

IDENTIFIKASI KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS DAN AKTIVITAS ANTIPIRETIK EKSTRAK ETANOL DAUN *Ipomoea carnea* Jacq MELALUI INDUKSI PEPTON PADA MENCIT JANTAN

Thin Layer Chromatography Identification and Antipyretics Activities of Ipomoea carnea Jacq Leaves Aethanol Extract by Pepton Induction to Male Mice

Nova Rahma Widyaningrum¹, Andriani Noerlita Ningrum²

STIKES Mamba'ul Ulum Surakarta

thussannofx@gmail.com

ABSTRAK

Latar Belakang: Antipiretik bekerja dengan cara mencegah naiknya prostaglandin sehingga peningkatan suhu tubuh dapat dicegah dengan vasodilatasi perifer di kulit dan keringat yang berlebihan. Salah satu tanaman obat yang diduga memiliki aktivitas antipiretik adalah tanaman kangkung hutan (*Ipomoea carnea* L). Tanaman ini mengandung zat aktif berupa flavonoid, yang diduga memiliki kemampuan sebagai antipiretik.

Tujuan penelitian: Mengidentifikasi secara kualitatif kandungan kimia ekstrak etanol daun *I. carnea* dengan kromatografi lapis tipis (KLT) dan menganalisis aktivitas antipiretiknya melalui induksi pepton pada mencit jantan galur Wistar.

Metode: Ekstraksi senyawa aktif dilakukan dengan maserasi menggunakan pelarut etanol 90%, kemudian diuapkan menjadi ekstrak kental. Identifikasi senyawa dilakukan dengan skrining fitokimia, dilanjutkan dengan identifikasi KLT untuk mengetahui profil senyawa di dalam ekstrak kangkung hutan. Hewan uji dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan, yaitu kelompok pelarut, kontrol positif (parasetamol) dan dosis 125mg/kgBB; 250mg/kgBB dan 500mg/kgBB. Aktivitas antipiretik dilihat dari penurunan suhu rektal sebelum dan sesudah diinduksi, kemudian perbedaan signifikansinya dianalisis menggunakan uji Anova dan LSD.

Hasil: Hasil penyarian diperoleh rendemen sebesar 26,94%, kemudian dilakukan skrining fitokimia untuk simplisia diperoleh hasil bahwa EEDKH positif mengandung alkaloid, saponin, polifenol, tanin dan flavonoid. Hasil KLT juga menunjukkan deteksi yang sama. Persentase daya antipiretik EEDKH berturut-turut sebesar 40,7%; 38,03% dan 28,4% dengan pembanding parasetamol sebesar 50,73%. Hasil analisis statistik menggunakan uji ANOVA menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan antarperlakuan dengan nilai $p < 0,05$.

Simpulan: EEDKH mengandung alkaloid, flavonoid, fenolik, tanin dan saponin, serta memiliki aktivitas sebagai antipiretik yang sebanding dengan parasetamol.

Kata Kunci: *Ipomoea carnea*, antipiretik, KLT, ekstrak etanol

ABSTRACT

Background: Antipyretics work by inhibiting of prostaglandin ascends so that an increasing of the body temperature can be prevented by peripheral vasodilation and excessive sweating. One of the medicinal plants suspected of having antipyretic activity is *Ipomeae carnea* L. This plant contains active substances such as flavonoids, which are thought to have antipyretic activities.

Research purposes: To qualitatively identify of the *I. carnea*'s substances on leaf ethanol extract by thin layer chromatography (TLC) and analyze its antipyretic activity through peptone induction in male Wistar strain mice.

Methods: Extraction of the active compound was carried out by maceration using 90% ethanol solvent, then evaporated into a thick extract. Identification of compounds was carried out by phytochemical screening, followed by TLC identification to determine the profile of compounds in *I. carnea* extract. The test animals were divided into 5 treatment groups, namely the solvent group, positive control (paracetamol) and the dose of 125mg/kgBW; 250 mg/kgBW and 500 mg/kgBW. Antipyretic activity was seen from the decrease in rectal temperature before and after induction, then the difference in significance was analyzed using Anova and LSD tests.

Results: The results of the screening obtained a yield of 26.94%, then phytochemical screening for simplicia showed that EEDKH was positive for containing alkaloids, saponins, polyphenols, tannins and flavonoids. TLC results also showed the same detection. The percentage of EEDKH antipyretic activities was 40.7%, respectively; 38.03% and 28.4% with paracetamol as comparison of 50.73%. The results of statistical analysis using the ANOVA test showed that there were significant differences between treatments with $p < 0.05$

Conclusion: EEDKH contained alkaloids, flavonoids, phenolics, tannins and saponins, and had antipyretic activity comparable to paracetamol.

Keywords: *Ipomea carnea*, antipyretics activities, TLC, ethanol extract

PENDAHULUAN

Hipotalamus merupakan organ di otak yang salah satu fungsinya untuk mengatur keseimbangan produksi dan hilangnya panas tubuh (Moot, 2013). Demam merupakan suatu gejala atau penanda, bukan merupakan penyakit tersendiri. Beberapa ahli menyatakan bahwa hal tersebut merupakan kemampuan untuk menangkis adanya infeksi (Tjay dan Rahardja, 2015). Peningkatan suhu tubuh diakibatkan karena adanya pelepasan zat pirogen endogen atau sitokin, seperti interleukin yang memacu pelepasan prostaglandin berlebih di daerah preoptik hipotalamus (Moot, 2013). Suhu normal tubuh berkisar antara 36,5 – 37,5°C, dan pada suhu tubuh di atas 37°C, limfosit serta makrofag menjadi lebih

aktif, yang kemudian akan terjadi keadaan fatal atau kritis jika suhu tubuh mencapai 40-41⁰C. Hal ini akan menyebabkan beberapa kerusakan, antara lain dehidrasi, kurangnya oksigen, kerusakan saraf, nyeri otot, kejang bahkan kerusakan otak (Yapian, 2011). Untuk itu, demam perlu diatasi menggunakan antipiretik (Odding, 2016).

Antipiretik (penurun panas tubuh) merupakan senyawa atau golongan obat yang mampu bekerja untuk mendapatkan “*thermostat*” di hipotalamus untuk menekan pelepasan interleukin yang meningkat akibat kenaikan suhu. Tubuh kemudian akan bekerja untuk menurunkan suhu ke suhu baru yang lebih rendah dan hasilnya adalah penurunan demam. Antipiretik juga mampu mengurangi sintesis prostaglandin di hipotalamus, dengan menghambat efek pirogen endogen atau infeksi jasad renik pada pengatur sensor panas di hipotalamus otak. Akibatnya, peningkatan prostaglandin di otak dapat dicegah, sehingga suhu tubuh dapat diturunkan dengan pengeluaran kalor yang disertai dengan keringat (Tjay dan Rahardja, 2013).

Saat ini minat masyarakat untuk memanfaatkan kembali obat yang berasal dari alam sangat besar. Hal ini dikarenakan efek sampingnya relatif kecil atau bahkan tidak ada bila dibandingkan dengan obat yang berasal dari bahan sintesis. Banyak jenis tumbuhan yang telah diteliti, dan terbukti memiliki efek yang berkhasiat sebagai tanaman obat dan dijadikan untuk alternatif pengobatan. Salah satunya adalah tanaman kangkung hutan (*Ipomea carnea* Jacq).

Tanaman kangkung hutan ini adalah salah satu tanaman yang memiliki racun untuk binatang ternak. Racun terletak pada biji, dimana banyak mengandung selenium dengan kadar tinggi. Racun ini dapat menyebabkan depresi, tremor, gugup, kurus karena terjadi kegagalan saluran pencernaan, dll (Sharma and Bacheeti, 2013). Selain kandungan seleniumnya, tanaman kangkung hutan juga memiliki kandungan senyawa aktif golongan fenolik, yang terakumulasi pada bunga (konsentrasi fenolik paling besar) dan batang (konsentrasi fenolik paling rendah). Sedangkan kandungan flavonoid, khususnya katekol dan kuersetin tersebar pada bunga, daun dan batang (Khatiwora, *et al*, 2010). Senyawa fenol ini berkhasiat sebagai antioksidan juga sebagai imunomodulator, sedangkan flavonoid memiliki khasiat sebagai antibakteri, antiinflamasi, antialergi serta antikanker (Khatiwora,*et al*, 2010; Adsul, *et al*, 2012; Khalid, *et al*, 2011; dan Deshpande, *et al*, 2012). Kandungan lain pada tanaman kangkung hutan ini antara lain saponin, xanthoprotein, triterpenoid dan tannin (Sharma and Bacheeti, 2013).

Pemanfaatan daun kangkung hutan belum cukup optimal, hal ini dikarenakan minimnya pengetahuan masyarakat tentang manfaat besarnya. Daun kangkung hutan diduga memiliki kemampuan sebagai antiinflamasi, maka diduga pula mampu memiliki kemampuan antipiretik (Khalid, *et al*, 2011). Flavonoid yang terkandung pada daun kangkung hutan merupakan senyawa terbesar dari fenol, yang bekerja dengan menghambat pertumbuhan bakteri serta menghambat prostaglandin akibat adanya pirogen (Moot, *et al*, 2013). Kandungan flavonoid

pada daun kangkung hutan diduga bekerja dengan menghambat enzim siklooksigenase, yaitu enzim yang muncul saat peradangan atau infeksi jasad renik, sehingga dapat menurunkan prostaglandin. Hal ini akan berakibat meningkatkan vasodilatasi di kulit, sehingga pengeluaran kalor akan meningkat disertai dengan meningkat pula pengeluaran keringat (Wilmana, 2007).

Pepton adalah salah satu protein sebagai bahan pirogen yang mampu memicu kenaikan suhu tubuh (demam). Hal inilah yang mendorong peneliti untuk melakukan penelitian tentang kemampuan antipiretis dari ekstrak etanol daun kangkung hutan pada mencit galur Wistar, setelah diinduksi dengan pepton secara intramuskular, kemudian menentukan ekstrak dan dosis yang paling efektif untuk menurunkan suhu pada mencit tersebut.

METODE PENELITIAN

1. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kangkung Hutan

a. Pengeringan dan pembuatan serbuk

Daun kangkung hutan dicuci dengan air dan disortir dari pengotor, daun dikeringkan di bawah matahari langsung selama 2 hari, lalu diangin-anginkan selama satu minggu, daun kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C selama 24 jam. Simplisia yang telah kering diserbuk menggunakan mesin serbuk.

b. Ekstraksi Dengan Pelarut Etanol

Serbuk daun kangkung hutan sebanyak 1 kg dimaserasi dengan etanol volumenya 10 liter, lalu disaring dengan corong *Buchner*. Kemudian dilakukan remaserasi dengan perbandingan simplisia dan penyari yang sama seperti pada saat maserasi awal. Filtrat diuapkan dengan *rotary evaporator* lalu diangin-anginkan hingga masing – masing pelarutnya menguap dan diperoleh filtrat yang kental. Ekstrak kental diletakkan dalam desikator untuk pengeringan lebih lanjut.

c. Skrining Fitokimia

Setelah ekstrak kental terbentuk, dilakukan skrining fitokimia, yaitu identifikasi secara kimia zat yang terkandung di dalam ekstrak etanol meliputi uji polifenol, uji alkaloid, uji triterpenoid dan steroid, uji flavonoid, uji tannin dan uji saponin.

d. Profil Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Larutan uji dari ekstrak, ditotolkan pada lempeng selulosa, dikeringkan dan dikembangkan dalam bejana pengembangan berisi n-butanol : asam asetat : air dengan perbandingan 4 : 1 : 5. Pengembangan dilakukan setinggi 10 cm kemudian pelat diangkat dan dikeringkan. Penampakan bercak dilakukan dengan menyemprotkan sitroborat. Jika terbentuk warna kuning maka positif mengandung flavonoid.

2. Pengujian Aktivitas Antipiretik Ekstrak Etanol Daun Kangkung Hutan

a. Pembuatan larutan Parasetamol

Dosis parasetamol yang digunakan pada mencit adalah 91mg/kgBB secara peroral. Pembuatannya dengan menimbang serbuk parasetamol sebanyak 36,4 mg, kemudian dilarutkan dengan menggunakan bantuan CMC Na 1% sebanyak 10 ml.

b. Perlakuan Hewan Uji Sebelum dan Sesudah Induksi Pepton

Mencit jantan galur wistar dipuasakan selama 8 jam, dan diadaptasikan selama 3 hari di tempat penelitian. Sebanyak 30 ekor mencit, dipilih secara acak, kemudian dikelompokkan menjadi 5 kelompok perlakuan untuk masing-masing ekstrak etanol daun kangkung hutan. Tiap-tiap mencit diukur suhu rektalnya sebelum diinduksi dengan pepton, suhu ini merupakan suhu normal mencit. Kemudian diukur kembali suhu rektalnya 2 jam setelah induksi pepton, untuk mengetahui peningkatan suhu tubuh, pasca induksi. Pemberian pepton dilakukan secara intramuskuler dengan volume 0,3 ml/kgBB. Intramuskuler ini adalah pemberian injeksi pada paha mencit (Ermawati, 2010).

c. Pengujian Aktivitas Antipiretik Ekstrak Etanol Daun Kangkung Hutan

Rancangan uji mengikuti acak lengkap pola searah dengan hewan uji mencit putih jantan galur Wistar B dengan berat badan 20-30 g dan umur 2,5-4 minggu sebanyak 30 ekor dibagi 5 kelompok (kelompok I, kelompok II dan 3 kelompok perlakuan). Sebelumnya suhu normal mencit diukur terlebih dahulu pada rektal, kemudian diinduksi dengan pepton, lalu diukur peningkatan suhunya (2jam setelah induksi), dan kemudian diberi perlakuan sebagai berikut:

1) Kelompok I adalah kontrol pelarut (kontrol negatif).

Mencit diberi pelarut yang sesuai secara oral.

2) Kelompok II adalah kontrol positif.

Mencit diberi larutan parasetamol dosis 91 mg/kg BB secara oral

3) Kelompok III adalah kelompok perlakuan I.

Mencit diberi perlakuan ekstrak etanol daun kangkung hutan dengan dosis 125mg/kgBB secara oral

4) Kelompok IV adalah kelompok perlakuan II.

Mencit diberi perlakuan ekstrak etanol daun kangkung hutan dengan dosis 250mg/kgBB secara oral

5) Kelompok V adalah kelompok perlakuan III.

Mencit diberi perlakuan ekstrak etanol daun kangkung hutan dengan dosis 500mg/kgBB secara oral

30 menit setelah perlakuan di atas, suhu kembali diukur, diulangi kembali setiap 30 menit sampai pada menit ke-180.

Analisis Hasil

1. Uji Anova dan *Post Hoc*

Data yang diperoleh adalah perubahan suhu sebelum dan sesudah diinduksi pepton, kemudian dilakukan perhitungan, diperoleh persentase aktivitas antipiretik. Dari data tersebut, kemudian diolah secara statistik dengan Uji Anova, dilanjutkan dengan uji *post Hoc* dengan bantuan *software* SPSS. Analisis ini digunakan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak terhadap kontrol.

$$\% \text{ Aktivitas Antipiretik} = \frac{T_0 - T_1}{T_0} \times 100\%$$

Keterangan:

T_0 = Suhu sebelum induksi pepton

T_1 = Suhu sesudah induksi pepton DPT

2. Analisis Efektivitas Antipiretik

Analisis efektivitas antipiretik ditentukan dengan membandingkan persentase masing-masing daya antipiretik ekstrak dengan kontrol positif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

1. Hasil Penyarian

Penyarian atau penarikan zat aktif yang terkandung dalam daun kangkung hutan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 90%. Adapun hasil penyariannya adalah sebagai berikut :

Tabel 1. Hasil maserasi ekstrak etanol daun kangkung hutan (EEDKH)

Warna Ekstrak	Bau	Bentuk	Bobot Rendemen	Persentase Rendemen
Hijau pekat	Khas ekstrak/aromatis	Ekstrak kental sedikit <i>glossy</i>	29,36 gram	26,94%

2. Hasil Uji Kualitatif Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan analisis kualitatif terhadap kandungan senyawa aktif tanaman, yang dimulai dengan uji pendahuluan kemudian dilanjutkan dengan uji kimia tanaman tersebut dengan berbagai pereagen yang spesifik. Hal ini dilakukan untuk mendeteksi kandungan metabolit sekunder yang tersari saat dilakukan ekstraksi. Adapun hasil uji pendahuluan dan skrining fitokimia menggunakan metode uji tabung adalah sebagai berikut :

Tabel 2. Hasil skrining fitokimia ekstrak dan simplisia daun kangkung hutan

Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak	Hasil Skrining Fitokimia Simplisia
Gugus kromofor positif	Gugus kromofor positif
Alkaloid positif	Alkaloid positif
Alkaloid tersier positif	Alkaloid tersier positif
Polifenol positif	Alkaloid kuertener positif
Saponin positif	Polifenol positif
Flavonoid positif	Tanin positif
	Saponin positif
	Flavonoid positif

Tabel 2 di atas menunjukkan bahwa EEDKH mengandung senyawa alkaloid, polifenol, saponin dan flavonoid, sedangkan untuk uji skrining fitokimia pada simplisia hampir semuanya metabolit sekunder positif seperti alkaloid baik tersier maupun kuertener, polifenol, tanin, saponin dan flavonoid.

3. Hasil Uji Kualitatif Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis merupakan prosedur pemisahan senyawa campuran berdasarkan kecepatan migrasi yang disebabkan karena adanya perbedaan koefisien distribusi masing-masing senyawa pada fase gerak dan fase diam yang tidak saling bersinggungan dan tidak saling campur (Puspita MD., 2010). KLT digunakan untuk pemisahan senyawa secara cepat, menggunakan fase diam berupa silika gel yang bersifat polar dan fase gerak yang bersifat kurang polar. Adapun hasil dari penegasan bercak KLT adalah sebagai berikut :

Tabel 3. Hasil KLT EEDKH

Pereaksi	Warna				hRf
	Sebelum		Setelah		
	254	366	254	366	
Liebermann burchard	hijau	hijau	hijau	Jingga, hijau	41,3
Vanillin : H ₂ SO ₄	kuning	-	kuning	-	50,0; 58,8; 91,3
FeCl ₃	Biru kehijauan	Hijau kebiruan	Biru kehijauan	Hijau kebiruan	91,3; 62,5
KOH etanolis	kuning	Jingga Kuning	kuning	Jingga coklat	43,8; 48,8; 92,5
Meyer	Kuning orange	Kuning orange	jingga	jingga	53,8; 62,0
Dragendroff	Kuning coklat	Kuning coklat	Kuning coklat	Jingga kecoklatan	53,8; 61,3; 92,5
Sitroborat	Kuning	kuning	Kuning kehijauan	Kuning kehijauan	56,3; 62,5; 91,3

Hasil penotolan pada bercak-bercak yang diperoleh kemudian diamati berdasarkan pengamatan UV254nm dan UV366nm juga deteksi pereagen semprot agar lebih spesifik. Perubahan-perubahan warna pada bercak kemudian dicocokkan dengan referensi untuk menyimpulkan kandungan metabolit sekunder yang tersari pada EEDKH tersebut. Adapun referensi warna standar dari deteksi beberapa pereagen adalah sebagai berikut :

Tabel 4. Warna standar penampakan bercak berdasarkan literatur

Pereaksi	Warna	Jenis senyawa
Libermann burchard	Hijau, kuning, merah, biru	Saponin
	Ungu, violet	Fenolik, flavonoid
Vanillin : asam sulfat	Berbagai warna	Alkaloid
FeCl ₃	Berbagai warna, biru-hitam	Fenol, tannin
KOH etanolis	Merah	Antraknon
	Kuning, jingga, coklat	Fenolik, flavonoid
Mayer Dragendrof	Kuning kecoklatan, kuning orange	Antraknon, alkaloid
sitroborat	Kuning, hijau	Flavonoid

Sumber: Metode fitokimia (Harborne, J.B., 1987). Petunjuk praktikum fitokimia (Maryati dan Sri wahyuni, 2007). (Markham, 1988). (Parmadi, 2000). (Murwanto dan Santoso, 2012)

4. Hasil Pengujian Antipiretik

Pengujian antipiretik dilakukan dengan menginduksi hewan uji menggunakan senyawa pepton untuk menaikkan suhu tubuh pada mencit. Hal ini dikarenakan pepton merupakan salah satu bahan pirogen yang mampu menimbulkan demam. Adapun hasil persentase daya antipiretik tiap perlakuan adalah sebagai berikut :

Tabel 5. Persentase daya antipiretik EEDKH

Perlakuan	Persen Daya Antipiretik (% DAP)			
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rerata
Dosis 125mg/kgBB	26,3	28,4	30,5	28,4
Dosis 250mg/kgBB	37,6	37,2	39,3	38,03
Dosis 500mg/kgBB	43,1	39,7	39,3	40,7
Parasetamol	47,8	44	60,4	50,73

Setelah persentase daya antipiretis diperoleh kemudian dilakukan pengujian statistik menggunakan analisis ANOVA dengan bantuan program SPSS versi 16. Adapun hasil pengujian statistik % DAP adalah sebagai berikut :

Tabel 6. Uji prasyarat dan uji ANOVA persentase daya antipirerik EEDKH

Uji Statistik	Nilai	Signifikansi	Kesimpulan
Normalitas	0,542	0,930 > 0,05	Data terdistribusi normal
kolmogorof smirnov			
Homogenitas levine	15,987	0,057 > 0,05	Data homogen
ANOVA	12,089	0,002 < 0,05	Berbeda signifikan

Pembahasan

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan desain *post test comparative group* dengan variasi dosis pada ekstrak etanol daun kangkung hutan (EEDKH). Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kemampuan antipiretik atau menurunkan kenaikan suhu badan dari ekstrak etanol daun kangkung hutan sekaligus mengidentifikasi secara kualitatif, baik melalui skrining fitokimia maupun dengan kromatografi lapis tipis senyawa-senyawa aktif yang terkandung pada ekstrak etanol daun kangkung hutan (EEDKH). Mekanisme kerja

antipiretik adalah menghambat aktivitas enzim siklooksigenase, di mana enzim ini berperan dalam pembentukan endoperoxida dari asam arakhidonat, sehingga prostaglandin akan terhambat (Tjay dan Rahardja, 2015). Salah satu metabolit sekunder pada tanaman yang memiliki mekanisme kerja tersebut adalah flavonoid, di mana struktur senyawa tersebut mirip dengan struktur parasetamol (Widyaningrum, dkk, 2021).

Selain flavonoid, kandungan senyawa aktif pada daun kangkung hutan antara lain senyawa fenolik khususnya katekol dan kuersetin, saponin, xantoprotein, triterpenoid dan tanin (Widyaningrum, dkk, 2021; Sharma dan Bacheeti, 2013). Beberapa senyawa tersebut dapat larut baik dalam senyawa polar maupun semipolar. Pelarut yang digunakan pada penelitian ini untuk proses ekstraksi adalah etanol 90%. Etanol 90% merupakan pelarut yang bersifat semipolar, sehingga diharapkan dapat menyari senyawa aktif daun kangkung hutan secara maksimal dan dihasilkan rendemen yang lebih banyak, karena dapat menyari baik senyawa yang bersifat polar maupun nonpolar (Widyaningrum, dkk, 2019; Septianingsih, 2008). Berdasarkan pernyataan Voight (1995) bahwa alasan penggunaan etanol 90% sebagai pelarut ekstraksi antara lain etanol merupakan pelarut universal, lebih selektif dibandingkan dengan air, sukar ditumbuhi mikroba atau kapang pada konsentrasi etanol diatas 20%, tidak toksik, netral, absorpsi baik, bercampur dengan air di segala perbandingan, mampu memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut dan tidak memerlukan panas yang tinggi untuk pemekatan.

Hasil penyarian diperoleh ekstrak kental dengan bobot rendemen sekitar 26,94% atau bobot ekstrak sebesar 29,36 gram, berbentuk cair sedikit kental *glossy*, berwarna hijau pekat, berbau aromatis khas ekstrak. Langkah selanjutnya yang dilakukan adalah mengidentifikasi secara kualitatif senyawa aktif yang terkandung pada daun kangkung hutan baik bentuk simplisianya maupun ekstrak kentalnya menggunakan metode skrining fitokimia uji tabung. Skrining fitokimia dimulai dengan uji pendahuluan untuk mengidentifikasi semua senyawa aktif tanaman yang mengandung gugus kromofor, kemudian dilanjutkan uji tabung dan uji penegasan menggunakan kromatografi lapis tipis.

Simplisia maupun ekstrak kental daun kangkung hutan pada uji pendahuluan menunjukkan positif memiliki gugus kromofor, hal ini ditandai dengan adanya perubahan warna larutan ke kuning atau kuning kemerahan. Selanjutnya pada uji tabung, perbedaan kandungan metabolit yang tersari antara ekstrak dan simplisia kering adalah pada ekstrak tidak terdapat tanin dan alkaloid kuertener, sedangkan pada simplisiaterdeteksi mengandung tanin dan alkaloid kuertener. Secara teori tanin bersifat polar, sedangkan pelarut ekstraksi yang digunakan adalah etanol 90%, cenderung bersifat semipolar, namun meskipun pelarut yang digunakan bersifat semipolar, tanin seharusnya masih bisa larut, sedangkan jika pelarut ekstraksi yang digunakan bersifat nonpolar seperti n-heksana atau benzena maka tanin praktis tidak akan larut ke dalamnya (Puspita MD., 2010).

Langkah selanjutnya setelah dilakukan skrining fitokimia untuk mengetahui metabolit sekunder yang terdapat dalam daun kangkung hutan, lalu dilakukan identifikasi kualitatif berupa pemisahan senyawa secara sederhana menggunakan KLT yang dilengkapi dengan beberapa deteksi semprot seperti FeCl_3 , vanilin asamsulfat, Libereman-Bouchardat, KOH-etanolis, sitroborat, dragendroff dan meyer. FeCl_3 merupakan pereagen deteksi semprot untuk mengidentifikasi adanya senyawa aktif tanin, saponin dan flavonoid atau senyawa fenolik, yang ditandai dengan bercak berwarna mulai dari hijau sampai kehitaman. Identifikasi KLT menggunakan pereaksi semprot FeCl_3 (tabel 3) menunjukkan nilai hRF dari bercak yang terdeteksi adalah 91,3 dan 62,5 dengan warna hijau kebiruan pada deteksi UV 254nm dan biru kehijauan pada deteksi UV 366nm. Hal ini sesuai dengan Harborne, JB. (1987) dan Widyningrum, et al., (2016) yang menyatakan bahwa senyawa aktif tanin, saponin dan flavonoid jika disemprot dengan pereagen FeCl_3 akan berwarna biru kehitaman, hijau, biru kehijauan, abu-abu kehitaman dengan nilai hRF untuk tanin sebesar 73,7; saponin 56,5 dan flavonoid di atas 87,8. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa EEDKH mengandung senyawa saponin dan flavonoid.

Deteksi vanilin asam sulfat digunakan untuk mendeteksi adanya senyawa saponin dan alkaloid yang ditandai dengan bercak yang berwarna biru sampai ungu atau kuning, hijau serta merah (saponin) atau berbagai warna (alkaloid) (Harborne, 1987). Hasil dari penelitian ini menunjukkan harga hRF saat dideteksi menggunakan vanilin asam sulfat pada UV254nm berkisar 50,0; 58,8 dan 91,3 dengan warna bercak kuning, sedangkan pada UV366 tidak nampak hRF bercak maupun warna fluorosensinya. Hal ini menunjukkan bahwa EEDKH positif mengandung alkaloid dengan hRF sekitar 50,0 – 58,8 dan saponin dengan hRF sekitar 91,3.

Deteksi Lieberman Buchardat menunjukkan positif saponin jika muncul warna kuning, jingga, ungu, merah ungu dan hijau pada pengamatan UV, sedangkan jika positif mengandung senyawa fenol maka bercak akan berwarna ungu dan jika mengandung flavonoid maka bercak akan berwarna violet (Parmadi, 2000; Wagner, 1987). Nilai hRF pada hasil deteksi menggunakan Lieberman-bouchardat sangat rendah, yaitu 41,3 yang artinya senyawa terdeteksi bersifat nonpolar atau semipolar dengan warna bercak hijau atau jingga kehijauan. Hal ini menunjukkan senyawa yang terkandung dalam EEDKH adalah positif golongan triterpenoid yaitu saponin.

Deteksi KOH-etanolis digunakan untuk mengidentifikasi adanya senyawa antrakinon (bercak berwarna merah) atau senyawa fenolik dan flavonoid (bercak berwarna kuning, jingga hingga kecoklatan). Hasil dari penelitian ini pada deteksi KOH-etanolis dihasilkan bercak berwarna kuning pada pengamatan UV254nm sedangkan pada pengamatan UV366nm berwarna jingga kecoklatan dengan nilai

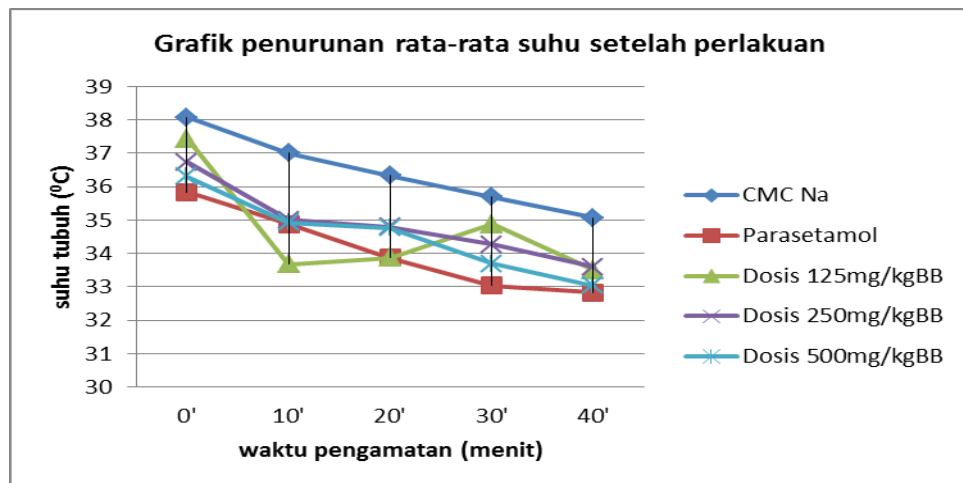
hRF yang beragam, antara 43,8; 48,8 dan 92,5 (tabel 3). Hal ini menunjukkan bahwa kemungkinan senyawa yang terkandung pada EEDKH adalah golongan senyawa fenolik atau flavonoid yang kurang polar karena harga retensinya rendah.

Deteksi berikutnya adalah menggunakan pereagen semprot Meyer dan Dragendroff yang bertujuan untuk mengidentifikasi adanya senyawa alkaloid. Warna bercak yang dihasilkan jika senyawa alkaloid berinteraksi dengan pereagen Meyer atau Dragendroff adalah kuning, orange hingga coklat (Wagenr, 1987). Hasil dari KLT pada bercak EEDKH baik di pengamatan UV254nm maupun UV366nm berwarna kuning orange setelah dideteksi dengan pereagen Mayer berubah warna menjadi jingga, sedangkan pada bercak yang disemprot dengan Dragendroff berwarna kuning kecoklatan (UV254nm) dan jingga kecoklatan pada UV366nm. Hasil jarak retensi senyawa tersebut berada pada hRF sekitar 53,8 – 92,5. Hasil dari deteksi tersebut menunjukkan bahwa senyawa aktif yang terkandung pada EEDKH adalah senyawa alkaloid.

Deteksi yang terakhir adalah deteksi dengan menggunakan pereagen sitroborat. Pereagen sitroborat digunakan untuk mendeteksi adanya senyawa fenolik, flavonoid ataupun tanin, dimana warna bercak yang dihasilkan adalah kuning, kuning orange (senyawa flavonoid) dan kuning kehijauan untuk senyawa tanin. Hasil dari penelitian ini menunjukkan positif senyawa flavonoid, hal ini ditunjukkan dengan perubahan warna bercak setelah disemprot dengan sitroborat berwarna kuning dan berfluorosensi kuning kehijauan pada pengamatan UV366nm.

Langkah berikutnya pada penelitian ini adalah pengujian aktivitas antipiretik EEDKH menggunakan induksi pepton secara intramuskular. Metode pengujian aktivitas antipiretik dapat dilakukan dengan tiga metode, yaitu metode lipopolisakarida, induksi ragi dan induksi pepton. Metode yang digunakan penelitian ini adalah induksi pepton, hal ini dikarenakan lebih murah, mudah diperoleh dan tidak toksik. Senyawa pepton bersifat pirogen sehingga dapat menyebabkan kenaikan suhu/demam pada hewan uji (Novadyanti, Kusharyanti I., dan Wahdaningsih S., 2015). Budiman (2010) mengatakan bahwa pepton merupakan protein yang terhidrolisis, yang berpotensi sebagai pemicu demam dan tidak memiliki sifat toksik. Sebelum dilakukan induksi demam, suhu tubuh mencit diukur terlebih dahulu sebagai suhu awal perrektal, kemudian diinduksi dengan pepton dan diukur peningkatan suhunya sampai 2 jam setelah diinduksi kemudian diberi perlakuan berupa variasi dosis EEDKH dan kontrol positif yaitu parasetamol. Hewan uji yang mengalami peningkatan suhu tubuh sebesar atau sama dengan 0,6⁰C dapat dikategorikan demam (Novadyanti, Kusharyanti I., dan Wahdaningsih S., 2015).

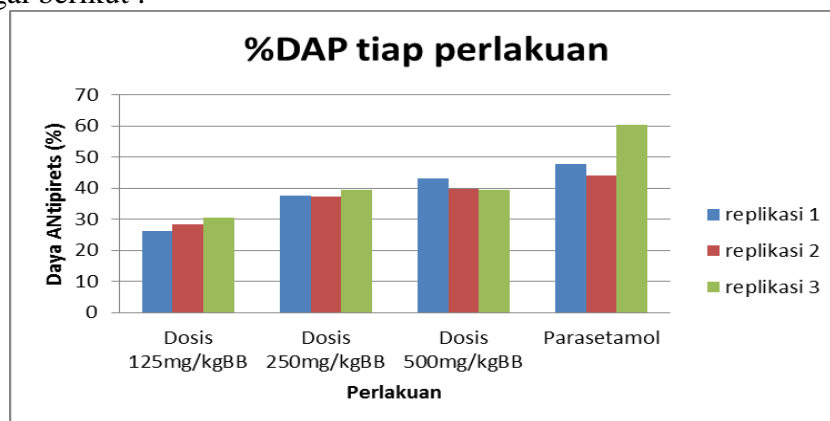
Suhu awal mencit yang diukur sebelum induksi berkisar antara 33⁰C – 36⁰C dengan rata-rata kenaikan suhu setelah induksi berkisar antara 1-2⁰C. Grafik rata-rata penurunan suhu rektal mencit setelah perlakuan dengan EEDKH dan kontrol positif adalah sebagai berikut :



Gambar 1. Grafik penurunan suhu perrektal pada kelompok perlakuan

Grafik tersebut di atas menunjukkan bahwa penurunan suhu tubuh mencit yang tajam terjadi pada menit ke-10 pada dosis 125mg/kgBB namun mengalami kenaikan suhu lagi pada menit ke-20 sampai 30. Penyebab penurunan suhu tubuh yang bervariasi ini dikarenakan berbagai faktor antara lain galur hewan uji, berat badan, hormon, diet, lingkungan dan juga faktor psikologis berupa stres pada hewan uji (Rahma NW., dkk, 2015). Rata-rata penurunan suhu paling linier dan tinggi adalah pada parasetamol, kemudian menyusul dosis 500mg/kgBB dan 250mg/kgBB.

Penurunan suhu tersebut dilanjutkan dengan menghitung luas bawah kurva atau *area under curve* (AUC) yang dimaksudkan untuk mengetahui rata-rata penurunan suhu tiap satu-satuan waktu, yang kemudian digunakan untuk menganalisis persentase daya antipiretik dari EEDKH. Adapun persentase daya antipiretik (%DAP) dari EEDKH yang diperoleh dari hasil analisis AUC adalah sebagai berikut :



Gambar 4. Grafik persentase daya antipiretik EEDKH pada kelompok perlakuan

Pada gambar grafik di atas menunjukkan bahwa parasetamol sebagai kontrol positif tetap memberikan daya antipiretik yang lebih besar daripada ketiga perlakuan ekstrak tersebut. Berturut-turut rata-rata persentase daya antipiretik dari parasetamol, dosis 500mg/kgBB, dosis 250mg/kgBB dan dosis 125mg/kgBB adalah 50,73%; 40,7%; 38,03% dan 28,4%. Hasil analisis statistik menggunakan uji ANOVA menunjukkan adanya perbedaan dari keempat perlakuan tersebut, dimana $p < 0,05$, namun untuk dosis 500mg/kgBB dan 250mg/kgBB menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna setelah dilakukan analisis 2 variabel menggunakan uji LSD, dimana $p > 0,05$.

Aktivitas antipiretik dari EEDKH dikarenakan EEDKH mengandung beberapa senyawa yang berkhasiat sebagai antipiretik seperti senyawa fenolik, flavonoid, saponin dan alkaloid. Kandungan flavonoid mampu menghambat pertumbuhan bakteri serta menghambat aktivitas prostaglandin akibat adanya pirogen (Moot, *et al*, 2013). Flavonoid memiliki mekanisme kerja menghambat enzim siklooksigenase yang muncul akibat peradangan, sehingga berakibat terjadi peningkatan vasodilatasi di kulit, terjadi pengeluaran panas tubuh yang disertai dengan meningkatnya pengeluaran keringat sehingga suhu tubuh akan turun (Reynerston, 2007).

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

1. Berdasarkan identifikasi kualitatif menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) bahwa ekstrak etanol daun kangkung hutan mengandung senyawa fenolik, flavonoid, alkaloid, tanin dan saponin.
2. Ekstrak etanol daun kangkung hutan (EEDKH) memiliki aktivitas antipiretik melalui induksi pepton pada mencit galur Wistar dengan nilai persentase daya antipiretiknya berturut-turut dari dosis 500mg/kgBB, 250mg/kgBB, 125mg/kgBB sebesar 40,7%; 38,03% dan 28,4% hampir setara dengan kontrol positif parasetamol sebesar 50,73% (untuk dosis 500mg/kgBB).

Saran

1. Penelitian lanjutan dapat meneliti tentang uji aktivitas antipiretiknya baik dengan senyawa polar maupun nonpolar atau hasil fraksinasi dari ekstrak etanol 96% kangkung hutan
2. Penelitian lanjutan dapat dilakukan dengan mengidentifikasi kemampuan analgetik pada senyawa polar tersebut atau ekstrak etanol daun kangkung hutan.
3. Perlu dilakukan penelitian tentang toksisitas ekstrak etanol daun kangkung hutan terkait dengan dosis sebagai analgetik ataupun antipiretiknya.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbasi MA., Zafar A., Riaz T., Rehman A., Arshad S., Shahwar D., *et al*, 2010, Evaluation of Comparative Antioxidant Potential of Aqueous and Organic Fractions of *Ipomoea carnea*, *Journal of Medicinal Plants Research* Vol 4 (18), 1883-1887
- Adsul VB, *et al*, 2012, *Antimicrobial Activities of Ipomea carnea Leaves*, J. Nat. Prod. Plant Resour, 2(5):597-600
- Budiman, 2010, *Ilmu Kesehatan Masyarakat dalam Konteks Kesehatan Lingkungan*, Jakarta: EGC
- Deshpande NR, *et al*, 2012, *Evaluation of Antioxidant activity of Ipomea carnea Leaves*, J. Nat. Prod. Plant Resour, 2(5):584-588
- Ermawati EF., 2010, *Efek Antipiretik Ekstrak Daun Pare (Momordica charantia L) Pada Tikus Putih Jantan*, Skripsi, Fakultas Kedokteran UNS; Surakarta
- Freddy IW., 2007, *Analgesik, antipiretik, antiinflamasi non steroid dan obat pirai; Farmakologi dan Terapi Edisi 5*, Fakultas Kedokteran UI; Jakarta
- Gunawan, 2007, *Farmakologi dan Terapi Edisi Kelima*, UI Press; Jakarta
- Harborne, J.B.1987. *Metode Fitokimia II*. Bandung: ITB.
- Jeffrey AG., 1994, *Demam, Termasuk Demam yang Tidak Diketahui Penyebabnya, Prinsip-Prinsip Ilmu Penyakit Dalam Harrison*, Penerbit Buku Kedokteran EGC; Jakarta
- Khalid S, *et al*, 2011, *Antiinflammatory Activity of Aqueous Extract of Ipomea carnea Jacq*, *Pharmacologyonline*:326-331
- Khatiwora E, *et al*, 2010, *Spectroscopic determination of total phenol and flavonoid contents of Ipomea carnea*, *International Journal of ChemTech Research*, Vol 2, No. 3, 1698-1701
- Maryati dan Wahyuni, Sri. 2007. *Petunjuk Praktikum Fitokimia*. Surakarta: Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi UMS.
- Moot CL, Bodhi W dan Mongi J, 2013, *Uji Efek Antipiretik Infusa Daun Sesewanu (Clerodendron squamatum Vahl.) Terhadap Kelinci Jantan Yang Diinduksi Vaksin DTP-HB*, *Jurnal Ilmiah Farmasi-Pharmacon* Vol. 2 No. 03, Program Studi Farmasi UNSRAT; Manado
- Murwantoro dan Santoso, 2012, *Uji Aktivitas Antioksidan Tumbuhan Cyanara scolimus L, Artemisia china L, Borreria repens DC, Polygala paniculata L*, Hasil Koleksi dari Taman Nasional Gunung Merapi dengan Metode Penangkapan Radikal DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), *Majalah Obat Tradisional*, 17(3), 53-60

- Novadyanti, Kusharyanti I., Wahdaningsih S., 2015, Uji Aktivitas Antiinflamasi dan Antipiretik Ekstrak Etanol Daun Petai (*Parkia speciosa* Hassk) pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar, *Naskah Publikasi*, Universitas Tanjungpura, Pontianak
- Odding HA., 2016, Uji Aktivitas Antipiretik Ekstrak Etanol Daun Srikaya (*Annona squamosa* Linn.) terhadap Mencit (*Mus musculus*) Jantan, *Skripsi*, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Alauddin; Makassar
- Parmadi, A. 2000. *Skrining Fitokimia Terhadap Tanaman Yang Mempunyai Daya Sitotoksik Terbesar Terhadap Artemia Salina (leech) Dari Beberapa Tanaman Suku Compositae*. Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Surabaya.
- Puspita, MD., 2010, *Identifikasi Kandungan Tanin dalam Ekstrak Etanolik Daun Jati Belanda (Guazuma ulmifolia Lamk) dari Kebun Tanaman Obat Universitas Sanata Dharma dengan Metode KLT-Densitometri*, Universitas Sanata Dharma; Yogyakarta
- Rahma, NW., Parmadi, A., Candra, Agus, F., Budiyanto, E., 2015, Aktivitas Ekstrak Etanol, Etilasetat dan Kloroform Daun Talok (*Muntingia calabura* L) sebagai Agen Penurun Panas melalui Induksi Vaksin DPT pada Mencit Ras Swiss, *1st Annual Pharmacist Conference Committee*, <http://apc.uns.ac.id>
- Reynertson, 2007, di dalam Sutrisna, EM., 2010, Uji Efek Antiinflamasi Ekstrak Etilasetat Buah Semu Jambu Mete (*Anacardium occidentale* L) terhadap edema pada telapak kaki tikus putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Karagenin, *Biomedika* 2(1):33-37
- Robinson T., 1991, *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi Edisi 6*, Penerbit ITB; Bandung
- Sarma A., and Bachheti RK., 2013, A Review on *Ipomoea carnea*, *International Journal of Pharma and Biosciences*, 4(4):(P) 363-377
- Tjay TH., dan Rahardja K., 2013. *Obat-Obat Penting, Khasiat, Penggunaan dan Efek Samping Edisi Ke-6*, PT. Elex Media Komputindo; Jakarta
- Tjay TH., dan Rahardja K., 2015, *Obat-obat Penting, Khasiat, Penggunaan dan Efek-efek Sampingnya, Edisi Ke-7*, Jakarta; PT. Elex Media Komputindo
- Wagner, H, Bladt, S., Zgainski EM. 1984. *Plant Drug Analysis*. Berlin-heidelberg-New York: Springer Verlag Page 8, 9, 54, 55, 94, 153, 196, 226, 227.
- Widyaningrum, NR., Ningrum, AN., Maesaroh, S., 2021, A Literature Review: Kajian Aktivitas Farmakologi Ekstrak Kangkung Hutan (*Ipomea carnea* Jacq), *Journal of Health Research*, 4, 99–110.
- Widyaningrum, NR., Novitasari, M., Puspitasary, K., 2019. Perbedaan Variasi Formula Basis CMC Na terhadap Sifat Fisik Gel Ekstrak Etanol Kulit Kacang Tanah (*Arachis hypogaea* L), *Journal of Health Research*, 2 (2), 10; 121–134.
-

- Widyaningrum, N.R., Parmadi, A., Wicaksono, W., 2016. Profil Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Etanol Daun Talok (*Muntingia Calabura L*) Beserta Potensinya Sebagai Pereda Nyeri Thin Layer Chromatography Profile Of Ethanol Extract Talok Leaves (*Muntingia calabura L*) Completed With Its Potency As Pain Reliever 3.
- Wilmana F., 2007, *Analgesik-Antipiretik (Analgesik Antiinflamasi Nonsteroid dan Obat Pirai)*, Farmakologi dan Terapi Edisi 4, Bagian Farmakologi Kedokteran Universitas Indonesia; Jakarta
- Yapian SA., Bara R., Awaloei H., dan Wulsan J., 2011, *Uji Efek Antipiretik Ekstrak Daun Pepaya (Carica papaya L) Pada Tikus Wistar (Rattus norvegicus)*, Skripsi, Fakultas Kedokteran Sam Ratulangi; Manado