

BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1. Determinasi Bahan

Deteminasi dilakukan untuk memastikan kebenaran dari bahan yang digunakan untuk penelitian ini yaitu tanaman asam jawa (*Tamarindus indica* L.). Determinasi dilakukan di Hebarium Sekolah Tinggi Hayati ITB. Hasil dari determinasi menunjukkan bahwa tanaman yang akan digunakan benar yaitu (*Tamarindus indica* L.) (**Lampiran 1**).

5.2. Ekstraksi

Pada penelitian ini menggunakan ekstraksi dengan cara dingin yaitu maserasi. Maserasi dilakukan terhadap 1000 gr serbuk simplisia buah dan daun asam jawa dengan menggunakan pelarut etanol 95%. Etanol dipilih sebagai pelarut universal karena dapat melarutkan hampir semua metabolit sekunder yang terkandung dalam simplisia. Maserasi dilakukan selama 3 hari, dengan remaserasi setiap 24 jam pergantian pelarut untuk mencegah terjadinya penjuhan pelarut sehingga senyawa yang tertarik pada saat ekstraksi lebih maksimal. Selanjutnya maserat yang diperoleh dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40⁰C supaya komponen di dalamnya tidak rusak terutama komponen yang kurang stabil terhadap suhu tinggi. Ekstrak pekat yang diperoleh kemudian diuapkan di atas *water bath* sampai kental. Rendeman kental yang didapat pada buah sebanyak 37,94% dan daun sebanyak 19,4% (**Lampiran 2**).

5.3. Penetapan Kadar Air

Penetapan kadar air diperlukan untuk melihat jumlah air dalam simplisia, kelebihan jumlah air dalam simplisia akan mempercepat pertumbuhan mikroba, jamur atau serangga dan pembusukan sehingga adanya pembatasan kadar air tidak boleh lebih dari 10%. Penetapan kadar air menggunakan metode azeotrop dimana pada metode ini lebih mudah. Pengujian kadar air dilakukan secara duplo dimana yang diperoleh pada buah 3.8% sedangkan pada daun 3,2% sehingga memenuhi standar simplisia.

5.4. Hasil Penapisan Fitokimia

Tabel V.1 Hasil Penapisan Fitokimia

Golongan Senyawa	Buah		Daun	
	Simplisia	Ekstrak	Simplisia	Ekstrak
Alkaloid	√	√	√	√
Flavonoid	√	√	√	√
Saponin	√	√	√	√
Kuinon	√	√	√	√
Polifenolat	√	√	√	√
Tanin	√	√	√	√
Monoterpen & Sesquiterpen	√	√	√	√
Triterpenoid	-	-	-	-
Steroid	√	√	√	√

(√): terdeteksi (-): tidak terdeteksi

Penapisan fitokimia atau skринning fitokimia merupakan tahap awal dalam mengidentifikasi golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam buah dan daun asam jawa *Tamarindus indica* (L.). Buah asam jawa mengandung senyawa alkaloid, saponin, glikosida, flavonoid dan tannin (Suralkar *et al*, 2012). Daun asam jawa memiliki kandungan senyawa kimia yaitu tannin, saponin, steroid, karbohidrat, flavonoid (Singh *et al*, 2012). Hasil dari penapisan fitokimia

simplisia dan ekstrak dapat dilihat pada **Tabel V.1** buah asam jawa dan daun asam jawa, menunjukkan hasil yang sama dengan pustaka diatas tetapi pada penapisan fitokimia yang dilakukan ada beberapa senyawa yang terdeteksi. Senyawa yang terdeteksi dikarenakan tempat tumbuh tanaman yang berbeda dan pengaruh cuaca sehingga dapat mempengaruhi senyawa yang terdeteksi. Dari hasil penapisan ekstrak yang diperoleh menunjukkan bahwa senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam simplisia buah dan daun asam jawa terekstraksi dengan baik oleh pelarut etanol 95%. Selain itu dengan metode maserasi tidak menyebabkan kerusakan pada senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam simplisia sehingga hasil penapisan fitokimia antara simplisia dan ekstrak tetap sama.

5.5. Pembuatan Induktor Karagenan 1%

Pembuatan induktor karagenan menggunakan karagenan lambda 1% dilarutkan didalam NaCl 0,9%. Tujuan menggunakan NaCl 0,9% fisiologis sebagai pelarut agar larutan yang digunakan sama dengan cairan tubuh tikus sehingga keberhasilan pembentukan udem lebih baik. Setelah dilarutkan karagenan diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam. Tujuan dari inkubasi pada suhu 37⁰C agar karagenan yang digunakan sama dengan suhu tubuh sehingga pada saat injeksi dapat diterima dengan baik oleh tubuh.

5.6. Uji Aktivitas Antiinflamasi

Pada penelitian ini metode yang digunakan dalam pengujian aktivitas antiinflamasi adalah pembentukan udem buatan pada telapak kaki tikus dengan menggunakan karagenan sebagai induktor udem yang disuntikan secara

intaplantar, selanjutnya telapak kaki tikus dicelupkan kedalam plestimometer (**Lampiran 3**). Metode ini dipilih karena salah metode pengujian aktivitas antiinflamasi yang sederhana, mudah dilakukan dan sering dipakai.

Hewan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus jantan wistar dengan umur 2-3 bulan dan bobot badan 200-250 gram. Pemilihan jenis kelamin jantan didasarkan pada pertimbangan tikus jantan tidak memiliki hormon estrogen, walaupun ada hanya dalam jumlah relatif sedikit serta kondisi hormonal pada jantan relatif stabil jika dibandingkan dengan betina, karena pada tikus betina mengalami perubahan hormonal pada masa-masa tertentu seperti masa siklus estrus, masa kehamilan dan menyusui dimana kondisi tersebut dapat mempengaruhi kondisi psikologis hewan uji tersebut. Selain itu tingkat stress tikus betina lebih tinggi dibandingkan dengan tikus jantan yang mungkin dapat mengganggu saat pengujian (Suhendi, *et al.*, 2011).

Pada pengujian aktivitas antiinflamasi ini dilakukan dua uji, yaitu uji pendahuluan dan uji utama. Uji pendahuluan dimaksudkan untuk menentukan waktu efektif pengamatan dan menentukan aktivitas dosis induktor karagenan 1% yang digunakan dalam pembentukan udem (radang) pada telapak kaki tikus dibandingkan dengan dosis larutan NaCl 0,9%.

Uji pendahuluan dilakukan dengan cara menyuntikan 0,1 mL dan 0,2 mL karagenan 1% dan NaCl 0,9% 0,1mL secara intraplantar pada telapak kaki tikus, udem yang ditimbulkan dari induksi karagenan dapat sembuh dengan sendirinya oleh homeostatis tubuh.

Dilihat dari data statistik ANOVA karagenan 0,2 mL signifikan ($P < 0,05$) dibandingkan karagenan 0,1 mL tidak signifikan ($P > 0,05$) dapat dilihat pada (**lampiran 4**). Induksi karagenan 1% 0,2 mL dapat menyebabkan udem lebih lama dibandingkan terhadap kontrol negatif yang diberi NaCl 0,9%. Inflamasi yang diinduksi oleh karagenan ditandai dengan peningkatan rasa sakit, pembengkakan dan sintesis prostaglandin hingga 4-5 kali (Tsokos, 2002).

Pada proses pembentukan udem, karagenan akan menginduksi cedera sel dengan dilepaskannya mediator yang mengawali proses inflamasi. Udem yang disebabkan induksi karagenan dapat bertahan selama 6 jam dan berangsur-angsur berkurang dalam waktu 24 jam. Udem yang disebabkan oleh injeksi karagenan diperkuat oleh mediator inflamasi terutama PGE1 dan PGE2 dengan cara menurunkan permeabilitas vaskuler. Apabila permeabilitas vaskuler turun maka protein-protein plasma dapat menuju ke jaringan yang luka sehingga terjadi udem (Corsini *et al*, 2005).

Sehingga pada penelitian ini digunakan suspensi karagenan lambda 1% 0,2 mL pada telapak kaki tikus. Karena volume udem yang terbentuk pada telapak kaki tikus lebih terlihat.

Sebelum dilakukan pengolahan data secara statistik dengan ANOVA, dilakukan penentuan distribusi data tersebut. Pengolahan data menggunakan uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* dan *Shapiro-Wilk* (**Lampiran 5**) (Made C.I, 2003). Hasil yang diperoleh nilai $p > 0,05$ maka sampel terdistribusi normal dengan hasil tersebut dilakukan pengolahan data secara statistik dengan metode ANOVA.

Untuk melihat keberhasilan induksi karagenan dilakukan uji statistik menggunakan T test. Membandingkan volume rata-rata kaki tikus dilakukan pada T0 dengan T3. Hasil dari seluruh kelompok menunjukkan adanya perbedaan bermakna volume rata-rata kaki tikus pada waktu sebelum induksi (T0) dengan waktu 3 jam setelah induksi (T3) dengan nilai ($P < 0.05$). (Lampiran 6).

Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis variansi (ANOVA) menggunakan bantuan SPSS versi 18. Untuk melihat perbedaan antar kelompok bebas dilakukan uji LSD dapat dilihat pada (Lampiran 7). Uji LSD bertujuan untuk melihat ada tidaknya perbedaan pengaruh antara kelompok kontrol positif terhadap kelompok yang diberikan sediaan oral ekstrak buah, daun, dan kombinasi asam jawa.

Hasil pengamatan rata-rata volume udem dan signifikan antar kelompok control dan sediaan uji dapat dilihat pada **Tabel V.2**.

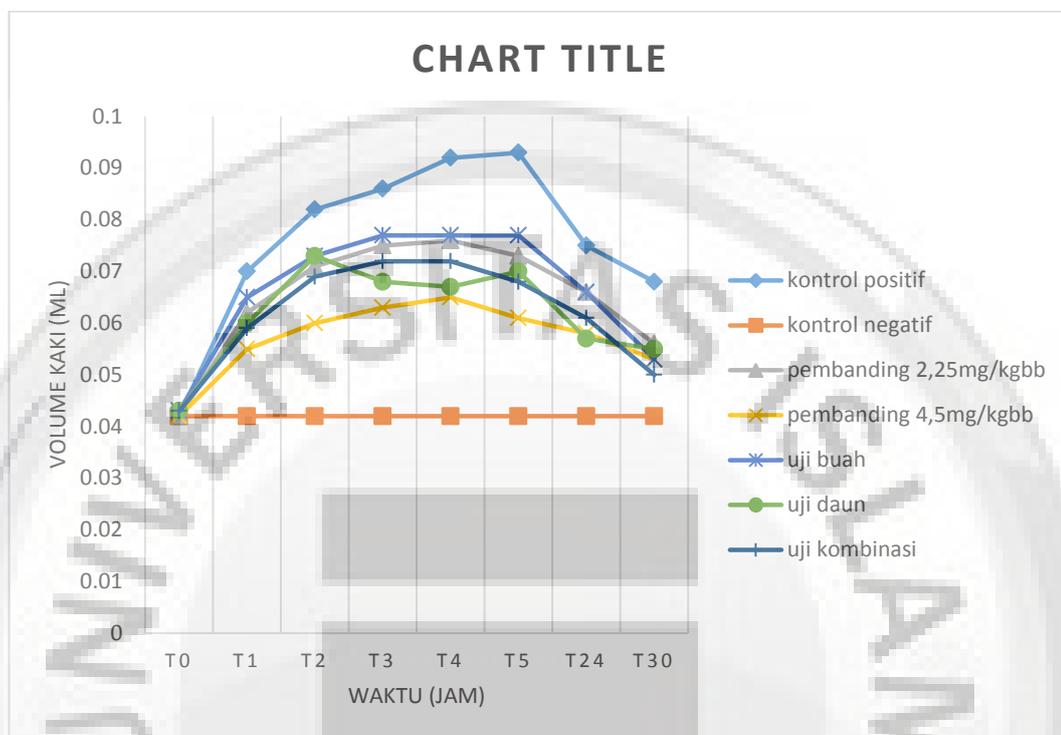
Tabel V.2 Hasil Rata-Rata Volume udem Kelompok dan Sediaan Uji

Waktu (Jam)	Volume Udem (mL) ± Standar Deviasi												
	Kontrol (+)	Kontrol (-)	P	Na Diklofenak 2,25mg/kgbb	P	Na Diklofenak 4,5mg/kgbb	P	Uji Buah	P	Uji Daun	P	Uji Kombinasi	P
0	0.04±0.01	0.04±0.01	1	0.04±0.00	1	0.04±0.00	1	0.04±0.01	0.519	0.04±0.00	0.519	0.04±0.00	0.747
1	0.07±0.01	0.04±0.01	0.000*	0.06±0.01	0.051	0.06±0.01	0.001*	0.06±0.01	0.166	0.06±0.01	0.021*	0.06±0.00	0.021*
2	0.08±0.01	0.04±0.01	0.000*	0.06±0.01	0.003*	0.06±0.01	0.000*	0.07±0.01	0.091	0.07±0.01	0.079	0.07±0.01	0.007
3	0.09±0.01	0.04±0.01	0.000*	0.08±0.01	0.049*	0.06±0.01	0.000*	0.08±0.02	0.104	0.07±0.01	0.003*	0.07±0.01	0.014*
4	0.09±0.01	0.04±0.01	0.000*	0.08±0.01	0.008*	0.07±0.01	0.000*	0.08±0.01	0.012*	0.07±0.01	0.000*	0.07±0.10	0.001*
5	0.09±0.01	0.04±0.01	0.000*	0.07±0.01	0.006*	0.06±0.01	0.000*	0.08±0.01	0.032*	0.07±0.01	0.002*	0.07±0.02	0.001*
24	0.07±0.04	0.04±0.05	0.000*	0.07±0.01	0.079*	0.06±0.01	0.002*	0.06±0.09	0.079	0.06±0.01	0.001*	0.06±0.01	0.008*
30	0.07±0.01	0.04±0.01	0.000*	0.07±0.01	0.014*	0.05±0.01	0.002*	0.05±0.01	0.003*	0.06±0.01	0.007*	0.05±0.01	0.000*

Semua nilai menunjukkan volume kaki rata-rata ± standar deviasi

* $p < 0.05$, menandakan bahwa ada perbedaan bermakna antar kelompok dengan kelompok kontrol (+) (ANOVA, uji lanjutan LSD)

Gambar V.1. Grafik Uji aktivitas antiinflamasi volume bengkak pada telapak kaki tikus



Dilihat dari **Tabel V.3** pada T0 antar kelompok kontrol positif dengan sediaan uji dan pembanding terlihat tidak ada perbedaan bermakna dimana ($P > 0.05$). Ketidak bermaknaan disebabkan karena belum terjadinya pembentukan udem. Pada T1 dan seterusnya terdapat perbedaan bermakna antar kelompok kontrol positif dengan semua kelompok. Hal ini menunjukkan bahwa sediaan uji mempunyai efek antiinflamasi sehingga dapat menurunkan besarnya volume udem kaki tikus yang diakibatkan karena pemberian karagenan 1% 0,2 mL secara intraplantar.

Pada pembanding natrium diklofenak 4,5mg/kgBB dibandingkan dengan kontrol positif telah menunjukkan penurunan udem pada T1, dilihat dari

perbedaan bermakna hasil LSD. Sedangkan pada natrium diklofenak 2,25mg/kgBB menunjukkan penurunan udem pada jam T2. Sehingga dapat dikatakan natrium diklofenak 4,5mg/kgBB memberikan aktivitas lebih cepat dalam penurunan udem dikarenakan perbedaan konsentrasi dosis berpengaruh pada efek farmakologis yang ditimbulkan semakin besar dosis akan semakin cepat efek yang ditimbulkan.

Pada uji buah data signifikan pada T4 ($P < 0,05$) sedangkan pada uji daun dan uji kombinasi, telah signifikan pada T1 ($P < 0,05$) artinya pada jam tersebut telah menunjukkan adanya penurunan udem. Perbedaan waktu signifikan dapat dipengaruhi oleh dosis yang berbeda dimana pada uji daun menggunakan dosis 1000mg/kgBB dan pada buah 400mg/kgBB sedangkan pada kombinasi menggunakan setengah dari masing-masing dosis tunggal. Dari ketiga sediaan uji sama-sama memberikan aktivitas antiinflamasi. Senyawa yang diduga berkhasiat dalam menurunkan udem atau inflamasi yaitu flavonoid, dimana mekanisme dari flavonoid adalah menghambat terjadinya radang melalui dua cara yaitu menghambat asam arakhidonat dan sekresi enzim lisosom dari endothelial sehingga menghambat proliferasi dan eksudasi dari proses radang (Hidayati N.A., 2008)

Pada **grafik V.1** pembanding natrium diklofenak 4,5mg/kgBB bekerja lebih cepat dibandingkan dengan sediaan uji dan pembanding natrium diklofenak 2,25mg/kgBB. Penurunan udem terjadi mulai T4 dan terus menerus menurun dengan cepat dibandingkan kontrol positif dan sediaan uji. Pada uji daun penurunan udem terjadi mulai T2, sedangkan dari T3 dan T4 tidak terjadi

perubahan dan naik kembali secara perlahan pada T4 selanjutnya turun kembali secara perlahan tanpa ada kenaikan kembali. Sedangkan pada uji kombinasi jam T3 dan T4 tidak terjadi kenaikan volume udem dan mulai mengalami penurunan udem pada T4. Pada uji buah T3 sampai T5 tidak terjadi perubahan dan turun secara perlahan pada T5 tanpa ada kenaikan. Dari **grafik V.1** menunjukkan bahwa ketiga uji ekstrak asam jawa *Tamarindus indica* Linn., mampu menghambat pembentukan udem.

Aktivitas antiinflamasi ditunjukkan oleh kemampuannya mengurangi edema yang diinduksi pada telapak kaki hewan percobaan. Presentase radang yang terjadi diukur dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ radang} = \frac{V_t - V_0}{V_0} \times 100 \%$$

Keterangan :

V_t = Volume telapak kaki pada waktu t

V_0 = Volume telapak kaki pada waktu o

Efek anti-inflamasi dievaluasi berdasarkan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ Inhibisi radang} = \frac{A - B}{B} \times 100 \%$$

Keterangan :

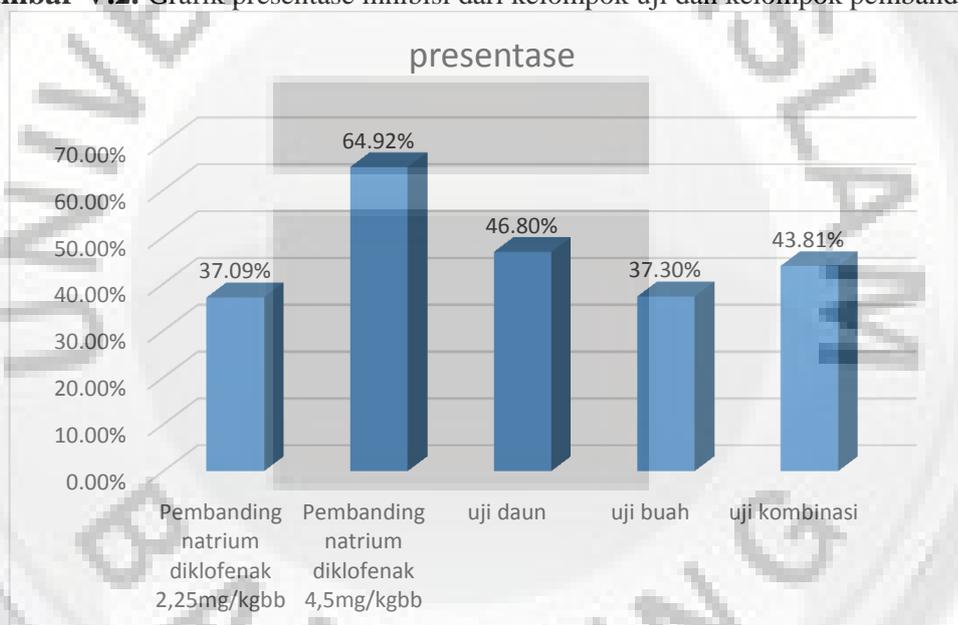
A = persen radang rata -rata kelompok kontrol

B = persen radang rata -rata kelompok zat uji (Sebiantoro,2010 :3)

Tabel V.3 Persentase radang rata-rata dari kelompok kontrol positif, uji dan pembanding

Kelompok	T1	T2	T3	T4	T5	T24	T30
Kontrol Positif	69.26%	96.67%	106.85%	120.60%	122.75%	81.76%	57.58%
Pembanding Na 2,25mg/kgBB	43.68%	55%	79%	77.22%	69.72%	54.44%	33.75%
Pembanding Na 4,5mg/kgBB	27.50%	38.21%	44.29%	55.83%	49.17%	34.58%	22.92%
Uji Buah	48.72%	71.14%	73.50%	78.30%	79.40%	52.24%	15.67%
Uji Daun	32.81%	69.40%	66.67%	64.82%	61.11%	32.69%	27.27%
Uji Kombinasi	44.24%	61.14%	70.83%	70.83%	63.95%	44.24%	20.13%

Gambar V.2. Grafik presentase inhibisi dari kelompok uji dan kelompok pembanding.



Dari **Tabel V.3** menunjukkan persen rata-rata radang, pada persen rata-rata radang kontrol positif menunjukkan nilai persen rata-rata radang lebih dari 30% sehingga induksi pembentukan radang berhasil. Dimana pada uji buah persen rata-rata radang lebih besar dibandingkan kelompok pembanding natrium diklofenak, uji daun dan uji kombinasi. Berdasarkan urutan persen rata-rata radang terbesar yaitu uji buah, pembanding natrium diklofenak 2,25mg/kgBB, uji

kombinasi, uji daun dan pemabanding natrium diklofenak 4,5mg/kgBB. Artinya semakin besar persen radang rata-rata semakin besar udem yang terbentuk.

Persen inhibisi rata-rata radang menunjukkan kemampuan dari setiap kelompok dalam menghambat radang yang ditimbulkan akibat proses inflamasi. Dapat dilihat pada **grafik V.2**, pada uji daun dosis 1000 mg/kgBB persen inhibisi radang rata-rata sebesar 46,80%. Pada uji buah 400 mg/kgBB persen inhibisi radang rata-rata sebesar 37,3%. Uji kombinasi menggunakan (dosis daun 500 mg/kgBB dan buah 200 mg/kgBB) persen inhibisi radang rata-rata sebesar 43,81%. Selanjutnya pada pemabanding natrium diklofenak 2,25mg/kgBB persen radang rata-rata sebesar 37,09% dan pemabanding natrium diklofenak 4,5mg/kgBB persen radang rata-rata sebesar 64,92%.

Berdasarkan hasil perhitungan persen inhibisi menunjukkan bahwa dosis kombinasi lebih baik dari dosis buah. Sedangkan dosis kombinasi dibandingkan dengan dosis daun menunjukkan persen inhibisi tidak lebih baik. Sehingga dapat dikatakan bahwa ekstrak daun memiliki kemampuan antiinflamasi yang paling baik dalam penurunan udem.

Berdasarkan analisa LSD menunjukkan T3 dan seterusnya pada uji daun dan kombinasi dibandingkan natrium diklofenak 4,5mg/kgBB tidak ada perbedaan bermakna ($p>0,05$). Artinya pada uji ekstrak daun asam jawa dan kombinasi mempunyai efek farmakologis yang sama dalam menurunkan udem. Sedangkan dari persen inhibisi terhadap natrium diklofenak 4,5mg/kgBB menunjukkan bahwa uji daun dan kombinasi memiliki persentase lebih kecil dalam menghambat pembentukan udem.