg/kg BB

V = Ekstrak daun kacang tujuh jurai 56,700 mg/kg BB

a = berbeda bermakna dengan kontrol negatif

b = berbeda bermakna dengan kontrol positif



Gambar 6. Hasil uji efek antiinflamasi dengan metode induksi karagenan.

Berdasarkan hasil rata-rata volume edema pada kaki tikus diketahui bahwa volume edema meningkat saat 30 menit setelah diinduksi dengan karagenan, terbentuknya edema disebabkan induksi karagenan. Karagenan memiliki 3 fase dalam membentuk edema, fase pertama adalah pelepasan histamin dan serotonin yang berlangsung selama 90 menit, Fase kedua adalah pelepasan bradikinin yang

terjadi pada 1,5 sampai 2,5 jam setelah induksi. Pada fase ketiga, terjadi pelepasan prostaglandin pada 3 jam setelah induksi, kemudian edema berkembang cepat dan bertahan pada volume maksimal, yaitu sekitar 5 jam setelah diinduksi (Morris 2003). Karagenan dipilih karena dapat memberikan respon yang lebih peka terhadap obat antiinflamasi, tidak meninggalkan bekas serta tidak menimbulkan kerusakan jaringan. Pada kelompok kontrol negatif yang diberi Na-CMC mengalami mekanisme terjadinya edema hingga 6 jam karena tidak mengalami proses penghambatan.

Pada kelompok kontrol positif yang diberi natrium diklofenak dengan dosis 4,5 mg/Kg BB terjadi peningkatan secara perlahan mulai dari jam ke 0,5 dan mengalami penurunan volume edema kaki karena mengalami proses penghambatan mekanisme edema. Obat ini bekerja menghambat siklooksigenase yang relatif nonselektif serta mengurangi bioavailabilitas asam arakhidonat (Tjay & Rahardja 2002). Pada kelompok perlakuan ekstrak etanol daun kacang tujuh jurai terjadi peningkatan pada jam ke 0,5 setelah diberi induksi karagenan dan mengalami penurunan secara perlahan hingga jam ke 6.

Tabel 10. Rata-rata AUC dan rata-rata DAI(%)

Kelompok perlakuan	Rata-rata AUC ± SD	Rata-rata DAI (%) ± SD
Kontrol negatif (CMC Na)	0,62 ± 0,18 ^b	0 ± 0,00 ^b
Kontrol positif (Na diklofenak)	0,31 ± 0,06 ^a	47,74 ± 13,16 ^a
Ekstrak dosis 14,175 mg/Kg BB	0,44 ± 0,05 ^{ab}	26,98 ± 16,66 ^{ab}
Ekstrak dosis 28,350 mg/Kg BB	0,41 ± 0,04 ^{ab}	32,59 ± 9,30 ^{ab}
Ekstrak dosis 56,700 mg,Kg BB	0,37 ± 0,05 ^a	38,42 ± 10,21 ^a

Keterangan :

a : berbeda bermakna dengan kontrol negatif pada uji LSD

b : berbeda bermakna dengan kontrol positif pada uji LSD

Hasil uji statistik data DAI dan AUC yang terdistribusi normal dan homogen dilanjutkan dengan uji analisis varian (ANOVA) satu arah dengan taraf kepercayaan 95 % dan dilanjutkan uji LSD untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan bermakna. Apabila dari salah satu syarat untuk uji ANOVA tidak dipenuhi, maka dilakukan uji Kruskal-Wallis untuk melihat adanya perbedaan. Apabila ada perbedaan bermakna dilakukan uji Mann-Whitney untuk melihat perbedaan antar kelompok perlakuan.. Sedangkan pada nilai persentasi kelompok

negatif tidak dimasukkan pada data statistik DAI, karena sudah digunakan untuk perhitungan nilai persen DAI.

Hasil dari uji *One Way* ANOVA menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna antar kelompok dengan nilai signifikansi ($0,101 > 0,05$).

Berdasarkan hasil AUC dan persen DAI, ekstrak daun kacang tujuh jurai dosis 56,700 mg/KgBB memiliki nilai signifikansi berbeda bermakna dengan Na-CMC dan tidak berbeda bermakna dengan natrium diklofenak

Hasil identifikasi senyawa pada ekstrak daun kacang tujuh jurai mengandung flavonoid, saponin, dan polifenol. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan (Depkes 1994). Senyawa yang memberikan efek antiinflamasi adalah flavonoid (Amelie *et al.* 2010). Flavonoid dapat menghambat enzim COX dan lipooksigenase. Flavonoid dapat menghambat siklooksigenase atau lipooksigenase dan menghambat akumulasi leukosit di daerah inflamasi sehingga dapat menjadi antiinflamasi (Agustina *et al.* 2015). Sedangkan penghambatan enzim COX dan lipooksigenase secara langsung menyebabkan penghambatan biosintesis eiksanoid dan leukotrien (Mueller 2005). Flavonoid menghambat akumulasi leukosit di daerah inflamasi (Ferrandiz & Alcaraz 1991). Efek antiinflamasi flavonoid didukung oleh aksinya sebagai antihistamin. Histamin salah satu mediator inflamasi yang pelepasannya distimulasikan oleh pemompaan kalsium ke dalam sel. Flavonoid dapat menghambat pelepasan histamin dari sel mast. Efek flavonoid sebagai antioksidan secara tidak langsung juga mendukung efek antiinflamasi flavonoid. Radikal bebas dapat menarik berbagai mediator pada kondisi normal leukosit bergerak bebas sepanjang dinding endotel. Selama inflamasi, berbagai mediator turunan endotel dan faktor komplemen mungkin menyebabkan adhesi leukosit ke dinding endotel sehingga menyebabkan leukosit menjadi *immobile* dan menstimulasi degranulasi netrofil (Nijveldt *et al.* 2001). Selain itu pemberian flavonoid dapat menurunkan adhesi leukosit ke endotel dan mengakibatkan penurunan respon inflamasi. Penghambatan degranulasi netrofil menyebabkan berkurangnya pelepasan arakhidonat oleh netrofil. Penghambatan pelepasan histamin, efek antiinflamasi flavonoid didukung oleh aksinya sebagai antiinflamasi. Flavonoid dapat menghambat enzim C-AMP fosfodiesterase

sehingga kadar C-AMP dalam sel mast meningkat, dengan demikian kalsium dicegah masuk ke dalam sel yang berarti mencegah pelepasan histamin (Gomperts *et al.* 1983). Efek flavonoid sebagai antioksidan secara tidak langsung juga mendukung efek antiinflamasi dari flavonoid. Adanya radikal bebas dapat menarik berbagai mediator inflamasi. Selain itu, senyawa flavonoid dapat menstabilkan ROS (*Reactive Oxygen Spesies*) dengan bereaksi dengan senyawa reaktif dari radikal sehingga radikal menjadi inaktif (Nijveldt *et al.* 2001).

Saponin sebagai antiinflamasi sudah banyak dilaporkan namun belum banyak diketahui tentang mekanisme antiinflamasi yang dilakukan secara pasti. Mekanisme antiinflamasi yang paling mungkin adalah diduga saponin mampu berinteraksi dengan banyak membran lipid seperti fosfolipid yang merupakan prekursor prostaglandin dan mediator-mediator inflamasi lainnya (Nutritional Therapeutics 2003).