

Isolasi dan Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Daun Andong (*Cordyline fruticosa* (L) A.Chev)

Endah Nurrohwiata Djuwarno¹, Hamsidar Hasan^{2*}, Mahdalena Sy. Pakaya³,
Faramita Hiola⁴, Dewa Ayu Puspita Dewi⁵

^{1,2,3,4} Jurusan Farmasi Fakultas Olahraga dan Kesehatan, Universitas Negeri Gorontalo,
Jl. Jenderal Sudirman No. 06 Kota Gorontalo 96128, Indonesia

* Penulis Korespondensi. Email: hamsidar.hasan@ung.ac.id

ABSTRAK

Andong (*Cordyline fruticosa* (L) A. Chev) digunakan sebagai obat tradisional, penggunaan obat tradisional ini berhubungan dengan kandungan metabolit sekunder yang dikandung pada tanaman andong (*Cordyline fruticosa* (L) A. Chev). Secara empiris masyarakat menggunakan tanaman ini sebagai antioksidan, senyawa yang berperan sebagai antioksidan ini berkaitan dengan antiinflamasi. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengisolasi metabolit sekunder dari ekstrak N-Heksan, Etil Asetat dan Metanol dari daun Andong dan Untuk mengetahui efek antiinflamasi secara in vitro dengan metode stabilisasi sel darah merah. Metode yang digunakan dalam isolasi senyawa ini yaitu ekstraksi, identifikasi senyawa, fraksinasi KCV dan KKG, KLT, KLTP, dan karakterisasi senyawa menggunakan spektrofotometri UV-Vis dan FTIR. Hasil dari karakterisasi UV-Vis menunjukkan panjang gelombang maksimum yaitu 434 nm dan hasil karakterisasi FTIR menunjukkan adanya gugus fungsi yaitu O-H (Hidroksil) pada bilangan gelombang 3448,72 cm⁻¹, C-H (Alifatik) pada bilangan gelombang 2954,95 cm⁻¹, 2920,23 cm⁻¹, dan 2852,72 cm⁻¹, senyawa alifatik yang didukung dengan adanya CH₂ dan CH₃ pada bilangan gelombang 1463,97 cm⁻¹ dan 1379,10 cm⁻¹ C=O (Karbonil terkonyugasi) pada bilangan gelombang 1712,79 cm⁻¹, C=C pada bilangan gelombang 1633,71 cm⁻¹, C-O pada bilangan gelombang 1294,24 cm⁻¹. Sehingga besar kemungkinan senyawa yang berada pada isolat daun Andong adalah golongan senyawa flavonoid. Hasil pengujian Antiinflamasi isolat menunjukkan aktivitas paling efektif pada konsentrasi pada 100 ppm, dimana ppm kemampuan dalam menstabilkan membran sel darah merah sebesar 80,142 %.

Kata Kunci:

Andong; *Cordyline fruticosa* (L) A. Chev.); Senyawa Kimia; Antiinflamasi

Diterima:
24-07-2022

Disetujui:
17-09-2022

Online:
01-10-2022

ABSTRACT

Andong (*Cordyline fruticosa* (L) A. Chev) is used as traditional medicine, the use of this traditional medicine is related to the content of secondary metabolites contained in the andong plant. Empirically people use this plant as an antioxidant, the compound that acts as an antioxidant is related to antiinflamasi. The purpose of this study was to isolate secondary metabolites from the extracts of N-Hexane, Ethyl Acetate, and Methanol from Andong (*Cordyline fruticosa* (L) A. Chev) leaves and to determine the anti-inflammatory effect of the isolated secondary metabolites of Andong (*Cordyline fruticosa* (L) A. Chev) leaves through in vitro with red blood cell stabilization method. Several methods are used in the isolation of these compounds, namely extraction, identification of compound, fractionation of KCV and KKG, KLT, KLTP, and characterization of compounds using UV-VIS spectrophotometry and FTIR. The results of UV-VIS characterization show a maximum wavelength of 434 nm, and the results of FTIR characterization indicate the presence of a functional groups namely O-H (Hidroxy) at a wave number of 3448,72 cm^{-1} , C-H (Aliphatic) at a wave number of 2954,95 cm^{-1} , 2920,23 cm^{-1} , and 2852,72 cm^{-1} , aliphatic compounds are supported by the presence of CH_2 and CH_3 at wave number of 1463,97 cm^{-1} and 1379,10 cm^{-1} , C=O (conjugated carbonyl) at wave number of 1721,79 cm^{-1} , C=C at wave number of 1633,71 cm^{-1} , C-O at wave number of 1294,24 cm^{-1} . So it is very likely that the compounds in Andong leaves isolate are flavonoid compounds. Furthermore, the activity of results of the isolation is tested where the isolate whit a concentration of 100 ppm signifies the highest anti-inflammatory activity, with the ability to stabilize red blood cell membranes of 80,142 %.

Copyright © 2022 Jsscr. All rights reserved.

Keywords:

Andong; *Cordyline fruticosa* (L) A. Chev); Chemical compound; Anti-inflammation

Received:
2022 -07-24

Accepted:
2022 -09-17

Online:
2022 -10-01

1. Pendahuluan

Tumbuhan pada umumnya mengandung metabolit sekunder seperti terpenoid, steroid, kumarin, flavonoid dan alkaloid. Senyawa metabolit sekunder tersebut telah banyak digunakan sebagai zat warna, racun, aroma makanan maupun sebagai obat-obatan dimana metabolit skunder dapat mengobati suatu penyakit. Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam tumbuhan memiliki manfaat yang secara luas dalam bidang kesehatan, sehingga digunakan sebagai bahan pengobatan [1].

Salah satu tanaman yang bisa digunakan sebagai obat adalah Andong, Andong (*Cordyline fruticosa* (L) A. Chev) termasuk suku bawang-bawangan tanaman perdu tegak dengan tinggi 2-4 m, jarang bercabang, batangnya bulat, keras, bekas daun yang rontok berbentuk cincin. Tanaman Andong merupakan salah satu tanaman yang banyak di jumpai di lingkungan masyarakat salah satunya di kecamatan Wonosari, masyarakat Wonosari tidak asing lagi dengan tanaman ini karena jenis tanaman ini biasanya dijadikan sebagai tanaman hias dan banyak ditemukan di pinggir jalan, di kuburan, dan dijadikan tanaman pagar. Tidak jarang tanaman Andong biasa digunakan sebagai obat oleh masyarakat sekitar. Dimana menurut Suarsana *et al* secara empiris masyarakat Indonesia umumnya mengenal tanaman Andong merah sebagai tanaman obat yang dapat digunakan untuk mengobati inflamasi pada gusi, disentri, perdarahan pada luka, dan wasir berdarah. Penelitian sebelumnya yang dilakukan asih menyatakan bahwa daun andong merah mengandung senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, fenol, saponin, dan tannin [2,3].

Salah satu kandungan senyawa metabolit sekunder pada daun Andong mempunyai aktivitas antiinflamasi karena dapat menghambat beberapa enzim antara lain, Ca^{2+} ATPase, fosfodiesterase, lipooksigenase dan siklook-sigenase. Steroid dalam tubuh dapat menghambat enzim phospolipase A2 yaitu suatu enzim yang bertanggung

jawab atas pembebasan asam arakhidonat yang kemudian dimetabolisme oleh enzim siklooksigenase dan lipooksigenase yang kemudian akan membebaskan mediator-mediator radang. Metabolit sekunder yang diduga sebagai antiinflamasi yaitu senyawa steroid dan flavonoid hal ini sesuai dengan pernyataan Kurniawati dalam Fitriyani yang menyatakan bahwa mekanisme flavonoid dalam menghambat proses terjadinya inflamasi melalui dua cara, yaitu dengan menghambat permeabilitas kapiler dan menghambat metabolisme asam arakidonat dan sekresi enzim lisosom dari sel neutrofil dan sel endothelial [4,5].

Pada penelitian Leni Wijaya *et al* [6] juga membuktikan bahwa adanya efek antiinflamasi fraksi daun andong pada tikus putih jantan galur *Sprague dawey* pada fraksi n-heksan daun Andong (*Cordyline fruticosa* (L) A. Chev) mengandung golongan senyawa fenol dan steroid terpenoid yang diduga berperan dalam aktivitas antiinflamasi, dan potensi antiinflamasi fraksi etil asetat dan metanol air daun andong (*Cordyline fruticosa* (L) A. Chev) lebih kecil dibandingkan dengan meloxicam pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague Dawley*. Berdasarkan uraian diatas yang telah dijelaskan bahwa berlimpahnya populasi tanaman Andong di kecamatan Wonosari serta secara empiris masyarakat juga menggunakan tanaman ini sebagai salah satu pengobatan maka diperlukannya penelitian tentang tanaman Andong tersebut.

2. Metode

Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium untuk mengisolasi senyawa kimia yang memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi dari ekstrak daun Andong (*Cordyline fruticosa* (L) A. Cheval) yang dilakukan dengan metode stabilisasi membran sel darah merah tikus putih jantan (*Rattus novergicus*).

Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan Aquades, aspirin, asam klorida, buffer natrium fosfat pH 7,4 (0,15 M), etanol, FeCL₃, H₂SO₄, HCL pekat, kertas saring, larutan alsever, lempeng KLT silika gel, lempeng KLTP, suspensi sel darah merah, etil asetat, *isotonik saline*, *hipotonik saline*, metanol, metanol p.a, N-Heksan, pereaksi Lieberman-Burchard, pereaksi dragendorf, reagen mayer, Serbuk Mg, serbuk silika gel 60, serbuk silika gel 60 GF₂₅₄, Alat yang digunakan Autoklaf, bejana maserasi (*pyrex*), belender, *hot plate*, labu ukur, *magnetic stirer*, mikropipet, neraca analitik, oven, pipet tetes, pipet volume, *rotary evaporator*, sentrifugasi, spatula, spektrofotometer UV-VIS dan spektrofotometer IR.

Ekstraksi

Simplisia daun Andong (*Cordyline fruticosa* (L) A. Chev.) yang telah kering ditimbang sebanyak 371 g. Daun Andong (*Cordyline fruticosa* (L) A. Chev.) kemudian diekstraksi menggunakan metode maserasi bertingkat dengan pelarut N-heksan, etil asetat dan metanol. Sampel terlebih dahulu dimasukkan kedalam bejana maserasi kemudian ditambahkan N-Heksan sebanyak 2000 mL hingga semua sampel terendam sempurna kemudian diekstraksi. Selanjutnya sampel didiamkan selama 3 x 24 jam dan sesekali di stirer menggunakan magnetic stirer selama 1 jam. Setelah 3 x 24 jam perendaman ekstrak disaring untuk memisahkan filtrat dan residu, kemudian residu tersebut diangin-anginkan setelah dirasa kering dilanjutkan dengan pelarut yang kedua yaitu etil asetat.

Residu dari pelarut N-heksan kemudian dimasukkan kedalam bejana maserasi kemudian ditambahkan etil asetat sebanyak 2000 mL hingga semua sampel terendam sempurna kemudian diekstraksi. Selanjutnya sampel didiamkan selama 3 x 24 jam dan sesekali di stirer menggunakan magnetic stirer selama 1 jam. Setelah 3 x 24 jam perendaman ekstrak disaring untuk memisahkan filtrat dan residu, kemudian residu tersebut diangin-anginkan setelah residu dirasa sudah kering dan dilanjutkan dengan pelarut yang ketiga yaitu metanol. Residu dari pelarut Etil asetat kemudian dimasukkan kedalam bejana maserasi kemudian ditambahkan metanol sebanyak 2000 mL hingga semua sampel terendam sempurna kemudian diekstraksi. Selanjutnya sampel didiamkan selama 3 x 24 jam dan sesekali di stirer menggunakan magnetic stirer selama 1 jam. Setelah 3 x 24 jam perendaman ekstrak disaring untuk memisahkan filtrat dan residu. Setelah itu masing-masing ekstrak n-heksan, etil asetat dan metanol dievaporasi menggunakan alat Rotary Evaporator sampai terbentuk ekstrak kental, kemudian ekstrak kental tersebut dihitung persen rendamennya menggunakan rumus [7].

$$\text{Rendamen (\%)} = \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Simplisia Awal}} \times 100 \% \dots\dots\dots(1)$$

Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Andong (*Cordyline fruticosa* (L) A. Cheval)

Uji Flavonoid

Sebanyak gram ekstrak daun andong dilarutkan ke dalam 2 mL etanol, kemudian ditambahkan serbuk Mg dan HCl pekat sebanyak 5 tetes. Adanya senyawa flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah atau jingga [8].

Uji Alkaloid

Pada identifikasi atau pengujian alkaloid sebanyak 0,5 gr ekstrak daun andong dimasukkan kedalam tabung reaksi, lalu ditambahkan etanol sebanyak 2 mL dan ditambahkan 5 mL HCl 2 N, dipanaskan pada penangas air. Setelah dingin campuran tersebut disaring dan filtrat ditambahkan beberapa tetes reagen mayer. Adanya alkaloid apabila sampel berubah menjadi warna keruh atau terdapat endapan [8].

Uji Terpenoid dan Steroid

Sebanyak 0,5 gram sampel daun andong dimasukkan kedalam tabung reaksi lalu ditambahkan etanol sebanyak 2 mL kemudian ditambahkan pereaksi liberman dengan cara diteteskan pada dinding tabung reaksi. Bila terdapat cincin warna merah pada sampel maka positif mengandung steroid dan apabila sampel berubah warna maka positif mengandung terpenoid [8].

Uji Saponin

Diambil ekstrak daun andong ditambah dengan etanol, kemudian dipanaskan selama beberapa menit. Larutan dituang kedalam tabung reaksi dalam keadaan panas. Larutan diambil sebanyak 10 ml, kemudian dikocok kuat secara vertikal. Adanya saponin ditandai dengan terbentuknya busa dan tidak hilang pada saat ditambahkan dengan satu tetes HCl 2 N [8].

Uji Tanin

Sebanyak 1 mL ekstrak daun andong dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan FeCl₃ 1% sebanyak 2-3 tetes. Sampel positif mengandung tanin bila mengalami perubahan warna menjadi hijau kehitaman [8].

Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Ekstrak kental daun Andong (*Cordyline fructicosa* (L) A. Chev.) dianalisis menggunakan KLT (Kromatografi Lapis Tipis) dengan fase diam silika gel dan fase gerak menggunakan eluen n-heksan dan etil asetat pada berbagai perbandingan. Plat KLT diamati noda-noda menggunakan lampu UV 254 dan 366 nm. Setelah didapatkan noda yang diinginkan dilanjutkan dengan menghitung nilai R_f-nya menggunakan rumus[9] :

$$R_f = \frac{\text{Jarak Yang Ditempuh Oleh Komponen}}{\text{Jarak Yang Ditempuh Oleh Pelarut}} \dots\dots\dots(2)$$

Noda yang paling banyak senyawanya dilanjutkan ketahap selanjutnya untuk di fraksinasi yaitu dengan metode KCV (kromatografi kolom cair vakum).

Fraksinasi

Pemisahan Senyawa Menggunakan Kromatografi Cair Vakum

Ekstrak kental sampel daun Andong (*Cordyline fructicosa* (L) A. Chev.) yang terdiri dari beberapa komponen tersebut difraksinasi dengan metode kromatografi kolom cair vakum (KCV) menggunakan silika gel sebagai fase diam sedangkan fase geraknya eluen yang ditingkatkan kepolarannya secara bergradien. Hasil kromatografi kolom cair vakum ditampung dalam erlenmeyer kemudian dipekatkan kembali dengan *rotary evaporator* dan dikumpulkan dalam vial lalu dimonitor lagi dengan KLT.

Pemisahan Senyawa Menggunakan Kromatografi Kolom Gravitasi

Hasil fraksi gabungan dari KCV selanjutnya di fraksinasi kembali menggunakan fraksinasi kromatografi kolom gravitasi menggunakan silika gel sebagai fase diam sedangkan fase geraknya perbandingan eluen yang sesuai. Hasil kromatografi kolom gravitasi ditampung dalam vial kemudian dipekatkan kembali dengan *rotary evaporator* lalu dimonitor lagi dengan KLT.

Pemisahan Senyawa Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Preparatif

Hasil fraksinasi dengan metode KKG selanjutnya dipisahkan dengan metode Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLT-P) menggunakan eluen hasil orientasi dari KLT. Hasil fraksi kolom kromatografi dilanjutkan KLT- Préparatif dengan menggunakan plat KLT ukuran 10 x 10 cm. Fraksi ditotolkan pada plat KLT memanjang membentuk pita, lalu dielusi dengan eluen yang sesuai. Plat yang telah dielusi kemudian dikeluarkan dari dalam chamber lalu dikeringkan. Plat KLT selanjutnya diamati noda-noda menggunakan lampu UV 254 dan 366 nm. Noda yang dihasilkan kemudian dikerok dan dimasukkan kedalam vial dan ditambahkan pelarut metanol untuk kemudian digunakan pada Spektrofotometri UV-Vis dan FTIR.

Spektrofotometri UV-Vis

Fraksi hasil kromatografi lapis tipis preparatif yang sudah dipisahkan dengan silika kemudian dimasukkan ke dalam kuvet lalu diukur Panjang gelombang maupun absorbansinya pada spektrofotometri UV- Vis. Diperoleh dari laboratorium Biofarmaka Pusat Kegiatan Penelitian Fakultas Farmasi Universitas Hassanudin Makassar.

Spektrofotometri IR

Fraksi hasil kromatografi lapis tipis preparatif yang sudah dipisahkan dengan silika kemudian diukur pada spektrofotometri IR. Isolat ditetaskan pada pellet KBr, dikeringkan kemudian dianalisis dengan spektrofotometri inframerah pada rentang gelombang 4000 - 400 cm^{-1} . Diperoleh dari laboratorium Biofarmaka Pusat Kegiatan Penelitian Fakultas Farmasi Universitas Hassanudin Makassar.

3. Hasil dan Pembahasan

Ekstraksi Daun Andong (*Cordyline fruticosa* (L) A. Chev)

Daun andong (*Cordyline fruticosa* (L) A. Chev) diperoleh dari Desa Tri Rukun, Kecamatan Wonosari, Kabupaten Boalemo, Provinsi Gorontalo. Daun Andong yang telah diambil dicuci bersih, dirajang kemudian dikeringkan dan dihaluskan agar memperoleh serbuk simplisia.

Tabel 1. Hasil Ekstrak dan Perhitungan Rendamen Daun Andong

Ekstrak	Berat Sampel (g)	Volume Pelarut (mL)	Berat Ekstrak (g)	Rendemen (%)
N-Heksan	371	2000	35,9	9,67
Etil Asetat	365,8	2000	51	13,94
Metanol	350,7	2000	48,1	13,7

Tabel 1 menunjukkan bahwa hasil ekstraksi sampel 371 gram daun andong (*Cordyline fruticosa* (L) A. Chev (*Averrhoa bilimbi* L.)) menggunakan pelarut *n*-heksan sebanyak 2000 mL diperoleh ekstrak kental sebanyak 35,9 gram dengan % rendamen sebanyak 9,67%, 365,8 gram sampel yang diekstraksi dengan pelarut etil asetat sebanyak 2000 mL diperoleh ekstrak kental 51 gram dengan % rendamen sebanyak 13,94%, dan 350,7 gram sampel yang diekstraksi dengan pelarut metanol sebanyak 2000 mL diperoleh ekstrak kental sebanyak 48,1 gram dengan % rendamen sebanyak 13,7%. Hasil % rendamen dari masing-masing ekstrak memiliki % rendamen yang baik. Hasil ini memenuhi persyaratan Farmakope Herbal Indonesia bahwa dinyatakan rendamen yang baik yaitu rendamen yang tidak kurang dari 7,2% [10].

Skринing Fitokimia

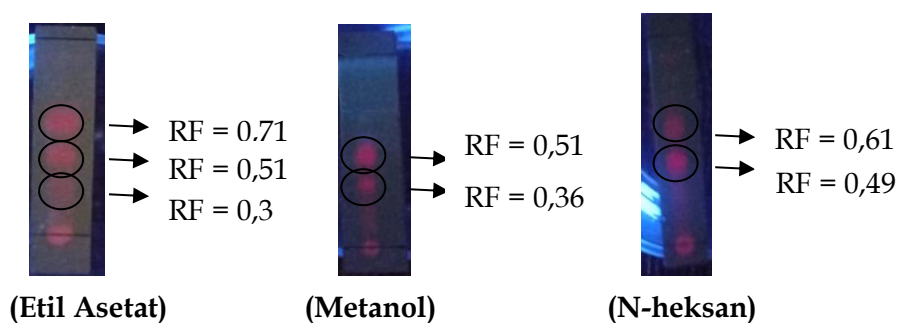
Data yang ditampilkan pada tabel 2 menunjukkan data hasil uji skrining fitokimia dari hasil ekstrak kental N-heksan, etil asetat dan metanol daun Andong (*Cordyline fruticosa* (L) A. Chev) pada ekstrak kental N-heksan positif mengandung senyawa steroid, pada ekstrak kental etil asetat positif mengandung senyawa flavonoid dan pada ekstrak kental metanol positif mengandung senyawa alkaloid, terpenoid, dan tanin. Hal ini diperkuat dengan penelitian yang dilakukan oleh Towiyah *et al* [11], yang menyatakan bahwa ekstrak daun Belimbing Wuluh mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, steroid dan triterpenoid.

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Belimbing Wuluh

Ekstrak	Hasil Senyawa				
	Alkaloid (HCl+ dragendrfof)	Flavonoid (HCl+Mg)	Tannin (FeCl ₃)	Soponin (air panas +HCl)	Steroid/terpenoid (H ₂ SO ₄ + as. asetat anhidrat)
N-Heksan	-	-	-	-	+
Etil asetat	-	+	-	-	-
Metanol	+	-	+	-	+

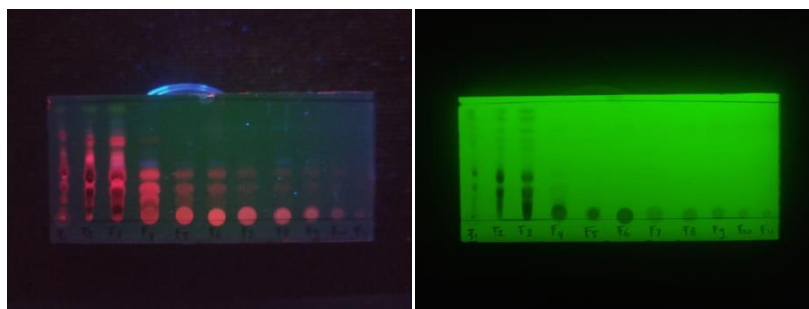
Hasil Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Andong (*Cordyline fructicosa* (L) A. Chev)

Pemisahan komponen senyawa ekstrak N-heksan, Etil asetat, Metanol daun andong (*Cordyline fructicosa* (L) A. Chev) dilakukan dengan cara Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya senyawa metabolit sekunder dari ekstrak daun andong (*Cordyline fructicosa* (L) A. Chev). Masing-masing ditotolkan pada plat KLT dan dielusi menggunakan eluen *n*-heksan : etil asetat dengan perbandingan 8:2. Setelah dilakukan proses elusi kemudian dilihat bercak noda pada lampu UV 366 nm.

**Gambar 1.** Hasil Kromatografi Lapis Tipis

Fraksinasi Dengan Metode Kromatografi Cair Vakum (KCV)

Berdasarkan hasil kromatografi lapis tipis menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat daun andong (*Cordyline fructicosa* (L) A. Chev) dapat dilanjutkan ke fraksinasi. Eluen yang baik adalah eluen yang dapat memisahkan senyawa dalam jumlah yang banyak yang ditandai dengan munculnya noda. Noda yang terbentuk tidak berekor dan jarak antara noda yang satu dengan yang lainnya terpisah jelas [12]. Fraksinasi digunakan untuk memudahkan dalam mengisolasi senyawa metabolit sekunder pada daun andong (*Cordyline fructicosa* (L) A. Chev). Fase diam yang digunakan dapat berupa silika gel atau alumunium oksida, sedangkan aliran fase geraknya dibantu dengan pompa vakum. Fase gerak yang digunakan pada metode ini yaitu dengan 11 perbandingan eluen *n*-heksan : etil asetat (*n*-heksan 50, 45:5, 40:10, 35:15, 30:20, 25:25, 20:30, 15:35, 10:40, 5:45, etil asetat 50) dalam 50 mL dan fase diam yang digunakan yaitu silika gel 60 GF₂₅₄.



(Sinar UV 366 nm)

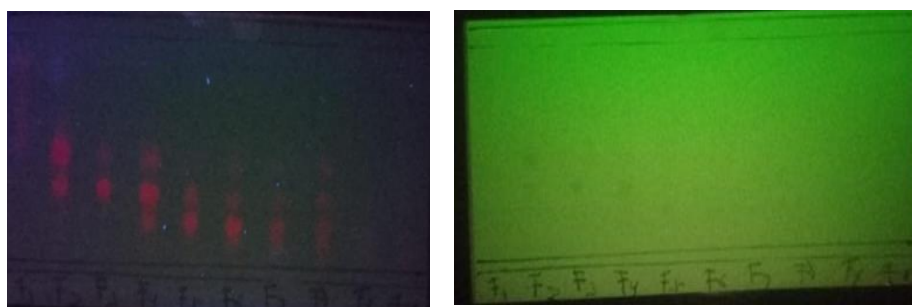
(Sinar UV 254 nm)

Gambar 2. Hasil Fraksinasi KCV

Gambar 2 menunjukkan bahwa hasil yang diperoleh adalah 11 fraksi yang kemudian hasil fraksi tersebut dimonitoring dengan KLT menggunakan eluen N-heksan : Etil asetat (8 : 2) selanjutnya diamati dibawah lampu UV 366 nm dan 254 nm. Visualisasi bercak noda dan warna yang sama digabung menjadi 1 fraksi, sehingga hasil fraksi menjadi 2 fraksi gabungan yaitu FA (F1-F3) dan FB (F4-F11) dan di evap mendapatkan berat hasil sebesar FA (0,0985) dan FB (0,066). Selanjutnya fraksi gabungan FA difraksinasi kembali dengan Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG).

Fraksinasi Metode Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG)

Hasil fraksi gabungan FA yang diperoleh setelah dilakukan penimbangan didapat sebesar 0,0985 gram, kemudian dilakukan fraksinasi lanjutan untuk didapatkan pemisahan senyawa yang lebih baik dan sederhana.



(Sinar UV 366 nm)

(Sinar UV 254 nm)

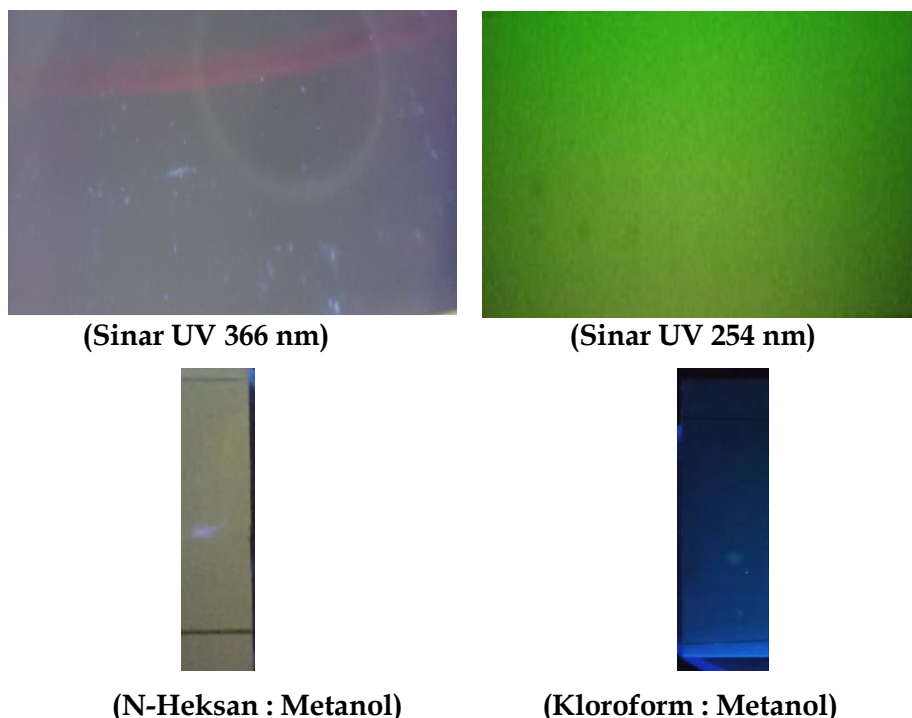
Gambar 3. Hasil Fraksinasi KKG

Fase gerak yang digunakan pada metode ini yaitu eluen *n*-heksan : etil asetat (8:2) dalam 100 mL dan fase diam yang digunakan adalah silika gel 60. Hasil yang diperoleh yaitu 10 fraksi, dimana hasil fraksi tersebut ditotolkan pada plat KLT untuk diamati penampakan bercak nodanya pada lampu UV 254 nm dan 366 nm, didapatkan 1 bercak noda tunggal pada fraksi 3 (F₃).

Analisis Isolat Fraksi Aktif Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)

Hasil fraksi (F₃) yang diperoleh dari metode KKG selanjutnya dilakukan penotolan pada plat KLTP. Tujuan dilakukannya KLTP yaitu untuk mendapatkan hasil isolat yang lebih banyak karena lempeng KLTP memiliki ukuran yang lebih besar dibandingkan dengan lempeng KLT. Eluen yang digunakan pada KLTP sama dengan

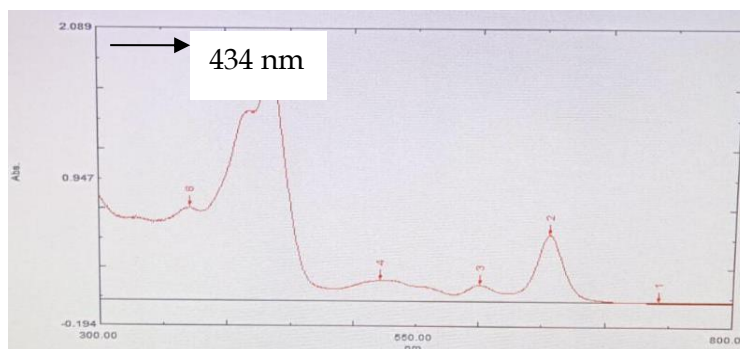
eluen yang digunakan pada KLT sebelumnya dengan perbandingan yang sama pula yaitu N-heksan : Etil asetat (8:2). Hasil fraksi (F_3) kemudian ditotolkan secara memanjang membentuk pita pada plat KLTP ukuran 20 x 20 cm dan dielusi dengan eluen yang sesuai.



Gambar 4. Hasil analisis KLTP Fraksi Aktif dan analisis KLT Isolat dari Fraksi Aktif

Gambar 4 menunjukkan bahwa hasil yang diperoleh yaitu noda tunggal, hal tersebut menunjukkan bahwa isolat dari fraksi 3 relatif murni. Hal tersebut diperkuat kemurniannya dengan dilakukan analisis KLT dari Isolat fraksi aktif tersebut dan diperoleh hasil visualisasi noda tunggal pada perbandingan eluen *n*-heksan : metanol (8:2) dan kloroform : metanol (7:3). Selanjutnya hasil dari KLTP tersebut dikerok untuk diambil isolatnya yang kemudian dimasukkan ke dalam vial dan di larutkan dalam metanol 10 ml untuk digunakan pada spektrofotometri UV-Vis, FTIR dan Uji aktivitas antiinflamasi.

Karakterisasi Senyawa Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

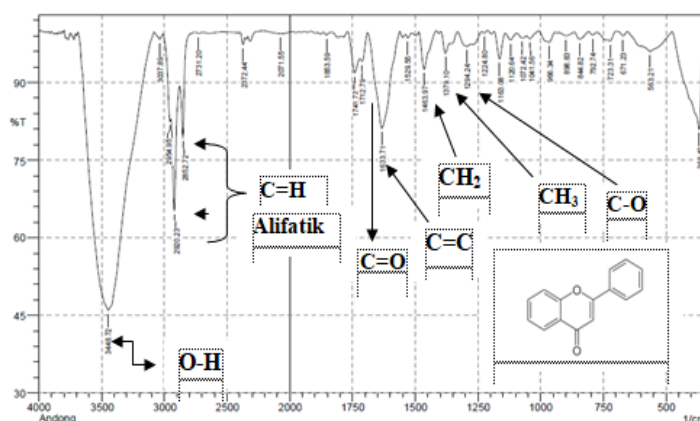


Gambar 5. Hasil Karakterisasi Senyawa Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

Gambar 5. menunjukkan panjang gelombang maksimum berada pada panjang gelombang 434 nm. Dari hasil tersebut diduga hasil isolasi senyawa daun andong (*Cordyline fructicosa* (L) A. Chev) adalah golongan senyawa flavonoid. Dimana hal ini didukung oleh Gandjar dan Rohman [13], bahwa panjang gelombang kuersetin yaitu 375-450 nm. Hasil tersebut diperkuat dengan penelitian yang dilakukan oleh Dian Kartika Sari *et al* [11], bahwa panjang gelombang maksimum golongan senyawa flavonoid ekstrak daun andong (*Cordyline fructicosa* (L) A. Chev) yang diperoleh yaitu 433 nm.

Karakterisasi Senyawa Menggunakan Spektrofotometri FTIR

Karakterisasi menggunakan spektrofotometri Inframerah digunakan untuk menentukan gugus fungsi dari senyawa hasil isolasi daun andong (*Cordyline fructicosa* (L) A. Chev).



Gambar 6. Hasil Karakterisasi Senyawa Menggunakan Spektrofotometri FTIR

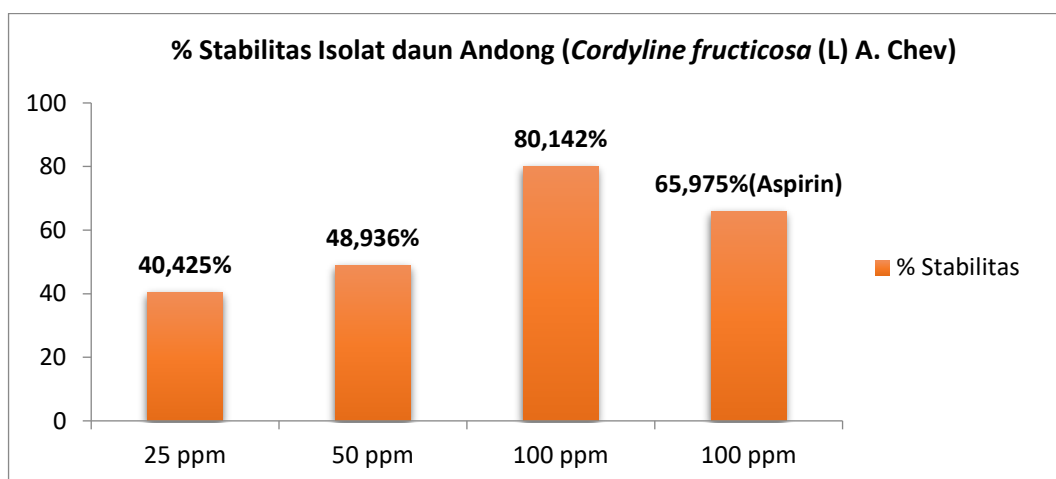
Hasil pengukuran spektrum IR pada gambar 6, diperoleh serapan pada bilangan gelombang $3448,72 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus fungsi O-H (Hidroksil) terikat. Menurut Pavia *et al* [14], gugus O-H (Hidroksil) terikat berada pada serapan $3600\text{-}3000 \text{ cm}^{-1}$ yang membentuk pita lebar, dugaan ini didukung oleh adanya serapan pada bilangan gelombang $1294,24 \text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan adanya C-O. Serapan pada bilangan gelombang $1712,79 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus fungsi C=O (Karbonil terkonyugasi). serapan pada bilangan gelombang $2954,95 \text{ cm}^{-1}$, $2920,23 \text{ cm}^{-1}$, dan $2852,72 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus fungsi C-H (Alifatik) senyawa alifatik yang didukung dengan adanya CH₂ dan CH₃ pada bilangan gelombang $1463,97 \text{ cm}^{-1}$ dan $1379,10 \text{ cm}^{-1}$. Adanya gugus CH₃ dan CH₂ juga didukung adanya serapan tajam dan intensitas lemah yang merupakan vibrasi tekuk C-H alifatik. Serapan bilangan gelombang $1633,71 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus fungsi C=C [15]. Sehingga besar kemungkinan senyawa yang berada pada isolat daun Andong (*Cordyline fructicosa* (L) A. Chev) adalah golongan senyawa flavonoid.

Hasil Uji Stabilisasi Membran Eritrosit Isolat

Stabilisasi membran eritrosit digunakan sebagai metode untuk mengetahui aktivitas antiinflamasi secara invitro. Dari hasil pengamatan yang telah dilakukan, diperoleh presentase stabilisasi membran eritrosit sebagai berikut.

Tabel 3. Stabilisasi Membran Eritrosit dari Isolat Daun Andong

Larutan Uji	Konsentrasi (ppm)	Stabilisasi (%)
Isolat daun Andong (<i>Cordyline fructicosa</i> (L) A. Chev)	25	40,425
	50	48,936
	100	80,142
Aspirin	100	65,975

**Gambar 7.** Histogram Stabilisasi Membran Eritrosit dari Isolat Daun Andong

Berdasarkan dari tabel 3 dan gambar 7 histogram diatas terlihat pada konsentrasi 25 ppm diperoleh % stabilitas sebesar 40,425%, pada konsentrasi 50 ppm diperoleh % stabilitas sebesar 48,936%, dan pada konsentrasi 100 ppm diperoleh % stabilitas sebesar 80,142% untuk konsentrasi eritrosit dari isolat daun Andong sedangkan untuk aspirin konsentrasi 100 ppm diperoleh % stabilitas sebesar 65,975%. Aktivitas antiinflamasi dari isolat daun Andong dapat dilihat dari adanya penurunan absorbansi pada campuran larutan uji. Semakin kecil nilai absorbansi yang dihasilkan maka semakin kecil hemolisis yang terjadi, sehingga semakin besar aktivitas anti inflamasi yang dimiliki oleh sampel. Aspirin digunakan sebagai kontrol positif karena merupakan obat antiinflamasi non steroid yang bekerja dengan cara mencegah pelepasan mediator antiinflamasi sehingga dapat menghambat sintesis prostaglandin atau siklooksigenase dan juga memiliki efek sebagai antipiretik dan analgesik [16].

Hasil Analisis Data Statistik

Hal ini juga dibuktikan dengan analisa secara statistik, untuk analisa awal yang dilakukan uji normalitas dengan metode kolmogorof-Smirnov untuk melihat distribusi data persen stabilitas membran sel darah merah aspirin pada konsentrasi 100 ppm dan isolat daun Andong pada konsentrasi 25 ppm, 50 ppm, dan 100 ppm. Hasil analisa menunjukkan semua kelompok perlakuan terdistribusi normal.

Kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas dengan metode levene untuk melihat presentase data stabilitas membran sel darah merah aspirin pada konsentrasi 100 ppm dan isolat daun Andong pada konsentrasi 25 ppm, 50 ppm dan 100 ppm homogen atau tidak, hasil menunjukkan keompok perlakuan tersebut tidak terdistribusi secara homogen ($p \leq 0,05$) maka dilanjutkan dengan uji Kurkal-Wallis. Selanjutnya

dilakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) dengan metode Least Significane Different (LSD) [17].

Antar konsentrasi pada perlakuan isolat daun Andong berbeda secara bermakna membuktikan bahwa peningkatan konsentrasi akan memberikan peningkatan yang bermakna pada kemampuannya untuk menstabilisasi membran sel darah merah yang dirujuk pada kemampuan kontrol positif (Aspirin) pada konsentrasi 100 ppm untuk menstabilkan membran sel darah merah. Dimana, isolat daun Andong pada konsentrasi 100 ppm identik dengan Aspirin dalam konsentrasi 100 ppm, sedangkan kelompok ekstrak dengan konsentrasi 25 dan 50 ppm tidak identik dengan Aspirin dalam konsentrasi 100 ppm. Jadi berdasarkan persen (%) stabilitas yang diperoleh perlakuan isolat pada konsentrasi 100 ppm memiliki kemampuan menstabilkan membran sebesar 80,142%.

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa Metabolit sekunder yang dapat diisolasi dari ekstrak N-Heksan, Etil Asetat dan Metanol dari daun Andong (*Cordyline fruticosa* (L) A. Chev) yaitu senyawa Flavonoid. Serta isolat dari daun Andong (*Cordyline fruticosa* (L) A. Chev.) mempunyai efek aktivitas antiinflamasi. Isolat dengan konsentrasi 100 ppm mempunyai aktivitas antiinflamasi yang paling tinggi. Hasil ini dilihat dari kemampuannya dalam menstabilkan membran sel darah merah yaitu sebesar 80,142 %.

Referensi

- [1]. Mariana L., Andayani Y. and Gunawan R., 2013., *Analisis Senyawa Flavonoid Hasil Fraksinasi Ekstrak Diklorometana Daun Keluwih (Artocarpus camansi)*, Chem. Prog., 6 (2), 50-55.
- [2]. Suarsana, I. N., Kumbara, A. A. N. A., & Satriawan, I. K., 2015., *Tanaman Obat Sembuhkan Penyakit Untuk Sehat*. (I. N. G. Antara, Ed.). Denpasar: Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Udayana.
- [3]. Asih, A., 2014 ., *Antihelmintik Infusa Daun Andong (Cordyline fruticosa) terhadap Ascaridia galli secara In vitro.*, Universitas Atma Jaya Yogyakarta.
- [4]. Katzung, B. G., 2004., *Farmakologi Dasar dan Klinik. Edisi XIII. Buku 3. Translation of Basic and Clinical Pharmacology*. Eight Edition Alih bahasa oleh Bagian Farmakologi Fakultas kedokteran Universitas Airlangga. Jakarta: Salemba Medika.
- [5]. Fitriyani, A., L. Winarti, St. Muslichah dan Nuri., 2011., *Uji Antiinflamasi Ekstrak Metanol Daun Sirih Merah (Piper crocatum Ruiz & Pav) Pada Tikus Putih*. Majalah Obat Tradisional 16(1) :34-42
- [6]. Wijaya Leni, Irsan Saleh, Theodorus Theodorus, Salni Salni., 2015., *Efek Antiinflamasi Fraksi Daun Andong (Cordyline Fruticosa L) Pada Tikus Putih Jantan (Rattus Norvegicus) Galur Sprague Dawley*. Artikel penelitian Departemen Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya.
- [7]. Abdul Sani, N. F. et al. (2014) 'Effect of the combination of gelam honey and ginger on oxidative stress and metabolic profile in streptozotocin-induced diabetic sprague-dawley rats', *BioMed Research International*. Hindawi Publishing Corporation, 2014(Dm). doi: 10.1155/2014/160695
- [8]. Harbone, J.B., 1987, *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Diterjemahkan Oleh Kosasisih Padmawinata dan Imam Sudiro., Edisi I, 9-10, ITB. Bandung Hal.

- [9]. Harmita. 2004. *Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya*. Majalah Ilmu Kefarmasian, 1 (3), 117-135
- [10]. Departemen Kesehatan Republik Indonesia (Depkes RI)., 2000., *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta.
- [11]. Towiyah, Ari Widiyantoro, Lia Destiarti., 2018., *Karakterisasi Flavonoid Dari Fraksi Etil Asetat Daun Tanaman Andong (Cordyline fruticosa) dan Aktivitasnya Terhadap Plasmodium falciparu.*, Program Studi Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura. 34-39.
- [12]. Gandjar, I.G., dan Rohman, A., 2012., *Analisis Obat Secara Spektrofotometri dan Kromatografi*. Yogyakarta : Pustaka Pelajar
- [13]. Dian Kartikasari, Adhysty Kharisma, Paula endang., 2019., *Penentuan Kadar Flavonoid Pada Ekstrak Etanol Daun Andong Merah dan Andong Hijau.*, Akademi Farmasi Pontianak.
- [14]. Pavia, D.L., Lampman, G.M., Kriz, G.S., and Vyvyan, J.R., 2009, *Introduction to Spectroscopy, 4th Edition, Brooks/Cole Cengage Learning, United State of America*.
- [15]. Sastrohamidjojo,H., 2002, *Kromatografi*, Edisi Kedua, 26-32, Penerbit Liberty Yogyakarta, Yogyakarta.
- [16]. Hitner, H., Nagle, B. 2012. *Pharmacology : An Introduction*. 6th ed. New York : McGraw Hill, p296-298.
- [17]. Santoso S. 2008. *Panduan Lengkap Menguasai Statistik dengan SPSS 16*. PT. Elex Media Komputindo. Jakarta; 237-247.