

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pemanfaatan tanaman obat di Indonesia menunjukkan kecenderungan meningkat dan menjadi bagian penting dalam sistem kesehatan masyarakat. Peningkatan ini dipengaruhi oleh tingginya biaya pengobatan modern, sehingga masyarakat mencari alternatif terapi yang lebih terjangkau, mudah diakses, dan memiliki dasar empiris yang kuat. Pengobatan tradisional tetap menjadi pilihan karena dinilai lebih aman, selaras dengan budaya lokal, serta telah terbukti membantu mengatasi berbagai gangguan kesehatan. Tanaman obat mengandung senyawa kimia aktif yang mampu memberikan efek fisiologis maupun psikologis, meskipun mekanisme kerja sebagian besar senyawa tersebut masih membutuhkan penelitian mendalam untuk pemahaman yang lebih komprehensif (Yabalek et al., 2020).

Salah satu tanaman yang memiliki potensi besar dalam pengobatan tradisional adalah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*). Tanaman ini diketahui memiliki berbagai aktivitas biologis, antara lain sebagai antiinflamasi, antibakteri, antioksidan, serta imunomodulator. Daunnya dilaporkan dapat meningkatkan aktivitas reseptor NKG2D yang berperan dalam menghambat proliferasi, memberikan efek analgesik, serta mengurangi inflamasi pada kolon. Temuan lain menunjukkan bahwa ekstrak tanaman ini mampu menghambat pertumbuhan *candida albicans*. Pada Pasien HIV/AIDS, mereduksi inflamasi jaringan rektum (Putra et al., 2020), serta meningkatkan ekspresi caspase-3 yang berperan penting dalam mekanisme apoptosis sel abnormal pada kolon (Kusmardi et al., 2021). Beragam aktivitas tersebut menunjukkan bahwa mahkota dewa memiliki potensi farmakologis yang menjanjikan.

Pada daun mahkota dewa terdapat kandungan saponin, alkaloid, flavonoid, tannin, ligna, resin, benzophenones yang juga dapat berhubungan dengan aktivitas antioksidan (Rohyami, 2018). Menurut Djamil dan Winarti (2014), hasil penapisan fitokimia daun mahkota dewa menunjukkan adanya senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, triterpenoid, minyak atsiri dan kumarin. Menurut Fiana dan Oktaria (2016), dilakukan pengujian kandungan Mahkota Dewa dengan skrining fitokimia secara kualitatif ditemukan beberapa zat aktif beserta perannya sebagai tanaman obat, yaitu: alkaloid, yang memiliki efek detoksifikasi dan dapat menetralkan racun pada tubuh; flavonoid, yang bersifat antioksidan; saponin, yang dapat berperan sebagai antibakteri dan virus, mengurangi penggumpalan darah dan menurunkan kadar gula darah tubuh; dan polifenol, yang berfungsi sebagai antihistamin. Banyak penelitian dan pengamatan yang telah dilakukan untuk menguji kandungan fitokimia metabolit sekunder yang terdapat pada mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*).

Tanaman mahkota dewa merupakan spesies yang berasal dari Papua, Indonesia, dan tumbuh dengan baik di wilayah beriklim tropis. Tanaman ini menjadi salah satu tanaman obat yang cukup dikenal di Indonesia karena memiliki berbagai manfaat kesehatan. Secara morfologis, mahkota dewa dapat mencapai tinggi 1 hingga 6 meter dan memiliki bagian tanaman lengkap berupa batang, daun, bunga, serta buah yang berbentuk bulat dengan diameter sekitar 3 cm. Kandungan senyawa aktif pada tanaman ini sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan tempat tumbuhnya, termasuk faktor ketinggian, suhu, kelembapan, iklim dan cuaca (Istawan & Kastono, 2020).

Untuk menjamin keamanan, mutu, dan efektivitas bahan baku herbal, diperlukan proses standarisasi yang diawali dengan analisis farmakognostik. Analisis farmakognostik meliputi pemeriksaan organoleptik, makroskopik, dan mikroskopik terhadap simplisia. Selanjutnya, profil metabolit sekunder dapat dianalisis lebih spesifik menggunakan metode High Performance Thin Layer Chromatography (HPTLC), suatu teknik kromatografi modern yang mampu memberikan pemisahan dan visualisasi senyawa dengan tingkat sensitivitas dan ketelitian tinggi (Reich & Schibli, 2007).

Meskipun tanaman mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) telah banyak diteliti, sebagian besar penelitian sebelumnya masih berfokus pada bagian buah dan ekstrak buahnya, terutama terkait aktivitas farmakologis serta kandungan metabolit sekundernya. Informasi ilmiah mengenai bagian daun, khususnya yang berkaitan dengan karakteristik farmakognostik dan identifikasi metabolit sekunder secara lebih mendalam, masih sangat terbatas. Penelitian yang tersedia umumnya hanya melaporkan hasil skrining fitokimia sederhana tanpa

disertai pemetaan profil senyawa yang lebih spesifik, sehingga belum mampu menggambarkan keberagaman metabolit sekunder yang terkandung dalam daun secara komprehensif.

Selain itu, penggunaan metode High Performance Thin Layer Chromatography (HPTLC) dalam analisis profil metabolit sekunder daun mahkota dewa juga masih jarang dilaporkan. Padahal, metode ini memiliki beberapa keunggulan, antara lain sensitivitas yang tinggi, ketelitian dalam pemisahan senyawa, serta kemampuan menghasilkan visualisasi bercak yang akurat dan konsisten, sehingga sangat relevan dalam proses standarisasi bahan baku herbal. Keterbatasan penelitian yang mengintegrasikan analisis farmakognostik, dan pemetaan profil metabolit sekunder menggunakan metode HPTLC menyebabkan data ilmiah yang ada belum memadai sebagai dasar penyusunan standar mutu simplisia maupun ekstrak daun mahkota dewa.

Dengan demikian, tujuan penelitian ini adalah untuk melakukan kajian secara komprehensif terhadap karakteristik farmakognostik serta profil metabolit sekunder ekstrak daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) menggunakan metode *High Performance Thin Layer Chromatography* (HPTLC). Penelitian ini bertujuan menghasilkan data ilmiah yang dapat memperkaya literatur yang tersedia serta mendukung proses standarisasi simplisia dan ekstrak daun mahkota dewa sebagai bahan obat tradisional terstandar.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalah penelitian ini, yaitu:

1. Bagaimana karakteristik makroskopik, mikroskopik daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*)?
2. Bagaimanakah profil senyawa metabolit sekunder pada daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) yang diperoleh melalui analisis menggunakan metode High Performance Thin Layer Chromatography (HPTLC)?

1.3 Tujuan

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka tujuan penelitian ini, yaitu:

1. Memperoleh gambaran makroskopik, mikroskopik ekstrak daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*)
2. Untuk menganalisis profil senyawa metabolit sekunder daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dengan menggunakan metode *High Performance Thin Layer Chromatography* (HPTLC).

BAB II METODE PENELITIAN

2.1 Alat dan Bahan

2.1.1. Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah seperangkat alat ekstraksi, batang pengaduk, blender, botol cokelat, cawan porselen, *chamber*, deksikator, gelas beaker, gelas ukur, UV scanner (CAMAG®), instrumen HPTLC (CAMAG®), lampu UV 254 nm dan 366 nm, Linomat 5, mikroskop, *moisture analyzer*, object glass, oven, pipet tetes, *rotary evaporator*, kertas saring, timbangan analitik, TLC Visualizer 3, Vial, *vortex*, dan *waterbath*.

2.1.1. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah aluminium foil, *aquadest*, daun Mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*), etanol 70%, Floroglusin, kloralhidrat, kertas saring, lempeng silika gel 60 RP-18, metanol, reagen Dragendorf, reagen Liebermann burchard, reagen sitroborat, reagen KOH, dan reagen FeCl₃.

2.2 Metode Penelitian

2.2.1 Pengambilan dan Pengolahan Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun segar tanaman Mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) yang diperoleh dari lingkungan sekitar Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin. Daun yang telah dikumpulkan dicuci dengan air mengalir hingga bersih, kemudian dilakukan sortasi basah dan pemotongan menjadi bagian-bagian kecil. Selanjutnya, daun dikeringkan di dalam lemari pengering untuk menghindari paparan sinar matahari langsung dan kontaminasi debu. Setelah proses pengeringan selesai, simplisia yang diperoleh disortasi kembali, kemudian diayak dan dihaluskan hingga menjadi sebuk simplisia (Nasution, 2022).

2.2.3 Pemeriksaan mikroskopik

Pengamatan mikroskopik pada simplisia daun mahkota dewa dilakukan dengan menempatkan serbuk simplisia di atas kaca objek, kemudian ditetesi dengan larutan kloralhidrat dan ditutup menggunakan kaca penutup. Preparat tersebut selanjutnya diamati di bawah mikroskop untuk mengidentifikasi fragmen pengenal secara umum (Handayani, 2020).

2.2.4 Penetapan susut pengeringan

Susut pengeringan dilakukan menggunakan krus yang telah dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C selama 30 menit. Kemudian diamkan selama 5 menit, lalu dimasukkan ke dalam desikator selama 10 menit. Selanjutnya ditimbang dan dimasukkan kembali kedalam oven selama 15 menit. Dilakukan prosedur yang sama sehingga diperoleh bobot konstan. Serbuk simplisia ditimbang sebanyak 2 gram dan dimasukkan kedalam krus yang telah konstan. Setelah itu keringkan pada suhu 105°C hingga bobot konstan. Sebelum setiap pengeringan krus biarkan mendingin dalam desikator hingga suhu kamar dan dihitung nilai persentasinya (Kementrian RI, 2017).

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

2.2.5 Penetapan kadar air

Penetapan Kadar Air dengan *Moisture Analyzer* dilakukan dengan menimbang sebanyak 2 gram sampel ekstrak, dimasukkan ke dalam piringan alat moisture analyzer. Suhu diatur pada 105°C dan proses pengukuran dimulai. Tunggu hingga alat menunjukkan hasil kadar air dalam satuan persen (%). Berdasarkan keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia (KEPMENKES RI), syarat kadar air harus kurang dari 10%.

2.2.6 Ekstraksi Metode Maserasi

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi. Sebanyak 100 gram simplisia dimaserasi menggunakan etanol 70% dalam bejana tertutup, kemudian dibiarkan pada suhu kamar selama lima hari dengan kondisi terlindung dari cahaya matahari sambil sesekali diaduk. Setelah itu, campuran disaring untuk memisahkan maserat dari ampasnya. Ampas yang diperoleh dibilas kembali dengan etanol 70%, kemudian disaring dan dimasukkan ke dalam bejana tertutup. Seluruh maserat yang terkumpul digabungkan dan didiamkan selama dua hari. Selanjutnya, maserat diuapkan dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 50 °C hingga diperoleh ekstrak etanol (Ditjen POM, 1979).

2.2.7 Profil metabolit sekunder ekstrak daun mahkota dewa menggunakan HPTLC

2.2.7.1 Pembuatan larutan uji

Pembuatan larutan uji dengan cara menimbang 0,09 g ekstrak, dilarutkan dengan 3 ml metanol. Lalu dihomogenkan sehingga diperoleh konsentrasi 30.000 ppm.

2.2.7.2 Analisis kualitatif metabolit sekunder dengan metode HPTLC

Analisis profil metabolit ekstrak daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dilakukan menggunakan metode *High Performance Thin Layer Chromatography* (HPTLC). Sebanyak 0,09 g ekstrak ditimbang, kemudian dilarutkan dalam metanol hingga mencapai konsentrasi 30.000 ppm. Larutan yang diperoleh selanjutnya disaring untuk menghilangkan partikel yang dapat mengganggu proses analisis.

Pemisahan dilakukan pada lempeng silika gel RP F18 sebagai fase diam. Sampel diaplikasikan pada lempeng menggunakan alat aplikator HPTLC. Untuk menjamin reproduktibilitas hasil, analisis dilakukan sebanyak enam kali replikasi. Fase gerak yang digunakan adalah campuran metanol dan air dengan perbandingan 4:1 (v/v). Sebelum proses elusi, chamber terlebih dahulu dijenuhkan dengan fase gerak selama ± 20 menit untuk memastikan kondisi sistem yang stabil. Selanjutnya, lempeng yang telah diaplikasikan sampel dielusi di dalam chamber hingga mencapai jarak batas atas lempeng, kemudian dikeringkan pada suhu ruang. Pengamatan awal dilakukan menggunakan sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm untuk mendeteksi senyawa yang memiliki kemampuan menyerap atau memancarkan fluoresensi. Setelah itu, lempeng disemprot dengan berbagai reagen penampak noda, yaitu FeCl_3 , Dragendorff, Liebermann–Burchard, AlCl_3 , dan KOH, yang digunakan untuk membantu identifikasi golongan metabolit sekunder.

Analisis lebih lanjut dilakukan melalui scanning densitometri menggunakan HPTLC scanner pada panjang gelombang 254 nm dan/atau 366 nm. Parameter yang diamati meliputi nilai R_f , warna bercak, luas area puncak, serta persentase area relatif. Interpretasi hasil dilakukan secara kualitatif berdasarkan karakteristik kromatogram yang dihasilkan, baik sebelum maupun sesudah penyemprotan reagen.