

BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Determinasi Tanaman kacang tujuh jurai

1. Determinasi tanaman

Determinasi tanaman kacang tujuh jurai atau di daerah Jawa dikenal dengan kacang koro dilakukan di Laboratorium 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 : 288/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 1. 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 desa Gonggang RT 28 RW 03 Poncol 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 2.

Tabel 2. Perhitungan rendemen serbuk daun kacang tujuh jurai

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

Hasil prosentase bobot kering terhadap bobot basah daun kacang tujuh jurai adalah 57,19 % 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 toluene jenuh air, karena toluen jenuh air merupakan senyawa anhidrat yang dapat menyerap air, apabila toluen belum jenuh air maka toluen akan menyerap air pada simplisia. Hasil penetapan kadar air serbuk daun kacang tujuh jurai dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. 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 ± 0,28

Kadar air serbuk daun kacang tujuh jurai sudah memenuhi syarat yaitu kurang dari 10 % b/v, sehingga dapat mencegah terjadinya reaksi enzimatik di mana dapat menyebabkan pembusukan pada serbuk daun kacang tujuh jurai yang disebabkan oleh adanya jamur dan bakteri dan juga dapat terjadi perubahan kimia yang juga dapat menurunkan kualitas simplisia (Depkes 2008). Perhitungan kadar air dapat dilihat pada lampiran 6.

5. Hasil identifikasi kandungan kimia 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 4.

Tabel 4. 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).	+
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 tanin (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 maserasi karena metode maserasi 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 non polar, tidak beracun, tidak mudah ditumbuhi kapang dan kuman, dan pemanasan yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit (Inayati 2010). Proses maserasi 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 5. 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 toluene jenuh air, karena toluen jenuh air merupakan senyawa anhidrat yang dapat menyerap air, apabila toluen belum jenuh air maka toluen akan menyerap air pada simplisia. Hasil penetapan kadar air serbuk daun kacang tujuh jurai dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil penetapan kadar air ekstrak daun kacang tujuh jurai

Bobot serbuk (gram)	Volume terbaca (ml)	Kadar (% b/v)
20	1,3	6,5
20	1,14	5,5
20	1,14	5,5
Rata-rata ± SD		5,83±0,57

Kadar air ekstrak daun kacang tujuh jurai sudah memenuhi syarat yaitu kurang dari 10 % b/v, sehingga dapat mencegah terjadinya reaksi enzimatik di mana dapat menyebabkan pembusukan pada ekstrak daun kacang tujuh jurai yang disebabkan oleh adanya jamur dan bakteri dan juga dapat terjadi perubahan kimia yang juga dapat menurunkan kualitas ekstrak (Depkes 2008).

3. Hasil identifikasi kandungan kimia 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 7. Gambar dapat dilihat pada lampiran 7.

Tabel 7. Hasil identifikasi kandungan senyawa ekstrak 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 1996).	+
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 tanin (Halimah 2010).	+

Keterangan :

+ mengandung senyawa

- tidak mengandung senyawa

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

C. Hasil uji Efek Antipiretik

Uji aktivitas antipiretik 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 dibuat demam dengan metode induksi vaksin DTP-HB-Hib yang diberikan secara i.m pada tikus. Mekanisme vaksin DTP-HB-Hib dalam menyebabkan demam yaitu disebabkan oleh adanya kandungan toksin mikroba *Bordetella pertusis* dalam vaksin. Sebagai respon pertahanan tubuh, sel-sel mononuklear mengeluarkan sitokin yang mempengaruhi pusat termoregulasi hipotalamus untuk meningkatkan suhu tubuh (Jong *et al.*2001).

Paracetamol digunakan sebagai kontrol positif pada penelitian ini. Paracetamol merupakan obat antipiretik yang umum digunakan di masyarakat. Paracetamol digunakan sebagai kontrol positif karena absorpsi paracetamol sempurna dan cepat dalam saluran cerna. Konsentrasi tinggi dalam plasma dicapai dalam waktu 30 menit (Wilmana & Sulistia 2007).

Pengukuran suhu tubuh pada tikus menggunakan termometer digital melalui rektal hewan uji. Termometer digital digunakan karena relatif cepat yaitu hanya dalam waktu 1 menit, mudah dalam penggunaannya dan dalam pembacaan hasil lebih jelas.

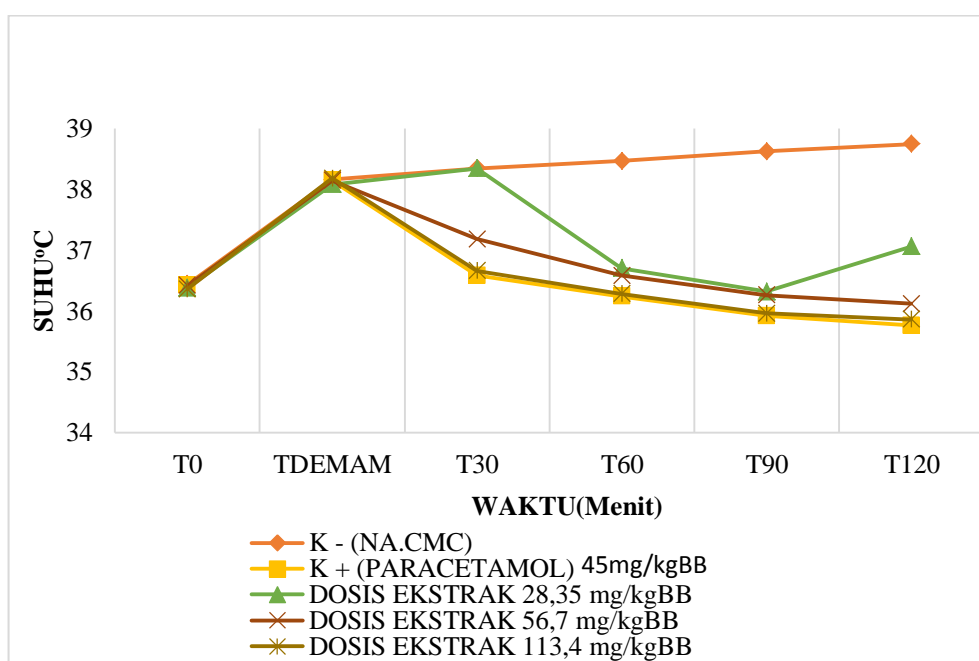
Data yang diperoleh dalam penelitian ini berupa suhu rektal normal (T_0) sebelum tikus diinduksi demam, suhu demam 6 jam setelah pemberian vaksin DTP-HB-Hib dan suhu setiap 30 menit setelah perlakuan selama 120 menit. Data rata-rata suhu rektal tikus pada tabel 8. Grafik rata-rata setiap waktu pengukuran pada suhu rektal tikus dapat dilihat pada gambar 7. Data rata-rata selisih suhu tubuh tikus tiap waktu pengukuran terhadap suhu demam dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 8. Rata-rata suhu rektal tikus

Kelompok	Rata-rata suhu rektal ($^{\circ}\text{C}$)					
	T ₀	T _{demam}	T ₃₀	T ₆₀	T ₉₀	T ₁₂₀
I	36,44±0,18	38,16±0,11	38,34±0,13 ^b	38,46±0,13 ^b	38,62±0,13 ^b	38,74±0,08 ^b
II	36,42±0,14	38,14±0,14	36,58±0,11 ^a	36,24±0,10 ^a	35,92±0,21 ^a	35,76±0,24 ^a
III	36,38±0,11	38,08±0,25	38,34±0,22 ^b	36,07±0,26 ^{ab}	36,32±0,17 ^a	37,06±0,31 ^{ab}
IV	36,42±0,17	38,14±0,18	37,18±0,29 ^{ab}	36,58±0,07 ^{ab}	36,26±0,14 ^a	36,12±0,17 ^a
V	36,36±0,15	38,18±0,16	36,66±0,11 ^a	36,28±0,08 ^a	35,96±0,11 ^a	35,86±0,13 ^a

Keterangan :

- I = Kontrol negatif (CMC Na)
- II = Kontrol positif (Paracetamol 45 mg/kg BB)
- III = Ekstrak daun kacang tujuh jurai 28,35 mg/kg BB
- IV = Ekstrak daun kacang tujuh jurai 56,7 mg/kg BB
- V = Ekstrak daun kacang tujuh jurai 113,4 mg/kg BB

**Gambar 7. Grafik rata-rata suhu rektal tikus**

Kelompok kontrol negatif yang diberikan CMC Na, pada grafik gambar 7 menunjukkan adanya kenaikan suhu konstan hingga menit ke-120, berbeda dengan kontrol positif yang menunjukkan penurunan suhu tubuh konstan dari menit ke-30 hingga menit ke-120. Kenaikan suhu disebabkan karena adanya penyuntikan vaksin DTP-HB-Hib yang mengandung pirogen. Keadaan demam pada tikus terjadi akibat pirogen masuk ke dalam darah dan berikatan dengan reseptor di dalam *nucleus preoptik hypothalamic anterior*, sehingga kadar prostaglandin meningkat dan mengakibatkan peningkatan suhu tubuh di

hipotalamus (Hay *et al.* 2009). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian CMC tidak dapat menurunkan suhu tubuh pada tikus saat demam.

Kelompok kontrol positif dengan diberikan paracetamol 45 mg/kg BB. Pada grafik terlihat efek antipiretik sudah mulai terlihat pada menit ke-30 hingga menit ke-120. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa paracetamol sebagai pembanding dapat menurunkan suhu tubuh saat demam pada tikus. Mekanisme kerja paracetamol dalam menimbulkan kerja antipiretik yaitu dengan cara menghambat enzim cyclooxygenase (COX) yang berperan dalam sintesis prostaglandin sehingga suhu tubuh akan menurun (Wilmana & Sulistia 2007). Absorpsi paracetamol sangat cepat di usus (Tjay & Rahardja 2007). Paracetamol cepat dan sangat baik di absorpsi pada saluran cerna. Konsentrasi tinggi dalam plasma dicapai dalam waktu ½ jam dan masa paruh plasma antara 1-3 jam (Freddy 2007).

Hasil dari kelompok perlakuan ekstrak etanol daun kacang tujuh jurai dosis 28,35 mg/kg BB dibandingkan dengan kontrol negatif, pada menit ke-60 sudah mengalami penurunan suhu tubuh, kemudian suhu naik kembali pada menit ke-120. Sedangkan pada kontrol positif penurunan suhu dimulai sejak menit ke-30 hingga menit ke-120. Hal ini diduga karena efek dari pirogen vaksin DTP-HB-Hib masih bekerja secara dominan dan ekstrak pada dosis 28,35 mg/kg BB telah di eliminasi di dalam darah.

Hasil kelompok yang diberikan ekstrak etanol daun kacang tujuh jurai 56,7 mg/kg BB dan ekstrak etanol daun kacang tujuh jurai 113,4 mg/kg BB, adanya penurunan suhu yang konstan pada menit ke-30 hingga menit ke-120 seperti kontrol positif (paracetamol). Hal ini diduga disebabkan karena semakin besar dosis ekstrak etanol daun kacang tujuh jurai maka semakin besar pula kemampuan menurunkan suhu tubuh pada tikus. Dapat dilihat di tabel 9.

Tabel 9. Rata-rata selisih suhu tubuh tikus tiap waktu pengukuran terhadap suhu demam

Kelompok	Rata-rata selisih suhu tubuh tikus tiap waktu pengukuran terhadap suhu demam			
	T ₃₀	T ₆₀	T ₉₀	T ₁₂₀
I	-0,18±0,04 ^b	0,3±0,07 ^b	-0,46±0,05 ^b	-0,58±0,04 ^b
II	1,56±0,20 ^a	1,9±0,18 ^a	2,22±0,27 ^a	2,38±0,32 ^a
III	-0,26±0,15 ^{ab}	1,38±0,22 ^{ab}	1,76±0,15 ^{ab}	1,02±0,21 ^{ab}
IV	0,96±0,15 ^{ab}	1,56±0,27 ^a	1,88±0,22 ^a	2,02±0,25 ^a
V	1,52±0,21 ^a	1,9±0,20 ^a	2,22±0,21 ^a	2,32±0,26 ^a

Keterangan :

- I = Kontrol negatif (CMC Na)
- II = Kontrol positif (Paracetamol 45 mg/kg BB)
- III = Ekstrak daun kacang tujuh jurai 28,35 mg/kg BB
- IV = Ekstrak daun kacang tujuh jurai 56,7 mg/kg BB
- V = Ekstrak daun kacang tujuh jurai 113,4 mg/kg BB

Tanda (-) menunjukkan kenaikan suhu rektal tikus

a : Berbeda bermakna dengan kontrol negatif

b : Berbeda bermakna dengan kontrol positif

Analisis data selisih suhu tubuh tikus tiap waktu pengukuran terhadap suhu demam dengan menggunakan statistik, untuk melihat adanya perbedaan secara nyata efek antipiretik antara kelompok perlakuan. Berdasarkan hasil statistik pada lampiran 14, hasil uji normalitas dengan menggunakan *Shapiro Wilk* menunjukkan bahwa data selisih suhu tubuh tikus tiap waktu pengukuran terhadap suhu demam terdistribusi normal dengan nilai signifikansi $\geq 0,05$. Hasil yang diperoleh dari uji *One-way ANOVA* menunjukkan terdapat perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan dengan nilai signifikansi $\leq 0,05$.

Berdasarkan hasil uji *Tukey* pada tabel 9, dosis 113,4 mg/kg BB menunjukkan adanya penurunan suhu tubuh yang sebanding dengan kontrol positif (Paracetamol) pada menit ke-30, dosis 56,7 mg/kg BB sudah tidak sebanding dengan kontrol negatif, tetapi masih belum sebanding dengan kontrol positif, sedangkan dosis 28,35 mg/kg BB masih sebanding dengan kontrol negatif (CMC Na). Ekstrak etanol daun kacang tujuh jurai pada dosis kecil belum dapat menurunkan suhu tubuh pada menit ke-30 dibandingkan dengan kontrol positif.

Menit ke-60 hingga ke-120, dosis 113,4 mg/kg BB menunjukkan adanya penurunan suhu tubuh yang sebanding dengan kontrol positif dimulai dari menit ke-30 hingga menit ke-120. Dosis 56,7 mg/kg BB tidak sebanding dengan kontrol negatif walaupun masih belum sebanding dengan kontrol positif, tetapi penurunan

suhu tubuh sudah terjadi. Dosis 28,35 mg/kg BB menunjukkan adanya penurunan suhu tubuh pada menit ke-60 hingga menit ke-90 hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun kacang tujuh jurai pada dosis kecil memiliki efek antipiretik dengan durasi yang pendek dan ekstrak sudah dieliminasi di dalam darah sehingga penurunan suhu tubuh naik kembali pada menit ke-120. Hasil analisis data menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kacang tujuh jurai mempunyai aktivitas sebagai antipiretik.

Tabel 10. Hasil perhitungan rata-rata AUC

Kelompok perlakuan	Rata-rata AUC \pm SD
Kontrol negatif (CMC Na)	4593,9 \pm 23,6
Kontrol positif (Paracetamol)	4368,3 \pm 15,2
Ekstrak 28,35 mg/kg BB	4444,1 \pm 30,0
Ekstrak 56,7 mg/kg BB	4401,6 \pm 15,6
Ekstrak 113,4 mg/kg BB	4373,4 \pm 9,5

Berdasarkan tabel 10 menunjukkan harga AUC dari yang terkecil hingga yang terbesar. Data dari masing-masing perlakuan di atas digunakan untuk menghitung % daya antipiretik (DAP), semakin kecil nilai AUC maka DAP semakin baik. Setelah didapatkan data AUC dari masing-masing perlakuan, kemudian data AUC digunakan untuk mengetahui presentase daya antipiretik. Daya antipiretik digunakan untuk mengetahui seberapa besar kemampuan tiap senyawa uji dalam menghambat demam pada tikus yang diinduksi 0,2 ml vaksin DTP-HB-Hib. Hasil presentase daya antipiretik pada tabel 11.

Tabel 11. Hasil rata-rata presentase daya antipiretik tiap kelompok

Kelompok perlakuan	Rata-rata % DAP \pm SD
Kontrol positif (Paracetamol)	4,90 ^a \pm 0,46
Ekstrak 28,35 mg/kg BB	3,25 ^{ab} \pm 0,84
Ekstrak 56,7 mg/kg BB	4,11 ^a \pm 0,67
Ekstrak 113,4 mg/kg BB	4,75 ^a \pm 0,48

a : Berbeda bermakna dengan kontrol negatif

b : Berbeda bermakna dengan kontrol positif

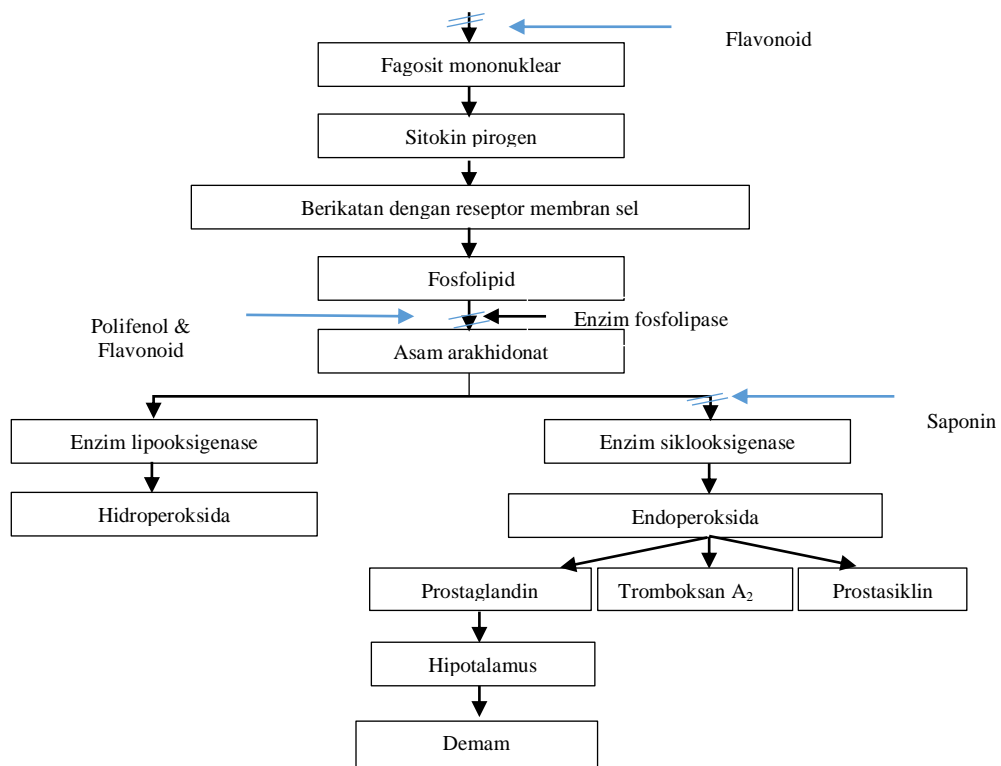
Hasil presentase daya antipiretik pada tabel 11 menunjukkan bahwa rata-rata presentase daya antipiretik kelompok kontrol positif (Paracetamol) sebesar 4,902 %, dan rata-rata presentase daya antipiretik pada kelompok perlakuan ekstrak etanol daun kacang tujuh jurai dosis 28,35 mg/kg BB sebesar 3,256 %, dosis 56,7 mg/kg BB sebesar 4,114 % dan dosis 113,4 mg/kg BB sebesar 4,756

%. Rata-rata presentase daya antipiretik tertinggi ditunjukkan pada kelompok kontrol positif paracetamol, hal ini terjadi karena paracetamol telah terbukti sebagai antipiretik secara klinis. Dosis ekstrak etanol daun kacang tujuh jurai 113,4 mg/kg BB yang sebanding dengan kontrol positif.

Analisis data persen daya antipiretik dengan statistik, untuk melihat adanya perbedaan secara nyata dari aktivitas antipiretik antara kelompok perlakuan. Hasil uji normalitas menggunakan *Shapiro-wilk* menunjukkan bahwa data persen antipiretik terdistribusi normal dengan signifikansi ($p > 0,05$). Hasil uji *One Way ANOVA* menunjukkan bahwa data persen antipiretik terdapat perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan dengan nilai signifikansi ($p < 0,05$), dilanjutkan dengan uji *Tukey* dan hasil menunjukkan terdapat perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol negatif. Hasil analisis data menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kacang tujuh jurai mempunyai aktivitas sebagai antipiretik.

Penurunan suhu tubuh tikus rata-rata disebabkan karena efek antipiretik dari ekstrak daun kacang tujuh jurai yang diduga karena adanya kandungan senyawa flavonoid, saponin, dan polifenol.

Mekanisme flavonoid sebagai antipiretik yaitu dengan cara menekan TNF- α atau senyawa terkait dan menghambat asam arakhidonat yang berakibat pada pengurangan kadar prostaglandin sehingga mengurangi terjadinya demam (Taiwe *et al.* 2011). Menurut Hassan *et al.* (2012), saponin dapat menghambat enzim COX-2 sehingga produksi prostaglandin akan terhambat, kemudian kadar prostaglandin di dalam hipotalamus akan berkurang sehingga demam akan berkurang. Menurut Kumar *et al.* (2012), polifenol dapat berkhasiat sebagai antipiretik dengan cara menghambat asam arakhidonat dalam biosintesis prostaglandin.



Gambar 8. Mekanisme senyawa sebagai antipiretik (Ernawati 2010)