

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman daun afrika (*Vernonia amygdalina Del*) bertempat di Herbarium Jatinangor, Laboratorium taksonomi Tumbuhan Jurusan Biologi FMIPA UNPAD. Surat hasil determinasi dengan No.23/HB/04/2025 menyatakan bahwa tanaman daun afrika yang berasal dari Kelurahan Kayu Putih, Kecamatan Oebobo, Kota Kupang, Nusa Tenggara Timur (NTT) adalah benar tanaman daun afrika.

B. Hasil Ekstrak Etanol Daun Afrika (*Vernonia amygdalina Del*)

Hasil ekstraksi 200 g serbuk simplisia daun afrika (*Vernonia amygdalina Del*) dilakukan dengan cara maserasi menggunakan dengan pelarut etanol 70% sebanyak 2000 ml. 3 hari maserasi dengan pelarut 1500 ml. dan 2 hari remaserasi menggunakan sisa pelarut 500 mL. Hasil maserat kemudian diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 55° C untuk memisahkan pelarut dengan ekstrak. Setelah itu ekstrak diuapkan diatas *waterbath* hingga memperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental yang diperoleh sebesar 33,7 g dengan persen rendemen sebesar 16,85% rendemen dikategorikan baik jika nilai yang didapat lebih dari 10%. Rendemen yang dihasilkan pada ekstrak daun afrika (*Vernonia amygdalina Del*) dikatakan baik karena memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan (Farmakope Herbal, 2017). Perhitungan rendemen ekstrak daun afrika (*Vernonia amygdalina Del*) dapat dilihat pada lampiran 5.

Ekstraksi adalah proses penting untuk mengambil senyawa aktif dari bahan tumbuhan. Dalam penelitian ini, metode maserasi dipilih karena sederhana dan efektif untuk mendapatkan ekstrak. Penggunaan etanol 70% sebagai pelarut, baik karena mampu menarik berbagai jenis senyawa, baik yang larut dalam air maupun yang larut dalam lemak, termasuk metabolit sekunder penting seperti flavonoid, alkaloid, dan tanin yang diketahui ada di daun afrika. Konsentrasi 70% dipilih karena merupakan campuran air dan etanol yang optimal untuk mengekstraksi senyawa-senyawa yang memiliki polaritas beragam. Waktu maserasi selama 5 hari (3 hari maserasi dan 2 hari remaserasi) serta penggunaan pelarut sebanyak 2 Liter mampu menarik sebagian besar senyawa aktif yang terdapat dalam daun afrika. Proses penguapan dengan *rotary evaporator* pada suhu 55°C sangat efisien untuk memisahkan etanol dari ekstrak. Suhu yang relatif rendah ini penting untuk menjaga agar senyawa-senyawa aktif dalam ekstrak tidak rusak atau terdegradasi oleh panas berlebih. Setelah pelarut utama terpisah, penguapan lanjutan di atas *waterbath* memastikan pelarut yang tersisa benar-benar hilang, sehingga diperoleh ekstrak kental yang murni dan siap untuk pengujian lebih lanjut. Rendemen 16,85% menunjukkan bahwa proses ekstraksi berjalan dengan efektif yang dimana bobot ekstrak murni diperoleh dari bobot awal simplisia. Rendemen yang lebih dari 10% (Farmakope Herbal, 2017) menandakan bahwa proses ekstraksi ini berhasil menarik sejumlah besar komponen dari daun afrika.

C. Hasil Uji Identifikasi Kandungan Ekstrak Etanol Daun Afrika (*Vernonia amygdalina Del*)

1. Identifikasi senyawa metabolit sekunder

Identifikasi senyawa metabolit sekunder dari ekstrak etanol daun afrika (*Vernonia amygdalina Del*) meliputi senyawa alkaloid, flavonoid, dan tanin. Adapun hasil identifikasi yang diperoleh dapat dilihat pada tabel 3 (tiga) sebagai berikut.

Tabel 3. Hasil Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder

Metabolit sekunder	Pereaksi	Hasil
Alkaloid	Mayer	+
Flavonoid	HCL pekat + Serbuk Mg	+
Tanin	FeCl ₃	+

(Sumber: data primer, 2025)

Keterangan : (+) Positif, (-) Negatif

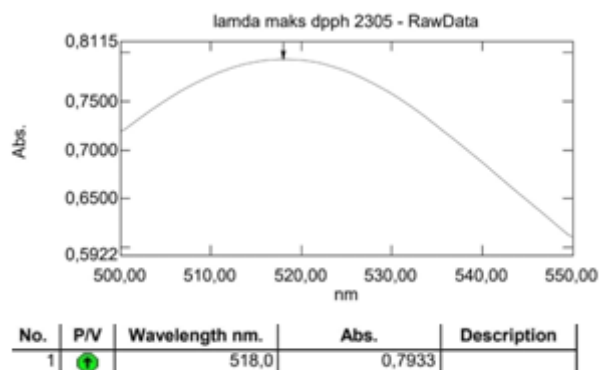
Senyawa metabolit sekunder merupakan produk sekunder yang dihasilkan dari tumbuhan melalui proses reaksi kimia yang memiliki banyak manfaat. Data pada tabel yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak daun afrika (*Vernonia amygdalina Del*) memiliki kandungan senyawa aktif sebagai antioksidan yaitu senyawa alkaloid, flavonoid dan tanin. Alkaloid berperan sebagai antioksidan dengan cara menetralkan radikal bebas. Flavonoid dan tanin adalah senyawa polifenol, yang dimana flavonoid berperan sebagai antioksidan dengan cara melindungi sel dari kerusakan DNA dengan membersihkan sel dari radikal bebas (Ramadhan, 2015). Kandungan tanin berpengaruh terhadap antioksidan karena tanin merupakan salah satu antioksidan alami tumbuhan. Semakin banyak kandungan tanin maka semakin besar

aktivitas antioksidannya karena tanin tersusun atas senyawa polifenol yang memiliki aktivitas penangkap radikal bebas (Mlangi dkk., 2012).

2. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun afrika (*Vernonia amygdalina Del*)

1) Penentuan panjang gelombang

Hasil pengukuran serapan maksimum larutan DPPH 40 µg/ml dalam alkohol 95% menggunakan spektrofotometer UV-Visible. Hasil pengukuran menunjukkan bahwa larutan DPPH dalam alkohol 95% menghasilkan serapan maksimum sebesar 0,7933 pada panjang gelombang 518 nm dan termasuk dalam kisaran panjang gelombang sinar tampak (400-800).



Gambar 3. Lamda maksimal

2) Uji antioksidan ekstrak etanol daun afrika (*Vernonia amygdalina Del*)

Hasil pengujian ekstrak etanol daun afrika (*Vernonia amygdalina Del*) menggunakan metode DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl). Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH berdasarkan hilangnya warna ungu akibat tereduksinya DPPH oleh antioksidan.

Kemampuan antioksidan ekstrak etanol daun afrika (*Vernonia amygdalina Del*) dapat dilihat dari berkurangnya intensitas warna ungu dari larutan DPPH saat direaksikan. Hal ini menunjukkan bahwa terjadi reaksi antara molekul DPPH dengan atom hidrogen yang dilepaskan oleh molekul senyawa sampel sehingga terbentuk senyawa 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl yang berwarna kuning. Semakin besar konsentrasi bahan uji, atau ditandai dengan warna kuning, maka hasilnya semakin kuat. Pengurangan intensitas warna ungu dari larutan DPPH secara kuantitatif dapat dihitung dari berkurangnya absorbansi larutan tersebut. Semakin besar konsentrasi larutan uji maka absorbansi yang dihasilkan semakin kecil, yang artinya kemampuan larutan uji dalam meredam radikal DPPH semakin besar.

Pada pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun afrika (*Vernonia amygdalina Del*) dilakukan orientasi atau penelitian pendahuluan dibuat dalam konsentrasi 1000 ppm dalam

seri konsentrasi 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm, 500 ppm dan mendapat hasil absorbansi yang tidak sesuai range yang ditentukan berkisar dari 0,2 sampai 0,8 atau sering disebut sebagai daerah berlakunya hukum Lambert-Beer (Suhartati, 2017). Hasil orientasi peneliti menaikkan konsentrasi menjadi 10000 ppm dalam seri konsentrasi yang sama yaitu 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm dan 500 ppm. Hasil dapat dilihat pada tabel 4 (empat) dibawah ini.

Tabel 4. Hasil Pembacaan Nilai Absorbansi Sampel Dengan Spektrofotometer UV-Vis

No.	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi		
		r1	r2	r3
1.	200	0,7231	0,3873	0,6451
2.	300	0,6951	0,3378	0,6311
3.	400	0,5929	0,2998	0,5222
4.	500	0,5360	0,2539	0,4660

(Sumber: data primer, 2025)

Dari nilai absorbansi yang diperoleh dari tiap replikasi diatas digunakan untuk mencari persen perendaman dari ekstrak etanol daun afrika dapat dilihat dari tabel 5 (lima) dibawah ini.

Tabel 5. Hasil Pengujian Aktivitas Perendaman Ekstrak Etanol Daun Afrika (*Vernonia amygdalina Del*) Terhadap DPPH

No.	Konsentrasi (ppm)	Persen perendaman (%)			Rata-rata persen (%) perendaman	Persamaan regresi linear
		r1	r2	r3		
1.	200	14,1721	34,8747	16,4919	21,8462	$y = 0,078x + 4,915$ $r^2 = 0,978$ $r(m)^2 = 0,978$
2.	300	17,4955	43,1982	18,3042	26,3326	
3.	400	29,6261	49,5880	32,4012	37,2051	
4.	500	36,3798	57,3062	39,6763	44,4541	

(Sumber: data primer, 2025)

Data pada tabel 5 (lima) diatas menunjukkan 4 seri konsentrasi yang diperoleh absorbansinya kemudian dihitung persen perendaman dari tiap replikasi dan selanjutnya dianalisis dengan persamaan regresi menggunakan *microsoft excel*. Konsentrasi yang ekuivalen memberikan 50% aktivitas antioksidan dengan penangkapan radikal DPPH adalah nilai *Inhibitor Concentration* (IC_{50}). Nilai IC_{50} didapatkan dengan persamaan regresi linear yang menyatakan hubungan antara konsentrasi dengan persen perendaman (perhitungan pada lampiran 8). Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin besar aktivitas antioksidan. Nilai IC_{50} daun afrika dapat dilihat pada tabel 6 (enam)

Tabel 6. Nilai IC_{50} Ekstrak Etanol Daun Afrika (*Vernonia amygdalina Del*)

Nilai IC_{50}			Rata-rata IC_{50}
Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
795	389	721	635

(Sumber : data primer, 2025)

Penentuan nilai IC_{50} dalam penelitian ini dilakukan melalui tiga kali replikasi menggunakan larutan yang berasal dari konsentrasi awal 10.000 ppm. Larutan tersebut kemudian diencerkan ke dalam beberapa seri konsentrasi uji, yaitu antara 200 hingga 500 ppm, untuk mengetahui efektivitas zat dalam menghambat aktivitas biologis target. Berdasarkan data tabel 6 (enam) diatas nilai rata-rata IC_{50} Ekstrak etanol daun afrika (*Vernonia amygdalina Del*) adalah 635 ppm atau di luar batas konsentrasi tertinggi yang diuji.. Nilai tersebut menyatakan bahwa ekstrak etanol daun afrika (*Vernonia amygdalina Del*) memiliki aktivitas antioksidan yang sangat lemah karena nilai $IC_{50} > 150\text{ppm}$ (Syiffa Octariyani Sasmita, Leni Purwanti, 2014).

Nilai IC_{50} tidak selalu harus berada di dalam rentang konsentrasi yang diuji. Penentuan IC_{50} biasanya dilakukan dengan membuat kurva

dosis-respons, yang kemudian dianalisis secara statistic. Bila data menunjukkan bahwa penghambatan 50% belum tercapai pada konsentrasi tertinggi (500 ppm), maka nilai IC_{50} yang dihasilkan dari analisis kurva bisa saja lebih tinggi dari 500 ppm, seperti yang terlihat pada replikasi 1 dan 3. Hanya pada replikasi 2, nilai IC_{50} berada dalam rentang pengujian (389 ppm). Namun karena dua replikasi lainnya menunjukkan nilai yang lebih tinggi, maka rata-rata IC_{50} menjadi 635 ppm. Ini menunjukkan bahwa pengaruh zat uji bervariasi dan sebagian besar membutuhkan konsentrasi lebih tinggi untuk mencapai efek 50% dengan konsentrasi di atas 500 ppm.

Pada Penelitian sebelumnya, hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun afrika (*Vernonia amygdalina Del*) dan vitamin c sebagai pembanding mempunyai aktivitas antioksidan terhadap DPPH, hasil rata-rata IC_{50} 37,92 ppm dan vitamin c IC_{50} 2,324 ppm, tergolong antioksidan kuat (Rispita, 2018). Penelitian yang sama terkait ekstrak fraksi n-heksan daun afrika (*Vernonia amygdalina Del*) dengan konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm mempunyai nilai rata-rata IC_{50} 371,98 ppm dan vitamin c IC_{50} 11,75, yang dimana tergolong sangat lemah (Fatimah *et al.*, 2020).

3. Hasil uji aktivitas antioksidan vitamin c

Pengujian antioksidan juga dilakukan pada vitamin c. Vitamin c berfungsi sebagai kontrol terhadap DPPH yang dibuat dalam 4 seri konsentrasi yaitu 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, dan 4 ppm. Pengujiannya menggunakan perlakuan yang sama pada ekstrak etanol.

Tabel 7. Hasil Pengujian Aktivitas Perendaman Vitamin C Terhadap DPPH

No.	Konsentrasi (ppm)	Persen perendaman (%)			Rata-rata persen (%) perendaman	Persamaan regresi linear
		r1	r2	r3		
1.	1	13,6455	8,5377	14,7923	12.32517	$y = 0,078x + 4,915$ $r^2 = 0,978$ $r(m)^2 = 0,978$
2.	2	19,7939	18,2966	19,2842	19.1249	
3.	3	31,1882	27,5140	27,2379	28.6467	
4.	4	37,6659	36,0412	36,3491	36,6854	

(Sumber: data primer, 2025)

Nilai *Inhibition Concentration* (IC₅₀) ialah konsentrasi yang ekuivalen memberikan 50% aktivitas antioksidan dengan penangkapan radikal DPPH. Semakin kecil nilai IC₅₀ maka semakin besar aktivitas antioksidan. Nilai IC₅₀ vitamin c terdapat pada tabel 7 (tujuh) serta perhitungannya pada lampiran 11.

Tabel 8. Nilai IC₅₀ Vitamin C

Nilai IC ₅₀			Rata-rata IC ₅₀
Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
7,5	6,9	10	8,13

(Sumber : data primer, 2025)

Berdasarkan data tabel 8 (delapan) diatas nilai IC₅₀ vitamin c adalah 8,13 ppm. Nilai tersebut menyatakan bahwa vitamin c memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat karena nilai IC₅₀ < 50 ppm (Syiffa Octariyani Sasmita, Leni Purwanti, 2014).