

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Determinasi daun kupu-kupu

Lokasi identifikasi tumbuhan untuk penelitian ini adalah Laboratorium Pembelajaran Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Terapan Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta. Tanaman yang digunakan adalah daun kupu-kupu (*Bauhinia purpurea* L.) yang ditunjukkan pada Lampiran 2.

2. Persiapan sampel

a. Pembuatan simplisia

Daun kupu-kupu yang masih segar diperoleh sebanyak 2,2 kg, lalu gunakan air mengalir untuk mencuci daun. Setelah itu sampel dikeringkan pada suhu 50°C dalam oven di Laboratorium Penelitian Terpadu Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta selama 3 hari. Tujuan pengeringan adalah untuk menghasilkan simplisia yang tahan terhadap kerusakan dan tetap segar dalam jangka waktu lama. Daun kupu-kupu yang telah kering kemudian digiling menggunakan alat grinder untuk mendapatkan simplisia, digunakan ayakan 40 mesh untuk menyaring serbuknya hingga mendapatkan serbuk halus. Hasil dari penyerbukan diperoleh serbuk daun kupu-kupu sebanyak 226 gram.

b. Pembuatan ekstrak

Pada pengujian ini teknik maserasi menggunakan pelarut etanol 70% dan 96% pada perbandingan 1:10 untuk mengekstraksi daun kupu-kupu. Maserasi berlangsung selama tiga hari pada suhu ruang dan dilanjutkan proses remaserasi selama dua hari dengan pengadukan beberapa kali pada enam jam pertama, dan diamkan selama delapan belas jam. Tabel 7 menampilkan hasil rendemen ekstrak kental etanol 70% dan 96%.

Tabel 1. Hasil Rendemen Ekstrak Etanol 70% dan 96% Daun Kupu-kupu

Jenis ekstrak	Berat serbuk simplisia (gr)	Berat ekstrak (gr)	Randemen (%)
Ekstrak etanol 70%	226	26,58	11,27
Ekstrak etanol 96%	226	24,41	10,80

Berdasarkan data tersebut, sampel yang mengandung ekstrak etanol 96% mempunyai nilai rendemen ekstrak paling rendah, sedangkan sampel yang mengandung ekstrak etanol 70% mempunyai nilai rendemen paling besar. Dari hasil tersebut diketahui bahwa ekstrak etanol 70% dan 96% memenuhi syarat rendemen, yaitu >10%.

3. Skrining fitokimia

Skrining fitokimia dalam penelitian ini yaitu menggunakan reagen dengan tujuan untuk mengidentifikasi metabolit sekunder pada ekstrak daun kupu-kupu. Tabel 8 menampilkan hasil pemeriksaan tersebut.

Tabel 2. Hasil Pemeriksaan Skrining Fitokimia

Golongan senyawa	Pereaksi	Teoritis	Hasil	
			Ekstrak etanol 70%	Ekstrak etanol 96%
Alkaloid	Dragendorff	Merah bata	+	+
	Mayer	Putih atau kuning	+	+
	Wagner	Cokelat kemerahan	+	+
Flavonoid	Mg + HCl pekat	Merah, kuning atau jingga	+	+
Fenolik	Air suling + FeCl ₃	Hijau hingga biru hitam	+	+
Tanin	Air + FeCl ₃	Hijau tua	+	+
Saponin	Air suling mendidih + HCl 2N	Lapisan busa stabil	-	-
Steroid	Kloroform + CH ₃ COOH + H ₂ SO ₄ pekat	Hijau sampai biru	+	+

Keterangan :

(+) : Senyawa metabolit sekunder memberikan hasil positif.

(-) : Senyawa metabolit sekunder memberikan hasil negatif.

4. Penentuan nilai SPF (*Sun Protection Factor*)

Nilai SPF ekstrak daun kupu-kupu ditentukan secara *in vitro* dengan spektrofotometri UV-Vis pada interval 5 nanometer dan pemisahan panjang gelombang 290 hingga 320 nanometer, kemudian metode Mansur digunakan untuk menghitung data serapan. Tabel 9 menampilkan kategori SPF ekstrak daun kupu-kupu.

Tabel 3. Kategori SPF Ekstrak Etanol Daun Kupu-kupu

Sampel	Nilai SPF $\pm$ SEM	Kategori
Ekstrak etanol 70%	4,7679 $\pm$ 0,0422	Proteksi sedang
Ekstrak etanol 96%	9,2740 $\pm$ 0,0020	Proteksi maksimal

Keterangan : data n = 4

5. Uji penentuan persentase transmisi eritema dan persentase transmisi pigmentasi

Penentuan %Te dan %Tp ekstrak daun kupu-kupu ditentukan secara *in vitro* menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 292,5-317,5 nanometer untuk %Te dan 322,5-372,5 nanometer untuk %Tp, masing-masing pada interval 5 nm. Tabel 10 menampilkan kategori %Transmisi eritema dan %Transmisi pigmentasi ekstrak etanol daun kupu-kupu.

Tabel 4. Kategori %Te dan %Tp Ekstrak Etanol Daun Kupu-kupu

Sampel	Nilai %Te $\pm$ SEM	Kategori	Nilai %Tp $\pm$ SEM	Kategori
Ekstrak etanol 70%	27,6304 $\pm$ 0,1759	-	28,4849 $\pm$ 0,1873	<i>Sunblock</i>
Ekstrak etanol 96%	12,6087 $\pm$ 0,0274	<i>Standard suntan</i>	4,9357 $\pm$ 0,0117	<i>Sunblock</i>

Keterangan : data n = 4

6. Analisis Data

Analisis yang dilakukan yakni secara deskriptif dan diolah secara statistik dengan program SPSS. Karena jumlah sampelnya dibawah 50, digunakan uji normalitas *Shapiro-Wilk*. Hasil uji *Shapiro-Wilk* dapat dibaca sebagai berikut, selama nilai signifikannya lebih besar dari 0,05 maka data tersebut terdistribusi normal, apabila tidak terdistribusi secara normal maka tingkat signifikansinya kurang dari 0,05. Setelah itu uji *Leven's* digunakan

untuk melakukan uji homogenitas, Hasil pengujian ini jika nilai signifikannya lebih besar dari 0,05 maka dikatakan homogen, dan jika kurang dari 0,05 maka data dikatakan tidak normal. Jika data dikumpulkan dengan hasil homogen serta berdistribusi normal, dapat dilakukan uji T Independent. Apabila nilainya kurang dari 0,05 dilanjutkan uji Mann-Whitney untuk memastikan apakah dua sampel independent berbeda satu sama lain.

Tabel dibawah ini menampilkan hasil analisis data nilai SPF, %Tep dan %Te.

Tabel 5. Hasil Uji Statistik Nilai SPF Ekstrak Etanol Daun Kupu-Kupu

Sampel	Nilai SPF Ekstrak Etanol Daun Kupu-Kupu			
	Normalitas (<i>Shapiro-Wilk</i>)	Homogenitas (<i>Leven's</i>)	T Independent	Mann-Whitney
Etanol 70%	0,977	0,041	-	0,021
Etanol 96%	0,574			

Data dari tabel di atas menunjukkan nilai SPF ekstrak etanol memberikan data yang tidak homogen dan berdistribusi normal karena nilai tandanya sebesar $< 0,05$. Sehingga dilakukan analisis dengan Mann-Whitney dan diperoleh data dengan nilai sig. $0,021 < 0,05$ yang mempunyai arti perbedaannya signifikan.

Tabel 6. Hasil Uji Statistik Nilai %Te Ekstrak Etanol Daun Kupu-Kupu

Sampel	Nilai %Te Ekstrak Etanol Daun Kupu-Kupu			
	Normalitas (<i>Shapiro-Wilk</i>)	Homogenitas (<i>Leven's</i>)	T Independent	Mann-Whitney
Etanol 70%	0,965	0,079	0,079	-
Etanol 96%	0,064			

Data dari tabel di atas menunjukkan nilai %Te ekstrak etanol memberikan data yang homogen dan terdistribusi normal karena nilai signya. $> 0,05$. Sehingga dilakukan analisis dengan T Independent yang mendapatkan data dengan nilai signifikannya $0,079 > 0,05$ yang berarti tidak terdapat perbedaan yang signifikan.

Tabel 7. Hasil Uji Statistik Nilai %Tp Ekstrak Etanol Daun Kupu-Kupu

Sampel	Nilai %Tp Ekstrak Etanol Daun Kupu-Kupu			
	Normalitas (<i>Shapiro-Wilk</i>)	Homogenitas (<i>Leven's</i>)	T Independent	Mann-Whitney
Etanol 70%	0,146	<0,001	-	0,021
Etanol 96%	0,658			

Data dari tabel di atas menunjukkan nilai %Tp ekstrak etanol menghasilkan data yang tidak homogen dan terdistribusi normal karena nilai signya. $< 0,05$. Data dianalisis menggunakan Mann-Whitney dan hasilnya menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan nilai sig. $0,021 < 0,05$.

B. Pembahasan

Sampel daun kupu-kupu yang berasal dari Desa Ngawu, Kecamatan Playen, Gunung Kidul Yogyakarta digunakan dalam penelitian ini. Daun kupu-kupu dipanen pada dini hari mulai pukul 07.00-09.00 WIB untuk mendapatkan zat aktif yang tinggi karena jika pengambilan dilakukan pada siang hari, tumbuhan telah melalui proses fotosintesis, sehingga zat aktif yang akan dikeluarkan tidak maksimal (Yuliani & Dienina, 2015). Kriteria daun yang diambil yaitu daun yang segar, tidak rusak, masih muda, dan dipilih daun dari urutan ke dua hingga keempat dari pucuk tanaman. Selanjutnya dilakukan proses pencucian dan sortasi basah untuk menghilangkan kotoran serta bahan asing yang menempel, perajangan untuk membantu proses pengeringan, pengeringan dilakukan untuk menurunkan kadar air simplisia. Karena flavonoid yang terdapat pada daun *B. purpurea* tidak tahan panas, proses pengeringan dilakukan pada suhu 50°C dalam oven (Rompas *et al.*, 2012). Setelah itu sampel dihaluskan menggunakan grinder, tujuannya untuk memperluas permukaan partikel sehingga akan memudahkan pelarut untuk melarutkan senyawa aktif pada simplisia.

Tahap berikutnya adalah ekstraksi menggunakan metode maserasi. Metode maserasi digunakan karena umumnya mudah, tidak memerlukan peralatan khusus, dan tidak memerlukan pemanasan, sehingga senyawa-senyawa yang sensitif terhadap panas, seperti flavonoid tidak akan terurai atau rusak selama proses ekstraksi (Puspitasari & Prayogo, 2017). Prinsip dasar metode maserasi yaitu mengikat atau melarutkan bahan aktif sesuai dengan kelarutannya dalam suatu pelarut (*like dissolved like*) (Fitri *et al.*, 2016). Dalam proses maserasi digunakan etanol sebagai pelarut ekstraksi, karena etanol mempunyai gugus hidroksil yang mampu membentuk ikatan hidrogen dengan gugus hidroksil pada molekul flavonoid, yang dapat menyebabkan meningkatnya kelarutan flavonoid dalam etanol (Riwanti *et al.*, 2020). Selanjutnya digunakan dua konsentrasi etanol yang berbeda dalam penelitian ini yaitu 70% dan 96%, dimana etanol 70% lebih polar dari etanol 96%. Hal ini sesuai dengan hasil rendemen. Berdasarkan data nilai rendemen, ekstrak etanol 70% yaitu 11,27%, sedangkan ekstrak etanol 96% yaitu 10,80%. Kemungkinan mendapatkan rendemen rendah bisa disebabkan oleh

remaserasi yang kurang maksimal, sehingga tidak banyak senyawa fitokimia larut dalam pelarut yang digunakan. Semakin tinggi nilai rendemen, semakin banyak senyawa yang berhasil diekstraksi dari sampel tersebut (Nahor *et al.*, 2020). Dari hasil tersebut diketahui bahwa ekstrak etanol daun kupu-kupu memenuhi syarat rendemen ($>10\%$).

Setelah itu, proses skrining fitokimia digunakan untuk menemukan metabolit sekunder pada ekstrak daun kupu-kupu. Pada skrining fitokimia dilakukan uji senyawa alkaloid, flavonoid, fenolik, tanin dan saponin. Berdasarkan Tabel 8, ekstrak etanol 70% dan 96% daun kupu-kupu menunjukkan hasil positif terhadap alkaloid, flavonoid, fenolik, tanin, steroid, namun pada uji senyawa saponin memberikan hasil negatif. Hal ini didukung oleh penelitian Prameswari (2022), yang melaporkan bahwa komponen fenolik, flavonoid, tanin, steroid dan alkaloid positif terdapat pada ekstrak daun kupu-kupu.

Pada uji alkaloid, tujuan ditambahkan HCl yaitu karena alkaloid bersifat basa sehingga biasanya diekstrak menggunakan pelarut yang bersifat asam. Dalam penelitian ini digunakan 3 pereaksi yaitu pereaksi Dragendorff, pereaksi Mayer dan pereaksi Wagner. Uji menggunakan pereaksi Dragendorff mendapatkan hasil positif dengan terbentuknya endapan berwarna merah bata pada ekstrak etanol 70% dan hasil negatif untuk ekstrak etanol 96%. Pembentukan pereaksi Dragendorff melibatkan bismuth nitrat dan kalium iodide untuk membentuk endapan bismuth (III) iodida, yang kemudian dapat melarut dalam kalium iodida berlebih untuk membentuk kompleks kalium tetraiodobismutat. Pada uji Mayer mendapatkan hasil positif dengan terbentuknya endapan berwarna kuning, reaksi ini karena nitrogen dalam molekul alkaloid dapat bereaksi dengan ion logam K^+ dari reagen Mayer untuk membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap. Pada uji Wagner mendapatkan hasil positif dengan terbentuknya endapan cokelat kemerahan, reaksi ini disebabkan oleh reaksi iodium dengan kalium iodide (KI), iodide (I^-) menghasilkan ion triiodide (I_3^-) berwarna cokelat. Kompleks kalium-alkaloid terbentuk ketika Ion logam K^+ dari KI mengkoordinasikan ikatan kovalen dengan nitrogen dalam molekul alkaloid, kompleks ini kemudian mengendap (Hadi & Permatasari, 2019).

Pengujian flavonoid ekstrak etanol 70% dan etanol 96% daun kupu-kupu mendapatkan hasil positif ditandai dengan perubahan warna menjadi merah, kuning atau jingga, hal tersebut disebabkan senyawa flavonoid bereaksi dengan magnesium (Mg^{2+}) yang ada dalam asam klorida di dalam larutan etanol. Selama reaksi, magnesium bereaksi dengan polihidroksi flavonoid, dan hasilnya adalah pembentukan garam benzopirilium juga dikenal sebagai garam flavilium yang memiliki warna merah, kuning atau jingga (Setiabudi & Tukiran, 2017).

Pengujian fenolik dan tanin dilakukan menggunakan larutan $FeCl_3$ pada ekstrak. Pada uji fenolik didapatkan warna ekstrak berubah menjadi hijau atau biru kehitaman yang menunjukkan adanya senyawa fenol yang terkandung dalam ekstrak, hal tersebut karena senyawa fenol dalam sampel akan bereaksi dengan ion ferri (Fe^{3+}) yang ada dalam larutan uji. Pada uji tanin memberikan hasil positif dimana terjadi perubahan warna menjadi hijau tua, hal tersebut dikarenakan terjadinya reaksi antara senyawa tanin dalam sampel dengan ion Fe^{3+} (Oktavia & Sutoyo, 2021).

Pengujian saponin dalam penelitian ini mendapatkan hasil negatif pada ekstrak etanol 70% dan 96% daun kupu-kupu, karena terdapat busa yang tidak stabil dan hanya bertahan dalam beberapa detik. Ketika sampel mengandung saponin, pada saat saponin dikocok maka akan terbentuk misel. Gugus nonpolar pada misel menghadap ke dalam, sedangkan gugus polar menghadap ke luar. Hal ini menciptakan suatu keadaan di mana misel dapat mengurangi tegangan permukaan dan membentuk busa (Habibi *et al.*, 2018). Pengujian steroid dalam penelitian ini mendapatkan hasil positif, karena terjadi perubahan warna hijau sampai biru. Hal ini disebabkan oleh oksidasi gugus steroid, yang menghasilkan pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi (Oktavia & Sutoyo, 2021).

Hasil uji skrining fitokimia yang menunjukkan adanya senyawa flavonoid dalam daun kupu-kupu adalah tanda positif bahwa daun kupu-kupu tersebut mungkin memiliki potensi sebagai agen penangkal radiasi UV. Flavonoid telah terbukti memiliki aktivitas fotoprotektif, yaitu kemampuan untuk melindungi kulit dari efek berbahaya sinar ultraviolet (UV) matahari (Saewan & Jimtaisong, 2013). Senyawa tanin memiliki kemampuan sebagai antioksidan dengan menyumbangkan

atom hidrogen yang dapat membantu menetralkan radikal hidroksil dan melindungi sel-sel kulit dari kerusakan akibat sinar UV (Das *et al.*, 2020).

Pada penentuan potensi tabir surya ekstrak daun kupu-kupu dilakukan secara *in vitro* dengan metode spektrofotometri pada rentang panjang gelombang sinar ultraviolet. Penentuan efektivitas tabir surya ini didasarkan pada nilai *Sun Protection Factor* (SPF), persentase eritema dan persentase pigmentasi. Pada Tabel 9 menampilkan kategori SPF ekstrak etanol daun kupu-kupu. Tabel ini menunjukkan bahwa nilai SPF dan potensi tabir surya ekstrak etanol daun kupu-kupu meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi etanol. Nilai rata-rata SPF ekstrak etanol 70% $\pm$ SEM dan ekstrak etanol 96% $\pm$ SEM berturut-turut adalah $4,7679 \pm 0,0422$ dan $9,2740 \pm 0,0020$ diperoleh dari pengujian ini. Daun kupu-kupu yang diekstraksi dengan etanol 70% termasuk dalam kategori sedang menurut klasifikasi SPF, dengan nilai 4-6. Hal ini menandakan kulit dapat terlindungi selama 40 menit dengan SPF ekstrak etanol 70%. Sebaliknya, ekstrak etanol 96% memiliki nilai 8-15, yang menempatkannya pada kategori proteksi maksimal. Hal ini menunjukkan bahwa kulit dapat terlindungi selama 1 jam 30 menit dengan nilai SPF dari ekstrak etanol 96%. Semakin tinggi nilai SPF, maka semakin besar pula kemampuan tabir surya dalam melindungi kulit dari sinar UV (Sineke *et al.*, 2016). Tabel 10 menampilkan kategori persentase eritema (%Te) dan persentase pigmentasi (%Tp). Tabel tersebut menunjukkan bahwa nilai %Te dan %Tp pada ekstrak etanol daun kupu-kupu mengalami penurunan seiring dengan meningkatnya konsentrasi etanol. Berdasarkan kategori tabir surya %Te, daun kupu-kupu yang diekstraksi dengan etanol 70% tidak masuk dalam kategori, artinya ekstrak etanol 70% daun kupu-kupu tidak mampu mencegah kemerahan pada kulit (eritema). Sedangkan ekstraksi dengan etanol 96% termasuk kategori *Suntan* standar yang memiliki nilai rata-rata $\pm$ SEM yaitu $12,6087 \pm 0,0274$. Berdasarkan kategori tabir surya %Tp, daun kupu-kupu yang diekstraksi dengan etanol 70% dan etanol 96% termasuk kategori *Sunblock* karena memiliki nilai rata-rata $\pm$ SEM berturut-turut $28,4849 \pm 0,1873$ dan $4,9357 \pm 0,0117$. Semakin rendah tingkat persentase transmisi eritema dan pigmentasi, semakin efektif tabir surya dalam melindungi kulit dari kerusakan yang disebabkan oleh sinar matahari

(Tenriugi & Syam, 2018). Hal ini sejalan dengan penelitian Prameswari (2022) yang menunjukkan ekstrak etanol daun kupu-kupu mempunyai potensi sebagai tabir surya, dimana hasil SPF tertinggi memiliki nilai 23,205, %Te 0,409%, dan %Tp memiliki nilai 4,895. Berdasarkan data diatas, didapatkan hasil analisis data nilai SPF dan %Tp memiliki perbedaan yang signifikan dengan nilai sig < 0,05 antara ekstrak etanol 70% dan etanol 96%. Sedangkan nilai %Te tidak memiliki perbedaan yang signifikan karena nilai sig > 0,05.

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI
YOGYAKARTA