

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1. Pengumpulan Bahan dan Determinasi Simplisia

Simplisia yang digunakan dalam penelitian ini adalah bonggol serta daun brokoli yang diperoleh dari daerah pertanian Desa Cibodas, Kecamatan Lembang, Kabupaten Bandung Barat. Hasil determinasi tanaman yang dilakukan di Herbarium Bandungense Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung menyatakan bahwa sampel tanaman yang digunakan merupakan Brokoli (*Brassica oleracea* L. cv. groups Broccoli). Hasil determinasi dapat dilihat pada

Lampiran 2.

5.2. Pengolahan Simplisia

Simplisia bonggol serta daun brokoli diperlakukan pengeringan dengan cara yang sama yaitu pengeringan beku (*freeze drying*).

5.3. Pemeriksaan Makroskopik dan Mikroskopik

5.3.1. Pemeriksaan makroskopik

Pemeriksaan makroskopik terhadap bonggol serta daun brokoli (*Brassica oleracea* L. Cv. Groups Broccoli) menunjukkan bahwa bonggol brokoli memiliki ukuran diameter 2-4,5 cm, panjang 15-30 cm. Sedangkan daun memiliki ukuran lebar 7-23 cm, panjang 10-42 cm, bentuk daun pinatipartitus, tepi daun

terminolobus. Hasil pemeriksaan makroskopik dapat dilihat pada **Gambar 1, Lampiran 3**

5.3.2. Pemeriksaan mikroskopik

Pemeriksaan mikroskopik pada penampang melintang bonggol brokoli (*Brassica oleracea* L. cv. groups Broccoli) menunjukkan adanya empulur, mustard-oil, epidermis, korteks, xylem, dan floem sedangkan pada daun brokoli (*Brassica oleracea* L. cv. groups Broccoli) menunjukkan adanya epidermis atas, mesofil, epidermis bawah, kristal oksalat. Hasil pemeriksaan ini sesuai dengan pustaka (Cronquist, 1981:446 dan Metcalfe and Chalk, 1950:79-83). Hasil mikroskopik bonggol serta daun brokoli (*Brassica oleracea* L. cv. groups Broccoli) dapat dilihat pada **Gambar 1 dan Gambar 2, Lampiran 4.**

Pemeriksaan pada serbuk bonggol brokoli (*Brassica oleracea* L. cv. groups Broccoli) menunjukkan adanya berkas pembuluh korteks spiral, empulur, kalsium oksalat sedangkan pada daun brokoli (*Brassica oleracea* L. cv. groups Broccoli) menunjukkan adanya berkas pembuluh, kristal kalsium oksalat, rambut penutup, stomata tipe anisositik. Hasil pemeriksaan ini sesuai dengan pustaka (Metcalfe and Chalk, 1950:82). Hasil mikroskopik serbuk bonggol serta daun brokoli (*Brassica oleracea* L. cv. groups Broccoli) dapat dilihat pada **Gambar 3 dan Gambar 4, Lampiran 4.**

5.4. Penapisan Fitokimia

Pemeriksaan yang selanjutnya adalah melakukan penapisan fitokimia terhadap simplisia bonggol serta daun brokoli (*Brassica oleracea* L. cv. groups

Broccoli). Penapisan fitokimia merupakan tahapan awal dalam mengidentifikasi kandungan kimia yang terdapat dalam simplisia tumbuhan. Hasil penapisan fitokimia bonggol serta daun brokoli (*Brassica oleracea* L. cv. groups Broccoli) dapat dilihat pada **Tabel V.1**

Tabel V.1 Hasil penapisan fitokimia simplisia pada bonggol serta daun Brokoli (*Brassica oleracea* L. cv. groups Broccoli)

Golongan Senyawa	Identifikasi simplisia	
	Bonggol	Daun
Alkaloid	-	-
Flavonoid	+	+
Kuinon	-	-
Saponin	-	-
Tanin	-	-
Polifenolat	-	-
Monoterpen dan sesquiterpen	+	+
Triterpenoid dan steroid	+	+

Keterangan:

(+) = Terdeteksi

(-) = Tidak terdeteksi

Dari hasil penapisan fitokimia terhadap simplisia dan ekstrak bonggol serta daun brokoli (*Brassica oleracea* L. cv. groups Broccoli) menunjukkan adanya kandungan flavonoid, seskuiterpen, monoterpen dan steroid. Dibandingkan dengan penelitian sebelumnya (Jusuf, 2012) pada bunga brokoli terdapat perbedaan yaitu pada bunga brokoli terdapat flavonoid, kuinon, seskuiterpen, monoterpen dan steroid.

5.5. Parameter Simplisia

Pemeriksaan mutu simplisia dapat dilakukan dengan parameter simplisia berupa organoleptis, kadar air, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, dan susut pengeringan. Hasil karakterisasi

simplisia bonggol serta daun brokoli (*Brassica oleracea* L. cv. groups Broccoli) dapat dilihat pada **Tabel V.2**

Tabel V.2 Hasil parameter simplisia

Parameter	Hasil %	
	Bonggol	Daun
Kadar air	5,2	3,7
Kadar abu total	5,7	6,7
Kadar abu tidak larut asam	0,6	0,9
Kadar sari larut air	39,25	31,9
Kadar sari larut etanol	10	5,7
Susut pengeringan	8,25	4,75

Uji organoleptis dilakukan untuk pengenalan awal terhadap simplisia yang akan di uji. Hasil dari pengamatan pada bonggol memiliki bau khas sayuran, rasanya hambar dan berwarna putih kehijauan. Sedangkan pada daun memiliki bau khas sayuran, rasa agak pahit, dan berwarna hijau tua.

Penetapan kadar air dilakukan untuk memberikan batasan minimal atau rentang tentang besarnya kandungan air di dalam simplisia sehingga dapat mencegah pertumbuhan mikroba dan menjaga kualitas simplisia selama waktu penyimpanan. Hasil yang didapat dari penetapan kadar air simplisia bonggol serta daun brokoli (*Brassica oleracea* L. cv. groups Broccoli) adalah sebesar 5,2% dan 3,7%. Kadar air simplisia bonggol lebih besar dari daun brokoli (*Brassica oleracea* L. cv. groups Broccoli), kadar air memenuhi persyaratan yaitu tidak lebih dari 10% (Depkes RI, 1995:XIV). Hasil perhitungan kadar air dapat dilihat pada **Lampiran 5**.

Penetapan kadar abu total bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang ada pada simplisia. Penetapan kadar abu berhubungan erat dengan kandungan mineral yang terdapat dalam suatu

bahan, kemurnian serta kebersihan suatu bahan yang dihasilkan. Hasil penetapan kadar abu total simplisia bonggol serta daun brokoli (*Brassica oleracea* L. cv. groups Broccoli) adalah sebesar 5,7% dan 6,7%. Selain itu, dilakukan penetapan kadar abu tidak larut asam. Hasil penetapan kadar abu tidak larut asam pada bonggol sebesar 0,6% dan pada daun 0,9%. Tujuan penetapan kadar abu tidak larut asam adalah untuk memberikan gambaran kandungan mineral eksternal yang berasal dari proses pengolahan misalnya silika yang berasal dari tanah. Hasil perhitungan kadar abu dapat dilihat pada **Lampiran 6**.

Penetapan kadar sari bertujuan untuk memberikan gambaran awal mengenai jumlah kandungan senyawa yang dapat tersari oleh pelarut tertentu dari sejumlah simplisia. Hasil penetapan kadar sari larut air pada simplisia bonggol serta daun brokoli (*Brassica oleracea* L. cv. groups Broccoli) adalah sebesar 39,25% dan 31,9%, sedangkan kadar sari larut etanol yang diperoleh dalam bonggol serta daun brokoli (*Brassica oleracea* L. cv. groups Broccoli) adalah sebesar 10% dan 5,7%. Kadar sari larut air dan kadar sari larut etanol bonggol lebih besar dibandingkan daun brokoli. Dari hasil penetapan kadar sari dalam pelarut tertentu terlihat bahwa kadar sari larut air lebih besar dari kadar sari larut etanol. Hal ini menunjukkan bahwa dalam bonggol serta daun brokoli (*Brassica oleracea* L. cv. groups Broccoli) senyawa yang larut dalam air lebih banyak dari pada senyawa yang larut dalam etanol. Hasil perhitungan kadar sari dapat dilihat pada **Lampiran 7**.

Penetapan susut pengeringan bertujuan untuk memberikan batasan tentang besarnya senyawa yang hilang pada saat proses pengeringan. Hasil penetapan

susut pengeringan simplisia bonggol serta daun brokoli (*Brassica oleracea* L. cv. groups Broccoli) adalah sebesar 8,25% dan 4,75%. Hasil susut pengeringan bonggol lebih besar dibandingkan daun brokoli. Hasil perhitungan susut pengeringan dapat dilihat pada **Lampiran 8**.

5.6. Pembuatan Ekstrak

Pada penelitian ini, metode ekstraksi yang digunakan adalah metode maserasi. Pelarut yang digunakan adalah etanol 96% karena etanol merupakan pelarut universal, pelarut ini dapat melarutkan hampir semua senyawa organik yang ada pada sampel, baik senyawa polar maupun sebagian senyawa non polar. Filtrat yang diperoleh diuapkan menggunakan *vacuum rotary evaporator*. Ekstrak kental yang diperoleh dari simplisia kering bonggol sebanyak 20 gram dari 100 gram sedangkan daun sebanyak 24 gram dari 100 gram.

Pada ekstrak kental bonggol serta daun brokoli dilakukan penapisan fitokimia. Dari hasil penapisan fitokimia, didapat tidak ada perbedaan penapisan fitokimia pada simplisia maupun pada ekstrak. Hasil penapisan fitokimia dapat dilihat pada **Tabel V.3**

Tabel V.3 Hasil penapisan fitokimia pada ekstrak bonggol serta daun Brokoli (*Brassica oleracea* L. cv. groups Broccoli)

Golongan Senyawa	Identifikasi Ekstrak	
	Bonggol	Daun
Alkaloid	-	-
Flavonoid	+	+
Kuinon	-	-
Saponin	-	-
Tanin	-	-
Polifenolat	-	-
Monoterpen dan sesquiterpen	+	+
Triterpenoid dan steroid	+	+

Keterangan:

(+) = Terdeteksi

(-) = Tidak terdeteksi

Terhadap ekstrak kental yang didapat, dilakukan penetapan kadar bobot jenis ekstrak. Bobot jenis bertujuan untuk memberikan batasan tentang besarnya masa per satuan waktu volume yang merupakan parameter khusus ekstrak cair sampai kental yang masih dapat dituang. Rata-rata bobot jenis pada simplisia bonggol brokoli adalah sebesar 0,755 g/ml sedangkan pada daun brokoli sebesar 0,735 g/ml. Dari hasil yang di dapat, bobot jenis bonggol lebih besar dari bobot jenis daun brokoli, dan kedua ekstrak dalam keadaan dingin tidak dapat dituang. Hasil perhitungan bobot jenis dapat dilihat pada **Lampiran 9**.

5.7. Pemantauan KLT (Kromatografi Lapis Tipis)

Pemantauan KLT dilakukan terhadap ekstrak bonggol serta daun brokoli, Pemantauan kandungan flavonoid dengan cara Kromatografi Lapis Tipis digunakan kuersetin sebagai pembanding yang ditotolkan pada plat KLT. Eluen yang digunakan adalah etil asetat: kloroform (8:2) dengan menggunakan penampak bercak AlCl_3 . Nilai R_f dari pengujian kuersetin adalah sebesar 0,56 dan untuk ekstrak bonggol serta daun brokoli 0,43 yang ditandai dengan adanya warna kuning pada plat KLT di sinar UV 366 nm. Setelah itu pada plat yang berbeda dengan eluen yang sama, plat disemprotkan menggunakan penampak bercak H_2SO_4 menghasilkan nilai R_f yang diperoleh dari pengujian kuersetin sebesar 0,56 dan untuk ekstrak bonggol serta daun brokoli 0,45. Untuk pemantauan keberadaan senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan plat yang berbeda dengan eluen yang sama, plat disemprotkan menggunakan penampak bercak

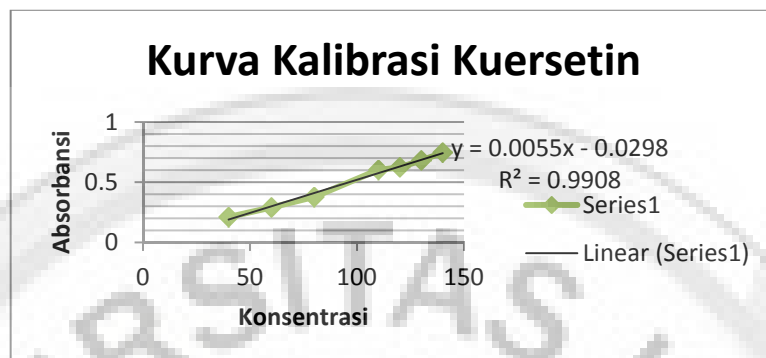
DPPH 0,2%, nilai Rf yang diperoleh dari pengujian kuersetin sebesar 0,67 dan untuk ekstrak bonggol serta daun brokoli 0,8 yang ditandai dengan adanya warna kuning keputihan pada plat KLT di sinar tampak. Hasil pengamatan dapat dilihat pada **Lampiran 10**.

Pemantauan senyawa flavonoid dilakukan secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT), fase diam yang digunakan berupa plat silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak etil asetat:kloroform dalam berbagai perbandingan untuk mengetahui perbandingan mana yang dapat memisahkan senyawa flavonoid dengan baik. Dari semua fase gerak yang digunakan untuk menentukan eluen yang sesuai, hasil yang dapat memisahkan senyawa flavonoid dengan baik adalah etil asetat:kloroform (8:2). Namun hasil yang didapat senyawa pada bonggol serta daun brokoli tidak sejajar, kemungkinan senyawa flavonoid yang terdapat pada sampel bonggol dan daun brokoli bukan senyawa kuersetin sehingga dengan menggunakan beberapa eluen tidak ada yang sejajar dengan pembanding kuersetin.

5.8. Penetapan Kadar Flavonoid Total

Penetapan kadar flavonoid total dilakukan dengan metode Chang (2002:179), dengan menggunakan kuersetin sebagai pembanding. Larutan kuersetin dibuat beberapa konsentrasi yaitu 40, 60, 80, 110, 120, 130, dan 140 µg/ml. Larutan sampel dibuat beberapa konsentrasi, tiap konsentrasi ditambahkan 1,5 ml metanol, 0,1 ml aluminium klorida 10%, 0,1 ml natrium asetat 1M dan 2,8 ml aquadest. Diinkubasi selama 30 menit, kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 426 nm (**Lampiran 11**) dengan

spektrofotometer UV-Sinar tampak. Kurva kalibrasi larutan pembanding kuersetin dapat dilihat pada **Gambar V.1**



Gambar V.1 Kurva kalibrasi larutan pembanding kuersetin

Kadar flavonoid total diperoleh dengan memasukkan nilai absorbansi sampel dengan penambahan 1,5 ml methanol, 0,1 ml alumunium klorida 10%, 0,1 ml natrium asetat 1M dan 2,8 ml aquadest terhadap kurva baku kuersetin. Hasil penetapan kadar flavonoid total, pada daun lebih tinggi dibandingkan dengan bonggol, seperti terlihat pada **Tabel V.4 dan Lampiran 11**

Tabel V.4 Tabel hasil pengamatan % rata-rata kadar flavonoid total

Sampel	% Rata-Rata Kadar Flavonoid Total
Ekstrak etanol bonggol	1,073 ($\mu\text{g/ml}$)
Ekstrak etanol daun	1,716 ($\mu\text{g/ml}$)

5.9. Pengujian Aktivitas Antioksidan

Terlebih dahulu dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum DPPH pada spektrofotometer UV-sinar tampak pada rentang 400-600 nm. Hasil penentuan panjang gelombang maksimum DPPH dengan konsentrasi 50 $\mu\text{g/ml}$ yaitu pada 515 nm, sehingga seluruh rangkaian pengujian aktifitas antioksidan menggunakan panjang gelombang 515 nm.

Pengukuran aktivitas antioksidan pada sampel dilakukan dengan menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH. Pengukuran aktivitas antioksidan sampel dilakukan pada panjang gelombang maksimum dari DPPH yaitu 515 nm. Pada pengukuran aktifitas antioksidan pada sampel ekstrak etanol bonggol serta daun brokoli (*Brassica oleracea* L. cv. groups Broccoli) terjadi perubahan warna pada larutan DPPH dalam metanol yang semula berwarna ungu pekat menjadi kuning setelah ditambahkan sampel. Semakin tinggi konsentrasi sampel maka larutan DPPH akan semakin berubah warna menjadi kuning. Hal ini menunjukkan bahwa sampel yang dicampurkan dengan larutan DPPH memiliki daya hambat terhadap radikal bebas.

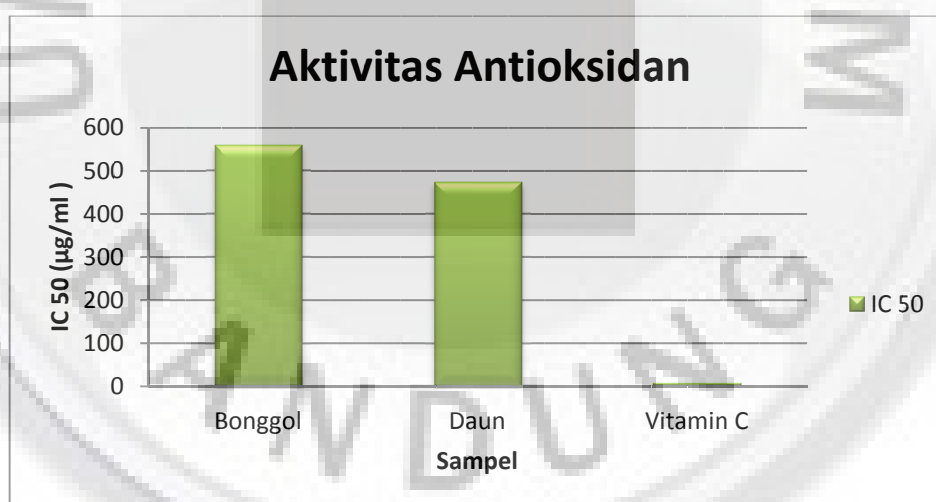
Nilai IC_{50} adalah konsentrasi yang mampu menghambat 50% aktivitas radikal bebas. Semakin tinggi konsentrasi sampel maka nilai IC_{50} akan semakin kecil karena radikal bebas diredam oleh antioksidan yang ada pada sampel. Pengujian aktivitas antioksidan terhadap sampel bonggol serta daun brokoli (*Brassica oleracea* L. cv. groups Broccoli) dengan menggunakan metode DPPH, dibuat konsentrasi yaitu 50, 100, 200, 500, 600, 700 $\mu\text{g/ml}$. Hasil nilai IC_{50} yang diperoleh pada ekstrak etanol bonggol brokoli sebesar 559,20 $\mu\text{g/ml}$, ekstrak etanol daun brokoli sebesar 474,08 $\mu\text{g/ml}$ (**Lampiran 12**). Sedangkan nilai IC_{50} yang diperoleh dari vitamin C yaitu 6,28 $\mu\text{g/ml}$ (**Lampiran 13**). Vitamin C digunakan sebagai pembanding antioksidan, karena vitamin C termasuk antioksidan kuat. Dari hasil pengamatan ekstrak bonggol serta daun brokoli menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan simplisia daun brokoli lebih besar

dibandingkan dari bonggol brokoli. Hasil perhitungan uji aktivitas antioksidan sampel dibandingkan dengan vitamin C dapat dilihat pada **Tabel V.5**.

Tabel V.5 Tabel hasil pengamatan aktivitas antioksidan antara % Inhibisi dan IC₅₀

Sampel	Aktivitas Antioksidan	
	% Inhibisi	IC ₅₀ (µg/ml)
Ekstrak etanol bonggol	37.68	559.20
Ekstrak etanol daun	39.11	474.08
Vitamin C	31.04	6.28

Nilai IC₅₀ dari bonggol brokoli yaitu 559,20 µg/ml, nilai IC₅₀ dari daun brokoli yaitu 474,08 µg/ml dan nilai IC₅₀ dari vitamin C yaitu 6,28 µg/ml. Sehingga diperoleh potensi aktivitas antioksidan ekstrak etanol bonggol brokoli 0,011 kali vitamin C sedangkan pada daun brokoli 0,013 kali vitamin C pembandingan, seperti dapat dilihat pada **Gambar V.2**.



Gambar V.2 Kurva uji aktivitas antioksidan

Dari hasil analisis statistika dengan menggunakan SPSS 17, bahwa adanya perbedaan bermakna antara kadar flavonoid total pada bonggol serta daun brokoli, adanya perbedaan bermakna antara aktivitas antioksidan pada bonggol serta daun brokoli, dan adanya korelasi antara kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan pada bonggol serta daun brokoli, seperti dapat dilihat pada **Lampiran 14**.