Journal Syifa Sciences and Clinical Research (JSSCR)
Volume 5 Nomor 1, 2023
Journal Homepage: http://ejurnal.ung.ac.id/index.php/jsscr, E-ISSN: 2656-9612 P-ISSN:2656-8187
DOI : https://doi.org/10.37311/jsscr.v4i3.16268

Karakterisasi Metabolit Sekunder Daun Jarak Cina *(Jathropa Multifida Linn)* Serta Efektifitasnya Penyembuhan Luka Insisi

Hamsidar Hasan[1*], Juliyanty Akuba[2], Fatrio Setiawan Ismail[3]

[1,2,3]*Jurusan Farmasi, Fakultas Olahraga dan Kesehatan, Universitas Negeri Gorontalo, Jl. Jenderal Sudirman No. 06 Kota Gorontalo 96128, Indonesia*

** Penulis Korespondensi. Email: hamsidar.hasan@gmail.com*

ABSTRAK

Luka insisi adalah hilang atau rusaknya sebagian jaringan tubuh yang disebabkan oleh kerusakan benda tajam. Tanaman Jarak cina *(Jathropa multifida linn)* merupakan salah satu tanaman yang diketahui mengandung senyawa alkaloid, saponin, flavonid dan tanin. Zat-zat tersebut berperan penting dalam proses penyembuhan luka sebagai antibakterial, antioksidan, dan anti-inflamasi Penelitian ini bertujuan untuk mengkarakterisasi senyawa yang terkandung dalam Jarak Cina *(Jathropa multifida linn)* dan untuk mengetahui efektifitasnya terhadap penyembuhan luka insisi pada mencit *(mus muculus)*. Beberapa metode yang dilakukan meliputi maserasi bertingkat, evaporasi, uji aktifitas ekstrak,skrining fitokimia, Kromatografi lapis tipis, Fraksinasi, kromatografi lapis tipis preparative, uji efktifitas isolate aktif serta analisis data one way anova. Hasil elusidasi senyawa Spektrofotometri UV-Vis diperoleh panjang gelombang maksimum isolate aktif pada panjang gelombang 425 nm dengan absorbansi 0.071. Hasil Spektrofotometri IR diperoleh gugus fungsi OH pada panjang gelombang 3448.72 cm^{-1}, C-H alifatik pada serapan 2954.95 cm^{-1}, 2920.23 $cm^{-1,}$ 2852,72 cm^{-1}yang didukung dengan adanya CH_2 pada serapan 1163.08 $cm^{-1,}$ C=O Karbonil terkonjugasi pada serapan 1734.01 cm^{-1}, C=O pada serapan 1635.64 cm^{-1}, C=C pada serapan 1463.97 cm^{-1}, serta C-O pada serapan 1379,10 cm^{-1} - 1290.38 cm^{-1}. Dari hasil identifikasi dan karakterisasi dapat disimpulkan isolat aktif mengandung golongan senyawa flavonoid. Hasil Uji Efektifitas Isolat Aktif menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara Isolat aktif dengan variasi konsentrasi 10%, 15% dan 20% terhadap kelompok lain. Isolat aktif menunjukan penyembuhan luka yang lebih efektif dibandingkan kontrol positif dan negative. Namun perbedaan variasi tidak menunjukan signifikasi dalam penyembuhan luka insisi pada mencit *(mus musculus)*.

Kata Kunci:
Jarak cina; Jathropa multifida linn ; Senyawa Kimia; Luka Insisi

Diterima:	*Disetujui:*	*Online:*
18-12-2022	*25-02-2023*	*01-03-2023*

ABSTRACT

An incision wound is the loss or destruction of part of the body's tissue caused by sharp object. Iodine (Jathropa multifida linn) plant is one of the plants known to contain alkaloids, saponins, flavonoids, and tannins where these substances play an important role in wound healing process as antibacterial, antioxidant, and anti inflammatory. The research aims to characterize compound in the Chinese jatropha and determine the effectiveness of healing incision wound in mice (mus muculus). The research applied several methods, including multilevel maceration, evaporation, extract activity test, phytochemical screening, thin layer chromatography, fractionation, preparative thin layer chromatography, active

isolate effectiveness test, and one way ANOVA data analysis. The result of the elucidation of UV-Vis Spectrophotometry compounds obtains the maximum wavelength of active isolate at a wavelength of 425 nm with an absorbance of 0.071. Meanwhile, the result of IR spectrophotometry indicates that the functional group of OH at a wavelength of 3448.72 cm, aliphatic C-H at an absorption of 2954.95 cm, 2920.23 cm, 2852.72 cm" supported by the presence of CII, at an absorption of 1163.08 cm, C-O Conjugated carbonyl at an absorption of 1734.01 cm, C=O at an absorption of 1635.64 cm, C-C at an absorption of 1463.97 cm, and C-O at an absorption of 1379.10 cm 1290.38 cm. In accordance with the results of identification and characterization, it can be concluded that the active isolate contains flavonoids. Additionally, the results of Active Isolate Effectiveness Test show that there is a significant difference between the active isolate with varying concentrations of 10%, 15% and 20% against other groups. The active isolate signifies more effective wound healing han positive and negative controls. However, the difference in variation does noth how any significance in incision wound healing in mice (Mus musculus).

Copyright © 2023 Jsscr. All rights reserved.

Keywords:
Iodine; Jathropa multifida linn; Plant; Chemical Componound; incision

Received:	***Accepted:***	***Online:***
2022-12-18	*2023-02-25*	*2023-03-01*

1. Pendahuluan

Luka digolongkan menjadi dua golongan yaitu golongan luka tertutup dan golongan luka insisi. Luka insisi merupakan kerusakan yang terjadi pada lapisan kulit yang disebabkan oleh benda tajam baik itu berupa goresan, insisian, tusukan dan lain sebagainya. Dalam merespon luka tersebut, tubuh memiliki fungsi fisiologis penyembuhan luka. Penyembuhan luka yang normal memiliki 3 fase yaitu, fase hemostasis ,fase inflamasi, dan fase proliferasi. Selain tiga di atas ada fase maturasi dan fase remodeling. Fase ini ada sejak terbentuknya luka hingga pengembalian integritas jaringan yang sempurna. Untuk memprecepat penyembuhan luka, perawatan luka berpengaruh besar terhadap tahap penyembuhan [1].

Perawatan luka dapat dilakukan dengan menggunakan terapi pengobatan. Pemberian obat akan membantu dalam menyembuhkan luka. Selain itu, zat yang dikandung juga dapat mempercepat proses penyembuhan seperti ekstrak jaringan, vitamin maupun mineral. Salah satu terapi obat yang biasa digunakan yaitu dengan menggunakan obat antiseptik seperti betadine. Betadine mengandung 10% povidone iodine. Povidone iodine merupakan kombinasi molekul iodine dan *polivinilpyrrolidone* yang memiliki sifat sebagai antimikroba atau antiseptik dan bereaksi terhadap bakteri termasuk bakteri anaerob, jamur, dan protozoa [2]. Povidone iodine harus digunakan secara hati - hati pada penderita yang alergi terhadap iodine karena dapat menimbulkan komplikasi, sehingga dapat menghambat penyembuhan luka. Alergi povidone iodine dapat menyebabkan dermatitis, bengkak, gatal dan rangsangan nyeri pada daerah sekitar luka [3].

Selain penggunaan obat modern, obat tradisional juga sedang mengalami perkembangan yang signifikan terhadap penyembuhan luka. Penggunaan obat tradisional lebih disukai karena tidak menimbulkan efek samping seperti obat-obatan dari bahan kimia, sehingga perhatian masyarakat meningkat dalam menemukan ekstrak tanaman untuk pengobatan luka meskipun terdapat kemajuan yang luar biasa dalam industri obat farmasi, ketersediaan obat yang mampu merangsang proses perbaikan luka masih terbatas. Pemanfaatan tanaman obat masih perlu terus digali dan dikembangkan berdasarkan penelitian dan pengkajian secara mendalam seiring dengan kemajuan teknologi. Salah satu tanaman yang secara empiris digunakan oleh

masyarakat yang berpotensi dalam penyembuhan luka dan perlu eksplorasi lebih lanjut yaitu tanaman Jarak Cina (*Jatropha multifida linn*) [4].

Hasil uji fitokimia daun Jarak Cina mengandung senyawa kimia yaitu golongan senyawa flavonoid fenol dan tanin. Tanin berperan menghambat hipersekresi cairan mukosa dan menetralisir protein inflamasi. Senyawa tanin mengandung senyawa antibakteri dimana senyawa tersebut membantu mengkerutkan dinding sel atau membran sel sehingga menghambat permeabilitas bakteri untuk berkembang. Selain itu senyawa tanin yang juga berperan dalam proses penyembuhan luka insisi, tanin bermanfaat sebagai astrigen dimana astrigen akan menyebabkan permeabilitas mukosa akan berkurang dan ikatan antara mukosa menjadi kuat sehingga mikroorganisme dan zat kimia iritan tidak dapa masuk ke dalam luka [5].

Flavonoid merupakan antimikroba yang mampu membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler terlarut serta dinding sel mikroba. Flavonoid bersifat anti inflamasi sehingga dapat mengurangi peradangan serta membantu mengurangi rasa sakit, bila terjadi pendarahan atau pembengkakan pada luka. Selain itu flavonoid bersifat antibakteri dan antioksidan serta mampu meningkatkan kerja sistem imun, karena leukosit sebagai pemakan antigen lebih cepat menghasilkan dan sistem limfoid lebih cepat diaktifkan. Senyawa fenol memiliki kemampuan untuk membentuk senyawa kompleks dengan protein melalui ikatan hidrogen, sehingga dapat merusak membran sel bakteri [5].

Berdasarkan penelitian oleh Nurfiddin Farid ekstrak etanol Jarak Cina (*Jatropha multifida linn*) efektif dalam penyembuhan luka insisi pada tikus jantan. Pada konsetrasi 15%, ekstrak Jarak Cina paling efektif dalam penyembuhan luka insisi dibandingkan dengan konsentrasi 5 % dan 10 % [11]. Namun pada penelitian tersebut tidak dilakukan karakterisasi senyawa apa saja yang berperan dalam proses penyembuhan luka. Berdasarkan uraian diatas, serta keterbatasan penelitian terhadap tanaman Jarak Cina (*Jatropha multifida linn*) dalam penyembuhan luka insisi, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengkarakterisasi metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman Jarak Cina serta bagaimana efektifitasnya dalam penyembuhan luka.

2. Metode

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium untuk mengkarakterisasi kandungan metabolit sekunder pada tanaman Jarak Cina *(Jatropha multifida linn)* dan melihat efektifitasnya dalam penyembuhan luka Insisi pada Mencit.

Bahan

Bahan - bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah Aquades, alkohol swabs, Amoniak, etanol 70%, etanol 96%, etil asetat, $FeCl_3$, HCl, H_2SO_4, Klorofom, Lempeng KLT GF_{254}, Metanol, n-Heksan, Sampel daun tanaman Jarak Cina *(Jatropha multifida L)*, Povidine Iodine 10%, Mencit Putih *(Mus musculus)*,Pereaksi Dragendraf, Meyer dan Wagner, Serbuk Magnesium dan Silika Gel 60 dan GF_{254}.

Pengolahan sampel

Bagian Tanaman yang diambil adalah bagian Daun Jarak Cina yang berumur 3 Tahun. Daun yang diambil adalah daun yang tua (bukan yang kuning), berwarna hijau segar dan tidak berjamur. Daun dipetik satu persatu secara manual pada pagi hari pukul 9 sampai pukul 11. Daun dibuat dalam simplis kering kemudian diserbukan dan disimpan dalam wadah tertutup dan pada suhu ruang [5].

Ekstraksi

Simplisa Daun jarak cina diekstraksi menggunakan metode maserasi bertingkat. Sampel sejumlah dimasukkan dalam bejana kaca, kemudian dimaserasi dahulu

menggunakan pelarut non-polar n-heksan. Proses maserasi dilakukan selama 3 x 24 jam sambil sesekali diaduk. Setelah itu disaring (menggunakan kertas saring Whatman No 42) untuk memisahkan filtrat dan residunya. Filtrat Kemudian disimpan dalam bejana kaca dengan label ekstrak n-heksan Daun Jarak Cina. Residu di maserasi kembali menggunakan pelarut kedua yang bersifat semi polar etil asetat. Kemudian disaring hingga terpisah filtrat dan residu. Filtrat Kemudian disimpan dalam bejana kaca dengan label ekstrak etil asetat Daun Jarak Cina. Residu di maserasi kembali menggunakan pelarut ketiga yang bersifat polar yaitu etanol 96 %. Kemudian disaring hingga terpisah filtrat dan residu. Filtrat Kemudian disimpan dalam bejana kaca dengan label ekstrak etanol Daun Jarak Cina. Setelah proses maserasi selesai, ketiga Filtrat dievaporasi satu persatu menggunakan *rotary evaporator* sampai mendapatkan ekstrak kentalnya [4].

Uji aktifitas Ekstrak Kental n-Heksan, etil asetat dan methanol

Ekstrak kental diberikan pada punggung mencit yang telah diberikan luka insisi. Ekstrak kental dilarutkan dahulu pada Na-CMC. Esktrak diberikan sejumlah 2-3 tetes kemudian ditutup dengan kain kasa steril. Diberikan perlakuan setiap hari sampai luka sembuh. Kemudian diamati proses penyembuhan luka insisi pada mencit setiap hari sampai luka insisi sembuh atau tertutup. Ekstrak yang memiliki aktifitas menyembuhkan yang lebih cepat dilakukan pengujian pada proses selanjutnya [5].

Analisis Kromatografi Lapis Tipis

Ekstrak kental Jarak Cina *(Jatropha multifida linn)* dianalisis menggunakan KLT (Kromatografi Lapis Tipis). dengan fase diam silika gel dan fase gerak eluen yg sesuai. Kemudian lempeng diamati di bawah sinar UV 366 nm. Ekstrak yang di analisis dengan menggunakan kromatografi lapis tipis menggunakan fase diam G60 F254 dengan ukuran 1 cm x 5 cm dan fase gerak dengan berbagai perbandingan eluen. Tujuan analisis menggunakan KLT (Kromatografi Lapis Tipis) dengan fase diam silika gel dan fase gerak dengan beberapa eluen pada berbagai perbandingan untuk mengetahui jenis pelarut dan perbandingan yang sesuai pada tahap selanjutnya di kromatografi kolom cair vakum [15].

Uji Skrining Fitokimia

1. Uji Flavonoid

Sampel dilarutkan ke dalam 2 ml etanol, kemudian ditambahkan serbuk Mg dan HCl pekat sebanyak 5 tetes. Adanya senyawa flavonoid ditunjukkan dengan terentuknya biru, kuning ,Hijau, warna merah atau jingga [6] [16].

2. Uji Alkaloid

Ekstrak diambil sebanyak 0,1 gram kemudian dengan 3 tetes HCL. Selanjutnya ditambah pereaksi Dragendrof. Alkaloid pada sampel ditandai dengan adanya endapan putih pada pereaksi meyer, endapan merah pada pereaksi Dragendrof dan endapan coklat pada pereaksi Wagner [6] [16].

3. Uji terpenoid dan Steroid

Sebanyak 0,1 gram sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi lalu Kemudian ditambahkan larutan etil asetat sebanyak 3 tetes dan larutan H_2SO_4 pekat sebanyak 1 tetes. Adanya triterpenoid pada sampel ditunjukkan dengan adanya warna merah dan warna hijau untuk steroid [6] [16].

4. Uji Saponin

Sebanyak 1 gram ekstrak ditambah dengan etanol, kemudian dipanaskan selama beberapa menit. Larutan dituang ke dalam 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 [6] [16].

5. Uji Fenolik/Tanin

Ekstrak diambil sebanyak 0,1 gram dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan methanol/aquades dan dikocok hingga homogen. Sampel ditambahkan 5 tetes $FeCl_3$ 1% dan dikocok. Hasil positif yaitu terbentuk wana hijau kehitaman [6] [16].

Kromatografi Kolom Cair Vakum

Ekstrak aktif daun Jarak Cina *(Jatropha multifida L)* ditimbang sebanyak 2 gram kemudian dicampurkan dengan fase diam silica gel. Proses fraksinasi menggunakan fase diam silika gel GF 254 dan fase geraknya berupa eluen yang ditingkatkan kepolarannya secara bergradien dimulai dari n-heksan 100%, *n*-heksan : etil asetat (perbandingan 45:5, 40:10, 35:15, 30:20, 25:25, 20:30, 15:35, 10:40, 5:45) dan etil asetat 100%. Fraksinasi metode kromatografi cair vakum bertujuan memisahkan bagian besar senyawa yang berasal ekstrak menjadi fraksi sederhana dengan bantuan pompa vakum sehingga pemisahan dapat dikerjakan secara cepat dan pemisahan yang berbeda-beda sesuai eluen kepolaran yang digunakan. Hasil Fraksi tersebut kemudian ditotolkan pada plat KLT dengan fase gerak eluen dengan perbandingan yang telah dioptimasi pada analisis kromatografi lapis tipis. Profil KLT diamati noda yang terbentuk pada sinar UV 366 nm dan 254 nm [4].

Kromatografi Kolom Gravitasi

Fraksi – fraksi hasil fraksinasi sebelumnya digabung menjadi fraksi gabungan dengan parameter kesamaan penampakan profil KLT dan warna sampel. Kemudian fraksi gabungan dievaporasi untuk menguapkan pelarut. Setelah kering, fraksi ditimbang sejumlah lalu dicampurkan dengan silica gel 60. Prinsip kerjanya adalah didasarkan pada perbedaan afinitas absorbsi komponen-komponen campuran terhadap permukaan fasa diam. Fase gerak yang digunakan sejumlah 300 ml dengan perbandingan eluen yang optimum. hasil fraksi kemudian ditotolkan pada plat KLT untuk diamati penampakan bercak nodanya pada lampu UV 254 nm dan 366 nm [4].

Analisis Kromatografi lapis tipis preparatif

Fraksi aktif yang menunjukan profil KLT yang memuaskan dilakukan pemisahan lanjutan dengan analisis KLT-preparatif. Kromatografi lapis tipis preparative bertujuan untuk memudahkan proses isolasi senyawa serta memudahkan identifikasi pada Spektrofotometri Uv-Vis dan IR. Fraksi ditotolkan pada lempeng KLTP Ukuran 10 cm x 20 cm secara garis lurus dengan fase diam silica gel GF254. Lempeng kemudian dimasukkan dalam chamber yang berisi fase gerak dengn perbandingan eluen yang optimum berdasarkan analisis kromatografi lapis tipis. 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 untuk kemudian digunakan pada Spektrofotometri Uv-Vis dan IR [15].

Identifikasi dengan Spektrofotometer

Analisa dengan alat Spektrofotometer UV-Visible dan Ir dilakukan di Laboratorium Kimia dan Laboratorium terpadu Fakultas MIPA Universitas Hassanudin Makassar.

Uji efektifitas Isolat aktif

Hewan uji yang telah dipilih dikelompokkan menjadi 5 kelompok, dimana kelompok 1 (kontrol negatif), kelompok 2 (kontrol positif), kelompok 3 (uji 1), kelompok 4 (uji 2), kelompok 5 (uji 3). Dan masing - masing kelompok terdiri dari 3 ekor mencit:

a. Kelompok Kontrol I (Negatif) Merupakan kelompok negatif, pada hari ke-1 hewan uji yang telah diinsisi bagian punggung, diberikan larutan Na-CMC sebanyak 2-3 tetes kemudian ditutup dengan kain kasa steril. Diberikan perlakuan setiap hari sampai luka sembuh. Kemudian diamati proses penyembuhan luka insisi pada mencit setiap hari sampai luka insisi sembuh atau tertutup [5].
b. Kelompok Kontrol II (Positif) Merupakan kelompok positif, pada hari ke-1 hewan uji yang telah diinsisi bagian punggung, diberikan Povidine Iodine sebanyak 2-3 tetes kemudian ditutup dengan kain kasa steril. Diberikan perlakuan setiap hari sampai luka sembuh. Kemudian diamati proses penyembuhan luka insisi pada mencit setiap hari sampai luka insisi sembuh atau tertutup [5].
c. Kelompok Uji I Merupakan kelompok yang diberikan isolat aktif dengan konsentrasi 10%. Pada hari ke-1 hewan uji yang telah diinsisi bagian punggung diberikan Isolat secara topikal kemudian ditutup dengan kain kasa steril. Diberikan perlakuan setiap hari sampai luka sembuh. Kemudian diamati proses penyembuhan luka insisi pada mencit setiap hari sampai luka insisi sembuh atau tertutup [5].
d. Kelompok Uji I Merupakan kelompok yang diberikan isolat aktif dengan konsentrasi 15%. Pada hari ke-1 hewan uji yang telah diinsisi bagian punggung diberikan Isolat secara topikal kemudian ditutup dengan kain kasa steril. Diberikan perlakuan setiap hari sampai luka sembuh. Kemudian diamati proses penyembuhan luka insisi pada mencit setiap hari sampai luka insisi sembuh atau tertutup [5].
e. Kelompok Uji I Merupakan kelompok yang diberikan isolat aktif dengan konsentrasi 20%. Pada hari ke-1 hewan uji yang telah diinsisi bagian punggung diberikan Isolat secara topikal kemudian ditutup dengan kain kasa steril. Diberikan perlakuan setiap hari sampai luka sembuh. Kemudian diamati proses penyembuhan luka insisi pada mencit setiap hari sampai luka insisi sembuh atau tertutup [5].

Analisis Data

Data lama penyembuhan luka insisi dinyatakan sebagai rata-rata ± SD. Analisa data dilakukan menggunakan *software* SPSS dengan uji statistik One Way ANOVA. dengan tingkat kepercayaan 95 % [5].

3. Hasil dan Pembahasan

Ekstraksi

Simplsia daun Jarak Cina *(Jathropa multifida linn)* sejumlah 400 g dimaserasi menggunakan pelarut n-heksan sejumlah 2 liter mendapatkan ekstrak kental sejumlah 35 g dan residu sejumlah 360 g. Residu dimaserasi kembali menggunakan pelarut etil asetat sejumlah 2 liter mendapatkan ekstrak kental sejumlah 27 g dan residu sejumlah 300 g. Residu di maserasi kembali menggunakan pelarut methanol dan mendapatkan ekstrak kental sejumlah 35 g.

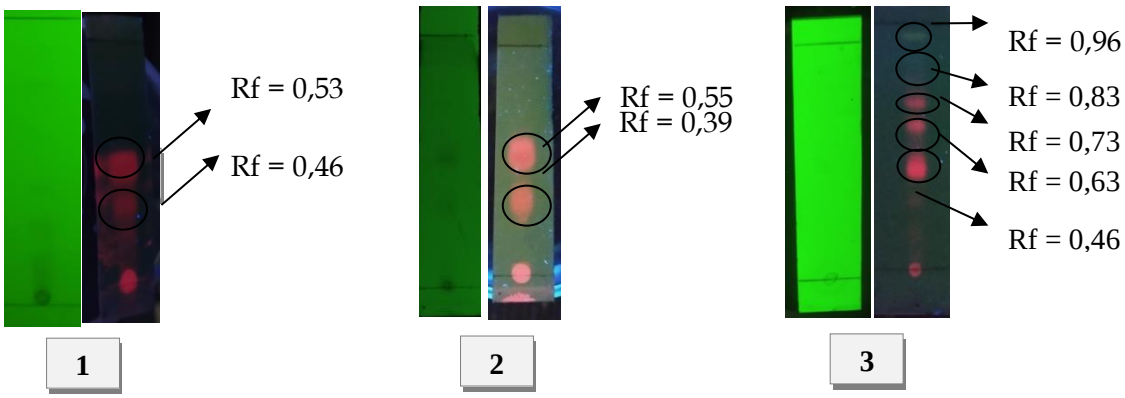
Tabel 1. Hasil Perhitungan Ekstrak dan Rendamen yang Diperoleh

Nama Pelarut	Jumlah Pelarut (mL)	Berat Sampel (g)	Berat Ekstrak (g)	Rendamen (%)
n-heksan	2000	400	35	8,75
Etil asetat	2000	360	27	7,5
metanol	1500	300	35	11,76

Persen rendamen yang baik berkisar antara 10-15 % [7,8]. Ekstrak methanol memnuhi syarat persen rendamen dibandingkan ekstrak lainnya. Adanya faktor suhu atau pemanasan pelarut pada tahap ekstraksi sehingga dapat meningkatkan perpindahan zat metabolit keluar konsentrasi rendah dengan lebih cepat. semakin tinggi suhu ekstraksi akan menyebabkan pergerakan molekul semakin cepat begitu juga dengan adanya sirkulasi pelarut dapat meningkatkan laju perpindahan massa senyawa dari sel daun, dengan demikian kontak zat dengan pelarut semakin sering sehingga diperoleh ekstrak yang lebih banyak dan diduga ekstraksi maserasi menghasilkan ekstrak yang lebih sedikit dikarenakan proses maserasi tidak mengalami pemanasan [9].

Analisis Kromatografi Lapis Tipis

Hasil pengamatan KLT ekstrak daun jarak cina pada sinar Uv 366 dapat dilihat dari gambar 2 berikut ini :



Keterangan : *(1) Visualisasi ekstrak n-heksan pada sinar UV 366 dan 254 nm*
(2) Visualisasi ekstrak etil asetat pada sinar UV 366 dan 254 nm
(3) Visualisasi ekstrak metanol pada sinar UV 366 dan 254 nm

Gambar 1. Profil Kromatografi lapis tipis ekstrak daun jarak cina

Gambar 1 menunjukan hasil KLT ketiga ekstrak jarak cina dengan menggunakan eluen n-heksan : etil asetat pada perbandingan 8 :2. Pada ekstrak n-heksan didapatkan nilai *Rf* = 0,53 dan 0,45 dengan noda tampak berwarna merah. Pada ekstrak etil asetat didapatkan nilai *Rf* = 0,55 dan 0,36 dengan noda tampak berwarna merah. Pada ekstrak metanol didapatkan nilai *Rf* = 0,83 ; 0,73 ; 0,63 ; 0,46 dengan noda tampak berwarna merah muda dan hijau.

Skrining fitokimia

Pada Uji Skrining fitokimia, ekstrak etil asetat dan methanol setelah ditambahkan pereaksi HCL dan serbuk magnesium menunjukan perubahan warna menjadi kuning yang diindikasikan mengandung flavonoid. Selanjutnya kedua ekstrak tersebut mengandung tannin, ditunjukan dengan perubahan warna menjadi hijau setelah ditambahkan $FeCl_3$. Ekstrak etil asetat dan methanol juga diindikasikan mengandung steroid dengan terbentuknya cincin hijau ketika ditambahkan pereaksi. Ekstrak n-heksan dan metanol positif mengandung terpenoid ditunjukan dengan adanyan endapan berwarna merah setelah ditambahkan pereaksi. Hasil skrining Fitokimia ekstrak n-heksan, etil asetat, dan methanol dapat dilihat pada table 2 dibawah ini :

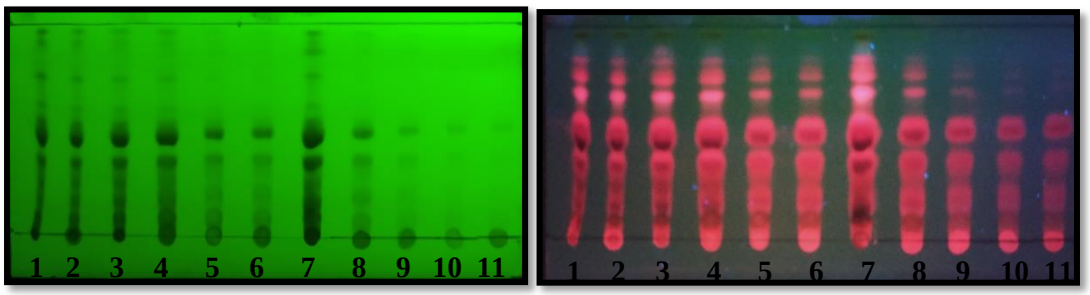
Tabel 2. Hasil Uji Skrining Fitokimia

Uji Fitokimia	Reagen	Hasil Uji		
		Ekstrak Daun Jarak Cina		
		n-Heksan	Etil asetat	Metanol
Flavonoid	Magnesium dan HCl	-	+	+
Alkaloid	HCl dan pereaksi Dragendroff	-	-	-
Saponin	Air Hangat dan HCl	-	-	-
Tanin	FeCl3	-	+	+
Terpenoid	Kloroform dan H2SO4	+	+	+
Steroid	Kloroform dan H2SO4	-	-	-

Fraksinasi Kromatografi Kolom Cair Vakum

Ekstrak kental methanol sebanyak 2 gram dicampurkan dengan fase diam silica gel G60. Proses fraksinasi menggunakan fase diam silika gel G60 dan fase geraknya berupa eluen yang ditingkatkan kepolarannya secara bergradien dimulai dari n-heksan 100%, *n*-heksan : etil asetat (perbandingan 45:5, 40:10, 35:15, 30:20, 25:25, 20:30, 15:35, 10:40, 5:45) dan etil asetat 100%. Diperoleh Hasil KCV sejumlah 11 fraksi. Fraksi tersebut kemudian ditotolkan pada plat KLT yang kemudian diamati noda yang terbentuk pada sinar UV 366 nm dan 254 nm yang dapat dilihat pada gambar 2

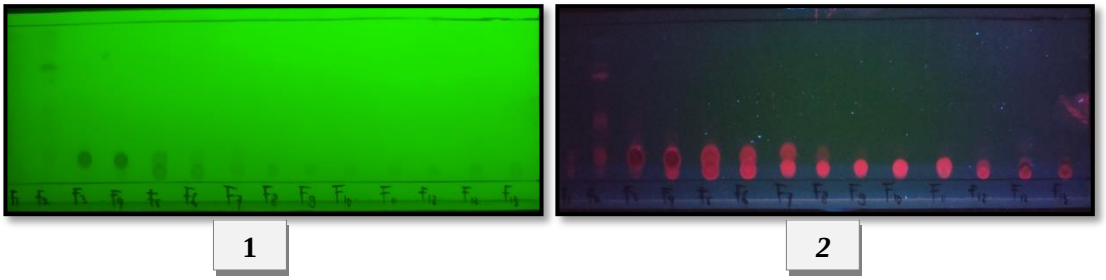
Gambar 2 menunjukan visualisasi profil KLT dari Fraksi hasil fraksinasi KKCV dengan menggunakan fase gerak eluen n-heksan : etil asetat pada perbandingan (8 : 2). Fraksi menunjukan penampakan noda yang masih mengekor. penampakan spot noda yang masih saling menyambung "mengekor" disebabkan oleh pengaruh penggunaan sampel yang terlalu banyak atau sampel yang masih terlalu pekat [9]. Maka dari itu 11 fraksi yang dihasilkan dicampur dan dievaporasi kembali untuk menghilangkan pelarut yang digunakan, kemudian difraksinasi lanjutan menggunakan metode Kromatografi Kolom Gravitasi.



Keterangan : (1) Visualisasi Fraksi Aktif pada sinar UV 254 nm
(2) Visualisasi Fraksi Aktif pada sinar UV 366 nm

Gambar 2. Profil Kromatografi lapis tipis Fraksi Aktif

Fraksi Aktif dengan profil KLT yang sama digabung kemudian di fraksinasi kembali menggunakan metode Kromatografi Kolom gravitasi dengan menggunakan silica gel 60 GF_{254} sebagai fase diam dan perbandingan eluen sebagai fase gerak secara bergradien. Kemudian Hasil dari fraksinasi kromatografi dilihat profil KLT yang diamati pada sinar UV 366 nm dan 256 nm dapat dilihat pada gambar dibawah ini :



Keterangan : (1) Visualisasi Hasil Fraksi Aktif KKG pada sinar UV 256 nm
(2) Visualisasi Hasil Fraksi Aktif KKG pada sinar UV 366 nm

Gambar 3. Profil Kromatografi lapis tipis Fraksi Aktif Hasil KKG

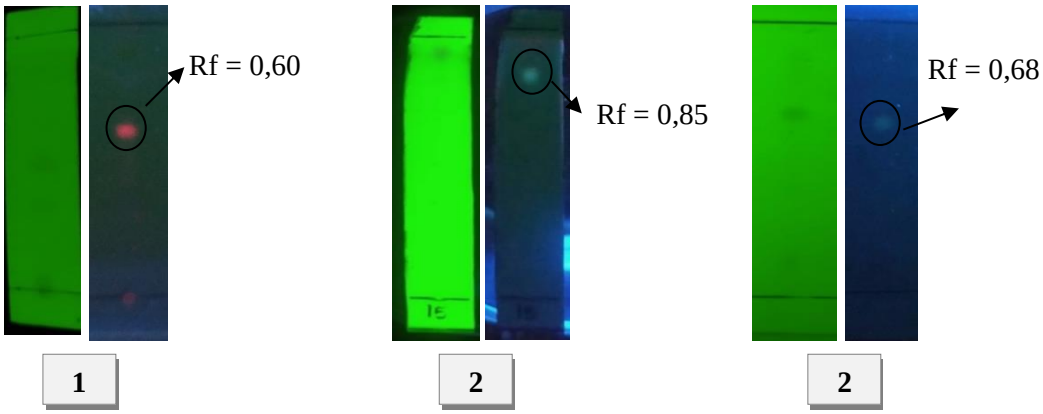
Pada Gambar 3 Profil KLT yang diamati pada sinar uv 254 nm dan 366 nm menunjukan pemisahan yang baik, ditandai dengan penampakan noda yang tunggal dan tidak berekor pada F1 dan F2. F2 dipilih untuk dikarakterisasi dan diuji kemurnia menggunakan KLTP dan instrument spekto UV-Vis dan IR karena spot noda ynag dihasilkan optimum dibandingkan F1.

Pengujian Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLT-P)

Hasil pengamatan KLTP Fraksi 2 pada sinar UV 366 nm dan 256 nm dapat dilihat pada gambar dibawah ini :

Gambar 4. Visualisas Pengujian KLTP

Gambar 4 menunjukan spot noda tunggal dengan menggunakan eluen n-heksan : etil asetat pada perbandingan (8:2). Visualisasi noda yang didapatkan dari pengujian Kromatografi Lapis Tipis Preparatif dikerok dan kemudian dilakukan monitoring Kromatografi lapis tipis untuk melihat kemurnian isolat, yang diamati pada sinar UV 366 nm dan 256 nm dengan fase gerak menggunakan eluen n-heksan : etil asetat, klorofom : methanol dengan berbagai perbandingan. Hasil Monitoring KLT Isolat aktif dapat dilihat pada gambar dibawah ini :



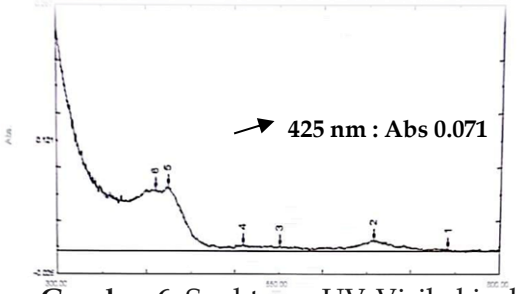
Keterangan :

(1) Visualisasi Isolat aktif pada perbandingan eluen n-heksan : etil asetat (8:2)
(2) Visualisasi Isolat aktif pada perbandingan n-heksan : etil asetat (8:2)
(3) Visualisasi Isolat aktif pada perbandingan eluen klorofom : methanol (7:3)

Gambar 5. Visualisasi Monitoring KLT Isolat aktif

Hasil Elusidasi Struktur dengan Spektrofotometri UV-Visibel

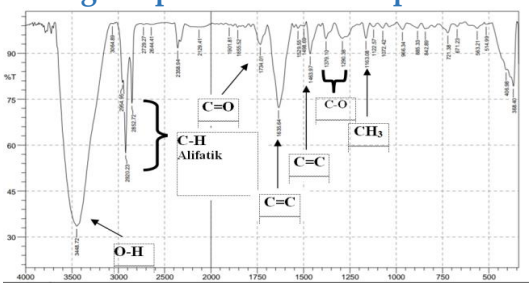
Elusidasi Struktur Isolat aktif menggunakan Spektrofotometri UV-Visibeldilakukan untuk mengetahui panjang gelombang maksimum yang dapat dilohat pada gambar dibawah ini.



Gambar 6. Spektrum UV-Visibel isolat aktif

Dari Hasil identifikasi senyawa menggunakan spektrofotometer UV Visibel menunjukan bahwa isolat aktif memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 425 nm dengan absorbansi 0.071. Pada penelitian oleh Roswita (2022) Kuersetin sebagai standar baku memiliki panjang gelombang maksimum yaitu 418 nm. Kuarsetin digunakan sebagai larutan standar karena kuersetin merupakan flavonoid golongan flavonol yang mempunyai gugus keton pada C-4 dan memiliki gugus hidroksil pada atom C-3 atau C-5 yang bertetangga dari flavon dan flavonol. Berdasarkan hasil tersebut, isolate aktif diindikasikan merupakan golongan flavonoid

Hasil Elusidasi Struktur dengan Spektrofotometri Spektrofotometri IR



Gambar 7. Spektrum UV-Visibel isolat aktif

Gambar diatas merupakan hasil interpretasi spektrum IR dari isolat aktif berdasarkan *peak* (bentuk pita), frekuensi dan intensitasnya. Berdasarkan gugus fungsi dan tipe vibrasi yang dihasilkan isolat aktif diindikasikan termasuk dalam golongan flavonoid. hasil analisis spektrofotometri Ir dapat dilihat pada tabel 3 dibawah ini :

Tabel 3. Interpretasi Spektrum IR

Frequency (cm^{-1})	Range Frekuensi	Intensitas	*Type of vibration*
3448.72	3000-3600	medium	O-H (Fenol)
2954.95 - 2920.23 2852,72	2800-2900	strong	C-H (Alkana) alifatik
1734.01	1740-1720	strong	C=O (Karbonil)
1635.64	1540-1640	strong	C=O (Keton)
1463.97	1470-1350	strong	C=C (Aromatik)
1379,10-1290.38	1200-1300	strong	C-O (Alkohol)
1163.08	1000-1200	strong	CH_3

Sumber : Pavia [12]

Berdasarkan Gugus fungsi dan beberapa tipe vibrasi yang dihasilkan pada karakterisasi spektrofotometri IR, isolate aktif merupakan senyawa yang termask dalam golongan flavonoid.

Hasil Uji Efektifitas Isolat Aktif

Isolat aktif yang telah diuji kemurnida dilakukan pengujian efektifitasnya terhadap penyembuhan luka insisi pada hewan coba dengan menggunakan kontol positif Povidine iodine 10%. Hasil uji efektifitas dapat dilihat pada table 4. Dari data yang diperoleh, dapat dibandingkan bahwa penyembuhan luka insisi yang paling tercepat yaitu kelompok uji 3 (Isolat aktif 20%), urutan kedua yaitu kelompok uji 2 (Isolat aktif 15%), urutan ketiga yaitu kelompok uji 1 (Isolat aktif 10%) selanjutnya Kelompok kontrol positif dengan lama penyembuhan 12 hari dan kontrol negatif Na CMC dengan lama penyembuhan 13 hari. Berdasarkan Hasil Karakterisasi UV-Vis dan IR isolate termasuk dalam golongan flavonoid. Proses penyembuhan luka meliputi beberapa proses untuk meregenerasi jaringan yang telah rusak. Pada saat jaringan epidermis mengalami insisi atau sayatan, mikroorganisme yang menempel sekitar area kerusakan akan melakukan invasi ke dalam area luka. Respon inflamasi oleh tubuh akan melepaskan mediator inflamasi diantaranya sel mast yang berukuran besar dan sel leukosit untuk mengatasi invasi oleh mikroorganisme.

Tabel 4. Hasil Pengukuran Lama Penyembuhan Luka Insisi Isolat Aktif

Replikasi	Lama Penyembuhan Luka Insisi				
	Kontrol Negatif (Na-CMC)	Kontrol Positif (Povidine iodine 10%)	Isolat aktif		
			10%	15%	20%
1	13	12	10	10	9
2	12	12	11	10	10
3	14	11	10	10	9
Rata- rata	13	12	10	10	9

Flavonoid merupakan antimikroba yang mampu membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler terlarut serta dinding sel mikroba. Flavonoid bersifat anti inflamasi sehingga dapat mengurangi peradangan serta membantu mengurangi rasa sakit, bila terjadi pendarahan atau pembengkakan pada luka. Selain itu flavonoid bersifat antibakteri dan antioksidan serta mampu meningkatkan kerja sistem imun, karena leukosit sebagai pemakan antigen lebih cepat menghasilkan dan sistem limfoid lebih cepat diaktifkan. Senyawa fenol memiliki kemampuan untuk membentuk senyawa kompleks dengan protein melalui ikatan hidrogen, sehingga dapat merusak membran sel bakteri [5]. Pada proses inflamasi terjadi permeabilitas membran sel sehingga terjadi rubor (kemerahan) dan juga peradangan. Proses ini bertujuan agar sel darah putih dan trombosit membatasi kerusakan yang lebih serius juga mempercepat penyembuhan. inflamasi disebabkan oleh pelepasan berbagai mediator yang berasal dari jaringan rusak, sel mast, leukosit dan komplemen. Mediator–mediator tersebut menyebabkan munculnya tanda– tanda inflamasi seperti kalor, dolor, rubor, tumor, dan fungsio laesa. Proses ini terjadi pada hari pertama sampai hari ke-5. Pada proses ini aktivitas antiinflamasi flavonoid berperan secara optimal untuk membatasi pelepasan mediator inflamasi dengan cara menghambat COX-2, lipooksigenase dan tirosin kinase, sehingga terjadi pembatasan jumlah sel inflamasi yang bermigrasi ke jaringan luka. Selanjutnya reaksi inflamasi akan berlangsung lebih singkat dan kemampuan proliferatif dari TGF-β tidak terhambat, sehingga proliferasi segera terjadi. Menurut Ponusha *et, al* aktivitas flavonoid dalam meningkatkan kontraksi luka juga didukung oleh mekanisme antioksidan yang menghambat peroksidasi lipid, melindungi kulit dari radikal bebas dan melindungi jaringan dari stres oksidatif akibat cedera. Selain itu aktivitas antioksidan juga berpengaruh pada fase penyembuhan dimana fibroblas berproliferasi dan memproduksi matriks kolagen untuk memperbaiki jaringan yang rusak. Produksi matriks kolagen dapat menurun dikarenakan peningkatan radikal bebas sehingga diperlukan adanya antioksidan sebagai penetral radikal bebas.

Hasil Analisis Data

Setelah melakukan uji efektifitas, selanjutnya dianalisis data yang didapatkan untuk melihat bagaimana pengaruh efektifitasnya terhadap penyembuhan luka pada hewan coba dibandingkan kelompk control. Hasil analisis data menggunakan uji *one way anova* dapat dilihat pada gambar dibawah ini :

Tabel 6. Hasil Analisis Data Pada Uji Post Hoc (*Honestly Significant Difference)*

Kelompok	Kontrol Negatif	Kontrol Positif	Isolat 10%	Isolat 15%	Isolat 20%
Kontrol Negatif	-	0.148	0.003	0.001	0.000
Kontrol Positif	0.148	-	0.148	0.055	0.008
Isolat 10%	0.003	0.148	-	0.964	0.359
Isolat 15%	0.001	0.055	0.964	-	0.702
Isolat 20%	0.000	0.008	0.359	0.702	-

Dari data diatas dapat disimpulkan bahwa antara kelompok yang memiliki nilai signifikansi kurang dari 0.05 menunjukkan adanya perbedaan secara signifikan dalam penyembuhan luka insisi pada mencit jantan. Sedangkan antara kelompok yang memiliki nilai signifikansi besar dari 0.05 menunjukkan tidak ada perbedaan secara signifikan dalam penyembuhan luka insisi pada mencit jantan. Sehingga dari data tersebut kelompok kontrol positif berbeda secara signifikan terhadap semua kelompok uji ekstrak dan kelompok kontrol negatif. Sedangkan kelompok uji yang menggunakan isolat dapat mempercepat proses penyembuhan luka insisi pada mencit jantan dibandingkan kelompok kontrol positif dan negatif. Namun tidak ada perbedaan signifikan antara isolat dengan variasi konsentrasi, dimana dapat disimpulkan bahwa semakin konsentrasi tidak berpengaruh terhadap lama penyembuhan luka insisi pada mencit jantan.

4. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa isolate daun jarak cina mengandung senyawa golongan flavonoid yang memiliki efektifitas dalam penyembuhan luka. Isolat aktif memiliki karakterisasi panjang gelomabng 425 nm dengan absorbansi 0,071. Gugus fungsi yang diperoleh diantaranya O-H (Fenol) pada serapan 3448.72 cm-1, gugus C=O (Keton) sebagai ciri umum senyawa golongan flavonoid pada serapan 1635,64 cm-1 dan molekul alkana (C-H) alifatik pada serapan 2852,72 cm-1, 2920.23 cm-1 dan 2954.95 cm-1 serta C-O (Alkohol) pada serapan 1290.38 cm^{-1} Isolat aktif dari sampel Daun Jarak Cina (Jathropa multifida linn) dengan variasi konsentrasi 10%, 15% dan 20% memliki efektifitas penyembuhan luka lebih cepat dibandingkan kontrol positif dan negatif. Namun tidak menunjukan perbedaan signifikan dari masing – masing konsentrasi.

Referensi

[1] Purnama, Handi., Sriwidodo., dan Mita, Soraya Ratnawulan. (2016). *Review Sistematik: Proses Penyembuhan Dan Perawatan Luka.* Farmaka. Bandung. 15(2): 251-258.

[2] Muhammad, Iqbal; Masood, Jawaid; Asif, Qureshi; Sidra, Iqbal. (2015). *Effect of povidone-iodine irrigation on post appendectomy wound infection: randomized control trial.*JPMI-Journal of Postgraduate Medical Institute. 2015; 29 (3): 160-164

[3] Latifa, Isma Olivia. (2015). *Uji Aktifitas Lendir Bekicot (Achatina Fulica) Terhadap Tingkat Kesembuhan Luka Incisi Makroskopis dan Mikroskopis Pada Ular Sanca Batik (Phyton Reticulatus).* Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga: Surabaya.

[4] Ismail, F. (2022). *Karakterisasi metabolit sekunder ekstrak daun jarak cina (jathropa multifida linn) dan efektifitasnya terhadap penyembuhan luka insisi pada mencit.* Gorontalo : universitas negeri gorontalo

[5] Yunita. Liana dan Yofa Anggriani Utama. (2018). *Efektivitas Pemberian Ekstrak Daun Betadine (Jatropha multifida) Terhadap Ketebalan Jaringan Granulasi dan Jarak Tepi Luka Sayat Tikus Putih (Rattus norvegicus).* Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan. Bina Husada, Palembang

[6] Harborne, JB. (1987). *Phytochemical Methods : A gide to modern techniques pf plant analysis 3rd Edition.* Chapman and Hall : London

[7] Putri, R.R., R.F. Hakim, dan S. Rezeki. (2017). *Pengaruh Ekstrak Daun Tapak Dara (Catharanthus roseus) terhadap Jumlah Fibroblas pada Proses Penyembuhan Luka di Mukosa Ora*l. Journal Caninus Denstistry

[8] Budiyanto, A. (2015). *Potensi Antioksidan, Inhibitor Tirosinase dan Nilai Toksisitas dari Beberapa Spesies Tanaman Mangrove di Indonesia*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

[9] Nurhasnawati, H., Sukarmi, dan Handayani, F. (2017). *Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokhletasi Terhadap Aktivitas Antioksi dan Ekstrak Etanol Daun Jambu Bol (Syzygium malaccense L,).* Jurnal Ilmiah Manuntung. Vol 3. No 1.

[10] Rosamah, E. (2019). Kromatografi lapis tipis : *Metode sederhana dalam analisis kimia tumbuhan berkayu*. Mulawarman university presskalimantan timur samarinda

[11] Nurfiddin Farid, Ummu Kalsum, Juaella Yustisi, Resky Wahyuli . (2018). *Formulasi sediaan gel basis HPMC ekstrak etanol daun jarak cina (Jatropha multifida) sebagai penyembuhan luka sayat pada tikus putih (Rattus norvegicus)* Sasambo Journal of Pharmacy

[12] Pavia, D.L, et al. (2008*). Introduction to Spectroscopy, Fourth Edition*. United. States of America: Brooks Cole.

[13] Roswita L. Wusu , Antonius R. B. Ola, Mikhael F. Bitin Berek , Prisilia T. Dapa, Yohanes G. Lamak. (2022). *Fraksinasi Dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Umbi Bunga Kelelawar Hitam (Tacca Chantrieri André)* Universitas Nusa Cendana

[14] Ponnusha BS, Subramaniyam S, Pasupathi P, Subramaniyam B Virumandy R. (2011) *Antioxidant and Antimicrobial Properties of Glycine max*. A review. International Journal of Current Biological and Medical Sciece. 2011; 1(2):49-62.

[15] Mustapa.M., et al. (2021). Karakterisasi Senyawa Minyak Atsiri Ekstrak Etil Asetat Bawang Putih (Allium sativum L.) Indonesian Journal of Pharmaceutical (e-journal), 1(3), 136-141

[16] Hamsidar H. *et al.* 2019. *Determination of secondary metabolites, toxicity and antioxidant activites of bark extracts of artocarpus lanceifolius* Roxb, Int. res. J. Pharm