

## BAB V

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 5.1. Pengumpulan dan Determinasi Tanaman

Buah salak diperoleh dari Kampung Jambu, Sumedang. Buah salak di determinasi untuk mengetahui kebenaran identitas dari buah salak yang diperoleh. Hasil determinasi menyatakan bahwa benar buah salak yang diperoleh merupakan buah salak dengan nama latin *Salacca zalacca* (Gaertner.) Voss yang tercantum pada **(Lampiran 1)**.

#### 5.2. Penyiapan Simplisia Kulit Buah Salak

Penyiapan bahan dimulai dari pengumpulan buah salak yang diperoleh dari Kampung Jambu, Sumedang. Bahan disortir dan dicuci bertujuan untuk membersihkan bahan dari kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing yang tidak digunakan seperti tanah yang mengandung sejumlah mikroba, yang harus dibersihkan untuk mengurangi jumlah mikroba tersebut. Pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik yang dapat mencegah penurunan mutu atau kerusakan simplisia. Air merupakan media yang baik bagi pertumbuhan mikroorganisme seperti kapang dan jasad renik lainnya. Enzim di dalam sel masih dapat bekerja untuk menguraikan senyawa aktif walaupun setelah sel tersebut mati dan selama bahan simplisia mengandung sejumlah air. Pengeringan secara angin-angin bertujuan untuk mencegah

hilangnya senyawa kimia aktif yang mudah menguap dan bersifat termolabil yang diduga memiliki khasiat antihiperkolesterolemia terhadap sinar matahari.

### 5.3. Penapisan fitokimia

Penapisan fitokimia berguna dalam memberikan informasi mengenai senyawa kimia yang terdeteksi baik pada simplisia maupun pada ekstrak serta menjadi tahap awal untuk mengetahui potensi aktivitas biologinya. Hasil penapisan fitokimia dapat terlihat pada **Tabel V.1**.

**Tabel V.1** Hasil penapisan fitokimia simplisia dan ekstrak kulit buah salak

Golongan Senyawa	Identifikasi	
	Simplisia	Ekstrak
<b>Alkaloid</b>	+	+
<b>Polifenolat</b>	+	+
<b>Flavonoid</b>	+	+
<b>Saponin</b>	-	-
<b>Kuinon</b>	+	+
<b>Tanin</b>	+	+
<b>Monoterpen dan sesquiterpen</b>	-	-
<b>Triterpenoid dan steroid</b>	+	+

**Keterangan:**

(+) = Terdeteksi

(-) = Tidak Terdeteksi

Pada penelitian ini, penapisan fitokimia dilakukan pada simplisia maupun ekstrak kulit buah salak. Tujuan penapisan fitokimia pada ekstrak adalah untuk mendeteksi ada atau tidaknya senyawa kimia pada ekstrak setelah di ekstraksi.

Dari **Tabel V.1** diketahui bahwa pada simplisia dan ekstrak positif mengandung alkaloid, polifenolat, flavonoid, kuinon, tanin serta triterpenoid dan steroid. Menurut Honda *et al.* (2013) minyak flavonoid dapat menurunkan kolesterol hepatic dan kadar lipoprotein kolesterol plasma pada tikus diet tinggi lemak. Secara signifikan mampu menurunkan aktivitas sintesis enzim HMG-CoA

dan meningkatkan aktivitas kolesterol  $7\alpha$  hidroksilase. Menurut Afonso *et al.* (2013) bahwa senyawa fenolik dapat memperbaiki pertahanan antioksidan dalam jaringan yang berbeda dan mengurangi stres oksidatif pada tikus yang diinduksi diet hiperkolesterolemia. Pada senyawa tanin menunjukkan adanya aktivitas antioksidan yang sangat berperan dalam menurunkan lipid peroksida dalam pencegahan terjadinya hiperkolesterolemia, juga mengurangi kadar kolesterol total dan trigliserida.

#### 5.4. Pengujian Parameter Spesifik dan Non Spesifik

##### 5.4.1. Pengujian Parameter Spesifik

Pengujian kadar sari larut air dan larut etanol dilakukan untuk mengetahui jumlah kandungan senyawa kimia pada simplisia yang dapat tersari di dalam air maupun di dalam etanol 95%. Kedua pelarut tersebut memiliki perbedaan kepolaran. Air bersifat polar sedangkan etanol 95% bersifat non polar. Hasil pengujian kadar sari larut air dan larut etanol tercantum pada **Tabel V.2**.

**Tabel V.2** Hasil pengujian parameter spesifik

Pengujian parameter spesifik	Hasil
kadar sari larut air	14,1%
kadar sari larut etanol	3%

Berdasarkan **Tabel V.2** diatas jumlah kandungan senyawa kimia di dalam simplisia tersari lebih banyak di dalam air daripada di dalam etanol. Hal ini dimungkinkan bahwa kandungan senyawa kimia tersebut lebih banyak bersifat polar dan sedikit bersifat non polar.

#### 5.4.2. Pengujian Parameter Non Spesifik

Pengujian ini bertujuan untuk memastikan bahwa simplisia yang digunakan terjamin mutu, keamanan dan kualitasnya. Hasil pengujian parameter non spesifik tercantum pada **Tabel V.3**.

**Tabel V.3** Hasil pengujian parameter non spesifik

Pengujian parameter non spesifik	Hasil
kadar air	11,74%
kadar abu total	6,07%
kadar abu tidak larut asam	1,43%
kadar abu larut air	14,1%

Kadar air merupakan parameter untuk mengetahui besarnya kandungan air pada simplisia. Hal ini terkait dengan kemurnian dan kontaminasi bahan simplisia. Kadar air yang minimal memungkinkan simplisia dapat disimpan lebih lama karena air bisa menyebabkan reaksi enzimatik serta media yang baik bagi pertumbuhan mikroorganisme. Hasil pengujian kadar air yang diperoleh tidak memenuhi syarat yang ditentukan oleh Materia Medika Indonesia yaitu  $< 10\%$ . Hal ini bisa dikarenakan waktu pengeringan simplisia yang kurang lama.

Kadar abu total bertujuan untuk mengetahui gambaran kandungan mineral internal dan eksternal (cemaran) yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak. Mineral yang terkandung dapat berupa garam-garam organik seperti garam-garam asam malat, oksalat, asetat, pektat dan garam anorganik seperti garam fosfat, karbonat, klorida, sulfat, dan nitrat (Marliani, dkk., 2011). Hasil pengujian kadar abu total yang diperoleh sesuai dengan persyaratan yang ditentukan oleh Materia Medika Indonesia yaitu  $< 10\%$ .

Kadar abu tidak larut asam bertujuan untuk mengetahui jumlah kandungan mineral eksternal (zat anorganik) yang berasal dari lingkungan seperti pasir, silika, lumpur dan lain sebagainya (Marliani, dkk., 2011). Hasil pengujian kadar abu tidak larut asam yang diperoleh sebesar 1,43%.

### 5.5. Ekstraksi

Ekstraksi bertujuan untuk menarik golongan senyawa kimia yang terdapat pada simplisia dengan pelarut yang sesuai. Pemilihan metode maserasi bertujuan untuk menghindari rusaknya senyawa-senyawa kimia yang bersifat termolabil akibat pemanasan. Untuk proses penyarian senyawa kimia, digunakan pelarut etanol yang merupakan pelarut universal, berdasarkan hasil pengujian kadar sari menunjukkan bahwa jumlah yang tersari di dalam air lebih banyak dibandingkan di dalam etanol. Sehingga digunakan pelarut etanol 70%. Menurut Tiwari *et al*, (2011) etanol 70% memiliki kandungan air yang ditambahkan dalam etanol murni mencapai 30% dan dapat meningkatkan polaritas pelarut. Sehingga dapat menarik senyawa kimia polar dan non polar yang diduga memiliki aktivitas antihiperkolesterolemia. Perbandingan jumlah pelarut yang digunakan lebih banyak daripada jumlah simplisia agar senyawa kimia di dalam simplisia yang dapat ditarik oleh pelarut juga lebih banyak.

Pemekatan ekstrak cair bertujuan untuk menguapkan pelarut etanol 70% dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator*. Penguapan etanol pada ekstrak sangat penting dilakukan karena etanol bersifat toksik bagi hewan uji. Pengentalan bertujuan untuk menghilangkan kadar air di dalam ekstrak guna mencegah

pertumbuhan mikroorganisme yang dapat menurunkan aktivitas biologi ekstrak. Oleh sebab itu ekstrak kental akan mempengaruhi dosis obat yang diberikan.

Jumlah ekstrak kental yang didapatkan yaitu 47 g. Maka rendemen ekstrak yang diperoleh adalah 4,7%. Nilai besar kecilnya rendemen digunakan untuk melihat keefektifan ekstraksi. Keefektifan ini dapat dipengaruhi dari metode ekstraksi yang digunakan, jenis pelarut, ukuran partikel simplisia dan lamanya ekstraksi. Dari hasil rendemen tersebut dapat dikatakan bahwa kemungkinan ekstraksi kurang efektif sehingga nilai rendemen yang diperoleh sedikit.

#### **5.6. Pengujian Aktivitas Antihiperkolesterolemia**

Sebelum pengujian antihiperkolesterolemia, hewan uji diadaptasi selama 1 minggu untuk menurunkan faktor stress pada hewan uji. Setelah adaptasi, dilakukan pengelompokan secara acak dengan sistem undian agar hewan tersebar di setiap kelompok secara merata dan dapat menurunkan faktor variatif antar kelompok. Hewan uji yang digunakan mencit berjenis kelamin jantan karena mencit betina memiliki hormon estrogen yang dapat mempengaruhi hasil penelitian. Estrogen dapat meningkatkan laju kecepatan metabolisme seluruh tubuh dan meningkatkan jumlah simpanan lemak dalam jaringan subkutan (Guyton, 2007: 1071)

Pengukuran kolesterol total dilakukan sebelum induksi (H-0), sesudah induksi (H-21) dan sesudah terapi (H-28). Hal ini bertujuan untuk mengetahui kadar awal, kadar kenaikan dan kadar penurunan kolesterol. Pengukuran kadar kolesterol menggunakan alat *EasyTouch*®. Alat ini bekerja secara enzimatik, yang

mana kolesterol pada darah yang diteteskan ke elektrode strip akan bereaksi dengan reagen yaitu kolesterol esterase dan kolesterol oksidase kemudian hasil reaksi dikumpulkan ke elektron mediator. Penurunan elektron mediator sebanding dengan konsentrasi kolesterol yang terbaca oleh alat tersebut dan dimunculkan pada layar alat setelah menunggu beberapa detik.

**Tabel V.4** Hasil pengukuran rata-rata kolesterol darah (mg/dL)  $\pm$  standar deviasi sebelum induksi (H0)

Nama Kelompok	H-0
Uji I	158,00 $\pm$ 16,82
Uji II	152,67 $\pm$ 39,80
Uji III	169,00 $\pm$ 45,51
Pembanding	167,67 $\pm$ 13,05

**Keterangan:**

(H-0) = sebelum induksi

Dari **Tabel V.4** H-0 merupakan hari ke-0 sebelum induksi dan diperoleh hasil analisis statistik *Anova* dan uji lanjutannya didapatkan nilai  $p > 0,10$  menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan kadar rata-rata kolesterol antar kelompok (**Lampiran 3**).

**Tabel V.5** Hasil pengukuran rata-rata kolesterol darah (mg/dL)  $\pm$  standar deviasi pada H-21

Nama Kelompok	H-21
Uji I	212,00 $\pm$ 7,81
Uji II	205,00 $\pm$ 29,87
Uji III	202,33 $\pm$ 5,51
Pembanding	236,00 $\pm$ 43,51

**Keterangan:**

(H-21) = sesudah induksi

H-21 merupakan kadar rata-rata kolesterol sesudah induksi dengan DTL selama 21 hari. Jika dibandingkan antara H-0 dan H-21, semua kelompok uji dan pembanding mengalami peningkatan kadar rata-rata kolesterol. Dimana kadar

rata-rata kolesterol tertinggi terdapat pada kelompok pembanding yaitu 236,00 mg/dL. Kemudian diikuti dengan kelompok uji I yaitu 212,00 mg/dL dan kelompok uji II serta uji III masing-masing yaitu 205,00 mg/dL dan 202,33 mg/dL.

**Tabel V.6** Hasil *paired sample t-test* kadar kolesterol H-21 terhadap H-0 masing-masing kelompok dan rata-rata selisih antara H-0 dan H-21

Kelompok	p	$\Delta(H_{21} - H_0)$
Uji I	0,062	54,00 ± 24,43
Uji II	0,023	55,00 ± 17,52
Uji III	0,287	33,33 ± 40,15
Pembanding	0,144	50,62 ± 50,62

**Keterangan:**

$(\Delta(H_{21} - H_0))$  = rata-rata selisih kenaikan kadar kolesterol total

(p) = nilai signifikansi kadar kolesterol H-21 terhadap H-0 masing-masing kelompok

Berdasarkan hasil analisa statistik *paired sample t-test* ( $p < 0,10$ ) tercantum pada **Tabel V.6** menunjukkan bahwa kelompok uji I dan II mengalami kenaikan kadar kolesterol secara signifikan sedangkan pada kelompok uji III dan pembanding mengalami kenaikan kadar kolesterol yang tidak signifikan. Selanjutnya dilakukan analisis dengan *Anova* dan uji lanjutannya menggunakan data hasil rata-rata selisih antara H-21 dan H-0 tiap kelompok pada **Tabel V.6** menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan kadar rata-rata selisih kolesterol antar kelompok sesudah induksi (**Lampiran 3**).

Setelah perlakuan induksi DTL selama 21 hari, masing-masing kelompok perlakuan diberi sediaan uji setiap hari selama 7 hari. Hasil pengukuran kadar kolesterol hari ke-28 dapat dilihat pada **Tabel V.7**.



**Tabel V.7** Hasil pengukuran rata-rata kolesterol darah (mg/dL)  $\pm$  standar deviasi pada H-28

Nama Kelompok	H-28
Uji I	167,67 $\pm$ 9,07
Uji II	175,33 $\pm$ 14,84
Uji III	154,33 $\pm$ 10,41
Pembanding	136,67 $\pm$ 14,84

**Keterangan:**

(H-28) = sesudah terapi

Pada H-28 merupakan kadar rata-rata kolesterol sesudah terapi selama 7 hari. Kelompok uji I, uji II, dan uji III masing-masing merupakan dosis variasi mulai dari dosis rendah, dosis sedang dan dosis tinggi yang diberi ekstrak kulit buah salak. Sedangkan kelompok pembanding diberikan obat simvastatin yang sudah teruji secara klinis dapat menurunkan kadar kolesterol. Berdasarkan **Tabel V.7** diketahui bahwa penurunan kadar kolesterol tertinggi adalah kelompok pembanding yaitu 136,67 mg/dL. Kemudian diikuti dengan kelompok uji III yaitu 154,33 mg/dL dan kelompok uji I serta uji II masing-masing yaitu 167,67 mg/dL dan 175,33 mg/dL.

**Tabel V.8** Hasil *paired sample t-test* kadar kolesterol H-28 terhadap H-21 masing-masing kelompok dan rata-rata selisih antara H-21 dan terapi H-28

Kelompok	p	$\Delta(H_{28} - H_{21})$
Uji I	0,025	44,33 $\pm$ 12,34
Uji II	0,309	29,67 $\pm$ 38,00
Uji III	0,007	48,00 $\pm$ 7,21
Pembanding	0,056	99,33 $\pm$ 128,94

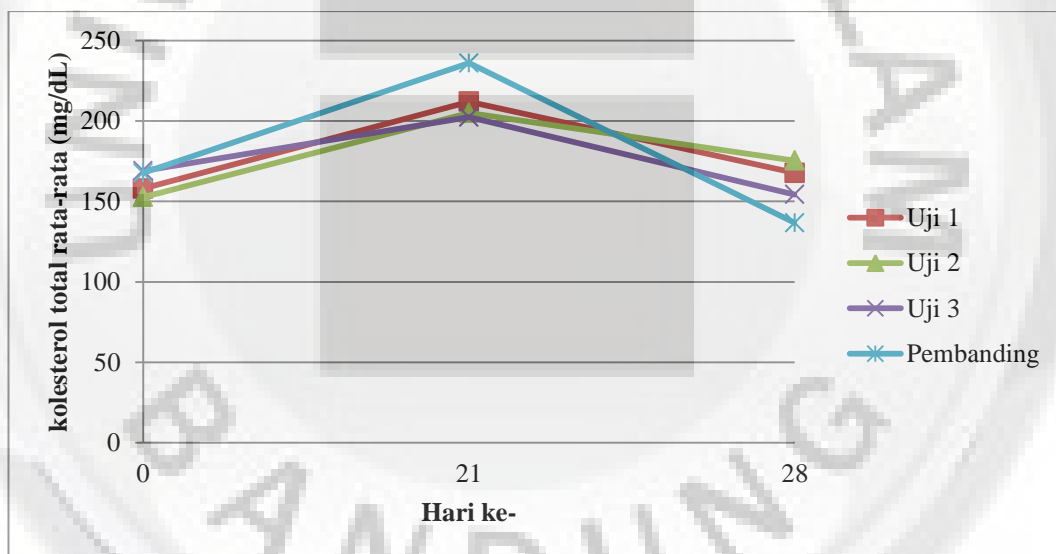
**Keterangan:**

$(\Delta(H_{28} - H_{21}))$  = rata-rata selisih penurunan kadar kolesterol total

(p) = nilai signifikansi kadar kolesterol H-28 terhadap H-21 masing-masing kelompok

Berdasarkan hasil analisa statistik *paired sample t-test* ( $p < 0,10$ ) tercantum pada **Tabel V.8** menunjukkan bahwa kelompok uji I, III dan pembanding mengalami penurunan kadar kolesterol secara signifikan sedangkan

pada kelompok uji II mengalami penurunan kadar kolesterol yang tidak signifikan. Selanjutnya di analisis *Anova* dan uji lanjutannya menggunakan data hasil selisih antara hari ke-28 dan ke-21 tiap kelompok pada **Tabel V.8** menunjukkan bahwa ada perbedaan bermakna secara signifikan rata-rata selisih kolesterol antar kelompok pembanding terhadap kelompok uji I, II dan III (**Lampiran 3**). Sedangkan jika dibandingkan pada masing-masing kelompok uji, tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok uji I terhadap uji II dan uji III. Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan dosis tidak menimbulkan peningkatan efek antihiperkolesterolemia.



**Grafik V.1** Hasil pengukuran rata-rata kolesterol total

Dilihat dari **Grafik V.1** terjadi penurunan kadar rata-rata kolesterol terhadap semua kelompok uji dan pembanding pada hari ke-28 setelah diinduksi DTL selama 21 hari. Diperoleh hasil rata-rata selisih kolesterol dan persentase penurunannya mulai dari tertinggi sampai terendah yaitu kelompok pembanding

(42,08%) kemudian diikuti kelompok uji III (23,72%), kelompok uji I dan II masing-masing 20,41% dan 14,47%.

DTL merupakan salah satu induktor peningkat kolesterol secara eksogen. DTL diberikan setiap hari dengan tujuan agar kadar kolesterol mencit meningkat. Mekanisme peningkatan kadar kolesterol di dalam plasma dapat menyebabkan inhibisi terhadap enzim 3-hidroksi-3-metilglutaril KoA reduktase yang berperan dalam pembentukan kolesterol endogen (Guyton, 2007: 987-990).

Pemilihan tablet simvastatin sebagai pembanding karena mekanisme kerjanya menghambat 3-hidroksi-3-metilglutaril koenzim A (HMG-CoA) reduktase. Dengan menghambat HMG-CoA pada jalur mevalonat, simvastatin bekerja lebih awal dalam menghambat biosintesis kolesterol endogen. Dari penghambatan biosintesis kolesterol yang terjadi di hati, menyebabkan meningkatkan ekspresi gen reseptor LDL.

Menurut Honda *et al.* (2013) flavonoid dapat menurunkan kolesterol hepatic dan kadar lipoprotein kolesterol plasma pada tikus yang diberi diet tinggi lemak. Secara signifikan mampu menurunkan aktivitas sintesis enzim HMG-CoA dan meningkatkan aktivitas kolesterol 7- $\alpha$  hidroksilase. Menurut Afonso *et al.* (2013) bahwa senyawa fenolik dapat memperbaiki pertahanan antioksidan dalam jaringan yang berbeda dan mengurangi stres oksidatif pada tikus yang diinduksi diet hiperkolesterolemia. Pada senyawa tanin menunjukkan adanya aktivitas antioksidan yang sangat berperan dalam menurunkan lipid peroksida dalam pencegahan terjadinya hiperkolesterolemia, juga mengurangi kadar kolesterol total dan trigliserida.