

Antioxidant and Antibacterial Activity of Ethanol Extract of Butterfly Leaf (*Bauhinia Purpurea* L.) with Maceration Extraction Method

Yasmeen Nazhifah Amani Surendro^{1*}, Muhammad Amin Nasution¹, Minda Sari Lubis¹, Ainil Fithri Pulungan¹

¹Program Studi Farmasi, Universitas Muslim Nusantara (UMN) Al-Washliyah, Medan, Indonesia;

Article History

Received : October 20th, 2024

Revised : November 10th, 2024

Accepted : November 24th, 2024

*Corresponding Author:

Yasmeen Nazhifah Amani

Surendro, Program Studi

Farmasi, Universitas Muslim

Nusantara (UMN) Al-

Washliyah, Medan, Indonesia;

Email:

yasmeennazhifah27@gmail.com

Abstract: The butterfly plant (*Bauhinia purpurea* L.) is a plant widely used in traditional medicine to treat various ailments. The butterfly plant's leaves have medicinal properties. The leaves of butterfly plants contain bioactive chemicals that can be employed as natural antibacterial and antioxidant agents. The purpose of this study was to evaluate the ethanol extract of butterfly leaves' antibacterial and antioxidant properties. Butterfly leaf extract was obtained using a maceration process with 96% ethanol solvent. Antioxidant activity was measured using the DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) and FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) techniques, with ascorbic acid as a comparator. The disc paper diffusion method was used to test the antibacterial activity against *Streptococcus mutans* bacteria. The DPPH method has an IC₅₀ value of 27.5484 µg/ml with a very strong category, while the FRAP method has an IC₅₀ value of 72.9311 µg/ml with a strong category. Butterfly leaf extract showed antibacterial efficacy against *Streptococcus mutans* bacteria at all doses, with maximum inhibition seen at an extract concentration of 50% (inhibition zone diameter: 16.3 mm ± 0.81). The study's findings suggest that butterfly leaf extract works well as a natural antibacterial and antioxidant.

Keywords: Antioxidant, antibacterial, *Bauhinia purpurea* L., maceration, *Streptococcus mutans*.

Pendahuluan

Salah satu negara dengan tingkat keanekaragaman hayati yang tinggi adalah Indonesia. Hutan Indonesia diperkirakan mengandung sekitar 30.000 spesies tanaman yang berbeda, 1.260 di antaranya diperkirakan memiliki manfaat terapeutik. Tanaman kupu-kupu (*Bauhinia purpurea* L.) adalah salah satunya. Tanaman kupu-kupu memiliki sejumlah zat bioaktif. Alkaloid, flavonoid, fenolik, saponin, karbohidrat, polifenol, protein, asam amino, dan fenolik ditemukan sebagai produk alami dalam ekstrak daun dan bunga dari tanaman kupu-kupu, menurut temuan penelitian oleh Htay *et al.*, (2023). Oleh karena itu, karena daun kupu-kupu mengandung komponen flavonoid, mereka dapat digunakan sebagai antioksidan (Htay *et al.*, 2023).

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat mencegah terbentuknya radikal bebas. Ketika radikal bebas ini bereaksi dengan unsur pengoksidasi di lingkungan, seperti polusi, radikal bebas dapat menimbulkan stres oksidatif, yang dapat merusak sel-sel tubuh dan pada akhirnya mempercepat penuaan dan perkembangan penyakit kronis. Molekul radikal bebas dapat dinetralkan oleh antioksidan, mencegah kerusakan pada organisme (Isnindar, 2021). Kunci untuk menghindari stres oksidatif dan perkembangan penyakit kronis adalah menjaga keseimbangan antara antioksidan dan radikal bebas. Oleh karena itu, antioksidan memainkan peran penting dalam tubuh (Widyaningsih *et al.*, 2017).

Teknik DPPH dan FRAP merupakan dua cara untuk memeriksa aktivitas antioksidan. Sementara metode FRAP menilai daya reduksi

antioksidan dengan mengubah ion ferri (Fe^{3+}) menjadi ion ferro (Fe^{2+}), metode DPPH memeriksa kemampuan sampel untuk melemahkan (menghambat) radikal bebas (Aisyah *et al.*, 2022). Nilai IC50 untuk ekstrak eter petroleum *Bauhinia purpurea* adalah 1050 $\mu\text{g/ml}$, 230 $\mu\text{g/ml}$ untuk ekstrak etil asetat, dan 420 $\mu\text{g/ml}$ untuk ekstrak metanol (Shajiselvin *et al.*, 2011). Hasil ini menunjukkan bahwa, tidak seperti dua ekstrak lainnya, ekstrak etil asetat *Bauhinia purpurea* memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi.

Senyawa flavonoid seperti *astragalin* dan *guercetin* pada bunga *Bauhinia purpurea* juga memiliki manfaat sebagai antibakteri (Karyati dan Adhi, 2018). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Aye (2021), uji aktivitas antimikroba dari ekstrak etanol dan ekstrak air daun *Bauhinia purpurea* L. dilakukan dengan metode difusi sumur agar pada *B. subtilis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. pumilus*, *C. albicans* dan *E. coli*, dimana zona hambat diambil sebagai ukuran aktivitas antimikroba. *B. subtilis* menunjukkan kerentanan tertinggi terhadap kedua ekstrak dengan zona bening penghambatan berkisar antara 18-20 mm sedangkan mikroorganisme yang diuji lainnya sensitif pada zona hambat berkisar antara 14-18 mm.

Bahan dan Metode

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian berlangsung di Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah.

Alat dan bahan

Alat penelitian meliputi autoklaf, inkubator, jangka sorong, labu ukur (Pyrex), laminar air flow cabinet (BIOBASE), microwave oven (Samsung), mikropipet (Microлит RBO), neraca analitik (Ohaus PA214), rotary evaporator, spektrofotometer UV-Visible (Hitachi U-2900). Bahan penelitian meliputi daun kupu-kupu (*Bauhinia purpurea* L.), bakteri *Streptococcus mutans*, aquadest, asam oksalat 1%, asam trikloroasetat (TCA) 10%, asam askorbat (vitamin C), besi (III) klorida (FeCl_3), dapar fosfat (0,2 M pH 6,6), etanol 96%, kalium

ferrisianida, metanol, media Mueller Hinton Agar (MHA), media Nutrient Agar, serbuk DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), antibiotic kloramfenikol.

Jenis penelitian

Jenis penelitian adalah penelitian eksperimental. Tahap penelitian dimulai dengan pengumpulan bahan, karakteristik simplisia, pembuatan ekstrak etanol daun kupu-kupu menggunakan metode ekstraksi maserasi dan *Microwave-Assisted Extraction*, skrining fitokimia, uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan kupu-kupu dengan metode DPPH dan FRAP dilanjutkan dengan pengukuran menggunakan spektrofotometer UV-Vis, dan uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kupu-kupu terhadap bakteri *Streptococcus mutans* metode difusi kertas cakram.

Persiapan sampel

Daun kupu-kupu diperoleh dari Jl. Delima, Kecamatan Tampan, Kota Pekanbaru, Riau. Daun kupu-kupu yang telah diperoleh disortasi basah dan dicuci untuk membersihkan kotoran yang melekat pada sampel, menimbang berat basahnya 5 kg, lalu mengeringkan dengan lemari pengering. Simplisia dipisahkan dari kotoran dengan cara melakukan sortasi kering, kemudian simplisia diserbukkan dan diayak. Menyimpan serbuk simplisia daun kupu-kupu pada wadah yang tertutup rapat.

Ekstraksi daun *Bauhinia purpurea* L.

Proses maserasi menggunakan pelarut etanol 96% pada daun kupu-kupu yang diekstraksi. Menimbang 500 gram bubuk daun kupu-kupu sebelum ditambahkan ke tangki maserasi untuk ekstraksi. Menuangkan bubuk daun kupu-kupu secara perlahan 75 bagian pelarut etanol 96% 3750 ml dalam bejana maserasi hingga semua sampel terendam. Tutup rapat toples dan simpan dari cahaya selama lima hari. Peras untuk mengekstrak maserat (maserat I), aduk sering. Setelah dibilas dengan 25 bagian etanol 96% hingga volume 1250 ml, residu yang dihasilkan ditempatkan dalam bejana tertutup (maserat I dan maserat II) dan dimaserasi selama dua hari. Selain itu, ekstrak cair diperoleh dengan menyaring ke dalam wadah baru. Rotary evaporator digunakan untuk menguapkan hasil

ekstraksi di bawah titik didih hingga ekstrak kental dihasilkan (Ditjen POM, 1979).

Penapisan Pitokimia

Skrining fitokimia untuk mengetahui adanya kandungan golongan senyawa kimia tertentu pada sampel daun kupu-kupu. Skrining fitokimia dengan melakukan pemeriksaan golongan alkaloid, flavonoid, saponin, glikosida, steroid/triterpenoid, dan tanin.

Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH)

Konsentrasi ekstrak sebesar 1000 µg/ml diperoleh dengan cara sampel ekstrak etanol daun kupu-kupu ditimbang hingga maksimum 25 mg, dicampur dengan metanol dalam labu ukur 25 ml hingga tanda batas, kemudian dihomogenkan. Pembuatan pengenceran variasi konsentrasi, 0,05, 0,1, 0,15, 0,2, dan 0,25 mililiter masing-masing ekstrak dipipet ke dalam labu ukur 5 mililiter. Kemudian ditambahkan satu mililiter DPPH pada konsentrasi 40 µg/ml, dan labu diisi dengan metanol hingga mencapai tanda batas. Larutan sampel yang diperoleh memiliki konsentrasi 10, 20, 30, 40, dan 50 µg/ml. Asam askorbat digunakan sebagai pembanding untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan ekstrak daun kupu-kupu. Metanol ditambahkan hingga tanda batas setelah 10 mg bubuk asam askorbat ditimbang dan ditempatkan dalam labu ukur 10 ml.

Larutan stok yang mengandung 1000 µg/ml asam askorbat diproduksi. Setelah dipipet 0,005, 0,01, 0,015, 0,02, dan 0,025 mililiter masing-masing larutan ke dalam labu ukur 5 mililiter, ditambahkan 1 mililiter DPPH pada konsentrasi 40 µg/ml, kemudian ditambahkan metanol hingga batas tercapai. Larutan dengan konsentrasi 1, 2, 3, 4, dan 5 µg/ml diproduksi. Ukur absorbansi pada panjang gelombang maksimum 517 nm setelah menghomogenkan larutan dan menginkubasinya selama 30 menit dalam lingkungan gelap (Suryani et al., 2023). Persamaan 1 untuk menghitung persentase (%) penurunan penyerapan DPPH, jumlah penghambatan penyerapan radikal DPPH digunakan untuk memperkirakan aktivitas antioksidan sampel.

$$\% \text{ perendaman} = \frac{(A_{\text{blanko}} - A_{\text{sampel}})}{A_{\text{Blanko}}} \times 100\% \quad (1)$$

Keterangan:

Keterangan:

A_{blanko} = Absorbansi tidak mengandung sampel

A_{sampel} = Absorbansi sampel

Membuat persamaan regresi linier mengacu pada persamaan 2, dibuat kurva konsentrasi campuran larutan dan reagen (µg/ml) terhadap persentase pengurangan.

$$y = bx + a \quad (2)$$

Keterangan: y = % peredaman antioksidan (50)

x = konsentrasi

a = *slope* (kemiringan)

b = *intercept* (perpotongan garis di sumbu y)

Mengacu pada persamaan 2 digunakan menghitung nilai IC_{50} untuk menentukan berapa konsentrasi sampel yang dapat meredam 50% reagen pada metode DPPH.

Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)

10 mg sampel ekstrak etanol daun kupu-kupu ditimbang, dilarutkan dalam sepuluh mililiter metanol hingga tanda batas, kemudian dihomogenkan. Larutkan konsentrasi ekstrak sampel uji 1000 µg/ml. Dipipet 0,3, 0,35, 0,4, 0,45, dan 0,5 ml masing-masing ekstrak hingga tanda batas dan melarutkannya dengan metanol dalam labu ukur 5 ml, dibuat larutan sampel dengan variasi konsentrasi 60, 70, 80, 90, dan 100 µg/ml. Pipet 1 ml masing-masing larutan ke dalam tabung reaksi, kemudian tambahkan 1 ml $K_3Fe(CN)_6$ dan 0,2 M dapar fosfat pH 6,6. Setelah menghomogenkan campuran, inkubasi selama 20 menit pada suhu 50°C. 1 ml asam trikloroasetat (TCA) 10% dan 1 ml $FeCl_3$ 0,1% ditambahkan setelah inkubasi.

Campuran yang telah dibiarkan selama 10 menit, ukur absorbansi pada panjang gelombang hingga 718 nm. Sepuluh miligram bubuk asam askorbat ditimbang, ditempatkan dalam labu ukur 100 mililiter, dan larutan asam oksalat 0,1% ditambahkan hingga tanda batas. Larutan stok yang mengandung 100 µg/ml asam askorbat diproduksi. Larutan dipipet masing-masing 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; dan 4,0 ml, dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml, ditambahkan dengan larutan

asam oksalat 0,1% hingga tanda batas, kemudian dihomogenkan.

1 ml masing-masing larutan dipipet ke dalam tabung reaksi, bersama dengan 1 ml $K_3Fe(CN)_6$ dan satu mililiter dapar fosfat 0,2 M pH 6,6. Setelah campuran dihomogenkan, inkubasi pada suhu 50°C selama 20 menit. 1 ml asam trikloroasetat (TCA) 10% dan 1 ml $FeCl_3$ 0,1% ditambahkan setelah inkubasi. Setelah larutan didiamkan selama 10 menit, absorbansi pada panjang gelombang terpanjang diukur (Nugraha *et al.*, 2022). Persamaan 3 digunakan untuk menghitung persentase (%) Daya Reduksi Penyerapan FRAP, yang menunjukkan aktivitas antioksidan sampel berdasarkan tingkat penghambatan penyerapan radikal FRAP.

$$\% \text{ Reduction Power} = \frac{(A_{\text{sampel}} - A_{\text{blanko}})}{A_{\text{sampel}}} \times 100\% \quad (3)$$

Keterangan:

A_{blanko} = Absorbansi tidak mengandung sampel

A_{sampel} = Absorbansi sampel

Dibuat kurva konsentrasi campuran larutan dan reagen ($\mu\text{g/ml}$) terhadap % peredaman dan % *Reduction Power* untuk mendapatkan persamaan regresi linear, yaitu:

$$y = bx + a$$

Keterangan:

y = % *Reduction Power* antioksidan (50)

x = konsentrasi

a = *slope* (kemiringan)

b = *intercept* (perpotongan garis di sumbu y)

Menghitung nilai IC_{50} persamaan tersebut untuk menentukan berapa konsentrasi sampel yang dapat mereduksi 50% reagen pada metode FRAP.

Uji aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*

Metode ekstraksi maserasi menggunakan metode difusi kertas cakram menggunakan media *Mueller Hinton Agar* (MHA). Media MHA cair sebanyak 15 ml cair dituang dalam cawan petri, dan ditunggu hingga memadat. Suspensi bakteri *Streptococcus mutans* diambil dengan kapas lidi steril (*cotton swab*), lalu digoreskan merata pada seluruh permukaan media MHA. Selama kurang lebih 15 menit,

rendam kertas cakram dalam konsentrasi ekstrak daun kupu-kupu 10%, 20%, 30%, 40%, dan 50%, serta kontrol positif dan negatif. Kertas cakram kemudian diletakkan pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA) menggunakan pinset steril dan diinkubasi selama satu periode 24 jam pada suhu 37°C. Tiga replikasi dilakukan menggunakan kedua teknik ekstraksi. Selanjutnya, gunakan jangka sorong untuk mengukur zona inhibisi yang terbentuk di sekitar kertas cakram. Zona inhibisi (bening) yang terbentuk di sekitar cakram digunakan untuk menghitung nilai MIC. Kapasitas ekstrak daun kupu-kupu untuk menghambat bakteri meningkat seiring dengan ukuran zona inhibisinya (Sambodo *et al.*, 2022).

Hasil dan Pembahasan

Hasil preparasi sampel daun *Bauhinia purpurea* L.

Daun kupu-kupu (Gambar 1.a.) yang akan diekstraksi, dilakukan pengeringan (Gambar 1.b.) untuk menurunkan kadar air pada daun segar, memperpanjang masa simpan kandungan aktifnya, dan mencegah perubahan aktivitas biologis. Pencampuran dan penyaringan menghasilkan bubuk daun kupu-kupu yang halus (Gambar 1.c). Prosedur ekstraksi bahan aktif dari daun kupu-kupu akan lebih mudah jika berbentuk bubuk. Luas permukaan yang lebih besar dan kontak yang lebih besar antara pelarut dan simpleks dihasilkan dari ukuran partikel yang lebih kecil, yang mempercepat kemampuan pelarut untuk mengekstraksi simpleks.



Gambar 1. Daun Kupu Kupu Segar



Gambar 2. Simplisia Daun Kupu-Kupu



Gambar 3. Serbuk Simplisia Daun Kupu-Kupu

Hasil ekstraksi sampel daun *Bauhinia purpurea* L.

Menggunakan pelarut etanol 96% dan proses maserasi, daun kupu-kupu diekstraksi. Untuk mengekstrak bahan aktif dari bubuk daun kupu-kupu, proses maserasi melibatkan perendaman bubuk dalam pelarut (penari). Bahan aktif ditemukan di sitoplasma, yang akan dimasuki cairan menari melalui dinding sel. Bahan aktif akan muncul dari sel yang terlarut dalam cairan menari sebagai akibat dari perbedaan konsentrasi (Sutrisna, 2016). Etanol 96% digunakan sebagai pelarut. Etanol 96% dipilih karena rendemennya yang tinggi. Alasannya adalah bahwa etanol 96% tidak beracun, aman, dan sangat polar, yang memungkinkannya mengekstrak lebih banyak bahan daripada jenis pelarut organik lainnya. Ekstrak terkonsentrasi dihasilkan karena pelarut etanol 96% dapat memasuki dinding sel sampel lebih mudah daripada pelarut etanol dengan konsentrasi yang lebih rendah (Wendersteyt *et al.*, 2021).

Tabel 1. Hasil Ekstraksi Daun Kupu-Kupu dengan Metode Ekstraksi Maserai

Sampel	Bobot simplisia	Bobot ekstrak	Kadar air	Rendemen
Daun Kupu-Kupu	500 g	95,6 g	3,33%	19,12%

Hasilnya berupa ekstrak kental berwarna hijau tua dari daun kupu-kupu dengan aroma yang khas. Setelah serbuk simplisia dimaserasi sebanyak 500 gram, diperoleh ekstrak kental dengan rendemen ekstrak daun kupu-kupu sebesar 19,12% dengan berat 95,6 gram. Teknik ekstraksi, pelarut, dan lama ekstraksi pelarut semuanya mempengaruhi nilai rendemen. Kadar air sampel daun kupu-kupu yang ditentukan melalui uji kadar air adalah 3,33%. Mengenai standarisasi kadar air simplisia, secara umum telah memenuhi kriteria, yaitu < 10%. Tujuan penetapan kadar air suatu zat (simplisia) adalah untuk menetapkan batas atau rentang minimal; semakin tinggi kadar air, semakin mudah jamur dan fungi tumbuh, yang dapat menurunkan aktivitas biologis simplisia selama penyimpanan (Ditjen POM, 2000).

Hasil skrining fitokimia sampel daun *Bauhinia purpurea* L.

Skrining fitokimia untuk mengetahui adanya kandungan golongan senyawa kimia tertentu. Alkaloid, flavonoid, saponin, glikosida, steroid/triterpenoid, dan tanin semuanya diperiksa selama penyaringan fitokimia. Tabel 2 menampilkan temuan penyaringan fitokimia bubuk simplisia dan ekstrak daun kupu-kupu.

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia Serbuk Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Kupu-Kupu

Skrining fitokimia	Hasil pada serbuk simplisia	Hasil pada ekstrak
Alkaloid	+	+
Flavonoid	+	+
Saponin	+	+
Glikosida	+	+
Steroid/Triterpenoid	+	+
Tanin	+	+

Keterangan:

(+) positif: mengandung senyawa metabolit sekunder
 (-) negatif: tidak mengandung senyawa metabolit sekunder

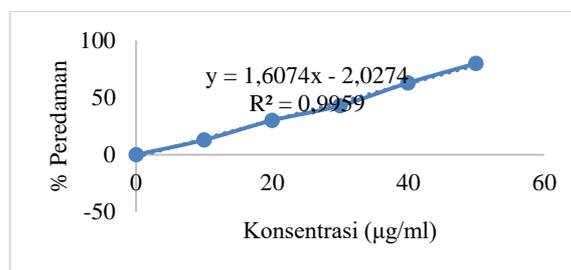
Hasil pada Tabel 2 menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan simplisia bubuk daun kupu-kupu yang dibuat dengan metode maserasi mengandung komponen metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, saponin, glikosida, steroid/triterpenoid, dan tanin. Hal ini sesuai Aye (2021), menemukan komponen metabolit sekunder dalam ekstrak etanol daun kupu-kupu, termasuk alkaloid, flavonoid, saponin, glikosida, steroid, triterpenoid, dan tanin. Temuan ini menunjukkan bahwa keberadaan bahan kimia dengan potensi antioksidan, khususnya flavonoid, dalam ekstrak daun kupu-kupu dapat menjadikannya antioksidan yang efektif. Senyawa bioaktif fenolik seperti flavonoid dan tanin dalam jumlah yang tinggi mampu menangkap radikal bebas seperti DPPH yang berpotensi sebagai antioksidan (Aye, 2021).

Hasil Analisis Aktivitas Antioksidan menggunakan metode 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)

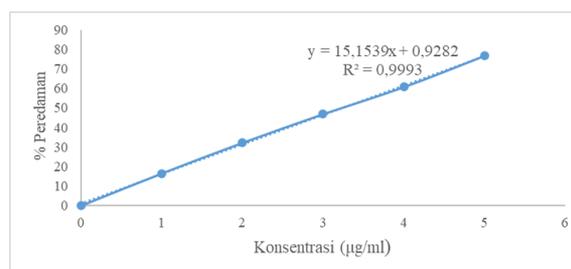
Spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang serapan maksimum 516 nm digunakan untuk menilai absorbansi metode DPPH, yang digunakan untuk menganalisis aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun kupu-kupu terhadap radikal bebas. DPPH akan menurun dan berubah menjadi kuning setelah bereaksi dengan zat yang mungkin memiliki sifat antioksidan. Penurunan intensitas warna pada DPPH disebabkan oleh reduksi ikatan rangkap terkonjugasi (Aisyah *et al.*, 2022). Sebagai perbandingan, digunakan asam askorbat dengan konsentrasi bervariasi dari 1 hingga 5 µg/ml. Setelah maserasi dengan variasi konsentrasi 10, 20, 30, 40, dan 50 µg/ml, aktivitas antioksidan sampel uji ekstrak etanol daun kupu-kupu diukur menggunakan metode DPPH dengan spektrofotometer UV-Vis hingga tiga kali pada panjang gelombang serapan maksimum 516 nm, dengan waktu stabilitas ditetapkan pada menit kesepuluh.

Setelah dihitung regresi linier, nilai absorbansi diplot dalam grafik yang menampilkan persentase pepadaman radikal bebas. Hal ini menghasilkan persamaan $y = ax + b$, di mana sumbu x menyatakan konsentrasi sampel (µg/ml) dan sumbu y menyatakan persentase pepadaman (%). Gambar 4 menampilkan grafik hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun telang yang

diperoleh melalui maserasi, sedangkan Gambar 5 menampilkan hasil uji aktivitas antioksidan asam askorbat sebagai referensi.



Gambar 4. Grafik Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Maserasi Daun Kupu-Kupu dengan Metode DPPH



Gambar 5. Grafik Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Perbandingan Asam Askorbat dengan Metode DPPH

Grafik pada gambar 5 diperoleh persamaan regresi ekstrak maserasi daun kupu-kupu yaitu $y = 1,6074x - 2,0274$ dengan $R^2 = 0,9959$ dan nilai $r = 0,9979$; persamaan regresi dari perbandingan asam askorbat yaitu persamaan regresi $y = 15,1539x + 0,9282$ dengan $R^2 = 0,9993$ dan nilai $r = 0,9996$. Hasil perbandingan antara asam askorbat dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun kupu-kupu dengan maserasi menunjukkan bahwa proporsi penghambatan meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi. Hal ini disebabkan oleh fakta bahwa kandungan metabolit ekstrak meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi. Komponen metabolit ekstrak memberikan atom hidrogen pada radikal bebas DPPH, sehingga menciptakan ikatan yang lebih kuat (Aisyah *et al.*, 2022).

Nilai Inhibitor Concentration (IC50) merupakan statistik yang menunjukkan ada atau tidaknya aktivitas antioksidan. Nilai IC50 pada teknik DPPH menunjukkan konsentrasi senyawa antioksidan yang mampu menurunkan konsentrasi awal DPPH hingga 50%. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas penangkapan radikal bebas diukur menggunakan teknik DPPH. Setelah nilai y disubstitusikan = 50, nilai

x menghasilkan nilai IC₅₀. Semakin kuat aktivitas antioksidan, maka nilai IC₅₀ akan semakin rendah (Suryani *et al.*, 2023). Tabel 3 menampilkan hasil perbandingan asam askorbat dan nilai IC₅₀ yang diperoleh dari larutan uji sampel ekstrak etanol daun kupu-kupu yang dibuat dengan cara maserasi.

Tabel 3. Hasil Nilai IC₅₀ Ekstrak Etanol Daun Kupu-Kupu dan Pembanding Asam Askorbat dengan Metode DPPH

Larutan sampel	Konsentrasi	% Peredaman	Nilai IC ₅₀ (µg/ml)	Kategori
Ekstrak etanol Daun Kupu-Kupu	0	0,00	32,3674	Sangat Kuat
	10	13,0059		
	20	30,0389		
	30	43,0028		
	40	62,9166		
	50	79,9810		
Pembanding asam askorbat	0	0,00	3,2383	Sangat Kuat
	1	16,5268		
	2	32,1772		
	3	46,8412		
	4	60,6792		
	5	76,6531		

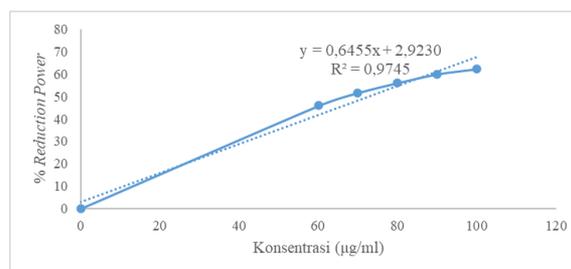
Apabila nilai IC₅₀ suatu senyawa kurang dari 50 µg/ml, kuat (50-100 µg/ml), sedang (100-150 µg/ml), atau lemah (151-200 µg/ml), maka senyawa tersebut dianggap sebagai antioksidan yang sangat kuat (Aisyah *et al.*, 2022). Berdasarkan Tabel 3, ekstrak etanol daun kupu-kupu yang diperoleh dengan cara maserasi memiliki nilai IC₅₀ sebesar 32,3674 µg/ml. Ekstrak etanol daun kupu-kupu menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat tinggi, dibuktikan dengan nilai IC₅₀-nya yang kurang dari 50 µg/ml. Sementara itu, pembanding asam askorbat memiliki aktivitas antioksidan yang sangat signifikan, dengan IC₅₀ sebesar 3,2383 µg/ml. Karena kemampuan biologisnya yang kuat dalam tubuh untuk melawan radikal bebas, maka asam askorbat dipilih sebagai pembanding.

Hasil Analisis Aktivitas Antioksidan menggunakan metode Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)

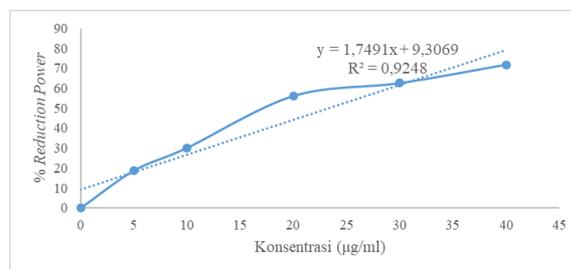
Metode FRAP untuk absorbansi spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang serapan maksimum 718 nm, digunakan untuk menganalisis aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun kupu-kupu terhadap radikal bebas. TCA digunakan untuk mengendapkan kompleks kalium ferrosianida. Penambahan FeCl₃ dimaksudkan untuk membuat larutan hijau kebiruan menjadi lebih rumit. Antioksidan dapat berupa molekul dengan

daya reduksi karena dapat menstabilkan radikal dengan memberinya elektron atau atom hidrogen, sehingga meningkatkan stabilitasnya. Daya reduksi merupakan salah satu cara untuk menilai potensi senyawa antioksidan. Dalam hal ini, daya reduksi ditentukan oleh kapasitas antioksidan untuk mengubah Fe³⁺ menjadi Fe²⁺ (Kurniasari *et al.*, 2022).

Asam askorbat digunakan sebagai pembanding pada konsentrasi 5, 10, 20, 30, dan 40 µg/ml. Aktivitas antioksidan sampel uji ekstrak etanol daun kupu-kupu yang diperoleh dengan maserasi dengan variasi konsentrasi 60, 70, 80, 90, dan 100 µg/ml diukur dengan metode FRAP menggunakan spektrofotometer UV-Vis sebanyak tiga kali pada panjang gelombang serapan maksimum 718 nm dan waktu stabilitas ditetapkan pada waktu operasi (*Operating Time*) yaitu pada menit kedelapan. Setelah dilakukan perhitungan regresi linier, nilai absorbansi diplot dalam bentuk grafik yang menampilkan persentase Daya Reduksi radikal bebas. Sehingga diperoleh persamaan $y = ax + b$, dimana sumbu x menyatakan konsentrasi sampel (µg/ml) dan sumbu y menyatakan persentase Daya Reduksi (%). Gambar 6 menampilkan hasil uji aktivitas antioksidan untuk ekstrak etanol daun kacang kupu-kupu yang diperoleh melalui maserasi, sedangkan Gambar 7 menampilkan hasil uji aktivitas antioksidan untuk asam askorbat sebagai referensi.



Gambar 6. Grafik Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Maserasi Daun Kupu-Kupu dengan Metode FRAP



Gambar 7. Grafik Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

Pembanding Asam Askorbat dengan Metode FRAP

Grafik pada gambar 5 diperoleh persamaan regresi dari ekstrak maserasi $y = 0,6455x + 2,9230$ dengan $R^2 = 0,9745$ dan nilai $r = 0,9871$; persamaan regresi dari pembanding asam askorbat yaitu persamaan regresi $y = 1,7491x + 9,3069$ dengan $R^2 = 0,9248$ dan nilai $r = 0,9616$. Nilai IC_{50} untuk menentukan berapa konsentrasi sampel yang mereduksi 50% reagen pada metode FRAP. Parameter untuk menunjukkan adanya aktivitas antioksidan dengan melihat nilai *Inhibitor Concentration* (IC_{50}). Nilai IC_{50} pada metode FRAP merupakan parameter konsentrasi efektif senyawa antioksidan untuk mereduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} dalam FRAP sebesar 50%. Setelah mensubstitusi nilai $y = 50$, nilai x menghasilkan nilai IC_{50} . Aktivitas antioksidan meningkat seiring dengan penurunan nilai IC_{50} . Tabel 4 menampilkan hasil persamaan regresi serta nilai IC_{50} yang diperoleh dari larutan uji sampel ekstrak etanol daun kupu-kupu yang dihasilkan melalui maserasi dan pembanding asam askorbat.

Tabel 4. Hasil Nilai IC_{50} Ekstrak Etanol Daun Kupu-Kupu dan Pembanding Asam Askorbat dengan Metode FRAP

Larutan sampel	Konsentrasi	% Reduction Power	Nilai IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	Kategori
Ekstrak etanol Daun Kupu-Kupu	0	0,00	72,9311	Kuat
	60	45,8369		
	70	51,6295		
	80	56,0508		
	90	59,9716		
	100	62,2489		
Pembanding asam askorbat	0	0,00	23,2652	Sangat Kuat
	5	18,7725		
	10	30,1964		
	20	56,1403		
	30	62,5831		
	40	71,8045		

Suatu zat tergolong antioksidan sangat kuat apabila nilai IC_{50} -nya kurang dari 50 $\mu\text{g/ml}$, kuat (50-100 $\mu\text{g/ml}$), sedang (100-150 $\mu\text{g/ml}$), atau lemah (151-200 $\mu\text{g/ml}$) (Aisyah *et al.*, 2022). Tabel 4 menunjukkan bahwa pembanding asam askorbat memiliki aktivitas antioksidan dengan IC_{50} sebesar 23,2652 $\mu\text{g/ml}$, sedangkan ekstrak etanol daun kupu-kupu yang diperoleh melalui maserasi memiliki nilai IC_{50} sebesar 72,9311 $\mu\text{g/ml}$. Asam askorbat secara umum memiliki kapasitas reduksi yang sedikit lebih kuat terhadap Fe^{3+} daripada ekstrak etanol daun kupu-kupu berdasarkan perbandingan temuan uji FRAP pada kedua zat tersebut. Fakta bahwa ekstrak etanol daun kupu-kupu memiliki nilai

IC_{50} antara 50 dan 100 $\mu\text{g/ml}$ menunjukkan bahwa ia memiliki aksi antioksidan yang cukup besar. Pada saat yang sama, pembanding asam askorbat memiliki aktivitas antioksidan yang sangat signifikan, dengan IC_{50} sebesar 23,2652 $\mu\text{g/ml}$.

Hasil Analisis Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun kupu-kupu diperoleh dari metode ekstraksi maserasi dilakukan dengan metode difusi kertas cakram menggunakan media Mueller Hinton Agar (MHA) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Jangka sorong digunakan untuk mengukur zona inhibisi, yang juga dikenal sebagai zona bening, yang terbentuk di sekitar cakram sebagai hasil uji aktivitas antibakteri. Tabel 5 menampilkan temuan uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kupu-kupu.

Tabel 5. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kupu-Kupu

Perlakuan	Konsentrasi Larutan Uji	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-Rata \pm SD
		I	II	III	
Ekstrak etanol Daun Kupu-Kupu	50%	15,4	16,7	16,9	16,3 \pm 0,81
	40%	13,3	13,9	12,7	13,3 \pm 0,60
	30%	10,8	13,2	10,3	11,4 \pm 1,55
	20%	10,2	12,5	9,5	10,7 \pm 1,57
	10%	8,6	10,4	8,0	9,0 \pm 1,25
Kontrol Positif (Kloramfenikol)	30 $\mu\text{g/ml}$	23,34	23,15	23,78	23,42 \pm 0,32
Kontrol Negatif (DMSO)		-	-	-	-

Keterangan: I = pengulangan pertama; II = pengulangan kedua; III = pengulangan ketiga

Data pada Tabel 5, diameter zona hambat yang dihasilkan ekstrak etanol daun kupu-kupu pada berbagai dosis terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* bervariasi, demikian pula kriteria potensi penghambatan antibakterinya. Diameter zona hambat untuk konsentrasi ekstrak etanol daun kupu-kupu 10%, 20%, 30%, 40%, dan 50% berturut-turut adalah 9,0 mm, 10,7 mm, 11,4 mm, 13,3 mm, dan 16,3 mm. Berdasarkan hasil diameter zona hambat bakteri, diameter zona hambat bertambah seiring dengan bertambahnya konsentrasi ekstrak daun kupu-kupu.

Kemampuan ekstrak untuk menghentikan perkembangan bakteri bertambah seiring dengan bertambahnya konsentrasinya pada cakram kertas; semakin banyak bahan aktif (antibakteri) yang terkandung dalam cakram, semakin besar pula daya hambatnya (Mustariani, 2023).

Kontrol negatif, DMSO, tidak menghasilkan zona penghambatan karena tidak bersifat bakterisida, tetapi kontrol positif, kloramfenikol 30 µg/ml, adalah 23,42. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak hasil maserasi tergolong kuat pada konsentrasi 20-50% dan sedang pada konsentrasi 10%. Menurut David dan Stout (1971), aktivitas zona hambat antibakteri tergolong dalam empat kategori, yaitu tidak ada aktivitas antimikroba (<5 mm), sedang (5-10 mm), kuat (10-20 mm), dan sangat kuat (>20 mm).

Kesimpulan

Ekstrak etanol daun kupu-kupu (*Bauhinia purpurea* L.) bersifat antioksidan dan antibakteri. Aktivitas antioksidan diukur dengan nilai IC₅₀ sebesar 32,3674 µg/ml menggunakan metode DPPH dan 72,9311 µg/ml menggunakan metode FRAP. Ekstrak etanol daun kupu-kupu pada konsentrasi 50% menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* pada media *Mueller Hinton Agar* dengan diameter zona hambat sebesar 16,3 ± 0,81, yang menunjukkan aktivitas antibakteri terbaik. Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kupu-kupu dapat digunakan sebagai antioksidan dan antibakteri alami.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada pihak yang terlibat dalam penelitian ini. Penulis juga berterima kasih kepada Fakultas Farmasi Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah yang telah memberikan dukungan dalam penulisan jurnal ini.

Referensi

- Aisyah, I. S., Kamaruddin, I., Siburian, U. D., Wahyuni, L. E. T., Amanda, E., Agustina, M., Astuti, I. D., Rahmawati, R., & Kartikasari, M. N. D. (2022). *Gizi Kesehatan* (M. Sari & R. M. Sahara, Eds.). Global Eksekutif Teknologi.
- Aye, M. M. (2021). Screening on Some Bioactivities from The Leaf of *Bauhinia purpurea* L. (Swedaw-Ni). *Journal of the Myanmar Academy of Arts and Science*, 19(1A), 32–34.
- Chavan, U. D. (2018). *Phenolic: Antioxidants and Health Benefits*. Scientific Publishers.
- Ditjen POM. (1979). *Farmakope Indonesia Edisi III*. Departemen Kesehatan RI.
- Ditjen POM. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan Direktorat Pengawasan Obat Tradisional.
- Htay, T. M., Sann, K. K., & Haini, H. (2023). Comparative Study on Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of Aqueous Extract from Various Parts of *Bauhinia purpurea*. *Bioactivities*, 1(1), 24–29.
<https://doi.org/10.47352/bioactivities.2963-654X.183i>
- Isnindar. (2021). *Senyawa Antioksidan Daun Kesemek (Diospyros kaki Thunb) dengan Metode DPPH* (Safrinal, Ed.). CV. Azka Pustaka.
- Karyati, & Adhi, M. A. (2018). *Jenis-jenis Tumbuhan Bawah di Hutan Pendidikan Fakultas Kehutanan Universitas Mulawarman* (D. E. Bulan, Ed.). Mulawarman University Press.
- Kurniasari, Y., Khasanah, K., Yunita, V., Alawiyah, L., & Wijayanti, P. (2022). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Serbuk Bekatul Menggunakan Metode DPPH, ABTS, dan FRAP. *CERATA Jurnal Ilmu Farmasi*, 13(2), 28–30.
<https://doi.org/10.61902/cerata.v13i2.612>
- Sambodo, D. K., Marsel, F., Sambodo, H. P., & Arlesia, N. (2022). Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi Daun Jati (*Tectona grandis* L.f) Terhadap Aktivitas Antibakteri pada *Escherichia coli*. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 4(2), 160–163.
<https://doi.org/10.33759/jrki.v4i2.259>
- Shajiselvin, C. D., Somasundaran, G., & Muthu, A. K. (2011). Antioxidant Capacity of Various Extracts from Whole Plant of *Bauhinia Purpurea* (Linn) Evaluated by Three In Vitro Methods. *Pharmacologyonline*, 1(1), 223226.
- Suryani, N. P. F., Hita, I. P. G. A. P., & Septiari, I. G. A. A. (2023). Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Porang (*Amorphophallus muelleri* B.) dengan Pelarut Ekstraksi Etanol, Etil Asetat dan N-Heksana. *Journal Scientific*

- of Mandalika (JSM), 4(9), 187189.
<https://doi.org/10.36312/10.36312/vol4iss9pp179-194>
- Sutrisna, E. (2016). *Herbal Medicine: Suatu Tujuan Farmakologis*. Muhammadiyah University Press.
- Wendersteyt, N. V., Wewengkang, D. S., & Abdullah, S. S. (2021). Uji Aktivitas Antimikroba dari Ekstrak dan Fraksi *Ascidian herdmania momus* dari Perairan Pulau Bangka Likupang Terhadap Pertumbuhan Mikroba *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* dan *Candida albicans*. *Pharmacon*, 10(1), 706.
<https://doi.org/10.35799/pha.10.2021.32758>.
- Widyaningsih, T. D., Wijayanti, N., & Nugrahini, N. I. P. (2017). *Pangan Fungsional: Aspek Kesehatan, Evaluasi, dan Regulasi*. Universitas Brawijaya Press.