

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Determinasi tanaman daun duwet

Determinasi bertujuan untuk mencocokkan dari tanaman yang akan diteliti serta kebenaran sampel yang akan digunakan dalam penelitian. Determinasi daun duwet dilakukan di Laboratorium Program Studi Biologi Universitas Sebelas Maret, Surakarta. Berdasarkan hasil determinasi daun duwet yang dilakukan di Laboratorium Program Studi Biologi nomor : 039/UN27.9.6.4/Lab/2019 Universitas Sebelas Maret menunjukkan bahwa sampel merupakan benar-benar daun duwet (*Syzygium cumini* Linn.). Hasil determinasi dapat dilihat pada Lampiran 1.

B. Pembuatan Serbuk dan Sifat Fisik Serbuk Daun Duwet

1. Pembuatan serbuk daun duwet

Daun duwet yang diperoleh dari Madiun – Jawa Timur sebanyak 3 kg pada bulan Februari 2019. Daun yang diambil dalam kondisi segar, tidak busuk dan masih berwarna hijau. Daun dibuat menjadi serbuk dengan tujuan untuk memperluas permukaan partikel simplisia yang kontak dengan pelarut sehingga penyaringan dapat berlangsung secara efektif. Data dapat dilihat di lampiran 9 dan tabel 1.

Tabel 1. Parsentase rendemen bobot kering terhadap bobot basah daun duwet

Simplisia	Berat basah (kg)	Berat kering (kg)	Rendemen (%)
Daun Duwet	1,8	0,85	47,2%

2. Identifikasi serbuk daun duwet secara organoleptis

Identifikasi secara organoleptis dilakukan berdasarkan bentuk, bau, rasa, dan warna. Hasil identifikasi serbuk daun duwet dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil pemeriksaan organoleptis serbuk daun duwet

Organoleptis	Hasil
Bentuk	Serbuk
Bau	Khas daun duwet
Rasa	Pahit
Warna	Coklat tua

C. Hasil Penetapan susut pengeringan Serbuk Daun Duwet

Penetapan susut pengeringan untuk mengetahui kadar air yang terdapat dalam serbuk daun duwet dengan alat *moisture balance*. Menurut Farmakope Herbal Indonesia (2009), susut pengeringan pada serbuk batasnya kurang dari 10%. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun duwet dapat dilihat pada Tabel 3 di bawah ini.

Tabel 3. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun duwet

No.	Bobot serbuk (gram)	Susut pengeringan (%)	Rata-Rata (%) ± SD
1.	2,01	7,5	7,76 ± 0,93
2.	2,00	7	
3.	2,02	8,8	

Kadar air tergantung pada waktu pengeringan semakin kering maka semakin kecil kadar airnya yang diperoleh. Berdasarkan hasil perhitungan penetapan susut pengeringan daun duwet diperoleh hasil ialah sebesar 7,76 %. Nilai tersebut menunjukan bahwa daun duwet memenuhi syarat tidak melebihi dari 10%. Sehingga serbuk yang digunakan dalam penelitian.

D. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Duwet

Maserasi merupakan salah satu teknik dalam penyarian yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Pembuatan serbuk bertujuan untuk memperluas permukaan partikel simplisia yang kontak dengan pelarut sehingga penyarian dapat berlangsung secara efektif dan pengayakan bertujuan untuk lebih memperkecil ukuran partikel menggunakan mash 40. Hasil rendemen ekstrak etanol 70% daun duwet dapat dilihat pada tabel 4 dan lampiran 10.

Tabel 4. Hasil rendemen ekstrak etanol 70% daun duwet

Bobot serbuk (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (%)
500	40,187	8,0374

E. Hasil pembuatan fraksi n-heksana, etil asetat dan air

Ekstrak yang sudah kental kemudian Fraksinasi untuk memisahkan senyawa dengan berbagai kepolaran untuk mengetahui senyawa yang bertanggung jawab dalam uji aktivitas anti inflamasi. Fraksinasi dilakukan dengan menggunakan tiga pelarut yang berbeda tingkat kepolarannya, yaitu n-heksana, etil asetat dan air. Hasil fraksinasi dan % rendemen dapat dilihat pada tabel 5. Perhitungan rendemen fraksinasi dapat dilihat pada lampiran 11.

Tabel 5. Hasil pembuatan fraksi daun duwet

	Berat (g)	Rata- rata hasil rendemen (%)	Total rendemen (%)
Fraksi n heksana	2,168	21,68	85,64
Fraksi etil asetat	3,17	31,7	
Fraksi air	3,226	32,26	

Tabel 5 menunjukkan bahwa hasil dari fraksi ekstrak 10 gram ekstrak etanol daun duwet didapatkan total rendemen sebanyak 85,64%. Rendemen yang banyak diperoleh dari fraksi air.

F. Hasil Identifikasi kandungan kimia

Pemeriksaan kandungan kimia fraksi teraktif dilakukan dengan metode KLT bertujuan untuk membuktikan kandungan kimia yang ada dalam fraksi sebagai fraksi teraktif secara spesifik. Hasil identifikasi kandungan kimia dapat di lihat pada tabel 6 dan lampiran 6.

Tabel 6. Hasil pemeriksaan kandungan kimia ekstrak dan fraksi daun duwet

No	Komponen kimia	Ekstrak	Fraksi n-heksana	Fraksi Etil Asetat	Fraksi Air	Penampakanoda	Warna positif
1	Steroid	+	+	+	-	<i>Lieberman burchard</i>	Ungu
2	Alkaloid	+	-	+	-	<i>Dragendrop</i>	Coklat/jingga
3	Flavonoid	+	+	+	+	Uap ammonia, Sitroborat	Ungu/biru
4	Saponin	+	+	+	+	Anisaldehyd	Ungu
		+	-	+	-	<i>Lieberman burchard</i>	Ungu/merah muda
5	Tanin	+	-	-	-	FeCl ₃	Hijau kehitaman

Keterangan :

*+ : Menunjukkan ada bercak

- : Menunjukkan tidak ada bercak

A : Pembanding

1. Stigmasterol
2. Kuinon
3. Quersertin
4. Gliserisin
5. Asam galat

B : Ekstrak Etanol 70 % Daun Duwet

C : Fraksi n-Heksana Ekstrak Daun Duwet

D : Fraksi Etil Asetat Ekstrak Daun Duwet

E : Fraksi Air Ekstrak Daun Duwet

Pada penelitian ini ekstrak etanol daun duwet positif mengandung steroid, flavonoid, saponin, alkaloid, dan tannin. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Kumar (2009) yaitu ekstrak daun duwet mengandung steroid, flavonoid, saponin dan tanin, alkaloid, asam amino, glikosida, *phytosterol*, terpenoid. Hasil Identifikasi fraksi n-heksana menunjukkan hasil positif pada steroid, flavonoid, dan saponin. Hal ini sesuai dengan penelitian Gafur (2011) yaitu mengandung steroid dan flavonoid. Fraksi etil asetat menunjukkan hasil positif steroid, alkaloid, flavonoid, dan saponin. Pada hasil penelitian Gafur (2011) hasil positif pada flavonoid, alkaloid, saponin dan terpenoid, steroid. Fraksi Air menunjukkan hasil positif flavonoid dan saponin. Hasil penelitian Gafur (2011) positif mengandung flavonoid, alkaloid, saponin.

Hasil positif pada steroid dengan menggunakan penyemprot *Libermen Bourcard* yang memiliki prinsip pelepasan H₂O dan pengabungan karbokation dimana akan terjadi resonansi dan akan membuat warna merah ungu (Siadi 2012) kemudian dipanaskan adanya perubahan warna ungu, biru pada plat KLT dan biasa berfloresensi. Berdasarkan penelitian sebelumnya dalam daun duwet antara lain β -sitosterol serta *eicosane*, *octacosane*, *octadecane* (Ramya 2012).

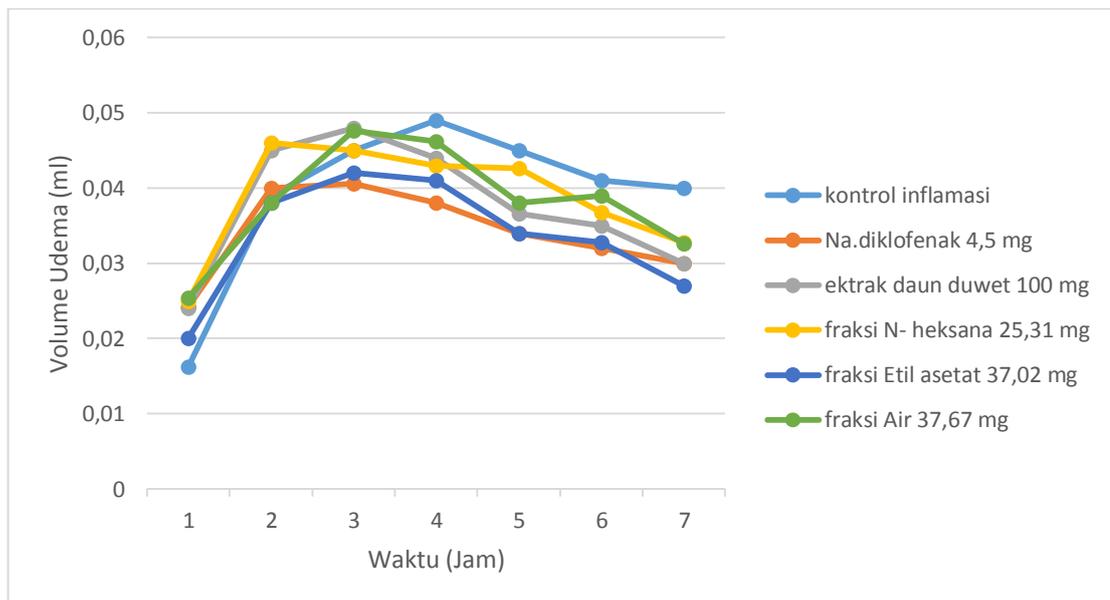
Hasil positif pada alkaloid dengan menggunakan penyemprot *Dragendrop* membentuk ikatan kovalen kordinasi dengan K⁺ sehingga membentuk warna coklat. Berdasarkan penelitian sebelumnya dengan ekstrak etil asetat menunjukan positif alkaloid (Kumar 2009).

Hasil positif pada saponin dengan menggunakan penyemprotan Anisaldehyd as.sulfat memiliki sifat yang destruktif sehingga dapat memecahkan senyawa pada KLT yang dapat dilihat dalam sinar tampak, kemudian dipanaskan dan terjadi perubahan warna kuning, biru, ungu pada plat KLT kemudian disemprot kembali dengan *Libermen Bourcard* kemudian dipanaskan adanya perubahan warna ungu, biru pada plat KLT dan biasa berfloresensi.

Hasil positif pada flavonoid berwarna kuning kemudian disemprot menggunakan Siroborat yang sangat spesifik pada flavonoid, kemudian dipanaskan adanya perubahan warna ungu gelap setelah disemprot akan memberikan kuning pada plat KLT dan biasa berfloresensi pada sinar UV 366.

G. Hasil uji Aktivitas Antiinflamasi

Pengujian aktivitas antiinflamasi dilakukan dengan metode edema pada kaki tikus dengan menggunakan λ - karagenan 1% sebanyak 0,1ml. pada pengujian menggunakan tikus putih jantan galur wistar dengan berat badan 180-200 g sebanyak 30 ekor tikus dengan menggunakan alat Pletismometer. Data yang diperoleh dari hasil pengamatan adalah volume telapak kaki, berikut merupakan grafik hasil uji efek antiinflamasi dengan metode induksi karagenan.



Gambar 9. Grafik hasil uji efek antiinflamasi dengan metode induksi karagenan

Tabel 7. Rata – rata selisih peningkatan volume udema

Kelompok perlakuan	Rata-rata selisih peningkatan volume udema(Jam) ± SD					
	T1(T1-T0)	T2(T2-T0)	T3(T3-T0)	T4(T4-T0)	T5(T5-T0)	T6(T6-T0)
Kontrol	0,0228± ^b	0,0288± ^b	0,0328± ^b	0,0288± ^b	0,248± ^b	0,0238± ^b
Inflamasi	0,0098	0,0075	0,0084	0,0092	0,0072	0,0056
Natrium Diklofenak	0,0158± ^a	0,0164± ^a	0,0138± ^a	0,0098± ^a	0,0078± ^a	0,0058± ^a
Ekstrak	0,045± ^{ab}	0,024±	0,02± ^a	0,0126± ^a	0,011± ^a	0,006± ^a
Fraksi n- Heksana	0,005	0,0022	3,00	0,0037	0,0041	0,0041
Fraksi Etil asetat	0,021±	0,02±	0,018± ^a	0,0176± ^a	0,0118± ^a	0,0078± ^a
Fraksi Air	0,002	0,0035	0,0027	0,005	0,0046	0,004
	0,018±	0,022±	0,021± ^a	0,014± ^a	0,0128±	0,007± ^a
	0,009	0,0115	0,0124	0,0108	0,011	0,0105
	0,0126± ^a	0,0222±	0,0208± ^a	0,0126± ^a	0,0136± ^a	0,0072± ^a
	0,00814	0,0105	0,0098	0,0104	0,0087	0,0073

*a : Berbeda bermakna dengan kontrol inflamasi

b : Berbeda bermakna dengan kontrol pembanding (natrium diklofenak)

Pada perlakuan ditabel 7 dan gambar 8 kontrol inflamasi memberikan data berupa pembengkakan pada kaki tikus pada jam 1, 2, 3, 4 dibandingkan dengan kontrol pembanding dan perlakuan ekstrak dan fraksi-fraksi. Karagenan digunakan untuk memberikan kenaikan pada volume udem pada tikus, volume udem meningkat pada kontrol negatif menunjukkan bahwa karagenan memberi efek inflamasi pada tikus sehingga terjadi sangatlah lambat ditunjukkan oleh keadaan bengkak terjadi karena karagenan yang memberikan efek. Suspensi Na.CMC tidak memiliki efek samping penurunan karena hanya digunakan sebagai *suspending agent* untuk mendispersikan ekstrak dan fraksi.

Karagenan menurut (Morris 2003) memiliki mekanisme kerja melalui 3 fase inflamasi. Pertama dengan cara melepaskan serotonin dan histamin dari sel mast dan menyebabkan kenaikan permeabilitas vascular, fase kedua dengan cara pelepasan bradikinin yaitu respon nyeri dan yang terakhir dengan cara pelepasan eikosanoid seperti prostaglandin (PG), terutama prostaglandin E₂ (PGE₂) digunakan untuk merespon inflamasi dan demam.

Jam ke 2 kelompok pembanding natrium diklofenak, berbeda bermakna dengan kontrol negatif, artinya kelompok perlakuan mulai memberikan efek karena natrium diklofenak menunjukkan memiliki daya hambat udem dimulai pada jam ke 1. Hal ini disebabkan oleh natrium diklofenak yang bekerja dengan menghambat respon inflamasi pada fase akhir sehingga menghambat kerja enzim COX yang memproduksi prostaglandin (Semiawan *et al.* 2001) Sedangkan kelompok fraksi-fraksi belum memberikan efek

Jam ke 3,4,5,6 kelompok ekstrak dan fraksi-fraksi sebanding dengan kelompok kontrol inflamasi. Hal ini diduga disebabkan oleh mekanisme kerja ekstrak etanol daun duwet yang hampir sama seperti kontrol pembanding natrium diklofenak dengan menghambat biosintesis prostaglandin pada respon inflamasi (Dewi 2018).

Pada pemberian fraksi n-heksana daun duwet mengandung senyawa non polar seperti steroid yang memiliki mekanisme kerja seperti dexametason yang

menghambat enzim phospholipase A₂ sehingga tidak terbentuk asam arakidonat berarti prostaglandin tidak terbentuk pula (Suherman 2007). Pada pemberian fraksi etil asetat daun duwetn senyawa yang terkandung dalam semi polar seperti flavonoid dan alkaloid, dimana mekanisme kerja flavonoid menghambat aktivitas enzim COX dan lipooksigenase (Handayani 2018).

Pada pemberian fraksi air mengandung senyawa yang polar seperti tanin dan saponin, dimana saponin memiliki efek menghambat eksudat dan memberikan kenaikan permeabilitas serta tanin membentuk kompleks dengan protein. Fraksi mengalami perbedaan penurunan udem diduga karena sifat senyawa yang lipofilik dan hidrofilik yang terdapat pada fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air. Menurut (Kurniasih *et al.* 2014) senyawa non polar mudah larut dalam lemak (lipofilik) dengan pelarut non polar seperti n-heksana sedangkan senyawa polar mudah larut dalam air (hidrofilik) dengan pelarut polar seperti air sifat kelarutan senyawa juga dipengaruhi oleh dipol-dipol sehingga jika dipolnya besar maka akan menarik senyawa yang besar hingga sedang. Sedangkan senyawa non polar dan polar dengan pelarut semi polar seperti etil asetat sehingga mampu menembus lapisan peptidoglikan yang bersifat semipolar (Nuria 2014). Data penurunan volume edema digunakan untuk menghitung data AUC (*Area Under Curva*). Hasil perhitungan dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Hasil perhitungan rata-rata AUC

Kelompok perlakuan	Rata-rata AUC ± SD
Kontrol Inflamasi	0,1569± ^b 0,0343
Natrium Diklofenak	0,0665± ^a 0,0118
Ekstrak	0,1156± ^b 0,0071
Fraksi n- Heksana	0,0923± ^{ab} 0,0167
Fraksi Etil asetat	0,0913± 0,0523
Fraksi Air	0,0854± 0,0444

*a : Berbeda bermakna dengan kontrol inflamasi

b : Berbeda bermakna dengan kontrol pembanding (natrium diklofenak)

Dari data perhitungan AUC kemudian diujikan secara statistik untuk mengetahui adanya perbedaan secara nyata pada kelompok perlakuan. Berdasarkan uji Kolmogorov-Smirnov dan Shapiro-Wilk diperoleh nilai sig > 0,05

artinya data tidak berbeda secara rata-rata AUC maka terdistribusi normal. Selanjutnya pengujian homogenitas diperoleh nilai probabilitas lavene statistik adalah $0,025 < 0,05$ maka data keenam perlakuan sampel mempunyai varian yang berbeda maka tidak homogen. Berdasarkan uji analisis harus normal dan homogen maka salah satunya tidak sesuai uji dengan non parametrik menggunakan Mann-whitney.

Pengujian Mann-whitney (uji data dua sampel yang tidak berhubungan) adalah pengujian kemaknaan perbedaan dua sampel yang tidak berhubungan dengan bersekala ordinal. Jika H_0 diterima berarti mean AUC yang dibuat dengan metode standar sama tetapi jika H_0 ditolak berarti mean AUC yang dibuat dengan metode standar tidak.

Dari data AUC yang diperoleh digunakan untuk menghitung % daya antiinflamasi (% DAI) semakin kecil nilai AUC maka semakin baik hasil DAI. DAI dihitung untuk mengetahui seberapa besar kemampuan tiap kontrol perlakuan sediaan uji dalam menghambat edema pada kaki tikus yang diinduksi karagenan 1%. Hasil perhitungan dapat dilihat pada tabel 9

Tabel 9. Hasil % daya antiinflamasi

Kelompok perlakuan	% DAI \pm SD
Kontrol Inflamasi	-
Natrium Diklofenak	56,33 \pm 10,61
Ekstrak	23,02 \pm 19,15
Fraksi n- Heksana	35,07 \pm 23,85
Fraksi Etil asetat	43,64 \pm 31,45
Fraksi Air	41,75 \pm 38,28

Berdasarkan % daya antiinflamasi pada penelitian sebelumnya Na. diklofenak sebagai kontrol positif dengan dosis 0,050% atau 50 mg memiliki daya antiinflamasi 42,33 % (Dewi 2018). Dalam penelitian ini menunjukkan 56,33% dengan dosis 4,5mg/kgBB. Perbedaan ini terjadi karena efek farmakologi dari kemurnian dan dosis yang digunakan serta kadar obat dalam darah (BPOM 2011)

Hasil penelitian pada tabel 9 rata-rata % daya antiinflamasi (DAI) tertinggi menunjukkan oleh kelompok natrium diklofenak. Hal ini diduga karena terbukti natrium diklofenak secara kelinik memiliki daya antiinflamasi.

Hasil DAI fraksi etil asetat memiliki kandungan senyawa aktif yang lebih banyak dan jumlah yang terabsorpsi akan banyak pula sehingga memberikan efek lebih baik dari ekstrak dan fraksi-fraksi yang lain. Berdasarkan hasil identifikasi senyawa kimia dengan metode KLT terbukti bahwa ekstrak etanol daun duwet dan fraksi- fraksinya mengandung senyawa steroid, alkaloid, flavonoid dan saponin hal ini sesuai dengan penelitian (Roy 2011).

Daun duwet memiliki kandungan kuersetin dapat dilihat dari KLT yang ikut tertarik oleh fase gerak dan membentuk spot bercak. Kuerserin merupakan suatu aglikon flavonoid yang memiliki gugus polifenol dan merupakan golongan flavonol (Handayani 2018). Mekanisme kerja kuesetin ialah menghambat aktivitas COX1 dan COX2 dengan cara menurunkan pembentukan dari rangsangan Inflamasi (Simanjuntak 2012). Saponin diduga mampu menghambat eksudat dan kenaikan permabilitas vaskuler serta diduga dapat berinteraksi dengan membran lipid karena bersifat basa seperti fosfolipid yang merupakan mediator prostaglandin (Fitriyani et al. 2011). Pada ekstrak etanol hampir semua senyawa terdeteksi oleh sinar tampak, sinar UV 254, sinar UV 366. Senyawa aktif dari ekstrak tersari oleh fraksi-fraksi. Tannin diduga dapat memiliki efek antiinflamasi dengan cara membentuk senyawa bebas ataupun kompleks dengan protein dan ada steroid yang memiliki adanya *β -sitosterol* yang berfungsi sebagai antiinflamasi yaitu salah satu senyawa atau zat yang berfungsi sebagai pelindung sel sekaligus dapat memperbaiki jaringan yang rusak akibat pengaruh zat trauma/ luka (Ramya 2012).