

## **BAB V**

### **PEMBAHASAN**

#### **5.1. Pengumpulan Bahan dan Determinasi**

Pada penelitian ini digunakan tanaman herba seledri yang diperoleh dari perkebunan BALITSA (Balai Penelitian Tanaman Sayuran) Lembang. Dipilih tanaman tersebut karena mudah didapat dan memiliki manfaat untuk kesehatan. Bagian tanaman yang digunakan yaitu seluruh bagian tanaman seledri (herba) yang memiliki aktivitas farmakologi. Pada tahap awal dilakukan determinasi seledri (*Apium graveolens* L.) yang dilakukan di Herbarium Jatinangor Laboratorium Tumbuhan Jurusan Biologi UNPAD untuk memastikan kebenaran bahan yang digunakan pada penelitian ini. Hasil dari determinasi menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan adalah benar *Apium graveolens* L. dan dapat dilihat pada **Lampiran 1**.

#### **5.2. Pembuatan Simplisia**

Pembuatan simplisia herba seledri dilakukan dengan sortasi basah kemudian mencuci seluruh bagian tanaman dengan air bersih agar pengotor dan bahan asing lain tidak terbawa pada proses selanjutnya yang dapat mempengaruhi hasil akhir. Setelah pencucian bahan dikeringkan dengan cara diangin-angin untuk mengurangi kadar air, menghambat pembusukkan, mencegah pertumbuhan jamur, sehingga memperoleh simplisia yang tidak mudah rusak dan dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama.

Setelah diperoleh simplisia kering dilakukan sortasi kering untuk memisahkan pengotor yang masih tertinggal, dari hasil pengeringan herba seleri 12kg menghasilkan berat kering sebanyak 980 gram yang kemudian dilakukan penggilingan menggunakan *blender* hingga diperoleh serbuk kasar herba seledri. Penggilingan simplisia berpengaruh terhadap efisiensi ekstraksi, karena jika ukuran bahan lebih kecil maka luas permukaan menjadi lebih besar sehingga kontak dengan pelarutnya lebih banyak dan senyawa aktif dapat tertarik dengan maksimal.

### 5.3. Ekstraksi

Simplisia herba seledri diekstraksi menggunakan metode dingin yaitu masersi dengan pelarut etanol 95% karena dapat menarik senyawa polar dan semi polar selama 3 hari dengan penggantian pelarut selama 24 jam sekali dan dilakukan pengadukan terus menerus agar pelarutnya tidak mudah jenuh. Ekstraksi bertujuan untuk menarik senyawa metabolit yang terdapat pada bahan yang ditarik oleh pelarut. Selanjutnya ekstrak cair di evaporasi menggunakan *rotary vacuum evaporator* agar pelarut dapat terpisah dan didapat ekstrak kental. Ekstrak kental dipanaskan pada *waterbath* untuk menguapkan pelarut yang masih terkandung dalam ekstrak pada suhu 40° C agar senyawa yang tidak tahan terhadap panas tidak akan mudah rusak.

Rendemen ekstrak kental yang didapat sebanyak 19,57%, selanjutnya ekstrak kental ditutup rapat dan disimpan didalam lemari pendingin agar tidak mudah ditumbuhi mikroba dan jamur.

#### 5.4. Hasil Penapisan Fitokimia Simplisia dan Ekstrak

Penapisan fitokimia dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa kimia apa saja yang terkandung didalam simplisia dan ekstrak seledri yang berkaitan erat dengan efek farmakologis. Hasil penapisan fitokimia dapat dilihat pada **Tabel V.1.**

**Tabel V.1** Hasil penapisan fitokimia (herba seledri)

Senyawa	simplisia	ekstrak
Alkaloid	√	√
Flavonoid	√	√
Polifenolat	√	√
Tanin	-	-
Monoterpen dan Sesquiterpen	√	√
Steroid dan Triterpenoid	-	-
Saponin	√	√
Kuinon	√	√

**Keterangan:**

(√): terdeteksi (-): tidak terdeteksi

Hasil dari penapisan fitokimia simplisia dan ekstrak menunjukkan bahwa pada herba seledri mengandung golongan senyawa alkaloid, flavonoid, polifenolat, saponin, kuinon, steroid, triterpenoid, monoterpen dan seskuiterpen.

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 endotelial sehingga menghambat proliferasi dan eksudasi dari proses radang (Hidayati, 2008).

### 5.5. Hasil Penetapan Parameter Standar Simplisia dan Ekstrak

Penetapan parameter standar yang dilakukan pada simplisia dan ekstrak meliputi penetapan kadar air, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, dan bobot jenis. Penetapan parameter standar ini dilakukan untuk menjamin kualitas bahan yang digunakan dalam penelitian.

Penetapan kadar air bertujuan untuk mengetahui jumlah kadar air yang terdapat pada simplisia agar tidak menyebabkan terjadinya pertumbuhan mikroba yang akan merusak kualitas bahan pada saat penyimpanan. Hasil kadar air yang didapat dari simplisia ekstrak seledri yang dilakukan secara duplo yaitu 5,8% yang artinya masih memenuhi syarat karena tidak lebih dari 10%.

Kadar sari larut air bertujuan untuk mengetahui jumlah senyawa yang dapat larut dalam pelarut air. Hasil penetapan kadar sari larut air pada herba seledri yaitu 34,325.

Kadar sari larut etanol bertujuan untuk mengetahui jumlah senyawa yang dapat larut dalam pelarut etanol. Hasil penetapan kadar sari larut etanol pada herba seledri yaitu 7,9. Dari hasil tersebut terlihat bahwa nilai kadar sari larut air paling tinggi berarti senyawa yang terkandung di dalam simplisia lebih larut pada pelarut yang polar.

Bobot jenis merupakan parameter khusus ekstrak cair hingga ekstrak kental yang masih dapat dituang (Depkes RI, 2000: 14). Penetapan bobot jenis bertujuan untuk mengukur kualitas dari hasil ekstraksi karena semakin tinggi nilai bj maka semakin banyak senyawa yang terkandung dalam ekstrak tersebut. Bobot jenis yang didapat dari ekstrak herba seledri yaitu 0,774.

## 5.6. Induksi karagenan

Induktor karagenan dibuat untuk induksi udem pada telapak kaki tikus. Pembuatan induktor karagenan dibuat dengan melarutkan karagenan 1% dalam NaCl fisiologis 0,9%. Digunakan NaCl 0,9% karena sama dengan cairan tubuh sehingga dapat membentuk udem yang baik pada telapak kaki tikus saat diinjeksikan. Larutan karagenan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C agar sama dengan suhu tubuh, jadi ketika disuntikkan tubuh tidak akan mengalami penolakan dan akan terbentuk udem dengan baik.

Pada pengujian ini telapak kaki tikus dilakukan induksi karagenan 0,2 ml. Berdasarkan penelitian Sulaksono (2015) bahwa induksi karagenan 0,2 ml dapat membentuk udem selama 5 jam. Sedangkan berdasarkan literatur udem akibat induksi karagenan dapat bertahan selama 6 jam, namun dilihat dari hasil penelitian dan literatur maka pada penelitian ini dilakukan pengamatan selama 8 jam untuk melihat penurunan udem pada telapak kaki tikus sampai kembali ke volume awal sebelum diberikan induksi.

## 5.7. Pengujian Aktivitas Antiinflamasi

Pada penelitian ini digunakan hewan uji tikus karena memiliki kemampuan sebagai objek penelitian, mudah didapat, kelengkapan organ dan metabolismenya cukup dekat dengan manusia. Digunakan tikus jantan karena secara hormonal tikus jantan lebih stabil dibandingkan dengan tikus betina karena tikus betina mengalami siklus estrus, masa kehamilan dan menyusui yang dapat mengganggu kondisi psikologis hewan tersebut sehingga hewan uji mudah stres,

hal ini dapat berpengaruh terhadap penelitian yang dilakukan. Keseragamannya umur hewan uji dipilih tikus yang berumur 2-3 bulan agar fungsi organ hewan masih berfungsi dengan baik dan belum mengalami penurunan fungsi organ. Selanjutnya hewan uji diaklimasi selama 2 minggu agar beradaptasi terhadap lingkungan yang baru dan tidak mengalami stres.

Pengujian antiinflamasi dilakukan dengan mengelompokkan hewan uji secara acak menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok kontrol, kelompok uji ekstrak etanol herba seledri dosis 100 mg/kg BB tikus, kelompok uji ekstrak etanol herba seledri dosis 200 mg/kg BB tikus, kelompok uji ekstrak etanol herba seledri dosis 400 mg/kg BB tikus, dan kelompok pembanding Na diklofenak. Semua kelompok kecuali kelompok kontrol negatif diinduksi karagenan 0,2 ml sehingga membentuk udem pada telapak kaki tikus yang diinjeksi secara intraplantar dan selanjutnya dicelupkan ke alat pletismometer.

Karagenan adalah ekstrak *chondrus* menyebabkan inflamasi jika diinjeksikan intraplantar pada kaki tikus. Karagenan merupakan suatu polisakarida sulfat bermolekul besar sebagai induktor inflamasi (Corsini dkk, 2005:253-261).

Selanjutnya dilakukan pengukuran kaki tikus setiap 1 jam sampai jam ke-8 agar terlihat perubahan volume udem, dan dilihat pada jam ke-24 menggunakan alat pletismometer untuk melihat volume udem telapak kaki tikus sudah kembali ke volume awal.

Pada proses pembentukan udem, karagenan akan menginduksi cedera sel dengan melepaskan mediator yang mengawali proses inflamasi. Udem yang

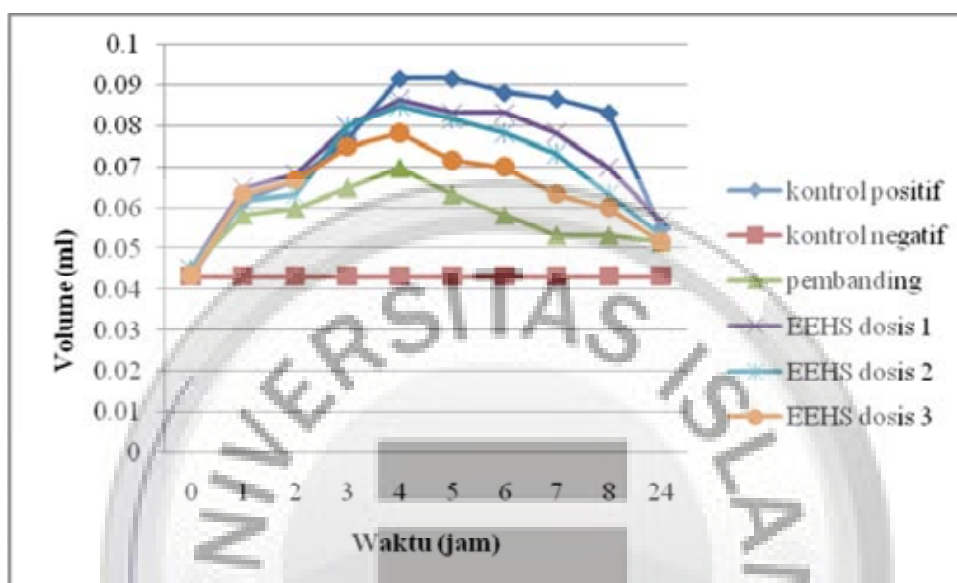
disebabkan oleh injeksi karagenan dapat bertahan selama 6 jam dan berangsur-angsur berkurang dalam waktu 24 jam (Corsini dkk, 2005:253-261).

Setelah dilakukan pengujian antiinflamasi pada 6 kelompok hewan uji selanjutnya dilakukan penentuan distribusi data semua volume udem semua kelompok menggunakan pengolahan data uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* dan *Shapiro-Wilk*. Hasil pengolahan data uji normalitas yang diperoleh nilai  $p > 0,05$  maka sampel tersebut terdistribusi normal, dapat dilihat pada **Lampiran 2**. Dari hasil tersebut selanjutnya dapat dilakukan pengolahan data secara statistik dengan metode ANOVA.

Untuk melihat keberhasilan induksi dilakukan uji statistik menggunakan T test dengan membandingkan volume rata-rata telapak kaki tikus pada waktu ke-0 ( $t_0$ ) dan waktu ke-4 ( $t_4$ ). Hasil pengolahan data T test menunjukkan adanya perbedaan signifikan volume telapak kaki tikus pada setiap kelompok saat sebelum induksi ( $t_0$ ) dan saat setelah induksi ( $t_4$ ) dengan nilai ( $P < 0,05$ ) (**Lampiran 3**).

Data yang diperoleh selanjutnya dianalisis menggunakan uji statistik ANOVA serta uji lanjutan LSD untuk melihat ada atau tidaknya perbedaan bermakna terhadap terjadinya antiinflamasi pada setiap kelompok, hasil uji statistik ANOVA dapat dilihat pada **Lampiran 4**.

Hasil pengamatan aktivitas antiinflamasi menunjukkan adanya kemampuan sediaan uji dilihat dari rata-rata volume udem pada telapak kaki tikus pada Gambar V.1.



**Gambar V.1** Grafik Uji aktivitas antiinflamasi herba seledri volume rata-rata udem pada telapak kaki tikus

**Keterangan:**

EEHS: Ekstrak Etanol Herba Seledri

Dilihat dari gambar diatas pada t<sub>0</sub> belum terjadi pembentukan antara kelompok kontrol positif dengan kelompok yang diberikan sediaan uji dan kelompok pembanding karena belum diberikan induksi karagenan. Pada t<sub>1</sub> dan seterusnya terjadi perbedaan volume udem antara kelompok kontrol dengan kelompok uji dan kelompok pembanding, maka dapat terlihat bahwa ekstrak sediaan uji memiliki kemampuan mengurangi udem pada telapak kaki tikus yang diberikan induksi karagenan 1% 2ml secara intraplantar.



Analisis data LSD bertujuan untuk melihat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok yang diberi sediaan uji, dilihat dari signifikansi setiap waktu pengujian, dapat dilihat pada **Tabel V.2** dan **Lampiran 5**.

**Tabel V.2** Volume rata-rata telapak kaki tikus pada pengujian antiinflamasi herba seledri dengan induksi karagenan

waktu (jam)	Volume rata-rata telapak kaki (mL) ± Standar deviasi										
	kontrol (+)	kontrol (-)	p	pembanding	p	EEHS dosis 1	p	EEHS dosis 2	p	EEHS dosis 3	p
0	0.043±0.006	0.043±0.006	1	0.045±0.005	0.724	0.045±0.03	0.3	0.045±0.007	0.3	0.043±0.005	1
1	0.062±0.008	0.043±0.006	0.006	0.058±0.007	0.552	0.065±0.005	0.552	0.062±0.007	1	0.063±0.005	0.765
2	0.067±0.006	0.043±0.006	0.001*	0.060±0.010	0.244	0.068±0.003	0.765	0.063±0.006	0.552	0.067±0.007	1
3	0.077±0.006	0.043±0.006	0.000*	0.065±0.005	0.042*	0.080±0.010	0.052	0.080±0.010	0.58	0.073±0.005	0.58
4	0.092±0.003	0.043±0.006	0.000*	0.070±0.010	0.001*	0.087±0.006	0.319	0.085±0.005	0.191	0.078±0.002	0.017*
5	0.092±0.003	0.043±0.006	0.000*	0.063±0.006	0.000*	0.083±0.006	0.085	0.082±0.003	0.043*	0.072±0.007	0.001*
6	0.088±0.003	0.043±0.006	0.000*	0.058±0.003	0.000*	0.083±0.006	0.328	0.078±0.007	0.064	0.070±0.008	0.003*
7	0.087±0.006	0.043±0.006	0.000*	0.053±0.003	0.000*	0.078±0.003	0.064	0.073±0.006	0.007*	0.063±0.005	0.000*
8	0.083±0.006	0.043±0.006	0.000*	0.053±0.003	0.000*	0.070±0.010	0.022*	0.065±0.006	0.002*	0.060±0.005	0.001*
24	0.055±0.005	0.043±0.006	0.044*	0.052±0.003	0.532	0.057±0.006	0.753	0.053±0.006	0.753	0.052±0.010	0.532

Semua nilai menunjukkan volume rata-rata telapak kaki tikus ± standar deviasi \* $P < 0.05$  menandakan bahwa adanya perbedaan bermakna terhadap kelompok kontrol positif (ANOVA dengan uji lanjut LSD)

Berdasarkan uji lanjutan LSD pada kelompok kontrol positif mengalami pembentukan udem pada t1 hingga t5 dan pada t6 mengalami penurunan udem. Sedangkan pada kelompok kontrol negatif volume udem telapak kaki tikus pada t0 hingga t8 tidak mengalami pembentukan udem, karena pada kelompok ini tidak diberikan induksi karagenan. Sehingga pada uji statistik menunjukkan adanya perbedaan bermakna dengan kelompok kontrol positif.

Pada kelompok sediaan uji udem yang terbentuk tidak terlalu besar dibandingkan dengan kelompok kontrol positif, pada kelompok uji dosis 1 terjadi perbedaan bermakna terhadap kelompok kontrol positif pada t8, pada kelompok uji dosis 2 menunjukkan adanya perbedaan bermakna dengan kelompok kontrol positif pada t5, pada kelompok uji dosis 3 menunjukkan adanya perbedaan

bermakna pada t<sub>4</sub>, artinya pada jam tersebut telah terjadi penurunan udem pada telapak kaki tikus. Perbedaan waktu signifikan terjadi karena perbedaan sediaan dosis yang diberikan. Sedangkan pada kelompok pembanding penurunan udem terjadi lebih cepat dibandingkan kelompok sediaan uji, menunjukkan perbedaan bermakna pada t<sub>2</sub>.

Persentase rata-rata radang bertujuan untuk melihat persen rata-rata terbentuknya udem yang telah diinduksi karagenan 1% pada telapak kaki tikus.

Persentase radang yang terjadi diukur dengan menggunakan rumus :

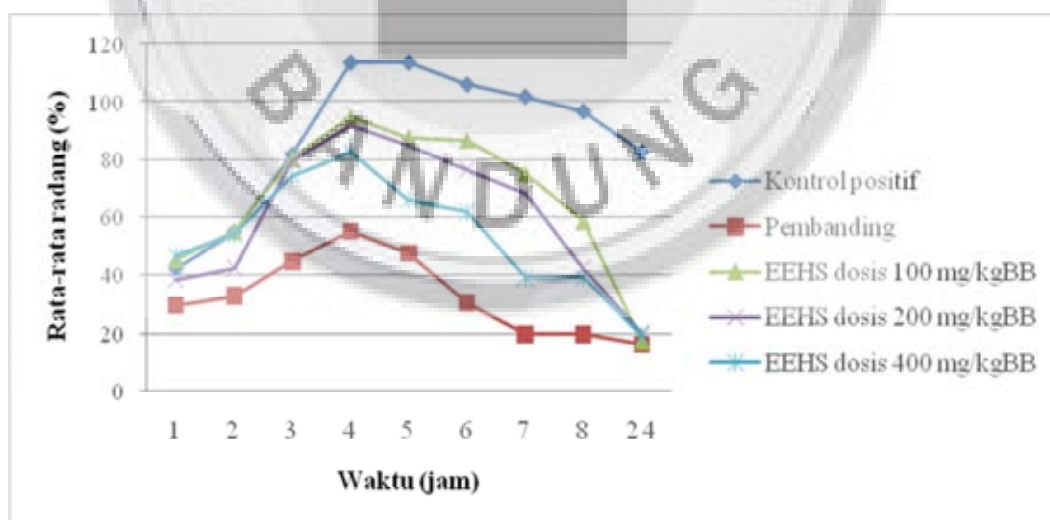
$$\% \text{ radang} = \frac{V_t - V_0}{V_0} \times 100 \%$$

Keterangan :

V<sub>t</sub> = Volume telapak kaki pada waktu t

V<sub>0</sub> = Volume telapak kaki pada waktu 0 (Sebiantoro, 2010 :3).

Hasil persentase rata-rata radang dapat dilihat pada **Gambar V.2**.



**Gambar V.2** Persentase radang rata-rata dari kelompok kontrol positif, uji, dan pembanding terhadap waktu

Dilihat pada grafik diatas menunjukkan persen radang kelompok kontrol positif persentase radangnya paling besar dibandingkan kelompok dosis 100

mg/kg BB, 200 mg/kg BB, 400 mg/kg BB, dan kelompok pembanding. Pada dosis 100 mg/kg BB menunjukkan persentase radang lebih kecil dibandingkan kelompok kontrol positif dimulai pada t3 dan seterusnya. Pada dosis 200 mg/kg BB menunjukkan persentase radang lebih kecil dibandingkan kelompok dosis 100 mg/kg BB dimulai pada t4. Pada dosis 400 mg/kg BB menunjukkan persentase radang lebih kecil dari dosis 100 mg/kg BB dan 200 mg/kg BB, dari ketiga dosis ini menunjukkan pada dosis 400 mg/kg BB memiliki kemampuan mengurangi udem paling baik pada hewan percobaan yang telah diinduksi karagenan 1%.

Sedangkan pada kelompok pembanding persentase radangnya lebih kecil dibandingkan kelompok sediaan uji 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB, dan 400 mg/kg BB. Semakin tinggi persentase radang semakin besar udem yang terbentuk.

Persentase inhibisi rata-rata radang menunjukkan kemampuan setiap kelompok dalam mengambat volume radang akibat proses antiinflamasi. Efek anti-inflamasi diukur berdasarkan rumus sebagai berikut :

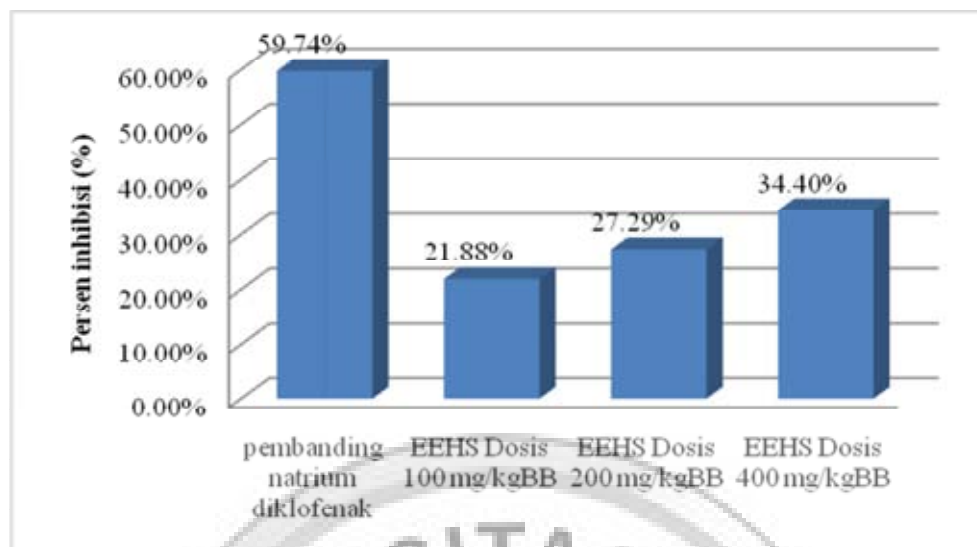
$$\% \text{ Inhibisi radang} = \frac{A-B}{A} \times 100 \%$$

Keterangan :

A = persen radang rata-rata kelompok kontrol

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

Hasil persentase inhibisi dapat dilihat pada **Gambar V.3**.



**Gambar V.3** Grafik rata-rata persentase inhibisi antara kelompok uji dan kelompok pembanding

Persentase inhibisi rata-rata radang Na diklofenak dapat menghambat radang sebesar 59,74%. Persentase inhibisi rata-rata radang Na diklofenak lebih tinggi dibandingkan persentase rata-rata radang uji 100 mg, uji 200 mg, dan uji 400 mg, hal ini dikarenakan Na diklofenak dapat menghambat siklooksigenase yang dapat menghambat pembentukan prostaglandin dalam proses peradangan (Wilmana, 2007: 240, 500-506). Ketiga dosis ekstrak memiliki aktivitas antiinflamasi sebesar 21,88%, 27,29%, dan 34,40% pada dosis 100, 200, dan 400 mg/kg BB tikus secara berturut-turut. Pada uji dosis 400 mg/kg BB memiliki kemampuan menghambat udem paling besar yaitu sebesar 34,40%, maka pengaruh dosis dapat menyebabkan peningkatan persentase inhibisi sehingga pada uji dosis 400 mg/kgBB dapat menghambat udem lebih baik dari dosis 100 mg/kg BB dan dosis 200 mg/kg BB.