

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. HASIL

1) Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman bertujuan untuk memastikan kebenaran sampel daun cocor bebek yang akan digunakan dalam penelitian ini. Tanaman daun cocor bebek dilakukan determinasi di Laboratorium Biologi Universitas Ahmad Dahlan pada tanggal 9 Mei 2023. Hasil determinasi dengan nomor surat 242/Lab.Bio/B/V/2023 menunjukkan bahwa tanaman daun cocor bebek merupakan spesies *Kalanchoe pinnata* (Lam.) Pers. Hasil penelitian determinasi dapat dilihat pada Lampiran 2.

2) Pembuatan Simplisia dan Ekstraksi

Simplisia daun cocor bebek didapatkan dari penjual tanaman hias di Tlogo, Kebun Agung, Kecamatan Imogiri, Kabupaten Bantul, Daerah Istimewa Yogyakarta. Simplisia yang digunakan adalah bagian daunnya yang memiliki kriteria warna daun hijau muda segar. Daun yang telah dipanen kemudian dicuci untuk menghilangkan kotoran yang tertinggal pada saat pemanenan, setelah itu daun cocor bebek ditiriskan, kemudian daun dipotong menjadi bagian kecil-kecil dan dikeringkan dengan metode SML, SMTL, dan Oven. Lama hasil proses pengeringan dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Proses Pengeringan Simplisia

No	Cara Pengeringan Sampel	Waktu pengeringan
1.	SML	14 hari
2.	SMTL	17 hari
3.	Oven	4 hari

Simplisia yang telah kering, diserbuk menggunakan grinder dan diayak menggunakan ayakan 40 mesh. Serbuk simplisia kemudian di dilanjutkan pengecekan kadar lembab menggunakan uji *moisture content*.

3) Uji *Moisture Content*

1 gram serbuk cocor bebek dimasukkan ke dalam cawan alumunium pada *moisture content* dan diatur suhu menjadi 105°C. Nilai kadar akan muncul pada alat saat pengujian telah selesai. Pada pengeringan SML didapatkan kadar

lembab pengeringan SML sebesar 5,68 % MC, SMTL sebesar 8,21 % MC, dan Oven sebesar 9,32 % MC. Menurut Kemenkes (2017) batas pengeringan maksimum serbuk simplisia tidak lebih dari 10%. Hal ini menunjukkan bahwa masing-masing pengeringan serbuk simplisia tidak melebihi batas standar maksimum dari *moisture content*.

Tahap selanjutnya serbuk cocor bebek SML dimaserasi sebanyak 120 gram, SMTL sebanyak 50 gram, dan Oven sebanyak 45 gram dengan menggunakan pelarut etanol 70% perbandingan (1:10), kemudian serbuk simplisia di maserasi selama 3x 24 jam dan remaserasi selama 1 x 24 jam, untuk hasil maserasi dan remaserasi kemudian diuapkan di penangas air pada suhu 50°C selama 2 hari, sehingga nantinya didapatkan ekstrak kental. Ekstrak yang telah dipekatkan kemudian ditimbang dan dihitung rendemennya. Hasil rendemen simplisia dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Rendemen Simplisia Daun Cocor Bebek

No.	Pengeringan Tanaman	Bobot serbuk daun cocor bebek (gram)	Bobot ekstrak kental (gram)	Rendemen (%)
1.	SML	120	47	47,5
2.	SMTL	50	20	40
3.	Oven	45	16	35,5

Berdasarkan hasil rendemen pada Tabel 5. Hasil rendemen yang diperoleh sudah memenuhi persyaratan, yang mana semua metode pengeringan memperoleh nilai rendemen lebih dari 10 %.

4) Uji Organoleptik

Pengujian organoleptik bertujuan untuk mengetahui rasa, bau, warna, dan tekstur ekstrak. Uji organoleptik pada kondisi ekstrak setelah mengalami proses ekstraksi dan penyimpanan dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil Karakteristik Ekstrak Etanol Daun Cocor Bebek

Parameter	Hasil Karakteristik Ekstrak Etanol Daun Cocor bebek		
	SML	SMTL	Oven
Warna	Hijau Kehitaman	Hijau Kehitaman	Hijau Kehitaman
Tekstur	Kental	Kental	Kental
Bau	Khas	Khas	Khas

5) Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia bertujuan sebagai uji kualitatif untuk melihat adanya senyawa yang terkandung dari ekstrak etanol 70% daun cocor bebek secara kualitatif. Hasil uji fitokimia dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Data Skrining Fitokimia Daun Cocor Bebek

No	Jenis Uji	SML	SMTL	Oven	Hasil
1.	Alkaloid				
	a. Mayer	(-)	(-)	(-)	Endapan Putih
	b. Wagner	(+)	(+)	(+)	Endapan Hijau Kehitaman
	c. Dragendroff	(-)	(-)	(-)	Merah Jingga
2	Flavonoid	(+)	(+)	(+)	Orange
3	Tanin	(+)	(+)	(+)	Hijau Kehitaman
4	Fenol	(+)	(+)	(+)	Hijau Kehitaman

Keterangan:

(+): Mengandung senyawa metabolit sekunder.

(-): Tidak mengandung senyawa metabolit sekunder.

Berdasarkan Tabel 7 di atas, ketiga pereaksi pada uji alkaloid, hasil yang menunjukkan positif mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu pereaksi Wagner, sedangkan pada pereaksi Mayer dan Dragendroff menunjukkan hasil yang negatif, sehingga dapat diartikan ekstrak daun cocor bebek tidak mengandung senyawa alkaloid, karena untuk persyaratan pereaksi dinyatakan positif mengandung alkaloid yaitu jika 2 sampai 3 pereaksi menunjukkan hasil yang positif (Fajrin, 2019).

Pada uji flavonoid dengan penambahan magnesium dan HCl pekat menunjukkan hasil positif dengan terjadinya perubahan warna sampel menjadi orange, sehingga dapat diartikan sampel mengandung senyawa flavonoid (Sylvia *et al.*, 2020).

Pada uji tanin dengan penambahan aquadest dan FeCl₃ 1% menunjukkan hasil positif dengan terjadinya perubahan warna hijau kehitaman, sehingga dapat diartikan sampel mengandung senyawa tanin dan pada uji fenol dengan penambahan FeCl₃ 1% menunjukkan hasil positif dengan terjadinya perubahan warna hijau kehitaman, sehingga dapat diartikan sampel mengandung senyawa fenol (Sylvia *et al.*, 2020).

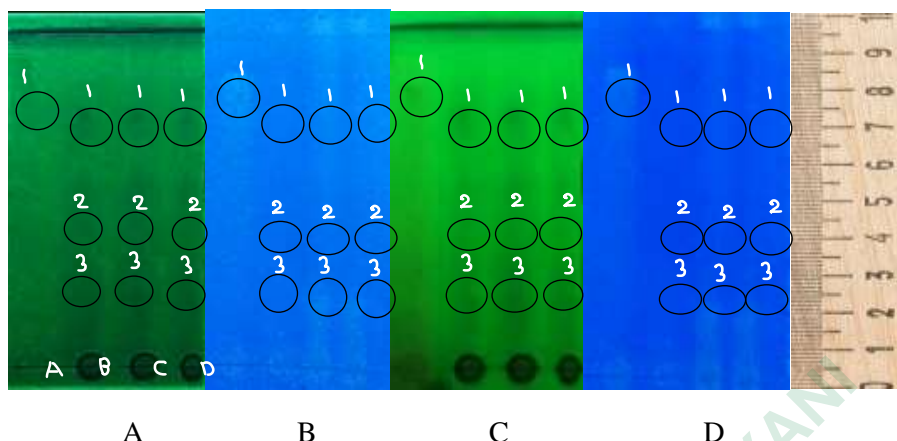
6) Uji KLT

Uji KLT pada ekstrak etanol daun cocor bebek bertujuan untuk mengidentifikasi adanya kandungan senyawa flavonoid secara kualitatif. Data pada uji KLT berupa nilai RF yang didapat dari jarak bercak yang terlihat dibandingkan dengan jarak yang ditempuh fase gerak. Fase gerak pada penelitian ini didasarkan dari hasil optimasi. Optimasi fase gerak dilakukan sebanyak 3 kali. Pertama menggunakan kombinasi fase gerak kloroform dengan metanol, untuk hasil yang didapatkan pada standar kuersetin dan sampel tidak terlihat bercak, kedua menggunakan kombinasi fase gerak kloroform, metanol, dan etil asetat, untuk hasil yang didapatkan kurang baik dimana bercak masih belum terlihat jelas, ketiga menggunakan optimasi fase gerak yang sama namun konsentrasinya dinaikkan, hasil yang didapatkan terjadinya pemisahan dengan ditandai adanya bercak pada standar kuersetin dan sampel. Hasil optimasi fase gerak KLT dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Hasil Optimasi Fase Gerak KLT

No	Fase Gerak	Perbandingan Pelarut	Hasil Optimasi
1.	Kloroform:Metanol	5 : 5	Tidak terlihat bercak
2.	Kloroform:Metanol: Etil asetat	5 : 2,5 : 2,5	Bercak yang didapat kurang baik atau kurang jelas
3.	Kloroform:Metanol: Etil asetat	5 : 3 : 2	Bercak standar dan sampel terlihat jelas.

Pada proses selanjutnya dilakukan penotolan standar dan sampel menggunakan *white tip*, kemudian plat dimasukkan kedalam bejana yang sudah jenuh, untuk melihat hasil dari KLT diamati di sinar UV 254 nm dan 365 nm, dan untuk memperjelas bercak noda pada standar dan sampel maka dilakukan penyempotan plat dengan pereaksi AlCl_3 . Berdasarkan pengamatan noda tersebut, kemudian dihitung nilai RF. Hasil uji KLT dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Hasil Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Keterangan :

- A. Deteksi dengan sinar UV 254 nm sebelum disemprot AlCl_3
 B. Deteksi dengan sinar UV 365 nm sebelum disemprot AlCl_3
 C. Deteksi dengan sinar UV 254 nm sesudah disemprot AlCl_3
 D. Deteksi dengan sinar UV 365 nm sesudah disemprot AlCl_3
 A. Standar Kuersetin. B. Ekstrak SML. C. Ekstrak SMTL. D. Ekstrak Oven.
 Ukuran plat KLT = 10 x 4 cm, Jarak atas 1 cm, bawah 1 cm.

Berdasarkan pengamatan pada Gambar 4, dapat disimpulkan sinar UV 254 nm sebelum penyemprotan dengan pereaksi AlCl_3 pada standar dan masing-masing ekstrak terdapat bercak noda berwarna kuning kecoklatan, dan pada sinar UV 365 nm juga terdapat bercak noda berwarna kuning pudar, sedangkan untuk hasil KLT yang sesudah dilakukan penyemprotan AlCl_3 menunjukkan hasil bercak yang lebih jelas. Adapun hasil perbandingan warna dan nilai Rf dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Perbandingan Warna dan Nilai Rf

No	Sampel	Warna pada Plat KLT				Nilai Rf
		Sebelum disemprot AlCl_3	Sebelum disemprot AlCl_3	Sesudah disemprot AlCl_3	Sesudah disemprot AlCl_3	
		UV 254 nm	UV 365 nm	UV 254 nm	UV 365 nm	
Bercak 1	Kuersetin	Kuning kecoklatan	Kuning	Kuning kecoklatan	Kuning	0,8
Bercak 1	Ekstrak SML	Kuning kecoklatan	Kuning	Kuning kecoklatan	Kuning	0,3
Bercak 2	Ekstrak SML	Kuning kecoklatan	Kuning	Kuning kecoklatan	Kuning	0,5

No	Sampel	Warna pada Plat KLT				Nilai Rf
		Sebelum disemprot AlCl ₃	Sebelum disemprot AlCl ₃	Sesudah disemprot AlCl ₃	Sesudah disemprot AlCl ₃	
		UV 254 nm	UV 365 nm	UV 254 nm	UV 365 nm	
Bercak 3	Ekstrak SML	Kuning kecoklatan	Kuning	Kuning kecoklatan	Kuning	0,8
Bercak 1	Ekstrak SMTL	Kuning kecoklatan	Kuning	Kuning kecoklatan	Kuning	0,3
Bercak 2	Ekstrak SMTL	Kuning kecoklatan	Kuning	Kuning kecoklatan	Kuning	0,5
Bercak 3	Ekstrak SMTL	Kuning kecoklatan	Kuning	Kuning kecoklatan	Kuning	0,8
Bercak 1	Ekstrak Oven	Kuning kecoklatan	Kuning	Kuning kecoklatan	Kuning	0,3
Bercak 2	Ekstrak Oven	Kuning kecoklatan	Kuning	Kuning kecoklatan	Kuning	0,5
Bercak 3	Ekstrak Oven	Kuning kecoklatan	Kuning	Kuning kecoklatan	Kuning	0,8

7) Uji Akvitas Antioksidan

a. Scanning panjang gelombang maksimum DPPH

Pada penelitian ini, panjang gelombang UV-Vis yang digunakan pada rentang 400-600 nm. Hasil *scanning* menunjukkan absorbansi tertinggi yaitu di 0,770 pada panjang gelombang 515 nm. Hasil yang diperoleh sesuai dengan penelitian terdahulu (Handayani *et al.*, 2018), yang mana didapatkan panjang gelombang maksimum DPPH yaitu 515 nm. Hasil *scanning* panjang gelombang dapat dilihat pada Lampiran 7.

b. Penentuan *operating time*

Penentuan *Operating Time* bertujuan untuk mengidentifikasi titik pengukuran ketika absorbansi. *Operating Time* DPPH dilakukan pada menit ke 0 sampai 60 dengan panjang gelombang 515 nm. Nilai absorbansi dapat dilihat dari rentang nilai absorbansi yang stabil. Berdasarkan hasil pengujian, didapatkan absorbansi yang stabil di menit ke 30. Hasil *Operating Time* dapat dilihat pada Lampiran 8.

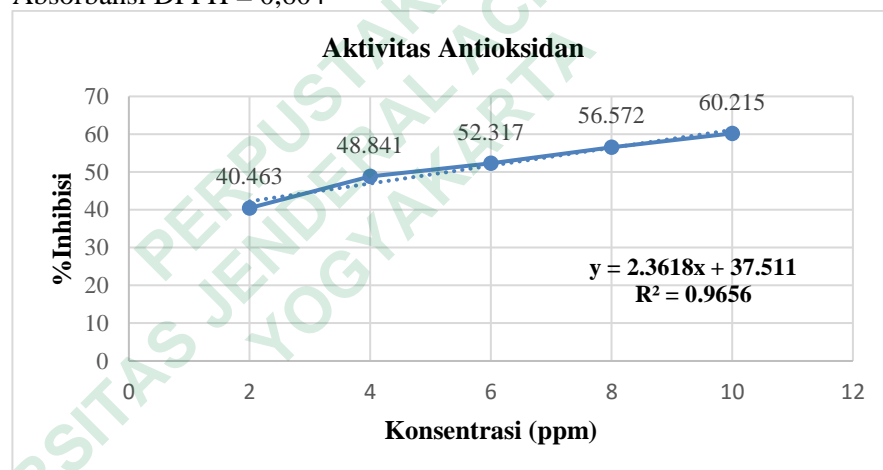
c. Pengujian DPPH dengan pembanding kuersetin

Aktivitas peredaman radikal bebas DPPH menggunakan kuersetin sebagai standar pembanding. Pembacaan absorbansi dari tiap konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm dilakukan sebanyak 3 kali replikasi. Hasil uji peredaman radikal bebas DPPH dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10. Hasil Uji Peredaman Radikal Bebas DPPH Kuersetin

Konsentrasi (ppm)	Rata-rata	% Inhibisi	IC ₅₀ (ppm)
2	0,360	40,463	
4	0,309	48,841	
6	0,289	52,317	5,287 ± 0,046 (Sangat kuat)
8	0,262	56,572	
10	0,240	60,215	

Absorbansi DPPH = 0,604



Gambar 5. Kurva Regresi Linear Kuersetin

Berdasarkan uji peredaman radikal bebas standar kuersetin yang dinyatakan dalam persen inhibisi (Tabel 10), kemudian diplotkan terhadap konsentrasi, sehingga diperoleh persamaan regresi linear $y = 2,3618x + 37,511$ dan nilai r^2 sebesar 0,9656. (Gambar 5). Hasil tersebut digunakan untuk menghitung nilai IC₅₀ dan diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 5,287 ppm (sangat kuat). Hal ini berarti untuk meredam 50% aktivitas radikal DPPH diperlukan konsentrasi kuersetin sebesar 5,287 ppm.

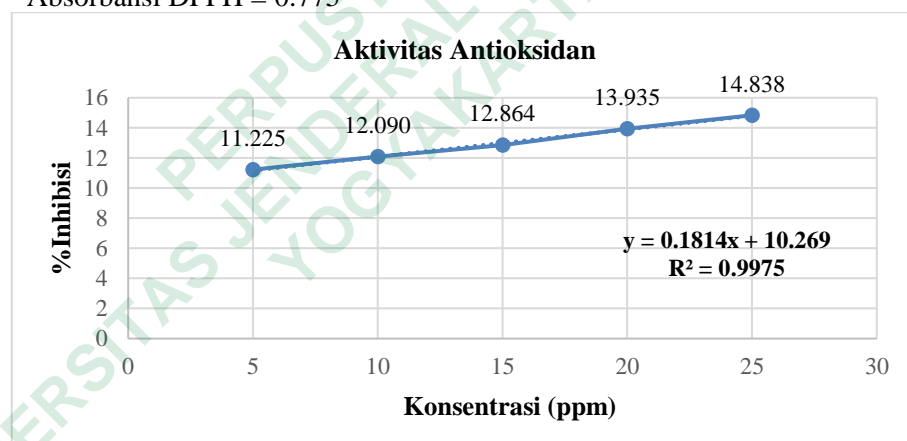
d. Pengujian DPPH dengan sampel SML

Aktivitas peredaman radikal bebas DPPH dengan SML. Pertama pembacaan absorbansi dari tiap konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, dan 20 ppm, dan 25 ppm dilakukan sebanyak 3 kali replikasi. Hasil uji peredaman radikal bebas DPPH SML dapat dilihat pada Tabel 11.

Tabel 11. Hasil Uji Peredaman Radikal Bebas DPPH Cocor Bebek SML

Konsentrasi (ppm)	Rata-rata	% Inhibisi	IC ₅₀ (ppm)
5	0,688	11,225	
10	0,681	12,090	
15	0,675	12,864	219,024 ± 0,012 (Sangat lemah)
20	0,667	13,935	
25	0,656	14,838	

Absorbansi DPPH = 0.775



Gambar 6. Kurva Regresi Linear SML

Berdasarkan uji peredaman radikal bebas SML yang dinyatakan dalam persen inhibisi (Tabel 11), kemudian diplotkan terhadap konsentrasi, sehingga diperoleh persamaan regresi linear $y = 0,1814x + 10,269$ dan nilai r^2 sebesar 0,9975. (Gambar 6). Hasil tersebut digunakan untuk menghitung nilai IC₅₀ dan diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 219,024 ppm (sangat lemah). Hal ini berarti untuk meredam 50% aktivitas radikal DPPH diperlukan konsentrasi kuersetin sebesar 219,024 ppm.

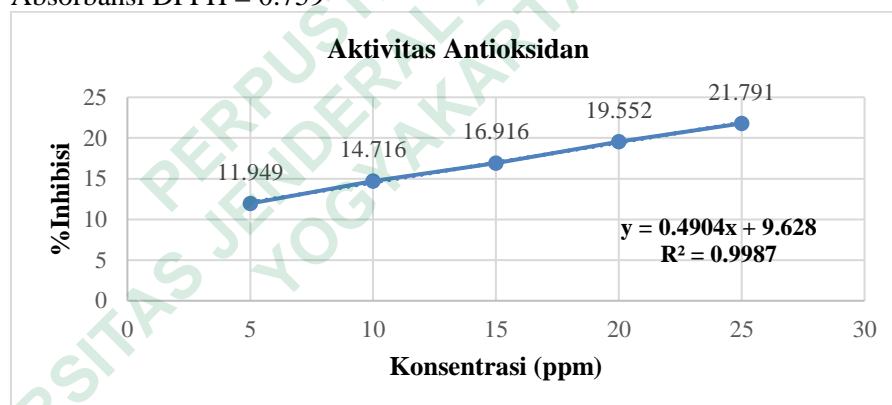
e. Pengujian DPPH dengan sampel SMTL

Aktivitas peredaman radikal bebas DPPH dengan SMTL. Pertama pembacaan absorbansi dari tiap konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, dan 20 ppm, dan 25 ppm dilakukan sebanyak 3 kali replikasi. Hasil uji peredaman radikal bebas DPPH SMTL dapat dilihat pada Tabel 12.

Tabel 12. Hasil Uji Peredaman Radikal Bebas DPPH Cocor Bebek SMTL

Konsentrasi (ppm)	Rata-rata	%Inhibisi	IC ₅₀ (ppm)
5	0,662	11,949	
10	0,647	14,716	
15	0,630	16,916	82,324 ± 0,027 (Kuat)
20	0,610	19,552	
25	0,593	21,791	

Absorbansi DPPH = 0.759



Gambar 7. Kurva Regresi Linear SMTL

Berdasarkan uji peredaman radikal bebas SMTL yang dinyatakan dalam persen inhibisi (Tabel 12), kemudian diplotkan terhadap konsentrasi, sehingga diperoleh persamaan regresi linear $y = 0,4904x + 9,628$ dan nilai r^2 sebesar 0,9987. (Gambar 7). Hasil tersebut digunakan untuk menghitung nilai IC₅₀ dan diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 82,324 ppm (kuat). Hal ini berarti untuk meredam 50% aktivitas radikal DPPH diperlukan konsentrasi kuersetin sebesar 82,324 ppm.

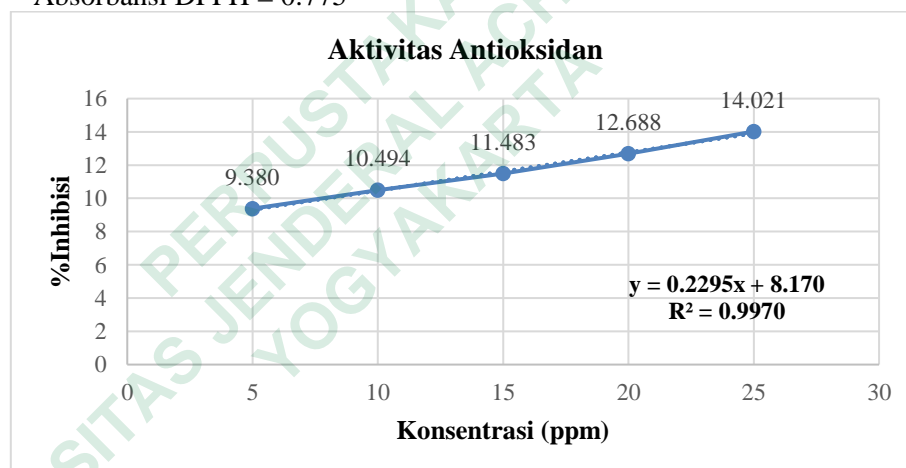
f. Pengujian DPPH dengan sampel Oven

Aktivitas peredaman radikal bebas DPPH dengan Oven. Pertama pembacaan absorbansi dari tiap konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, dan 20 ppm, dan 25 ppm dilakukan sebanyak 3 kali replikasi. Hasil uji peredaman radikal bebas DPPH Oven dapat dilihat pada Tabel 13.

Tabel 13. Hasil Uji Peredaman Radikal Bebas DPPH Oven

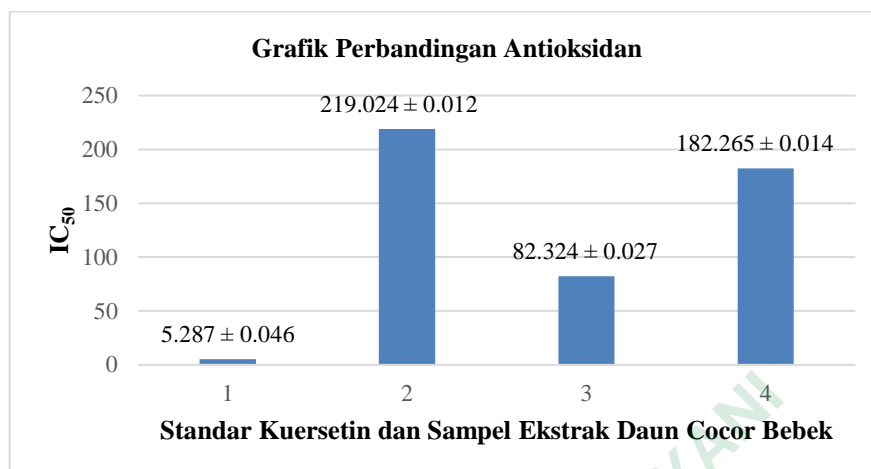
Konsentrasi (ppm)	Rata-rata	%Inhibisi	IC ₅₀ (ppm)
5	0,702	9,380	
10	0,693	10,494	
15	0,686	11,483	182,265 ± 0,014 (Lemah)
20	0,676	12,688	
25	0,666	14,021	

Absorbansi DPPH = 0.775



Gambar 8. Kurva Regresi Linear Oven

Berdasarkan uji peredaman radikal bebas Oven yang dinyatakan dalam persen inhibisi (Tabel 13), kemudian diplotkan terhadap konsentrasi, sehingga diperoleh persamaan regresi linear $y = 0,2295x + 8,170$ dan nilai r^2 sebesar 0,9970. (Gambar 8). Hasil tersebut digunakan untuk menghitung nilai IC₅₀ dan diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 182,265 ppm (lemah). Hal ini berarti untuk meredam 50% aktivitas radikal DPPH diperlukan konsentrasi kuersetin sebesar 182,265 ppm. Hasil grafik perbandingan aktivitas antioksidan dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Grafik Perbandingan Antioksidan

Keterangan: 1. Kuersetin, 2. SML, 3. SMTL, 4. Oven, SD: ±

Berdasarkan gambar grafik diatas menunjukkan bahwa aktivitas peredaman radikal bebas DPPH hasil standar kuersetin masuk kategori sangat kuat, kemudian dari ketiga sampel ekstrak menunjukkan aktivitas peredaman radikal bebas DPPH kategori kuat untuk sampel SMTL, dan kategori sangat lemah untuk sampel SML dan kategori lemah untuk sampel Oven.

g. Analisis Data

Analisis data perbandingan cara pengeringan daun cocor bebek terhadap aktivitas peredaman radikal bebas DPPH akan dianalisis menggunakan uji statistik *ONE WAY ANOVA* menggunakan SPSS Versi 24. Uji analisis statistik ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan secara signifikan secara berulang-ulang yang terdiri dari 3 sampel (Bambang, 2013). Adapun syarat dari uji statistik ini yaitu nilai standarisasi residual dari semua pengukuran data harus terdistribusi normal. Data penelitian ini semua terdistribusi normal dan homogen yang ditandai dengan nilai signifikan $>0,05$. Pada penelitian ini, variabel bebas yaitu pengeringan SML, SMTL, dan Oven dan variabel terikat yaitu aktivitas peredaman radikal bebas DPPH berupa nilai IC₅₀. Pada uji normalitas penelitian ini menggunakan uji *Shapiro Wilk* karena menggunakan sampel <50 data. Hasil analisis aktivitas antioksidan dapat dilihat pada Tabel 14.

Tabel 14. Hasil Analisis Uji Peredaman Radikal Bebas DPPH

No	IC ₅₀	<i>Shapiro Wilk</i>	Uji Homogenitas (<i>Levene Statistic</i>)	ANOVA
1.	Langsung	0,095 > 0,05		
2.	Oven	0,012 > 0,05	0.032 > 0,05	< 0.001* < 0,05^
3.	Tidak Langsung	0,267 > 0,05		

Keterangan :

*: Nilai sig. (<0,05)

^ : Nilai Penentuan H₀ dan H_a

Berdasarkan hasil uji statistik dapat dilihat pada Tabel 14. Nilai distribusi data dengan teknik nilai *Shapiro Wilk* menunjukkan bahwa sampel terdistribusi normal, karena nilai signifikan semua sampel > 0,05, sehingga data dilanjutkan dengan metode uji *ONE WAY ANOVA*. Pada uji *Levene Statistik* didapatkan nilai sebesar 0,032 yang artinya data tersebut homogen (>0,05). Adapun nilai H₀ yang artinya menandakan tidak adanya perbedaan dari pengeringan ekstrak daun cocor bebek dan H_a yang artinya menandakan adanya perbedaan pengeringan pada masing-masing sampel, sehingga pada nilai signifikan uji akhir ANOVA menunjukkan nilai signifikan yaitu < 0,000, dan pada uji statistik post-hoc hasil menunjukkan nilai signifikan SML sebesar 0,177, Oven dengan SML sebesar 0,177 yang artinya data < 0,05, maka dapat diartinya H₀ ditolak dan H_a diterima. Hal ini menunjukkan pada uji statistik akhir ANOVA dan uji post-hoc di atas terdapat hasil yang signifikan dari perbedaan ketiga pengeringan yaitu SML, SMTL, dan Oven.

B. PEMBAHASAN

Pada penelitian ini bertujuan untuk membandingkan cara pengeringan daun cocor bebek yang dilakukan dengan metode pengujian eksperimental terdiri dari pengeringan SML, SMTL, dan Oven. Pengeringan memiliki tujuan yaitu untuk mengurangi kadar air dan mencegah rusaknya kandungan kimia dari simplisia. Adapun faktor-faktor yang mempengaruhi proses pengeringan yaitu suhu pengeringan, waktu pengeringan, dan kelembaban udara (Dirjen POM, 1985). Proses metode ekstraksi penelitian ini menggunakan metode maserasi karena metode ini sederhana, mudah, dan tanpa melalui proses pemanasan, sehingga kemungkinan rusaknya komponen senyawa kimia yang akan diuji dapat diminimalisir (Salamah, *et al.*, 2017), untuk pelarut yang digunakan etanol 70% karena etanol 70% salah satu jenis pelarut yang aman dan tidak toksik, sehingga pada saat proses maserasi etanol dapat menarik senyawa aktif yang lebih banyak dibandingkan dengan jenis pelarut karena etanol bersifat polar (Hasanah & Novian, 2020), kemudian dilanjutkan pada proses remaserasi dan pemekatan ekstrak. Pemekatan ekstrak menggunakan metode penguapan. Penguapan ekstrak daun cocor bebek menggunakan suhu 50°C, karena suhu tersebut cukup baik untuk penguapan cocor bebek, karena jika menggunakan suhu yang terlalu tinggi dapat mengakibatkan senyawa yang terkandung di dalamnya akan mengalami dekomposisi. Hasil pada proses pemekatan daun cocor bebek didapatkan ekstrak yang lebih kental dan memiliki warna hijau kehitaman (Putri *et al.*, 2019).

Skrining fitokimia dapat dilihat pada Lampiran 6. Skrining fitokimia bertujuan untuk mengetahui adanya kandungan metabolit sekunder pada masing-masing sampel. Pengeringan masing-masing sampel mengandung metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, tanin, dan fenol. Pada uji pengeringan sampel SML, SMTL, dan Oven didapatkan metabolit sekunder alkaloid yang negatif dikarenakan menurut Sylvia *et al.*, (2020), pada daun cocor bebek tidak mengandung alkaloid, dikarenakan kemungkinan kecilnya konsentrasi pada saat penetesan reaksi, namun pada uji flavonoid, tanin, dan fenol didapatkan metabolit sekunder yang positif, sehingga dapat diartikan bahwa pada skrining fitokimia tiap masing-

masing pengeringan sampel tidak mempengaruhi senyawa metabolit sekunder (Sylvia *et al.*, 2020).

Untuk memperkuat adanya senyawa kimia pada sampel daun cocor bebek maka dilakukan uji KLT. KLT bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa yang terdapat dalam sampel, yaitu dengan membandingkan nilai Rf standar dengan sampel. Selain itu, KLT merupakan metode yang sederhana, hemat biaya, mudah dilakukan, dan memerlukan sedikit sampel yang dianalisis (Coskun, 2016). Penelitian ini menggunakan fase diam berupa silika gel G F₂₅₄ yang bersifat polar, karena mengandung gypsum sebagai agen pengikat, dan sebagai indikator fluoresen yang dapat berfluorosensi. Identifikasi Senyawa KLT dapat dilihat pada Gambar 4, sebelum memilih fase gerak yang sesuai terlebih dahulu dilakukan optimasi fase gerak dengan tujuan untuk mendapatkan fase gerak yang dapat memisahkan sampel dan standar dengan baik baik. Hasil pemisahan yang baik dapat dilihat dari bercak noda serta nilai Rf berada pada rentang 0,2 – 0,8 (Suhartati, 2017). Warna bercak noda yang sama dan sejajar antara standar dan sampel, serta senyawa dapat memisah dengan sempurna karena adanya perbedaan kepolaran antara fase gerak dan fase diam (Wulandari, 2011). Percobaan optimasi pertama menggunakan fase gerak kloroform : metanol (5 : 5), akan tetapi hasil yang didapat tidak kelihatan karena kurangnya penotolan pada plat, kemudian optimasi kedua menggunakan kombinasi fase gerak kloroform : metanol : etil asetat (5 : 2,5 : 2,5), namun hasil bercak yang didapat tidak terlalu jelas karena konsentrasi pada fase gerak tidak optimal, kemudian dilanjutkan menggunakan kombinasi fase gerak sama namun konsentrasinya di naikan menjadi (5 : 3 : 2), dan hasil bercak yang didapatkan terlihat jelas karena nilai Rf dari standar dan sampel masuk kedalam rentang nilai Rf. Hasil dari uji KLT dapat dilihat pada Tabel 8, pada standar dan sampel terdapat bercak, bercak yang sejajar menandakan kandungan pada sampel memiliki kandungan yang sama dengan standar kuersetin, dapat diartikan sampel mengandung senyawa kuersetin yang merupakan golongan senyawa flavonoid (Purwanti, *et al.*, 2018).

Pengujian peredaman radikal bebas DPPH daun cocor bebek menggunakan metode DPPH. Metode DPPH merupakan metode yang sederhana,

cepat, dan tidak membutuhkan banyak reagen. DPPH merupakan uji untuk menentukan aktivitas antioksidan dengan kemampuannya menangkap radikal bebas. Adapun pengujian peredaman radikal bebas DPPH menghasilkan nilai IC_{50} pada tiap masing-masing sampel yaitu SML sebesar 219,024 ppm, SMTL sebesar 82,324 ppm, dan Oven sebesar 182,265 ppm. Hal ini dapat diartikan bahwa masing-masing sampel data menunjukkan nilai IC_{50} yang diperoleh adalah data ekstrapolasi yang mana nilai absorbansi tiap sampel melampaui interval. Berdasarkan hasil perhitungan IC_{50} dapat dilihat nilai IC_{50} paling optimal yaitu kuersetin sebesar 5,287 ppm. Hal ini dikarenakan kuersetin merupakan golongan flavonoid yang sering ditemukan dalam tumbuhan dan terbukti adanya senyawa antioksidan yang kuat dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai radikal bebas (Aiyuba *et al.*, 2023), sedangkan dari perbedaan ketiga pengeringan tersebut nilai IC_{50} yang optimal yaitu SMTL sebesar 82,324 ppm, karena sampel SMTL pada saat proses pengeringan sampel tidak langsung terkena sinar matahari dikarenakan terdapat bantuan menggunakan kain berwarna hitam, sehingga senyawa didalamnya tidak langsung terurai, pada pengeringan SML dapat merusak langsung senyawa yang ada pada simplisia karena dipengaruhi oleh faktor suhu yang tidak stabil (Bernard *et al.*, 2014) , sedangkan pada pengeringan Oven suhu yang terlalu tinggi dapat merusak senyawa kimia (Harbone, 1987). Hal ini diartikan bahwa pada perlakuan metode pengeringan simplisia SML, SMTL, dan Oven dapat memberikan pengaruh terhadap aktivitas antioksidan daun cocor bebek, yang mana dari ketiga cara pengeringan tersebut mengalami penurunan aktivitas antioksidan yang dipengaruhi dengan suhu pengeringan yang semakin tinggi (Luliana *et al.*, 2016)

Pada uji analisis statistik penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya perbedaan secara signifikan nilai IC_{50} dari masing-masing ekstrak yang dibuat dari simplisia dengan metode pengeringannya yang berbeda. Uji statistik penelitian ini telah dihitung secara statistik menggunakan *ONE WAY ANOVA*. Uji statistik dapat dilihat pada Lampiran 13. Pada uji akhir ANOVA menunjukkan nilai signifikan yaitu $< 0,000$, dan uji statistik Post-hoc menunjukkan nilai signifikan yaitu SML dengan Oven tidak terdapat perbedaan yang signifikan sedangkan antara uji lainnya terdapat perbedaan yang signifikan.