

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Determinasi Tanaman

Tanaman Daun Kupu-kupu (*Bauhinia purpurea* L.) yang diperoleh dari Desa Ngawu, Playen, Gunung Kidul, Yogyakarta telah dilakukan determinasi di Laboratorium Sistematika Tumbuhan, Fakultas Biologi, Universitas Gajah Mada Yogyakarta pada tanggal 26 Maret 2021 dengan nomor pendaftaran 014988/S.Tb./III/2021. Kriteria dari tanaman daun kupu-kupu yang dipetik untuk dilakukan determinasi yaitu bunga yang berwarna merah muda, daun kupu-kupu, dan batang daun kupu-kupu. Berdasarkan hasil determinasi, tanaman yang digunakan adalah daun kupu-kupu (*Bauhinia purpurea* L.) (lampiran 1).

2. Ekstraksi Daun Kupu-kupu

Penyiapan simplisia daun kupu-kupu dilakukan melalui beberapa tahap, yaitu :

- a. Tahap pemanenan (pengumpulan simplisia) yang dilakukan pada pagi hari pukul 06.15-08.30 WIB dengan dipetik daun kupu-kupu muda hingga diperoleh sebanyak \pm 3 kg, karena pada uji antioksidan senyawa yang berperan sebagai antioksidan yaitu senyawa flavonoid, apabila dipanen pada siang hari maka senyawa flavonoid pada daun dapat berkurang dan pengujian antioksidan sangat berisiko terhadap suhu;
- b. Tahap sortasi basah, untuk memisahkan benda asing/kotoran yang menempel pada daun dengan cara membuang bagian yang tidak layak untuk digunakan;
- c. Proses pencucian, simplisia dibersihkan dengan air mengalir untuk menghilangkan pengotor yang menempel pada daun;
- d. Tahap perajangan, untuk mempercepat proses pengeringan, karena semakin kecil ukuran simplisia maka luas permukaannya akan semakin besar dan mempermudah simplisia menjadi kering;

- e. Tahap pengeringan, menggunakan oven pada suhu $\pm 50^{\circ}\text{C}$ hingga diperoleh simplisia kering (ditandai dengan simplisia yang mudah dipatahkan).
- f. Tahap penyerbukan, simplisia kering daun kupu-kupu diserbuk menggunakan grinder dan diayak menggunakan ayakan mesh 40 untuk memudahkan proses penyarian saat melakukan ekstraksi dan mempermudah proses penarikan senyawa aktif pada simplisia oleh pelarut yang digunakan.

Pada penelitian ini, serbuk daun kupu-kupu dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Pada proses maserasi ini dilakukan dengan cara menimbang terlebih dahulu serbuk daun kupu-kupu sebanyak (306,10 g) dan direndam menggunakan pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:10 dalam wadah toples kaca. Maserasi dilakukan selama 3 hari dan dilakukan pengadukan setiap 4 jam kemudian dilakukan remaserasi 2x selama 3 hari untuk menarik total senyawa aktif pada simplisia dan memperoleh lebih banyak ekstrak. Pengadukan berkali-kali yang dilakukan saat maserasi untuk mempercepat proses pemindahan senyawa dari serbuk simplisia dalam cairan pelarutnya. Cairan pelarut yang digunakan pada penelitian ini yaitu etanol 70% karena etanol merupakan pelarut yang bersifat polar sehingga dapat menarik keluarnya senyawa aktif, memiliki titik didih yang tinggi, dan bersifat tidak beracun yang memungkinkan aman untuk digunakan (Hanin & Pratiwi, 2017). Filtrat dari hasil penyaringan maserasi dan remaserasi kemudian diuapkan menggunakan water bath pada suhu 50°C - 60°C hingga diperoleh ekstrak kental.

Pada penelitian ini, diperoleh ekstrak kental sebanyak 68,65 g dengan nilai rendemen 22,427% (b/b; ekstrak kental/serbuk kering) (lampiran 4). Tujuan dilakukan perhitungan % rendemen yaitu untuk mengetahui persentase dimana semakin tinggi nilai rendemen yang diperoleh maka menandakan bahwa nilai ekstrak yang diperoleh semakin banyak yang tersari dalam pelarut yang digunakan (Wijaya, Novitasari, & Jubaidah, 2018). Berdasarkan penelitian (Aryantini, 2021) diperoleh rendemen sebesar 8,228% sehingga pada penelitian ini telah memenuhi syarat karena tidak kurang dari 8,228%.

Tabel 4. Hasil Rendemen Ekstrak Etanol Daun Kupu-kupu (*Bauhinia purpurea* L.)

Berat serbuk (gram)	Berat ekstrak kental (gram)	% Rendemen
306,10	68,65	22,427

Ekstrak etanol daun kupu-kupu yang telah dikentalkan kemudian di uji organoleptis. Pengujian organoleptis telah dilakukan menggunakan indera manusia dengan tujuan yakni memberikan pengenalan awal pada suatu ekstrak secara objektif dengan mengamati warna, tekstur, bau, dan rasa (Utami *et al.*, 2017). Hasil pengamatan ini dapat di deskripsikan berdasarkan pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Pengamatan Uji Organoleptis Ekstrak Etanol Daun Kupu-kupu (*Bauhinia purpurea* L.)

Uji Organoleptis	Keterangan
Warna	Hijau-Kehitaman
Tekstur	Kental
Aroma/Bau	Khas
Rasa	Hambar

3. Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia merupakan salah satu analisis secara kualitatif yang bertujuan untuk mengetahui adanya kandungan metabolit sekunder pada ekstrak etanol daun kupu-kupu (*Bauhinia purpurea* L.). Berdasarkan Tabel 6. hasil dari uji penapisan fitokimia ini, ekstrak etanol daun kupu-kupu dapat dikatakan memiliki kandungan senyawa flavonoid yang ditandai dengan terjadinya perubahan warna hijau menjadi warna jingga karena terjadinya reduksi antara ekstrak dengan serbuk magnesium (Mg) dan HCl pekat. Ekstrak tersebut juga mengandung senyawa tanin yang menghasilkan warna hijau-kehitanan karena direaksikan dengan $FeCl_3$ maka akan terbentuknya senyawa kompleks (Aryantini, 2021). Selain mengandung flavonoid dan tanin, ekstrak juga mengandung senyawa saponin yang ditandai dengan timbulnya busa/buih setinggi 1 cm karena adanya penggojokan kuat dan penambahan HCl 2N bertujuan agar busa/buih yang terbentuk menjadi stabil. Pada pengujian alkaloid, hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kupu-kupu tidak memiliki kandungan senyawa alkaloid. Hasil skrining fitokimia yang didapatkan

sesuai dengan penelitian (Chanchal *et al.*, 2016) dan (Zakaria Z. A., 2007) bahwa ekstrak etanol daun kupu-kupu memiliki kandungan senyawa flavonoid, saponin, tanin tetapi tidak memiliki kandungan alkaloid.

Tabel 6. Hasil Penapisan Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Kupu-kupu (*Bauhinia purpurea L.*)

Penapisan Fitokimia	Hasil	Keterangan
Flavonoid	+	Terbentuk warna jingga
Alkaloid :		
Pereaksi Wagner	-	Tetap berwarna hijau dan tidak terbentuk endapan
Pereaksi Mayer	-	
Pereaksi Dragendorf	-	
Tanin	+	Terbentuk warna hijau-kehitaman
Saponin	+	Terbentuk busa setinggi 1 cm

Keterangan : (+) = mengandung golongan senyawa tersebut.

(-) = tidak mengandung golongan senyawa tersebut.

4. Profil Kromatografi Lapis Tipis Senyawa Flavonoid

Profil Kromatografi Lapis Tipis pada ekstrak etanol daun kupu-kupu dilakukan bertujuan untuk mengidentifikasi adanya kandungan senyawa flavonoid dalam daun kupu-kupu. Dilakukan menggunakan metode KLT ini karena termasuk metode yang sederhana, cepat, mudah, dan sering digunakan untuk melihat adanya kemurnian suatu senyawa organik. Data yang diperoleh dari uji tersebut dapat berupa bercak noda pada lempeng KLT dan nilai R_f.

Untuk melakukan uji KLT ini terlebih dahulu dilakukan penjenuhan bejana dengan eluen (fase gerak) menggunakan kertas saring, karena bertujuan untuk memperoleh homogenitas dalam bejana dan meminimalkan penguapan pelarut dari plat KLT. Fase gerak yang digunakan yakni toluene : aseton : asam format (4 : 4 : 2) dimana toluene bersifat non polar, aseton bersifat semi polar, dan asam format bersifat polar. Fase diam yang digunakan pada uji KLT ini berupa plat *silica gel 60 F₂₅₄*, dimana plat tersebut memiliki sifat polar. Sebelum plat digunakan, terlebih dahulu dilakukan pengeringan/aktivasi plat KLT menggunakan *hairdryer* selama 5 menit untuk menghilangkan kandungan air

pada plat sehingga tidak mengganggu dan dapat memaksimalkan daya serap sampel.

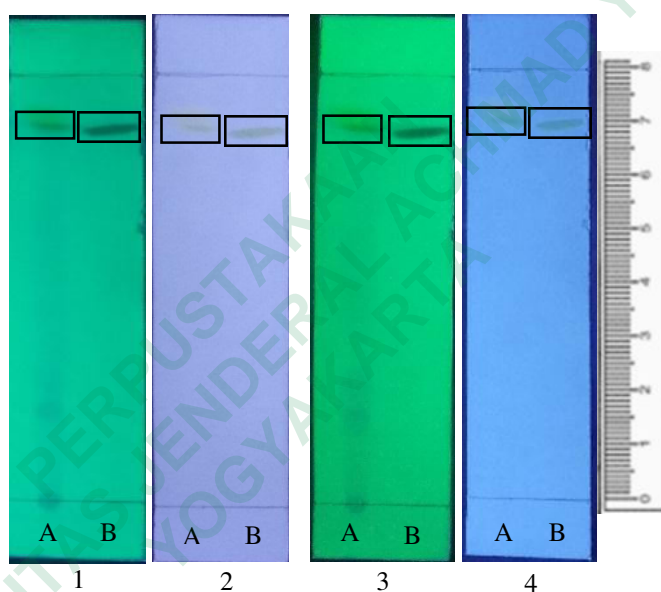
Bejana yang sudah jenuh, maka perlu dilakukan optimasi sampel terhadap eluen terlebih dahulu karena sampel sangat berpengaruh pada pemilihan sifat kepolaran fase gerak. Konsentrasi ekstrak dan standar yang digunakan untuk penotolan yakni 10 mg/2 mL dan 10 mg/10 mL dengan volume penotolan sebanyak 2 μ L menggunakan *white tip* pada plat KLT, kemudian dimasukkan plat tersebut kedalam bejana yang berisi fase gerak yang telah dijenuhkan. Diamati hingga fase gerak mencapai batas, kemudian plat diangkat dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Hasil penotolan dibaca pada panjang gelombang UV 254 dan UV 366 dengan diamati bercak noda yang timbul. Berdasarkan hasil optimasi pada Tabel 7. fase gerak berupa toluene : aseton : asam format (4 : 4 : 2, v/v/v) (Annegowda *et al.*, 2011) dapat digunakan untuk uji KLT karena merupakan fase gerak yang optimal dalam mengelusi ekstrak. Hasil uji tersebut menunjukkan adanya bercak berwarna kuning kehijauan yang terlihat jelas pada sampel dan sejajar dengan standar kuersetin yang berwarna kuning kecoklatan.

Tabel 7. Hasil optimasi fase gerak pada identifikasi kromatografi lapis tipis pada sampel ekstrak daun kupu-kupu

No	Fase Gerak	Hasil Kromatografi Lapis Tipis
1.	Toluene : Aseton : Asam Format (4 : 4 : 2)	Fase gerak naik, sampel terelusi tetapi terlalu pekat, terjadi tailing
2.	Kloroform : Xylene : Asam Format (8,5 : 1,5 : 4 tetes)	Fase gerak naik, sampel terelusi, tetapi kuersetin tidak terelusi
3.	Petroleum eter : Etil asetat (4 : 6)	Fase gerak naik, sampel dan kuersetin terelusi namun bercak noda tidak sejajar.
4.	Toluene : Aseton : Asam Format (4 : 4 : 2)	Fase gerak naik, sampel dan kuersetin terelusi dan bercak noda sejajar

Berdasarkan hasil pengamatan pada Tabel 8 dan Gambar 8, plat KLT sebelum disemprotkan dengan pereaksi $AlCl_3$, telah diamati di bawah sinar UV 254 nm (Gambar 8.1) ekstrak dan kuersetin menunjukkan bercak jelas dengan warna kuning pada ekstrak dan kuning kecoklatan pada kuersetin. Sedangkan pada sinar UV 366 nm (Gambar 8.2) terlihat bahwa bercak ekstrak berwarna kuning kecoklatan. Setelah disemprot dengan pereaksi $AlCl_3$, kemudian diamati

kembali dibawah sinar UV 254 nm (Gambar 8.3) pada ekstrak memiliki bercak berwarna kuning dan pada sinar UV 36 nm (Gambar 8.4) pada ekstrak terdapat bercak berwarna kuning. Menurut (Endarini, 2016) bercak kuning setelah dilakukan penyemprotan menggunakan $AlCl_3$ ditandai adanya kandungan senyawa flavonoid, dimana pereaksi tersebut untuk menganalisis noda yang berfluoresensi kekuningan jika diamati dengan sinar UV. Berdasarkan nilai Rf pada Tabel 8. menunjukkan bahwa adanya kandungan flavonoid pada sampel yakni kuersetin (flavonoid golongan flavonol).



Gambar 8. Profil KLT Ekstrak Etanol Daun Kupu-kupu (*Bauhinia purpurea* L.)
Keterangan: 1. Deteksi dengan UV 254 sebelum disemprot $AlCl_3$; 2 Deteksi dengan UV 366 sebelum disemprot $AlCl_3$; 3.. Deteksi dengan UV 254 sesudah disemprot $AlCl_3$; 4. Deteksi dengan UV 366 sesudah disemprot $AlCl_3$. A) Ekstrak B) Kuersetin. Fase diam = silika gel 60 F₂₅₄; Fase gerak = Toluene : Aseton : Asam Format (4 : 4 : 2, v/v/v)

Tabel 8. Perbandingan warna sebelum dan sesudah disemprot pereaksi $AlCl_3$

Sampel	Warna			
	Sebelum disemprot $AlCl_3$		Sesudah disemprot $AlCl_3$	
	UV 254	UV 366	UV 254	UV 366
Ekstrak etanol daun kupu-kupu	Kuning	Kuning	Kuning	Kuning
Kuersetin	Kuning kecoklatan	Kuning pudar	Kuning kecoklatan	Kuning pudar

Tabel 9. Nilai Rf sampel dan standar menggunakan fase gerak toluene : aseton : asam format (4 : 4 : 2, v/v/v)

Ekstrak etanol daun kupu-kupu	Standar kuersetin	Literatur
0,862	0,875	0,2 – 0,8

5. Analisis Hasil Uji Peredaman Radikal Bebas

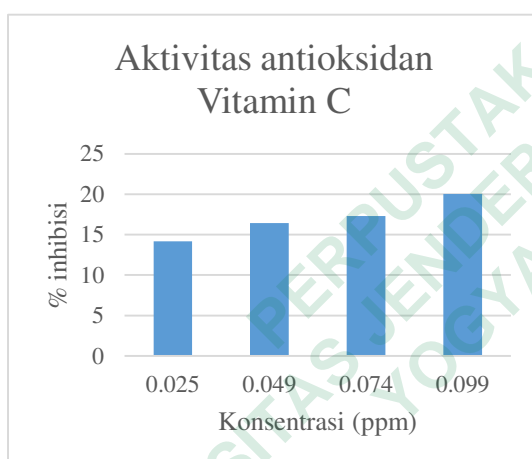
Analisis uji peredaman radikal bebas pada penelitian ini dilakukan secara kuantitatif yakni dengan menghitung nilai IC_{50} pada ekstrak etanol daun kupu-kupu (*Bauhinia purpurea* L.) dan vitamin C sebagai pembanding dengan menggunakan metode peredaman radikal DPPH. Pada penelitian ini pengukuran uji peredaman radikal bebas dilakukan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimal 515 nm yang merupakan panjang gelombang maksimum pada DPPH.

Spektrofotometer UV-Vis termasuk suatu alat yang biasa digunakan untuk mengukur absorbansi pada panjang gelombang tertentu. Pada penelitian ini panjang gelombang maksimal yang diperoleh pada DPPH dengan rentang 400 – 600 nm, yaitu 515 nm. Tujuan dilakukannya penentuan panjang gelombang maksimal yakni untuk mengetahui nilai absorbansi maksimal (range 0,2 – 0,8) terdapat pada panjang gelombang maksimal. Selanjutnya dilakukan *operating time* (OT) dengan rentang waktu 0 – 40 menit, hingga diperoleh waktu inkubasi selama 30 menit. Tujuan dilakukannya OT yaitu untuk mengetahui waktu stabil senyawa DPPH bereaksi dengan antioksidan.

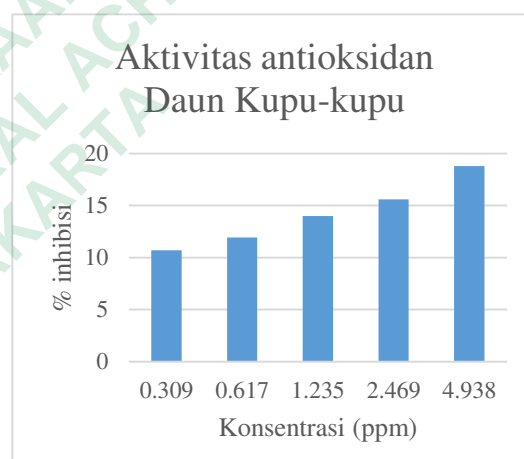
Menggunakan senyawa pembanding standar berupa vitamin C karena termasuk suatu senyawa antioksidan alami yang biasa digunakan untuk pembanding pada uji peredaman radikal bebas DPPH. Vitamin C memiliki sifat yang mampu menangkap radikal bebas sehingga relatif aman dan tidak akan menimbulkan toksisitas (Gusungi *et al.*, 2020).

Dilakukan uji peredaman radikal bebas dengan mereaksikan 4 mL DPPH 0,1 mM dan ditambahkan 50 μ L larutan seri konsentrasi pada sampel maupun standar. Pada pengujian ini menggunakan metanol *p.a.* sebagai blanko pada pengukuran absorbansi sampel maupun standar menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimal 515 nm. Pengujian ini dilakukan replikasi 3 kali guna untuk memperoleh kurva baku dengan nilai koefisien

korelasi yang paling baik. Kemudian diperoleh data absorbansi pada masing-masing konsentrasi berdasarkan Tabel 9. sehingga data absorbansi dari seri konsentrasi ekstrak etanol daun kupu-kupu dan vitamin C dihitung % inhibisi untuk memperoleh persamaan regresi linear, dimana berdasarkan Tabel 10. persamaan regresi linear tersebut digunakan untuk menghitung nilai IC_{50} . Nilai % inhibisi dilakukan untuk mengetahui banyaknya senyawa yang dapat meredam aktivitas radikal bebas DPPH pada konsentrasi tertentu (Gusungi *et al.*, 2020). Berdasarkan Gambar 9. ekstrak etanol daun kupu-kupu dengan konsentrasi 4,938 ppm mampu menghambat radikal bebas sebesar 18,799 % sedangkan pada Gambar 10. Vitamin C dengan konsentrasi 0,099 ppm mampu menghambat radikal bebas sebesar 20,045 %.



Gambar 9. Grafik perbandingan konsentrasi (ppm) dan % inhibisi ekstrak etanol daun kupu-kupu



Gambar 10. Grafik perbandingan konsentrasi (ppm) dan % inhibisi Vitamin C

Berdasarkan Tabel 11. ekstrak etanol daun kupu-kupu dan vitamin C termasuk klasifikasi tingkat antioksidan yang sangat kuat, dimana keduanya memiliki nilai IC_{50} ($< 50 \mu\text{g/mL}$) yakni pada ekstrak sebesar $23.601 (\mu\text{g/mL}) \pm 3.1842$ sedangkan pada vitamin C sebesar $0.504 (\mu\text{g/mL}) \pm 2.4198$. Nilai IC_{50} dilakukan untuk mengetahui konsentrasi efektif pada ekstrak yang mampu meredam hilangnya aktivitas pada DPPH sebesar 50% (Gusungi *et al.*, 2020).

Tabel 10. Hasil Analisis Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kupu-kupu (*Bauhinia purpurea L.*) dan Vitamin C menggunakan DPPH

	Konsentrasi (ppm)	Rep	Absorbansi	Rata-rata absorbansi	% inhibisi	IC ₅₀ (µg/mL)	T-test
Ekstrak etanol daun kupu-kupu (<i>Bauhinia purpurea L.</i>)	0,309	1	0,755	0,754	10,703	23,601 ± 3,1842	0,000**
		2	0,754				
		3	0,752				
	0,617	1	0,745	0,743	11,927		
		2	0,743				
		3	0,742				
	1,235	1	0,728	0,726	13,981		
2		0,724					
3		0,726					
2,469	1	0,707	0,712	15,600			
	2	0,716					
	3	0,714					
4,938	1	0,684	0,685	18,799			
	2	0,685					
	3	0,687					
Absorbansi blanko						0,884	
<i>Shapiro-Wilk</i>			0,711*				
Vitamin C	0,025	1	0,512	0,508	14,189	0,504 ± 2,4198	0,000**
		2	0,506				
		3	0,506				
	0,049	1	0,502	0,495	16,441		
		2	0,495				
		3	0,487				
	0,074	1	0,492	0,490	17,286		
2		0,491					
3		0,486					
0,099	1	0,493	0,473	20,045			
	2	0,466					
	3	0,461					
Absorbansi blanko						0,592	
<i>Shapiro-Wilk</i>			0,174*				

Keterangan : *Data terdistribusi normal menggunakan *Shapiro-Wilk* ($p > 0,05$)

**Terdapat perbedaan menggunakan *T-test* ($p < 0,05$)

Tabel 11. Persamaan regresi linear antara konsentrasi dengan % inhibisi pada ekstrak etanol daun kupu-kupu dan vitamin C

Sampel	Persamaan regresi linear antara konsentrasi dengan % inhibisi
Ekstrak etanol daun kupu-kupu	$a = 11,044$ $b = 1,6506$ $r = 0,9758$ $y = 1,6506x + 11,044$
Vitamin C	$a = 12,387$ $b = 74,569$ $r = 0,9823$ $y = 74,569x + 12,387$

Tabel 12. Klasifikasi tingkat antioksidan pada ekstrak etanol daun kupu-kupu dan vitamin C dengan metode perendaman radikal DPPH

Sampel	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	Klasifikasi tingkat antioksidan				
		Sangat kuat (< 50 $\mu\text{g/mL}$)	Kuat ($50 - 100$ $\mu\text{g/mL}$)	Sedang ($101 - 250$ $\mu\text{g/mL}$)	Lemah ($250 - 500$ $\mu\text{g/mL}$)	Tidak aktif (> 500 $\mu\text{g/mL}$)
Ekstrak etanol daun kupu-kupu	23.601 ± 3.1842	√				
Vitamin C	0.504 ± 2.4198	√				

Kemudian dilakukan analisis statistik menggunakan *SPSS Software* dari nilai IC₅₀ pada ekstrak etanol daun kupu-kupu dan vitamin C tersebut. Dilakukan uji normalitas untuk mengetahui data yang diperoleh terdistribusi normal atau tidak, kemudian dilakukan uji homogenitas untuk mengetahui adanya keseragaman pada data tersebut. Berdasarkan Tabel 9. hasil uji normalitas menggunakan metode *Shapiro-Wilk*, menunjukkan bahwa nilai IC₅₀ tersebut terdistribusi normal dengan hasil nilai tersignifikan ($p > 0,05$) yaitu pada ekstrak etanol daun kupu-kupu (0,711) dan vitamin C (0,174). Selanjutnya untuk hasil uji homogenitas menggunakan *Levene test*, menunjukkan bahwa data tersebut homogen dengan hasil nilai signifikan ($p > 0,05$) (Lampiran 8.). Kemudian dilanjutkan dengan uji *T-test* untuk mengetahui adanya perbedaan antara sampel dengan standar, berdasarkan hasil uji tersebut menandakan bahwa aktivitas

antioksidan antara ekstrak etanol daun kupu-kupu dengan vitamin C berbeda secara signifikan ($p < 0,05$) yaitu 0.000.

B. Pembahasan

Penelitian ini diawali dengan terlebih dahulu melakukan uji penapisan fitokimia. Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak tersebut mengandung senyawa flavonoid, saponin, dan tanin. Senyawa flavonoid sebagai antioksidan akan menstabilkan dan tidak mereaktifkan radikal bebas (Kusuma, 2015). Senyawa saponin terhadap antioksidan akan meredam superoksida melalui suatu pembentukan intermediet hidrogenperoksida yang dapat mencegah terjadinya kerusakan sel yang diakibatkan oleh radikal bebas (Syarif *et al.*, 2015) Sedangkan senyawa tanin terhadap antioksidan akan memberikan satu elektron kepada suatu radikal bebas sehingga dapat mengakibatkan terbentuknya senyawa *non-radikal* (Aryantini, 2021).

Dilanjutkan dengan melakukan identifikasi kandungan senyawa flavonoid pada daun kupu-kupu menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis. Senyawa flavonoid akan tampak berwarna kuning pada sinar UV. Sebelum disemprotkan dengan pereaksi $AlCl_3$ diamati pada UV 254 dan 366 nm yang terlihat bahwa bercak noda pada ekstrak etanol daun kupu-kupu berwarna kuning, sedangkan bercak noda pada kuersetin berwarna kuning kecoklatan. Analisis dilanjutkan dengan menggunakan pereaksi $AlCl_3$, karena pereaksi tersebut akan menghasilkan bercak noda yang berwarna kuning untuk mengidentifikasi suatu senyawa flavonoid pada sampel. Hasil setelah penyemprotan menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kupu-kupu memiliki bercak noda berwarna kuning yang menyatakan bahwa positif mengandung senyawa flavonoid yakni golongan flavonol berupa kuersetin dengan nilai R_f sampel sebesar 0,862 sedangkan nilai R_f kuersetin 0,875. Berdasarkan penelitian (Adelima *et al.*, 2016) nilai R_f yang baik yaitu pada kisaran 0,2 – 0,8 dengan hasil nilai R_f kuersetin yang diperoleh sebesar 0,53. Pada penelitian ini, didapat nilai R_f sampel dan kuersetin yang hampir setara maka dapat diasumsikan bahwa sampel tersebut memiliki kandungan kuersetin. Berdasarkan penelitian (Anwar, Azmi, & Herdini, 2015) menyatakan bahwa hampir setiap spesies *Bauhinia* memiliki senyawa kuersetin.

Tujuan dilakukannya identifikasi senyawa flavonoid pada sampel tersebut karena mekanisme kerja senyawa flavonoid sebagai antioksidan sekunder yakni akan berperan sebagai pro-oksidan pada konsentrasi yang sangat tinggi untuk meredam reaksi oksidasi dari radikal bebas sehingga tidak dapat bereaksi (Sayuti & Yenrina, 2015) kemudian mampu bereaksi secara langsung maupun tidak langsung, dimana apabila bereaksi secara langsung maka senyawa tersebut akan mendonorkan ion hidrogen nya sehingga dapat menetralkan efek toksik yang berasal dari radikal bebas kemudian apabila bereaksi secara tidak langsung maka senyawa tersebut akan meningkatkan suatu ekspresi gen antioksidan endogen dengan melalui beberapa mekanisme (Kusuma, 2015). Sedangkan kuersetin terhadap antioksidan yaitu mampu mencegah oksidasi dengan menangkalkan radikal bebas dan ion transisi sehingga dapat membantu dalam pencegahan seperti penyakit degeneratif yang disebabkan oleh adanya ikatan rangkap pada flavon cincin aromatic pusat yang ditandai oleh struktur planar (Arifin & Ibrahim, 2018)

Uji peredaman radikal bebas pada ekstrak etanol daun kupu-kupu dilakukan menggunakan metode perendaman radikal DPPH dengan pengukuran aktivitas antioksidan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimal 515 nm. Metode DPPH merupakan suatu senyawa radikal bebas yang stabil, mudah didapat, termasuk metode yang sederhana, dan tidak membutuhkan reagen sehingga metode ini paling umum digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan dalam perendaman radikal. Hasil uji menggunakan metode ini menunjukkan bahwa adanya kemampuan antioksidan pada sampel, bukan menunjukkan suatu jenis radikal yang akan dihambat (Sayuti & Yenrina, 2015). Spektrofotometer UV-Vis merupakan suatu metode pengukuran yang biasa digunakan untuk mengetahui adanya molekul pada larutan yang diukur menggunakan panjang gelombang tertentu yang akan diserap oleh sampel, dan menghasilkan suatu data absorbansi (Suhartati, 2017). Pada penelitian ini menggunakan vitamin C yang berperan sebagai kontrol positif yang berfungsi sebagai pembanding antioksidan. Vitamin C merupakan suatu senyawa antioksidan alami yang dapat menurunkan efek samping radikal

bebas seperti reaktif oksigen yang mampu menyebabkan terjadinya kerusakan sel dan mengakibatkan penyakit degeneratif (Lung & Destiani, 2017). Sedangkan ekstrak etanol daun kupu-kupu berperan sebagai sampel antioksidan alami.

Larutan DPPH 0,1 mM akan berperan sebagai radikal bebas yang akan bereaksi dengan antioksidan yaitu ekstrak etanol daun kupu-kupu dan vitamin C, sehingga akan bersifat non-radikal. Berdasarkan struktur DPPH pada Gambar 3. larutan yang awalnya berwarna ungu akan berubah menjadi warna kuning pucat yang disebabkan adanya senyawa yang akan memberikan radikal hidrogen yaitu ekstrak etanol daun kupu-kupu dan vitamin C kepada radikal DPPH sehingga ikatan rangkap terkonjugasi pada DPPH berkurang dan akan tereduksi menjadi DPPH-H (*2,2 diphenyl -1-pikrilhirazin*).

Dari hasil Gambar 9. ekstrak pada konsentrasi 4,938 ppm mampu mengikat radikal bebas sebesar 18,799% sedangkan pada Gambar 10. vitamin C dengan konsentrasi 0,099 ppm sudah mampu mengikat radikal bebas sebesar 20,045%. Telah dilakukan pada penelitian lain, seperti (Zakaria Z. A., 2007) mengatakan bahwa ekstrak air daun kupu-kupu mampu mengikat radikal DPPH (%inhibisi) sebesar $94,90 \pm 1,05\%$, pada penelitian (Annegowda *et al.*, 2011) mengatakan bahwa ekstrak etanol 99,5% daun kupu-kupu mampu mengikat radikal DPPH pada seri konsentrasi 60 $\mu\text{g/mL}$ sebesar sebesar 83% , dan pada penelitian (Zakaria *et al.*, 2011) dengan konsentrasi 500 $\mu\text{g/mL}$ ekstrak air, ekstrak kloroform, dan ekstrak metanol daun kupu-kupu masing-masing ekstrak mampu mengikat radikal DPPH sebesar $25,5 \pm 0,6\%$, $55,1 \pm 1,2\%$, dan $57,5 \pm 0,1\%$. Berdasarkan hasil tersebut dapat dikatakan bahwa % inhibisi pada vitamin C lebih tinggi dibandingkan ekstrak, karena vitamin C merupakan suatu senyawa yang lebih polar dan memiliki empat gugus hidroksil sehingga aktivitas antioksidan nya lebih kuat. Semakin tinggi konsentrasi pada sampel dan semakin rendah nilai absorbansinya, maka akan menghasilkan nilai % inhibisi yang besar (Gusungi *et al.*, 2020). Semakin besar konsentrasinya, maka akan semakin banyak kandungan senyawa yang berperan sebagai antioksidan pada vitamin C maupun ekstrak, sehingga keduanya dapat meredam aktivitas radikal bebas

DPPH yang ditandai dengan perubahannya warna ungu menjadi warna merah muda atau kuning.

Hasil uji aktifitas antioksidan pada ekstrak etanol daun kupu-kupu dinyatakan dalam persen peredaman pada Tabel 10. Kemudian diplotkan terhadap konsentrasi, sehingga diperoleh persamaan regresi linear $y = 1.6506x + 11.044$ dan nilai $r = 0.9758$ sedangkan vitamin C diperoleh persamaan regresi linear $y = 74.569x + 12.387$ dan nilai $r = 0.9823$. Hasil tersebut digunakan untuk menghitung nilai IC_{50} dan diperoleh nilai IC_{50} pada ekstrak etanol daun kupu-kupu sebesar $23.601 (\mu g/mL) \pm 3.1842$ dan vitamin C sebesar $0.504 (\mu g/mL) \pm 2.4198$ dari nilai yang diperoleh, keduanya termasuk kategori antioksidan yang sangat kuat. Dibandingkan dengan hasil uji antioksidan yang diperoleh dari penelitian sebelumnya, seperti pada penelitian (Aryantini, 2021) mengatakan bahwa ekstrak etanol 96% daun kupu-kupu memiliki nilai IC_{50} sebesar $706 \pm 1,52$ ppm, sedangkan pada penelitian (Syukur *et al.*, 2011) mengatakan bahwa ekstrak n-heksan dan ekstrak etanol daun kupu-kupu masing-masing memiliki nilai IC_{50} sebesar 415,9 mg/mL dan 820,16 mg/mL, selanjutnya pada penelitian (Urmi *et al.*, 2013) ekstrak n-heksan daun kupu-kupu memiliki nilai IC_{50} sebesar 3,07 $\mu g/mL$. IC_{50} merupakan suatu parameter yang berkaitan dengan konsentrasi antioksidan yang dapat merendam/menangkap radikal DPPH sebesar 50%. (Molyneux, 2004). Semakin kecil nilai IC_{50} yang diperoleh pada sampel maka semakin tinggi efektifitas sampel sebagai antioksidan. Berdasarkan hasil analisis statistik dengan *SPSS Software*, telah dilakukan uji T-Test dengan menunjukkan bahwa nilai IC_{50} pada ekstrak etanol daun kupu-kupu dan vitamin C berbeda secara signifikan ($p < 0,05$) yaitu 0,000 sehingga dapat diasumsikan bahwa aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol daun kupu-kupu dan vitamin C menggunakan metode peredaman DPPH terdapat perbedaan secara signifikan ($p < 0,05$).

Sehingga pada penelitian ini dapat dibuktikan bahwa nilai IC_{50} vitamin C lebih kecil dibandingkan dengan nilai IC_{50} pada ekstrak etanol daun kupu-kupu, yang artinya aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun kupu-kupu lebih rendah dibandingkan dengan aktivitas antioksidan pada vitamin C. Aktivitas

antioksidan yang rendah kemungkinan dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti, mudah rusaknya sifat yang telah terpapar oleh oksigen, proses panen simplisia, suhu saat ekstraksi dan pemekatan ekstrak, metode ekstraksi yang kurang cukup untuk menarik suatu senyawa yang memiliki sifat antioksidan pada simplisia, dan lamanya penyimpanan ekstrak (Molyneux, 2004). Perbedaan nilai IC_{50} pada vitamin C dan ekstrak etanol daun kupu-kupu disebabkan karena vitamin C merupakan suatu standar yang memiliki senyawa murni dan terdapat empat gugus hidroksil dengan secara langsung akan mendonorkan satu elektronnya untuk membentuk senyawa yang tidak bersifat reaktif. Sedangkan ekstrak etanol daun kupu-kupu terdapat beberapa kandungan senyawa lainnya selain senyawa yang berperan sebagai antioksidan.

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YAN
YOGYAKARTA