

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penggunaan obat herbal dari tanaman telah digunakan oleh Masyarakat Indonesia untuk mengatasi permasalahan kesehatan. Indonesia menjadi salah satu Negara yang memiliki keanekaragaman hayati yang melimpah dan terbesar di dunia. Jumlah spesies tanaman yang ditemukan mencapai 30.000 spesies tanaman tingkat tinggi dan hingga sekarang diketahui terdapat 7000 spesies tanaman yang berkhasiat untuk kesehatan (Setiawan, 2022). Pengobatan tanaman herbal banyak digunakan untuk mengobati berbagai penyakit dibandingkan dengan obat sintetik (Nisar et al., 2018)

Salah satu tumbuhan yang paling banyak dijumpai di Sulawesi Selatan adalah *Melochia umbellata* (Houtt.) Stapf. Var. *deglabrata* atau secara lokal disebut juga paliasa. Tumbuhan *M. umbellata* (Houtt.) Stapf. var. *deglabrata* merupakan salah satu tumbuhan obat yang termasuk ke dalam golongan suku Malvaceae (Hariani et al., 2014). Daun *M. umbellata* memiliki manfaat di bidang kesehatan sebagai bahan obat alam untuk beberapa penyakit seperti penyakit liver, hipertensi, diabetes, kolestrol, dan hepatitis (Usman, 2015).

Tanaman *M. umbellata* telah dilaporkan sebelumnya mengandung beberapa senyawa penting yaitu alkaloid kuinolin, siklopeptida, dan monoterpen yang memiliki potensi aktivitas biologis sitotoksik, antimikroba dan antioksidan (Rahim et al., 2020). Daun paliasa jenis *M. umbellata* (Houtt) Stapf. var. *deglabrata* memiliki efek antioksidan yang tinggi dibandingkan dengan paliasa yang lain (Noor et al., 2009)

Salah satu studi farmakognostik yang penting untuk mengetahui spesifikasi suatu tumbuhan obat dan mengurangi adanya kesalahan dalam mengenali dan membantu dalam autentikasi tumbuhan agar memperoleh informasi tentang kebenaran suatu simplisia adalah dengan pemeriksaan mikroskopik dan makroskopik serta melalui analisis metabolit sekunder atau kandungan kimianya (Chanda, 2014). Data dan informasi mengenai karakteristik dan kandungan tumbuhan paliasa ini masih terbatas untuk diketahui. Upaya yang dapat dilakukan dalam kebenaran bahan obat alam untuk pencarian khasiat obat adalah dengan mengetahui profil farmakognostik dan senyawa kimia seperti metabolit sekundernya (Ambo Lau et al., 2018).

Analisis profil metabolit sekunder dapat dilakukan dengan menggunakan beberapa instrumen. HPTLC (*High Performance Thin Layer Chromatography*) merupakan teknik kromatografi planar yang merupakan hasil evolusi dari kromatografi lapis tipis klasik dengan prinsip dasar yaitu interaksi komponen sampel dengan fase diam planar (Muñoz-Torrero et al., 2018). HPTLC menawarkan keunggulan seperti pemisahan dan deteksi sampel yang cepat. HPTLC juga dapat diterapkan pada beragam tanaman obat dan mengakomodasi beragam konstituen kimia dan mengidentifikasi berbagai senyawa termasuk asam fenolik, flavonoid, dan

terpenoid yang berkontribusi pada profil dan karakterisasi ekstrak tanaman (Akilraj, 2023).

Meskipun berbagai komponen kimia telah dilaporkan dari tumbuhan *M. umbellata*, tetapi sampai saat ini belum pernah dilaporkan analisis farmakognostik dan profil metabolit sekunder dengan metode HPTLC. Penelitian ini diharapkan memperkaya dan menambah penelitian ilmiah daun *M. umbellata* sehingga akan mempermudah dan mempercepat proses autentikasi tumbuhan dan komponen kimia dari *M. umbellata*.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana hasil analisis mikroskopik daun *M. umbellata* dan profil metabolit sekunder ekstrak *M. umbellata* melalui metode HPTLC.

1.3 Tujuan

Tujuan penelitian ini untuk memperoleh hasil analisis mikroskopik daun *M. umbellata* dan profil metabolit sekunder ekstrak daun *M. umbellata* melalui metode HPTLC.

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Alat dan Bahan

2.1.1 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat ekstraksi, alat gelas (Pyrex®), blender, botol cokelat 200 mL, cawan porselen, *chamber*, deksikator, instrumen HPTLC (CAMAG®), krus, labu ukur, mikrotube, mikropipet, mikroskop, oven, *rotary evaporator*, timbangan analitik, dan *vortex*, *waterbath*.

2.1.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu *aluminium foil*, *aquadest*, daun paliasa, etanol 70%, kertas saring, kloralhidrat (Smart lab®), n-heksan, metanol PA dan lempeng KLT Silica gel 60 RP-18 F254s.

2.2 Metode Kerja

2.2.1 Pengambilan Sampel dan Pengolahan Sampel

Daun paliasa *M.umbellata* yang digunakan diambil di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin. Sampel daun yang diambil adalah bagian daun yang tua dan sehat. Waktu pengambilan sampel dilakukan pada pukul 08.00-08.45 di WITA. Sampel daun dideterminasi di Laboratorium Farmakognosi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin. Daun sampel *Melochia umbellata* (Houtt.) Stapf var. *deglabrata* diidentifikasi berdasarkan bagian tanaman yang digunakan, nama latin tanaman, nama ekstrak, dan nama lokal atau nama Indonesia tanaman

Sampel daun yang telah diperoleh dilakukan sortasi basah dengan memisahkan sampel daun yang layak dan yang tidak layak. Sampel daun yang dipilih memiliki bentuk yang baik, segar, dan tidak berubah warna dari warna asalnya. Sampel daun dicuci dan dibersihkan dengan air mengalir kemudian dikeringkan sampai tidak ada lagi air yang mengenai daun. Pencucian sampel bertujuan untuk menghilangkan potensi kontaminan seperti tanah, pupuk, atau mikroba. Selanjutnya dilakukan perajangan untuk membantu proses pengeringan yang lebih cepat. Daun sebagai bahan tumbuhan obat dirajang minimal ketebalan 3 mm atau tidak terlalu tipis untuk menjaga kandungan senyawa aktifnya (Setiarso *et al.*, 2018). Tahap selanjutnya adalah pengeringan dengan alat bantuan yaitu oven dan *microwave*. Suhu yang dipilih dapat bervariasi yaitu 30-50° selama 8 jam (Ayu *et al.*, 2020). Hasil pengeringan kemudian diblender dan diayak dengan ayakan 4/18 sehingga serbuk simplisia memiliki ukuran derajat halus serbuk yang sama.

2.2.2 Pemeriksaan makroskopik

Pemeriksaan makroskopik dilakukan dengan menyiapkan sampel daun *M.umbellata*. Pemeriksaan dilakukan dengan mengamati aspek organoleptik tanaman yaitu warna daun, bau, dan rasa daun.

2.2.3 Pembuatan ekstrak

Serbuk daun simplisia ditimbang sebanyak 100 gram, diambil dan dimasukkan ke dalam gelas beaker secara seksama kemudian ditambahkan dengan pelarut etanol 70% sebanyak 1000 mL kemudian diaduk hingga homogen. Serbuk yang telah bercampur dengan pelarut dimasukkan ke dalam wadah maserasi dan ditutup rapat kemudian dibungkus menggunakan kertas gelap kemudian dipindahkan ke tempat yang jauh dari jangkauan cahaya. Tahapan proses ekstraksi dilakukan selama 3 hari. Ekstrak yang diperoleh dilanjutkan pada tahap pemekatan ekstrak dengan alat *rotary evaporator* kemudian diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental di atas *waterbath*. Ekstrak kental yang telah melalui tahapan penguapan pelarut kemudian ditentukan %rendemen ekstrak dari sampel.

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Bobot ekstrak}}{\text{Bobot simplisia}} \times 100\%$$

2.2.4 Penetapan susut pengeringan

Simplisia *M. umbellata* ditimbang sebanyak 2 g pada penampung wadah yang sebelumnya telah dipanaskan selama 30 menit. Serbuk simplisia kemudian dipipihkan dan diratakan hingga menjadi lapisan dengan ketebalan lapisan ± 5 mm kemudian dimasukkan ke dalam oven pada suhu 105°C . Kemudian didinginkan, wadah ditimbang dan dilakukan proses yang sama hingga diperoleh bobot tetap. Susut pengeringan dapat diperoleh dengan rumus :

$$\text{Susut pengeringan} = \frac{\text{Bobot awal simplisia} - \text{Bobot akhir simplisia}}{\text{Bobot awal simplisia}} \times 100\%$$

2.2.5 Pemeriksaan mikroskopik (Fragmen pengenalan sel)

Pemeriksaan mikroskopik dilakukan dengan menggunakan bantuan alat mikroskop untuk melihat dan mengamati bentuk sel dan jaringan daun paliasa. Serbuk daun simplisia disimpan di atas kaca objek yang telah ditetesi dengan larutan Klorhidrat LP, kemudian dilakukan tahap fiksasi. Simplisia daun ditutup dengan kaca penutup atau *deck glass*. Preparat yang telah dipreparasi diamati di bawah kaca pengamat mikroskop (Sunaja Devi et al., 2018).

2.2.6 Profil Metabolit Sekunder Ekstrak Daun *M. umbellata* dengan Metode HPTLC

2.2.6.1 Pembuatan larutan stok

Larutan stok dengan ditimbang ekstrak 0,5 g, kemudian ditambahkan dengan etanol dalam vial 10 mL. Larutan stok dihomogenkan dengan *vortex*. Larutan yang telah homogen disaring ke dalam labu tentukur 10 mL, dan dicukupkan dengan etanol hingga tanda batas, dan diperoleh konsentrasi larutan stok 50.000 ppm.

2.2.6.2 Pembuatan larutan uji *antidesmone*

Larutan pembanding dibuat dengan *antidesmone* ditimbang sebanyak 1 mg kemudian dilarutkan dalam 1 mL metanol dengan konsentrasi 1000 ppm.

2.2.6.3 Penyiapan dan pengembangan analisis HPTLC

Larutan ekstrak disiapkan dengan konsentrasi 50.000 ppm dilarutkan dengan metanol PA dan dimasukkan ke dalam vial. Sebanyak 10 µl ditotolkan dengan menggunakan autosampler *HPTLC* pada lempeng silika gel 60 RP-18 ukuran 10 cm x 10 cm dengan batas atas 1 cm dan batas bawah 0,8 cm dengan jarak totolan minimal 1,2 cm tinggi elusi m dihitung dari bawah plat. Secara bersamaan, eluen yang telah ditentukan yaitu Metanol dan etil air dengan perbandingan 2:1 disiapkan dalam *chamber* kemudian dibiarkan sampai titik jenuh selama 15-20 menit. Lempeng yang telah disiapkan dipindahkan ke dalam *chamber* dan diambil setelah sampel ekstrak terelusi dengan baik.

2.2.6.4 Analisis data

Hasil elusi sampel pada lempeng kemudian dianalisis di bawah yang diperoleh dari hasil *fingerprint* metode HPTLC akan diinterpretasikan dengan menggunakan penyemprot reagen masing-masing senyawa penanda dan dengan menentukan nilai *rf* yang diperoleh.