

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Pengumpulan Bahan dan Determinasi Bahan

Daun sambung nyawa yang diperoleh dari kebun di Gang kresna daerah Baturetno, Kecamatan Banguntapan, Kabupaten Bantul, Daerah Istimewa Yogyakarta telah melalui proses determinasi di Laboratorium Biologi, Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta pada tanggal 26 Agustus 2024. Proses ini dilakukan untuk memastikan identitas bahan penelitian, dengan nomor determinasi 486/Lab.Bio/B/VIII/2024 pada **lampiran 2**. Hasil determinasi menunjukkan bahwa bahan yang digunakan merupakan daun sambung nyawa dengan nama latin *Gynura procumbens* (Lour.) Merr.

2. Persiapan Sampel dan Pembuatan Serbuk Daun Sambung Nyawa

Daun sambung nyawa dipanen sebanyak 2 kg dan disortasi basah untuk menghilangkan kotoran-kotorannya atau bahan asing lainnya (Jannah, 2022) lalu dikering anginkan. Selanjutnya, dikeringkan menggunakan oven, diserbukkan dan diayak. Serbuk daun sambung nyawa yang diperoleh yaitu 600 g.

3. Ekstraksi Daun Sambung Nyawa

Hasil %rendemen dari ekstrak daun sambung nyawa metode maserasi dan UAE dapat dilihat pada **tabel 2** dan perhitungan %rendemen dapat dilihat pada **lampiran 3**.

Tabel 2. Hasil Rendemen Ekstrak Kental Daun Sambung Nyawa

Ekstraksi	Berat Serbuk (g)	Berat Wadah dan Ekstrak (g)	Berat Wadah Kosong (g)	Berat Ekstrak Kental (g)	Rendemen (%)
Maserasi	100	78,36	65,32	13,04	13,04
UAE	100	86,36	70,16	16,20	16,20

4. Karakterisasi Ekstrak Daun Sambung Nyawa

a. Uji kadar air

Uji kadar air ekstrak daun sambung nyawa pada metode ekstraksi maserasi diperoleh sebesar 5,78% sedangkan pada metode ekstraksi UAE diperoleh sebesar 4,38% (**lampiran 4**).

b. Uji organoleptik

Pengujian yang dilakukan pada sampel ekstrak daun sambung nyawa metode maserasi dan UAE didapatkan sifat fisik yaitu bentuk kental, berbau khas, dan berwarna hijau-kehitaman. Hasil uji organoleptik dari ekstrak daun sambung nyawa yang diperoleh dapat dilihat pada **tabel 3**.

Tabel 3. Hasil Uji Organoleptis Ekstrak Daun Sambung Nyawa

Ekstrak	Uji Organoleptik	Hasil	Referensi (Sari, 2020)
Maserasi	Bentuk	Kental	Kental
	Bau	Khas	Khas
	Warna	Hijau-Kehitaman	Hijau Pekat
UAE	Bentuk	Kental	Kental
	Bau	Khas	Khas
	Warna	Hijau-Kehitaman	Hijau Pekat

c. Uji skrining fitokimia

Hasil uji skrining fitokimia pada ekstrak daun sambung nyawa hasil maserasi dan UAE dapat dilihat pada **lampiran 5** dan **tabel 4**.

Tabel 4. Hasil Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Sambung Nyawa

No	Uji	Reagen	Hasil	Metode ekstraksi		Teori
				Maserasi	UAE	
1	Flavonoid	Serbuk mg + HCl Pekat	Kuning	+	+	+(Gulo, 2021)
2	Fenolik	Metanol + FeCl ₃ 1%	Biru-kehitaman	+	+	+(Ferdinal, 2023)
3	Tanin	Akuades + FeCl ₃ 1%	Biru-kehitaman	+	+	+(Gulo, 2021)
4	Saponin	Air Panas	Buih stabil	+	+	+(Gulo, 2021)

		Mayer	Endapan hijau terang	-	-	- (Gulo, 2021)
5	Alkaloid	Wagner	Endapan coklat	+	+	+ (Gulo, 2021)
		Dragendorff	Endapan kuning	+	+	+ (Rosiana, 2024)

Keterangan:

(+) = Positif mengandung senyawa

(-) = Negatif mengandung senyawa

Berdasarkan **tabel 4**, ekstrak daun sambung nyawa hasil maserasi dan UAE positif senyawa flavonoid, fenolik, tanin, saponin, dan alkaloid.

5. Uji Peredaman Radikal Bebas DPPH

a. Penentuan panjang gelombang maksimal.

λ maksimal bertujuan untuk mencari panjang gelombang dari larutan DPPH yang menunjukkan absorbansi yang optimal. Hasil pengukuran λ maksimal pada penelitian ini yaitu 516 nm dengan absorbansi sebesar 1,116 (**lampiran 6**), dimana hasil tersebut tidak jauh berbeda dari penelitian sebelumnya oleh Membri (2021), yaitu pada panjang gelombang 517 nm.

b. Penentuan *operating time*

Menurut Suharyanto & Prima (2020), OT bertujuan dalam menentukan waktu ukur dari suatu senyawa pada saat absorbansi paling stabil. Hasil penentuan *Operating Time* menunjukkan bahwa waktu dan absorbansi paling stabil tercapai pada menit ke-26 sampai 28, sehingga *Operating time* yang diperoleh adalah 26 menit (**lampiran 7**).

c. Pengujian aktivitas peredaman radikal bebas DPPH

Nilai IC_{50} dari standar kuersetin dan ekstrak daun sambung nyawa hasil pengujian aktivitas peredaman radikal bebas DPPH dapat dilihat pada **tabel 5**.

Tabel 5. Hasil Nilai IC₅₀ Standar Kuersetin dan Ekstrak Daun Sambung Nyawa

Sampel	Nilai IC ₅₀ ± SD (ppm)	Kategori (Rahman, 2023)
Kuersetin	2,1987 ± 0,0533	Sangat kuat
Maserasi	154,0723 ± 3,0991	Lemah
UAE	91,7502 ± 4,6259	Kuat

Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas peredaman radikal bebas DPPH diperoleh yaitu standar kuersetin dengan kategori sangat kuat dan ekstrak daun sambung nyawa metode maserasi dan UAE dengan kategori lemah dan kuat.

6. Analisis data

Analisis data aktivitas peredaman radikal bebas DPPH berupa nilai IC₅₀ dari ekstrak daun sambung nyawa hasil maserasi dan UAE menggunakan SPSS. Hasil analisis diperoleh data terdistribusi normal dan homogen dengan nilai signifikansi >0,05. Selanjutnya dilakukan uji T-test independent dengan hasil berbeda signifikan ($p < 0,05$) antara nilai IC₅₀ hasil ekstraksi maserasi dengan UAE.

Tabel 6. Hasil Uji Statistik Aktivitas Peredaman Radikal Bebas DPPH

Sampel	Nilai IC ₅₀		
	Normalitas	Homogenitas	T-test independent
Maserasi	0,454	0,572	0,001
UAE	0,793		

Keterangan: Normalitas = ($>0,05$)

Homogen = ($>0,05$)

T-test independent = Berbeda secara signifikan ($<0,05$)

B. Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh metode ekstraksi maserasi dan UAE terhadap peredaman radikal bebas DPPH dengan menggunakan sampel daun sambung nyawa yang diambil dari daerah Baturetno, Kecamatan Banguntapan, Kabupaten Bantul, Daerah Istimewa Yogyakarta. Daun sambung nyawa yang digunakan dalam

penelitian ini sudah dideterminasi untuk memastikan keaslian tanaman. Daun sambung nyawa dipanen pada pagi hari pukul 08.00-10.00 WIB, pemanenan ini dilakukan pada pagi hari sebelum terjadinya proses fotosintesis (Wulandari, 2022), dimana pada proses tersebut yang berperan adalah senyawa metabolit primer, sehingga tanaman banyak memproduksi metabolit primer dibandingkan metabolit sekunder (Dalimunthe, 2017). Setelah panen dikeringkan pada suhu 40°C selama 3 hari, pemilihan suhu dapat dikeringkan pada suhu 20°C sampai 90°C, tetapi suhu yang terbaik adalah tidak melebihi 50°C karena dapat mengakibatkan kerusakan senyawa metabolit sekunder pada tanaman seperti fenolik dan flavonoid (Kusumawardany, 2023). Tujuan pengeringan untuk mengurangi kadar air pada bahan sehingga dapat menghambat pertumbuhan mikroba yang tidak diinginkan (Lagawa, 2020). Sampel yang telah kering dihaluskan yang bertujuan untuk memperkecil ukuran partikel sampel sehingga luas permukaan kontak antara sampel dan pelarut menjadi lebih besar (Perdana, 2024) dan diayak untuk mendapatkan serbuk simplisia dengan ukuran yang seragam dan halus agar memudahkan penarikan senyawa saat proses ekstraksi (Pujiastuti, 2022).

Daun sambung nyawa diekstraksi dengan dua metode yang berbeda yaitu maserasi dan UAE. Kedua metode ekstraksi daun sambung nyawa tersebut menggunakan pelarut, suhu ekstraksi, waktu ekstraksi, dan suhu penguapan yang sama tetapi ada perbedaan dari keduanya yaitu cara pengadukan. Pada metode maserasi dilakukan pengadukan 1 kali selama 1 jam sedangkan pada metode UAE pengadukan secara terus menerus selama 1 jam dengan bantuan gelombang ultrasonik menggunakan pelarut yang sama yaitu metanol, pelarut tersebut dapat menarik senyawa yang bersifat polar diantaranya flavonoid dan fenolik (Salamah & Widayari, 2015). Pelarut metanol dapat menarik senyawa polar dikarenakan metanol merupakan suatu senyawa yang memiliki struktur molekul CH_3OH , bersifat polar karena memiliki gugus hidroksil (-OH) (Ramdani, 2017), Dibuktikan dari penelitian Ferdinal (2023), bahwa hasil nilai IC_{50} dari ekstrak daun

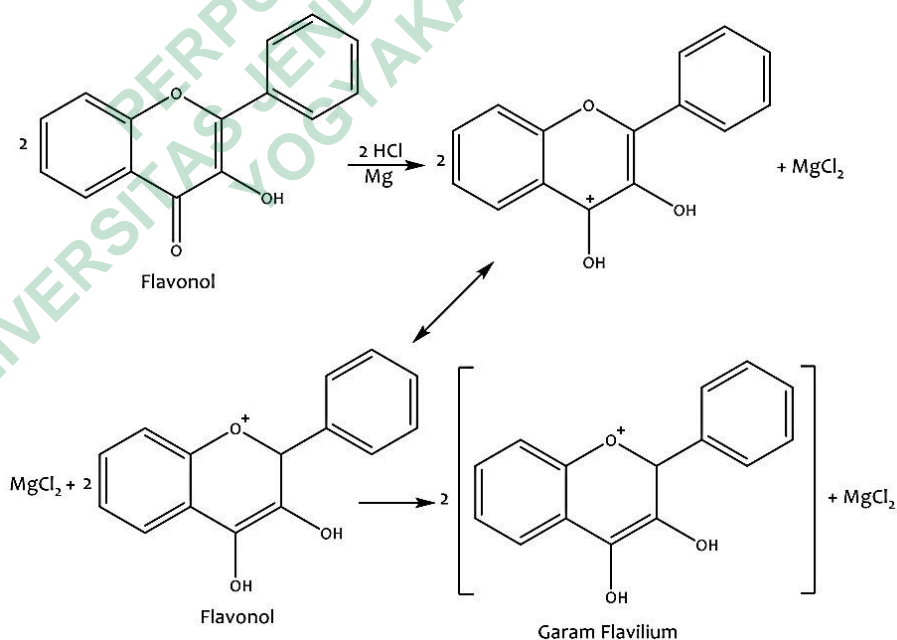
sambung nyawa dengan pelarut metanol sebesar 15,01 ppm lebih bagus dibandingkan dengan pelarut n-heksan dan etil asetat sebesar 47,04 dan 361,66 ppm secara berturut-turut.

Dilakukan re-ekstraksi sebanyak 1 kali dengan tujuan untuk menarik kandungan senyawa yang masih tertinggal pada saat ekstraksi pertama (Makalunsenge, 2022). Ekstrak cair yang diperoleh diuapkan menggunakan penangas air pada suhu 50°C. Pemilihan suhu tersebut disesuaikan dengan karakteristik senyawa fenolik dan flavonoid yang tidak tahan panas, dimana senyawa tersebut dapat rusak pada suhu di atas 50°C (Kusumawardany, 2023). Hasil ekstraksi metode maserasi dan UAE daun sambung nyawa masing-masing memperoleh rendemen yaitu pada metode maserasi sebesar 13,04% sedangkan pada metode UAE sebesar 16,20% (**tabel 2**). Nilai rendemen dari kedua metode tersebut memenuhi persyaratan yang ditetapkan yaitu tidak kurang dari 7,2% (Kemenkes, 2017). Hasil rendemen pada ekstrak metode UAE lebih besar dibandingkan dengan ekstrak metode maserasi dikarenakan perbedaan pengadukan pada metode maserasi metode UAE. Pada metode maserasi pengadukan hanya dilakukan sebanyak dua kali masing-masing pada maserasi dan remaserasi selama 5 menit, sedangkan pada metode UAE dilakukan secara terus menerus selama 1 jam pada ekstraksi awal dan 30 menit pada proses ekstraksi kembali melalui getaran gelombang ultrasonik. Semakin tinggi rendemen ekstrak maka semakin tinggi kandungan zat yang ditarik pada suatu sampel (Senduk, 2020).

Ekstrak kental daun sambung nyawa dilakukan uji kadar air yang bertujuan untuk mengetahui kandungan air di dalam ekstrak. Hasil uji kadar air dari ekstraksi metode maserasi diperoleh 5,78% dan ekstraksi metode UAE sebesar 4,38% (**tabel 3**). Kedua metode ekstraksi telah sesuai dengan syarat kadar yaitu $\leq 11\%$ (Kemenkes, 2017). Jika kadar air melebihi dari 10%, akan menyebabkan terjadinya proses enzimatik dan pertumbuhan mikroba yang berpotensi merusak bahan (Dharma, 2020).

Uji skrining fitokimia pada ekstrak daun sambung nyawa dilakukan untuk mengidentifikasi keberadaan golongan senyawa aktif di dalam ekstrak (Muthmainnah, 2019). Pengujian ini didasarkan pada prinsip reaksi kimia yang menghasilkan perubahan warna atau pembentukan busa saat bereaksi dengan pereaksi tertentu. Hasil uji skrining fitokimia dapat diamati pada **tabel 4** yang menunjukkan bahwa ekstrak daun sambung nyawa metode maserasi dan UAE positif mengandung flavonoid, fenolik, tanin, saponin, dan alkaloid.

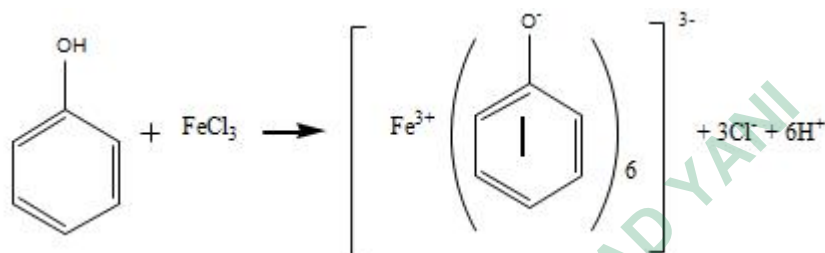
Perubahan warna dari uji flavonoid hasilnya positif yang ditandai dengan terbentuknya warna kuning (**lampiran 5**). Warna ini adalah hasil reaksi antara flavonoid dengan HCl dan logam Mg. Tujuan penambahan logam Mg dan HCl untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat dalam struktur flavonoid sehingga terbentuk garam flavilium (Tandi, 2020). Mekanisme reaksi senyawa flavonoid dengan Mg dan HCl dapat diamati pada **Gambar 6**.



Gambar 6. Reaksi Senyawa Flavonoid dengan Mg dan HCl (Ramayani, 2021)

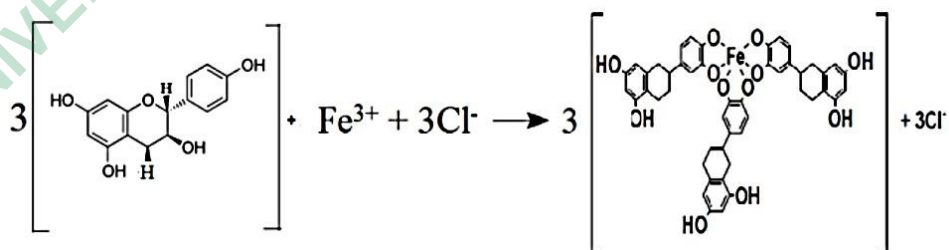
Uji senyawa fenolik didapatkan perubahan warna yang terjadi berupa larutan biru kehitaman (**lampiran 5**) menunjukkan keberadaan

senyawa fenolik setelah direaksikan dengan pereaksi FeCl_3 . Hal ini dikarenakan gugus hidroksil pada senyawa fenolik bereaksi dengan ion Fe^{3+} sehingga terbentuk senyawa kompleks berwarna (Widiawati & Qodri, 2023). Mekanisme reaksi senyawa fenolik dan FeCl_3 dapat diamati pada **Gambar 7**.



Gambar 7. Reaksi Senyawa Fenolik dengan FeCl_3 (Widiawati & Qodri, 2023)

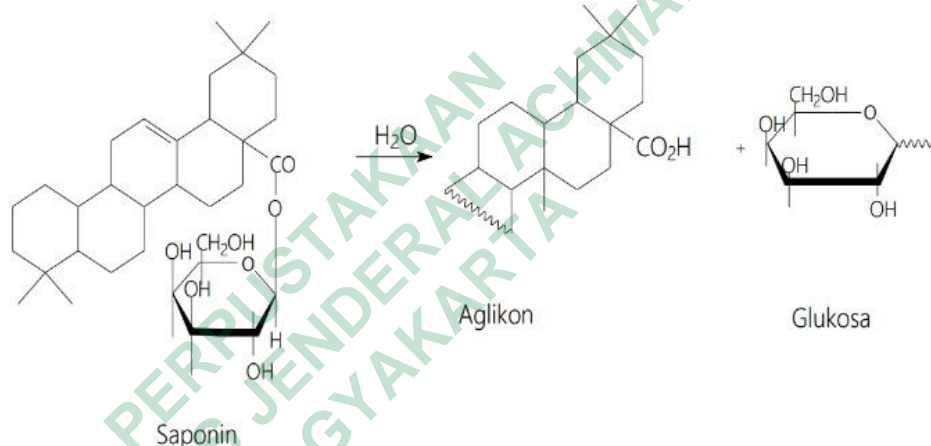
Uji senyawa tanin dilakukan dengan penambahan FeCl_3 , di mana hasil uji menunjukkan terjadinya perubahan warna larutan menjadi biru kehitaman (**lampiran 5**) yang menandakan positif senyawa tanin. Perubahan dari warna ini terjadi akibat pembentukan kompleks antara ion Fe^{3+} dan tanin. Ion Fe^{3+} bertindak sebagai atom pusat, sementara tanin melalui atom oksigennya yang memiliki pasangan elektron bebas berperan sebagai ligan yang berkoordinasi dengan atom pusat tersebut (Widiawati & Qodri, 2023). Mekanisme reaksi senyawa tanin dengan FeCl_3 dapat diamati pada **Gambar 8**.



Gambar 8. Reaksi Senyawa Tanin dengan FeCl_3 (Datu, 2021)

Ekstrak daun sambung nyawa hasil maserasi dan UAE dilakukan uji saponin. Hasil uji menunjukkan terbentuknya buih stabil yang bertahan tidak kurang dari 1 menit. Buih yang dihasilkan pada uji saponin disebabkan karena pada sampel terdapat gugus polar dan non polar. Pada reaksi ini,

molekul air (H_2O) masuk kedalam ikatan glikosidik yang berhubungan antara aglikon dan glukosa sehingga mengalami ikatan tersebut putus maka saponin terpecah menjadi dua bagian yaitu bersifat polar dan non polar. Senyawa saponin yang memiliki gugus polar (glukosa) dan gugus nonpolar (aglikon) saat dikocok dengan air permukaannya bersifat aktif dan membentuk misel dikarenakan struktur misel gugus nonpolar menghadap ke dalam sedangkan gugus polar menghadap ke luar dan keadaan inilah yang tampak seperti buih atau busa (Habibi, 2018). Mekanisme reaksi senyawa saponin dengan air bisa diamati pada **Gambar 9**.

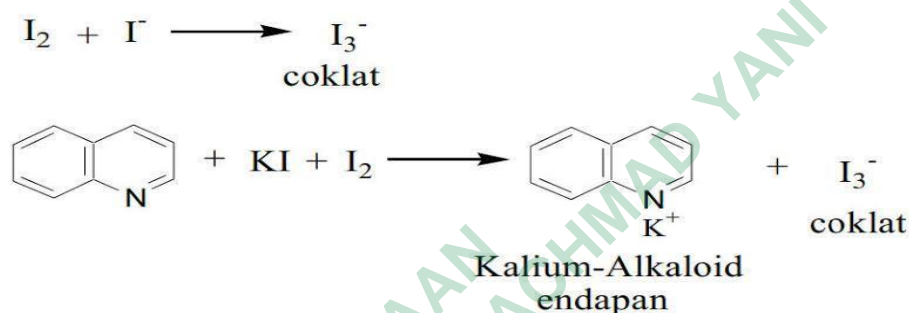


Gambar 9. Reaksi Senyawa Saponin dengan Air (Nugrahani, 2016)

Identifikasi senyawa alkaloid dari ekstrak daun sambung nyawa menggunakan pereaksi wagner, mayer, dan dragendorff. Hasil dikatakan positif apabila terbentuk endapan coklat, putih, dan jingga setelah ditambahkan pereaksi tersebut. Berdasarkan hasil pada uji alkaloid dari pereaksi mayer yang ditandai adanya pembentukan endapan hijau terang (negatif). Pereaksi dragendorff yang ditandai adanya pembentukan endapan kuning dan pereaksi Wagner yang ditandai adanya pembentukan endapan berwarna coklat dari kedua pereaksi yaitu positif, sehingga dikatakan positif mengandung alkaloid karena 2 pereaksi hasilnya positif.

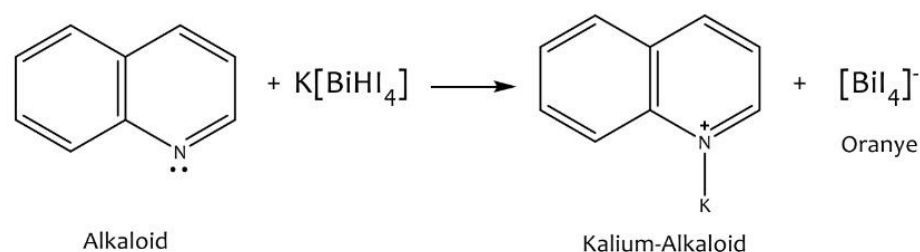
Uji alkaloid pereaksi wagner dinyatakan positif karena terdapat pembentukan endapan coklat. Endapan ini ialah senyawa kompleks kalium

alkaloid, dalam pembuatan pereaksi Wagner, kalium iodide (KI) dan iodin (I₂) direaksikan akan membentuk ion I₃⁻ yaitu berwarna coklat. Endapan yang terbentuk merupakan hasil interaksi ion K⁺ dengan nitrogen pada alkaloid melalui ikatan kovalen koordinasi (Aristyawan, 2024; Widiawati & Qodri, 2023). Mekanisme reaksi alkaloid dengan pereaksi wagner dapat dilihat pada **Gambar 10**.



Gambar 10. Reaksi Alkaloid dengan pereaksi Wagner (Yasser, 2022)

Hasil positif uji alkaloid dengan menggunakan pereaksi Dragendorff juga ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning. Berdasarkan hasil penelitian, uji alkaloid dengan pereaksi dragendorff menghasilkan endapan berwarna kuning, endapan tersebut adalah kalium alkaloid. Pada uji ini, nitrogen yang ada digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion K⁺ yang merupakan ion logam (Sangkal, 2020). Mekanisme reaksi alkaloid dengan pereaksi dragendorff dapat dilihat pada **Gambar 11**.



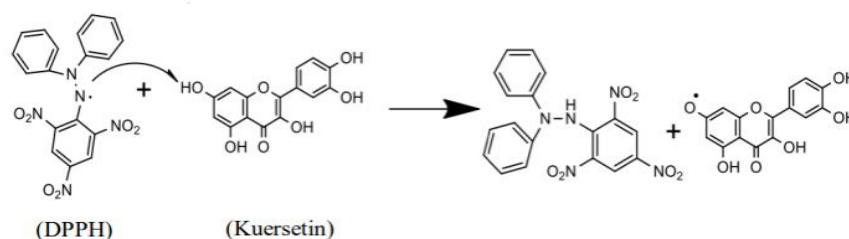
Gambar 11. Reaksi Alkaloid dengan pereaksi Dragendorff (Sangkal, 2020)

Ekstrak daun sambung nyawa hasil maserasi dan UAE dilakukan uji peredaman radikal bebas dalam penelitian ini menggunakan DPPH yang

merupakan senyawa radikal bebas stabil. Prinsip kerja DPPH ini didasarkan pada pendonoran satu atom H dari senyawa antioksidan yaitu flavonoid dan fenolik kepada atom N radikal DPPH, sehingga mengalami reduksi menjadi senyawa DPPH non-radikal. Mekanisme pengujian aktivitas senyawa antioksidan dengan cara mencampur larutan DPPH dengan larutan sampel yang mengandung senyawa antioksidan. Larutan DPPH yang berwarna ungu apabila bereaksi dengan senyawa antioksidan mengakibatkan perubahan warna dari ungu menjadi kuning. Perubahan warna tersebut dipengaruhi oleh konsentrasi larutan sampel antioksidan, semakin tinggi konsentrasi larutan sampel, maka absorbansi yang dihasilkan akan semakin menurun (Sukma, 2022). Campuran larutan DPPH dan sampel diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimal DPPH yaitu 516 nm dengan operating time selama 26 menit.

Standar yang digunakan dalam penelitian ini adalah kuersetin yang merupakan golongan senyawa flavonoid dengan menunjukkan beberapa aktivitas biologi. Aktivitas ini dikaitkan dengan sifat antioksidan dari kuersetin yang mampu menangkap radikal bebas. Kuersetin yang kaya akan gugus hidroksil akan mendonorkan atom H kepada atom N radikal pada DPPH, sehingga DPPH akan menjadi senyawa yang stabil (Cahyono, 2020). Mekanisme reaksi kuersetin dengan DPPH dapat diamati pada

Gambar 12.



Gambar 12. Mekanisme Reaksi Kuersetin dan DPPH (Paramitha, 2018)

Aktivitas antioksidan suatu senyawa dapat diukur menggunakan parameter IC_{50} yaitu konsentrasi senyawa yang diperlukan untuk meredam

50% radikal DPPH (Manurung, 2021). Nilai IC_{50} didapatkan dari grafik persamaan regresi linier yaitu hubungan antara konsentrasi sampel dengan % penghambatan DPPH. Berdasarkan hasil pengujian, yang didapatkan nilai IC_{50} dari kuersetin yaitu 2,1987 ppm, sementara nilai IC_{50} untuk sampel daun sambung nyawa dengan ekstraksi metode maserasi yaitu 154,0723 ppm dan nilai IC_{50} untuk sampel daun sambung nyawa dengan ekstraksi metode UAE yaitu 91,7502 ppm sebagaimana dapat dilihat pada **tabel 5**.

Nilai IC_{50} standar kuersetin paling kecil yaitu dengan kategori sangat kuat karena ≤ 50 ppm. Sampel yang diekstraksi dengan metode UAE menunjukkan kategori kuat dikarenakan nilai IC_{50} antara 50-100 ppm sedangkan sampel yang diekstraksi dengan metode maserasi menunjukkan kategori lemah dikarenakan nilai IC_{50} antara 150-200 ppm (Rahman, 2023). Maka semakin kecil nilai IC_{50} maka aktivitas peredaman radikal bebas akan semakin kuat.

Nilai IC_{50} yang diperoleh dari uji aktivitas peredaman radikal bebas DPPH oleh ekstrak daun sambung nyawa metode maserasi dan UAE dilakukan analisis statistik menggunakan software SPSS dengan uji T-test independent menunjukkan nilai IC_{50} ekstrak metode maserasi dan ekstrak metode UAE berbeda signifikan ($p < 0,05$). Dapat disimpulkan dari hasil tersebut bahwa ekstraksi metode maserasi dan ekstraksi metode UAE memiliki perbedaan aktivitas peredaman radikal bebas DPPH.

Nilai IC_{50} yang diperoleh dari metode UAE lebih baik atau lebih kecil dibandingkan dengan metode maserasi dikarenakan nilai rendemen pada metode UAE yang lebih tinggi dari metode maserasi. Nilai rendemen yang tinggi berkaitan dengan senyawa flavonoid dan fenolik, dimana dari metabolit sekundernya kandungan fenolik lebih besar dari pada kandungan flavonoid karena flavonoid merupakan golongan dari senyawa fenolik (Sundu, 2022). Senyawa fenolik berupa flavonoid yaitu flavonol dan flavon dapat berperan sebagai antioksidan. Aktivitas flavonoid sangat bergantung terhadap jumlah dan lokasi gugus $-OH$ dimana dalam hal ini

berperan dalam menetralkan radikal bebas. Kemampuan flavonoid dalam menekan radikal bebas pun berkaitan dengan kemampuannya mendonorkan elektron. Hal inilah yang menyebabkan hubungan antara kandungan fenolik dan flavonoid dengan aktivitas antioksidan (Nur, 2019). Terdapat perbedaan nilai rendemen antara metode UAE dengan maserasi yang disebabkan dari proses ekstraksi metode maserasi dalam pengadukan yang kurang intensif sehingga nilai rendemennya lebih rendah. Pengadukan pada maserasi dan remaserasi hanya dilakukan selama total 10 menit sehingga interaksi antara pelarut dan sampel tidak berjalan secara maksimal dan ekstraksi senyawa bioaktif pada sampel berjalan lambat sehingga ekstrak yang dihasilkan sedikit. Sebaliknya pengadukan pada metode UAE berjalan selama proses ekstraksi dan ekstraksi kembali yaitu selama 90 menit melalui gelombang ultrasonik untuk memecah dinding sel tanaman, sehingga senyawa bioaktif lepas ke lingkungan (Medina-Torres, 2017). Hal ini bisa membantu ekstraksi senyawa aktif seperti senyawa fenolik dan flavonoid berjalan lebih cepat dan menghasilkan ekstrak yang lebih banyak. Berdasarkan alasan tersebut metode UAE lebih baik karena dalam menghasilkan ekstrak dengan nilai rendemen yang tinggi dan aktivitas peredaman radikal bebas yang kuat.