

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Determinasi tanaman

Determinasi tanaman bertujuan untuk memastikan kebenaran tanaman daun kupu-kupu (*Bauhinia purpurea* L) determinasi dilakukan di Laboratorium Pembelajaran Biologi Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta pada tanggal 13 juni 2023 dengan nomor pendaftaran 298/Lab.Bio/B/VI/2023. Kriteria dari tanaman daun kupu-kupu yang dipetik untuk dilakukan determinasi yaitu daun kupu-kupu yang berwarna hijau. Berdasarkan hasil determinasi, tanaman yang digunakan adalah daun kupu-kupu (*Bauhinia Purpurea* L) (Lampiran 1).

2. Pembuatan ekstrak dan kontrol kualitas ekstrak

a. Persiapan sampel

Penyiapan simplisia daun kupu-kupu dilakukan melalui beberapa tahap, yaitu tahap pemanenan yang dilakukan pada pagi hari, kemudian disortasi basah dan dicuci dengan air mengalir selanjutnya dilakukan perajangan untuk mempercepat proses pengeringan, terakhir tahap pengeringan sampai diperoleh masa kering rapuh. Lama proses pengeringan dapat dilihat pada **Tabel 3**.

Tabel 3. Proses pengeringan simplisia

No	Metode Pengeringan Sampel	Waktu Pengeringan
1	Oven	2 hari
2	SML	7 hari
3	SMTL	9 hari

Hasil proses pengeringan paling cepat yaitu pada metode pengeringan oven, SML dan SMTL. Lamanya proses pengeringan dipengaruhi oleh suhu dan cuaca. Setelah simplisia kering maka dilakukan penyerbukan menggunakan grinder dan diayak dengan ayakan 40 mesh.

b. Uji *moisture content*

2 gram serbuk daun kupu-kupu masing-masing dimasukkan kedalam cawan aluminium pada *moisture balance* dan diatur suhu menjadi 105°C. nilai

kadar akan muncul pada alat saat pengujian telah selesai. Nilai kadar air masing-masing metode dapat dilihat pada **Tabel 4**.

Tabel 4. Nilai kadar air serbuk

No	Metode pengeringan	Kadar air (% MC)
1	Oven	9,09
2	SML	6,65
3	SMTL	6,42

c. Pembuatan ekstrak

Serbuk daun kupu-kupu yang diperoleh dengan metode oven sebanyak 77,05 g, metode SML 50,00 g, metode SMTL 47,24 g dimaserasi dengan pelarut etanol 70% dengan perbandingan (1:10) kemudian diamkan selama 3x24 jam, sambil dilakukan pengadukan tiap 8 jam. Hasil maserasi disaring hingga diperoleh filtrat 1. Ampas yang dihasilkan diremaserasi dengan pelarut etanol 70% dan didiamkan selama 1x24 jam dengan sekali diaduk. Hasil remaserasi disaring dan diperoleh filtrat 2. Hasil filtrat yang didapatkan diuapkan dengan menggunakan penangas air pada suhu 50°C hingga menjadi ekstrak kental. Hasil ekstrak kental yang diperoleh dilakukan perhitungan rendemen. Hasil rendemen dapat dilihat pada **Tabel 5**.

Tabel 5. Hasil Rendemen Ekstrak Etanol Daun Kupu-kupu

Metode pengeringan	Berat serbuk (gram)	Berat ekstrak kental (gram)	% Rendemen
Oven	77,05	11,01	14,29
SML	50,00	8,55	17,1
SMTL	47,24	6,62	14,01

Tujuan dilakukan perhitungan % rendemen yaitu untuk mengetahui nilai rendemen yang paling baik yaitu semakin tinggi rendemen yang diperoleh maka menandakan bahwa nilai ekstrak yang diperoleh semakin banyak yang tersari dalam pelarut yang digunakan.

d. Uji organoleptik

Uji organoleptik bertujuan untuk mengetahui warna, tekstur dan bau ekstrak (Utami et al.2017). Hasil pengamatan ini dapat di deskripsikan berdasarkan pada **Tabel 6**

Tabel 6. Hasil Pengamatan Uji Organoleptis Ekstrak Etanol Daun Kupu-kupu

Parameter	Hasil karakteristik ekstrak etanol daun kupu-kupu		
	Oven	SML	SMTL
Warna	Hijau-kehitaman	Hijau-kehitaman	Hijau-kehitaman
Tekstur	Kental	Kental	Kental
Bau	Khas	Khas	Khas

e. Skrining fitokimia

Skrining fitokimia bertujuan sebagai uji kualitatif untuk melihat senyawa yang terkandung dari ekstrak etanol daun kupu-kupu. Hasil uji fitokimia dapat dilihat pada **Tabel 7**.

Tabel 7. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Kupu-kupu

Metode pengeringan	Skrining fitokimia	Hasil	Literatur (Aryantini <i>et al.</i> , 2021)
Oven	Flavonoid	+	Terbentuk warna orange
	Alkaloid :		
	a. Pereaksi wagner	-	Terdapat endapan coklat
	b. Pereaksi mayer	-	Terdapat endapan putih
	c. Pereaksi dragendrof	-	Terdapat endapan merah-jingga
	Tanin	+	Warna menjadi hijau kehitaman
SML	Saponin	-	Adanya busa setinggi 1 cm
	Flavonoid	+	Terbentuk warna orange
	Alkaloid :		
	a. Pereaksi wagner	-	Terdapat endapan coklat
	b. Pereaksi mayer	-	Terdapat endapan putih
	c. Pereaksi dragendrof	-	Terdapat endapan merah-jingga
SMTL	Tanin	+	Warna menjadi hijau kehitaman
	Saponin	-	Adanya busa setinggi 1 cm
	Flavonoid	+	Terbentuk warna orange
	Alkaloid :		
	a. Pereaksi wagner	-	Terdapat endapan coklat
	b. Pereaksi mayer	-	Terdapat endapan putih
SMTL	c. Pereaksi dragendrof	-	Terdapat endapan merah-jingga
	Tanin	+	Warna menjadi hijau kehitaman
	Saponin	-	Adanya busa setinggi 1 cm

Keterangan : (+) = mengandung golongan senyawa tersebut.

(-) = tidak mengandung golongan senyawa tersebut.

Berdasarkan Tabel 7 diatas, ketiga pereaksi pada uji alkaloid, hasil menunjukkan semua pereaksi negatif, sehingga dapat diartikan masing-masing ekstrak etanol daun kupu-kupu tidak mengandung senyawa alkaloid, karena persyaratan positif alkaloid yaitu 2 dari 3 pereaksi menunjukkan hasil positif (Aryantini *et al.*, 2021).

Pada uji flavonoid dengan penambahan magnesium dan HCl pekat menunjukkan hasil positif dengan terjadinya perubahan warna sampel menjadi orange, sehingga dapat diartikan semua ekstrak etanol daun kupu-kupu mengandung senyawa flavonoid (Sylvia *et al.*, 2020). Pada uji tanin dengan penambahan aquadest dan FeCl_3 menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya warna hijau kehitaman, sehingga dapat diartikan semua ekstrak etanol daun kupu-kupu mengandung senyawa tanin (Febriani *et al.*, 2021). Pada uji saponin tidak terbentuk busa, sehingga dapat diartikan semua ekstrak etanol daun kupu-kupu tidak mengandung senyawa saponin.

f. Uji KLT

Uji KLT pada ekstrak etanol daun kupu-kupu bertujuan untuk mengidentifikasi adanya kandungan senyawa flavonoid. Data yang diperoleh dari uji tersebut dapat berupa nilai Rf yang didapat dari jarak noda yang terlihat dibagi jarak yang ditempuh fase gerak.

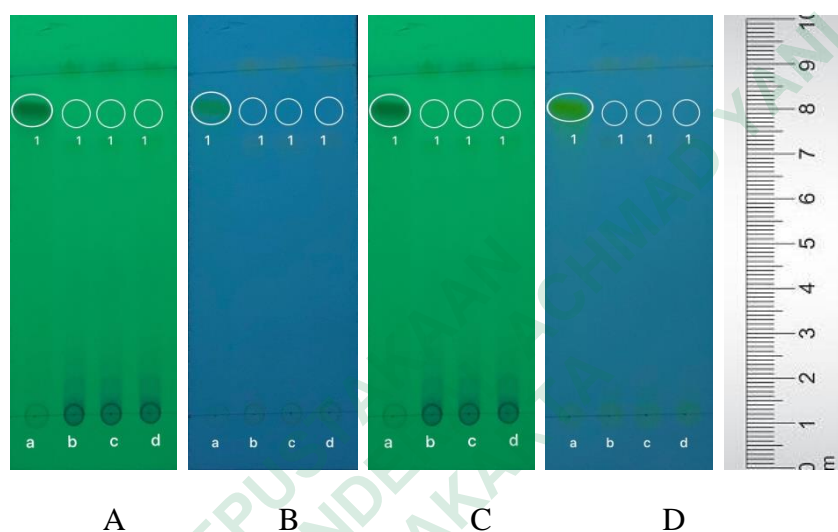
Fase diam yang digunakan pada uji KLT ini berupa plat silika gel 60 F₂₅₄, dimana plat tersebut memiliki sifat polar. Sebelum plat digunakan, terlebih dahulu dilakukan pengeringan/aktivasi plat KLT menggunakan oven dengan suhu 100°C selama 30 menit untuk menghilangkan kandungan air pada plat sehingga tidak mengganggu dan dapat memaksimalkan daya serap sampel. Perlu dilakukan optimasi fase gerak terhadap eluen terlebih dahulu karena sampel sangat berpengaruh pada pemilihan sifat kepolaran fase gerak. Hasil optimasi fase gerak bisa dilihat pada **Tabel 8**.

Tabel 8. Hasil Optimasi Fase Gerak Pada Identifikasi KLT

No	Fase gerak	Hasil KLT
1	Toluene : Aseton : Asam format (4 : 4 : 2)	Fase gerak naik, sampel terelusi tetapi terjadi tailing
2	Potroleum eter : etil asetat (4 : 6)	Fase gerak naik, sampel terelusi, kuarsetin terelusi namun bercak noda tidak sejajar
3	Kloroform : metanol : etil asetat	Fase gerak naik, sampel dan kuarsetin terelusi dan bercak noda sejajar

Berdasarkan hasil optimasi, fase gerak yang paling optimal adalah kloroform : metanol : etil asetat (5:3:2) fase gerak tersebut mengikuti pada

penelitian yang dilakukan oleh Wijayanti *et al.*, (2017) yang sudah disesuaikan. Hasil fase gerak tersebut menunjukkan sampel dan standar bisa terelusi dan ada bercak yang terlihat. Hasil penotolan dibaca pada panjang gelombang UV 254 dan UV 366 dengan diamati bercak noda yang timbul setelah itu disemprot menggunakan AlCl_3 untuk memperjelas warna bercak dan diamati kembali pada panjang gelombang UV 254 dan UV 366. Hasil KLT bisa dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Profil KLT ekstrak etanol daun kupu-kupu (*Bauhinia purpurea* L)

keterangan: A. Deteksi dengan UV 254 sebelum disemprot AlCl_3
 B. Deteksi dengan UV 365 sebelum disemprot AlCl_3
 C. Deteksi dengan UV 254 sesudah disemprot AlCl_3
 D. Deteksi dengan UV 365 sesudah disemprot AlCl_3
 a) Kuarsetin, b) Ekstrak Oven, c) Ekstrak SML
 d) Ekstrak SMTL.

Berdasarkan pengamatan pada Gambar 3 bercak terlihat pada plat no 1,2 dan 3 yaitu plat yang dideteksi UV 254 dan 365 nm. Terdapat perbedaan warna sebelum dan sesudah disemprot AlCl_3 , Perbandingan warna dan nilai Rf dapat dilihat pada **Tabel 9 dan 10**.

Tabel 9. Perbandingan Warna Sebelum dan Sesudah Disemprot Pereaksi $AlCl_3$

Sampel	Warna			
	Sebelum disemprot $AlCl_3$		Sesudah disemprot $AlCl_3$	
	UV 254	UV 365	UV 254	UV365
Kuersetin	Kuning kecoklatan	kuning	Kuning kecoklatan	kuning
Oven	kuning	kuning	kuning	kuning
SML	kuning	kuning	kuning	kuning
SMTL	kuning	kuning	kuning	kuning

Tabel 10. Nilai Rf Sampel dan Standard Menggunakan Fase Gerak Kloroform : Metanol : Etil Asetat (5 : 3 : 2)

No	Standar dan sampel	Nilai Rf
1	Kuersetin	0,850
2	Oven	0,837
3	SML	0,837
4	SMTL	0,837

g. Uji aktivitas antioksidan

1) *Scanning* panjang gelombang maksimum DPPH

Pada penelitian ini, panjang gelombang yang digunakan pada rentang 400-600 nm. Hasil *scanning* menunjukkan absorbansi tertinggi yaitu 0,770 pada panjang gelombang 515 nm. Hasil yang diperoleh sesuai dengan penelitian Handayani *et al.*, (2018). Hasil *scanning* panjang gelombang bisa dilihat pada lampiran 8.

2) 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 yang mana didapatkan hasil nilai absorbansi yang stabil. Nilai absorbansi stabil 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 9.

3) Pengujian DPPH dengan standar kuersetin dan sampel pengeringan Oven, SML dan SMTL

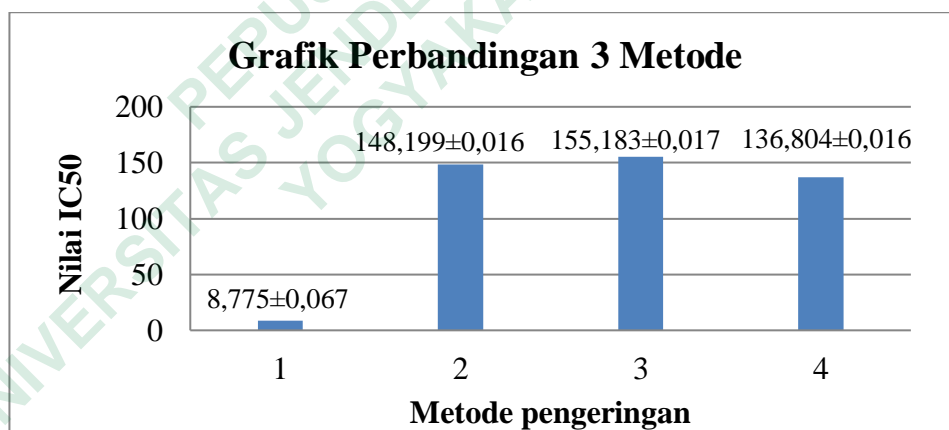
Uji aktivitas antioksidan DPPH dengan standar kuersetin dilakukan sebagai pembanding dari sampel. Pembacaan absorbansi dari tiap

konsentrasi dilakukan sebanyak 3 kali replikasi. Hasil uji Peredaman radikal bebas DPPH dapat dilihat pada **Tabel 11**.

Tabel 11. Hasil IC₅₀ standar kuersetin dan sampel

No	Standard / Metode	Nilai IC ₅₀
1	Kuersetin	8,775
2	Oven	148,199
3	SML	155,183
4	SMTL	136,804

Hasil uji peredaman radikal bebas sampel daun kupu-kupu pengeringan Oven, SML, SMTL dan standar kuersetin yang dinyatakan dalam IC₅₀ (Tabel 11). Nilai IC₅₀ untuk standar kuersetin termasuk kedalam kategori antioksidan sangat kuat, Oven kategori sedang, SML kategori lemah, dan SMTL kategori sedang. Hal ini berarti untuk meredam 50% aktivitas radikal bebas DPPH diperlukan konsentrasi standar dan sampel sebesar 8,775 µg/mL, 148,199 µg/mL, 155,183 µg/mL, 136,804 µg/mL.



Gambar. 4 Grafik Perbandingan ke 3 Metode

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

Berdasarkan gambar 4 maka dapat disimpulkan bahwa hasil dari nilai IC₅₀ kuersetin sebesar 8,775 µg/mL, Oven sebesar 148,199 µg/mL, SML sebesar 155,183 µg/mL, SMTL sebesar 136,804 µg/mL. maka dapat disimpulkan bahwa nilai IC₅₀ yang paling baik yaitu dengan menggunakan metode pengeringan SMTL.

4) Analisis data

Analisis statistik menggunakan *One Way* ANOVA dari nilai IC_{50} pada ekstrak etanol daun kupu-kupu pengeringan Oven, SML, SMTL. Uji analisis tersebut bertujuan untuk mengetahui adanya perbedaan secara signifikan dari berbagai hasil pengukuran yang telah dilakukan secara berulang-ulang dalam suatu variabel penelitian baik 3 sampel ataupun lebih (Amin, 2007). Oleh sebab itu, dikarenakan peneliti menggunakan 3 cara pengeringan dalam satu tumbuhan daun kupu-kupu (*Bauhinia Purpurea* L), maka dilakukan uji *One Way* ANOVA. Syarat dari uji tersebut yaitu nilai standarisasi residual untuk semua pengukuran harus terdistribusi normal. Namun, bila tidak terdistribusi normal signifikan $>0,05$ maka menggunakan *Kruskal-Wallis*. Pada penelitian ini, variabel bebas adalah ekstrak daun kupu-kupu yang dibuat dengan metode pengeringan Oven, SML dan SMTL dan variabel terikat adalah nilai IC_{50} . Uji normalitas untuk mengetahui data yang diperoleh terdistribusi normal atau tidak menggunakan metode *Shapiro-Wilk*.

Table 12. Hasil Analisis Nilai IC_{50} Menggunakan *One Way* ANOVA

IC_{50}	Pengeringan	Normalitas <i>Shapiro-wilk</i>	Homogenitas <i>Levene test</i>	ANOVA
	Oven	0,323	0,443	0,024
	SML	0,970		
	SMTL	0,880		

Berdasarkan hasil pada Table 15, nilai distribusi data dengan teknik *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa pengaruh pengeringan sampel terdistribusi secara normal. Karena nilai signifikan untuk semua variabel $>0,05$ sehingga analisis data untuk penelitian ini bisa dilanjutkan dengan metode uji *One Way* ANOVA. Pada uji *Levene test* nilai $0,443 > 0,05$, maka bisa disimpulkan bahwa data memenuhi syarat homogen. Oleh karena itu, bisa menggunakan *One Way* ANOVA dalam menentukan hipotesis penelitian. Nilai H_0 menandakan tidak ada perbedaan nilai IC_{50} dan H_a menandakan ada perbedaan nilai IC_{50} pada masing-masing pengeringan. Berdasarkan uji *One Way* ANOVA hasil menunjukkan

bahwa terdapat perbedaan signifikan sig $<0,05$ pada kelompok Oven, SML, dan SMTL. maka H_0 ditolak dan H_a diterima karena terdapat perbedaan nilai IC_{50} yang signifikan dari masing-masing pengeringan (Lampiran 13).

B. Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan pengaruh cara pengeringan dengan menggunakan metode pengeringan Oven, SML, dan SMTL. Diawali dengan terlebih dahulu pembuatan ekstrak daun kupu-kupu menggunakan pelarut etanol 70% hingga diperoleh ekstrak kental. Selanjutnya, dilakukan uji skrining fitokimia. Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak yang mengandung senyawa flavonoid ditandai dengan perubahan warna dari hijau menjadi jingga akibat proses reduksi antara ekstrak dengan serbuk magnesium (Mg) dan HCL pekat. Ekstrak tersebut juga mengandung senyawa tanin yang memberikan warna hijau kehitaman apabila direaksikan dengan $FeCl_3$ (Aryantini, 2021). Menurut penelitian Aryantini, (2021) daun kupu-kupu mengandung flavonoid dan tanin tetapi tidak mengandung senyawa alkaloid dan saponin.

Dilanjutkan dengan melakukan identifikasi senyawa flavonoid menggunakan metode KLT. Standar yang digunakan adalah kuersetin, adanya senyawa flavonoid terlihat berwarna kuning pada sinar UV. Terdapat 4 bercak noda pada sinar UV 254 dan 365 sebelum dan sesudah disemprot pereaksi $AlCl_3$. Namun yang dinyatakan positif flavonoid jika sampel sejajar dengan standar kuersetin. Yang dianggap flavonoid adalah spot 1 untuk tiap metode karena sejajar dengan standar kuersetin. Penelitian ini termasuk kedalam range kuersetin yang baik yaitu memiliki nilai R_f untuk kuersetin sebesar 0,850, sampel sebesar 0,837. Sesuai dengan penelitian Ferdinan *et al.*, (2021) yang menyatakan bahwa nilai R_f pembanding kuersetin memiliki range nilai R_f 0,6-0,88. Uji KLT pada penelitian ini dapat disimpulkan positif mengandung senyawa flavonoid karena nilai R_f antara pembanding dan sampel tidak lebih dari 0,05.

Setelah KLT dilanjut dengan analisis antioksidan dengan metode DPPH pada penelitian ini dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang maksimal 515 nm. DPPH merupakan senyawa radikal bebaas

yang stabil, Hasil dengan metode ini yaitu menunjukkan adanya kemampuan antioksidan pada sampel (Sayuti & Yenrina, 2015). Spektrofotometer UV-Vis merupakan metode pengukuran yang umum digunakan untuk melihat adanya molekul dalam suatu larutan yang diukur dengan panjang gelombang tertentu yang akan diserap oleh sampel dan menghasilkan data absorbansi (Suhartati, 2017). Pada penelitian ini menggunakan kuersetin sebagai pembanding antioksidan. Sedangkan ekstrak etanol daun kupu-kupuu sebagai sampel antioksidan alami.

Metode DPPH digunakan untuk mengukur aktivitas peredaman radikal bebas. Pada penelitian ini didapatkan nilai IC_{50} pada ekstrak etanol daun kupu-kupu pengeringan Oven sebesar 148,199 $\mu\text{g/mL}$ (kategori sedang), pengeringan SML sebesar 155,183 $\mu\text{g/mL}$ (kategori lemah), pengeringan SMTL sebesar 136,804 (kategori sedang) dan kuersetin sebesar 4,387 $\mu\text{g/mL}$ (kategori sangat kuat). Nilai IC_{50} yang diperoleh kemudian diuji analisis statistik dengan SPSS Software dilakukan uji *One Way ANOVA* dengan menunjukkan bahwa nilai IC_{50} pada ekstrak etanol daun kupu-kupu dengan pengeringan Oven, SML dan SMTL berbeda secara signifikan ($p < 0,05$) yaitu 0,024. Pada penelitian ini hasil yang paling baik yaitu dengan pengeringan SMTL karena simplisia tidak terkena sinar matahari secara langsung sehingga senyawa yang terkandung didalamnya tidak rusak dan didapatkan nilai IC_{50} SMTL yang paling rendah, sesuai dengan penelitian Utomo A. (2009) yang menyatakan bahwa pengeringan SMTL pada sampel sambilato merupakan pengeringan yang paling optimal, karena semakin rendahnya nilai IC_{50} maka aktivitas antioksidan semakin bagus. Perlakuan metode pengeringan simplisia yang berbeda Oven, SML, SMTL berpengaruh nyata terhadap aktivitas antioksidan daun kupu-kupu, yang mana dipengaruhi oleh suhu pengeringan dan lama pengeringan hal ini sesuai pernyataan Luliana *et al.*, (2016). Berdasarkan data antioksidan yang diperoleh, apabila dilihat dari konsentrasi baku dan IC_{50} data termasuk ekstrapolasi (Lampiran 12) dimana apabila data ekstrapolasi menggambarkan bahwa validitas datanya rendah. Hal ini perlu diperbaiki pada penelitian selanjutnya dimana konsentrasi IC_{50} seharusnya masuk dalam konsentrasi kurva baku.