

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi Tanaman

Penelitian ini berjudul “Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Pandan (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) dengan Metode 1,1-diphenyl-2-picrylhidrazyl (DPPH)”. Sampel penelitian berupa daun pandan diperoleh dari Kelurahan Liliba, Kecamatan Oebobo, Kabupaten Kupang, Nusa Tenggara Timur (NTT). Bagian tanaman yang digunakan adalah daunnya. Sebelum digunakan sebagai bahan penelitian, sampel terlebih dahulu melalui proses determinasi untuk memastikan keaslian spesies. Determinasi dilakukan di Herbarium Jatinangor, Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Jurusan Biologi FMIPA Universitas Padjadjaran. Berdasarkan surat hasil determinasi No. 24/HB/04/2025, daun pandan yang berasal dari Kelurahan Liliba, Kecamatan Oebobo, Kabupaten Kupang, NTT, teridentifikasi sebagai *Pandanus amaryllifolius* Roxb.

B. Hasil Uji Identifikasi Kandungan Ekstrak Etanol Daun pandan

1. Identifikasi senyawa metabolit sekunder

Identifikasi senyawa metabolit sekunder dari ekstrak etanol daun pandan 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 magnesium	(+)
Tanin	FeCl ₃ 1%	(+)

(Sumber: data primer, 2025)

Keterangan: (+) Positif; (-) Negatif

Data pada tabel 3 (tiga) menunjukkan bahwa ekstrak daun pandan memiliki kandungan senyawa aktif yang bersifat sebagai antioksidan yaitu senyawa flavonoid, alkaloid dan tannin. Senyawa metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, dan tannin merupakan senyawa polifenol (Prof. Dr. Ir. Kesuma Sayuti, n.d.)

Hasil uji identifikasi senyawa alkaloid pada ekstrak etanol daun pandan menggunakan pereaksi Mayer menunjukkan hasil positif, yang ditandai dengan terbentuknya endapan putih. Endapan putih tersebut diduga merupakan kompleks antara ion kalium dari pereaksi Mayer dengan senyawa alkaloid yang terdapat dalam ekstrak. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun pandan mengandung senyawa alkaloid. Temuan ini sejalan dengan pernyataan (Rini *et al.*, 2020) bahwa terbentuknya endapan putih merupakan indikator adanya senyawa alkaloid dalam sampel uji. Kehadiran senyawa alkaloid dalam daun pandan memperkuat dugaan bahwa tanaman ini memiliki potensi sebagai sumber antioksidan alami. Alkaloid diketahui mampu berperan sebagai agen antioksidan dengan cara menangkap radikal bebas, menghambat reaksi oksidasi berantai, serta melindungi sel dari kerusakan akibat stres oksidatif (Rini *et al.*, 2020).

Uji tanin dengan pereaksi FeCl₃ 1% pada ekstrak daun pandan menunjukkan hasil positif, ditandai dengan perubahan warna menjadi coklat kehijauan. Perubahan ini menandakan adanya senyawa fenolik seperti tanin.

Tanin diketahui memiliki aktivitas antioksidan serta potensi terapeutik, seperti menghambat pertumbuhan tumor dan enzim tertentu. Kehadiran tanin mendukung peran ekstrak daun pandan sebagai sumber antioksidan alami { Widyawati *et.al* 2020}

Uji flavonoid dengan menggunakan pereaksi HCl pekat dan serbuk magnesium menunjukkan hasil yang positif ditandai dengan perubahan warna menjadi orange atau jingga. Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa fenol yang memiliki banyak gugus -OH dengan adanya perbedaan keelektronegatifan yang tinggi sehingga sifatnya polar. Golongan senyawa ini mudah terekstrak dalam pelarut etanol yang memiliki sifat polar karena adanya gugus hidroksil, sehingga dapat terbentuk ikatan hidrogen (Rini *et al.*, 2020) Flavonoid dapat bekerja sebagai antioksidan untuk melindungi stres oksidatif sel. Secara farmakologis, flavonoid diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang sangat baik. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antioksidan adalah dengan menetralkan radikal bebas, mencegah oksidasi lipid, serta melindungi struktur sel dari kerusakan akibat stres oksidatif. Dengan demikian, keberadaan flavonoid dalam ekstrak daun pandan turut berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan yang diamati, serta mendukung potensi terapeutik tanaman ini sebagai agen antioksidan alami (Zaidan, 2011)

2. Panjang gelombang maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum (λ maks) larutan DPPH dilakukan dengan mengukur absorbansi pada rentang panjang gelombang 400–800 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Tujuan dari penetapan λ maks adalah untuk memperoleh nilai absorbansi tertinggi dari suatu senyawa, sehingga analisis spektrofotometri menjadi lebih akurat dan sensitif. Pengukuran pada panjang gelombang ini memungkinkan hukum Lambert-Beer diterapkan secara optimal, karena pada titik tersebut hubungan antara konsentrasi dan

absorbansi menunjukkan linearitas yang paling baik. Selain itu, λ maks juga dapat menjadi ciri khas yang membantu identifikasi senyawa tertentu dalam campuran. Oleh karena itu, pemilihan λ maks merupakan tahapan penting dalam analisis kuantitatif maupun kualitatif menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis (Anton *et al.*, 2021). Hasil pengukuran Panjang gelombang maksimum larutan DPPH berada pada Panjang gelombang 517 nm.

3. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun pandan

Hasil pengujian Ekstrak etanol daun pandan menggunakan metode DPPH (*1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl*). Metode DPPH merupakan metode yang sederhana, mudah, dan cepat serta hanya memerlukan sedikit sampel untuk pengujian aktivitas antioksidan dari senyawa bahan alam. Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH berdasarkan hilangnya warna ungu akibat tereduksinya DPPH oleh antioksidan (Chatarina *et al.*, 2023). Intensitas warna ungu yang hilang inilah yang diukur menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada Panjang gelombang 517,00 nm. Panjang gelombang pada penelitian ini sesuai dengan jangkauan panjang gelombang maksimum untuk pengukuran dengan metode DPPH yaitu 515 nm sampai 520.

Kemampuan antioksidan ekstrak etanol daun pandan 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. Semakin besar konsentrasi larutan uji maka

absorbansi yang dihasilkan semakin kecil, yang artinya kemampuan larutan uji dalam meredam radikal DPPH semakin besar. Hasil pengujian terdapat pada tabel 4 dan perhitungannya pada lampiran 8

Tabel 4. Hasil Pengujian Aktivitas Perendaman Ekstrak Etanol Daun pandan Terhadap DPPH

No	Konsentrasi (ppm)	Persen peredaman			Rata-rata persen (%) peredaman	Persamaan regresi linear
		R1	R2	R3		
1	50	11,55	19,37	20,82	17,247	$y=0,1994$
2	100	20,77	34,5	34,36	29,877	$+ 8,873$
3	150	28,83	44,82	44,82	39,527	$r^2 =$
4	200	39,04	56,66	56,66	50,467	$0,9892$
5	250	45,31	62,31	62,31	56,803	$r(m)2 =$ $0,9892$

(sumber: data primer, 2025)

Hasil analisis pada Tabel 4 menghasilkan persamaan regresi linear $y = 0,1994x + 8,873$ dengan koefisien korelasi $r = 0,9892$. Nilai r mengindikasikan kekuatan dan arah hubungan antarvariabel, di mana $r = 0$ menunjukkan tidak ada hubungan, sedangkan $r = \pm 1$ menunjukkan hubungan sempurna.

Oleh karena itu berdasarkan nilai r pada persamaan diatas, dimana nilai r bernilai positif dapat diketahui bahwa hubungan antara dua variabel tersebut memiliki keeratan sempurna yaitu semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun pandan maka semakin besar pula persen peredamannya.

Tabel 5. Nilai IC₅₀ Ekstrak Etanol Daun pandan

Replikasi 1	Nilai IC ₅₀		Rata-rata IC ₅₀
	Replikasi 2	Replikasi 3	
322,04	166,64	166,05	218,24

(Sumber: data primer, 2025)

Berdasarkan data tabel 5 (lima) diperoleh nilai IC₅₀ ekstrak etanol daun pandan sebesar 322,04 ppm pada replikasi pertama, 166, 64 ppm pada replikasi kedua dan 166,05 ppm pada replikasi ketiga. Hasil tersebut menunjukkan adanya penurunan nilai IC₅₀ pada setiap replikasi. Penurunan ini

kemungkinan disebabkan oleh beberapa faktor, antara lain ketelitian saat pengukuran, pengaruh jenis pelarut, paparan cahaya, lama perendaman, serta proses pemipetan larutan uji setelah DPPH bereaksi dengan sampel yang dapat menurunkan kadar antioksidan (Ummah, 2024). Berdasarkan ketiga replikasi tersebut, diperoleh nilai rata-rata IC₅₀ sebesar 218,24 ppm. Nilai ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun pandan memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong sangat lemah karena IC₅₀ berada di atas 150 ppm.

Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC₅₀ kurang dari 50, kuat (50-100 ppm), sedang (100-150 ppm), dan lemah (151-200 ppm) (Ummah, 2019), hal ini berbanding terbalik dengan penelitian sebelumnya (Leksono *et al.*, 2013) yang memperoleh nilai IC₅₀ ekstrak daun pandan wangi adalah 86,861 µg/mL yang termasuk dalam kategori aktivitas antioksidan yang kuat. Beberapa faktor yang mungkin menyebabkan perbedaan hasil antara penelitian ini dan sebelumnya adalah jenis dan konsentrasi pelarut.

Pelarut sangat memengaruhi hasil ekstraksi, penelitian sebelumnya menggunakan metanol, yang lebih efektif melarutkan senyawa fenolik dibandingkan air atau pelarut yang kurang polar, waktu dan suhu ekstraksi. Ekstraksi pada suhu tinggi dapat merusak senyawa fenolik tertentu, sehingga menurunkan aktivitas antioksidan.

4. Hasil uji aktivitas antioksidan vitamin C

Pengujian antioksidan juga dilakukan pada vitamin C. Vitamin C berfungsi sebagai kontrol terhadap DPPH yang dibuat dalam 5 seri konsentrasi yaitu 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, dan 5 ppm. Pengujiannya menggunakan perlakuan yang sama pada ekstrak etanol.

Tabel 6. Hasil Pengujian Aktivitas Peredaman vitamin C Terhadap DPPH

No	Konsentrasi (ppm)	Persen peredaman (%)			Rata-rata persen (%) peredaman	Persamaan regresi linear
		r1	r2	r3		
1	1	6,27	16,61	15,82	12,9	y
2	2	42,02	28,05	34,23	34,77	=14,584x+1,5597
3	3	54,46	37,81	47,73	46,67	r ² = 0,9851
4	4	67,7	53,37	53,08	58,05	r(m) ² = 0,9851
5	5	81,57	69,3	71,67	74,18	

(Sumber: data primer, 2025)

Data pada tabel 6 (enam) di peroleh persamaan regresi linier $y = 14,584x + 1,5597$ dengan koefisien $r = 0,9851$. Dimana nilai r digunakan untuk mengetahui arah hubungan antara dua variabel. Hasil pengujian terdapat pada tabel 6(enam) diatas.

Data persen peredaman selanjutnya dianalisis menggunakan persamaan regresi linear. Nilai *Inhibition Concentration* (IC_{50}) ialah konsentrasi yang ekuivalen memberikan 50% aktivitas antioksidan dengan penangkapan radikal DPPH. Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin besar aktivitas antioksidannya.

Nilai *Inhibition Concentration* (IC_{50}) ialah konsentrasi yang ekuivalen memberikan 50% aktivitas antioksidan dengan penangkapan radikal DPPH. Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin besar aktivitas antioksidan. Nilai IC_{50} vitamin C terdapat pada tabel 6 serta perhitungannya pada lampiran 11.

Tabel 7. Nilai IC_{50} vitamin C

Replikasi 1	Nilai IC_{50}		Rata-rata IC_{50}
	Replikasi 2	Replikasi 3	
2,728	3,422	3,102	3,084

(Sumber: data primer, 2025)

Berdasarkan data pada Tabel 7, diketahui bahwa nilai IC_{50} vitamin C adalah 3,084 ppm. Nilai IC_{50} (Inhibitory Concentration 50) merupakan konsentrasi yang dibutuhkan untuk meredam 50% radikal bebas dalam sistem uji. Semakin kecil

nilai IC_{50} , maka semakin tinggi aktivitas antioksidan suatu senyawa.

Dengan nilai IC_{50} sebesar 3,084 ppm, vitamin C tergolong dalam kategori antioksidan yang sangat kuat, karena berada jauh di bawah ambang batas < 50 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa vitamin C sangat efektif dalam menangkap radikal bebas pada konsentrasi rendah (Karim *et al.*, 2015). Temuan ini sejalan dengan karakteristik asam askorbat (vitamin C), yang dikenal luas sebagai antioksidan kuat karena kemampuannya mendonorkan elektron dan menetralkan radikal bebas. Oleh karena itu, dalam penelitian ini, vitamin C digunakan sebagai pembanding atau kontrol positif dalam pengujian aktivitas antioksidan.