

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Nano ekstrak akuades daun beluntas



Gambar 4 Serbuk Simplisia dan Ekstrak Kental Daun Beluntas

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah nano ekstrak akuades daun beluntas. Sampel dibuat menggunakan daun beluntas yang memenuhi kriteria seperti daun yang utuh berwarna hijau, tidak berlubang, baru dipetik langsung pada pagi hari, dipetik dari ujung daun hingga 5 helai daun ke bawah, dan lokasi pengambilan daun di Desa Mas. Daun beluntas yang digunakan untuk membuat ekstrak adalah sebanyak 2 kg. Pemilihan waktu pemetikan daun berpengaruh terhadap nilai aktivitas antioksidan yang dihasilkan. Pada penelitian ini pemetikan daun dilakukan pada pagi hari, hal ini sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan (Aulianshah, Rasidah dan Handayani, 2024). Dalam proses pembuatan serbuk simplisia, daun beluntas dikeringkan pada suhu 40°C selama 20-40 jam, kemudian dimaserasi menggunakan perbandingan 1:5 dengan masa serbuk simplisia 400g dan 2000mL akuades dengan 3 kali remaserasi. Setelah proses evaporasi diperoleh 105,65g, sehingga diketahui rendemen ekstraknya adalah 26.4%.

Ekstrak kental yang didapat dilanjutkan ke proses pembuatan nano ekstrak. Nano ekstrak dibuat dengan menggunakan metode gelasi ionik. Metode ini menggunakan kitosan sebagai polimernya. Pada proses sintesis nano ekstrak hasil sentrifuge yang digunakan adalah supernatan dengan warna kuning jernih. Pada pengukuran transmitansi menggunakan spektrofotometri dilakukan pada panjang gelombang 650nm. Hasil transmitansi dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4

%Transmitansi Nano Ekstrak Akuades Daun Beluntas

No	Pengulangan	Visual	Hasil transmitansi
1.	1	Larutan jernih	99,37%
2.	2	Larutan jernih	99,33%
3.	3	Larutan jernih	99,34%
		Rerata:	99,34%

Berdasarkan hasil pengukuran % transmitansi yang disajikan pada Tabel 4 dapat diketahui bahwa sampel yang digunakan termasuk dalam kriteria nano ekstrak dengan hasil % transmitansi sebesar 99,34%.

2. Skrining fitokimia

Hasil skrining fitokimia secara kualitatif nano ekstrak akuades daun beluntas dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5

Hasil Skrining Fitokimia Nano Ekstrak Akuades Daun Beluntas

No	Parameter uji	Hasil	Perubahan yang terjadi
1.	Alkaloid (Mayer)	-/Negatif	Tidak terdapat endapan putih
2.	Alkaloid (Wagner)	-/Negatif	Tidak terdapat endapan coklat kemerahan
3.	Flavonoid	-/Negatif	Tidak terdapat perubahan warna orange
4.	Tanin	+/Positif	Terjadi perubahan warna hijau kehitaman
5.	Fenol	+/Positif	Terjadi perubahan warna biru kehitaman
6.	Saponin	+/Positif	Terdapat busa

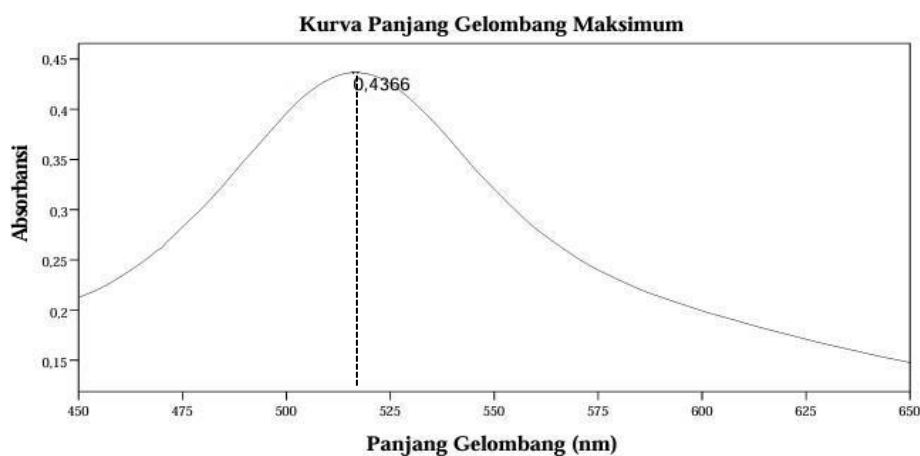
Berdasarkan hasil skrining fitokimia pada Tabel 5, menunjukkan bahwa nano ekstrak akuades daun beluntas mengandung senyawa fitokimia antara lain tanin, fenol, dan saponin.

3. Uji aktivitas antioksidan

Uji aktivitas antioksidan pada penelitian ini menggunakan menggunakan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*) secara spektrofotometri UV-Vis. Aktivitas antioksidan ditentukan melalui beberapa tahapan pengukuran, antara lain penentuan panjang gelombang maksimum, pengukuran absorbansi seri konsentrasi sampel, penentuan % inhibisi dan perhitungan nilai IC_{50} untuk mengetahui aktivitas antioksidan sampel.

a. Penentuan panjang gelombang maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan menggunakan larutan DPPH 0,1 mM dalam metanol dengan rentang panjang gelombang 450,00-650,00nm.



Gambar 5 Kurva Panjang Gelombang Maksimum

Berdasarkan regresi linier antara absorbansi dengan panjang gelombang pada Gambar 5 menunjukkan hasil gelombang maksimum yang didapat adalah 516nm.

b. Pengukuran absorbansi dan % inhibisi

Pengukuran absorbansi dilakukan pada larutan sampel dengan seri konsentrasi 0, 30, 60, 90, 120, 150ppm dengan panjang gelombang maksimum yang di dapat, yaitu 516nm. Hasil tersebut dapat dilihat pada Tabel 6.

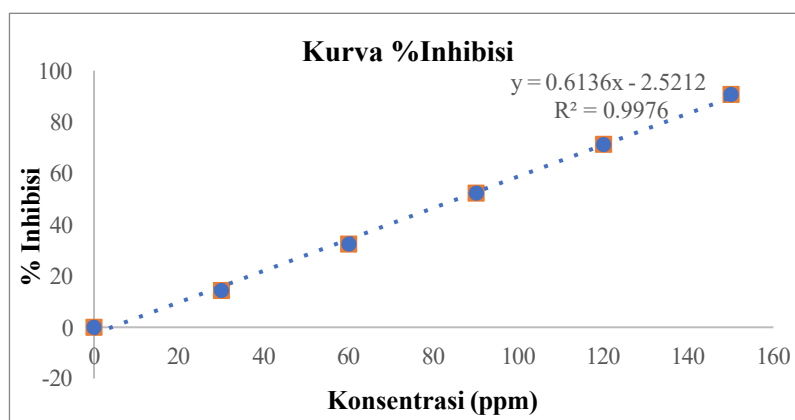
Tabel 6

Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Nano Ekstrak Akuades Daun Beluntas

No	Konsentrasi sampel (ppm)	Rerata absorbansi	% Inhibisi
1.	0 ppm	0.4074	0
2.	30 ppm	0.3490	14.334
3.	60 ppm	0.2754	32.400
4.	90 ppm	0.1945	52.258
5.	120 ppm	0.1171	71.256
6.	150 ppm	0.0378	90.721

c. Penentuan aktivitas antioksidan

Penentuan nilai IC₅₀ aktivitas antiosidan dihitung dari persamaan regresi linier yang disajikan pada Gambar 6



Gambar 6 Kurva % Inhibisi

Berdasarkan persamaan regresi linier diperoleh yaitu $y=0,6136x - 2,5212$ maka dapat ditentukan nilai IC_{50} sampel nano ekstrak akuades daun beluntas adalah 77,377ppm.

B. Pembahasan

1. Nano ekstrak akuades daun beluntas

Sampel dalam penelitian ini adalah nano ekstrak akuades daun beluntas. Pembuatan nano ekstrak diawali dengan proses ekstraksi serbuk simplisia daun beluntas menggunakan pelarut akuades. Pembuatan serbuk simplisia dilakukan melalui tahapan pengeringan daun beluntas pada suhu 40°C, pemilihan suhu ini berdasarkan jurnal yang menyatakan pengeringan daun simplisia lebih baik dibawah suhu 50°C(Syafrida, Darmanti dan Izzati, 2018). Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi metode ini dipilih karena memiliki cara kerja yang sederhana. Pelarut yang digunakan merupakan akuades dengan sifat polar yang melarutkan berbagai senyawa organik polar, seperti gula, alkohol, aldehida, dan keton sehingga memiliki kemurnian yang tinggi.

Ekstrak kental yang didapatkan dilanjutkan pada proses sintesis nano ekstrak menggunakan metode gelasi ionik. Metode gelasi ionik menggunakan polimer kitosan, kitosan merupakan polimer yang memiliki sifat bioaktif, biokompatibel, antibakteri, pengkelat, dan dapat terbiodegradasi (Kurniasari dan Atun, 2017). Karakteristik nano ekstrak harus memenuhi standar nilai transmitansi yaitu 90-100% (Hastuti dan Sukarno, 2020). Hasil transmitansi nano ekstrak akuades daun beluntas yang diukur menggunakan spektrofotometer pada penelitian ini adalah 99,34%, dimana hasil ini memenuhi kriteria sampel sebagai nano ekstrak. Nilai % transmitansi tersebut secara efektif dapat meningkatkan beberapa aspek penting,

seperti bioavailabilitas, stabilitas, dan efektivitas senyawa aktif yang ada dalam ekstrak tersebut.

2. Skrining fitokimia

Senyawa fitokimia yang di uji pada penelitian ini adalah alkaloid, flavonoid, fenol, tanin, dan saponin. Skrining fitokimia dilakukan menggunakan metode kualitatif yang artinya membaca perubahan warna maupun reaksi yang terjadi ketika ditambahkan pereaksi.

a. Alkaloid

Telah dilakukan analisis terhadap sampel nano ekstrak akuades daun beluntas diperoleh bahwa sampel yang ditambahkan pereaksi mayer dan wagner tidak terdapat endapan putih maupun endapan coklat kemerahan. Hal tersebut menandakan sampel tidak memiliki kandungan senyawa alkaloid. Prinsip pada analisis senyawa alkaloid adalah reaksi pengendapan terjadi karena penggantian ligan(Shaikh dan Patil, 2020).

b. Flavonoid

Setelah melakukan skrining fitokimia senyawa flavonoid dengan prosedur yang telah dijelaskan, hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa nano ekstrak akuades daun beluntas yang diuji tidak memberikan reaksi perubahan warna orange yang artinya tidak adanya senyawa flavonoid. Sesuai dengan teori yang tercantum dalam jurnal(Shaikh dan Patil, 2020).

c. Fenol

Telah dilakukan analisis terhadap sampel nano ekstrak akuades daun beluntas untuk mendeteksi keberadaan senyawa fenol. Hasil yang diperoleh menunjukkan adanya perubahan warna, yang mengindikasikan bahwa nano ekstrak akuades daun

beluntas mengandung senyawa fenol. Reaksi yang terjadi pada skrining senyawa fenol ini didasarkan pada prinsip pembentukan kompleks antara senyawa fenol dan ion besi. Senyawa fenol memiliki gugus hidroksil (-OH) yang dapat berikatan dengan ion Fe^{3+} , menghasilkan kompleks yang berwarna. Oleh karena itu, perubahan warna menjadi biru kehitaman menandakan adanya senyawa fenol dalam sampel (Shaikh dan Patil, 2020).

d. Tanin

Dilakukan analisis terhadap sampel nano ekstrak akuades daun beluntas untuk mendeteksi keberadaan senyawa tanin. Hasil yang diperoleh menunjukkan adanya reaksi yang menandakan keberadaan senyawa tanin. Reaksi yang terjadi pada analisis senyawa tanin didasarkan pada sifat tanin yang dapat berikatan dengan protein. Dalam hal ini, gelatin berfungsi sebagai sumber protein yang berikatan dengan tanin, sehingga terbentuknya warna hijau kehitaman setelah penambahan gelatin dan NaCl menunjukkan bahwa ekstrak daun beluntas mengandung senyawa tanin (Shaikh dan Patil, 2020).

e. Saponin

Dilakukan analisis terhadap sampel nano ekstrak akuades daun beluntas untuk mendeteksi keberadaan senyawa saponin. Hasil yang diperoleh menunjukkan adanya reaksi positif terhadap keberadaan saponin. Reaksi yang terjadi pada analisis senyawa saponin dikarenakan pada sifat saponin yang dapat membentuk busa ketika dilarutkan dalam air dan dikocok. Saponin memiliki bagian hidrofilik dan hidrofobik, yang memungkinkan senyawa tersebut untuk membentuk micel dan menghasilkan busa. Dalam hal ini, terbentuknya busa stabil setelah pengocokan

menunjukkan keberadaan senyawa saponin dalam nano ekstrak akuades daun beluntas (Shaikh dan Patil, 2020).

Skrining fitokimia nano ekstrak akuades daun beluntas pada penelitian ini menunjukkan hasil positif pada analisis senyawa fenol, tanin, saponin dan negatif pada senyawa alkaloid, flavonoid. Hal ini tidak sejalan dengan penelitian yang menggunakan ekstrak etanol daun beluntas sebagai sampelnya dengan hasil positif pada senyawa alkaloid, flavonoid, fenol, tanin, dan saponin (Habibah dkk., 2023). Hal ini mungkin terjadi dikarenakan perbedaan pelarut yang digunakan, pada penelitian tentang ekstrak, pemilihan pelarut merupakan hal yang penting. Pelarut yang digunakan adalah akuades, akuades merupakan pelarut yang bersifat polar, sehingga hanya mampu melarutkan senyawa aktif yang juga bersifat polar.

3. Uji aktivitas antioksidan

Dalam penelitian kali ini, telah dilakukan pengujian aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH. Prinsip kerja dari metode DPPH yaitu terdapat atom hidrogen pada senyawa antioksidan yang berikatan dengan elektron bebas dengan senyawa radikal sehingga menyebabkan perubahan dari radikal bebas (*diphenylpicrylhydrazyl*) menjadi senyawa non-radikal (*diphenylpicrylhydrazine*). Perubahan ini ditandai oleh perubahan warna dari ungu pekat menjadi kuning setelah dilakukan inkubasi selama 30 menit di ruang gelap (senyawa radikal bebas tereduksi dengan adanya antioksidan).

Pengukuran dilakukan secara spektrofotometri pada panjang gelombang maksimum yaitu 516 nm dengan berbagai konsentrasi sampel nano ekstrak akuades daun beluntas. Berdasarkan hasil yang diperoleh regresi linier yang disajikan pada Gambar 6 terdapat hubungan yang linier antara % inhibisi dan konsentrasi sampel

(ppm) dengan nilai $R^2 = 0.9976$. Nilai tersebut menggambarkan bahwa kurva % inhibisi memenuhi persyaratan linearitas dikarenakan berada pada rentang 0,9 – 1 (Ngibad dan Herawati, 2019). Dari grafik yang disajikan, tampak bahwa seiring dengan meningkatnya konsentrasi nano ekstrak, persentase inhibisi juga meningkat. Hal ini menunjukkan bahwa nano ekstrak akuades daun beluntas memiliki kemampuan yang baik dalam menghambat aktivitas radikal bebas.

Berdasarkan hasil persamaan regresi linier yang diperoleh pada penelitian ini diketahui bahwa sampel nano ekstrak akuades daun beluntas memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} 77,377 ppm dengan katagori kuat. Hal ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi 77,377 sampel nano ekstrak akuades daun beluntas dapat menurunkan atau menangkal 50% radikal bebas DPPH. Hasil ini sejalan dengan penelitian yang menggunakan ekstrak etanol daun beluntas (Habibah dkk., 2023).

Kemampuan aktivitas antioksidan yang tinggi pada sampel nano ekstrak akuades daun beluntas kemungkinan disebabkan oleh kandungan senyawa bioaktif. Senyawa bioaktif ini meliputi fenol, tanin, dan saponin. Senyawa fenolik berfungsi sebagai antioksidan dengan cara mengikat radikal bebas, di mana gugus fenol menyumbangkan atom hidrogen melalui proses transfer elektron, sehingga mengubah fenol menjadi radikal fenoksil. Proses ini menstabilkan radikal bebas yang reaktif, mengubahnya menjadi molekul yang kurang berbahaya, dan menghentikan reaksi berantai yang merusak (Habibah dkk., 2023).