

BAB V

PEMBAHASAN DAN HASIL

Penelitian ini dilakukan pengumpulan sampel, sampel yang digunakan adalah daun putri malu (*Mimosa pudica* L.) yang diperoleh dari Desa Mijen, Kecamatan Mijen, Kabupaten Demak, Jawa tengah. Bahan yang telah diperoleh dilakukan determinasi tumbuhan di Herbarium Bandungense, Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati Institut Teknologi Bandung. Determinasi tumbuhan dilakukan untuk memastikan identitas dari tumbuhan yang digunakan yaitu daun putri malu (*Mimosa pudica* L.).

Pembuatan simplisia terdiri dari pengumpulan bahan sampai proses pengeringan dan penyerbukan. Bagian tumbuhan yang digunakan adalah daun. Daun dikumpulkan lalu dilakukan sortasi basah yang bertujuan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan asing lainnya dari bahan simplisia. Kemudian daun dicuci dengan air mengalir, hal ini dilakukan untuk menghilangkan tanah atau pengotor lainnya yang menempel pada daun. Setelah dicuci dan dibersihkan dilakukan proses perajangan yang bertujuan untuk mempermudah proses penyerbukan. Daun dikeringkan tidak terkena sinar matahari langsung sampai daun kering. Hal ini bertujuan untuk menghindari senyawa yang terkandung pada simplisia rusak dan tidak ditumbuhi mikroorganisme, sehingga bisa disimpan dalam waktu lebih lama. Selanjutnya dilakukan sortasi kering yang bertujuan untuk memisahkan benda-benda asing dan pengotor lainnya yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering misalnya pasir atau tanah. Daun kering tersebut

dibuat serbuk dengan cara diblender yang bertujuan untuk memperbesar luas permukaan sehingga mempermudah penetrasi pelarut pada saat ekstraksi dan menghasilkan kandungan senyawa yang lebih tinggi. Serbuk simplisia disimpan dalam wadah kering, bersih, dan tertutup rapat pada suhu ruang.

Serbuk simplisia yang diperoleh kemudian dilakukan pemeriksaan karakterisasi dengan tujuan untuk mengetahui kualitas dari simplisia daun putri malu yang akan dibuat ekstrak. Pemeriksaan karakterisasi meliputi pemeriksaan makroskopik dan mikroskopik, penetapan kadar air, susut pengeringan, kadar abu total, kadar abu larut air, kadar abu tidak larut asam, kadar sari larut air, dan kadar sari larut etanol. Hasil dari pemeriksaan karakterisasi makroskopik diperoleh panjang daun putri malu 1,4 cm dan lebar 0,3 cm. Hasil pemeriksaan makroskopik dapat dilihat pada tabel V.1 dan lampiran 3.

Pemeriksaan karakterisasi selanjutnya yaitu penetapan kadar air yang bertujuan untuk menentukan kualitas simpan simplisia dalam jangka waktu yang lama. Simplisia merupakan bahan alami yang sebagian besar mengandung air. Air merupakan sumber kehidupan bagi mikroorganisme, sehingga kadar air harus dibatasi agar simplisia tidak ditumbuhi mikroorganisme. Semakin besar kadar air maka semakin singkat waktu simpan simplisia karena simplisia mudah rusak oleh mikroorganisme. Hasil penetapan kadar air sebesar 9%. Hasil susut pengeringan yang diperoleh dari serbuk simplisia daun putri malu yaitu 10%. Pengujian susut pengeringan menunjukkan jumlah atau kadar senyawa yang bersifat mudah menguap dan hilang selama proses pengeringan.

Penetapan kadar abu total bertujuan untuk mengetahui cemaran fisiologis yaitu logam-logam berat yang berasal dari polusi udara dan pencemaran tanah. Penetapan kadar abu total dilakukan pada suhu 500°C. Pemanasan bahan pada suhu tinggi akan mengakibatkan senyawa organik dan turunannya menguap, sehingga yang tertinggal hanya unsur mineral dan anorganik. Hasil kadar abu total diperoleh 6,5%. Hasil penetapan kadar abu larut air sebesar 4%, menunjukkan kadar logam fisiologis dalam serbuk simplisia, sedangkan hasil kadar abu tidak larut asam sebesar 1,3% menunjukkan kadar logam non fisiologis dalam serbuk simplisia. Hasil penetapan kadar sari larut air dan kadar sari larut etanol dari serbuk simplisia daun putri malu sebesar 18% dan 12%. Hasil karakterisasi simplisia dapat dilihat pada tabel V.2 dan lampiran 5.

Serbuk simplisia yang diperoleh kemudian dilakukan penapisan fitokimia yang bertujuan untuk menganalisis secara kualitatif kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada daun putri malu. Hasil penapisan serbuk simplisia daun putri malu dapat dilihat pada tabel V.3 dan lampiran 6.

Pembuatan ekstrak etanol daun putri malu menggunakan metode maserasi. Metode ini dipilih karena pengerjaannya yang mudah, tidak memerlukan alat khusus, dan efektif untuk senyawa yang tidak tahan panas sehingga tidak akan merusak kandungan senyawa yang terdapat pada serbuk simplisia. Serbuk simplisia daun putri malu diekstraksi menggunakan pelarut etanol 96% selama 3 hari. Setelah 3 hari, hasil perendaman disaring kemudian filtrat diuapkan menggunakan *rotary vacuum evaporatory* hingga kental. Hasil ekstraksi 500 gram serbuk

daun putri malu diperoleh 34,81 gram ekstrak etanol, sehingga rendemennya sebesar 6,9%.

Selanjutnya dilakukan proses fraksinasi dengan metode ekstraksi cair-cair menggunakan corong pisah. Ekstrak etanol kental yang diperoleh difraksinasi agar diperoleh fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air. Ekstrak etanol kental sebanyak 10 gram dilarutkan dengan etanol 96% sebagai pelarut utama terlebih dahulu kemudian ditambahkan air panas 100 mL untuk melarutkan ekstrak dan menghilangkan klorofil yang terdapat dalam ekstrak etanol. Setelah itu, disaring dan diambil filtratnya untuk selanjutnya dilakukan fraksinasi dengan *n*-heksana sebanyak 3 kali sehingga diperoleh fraksi *n*-heksana sebanyak 0,54 gram dengan rendemen 5,4%.

Lapisan berair sisa partisi dengan *n*-heksana kemudian dipartisi dengan etil asetat 100 mL sebanyak 3 kali sehingga diperoleh fraksi etil asetat 4,18 gram dengan rendemen 41,8%. Bagian bebas *n*-heksana dan etil asetat disebut fraksi air yang diperoleh sebanyak 4,90 gram dengan rendemen 49,2%.

Pengujian aktivitas antioksidan diawali dengan pengukuran panjang gelombang maksimum DPPH 40 $\mu\text{g/mL}$ secara spektrofotometri sinar tampak. Pengukuran panjang gelombang ini bertujuan untuk mengetahui besarnya panjang gelombang yang dibutuhkan larutan DPPH untuk mencapai serapan maksimal. Hasil pengukuran panjang gelombang DPPH sebesar 516 nm dengan absorbansi sebesar 0,703. Setelah diperoleh panjang gelombang maksimum DPPH, kemudian dilakukan pengujian aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun putri malu dengan konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$ dan

vitamin C sebagai pembanding dengan konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$. Tujuan penggunaan vitamin C sebagai pembanding untuk mengetahui seberapa kuat potensi antioksidan yang dimiliki ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun putri malu. Larutan uji aktivitas antioksidan dibuat ke dalam 5 seri konsentrasi. Konsentrasi berbanding lurus dengan persen inhibisi, semakin tinggi konsentrasi larutan uji maka semakin tinggi juga persen inhibisinya. Proses peredaman radikal bebas oleh larutan uji dapat dilihat dari perubahan warna ungu pada larutan DPPH menjadi warna kuning diikuti penurunan absorbansi. Perubahan warna dari ungu menjadi kuning inilah yang dapat diukur dengan spektrofotometer sinar tampak. Pengujian absorbansi peredaman radikal bebas dilakukan pembuatan seri konsentrasi terlebih dahulu pada ekstrak dan masing-masing fraksi, kemudian ditambahkan DPPH pada setiap seri konsentrasi dan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimumnya, kemudian dihitung persen inhibisinya. Nilai IC_{50} merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi sampel uji yang dapat meredam DPPH 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} , semakin efektif sebagai antioksidan.

Penggolongan antioksidan menurut Molyneux (2004) tingkat antioksidan sangat kuat ($\text{IC}_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$), antioksidan kuat ($\text{IC}_{50} 50\text{-}100 \mu\text{g/mL}$), antioksidan sedang ($\text{IC}_{50} 100\text{-}150 \mu\text{g/mL}$), antioksidan lemah ($\text{IC}_{50} 150\text{-}200 \mu\text{g/mL}$), dan antioksidan sangat lemah ($\text{IC}_{50} >200 \mu\text{g/mL}$). Nilai IC_{50} ekstrak etanol daun putri malu sebesar $28,8814 \pm 0,1166 \mu\text{g/mL}$ termasuk ke dalam golongan antioksidan sangat kuat. Fraksi *n*-heksana memiliki nilai IC_{50} sebesar $165,3655 \pm 0,8234 \mu\text{g/mL}$ termasuk golongan antioksidan lemah. Fraksi etil asetat

memiliki nilai IC_{50} sebesar $16,6352 \pm 0,0851 \mu\text{g/mL}$ termasuk ke dalam golongan antioksidan sangat kuat, sedangkan fraksi air memiliki nilai IC_{50} sebesar $81,0788 \pm 0,9543 \mu\text{g/mL}$ dan termasuk golongan antioksidan kuat. Nilai IC_{50} vitamin C sebagai pembanding sebesar $3,9152 \pm 0,0202 \mu\text{g/mL}$. Vitamin C merupakan senyawa murni yang telah terbukti aktivitas antioksidannya. Dari hasil aktivitas antioksidan sampel ekstrak dan fraksi, yang memiliki aktivitas antioksidan terbesar adalah fraksi etil asetat dengan aktivitas antioksidan sangat kuat. Hal tersebut menunjukkan bahwa fraksi etil asetat mengandung senyawa aktif yang potensial meredam radikal bebas. Fraksi *n*-heksana memiliki aktivitas antioksidan paling rendah dibandingkan ekstrak etanol, fraksi etil asetat, dan fraksi air. Hal ini kemungkinan senyawa antioksidan yang terkandung pada fraksi *n*-heksana sangat lemah. Secara keseluruhan aktivitas peredaman radikal yang sangat kuat adalah vitamin C karena merupakan senyawa murni, sedangkan ekstrak etanol dan masing-masing fraksi bukan merupakan senyawa murni.