

BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian Tanaman Putri Malu

1. Hasil determinasi tanaman putri malu

Determinasi tanaman pada penelitian ini dilakukan di Laboratorium Morfologi Tumbuhan Balai Besar Penelitian Dan Pengembangan Tanaman Obat Dan Obat Tradisional (B2P2TOOT) Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah. Berdasarkan surat keterangan determinasi nomor : YK.01.03/2/100/2019, diketahui bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman putri malu termasuk dalam famili Fabaceae dengan nama species *Mimosa pudica* L. Deskripsi lengkap dari tanaman putri malu dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Persiapan dan pengeringan simplisia daun putri malu

Daun putri malu yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah pada bulan Februari 2019. Daun putri malu yang diambil untuk penelitian ini adalah daun yang masih segar, berwarna hijau tidak terlalu muda, tidak terlalu tua dan tidak rusak. Daun putri malu yang telah diambil kemudian dibersihkan dengan menggunakan air yang bersih dan mengalir untuk menghilangkan kotoran kemudian ditiriskan dan dikeringkan di bawah sinar matahari dengan ditutupi kain hitam agar tidak terkena sinar matahari langsung untuk menghilangkan kadar air agar daun putri malu tidak mudah ditumbuhi jamur dan/atau bakteri yang dapat mengakibatkan proses pembusukan, serta menghindari menguapnya zat aktif yang diperlukan, selain itu juga dapat mempermudah pada saat proses pengeringan.

Hasil rendemen bobot daun kering terhadap bobot daun basah putri malu dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Rendemen pengeringan daun putri malu

| No. | Bobot basah (g) | Bobot kering (g) | Rendemen (%) |
|-----|-----------------|------------------|--------------|
| 1 | 8200 | 1400 | 17,07 |

Daun putri malu sebanyak 8,2 kg dikeringkan dan didapatkan persentase rendemen bobot kering terhadap bobot basah adalah 17,07%. Pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air sehingga dapat mencegah terjadinya kerusakan kandungan zat aktif yang ada dalam tanaman. Selain itu pengeringan juga dapat dilakukan untuk mencegah pertumbuhan jamur, dimana jamur akan mudah tumbuh pada simplisia yang kadar airnya masih cukup tinggi (di atas 10%) dan memperpanjang waktu pemakaian sehingga dapat disimpan dalam jangka waktu yang lebih lama. Perusakan kandungan aktif dalam simplisia dapat terjadi akibat peruraian zat aktif secara enzimatik seperti hidrolisis, oksidasi dan polimerisasi. Setelah simplisia segar dicuci dan ditiriskan, sebaiknya langsung segera dikeringkan untuk menghindari meningkatnya aktivitas enzim dengan adanya air dalam simplisia. Dengan pengeringan, kandungan lembab yang terdapat dalam simplisia akan berkurang sampai pada titik tertentu yang menyebabkan enzim-enzim menjadi tidak aktif. Pengeringan juga dapat memudahkan pada tahap selanjutnya, yaitu mudah dikemas dan disimpan. Hasil perhitungan bobot kering terhadap bobot basah daun putri malu dapat dilihat pada lampiran 9.

3. Pembuatan serbuk daun putri malu

Daun putri malu selanjutnya diserbuk untuk memperkecil ukuran partikel sehingga memperluas permukaan partikel akibatnya proses ekstraksi dapat berlangsung efektif. Serbuk daun putri malu kemudian diayak dengan pengayak nomor mesh 40, agar mendapatkan hasil serbuk yang seragam ukurannya.

Tabel 2. Rendemen berat serbuk terhadap berat daun kering

| Berat kering (g) | Berat serbuk (g) | Rendemen (%) |
|------------------|------------------|--------------|
| 1400 | 843 | 60,21 |

Pada perbandingan berat serbuk terhadap berat daun kering didapatkan rendemen sebesar 60,21%. Semakin tinggi nilai rendemen maka semakin bagus.

Hasil perhitungan berat serbuk terhadap berat daun kering putri malu dapat dilihat pada lampiran 10

4. Penetapan kadar air serbuk daun putri malu

Serbuk daun putri malu sebanyak 20 g, diukur kadar airnya dengan alat *Sterling Bidwell* menggunakan pelarut *toluene*. Persyaratan kadar air serbuk simplisia yaitu kurang dari 10%. Cairan pembawa yang digunakan adalah *toluene* karena toluene memiliki berat jenis dan titik didih yang lebih besar daripada air dan tidak bercampur dengan air. Pada umumnya simplisia yang sudah kering memiliki kadar air $\pm 8 - 10\%$ (Depkes 1986), dimana dengan jumlah kadar air tersebut kerusakan simplisia dapat ditekan baik dalam pengolahan maupun waktu penyimpanan. Hasil penetapan kadar air di dalam daun putri malu dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil penetapan kadar air serbuk daun putri malu

| No | Berat awal (gram) | Volume air (ml) | Kadar air (%) |
|--------------------|-------------------|-----------------|-----------------|
| 1 | 20 | 1 | 5 |
| 2 | 20 | 1 | 5 |
| 3 | 20 | 1,4 | 7 |
| Rata-rata \pm SD | | | 5,66 \pm 1,15 |

Hasil perhitungan kadar air serbuk daun putri malu menggunakan alat *Sterling-Bidwell* didapat kadar air rata-rata 5,66%. Jadi, serbuk daun putri malu pada penelitian ini sudah sesuai dengan kadar air yang dipersyaratkan yaitu $<10\%$. Hasil perhitungan kadar air serbuk dapat dilihat pada lampiran 11.

5. Pembuatan ekstrak etanol daun putri malu

Serbuk daun putri malu yang digunakan untuk pembuatan ekstrak etanol. Untuk mendapatkan suatu ekstrak harus dilakukan dengan proses ekstraksi. Ekstrak etanol daun putri malu dibuat dengan metode maserasi. Maserasi dipilih karena pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana, mudah dilakukan, mudah larut dalam pelarut dan untuk menghindari kerusakan senyawa aktif yang tidak tahan terhadap pemanasan. Pelarut yang digunakan yaitu pelarut etanol 96%. Dipilih pelarut etanol karena termasuk pelarut universal yang mampu menarik sebagian besar senyawa dalam simplisia, bersifat tidak toksik bila dibandingkan dengan metanol sehingga dapat digunakan baik untuk uji *in vitro* maupun *in vivo* dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Persentase berat ekstrak terhadap berat serbuk kering

| Berat serbuk kering (g) | Berat ekstrak (g) | Rendemen (%) |
|-------------------------|-------------------|--------------|
| 500 | 30,385 | 6,077 |

Dari hasil di atas dapat dilihat bahwa dari berat serbuk daun putri malu 500 g kemudian di maserasi dengan etanol 96% didapatkan ekstrak sebesar 30,385g dan menghasilkan % rendemen sebesar 6,077%. Hasil perhitungan rendemen ekstrak daun putri malu dapat dilihat pada lampiran 12.

6. Identifikasi ekstrak daun putri malu secara organoleptis

Identifikasi secara organoleptis dilakukan berdasarkan pengindraan yang meliputi bentuk, bau, rasa, dan warna. Hasil identifikasi ekstrak daun putri malu dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil pemeriksaan organoleptis ekstrak daun putri malu

| Organoleptis | Hasil |
|--------------|------------------|
| Bentuk | Padat |
| Bau | Khas daun |
| Rasa | pahit |
| Warna | hijau kecoklatan |

7. Identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak daun

Ekstrak etanol daun putri malu dilakukan uji kualitatif menggunakan reaksi warna untuk mengetahui kandungan flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol daun putri malu dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol daun putri malu

| Kandungan Kimia | Hasil Penelitian | Interpretasi Hasil | Pustaka* |
|---------------------|--|--------------------|---|
| Flavonoid | Warna jingga pada lapisan amil alkohol | + | Warna jingga pada lapisan amil alkohol (Sarker 2006). |
| Tanin | Warna hijau biru kehitaman | + | Terbentuk warna hijau violet (Depkes 1995) |
| Saponin | Buih tinggi 1-10 cm | + | Buih tinggi 1-10 cm (Depkes 1989). |
| Alkaloid | Terbentuk endapan putih atau kuning (Ekstrak + Reagen Mayer 2 tetes) | + | Terbentuk endapan putih (Harbone 1987). |
| | Terbentuk warna coklat (Ekstrak + Reagen Dragendrof 2 tetes) | | Endapan berwarna coklat sampai hitam (Depkes 1980) |
| Keterangan : | (+) = senyawa positif (-) = senyawa negatif | | |

Berdasarkan hasil identifikasi kandungan senyawa flavonoid, tannin, alkaloid, dan saponin pada pada Tabel 6 menunjukkan hasil yang positif, hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Ayeh Khodaparast *et al* (2012), bahwa daun putri malu mengandung flavonoid yang bisa mempotensiasi arus terhadap GABA pada reseptor GABA-A yang diekspresikan dalam neuron kortikal dan juga secara selektif memodulasi subtype reseptor GABA-A. hasil identifikasi senyawa dapat dilihat pada lampiran 8.

B. Hasil aktivitas antikonvulsi ekstrak etanol daun putri malu

1. Persiapan hewan uji

Hewan uji yang digunakan adalah mencit putih jantan galur wistar dengan berat badan 20-25 gram sebanyak 25 ekor yang diperoleh dari perternakan khusus hewan uji di Surakarta, Jawa tengah. Mencit yang digunakan, sebelumnya diaklimatisasi terlebih dahulu selama 7 hari agar dapat beradaptasi dengan lingkungan tempat uji. Mencit dibedakan berdasarkan kelompok dosis, dimana setiap kelompok terdiri dari 5 ekor mencit. Surat kesehatan hewan uji dapat dilihat pada lampiran 5.

2. Penetapan dosis.

Penetapan dosis sediaan uji ekstrak etanol daun putri malu berdasarkan dosis orientasi yaitu 100 mg/Kg BB, 200 mg/Kg BB, 400 mg/Kg BB. Perhitungan dosis dan volume pemberian dapat dilihat pada lampiran 13.

3. Hasil uji aktivitas antikonvulsi ekstrak etanol daun putri malu

Pada hasil penelitian ini, parameter yang diamati ada empat, yaitu onset, durasi, frekuensi, dan jumlah kematian hewan uji tiap-tiap kelompok selama 2 jam. Hewan uji masing-masing diberikan bahan uji (ekstrak etanol daun putri malu) pada kelompok yang telah ditentukan, diberikan penginduksi konvulsi yaitu isoniazid. Isoniazid dapat menimbulkan konvulsi dengan cara menghambat sintesis GABA (gamma amino butiric acid). GABA merupakan neurotransmitter derivat asam amino yang bersifat inhibitori yang dapat menghiperpolarisasikan neuron sistem saraf pusat (Harahap dan Hadisahputra 1999), sehingga apabila jumlah GABA menurun, akan terjadi efek konvulsi. Lebih lengkapnya, enzim

dekarboksilase asam glutamate dihambat oleh pyridoxal 5 phospat yang merupakan kofaktor bagi enzim tersebut, akibatnya terjadi penurunan jumlah GABA (Vasu dan Saluja 2005). Kondisi yang ditimbulkan oleh berkurangnya GABA di sistem saraf pusat ditandai dengan aktivitas yang berlebihan, gerakan-gerakan yang abnormal yang berlangsung singkat cenderung untuk berulang (Mycek 2001).

Rata-rata onset, durasi, frekuensi, dan jumlah kematian pada kelompok dibandingkan dengan kontrol negatif. Hasil penelitian rata-rata SD onset, durasi, frekuensi, dan jumlah kematian pada masing-masing kelompok dapat dilihat pada tabel 7 dan gambar 9; 10; dan 11.

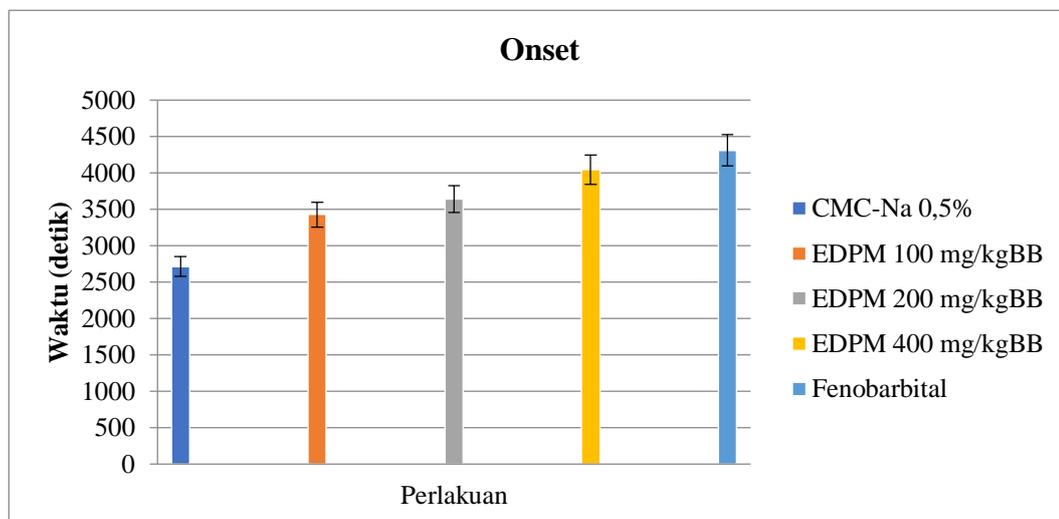
Berdasarkan Tabel 7 dan gambar grafik 9 hasil analisis statistik terhadap keempat parameter, maka diperoleh hasil sebagai berikut :

Tabel 6. Hasil pengamatan kejang mencit jantan setelah diinduksi INH

| Perlakuan | Rata-rata±SD | | | Jumlah Kematian (%) |
|-----------|----------------------|-----------------------|---------------------------------|---------------------|
| | Onset Kejang (detik) | Durasi Kejang (detik) | Jumlah Frekuensi Kejang (detik) | |
| I | 2712,2±101,47 | 281,6±23,62 | 102,4±7,56 | 100 |
| II | 3425,4±83,63* | 256±7,90 | 95,8±5,54 | 100* |
| III | 3639,2±76,50* | 213±14,05* | 80,8±4,43* | 100* |
| IV | 4041,2±112,42* | 148,2±20,54* | 74,8±9,93* | 40* |
| V | 4306,8±99,35* | 88,2±18,37* | 27±5,14* | 0* |

Keterangan :

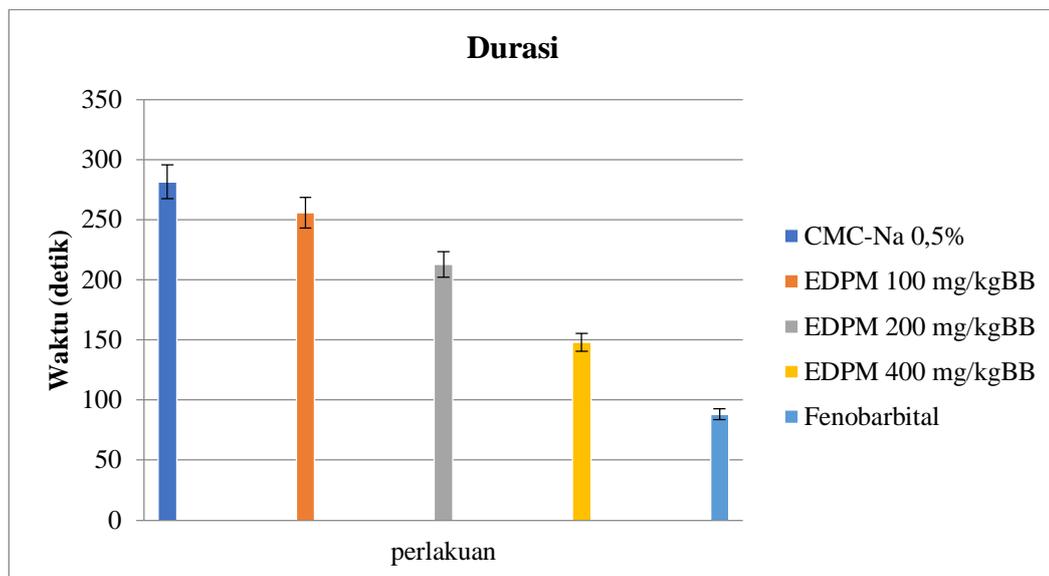
- I : Kontrol CMC-Na (-)
- II : Ekstrak etanol daun putri malu (EDPM) 100 mg/kgBB
- III : Ekstrak etanol daun putri malu (EDPM) 200 mg/kgBB
- IV : Ekstrak etanol daun putri malu (EDPM) 400 mg/kgBB
- V : Pembanding fenobarbital (+)
- * : P < 0,05 (ada perbedaan bermakna terhadap kontrol negatif)



Gambar 10. Grafik *Onset* konvulsi dari hewan uji yang diberi sediaan uji ekstrak etanol daun putri malu

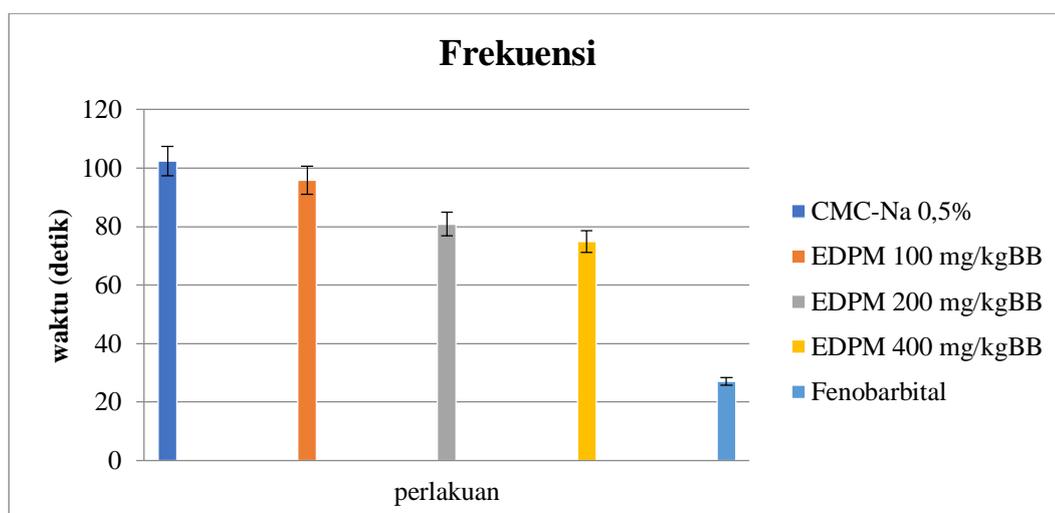
Data pada tabel 7 dan gambar 9 terlihat bahwa semua kelompok perlakuan mencit memberikan perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol negatif, pada kelompok kontrol negatif timbulnya konvulsi lebih cepat dibandingkan dengan kelompok lain. Pemeriksaan *onset* konvulsi diawali dengan analisis *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh semua data terdistribusi normal ($p > 0,05$), dilanjutkan analisis *One Way Anova* dengan semua nilai yang signifikan ($p < 0,05$) menunjukkan ada perbedaan yang bermakna pada setiap kelompok. Hal ini berarti ekstrak etanol daun putri malu berbeda signifikan dengan kontrol negatif. Hasil analisis data dengan SPSS dapat dilihat pada lampiran 17.

Hasil pengujian dengan parameter *onset* kejang dapat dikatakan bahwa untuk kelompok dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, dan 400 mg/kgBB mempunyai efek antikonvulsan hal ini bisa diketahui dengan meningkatnya dosis maka dapat memperpanjang *onset* terjadinya kejang. Menurut Adeyemi *et al* (2007) dan Ojewole (2008) kemampuan ekstrak tanaman untuk mencegah kejang atau memperpanjang onset kejang mengindikasikan adanya aktivitas antikonvulsan.



Gambar 11. Grafik *durasi* konvulsi dari hewan uji yang diberi sediaan uji ekstrak etanol daun putri malu

Dari data pada tabel 7 dan gambar 10 terlihat bahwa tidak semua kelompok memberikan perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol negatif. Kelompok dosis EDPM 100 mg/kgBB tidak ada perbedaan bermakna dengan kelompok kontrol negatif, secara statistik terlihat ($p > 0,05$). Sedangkan untuk kelompok dosis EDPM 200 mg/kgBB; 400 mg/kgBB ($p < 0,05$) berarti berbeda signifikan dengan kontrol negatif Menurut Kasture *et al* (2000), adanya aktivitas antikonvulsan dapat ditunjukkan dengan terjadinya penurunan durasi kejang. Hasil analisis data dengan SPSS dapat dilihat pada lampiran 18.



Gambar 32. Grafik *frekuensi* konvulsi dari hewan uji yang diberi sediaan uji ekstrak etanol daun putri malu

Dari data tabel 7 dan gambar 11 terlihat bahwa semua kelompok perlakuan mencit memberikan perbedaan signifikan dengan kelompok kontrol negatif, kecuali kelompok perlakuan dosis EDPM 100 mg/kgBB yang mempunyai data statistik ($p > 0,05$) yang berarti tidak ada perbedaan bermakna dengan kontrol negatif, sedangkan kelompok dosis EDPM 200 mg/kgBB; 400 mg/kgBB ($p < 0,05$) mempunyai perbedaan yang signifikan dengan kontrol negatif. Efek ini dapat dilihat dari jumlah frekuensi kejang yang semakin berkurang. Hasil analisis data dengan SPSS dapat dilihat pada lampiran 19.

Selanjutnya parameter yang diamati adalah pada jumlah kematian pada tabel 7 terlihat bahwa kelompok dosis ekstrak daun putri malu 100; 200; 400mg/kgBB memberikan perbedaan yang signifikan dengan kelompok negatif yakni kelompok II =100% kematian, kelompok III=100% kematian dan pada kelompok IV= 40% kematian . Statistik terlihat P(sig.) dari ketiga kelompok dosis ekstrak daun putri malu kurang dari 0,05, sehingga bisa dikatakan bahwa kelompok dosis ekstrak 100; 200; 400 mg/kgBB berpotensi sebagai antikonvulsan karena dapat mengurangi jumlah kematian mencit yang diinduksi INH. Hasil analisis data dengan SPSS dapat dilihat pada lampiran 20.

Hasil keseluruhan dapat diperoleh kesimpulan bahwa kelompok I (kontrol negatif) tidak mempunyai efek antikonvulsan dalam mempengaruhi onset, durasi, frekuensi, dan jumlah kematian pada mencit jantan yang diinduksi INH. Hal ini disebabkan karena kelompok I hanya diberi suspensi CMC-Na 0,5%. Menurut Mandhane *et al* (2007) CMC-Na 0,5% tidak mempunyai efek terhadap induksi kejang INH, sehingga Kelompok I tidak mampu memperpanjang onset, memperpendek durasi, mengurangi frekuensi kejang dan jumlah kematian mencit yang diinduksi kejang INH.

Pada kelompok II (EDPM 100 mg/kgBB) tidak mempunyai efek antikonvulsan, karena tidak mempengaruhi onset, durasi, frekuensi kejang, dan jumlah kematian pada mencit, walaupun dilihat dari data statistik ada beberapa data yang berbeda signifikan dengan kelompok I tapi pada saat penelitian terlihat

jelas bahwa antara kelompok kontrol negatif dan kelompok dosis 100 mg/kgBB hampir mempunyai kesamaan.

Pada kelompok III (EDPM 200 mg/kgBB) sudah mulai memiliki efek antikonvulsan, kelompok ini sudah bisa memperpanjang onset kejang yang terjadi, dan mempersingkat durasi kejang, serta mengurangi frekuensi kejang yang terjadi, akan tetapi kelompok ini belum bisa mencegah kematian yang terjadi pada mencit yang telah diinduksi INH.

Pada kelompok IV (EDPM 400 mg/kgBB) sudah efektif mempunyai efek antikonvulsan yang bisa mempengaruhi onset, durasi, frekuensi kejang, dan mengurangi jumlah kematian pada mencit. Efek dari ekstrak tersebut sudah mampu menunda onset, menurunkan durasi dan jumlah kematian pada mencit yang diinduksi INH. Kelompok IV memiliki efek antikonvulsan yang lebih besar dibandingkan kedua kelompok perlakuannya lainnya, akan tetapi efek antikonvulsannya masih lebih kecil dibandingkan dengan kelompok V (kelompok pembanding). Terlihat dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa semakin besar dosis yang diberikan maka efek antikonvulsan yang ditimbulkan juga semakin besar.

kelompok V menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan kelompok lainnya. Mencit yang diberi suspensi fenobarbital tidak mengalami kejang sama sekali. Sehingga dapat disimpulkan bahwa kelompok V memiliki efek antikonvulsan yang paling besar. Kelompok V mampu memperpanjang onset, mempersingkat durasi, mengurangi frekuensi kejang, dan mencegah jumlah kematian terhadap mencit yang diinduksi INH. Hal ini disebabkan karena fenobarbital merupakan obat yang sudah teruji klinis yang sering digunakan sebagai obat antikonvulsan.

Pada penelitian ini senyawa kimia atau zat aktif utama yang diduga menimbulkan efek antikonvulsan adalah flavonoid, tannin, alkaloid dan saponin. Namun beberapa penelitian menyebutkan senyawa yang paling berperan dalam mengurangi efek konvulsan yang terjadi adalah senyawa flavonoid. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Ayeh Khodaparast *et al* (2012) flavonoid bisa mempotensiasi arus terhadap GABA pada reseptor GABA-A yang diekspresikan

dalam neuron kortikal dan juga secara selektif memodulasi sub tipe reseptor GABA-A. Menurut Kasture *et al* (2002) flavonoid dapat berperan didalam sistem saraf pusat dan memodulasi saluran klorida (Cl) yang dimediasi GABA dalam hewan berupa kecemasan, sedasi, dan kejang dengan mekanisme kerja yaitu menekan neuron abnormal secara selektif, menghambat penyebaran dan rangsangan depolarisasi dengan cara menyekat kanal Ca^{2+} , memperlama pembukaan kanal Cl^- dan menyekat respon eksikatorik yang diinduksi oleh glutamat (Porter & Meldrum, 2002).

Kemungkinan efek dari ekstrak daun putri malu ini adalah dengan melibatkan mekanisme melepaskan hambatan pada GABA oleh senyawa flavonoid dengan mempotensiasi arus terhadap GABA nya dan flavonoid juga diduga mampu memperlama pembukaan kanal Cl^- sehingga mampu mengurangi aktifitas kejang yang disebabkan oleh induksi INH. Penurunan jumlah GABA merupakan penyebab terjadinya kejang (Vasu dan Saluja 2005).