

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1. Penyiapan Bahan

Bahan segar daun api-api yang diperoleh dari daerah Teritip, Kecamatan Balikpapan Timur, Kota Balikpapan, Kalimantan Timur dideterminasi di Herbarium Bandungense Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung. Dari hasil determinasi menyatakan bahwa tumbuhan tersebut adalah *Avicennia marina* (Forks.) Vierh. dengan nama umum daun api-api. Hasil determinasi dapat dilihat pada **Lampiran 1** dan surat izin penelitian mengenai daun api-api dapat dilihat pada **Lampiran 2**.

5.2. Pembuatan Simplisia

Sebanyak 5,750 kg daun api-api dibersihkan terlebih dahulu dengan dicuci menggunakan air bersih yang mengalir untuk menghilangkan kotoran dan serangga yang menempel pada daun. Setelah dicuci bersih, daun ditiriskan untuk membebaskan air cucian. Kemudian bahan di keringkan dengan cara diangin-anginkan. Bahan yang telah kering ditimbang diperoleh 3,1 kg simplisia kering kemudian disimpan di dalam wadah kedap udara dan terlindung dari cahaya matahari.

5.3. Pemeriksaan Makroskopik

Pemeriksaan makroskopik merupakan bagian dari pengujian kebenaran bahan. Pemeriksaan makroskopik meliputi panjang, lebar, bentuk, letak, dasar, ujung daun. Hasil pengamatan makroskopik yang dilakukan menunjukkan daun

tunggal, letak daun dekusatus, bentuk daun bulat telur, dasar daun tumpul dengan ujung daun yang runcing, tepi daun rata dengan urat daun menyirip. Setelah itu dilakukan pengukuran pada panjang daun dan lebar daun. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa rata-rata ukuran daun adalah sekitar 5,6-7,2 cm, lebar daun sekitar 3,5-4,4 cm. Hal ini menunjukkan bahwa hasil makroskopik daun api-api sesuai dengan pustaka menurut Chua (1998 : 93) dan Kitamura dkk. (2003 : 28). Hasil pengamatan dapat dilihat pada **Lampiran 3 gambar I dan tabel I.**

5.4. Pemeriksaan Mikroskopik

Pemeriksaan mikroskopik dilakukan menggunakan dua sampel yaitu sampel daun segar dan sampel simplisia serbuk. Pada daun segar dilakukan sayatan melintang daun segar. Bagian-bagian yang terlihat adalah epidermis, jaringan tiang, rambut penutup yang mempunyai kepala, kelenjar garam, jaringan bunga karang sedangkan pada sayatan permukaan bagian bawah daun diperoleh stomata dengan tipe parasitik.

Pada simplisia serbuk diperoleh berkas pembuluh, epidermis dan rambut penutup tanpa kepala. Hal ini menunjukkan bahwa hasil mikroskopik daun api-api sesuai dengan pustaka menurut Tomlinson (1986:86, 124). Hasil pengamatan mikroskopik dapat dilihat pada **Lampiran 4.**

5.5. Parameter Standar Nonspesifik

Parameter non spesifik bertujuan untuk menentukan kualitas dari suatu simplisia yang akan digunakan dengan cara penetapan kadar air, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam dan susut pengeringan. Hasil pengamatan dapat dilihat dari **Tabel V.1.**

Tabel V.1 Hasil parameter non spesifik

Parameter	kadar (%b/b)
Kadar Air	2,740
Kadar Abu total	10,505
Kadar Abu Tidak Larut Asam	9,805
Susut Pengeringan	11,492

5.5.1. Parameter kadar air

Parameter kadar air merupakan pengukuran kandungan air yang berada di dalam bahan. Kadar air yang tinggi dalam simplisia akan mendorong pertumbuhan mikroba, pertumbuhan jamur atau serangga, dan kerusakan. Batas kadar air harus ditetapkan untuk setiap bahan herbal. Hal ini sangat penting untuk bahan yang mudah menyerap kelembaban atau membusuk dengan cepat oleh kandungan air (WHO, 2011 : 33-35). Hasil yang diperoleh untuk penetapan kadar air dari simplisia daun api-api yaitu 2,74 %, menunjukkan bahwa simplisia daun api-api yang digunakan memiliki kadar air yang rendah sesuai dengan persyaratan kurang dari 10%. Perhitungan dan tabel dapat dilihat pada **Lampiran 5**.

5.5.2. Parameter kadar abu

Penetapan kadar abu total menggambarkan kandungan mineral dan anorganik internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya simplisia. Prinsipnya yaitu pemanasan bahan pada suhu dimana senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap sehingga yang tertinggal adalah anorganik unsur mineral dan anorganik (Depkes RI, 2000:17). Dari hasil penetapan kadar abu total adalah sebesar 10,505 %. Perhitungan dan tabel dapat dilihat pada **Lampiran 6**.

Penetapan kadar abu tidak larut asam memberikan gambaran kandungan senyawa anorganik yang berasal dari luar tanaman seperti residu pestisida dan paparan polusi yang menempel pada simplisia. Hasil penetapan kadar abu tidak larut asam adalah sebesar 9,805 %, perhitungan dan tabel dapat dilihat pada **Lampiran 6**. Hasil parameter kadar abu total dengan kadar abu tidak larut asam menunjukkan kadar yang tidak terlalu jauh, hal ini menggambarkan bahwa dalam daun api-api memiliki kandungan senyawa anorganik dan mineral-mineral yang dipengaruhi oleh ekologi atau tempat tumbuhnya tumbuhan ini yang berada di pesisir pantai.

5.5.3. Parameter susut pengeringan

Parameter susut pengeringan merupakan pengukuran hasil sisa zat setelah pengeringan pada suhu 100-105°C selama 30 menit atau sampai berat konstan, yang dinyatakan sebagai nilai prosen. Tujuannya untuk memberikan batasan maksimal (rentang) tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan (Depkes RI, 2000 : 13 dan WHO, 2011 : 33). Dari hasil penetapan kadar susut pengeringan yang diperoleh adalah 11,492 %, perhitungan dan tabel dapat dilihat pada **Lampiran 7**.

5.6. Parameter Standar Spesifik

Parameter spesifik simplisia dilakukan dengan cara penetapan kadar sari larut etanol, kadar sari larut etanol dan pengujian organoleptik. Hasilnya dapat dilihat dalam **Tabel V.2**

Tabel V.2 Hasil parameter standar spesifik

Parameter	kadar (%b/b)
Kadar Sari Larut Air	11,125
Kadar Sari Larut Etanol	24,195

5.6.1. Kadar sari larut air

Kadar sari larut air merupakan gambaran atau perkiraan kandungan senyawa yang bersifat polar (larut air). Dari hasil penetapan kadar sari larut air pada simplisia daun api-api yang diperoleh adalah sebesar 11,125%. Perhitungan dan tabel dapat dilihat pada **Lampiran.8**.

5.6.2 Kadar sari larut etanol

Kadar sari larut etanol merupakan gambaran atau perkiraan kandungan senyawa aktif yang bersifat semipolar sampai nonpolar. Dari hasil penetapan kadar sari larut air pada simplisia daun api-api yang diperoleh adalah sebesar 24,195%. Perhitungan dan tabel dapat dilihat pada **Lampiran 8**.

5.6.3 Pengujian Organoleptik

Pengujian organoleptik yang dilakukan terhadap daun segar dan simplisia dari daun api-api dengan menggunakan pancaindera, dimana bahan dideskripsikan berdasarkan warna, bau dan rasa. Hasil pengamatan dapat dilihat pada **Tabel V.3**.

Tabel V.3 Hasil pengamatan pengujian organoleptik

Karakteristik	Pengamatan	
	Daun segar	Simplisia
Warna	hijau	coklat
Bau	tidak berbau	aromatis
Rasa	asin, kelat	asin

5.7. Parameter Standar Spesifik Ekstrak

Parameter spesifik untuk ekstrak dilakukan meliputi bobot jenis. Pengujian bobot jenis ini bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan kimia terlarut dan memberikan batasan tentang besarnya massa per satuan volume yang merupakan parameter khusus ekstrak cair sampai ekstrak pekat (kental) yang masih dapat dituang. Hasil pengujian bobot jenis pada daun api-api adalah 0,1597 g/g. Perhitungan dan tabel dapat dilihat pada **Lampiran 9**.

5.8. Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia dilakukan pada dua sampel yaitu simplisia dan ekstrak, hasilnya dapat dilihat pada **Tabel V.4**.

Tabel V.4 Hasil penapisan fitokimia pada simplisia dan ekstrak.

Golongan Senyawa	Identifikasi	
	Simplisia	Ekstrak
Alkaloid	(+)	(+)
Polifenolat	(+)	(+)
Flavonoid	(-)	(-)
Saponin	(-)	(-)
Kuinon	(-)	(-)
Tanin	(+)	(+)
Monoterpen dan Sesquiterpen	(+)	(+)
Triterpenoid dan Steroid	(-)	(+)

Keterangan: (-) : tidak terdeteksi (+) : terdeteksi

Pada tabel diatas menunjukkan hasil skrining fitokimia pada simplisia dan ekstrak menunjukkan adanya senyawa alkaloid, polifenolat, tanin, monoterpen dan sesquiterpen dan steroid namun hasil meunjukkan hal berbeda dengan pustaka, di pustaka menunjukkan bahwa daun api-api memiliki senyawa alkaloid,

flavonoid, terpenoid, fenol, saponin (Shanmugapriya dkk., 2012 : 349). Perbedaan hasil penapisan fitokimia mungkin dipengaruhi oleh tempat atau wilayah tumbuhnya dari pohon api-api tersebut.

5.9. Ekstraksi

Sebanyak 500 gram simplisia diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 95% selama 24 jam maserat pertama ditampung dan disaring, disimpan kemudian diganti dengan pelarut etanol 95% kembali. Langkah diulang hingga 3 kali pengulangan. Dari proses maserasi diperoleh ekstrak cair berwarna hijau lalu dipekatkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* dengan suhu $\pm 50^{\circ}$. Hasil pemekatan dihasilkan ekstrak kering berwarna hitam dengan berat 38,26 gram dan rendemen ekstrak sebesar 7,65%.

5.10. Fraksinasi dan Pemantauan fraksi

Metode yang digunakan untuk fraksinasi yaitu metode asam basa dengan cara sebanyak 25 gram ekstrak dilarutkan sedikit dengan n-heksan untuk memisahkan minyak yang terkandung dalam ekstrak dan membentuk dua lapisan yaitu lapisan atas dan bawah. Lapisan atas dibuang, lapisan bawah diambil lalu ditambahkan HCl 2N, tujuannya untuk membentuk garam alkaloid sehingga terbentuk larutan asam, kemudian ditambahkan etil asetat dan terbentuk dua lapisan yaitu lapisan asam dan lapisan etil asetat.

Lapisan asam dipisahkan dan ditambahkan amonium hidroksida untuk membentuk larutan basa bebas alkaloid kemudian ditambahkan etil asetat untuk menarik alkaloid sehingga terbentuk dua lapisan yaitu lapisan basa dan lapisan etil asetat. Lapisan etil asetat diambil dan dipekatkan menghasilkan fraksi yang pekat.

Fraksi yang pekat diteteskan pereaksi Dragendroff akan terbentuk endapan merah bata yang menunjukkan bahwa fraksi tersebut mengandung alkaloid (Titis dkk., 2013 : 197).

Fraksi yang diperoleh dari ekstraksi cair-cair (ECC) adalah sebesar 3,2332 gram dengan rendemen fraksi sebesar 12,92%. Selanjutnya dilakukan pemantauan kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan plat KLT GF₂₅₄ dengan cara mentotolkan fraksi alkaloid lalu dikembangkan menggunakan eluen kloroform : metanol dengan perbandingan 8,6 : 1,4. Setelah itu dilakukan pemantauan plat dibawah sinar UV 365, terlihat ada 3 spot yang terbentuk. Kemudian dilakukan penyemprotan terhadap plat menggunakan pereaksi Dragendroff dengan tujuan untuk mendeteksi alkaloid dengan penampak terbentuknya warna merah sampai kecoklatan. Pada plat terbentuk satu spot berwarna merah kecoklatan dengan rf 0,38 cm (**Gambar V.1**).

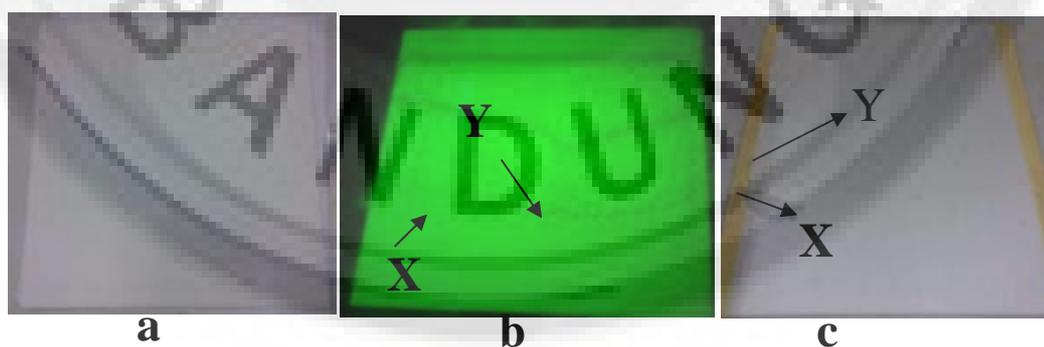
5.11. Pemurnian.

Pemurnian dilakukan menggunakan KLT-preparatif dengan ukuran plat 20×20 cm menggunakan fase diam silika GF₂₅₄ dan fase gerak kloroform : metanol (8,6 : 1,4). Hasil pemantauan KLT-preparatif kemudian dilakukan pemantauan dibawah sinar UV 254 dan terbentuk beberapa pita. Lalu dilakukan pemantauan dibawah sinar UV 365 terlihat beberapa pita yang berwarna biru. Selanjutnya dilakukan pemantauan menggunakan penampak bercak Dragendroff dengan cara memberi batas 1cm pada sisi kiri dan sisi kanan plat kemudian terbentuk dua pita berwarna coklat dengan nilai rf pita X 0,27 cm

dan R_f pita Y 0,38 cm (**Gambar V.2**). Pita yang positif dilakukan pengerokan dan dilarutkan dalam metanol dan diuapkan.



Gambar V.1 Hasil pemantauan kromatografi lapis tipis FD : silika gel GF₂₅₄, FG : Kloroform:metanol (8,6:1,4), (a) sebelum diberi penampak bercak, (b) penampak dibawah sinar UV 365, (c) setelah disemprot pereaksi Dragendroff.



Gambar V.2 Hasil pemantauan kromatografi preparatif FD : silika gel GF₂₅₄, FG : Kloroform:metanol (8,6:1,4), (a) sebelum diberi penampak bercak, (b) penampak dibawah sinar UV 254, (c) setelah disemprot pereaksi dragendroff

5.12. Uji kemurnian

Uji kemurnian isolat dilakukan dengan dua metode yaitu kromatografi lapis tipis pengembang tunggal (KLT pengembang tunggal) dan kromatografi lapis tipis dua dimensi (KLT dua dimensi).

5.12.1. KLT pengembang tunggal

Pertama-tama disiapkan hasil isolat X dan Y kemudian dilakukan uji kemurnian dengan 3 fase gerak yang berbeda mulai dari polar, non polar dan semi polar. Hasil dari fase gerak polar yaitu kloroform : metanol (1,4 : 8,6) terdapat satu spot tunggal pada isolat Y sedangkan pada pada isolat X tidak terbentuk spot (**Gambar V.3.a**). Untuk fase gerak non polar yaitu n-heksan : etil asetat (4:1) isolat Y memberikan satu spot berwarna biru sedangkan isolat X tidak terbentuk satu spot (**Gambar V.3.b**). Pada pengembang semi polar dilakukan dengan fase gerak kloroform : metanol (8,6 :1,4) terdapat satu spot tunggal pada isolat Y sedangkan pada pada isolat X tidak terbentuk spot (**Gambar V.3.c**).

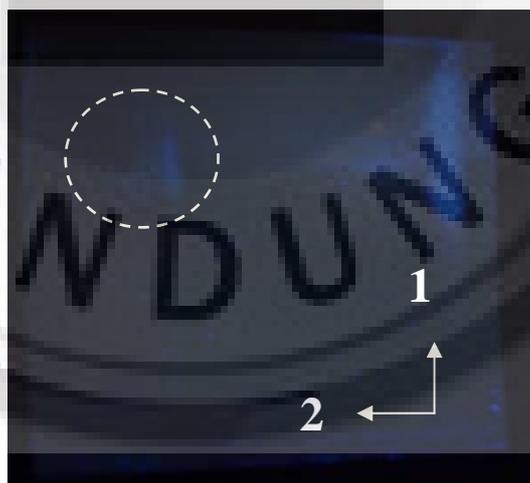
5.11.2. KLT dua dimensi

Salah satu uji kemurnian adalah uji kromatografi lapis tipis dua dimensi (KLT Dua dimensi). KLT dua dimensi dilakukan dengan menyiapkan plat dengan ukuran 10×10 cm lalu dielusi terlebih dahulu dengan fase gerak semi polar kemudian dikeringkan dan dilanjutkan ke fase gerak yang polar. Pengujian ini dilakukan menggunakan fase diam silica GF₂₅₄ dan fase gerak semi polar kloroform : metanol (8,6:1,4). Kemudian diputar 90°, dielusi kembali menggunakan fase gerak polar yaitu kloroform : metanol (1,4:8,6) lalu dikeringkan dan dilakukan pengamatan dibawah sinar UV 365 nm. Hasil

pengujian KLT dua dimensi memperlihatkan bahwa terbentuk satu spot pada plat yang digunakan (**Gambar V.4**).



Gambar V.3 Hasil pemantauan KLT pengembang tunggal FD : silika gel GF₂₅₄ penampak bercak sinar UV 365 nm, (a) fase gerak polar kloroform : metanol, (b) fase gerak non polar , (c) fase gerak semi polar kloroform : metanol.



Gambar V.4 Hasil pemantauan KLT dua dimensi dengan Fase diam silika GF₂₅₄, (1) fase gerak kloroform : metanol (1,4:8,6), (2) fase gerak kloroform : metanol (8,6 : 1,4).

5.13. Identifikasi Isolat Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

Isolat Y diidentifikasi menggunakan spektrofotometri UV-Vis dan dengan menentukan panjang gelombang maksimum isolat. Hasil identifikasi memperlihatkan pita serapan yang terbaca pada panjang gelombang 283 nm, maka senyawa tersebut mengandung ikatan rangkap terkonjugasi. Sehingga dapat diduga bahwa isolat Y adalah alkaloid yang memiliki panjang gelombang maksimum 283 nm dengan absorbansi 0,579. Hasil pengukuran dapat dilihat pada **Lampiran 10**.

5.14. Identifikasi Isolat Menggunakan Spektrofotometri FTIR.

Isolat Y diidentifikasi menggunakan spektrofotometri FTIR dengan membaca hasil daerah sidik jari. Hasil analisis spektrum daerah sidik jari dapat dilihat pada **Lampiran 11 gambar 1 dan tabel 1**. Dari hasil analisis spektrum dibandingkan dengan pustaka (Fessenden, 1986 : 79) dapat diketahui bahwa pada bilangan gelombang pada daerah 3000-3700 merupakan gugus fungsi N-H. Pada pola spektrum isolat Y terbaca pada bilangan gelombang $3392,96\text{ cm}^{-1}$, $3589,48\text{ cm}^{-1}$ dan $3674,01\text{ cm}^{-1}$, sehingga dapat diduga pada panjang gelombang tersebut merupakan gugus fungsi dari suatu alkaloid.