



UJI ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL 70% DAUN HULOTUA (*Commelina Longifolia* L) DENGAN METODE DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETRI UV-Vis

Mohamad Adam Mustapa ^{1*}, A. Mu'thi Andy Suryadi ², Andi Makkulawu ³,
Mohamad Aprianto Paneo ⁴, Mohamad Reski Manno⁵, Anwar Ibrahim ⁶

^{1,2,3,4,5,6} Jurusan Farmasi, Fakultas Olahraga Dan Kesehatan, Universitas Negeri Gorontalo,
Jl. Jenderal Sudirman No. 06 Kota Gorontalo 96128, Indonesia

* Penulis Korespondensi. Email: mad.mustapa@gmail.com

ABSTRACT

Commelina longifolia L. is a plant belonging to the Commeliaceae family. This plant contains compounds with potential antioxidant properties. Several research on plants from the same family have shown that the extract of Dayflower leaves contains phenolic and flavonoid compounds that can act as antioxidants. This research aims to identify the secondary metabolites present in Dayflower leaves and to assess the potential of Dayflower leaf extract as an antioxidant. This research employs both qualitative and quantitative analysis methods. The qualitative analysis was conducted using phytochemical screening with test tube/color tests and Thin Layer Chromatography (TLC) analysis using an eluent of chloroform: n-hexane: ethyl acetate in a ratio of 2:2:1. The quantitative analysis employed UV-Vis spectrophotometry at a wavelength of 517 nm, with Vitamin C as the comparison standard. The results indicated that the methanol extract of Dayflower (*Commelina longifolia* L.) leaves exhibited an IC₅₀ value of 41.73 µg/ml, which falls into the "very strong" category. In contrast, Vitamin C had an IC₅₀ value of 65.59 µg/ml, classified as "strong." In the meantime, statistical analysis using an independent t-test (p-value < 0.05) indicated a significant difference between the treatment groups (p-value < 0.05).

Copyright © 20xx JPNP. All rights reserved.

Keywords:

Antioxidan, *Commelina Longifolia* L, DPPH, IC₅₀

Received:

2025 -06-08

Accepted:

2025 -07-15

Online:

2025 -09-27

ABSTRAK

Commelina Longifolia L merupakan tumbuhan yang berasal dari *family* yaitu *Commeliaceae*. Dimana tanaman ini memiliki senyawa yang dapat berpotensi sebagai antioksidan. Beberapa penelitian dengan *family* yang sama menunjukkan bahwa ekstrak Daun Hulotua mengandung senyawa fenolik dan flavonoid yang dapat berperan sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang terdapat dalam daun hulotua serta mengetahui potensi ekstrak dari Daun Hulotua sebagai antioksidan. Metode penelitian ini menggunakan metode analisis kualitatif dan kuantitatif. Analisis kualitatif pada penelitian ini menggunakan metode skrining fitokimia dengan uji tabung/uji warna dan analisis Kromatografi Lapis Tipis menggunakan eluen Kloroform : n-Heksan : etil asetat dengan perbandingan (2:2:1). Analisis kuantitatif menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm dengan pembanding Vitamin C. Hasil penelitian menunjukkan nilai antioksidan dari ekstrak metanol daun Hulotua (*Commelina Longifolia* L) memiliki nilai IC₅₀ yaitu 41,73 µg/ml dan termasuk dalam kategori sangat kuat. Sedangkan pada Vitamin C memiliki nilai IC₅₀ yaitu 65,59 µg/ml dan termasuk dalam kategori kuat. Berdasarkan Analisis data statistik Uji *Independent t-test* dimana (p-value<0,05) menunjukan terdapat perbedaan rata-rata yang signifikan antara kelompok perlakuan (pvalue<0,05).

Kata Kunci:

Antioksidan, *Commelina Longifolia* L, DPPH, IC₅₀

Diterima:

08-06-2025

Disetujui:

15-07-2025

Online:

27-09-2025

1. Pendahuluan

Indonesia merupakan negara kepulauan yang memiliki berbagai macam potensi dalam bidang kesehatan salah satunya penggunaan obat tradisional menurut hasil Riset Kesehatan Dasar oleh bidang Litbang Kesehatan ditemukan bahwa prevalensi penduduk Indonesia di atas 15 tahun yang pernah menggunakan obat tradisional sebanyak 59,12%, tersebar di beberapa wilayah termasuk wilayah pedesaan serta perkotaan. Pada kelompok usia 55-64 tahun didapatkan pada prevalensi penggunaan obat tradisional sebesar 67,69% dengan persentase perempuan 61,87% lebih tinggi dibandingkan laki-laki 53,33%. Obat tradisional merupakan alternatif pengobatan yang sering digunakan karena cara pengolahan serta penggunaan yang mudah dan sederhana obat tradisional umumnya terbuat dari bahan alam [1].

Bahan alam dapat diartikan sebagai bahan-bahan yang bersumber dari alam Indonesia dikenal sebagai sumber bahan baku obat-obatan tropis yang dapat dimanfaatkan untuk mengatasi berbagai macam penyakit. (*natural resource*) seperti hasilnya di budidaya pertanian hasil perikanan darat, dan laut, hasil hutan, ataupun hasil tambang, bahan mineral. Di Indonesia istilah “bahan alam” lebih umum digunakan daripada “produk alam” atau “produk alami” sebagai Padanan untuk *natural products*. Adapun bahan alam yang dapat dimanfaatkan sebagai penyembuh penyakit juga berkhasiat bagi kesehatan. Daun, buah, bunga, akar, rimpang, batang (kulit), dan getah (resin) adalah bagian tumbuhan [2]

Tumbuhan yang berkhasiat sebagai obat memiliki ribuan jenis spesies dari total sekitar 40.000 jenis tumbuhan yang tumbuh di dunia terdapat 30.000 jenis di duga terdapat di Indonesia (Lestari and Laiono 2018) dari berbagai penelitian yang menyebutkan dari 30,000 spesies tumbuhan di Indonesia sebanyak 6000 jenis berkhasiat obat sumber lain menyebutkan tumbuhan di Indonesia diperkirakan mencapai lebih dari 7000 jenis sekitar 1000 jenis digunakan untuk mencegah dan beberapa indikator

mengobati penyakit di Indonesia sebanyak termasuk 25 negara yang telah memiliki dan menerapkan kebijakan obat bahan alam salah satu tumbuhan yang diduga memiliki khasiat sebagai obat tumbuhan yang berasal dari genus *commelina* yang berperan untuk radikal bebas (Kemenkes RI 2013).

Radikal bebas terdapat dalam tubuh merupakan bagian dari reaksi samping proses oksidasi seperti metabolisme dan dapat berasal dari luar tubuh sebagai akibat dari gaya. Radikal bebas didefinisikan sebagai atom atau molekul dengan satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan dan bersifat tidak stabil, sehingga jumlah elektronnya ganjil. Karena jumlah elektronnya ganjil, molekul ini menjadi tidak stabil dan selalu berusaha mencari pasangan elektron baru dengan cara mengambil elektron molekul lain yang berdekatan. Dalam menangani hal tersebut, diperlukan suatu substansi penting yang dapat menetralkan radikal bebas yang dikenal dengan antioksidan [4]

Antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang bekerja menghambat oksidasi dengan cara bereaksi dengan radikal bebas reaktif yang membentuk radikal bebas tidak reaktif yang tidak stabil. Antioksidan merupakan semua bahan yang dapat menunda atau mencegah kerusakan akibat oksidasi pada molekul sasaran. Keberadaan antioksidan dalam tubuh sebenarnya sudah tersedia dalam bentuk enzim yang dikenal sebagai antioksidan endogen, namun jumlah tersebut sering kali tidak seimbang dengan jumlah radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh, sehingga diperlukan antioksidan eksogen. Kebutuhan akan antioksidan eksogen memunculkan banyak produk berlabel antioksidan di pasaran, namun produk-produk tersebut dapat menimbulkan efek samping dalam pengkonsumsian jangka panjang. Dengan demikian, diperlukan senyawa antioksidan alami yang berasal dari tanaman. Adapun salah satu tanaman yang mengandung senyawa yang bersifat antioksidan adalah *Commelina nudiflora* L., dikenal dengan nama daerah aur – aur, gewor lalakina (Sunda), brambangan (Jawa), merupakan jenis tanaman yang termasuk dalam keluarga *Commelinaceae*, yang merupakan tanaman herbal yang ramping dan abadi. Tanaman ini merupakan asli Malaysia, India, Bangladesh, dan negara-negara Asia tropis lainnya. Batang tanaman panjangnya 15- 30 cm, dengan daun hijau dan bunga ungu. Tanaman ini sebagian besar banyak ditemukan di tempat dengan kondisi yang basah [5]

Tanaman hulotua ada beberapa kesamaan dengan tumbuhan lain, lebih dari satu metabolit sekunder diidentifikasi dalam *Commelina difussa* tumbuhan yang memiliki kesamaan dengan genus *Commelina longifolia* L telah ditemukan bahwa efek antioksidan dari produk tanaman terutama disebabkan oleh aktivitas penangkapan radikal senyawa fenolik seperti flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin. Mereka memiliki kemampuan untuk mengais spesies oksigen reaktif (ROS), yang meliputi spesies oksigen radikal dan nonradikal seperti O₂ [6]

Berdasarkan kegiatan penyederhanaan keanekaragaman tumbuhan dengan identifikasi, tata nama, dan klasifikasi dapat melahirkan ilmu yang disebut dengan ilmu taksonomi tumbuhan. Taksonomi didasarkan pada kesamaan dan tidak kesamaan antar organisme yang mempunyai senyawa yang mirip atau saling berhubungan. Sementara itu berdasarkan fitoekivalen menyatakan bahwa tumbuhan dengan kandungan kimia yang sama memiliki aktivitas yang sama [7]

Berdasarkan teori ilmu kemotaksonomi tersebut, tanaman Hulotua (*Commelina Longifolia* L) yang berada satu genus dengan tanaman *Commelina difussa* dimungkinkan mempunyai persamaan kandungan kimia sehingga diduga

mempunyai aktivitas farmakologi yang sama pula. Maka dari itu akan dilakukan uji antioksidan dan identifikasi metabolit sekunder ekstrak etanol tumbuhan Hulotua (*Commelina Longifolia* L) dengan menggunakan metode spektroskopi UV-VIS.

2. Metode

Lokasi dan Waktu penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan September 2023 di Laboratorium Bahan Alam dan kimia analisis jurusan Farmasi, Fakultas Olahraga dan Kesehatan, Universitas Negeri Gorontalo

Alat dan Bahan

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu batang pengaduk, bejana maserasi, pelumat, chamber KLT, evaporator, Corong kaca (Pyrex), Cawan Porselin, Erlenmeyer (Pyrex), gelas kimia (Pyrex), gelas ukur (Pyrex), hot plate, kain saring (Whatman), lampu UV 254 nm dan 366 nm, neraca analitik (Precisa), penjepit, pipet, pipa kapiler, rak tabung, spatula, tabung reaksi, vial, labu ukur, gunting, sendok tanduk, dan Spektrofotometri UV-Vis.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu aquadest, aluminium foil, ekstrak etanol 70 % tumbuhan hulotua (*Commelina Longifolia* L) kertas label, kertas saring, Etanol 70%, etil asetat, FeCl₃, HCl pekat, H₂SO₄, lempeng KLT, logam magnesium, NaCl 0,9%, N heksan, reagen dragendorff, reagen mayer, lieberman burchard, silica gel, tisu, dan DPPH.

Prosedur penelitian

Sampel

Tanaman daun hulotua (*Commelina Longifolia* L.) asal Dusun Haya-haya, Kecamatan Limboto, Kabupaten Gorontalo, Provinsi Gorontalo dijadikan sebagai sampel penelitian

Tumbuhan hulotua (*Commelina Longifolia* L) dipanen pada pukul 07.00-10.00 WITA, Disortir basah, dibersihkan dengan hati-hati di bawah air mengalir, dipotong, lalu dikeringkan. Dianginkan dengan proses pengeringan. Untuk membuat bubuk simplisia, simplisia kering dihaluskan.

Ekstraksi Tanaman Hulotua

Daun Hulotua (*Commelina Longifolia* L) yang telah dihaluskan, ditimbang masing-masing sampel sebanyak 300 gram, kemudian diekstraksi dengan pelarut etanol 70% menggunakan metode maserasi total. Sampel daun jarak pagar direndam dalam 3 liter etanol selama 3 x 24 jam, kemudian disaring. Filtrat kemudian diuapkan sampai diperoleh ekstrak kental sampel Daun Hulotua (*Commelina Longifolia* L).

$$(\% \text{ Rendamen} = \frac{\text{Berat Ekstrak yang Diperoleh} \times 100\%}{\text{Berat Sampel Awal}})$$

Uji Skrining Fitokimia Daun Hulotua

1. Satu miligram ekstrak alkaloid, kemudian ditambahkan dengan tiga tetes amonia dan lima mililiter 40 kloroform. Setelah dipisahkan, fraksi kloroform diasamkan

menggunakan dua tetes H_2SO_4 . Tiga tabung berisi bagian asam diisi dengan campuran pereaksi Meyer, Wagner, dan Dragendrof. Adanya endapan putih pada pereaksi Meyer, endapan merah pada pereaksi Dragendrof, dan endapan coklat pada pereaksi Wagner menunjukkan adanya alkaloid pada sampel. [8].

2. Tanin : Ekstrak diambil sebanyak 0,1 gram dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan aquades dan dikocok hingga homogen. Sampel ditambahkan 5 tetes FeCl_3 1% dan dikocok. Hasil positif yaitu terbentuk warna hijau kehitaman [8].
3. Etanol digunakan untuk melarutkan ekstrak flavonoid terlebih dahulu. Selanjutnya, pindahkan sejumlah kecil larutan ekstrak cair ke dalam tabung reaksi. Setelah itu, tabung reaksi diisi dengan 1 mL HCl pekat. Warna larutan berubah menjadi kuning, oranye, atau hijau jika terdapat bahan kimia flavonoid. [8].
4. Saponin: Aquades dipanaskan selama 15 menit selanjutnya ditambahkan 2 ml ekstrak dikocok selama 1 menit sampai terbentuk busa kemudian didiamkan selama 5 menit dan ditambahkan 1 tetes HCl kemudian diamati hasilnya. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya busa yang stabil [8].
5. Terpenoid: Sebanyak 2 mL fraksi ditambahkan CH_3COOH glasial sebanyak 10 tetes dan H_2SO_4 pekat sebanyak 2 tetes, kemudian dikocok dan dibiarkan selama beberapa menit. Adanya terpenoid akan terbentuk warna merah atau ungu [9].
6. Steroid Sebanyak 2 mL fraksi ditambahkan CH_3COOH glasial sebanyak 10 tetes dan H_2SO_4 pekat sebanyak 2 tetes, kemudian dikocok dan dibiarkan selama 41 beberapa menit. Adanya steroid akan terbentuk warna biru atau hijau [9].

Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Analisis ini dimulai dengan penjuhan chamber, dimana cairan pengelusi dimasukkan ke dalam chamber setinggi lebih kurang 0,5 cm kemudian diberi kertas. Kejenuhan terlihat apabila cairan pengelusi telah naik melewati kaca penutup. Selanjutnya sampel ditotolkan pada lempeng bagian bawah, dielusi hingga cairan pengelusi sampai batas atas lempeng. Kemudian lempeng dikeluarkan dan diangin-anginkan. Diamati noda pada lempeng yang telah dielusi dibawah sinar lampu UV 254 nm dan 366 nm.

Uji Kualitatif Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Sebanyak 1 mL larutan sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 4 mL larutan DPPH 0,4 mM sedikit demi sedikit dan amati perubahan warnanya. Adanya antioksidan ditandai dengan perubahan warna larutan dari ungu menjadi kuning [10].

Uji Aktivitas Antioksidan

1. Pembuatan larutan DPPH 0,1 mM. Dalam labu ukur, 4 mg DPPH dilarutkan dalam 100 ml metanol 100% untuk menghasilkan larutan DPPH 0,1 mM.
2. Penetapan Panjang Gelombang Maksimum DPPH. Tabung reaksi berisi 2 mL larutan DPPH 0,1 mM diisi dengan 2 mL metanol dan divorteks untuk memastikan homogenitas. Campuran kemudian dituangkan ke dalam kuvet dan dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400–800 nm.
3. Pembuatan Larutan Blanko Larutan DPPH 0,1 mM sebanyak 2 ml. dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan metanol p.a sebanyak 2 ml, dikocok dengan vortex hingga homogen, diinkubasi dalam ruangan gelap selama 30 menit.

4. Pembuatan Larutan Ekstrak Daun Hulotua (*Commelina Longifolia* L) serta Larutan Vitamin C sebagai kontrol positif
5. Pembuatan larutan stok mengandung 1000 ppm Ekstrak Daun Hulotua (*Commelina Longifolia* L) masing-masing seberat 50 mg. Solusinya dilarutkan dalam metanol p.a. lalu dipindahkan ke dalam labu ukur 50 ml, yang kemudian diisi dengan metanol pa.
6. Membuat rangkaian larutan uji dengan konsentrasi 5, 10, 25, 50, dan 100 bagian per juta. Larutan induk ekstrak Daun Hulotua (*Commelina Longifolia* L) dipipet masing-masing pada ukuran 50, 100, 250, 500, dan 1000 (μ L), kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 10 ml. Metanol kemudian ditambahkan ke dalam labu hingga mencapai kadar yang diinginkan.
7. Pembuatan Larutan Vitamin C sebagai kontrol positif Larutan 1000 ppm disiapkan dengan menimbang bahan 50 mg dan dilarutkan dengan pelarut methanol p.a lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml, volume dicukupkan dengan metanol p.a sampai tanda batas, lalu dibuat konsentrasi seri 5, 10, 25, 50, dan 100 ppm.
8. Pengukuran serapan dengan spektrofotometer UV-Vis (d). Setelah menambahkan dua mililiter larutan kontrol dan dua mililiter larutan uji Ekstrak Daun Hulotua (*Commelina Longifolia* L) ke dalam tabung reaksi, campuran divorteks untuk memastikan homogenitas dan kemudian diinkubasi selama tiga puluh menit dalam lingkungan gelap. Absorbansi kemudian diukur pada panjang gelombang 517 nm.

Penentuan persen inhibisi

Data serapan masing-masing sampel digunakan untuk menghitung persentase penghambatan. Rumus berikut dapat digunakan untuk menghitung persentase penghambatan, menurut Ghosal & Mandal (2012):

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100 \%$$

Keterangan :

Ablanko = absorbansi pada DPPH tidak ada sampel

Asampel = absorbansi pada DPPH setelah di beri sampel

Hasil perhitungan dimasukkan dalam persamaan linier dengan persamaan $Y=aX+b$

Keterangan :

$Y=\%$ inhibisi $a=\text{Gradien}$

$X=\text{konsentrasi (ug/ml)}$ $b=\text{Konstanta}$

Penentuan Nilai IC50 (*Inhibitory Concetrations*)

Nilai IC50 dapat dicari dengan menggunakan persamaan linier yang dihasilkan. Konsentrasi yang ditemukan ketika % penghambatan dari persamaan $Y=aX+b$ sama dengan 50 disebut nilai IC50. Rumus berikut digunakan untuk mendapatkan nilai IC 50 ketika persentase penghambatannya 50:

$$50 = ax + b$$

$$\frac{50 - b}{a} \times$$

Harga X adalah IC50 dengan satuan $\mu\text{g/ml}$.

Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan menggunakan instrumen spektrofotometri UV-Vis untuk melihat aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol 70% Daun Hulotua (*Commelina Longifolia* L). Adapun aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol 70% Daun Hulotua (*Commelina Longifolia* L) yang diperoleh dianalisis menggunakan statistik Uji *independent t-test*

3. Hasil dan Pembahasan

Ekstraksi Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah Daun Hulotua (*Commelina Longifolia* L) yang diperoleh dari Desa Haya haya, Kecamatan Limboto, Kabupaten Gorontalo, Provinsi Gorontalo. Daun Hulotua (*Commelina Longifolia* L) dipanen pada pagi hari pukul 08.00-11.00. Daun Hulotua yang telah diambil di cuci bersih, dirajang kemudian dikeringkan dan dihaluskan agar memperoleh serbuk simplisia

Tabel 1. Hasil persentase rendemen ekstrak daun hulotua (*Commelina Longifolia* L)

Pelarut	Sampel	Berat Sampel (g)	Berat Fraksi (g)	Randemen(%)
Etanol	Daun Hulotua (<i>Commelina Longifolia</i> L)	300	40	13,3

Sumber data: Data primer yang diolah, 2024

Hasil ekstraksi dari Daun Hulotua (*Commelina Longifolia* L) dapat dilihat pada table 1 Berdasarkan hasil tabel tersebut di dapatkan hasil ekstrak etanol daun Daun Hulotua (*Commelina Longifolia* L) yaitu 40 gram dengan persen rendamennya yaitu 13,3%. Hal ini sejalan dengan (R. Islamiyati et al., 2024) bahwa Nilai % rendemen berhubungan dengan banyaknya senyawa metabolit sekunder yang terekstraksi karena semakin besar nilai rendemen maka semakin baik dan semakin banyak senyawa metabolit sekunder yang terekstraksi. Hasil yang didapatkan dari kedua ekstrak tanaman ini memenuhi persyaratan Farmakope Herbal Indonesia bahwa dinyatakan rendamen yang baik yaitu rendamen yang tidak kurang dari 10%-20%.

Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Hulotua (*Commelina Longifolia* L)

Skrining fitokimia dilakukan menggunakan uji tabung dengan pereaksi yang sesuai yakni untuk mengetahui senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, terpenoid dan steroid.

Tabel 2 Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol daun hulotua (*Commelina Longifolia* L)

Fraksi	Nama Sampel	Komponen Senyawa Bioaktif					
		Alkaloid	Flavonoid	Tanin	Saponin	Terpenoid	Steroid
Etanol	Daun Hulotua <i>Commelina Longifolia</i> L	+	+	+	-	-	+

Sumber data: Data primer yang diolah, 2024

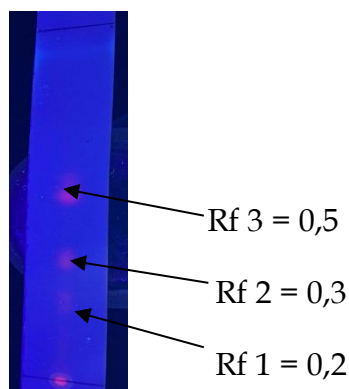
Keterangan : (+) Positif

: (-) Negatif

Tabel 2 memberikan informasi tentang hasil uji skrining fitokimia pada daun Hulotua (*Commelina Longifolia* L). Tanin, flavonoid, dan alkaloid positif terdapat dalam fraksi etanol. serta steroid.

Analisis KLT Daun Hulotua (*Commelina Longifolia* L)

Analisis kualitatif fraksi daun hulotua (*Commelina Longifolia* L.) dilakukan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) ,dengan perbandingan eluen 2:2:1 kloroform, n-heksan dan etil asetat. Setelah proses elusi kemudian diamati bercak noda pada lampu UV 366 nm



Daun Hulotua

Gambar 1 Profil kromatografi lapis tipis dengan eluen kloroform : N-Heksan : Etil Asetat (2:2:1) menggunakan lampu UV 366 nm

Profil analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) terlampir gambar 1 merupakan hasil analisis KLT pada metode maserasi yakni etanol yang di analisis menggunakan lampu UV 366 nm dengan perbandingan eluen Kloroform : n-heksan : etil asetat (2:2:1). Berdasarkan hasil tersebut, pada ekstrak daun hulotua diperoleh nilai Rf yaitu 0,2, 0,3, dan 0,5. pada ekstrak etanol daun Hulotua, berdasarkan kajian perhitungan nilai RF pada gambar 1 Nilai Rf yang didapatkan ini diduga mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, dan tanin. Hal ini sesuai nilai Rf flavonoid antara 0,2-0,75 menunjukkan

noda yang mengandung flavonoid. Hasil noda yang nampak pada UV 366 nm menunjukkan fluoresensi berwarna kemerahan menunjukkan bahwa mengandung senyawa flavonoid. nilai Rf pada senyawa alkaloid yang paling umum yaitu 0,07-0,62. nilai Rf senyawa tanin terletak pada 0,07-0,77. Nilai Rf dengan nilai ST (Saponin Standard) sebesar 0,565.

Nilai Rf yang kecil menunjukkan daya pisah zat yang dielusi adalah minimum, sedangkan nilai Rf yang besar menunjukkan daya pisah zat yang dielusi adalah maksimum, sedangkan. Nilai Rf yang optimal yaitu berada pada rentang 0,2 – 0,8. dengan parameter nilai faktor retensi atau angka Rf [12].

Analisis Uji Kualitatif KLT Setelah Penyemprotan DPPH

Uji kualitatif yang dilakukan pada pengujian antioksidan ekstrak Daun Hulotua menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Uji antioksidan secara kualitatif ini dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya aktivitas antioksidan dari ekstrak Daun Hulotua. Setelah ditotolkan pada pelat KLT, ekstrak dielusi dengan perbandingan eluen 2:2:1 untuk kloroform, n-heksana, dan etil asetat. Setelah prosedur elusi, larutan DPPH disemprotkan ke atasnya, dan setelah 30 menit diamati menggunakan sinar UV 366 nm untuk mengetahui penampakan noda.



Daun Hulotua

Gambar 2 Hasil setelah penyemprotan DPPH ekstrak daun hulotua

Hasil gambar 2 di atas merupakan hasil analisis uji kualitatif KLT setelah penyemprotan DPPH. Berdasarkan hasil tersebut diketahui bahwa ekstrak daun Hulotua memiliki aktivitas antioksidan karena pada kedua ekstrak ini terlihat bercak berwarna kuning. Berdasarkan tampilan noda di bawah lampu UV 366, noda tersebut berpendar dengan warna kemerahan. Menurut Sopiah (2018), noda yang berfluoresensi keunguan menunjukkan bahwa terdapat senyawa flavonoid. Dan dari hasil uji antioksidan secara kualitatif diketahui bahwa ekstrak daun Hulotua memiliki aktivitas antioksidan karena pada ekstrak ini terlihat bercak berwarna kuning dengan latar belakang ungu. dimana satu noda bisa mengandung banyak senyawa aktif sedangkan satu senyawa terdapat dalam satu noda [13].

Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan ini dilakukan menggunakan alat spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum DPPH yaitu 517 nm.

Tabel 3 Panjang gelombang maksimum dan absorbansi larutan blanko (DPPH)

Bahan	Panjang Gelombang maksimum	Absorbansi
Blanko (DPPH)	517 nm	0,874

Sumber : Data Primer yang diolah, 2024

Dari hasil pengukuran blanko diperoleh absorbansi sebesar 0,874. Blanko adalah larutan yang mendapatkan perlakuan yang sama dengan sampel dan pembanding namun tidak mengandung analat. Tujuan pengukuran absorbansi blanko adalah mengetahui besarnya serapan oleh zat bukan analat [16]. Selanjutnya dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum. Penentuan dilakukan untuk mengetahui (λ) yang memiliki serapan tertinggi. Pengukuran sampel harus dilakukan pada panjang gelombang maksimum agar kepekaannya lebih maksimal dan meminimalkan kesalahan karena pada panjang gelombang tersebut perubahan absorbansi untuk setiap satuan konsentrasi adalah yang paling besar. Radikal bebas DPPH memiliki warna komplementer ungu dan memberikan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 515-520 nm [17]. Hasil penentuan panjang gelombang DPPH 0,1 mM diperoleh (λ) maks sebesar 517 nm. Tujuan dilakukan inkubasi selama 30 menit karena reaksi berjalan lambat sehingga sampel membutuhkan waktu untuk dapat bereaksi dengan radikal bebas. Proses selanjutnya reaksi tersebut ditandai dengan perubahan warna sampel dari ungu ke merah dan merah yang awalnya berwarna ungu kemerahan menjadi warna kuning. Perubahan warna ini menandakan bahwa masing-masing ekstrak memiliki kemampuan sebagai antioksidan.

Tabel 4 Hasil absorbansi dan persen inhibisi ekstrak Daun Hulotua (*Commelina Longifolia* L) dan Vitamin C menggunakan spektrofotometri UV-Vis

Ekstrak	Konsentrasi (PPM)	Absorbansi	Inhibisi %
Daun Hulotua (<i>Commelina Longifolia</i> L)	5	0,565	35,35
	10	0,549	37,22
	25	0,512	41,42
	50	0,472	46,00
	100	0,361	58,66
Vit C	5	0,462	47,18
	10	0,436	50,08
	25	0,329	62,36
	50	0,249	71,51
	100	0,028	96,80

Sumber : Data Primer yang diolah, 2024

Hasil uji aktivitas antioksidan dari ekstrak ini memiliki nilai % inhibisi yang baik. Hal ini berhubungan dengan kandungan metabolit sekunder yang terkandung di dalam ekstrak tersebut salah satunya yaitu senyawa flavonoid. flavonoid adalah antioksidan eksogen yang telah dibuktikan bermanfaat dalam mencegah kerusakan sel akibat stres oksidatif. Mekanisme kerja dari flavonoid sebagai antioksidan dengan mendonorkan ion proton hidrogen sehingga dapat menetralkan efek toksik dari radikal bebas. Berdasarkan penelitian sebelumnya diketahui bahwa berdasarkan Temuan penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun Hulotua mengandung konsentrasi flavonoid paling tinggi. Daun Hulotua memiliki ciri-ciri seperti warna, struktur, dan bentuk, meskipun dianggap sebagai spesies yang baru ditemukan. Warna sampel Hulotua ini adalah ciri khasnya yang paling menonjol. Daun Hulotua berwarna hijau. Pengaruh flavonoid yang tergolong antosianin tidak bisa dipisahkan dari warna yang dihasilkan tanaman hulotua ini. [14]

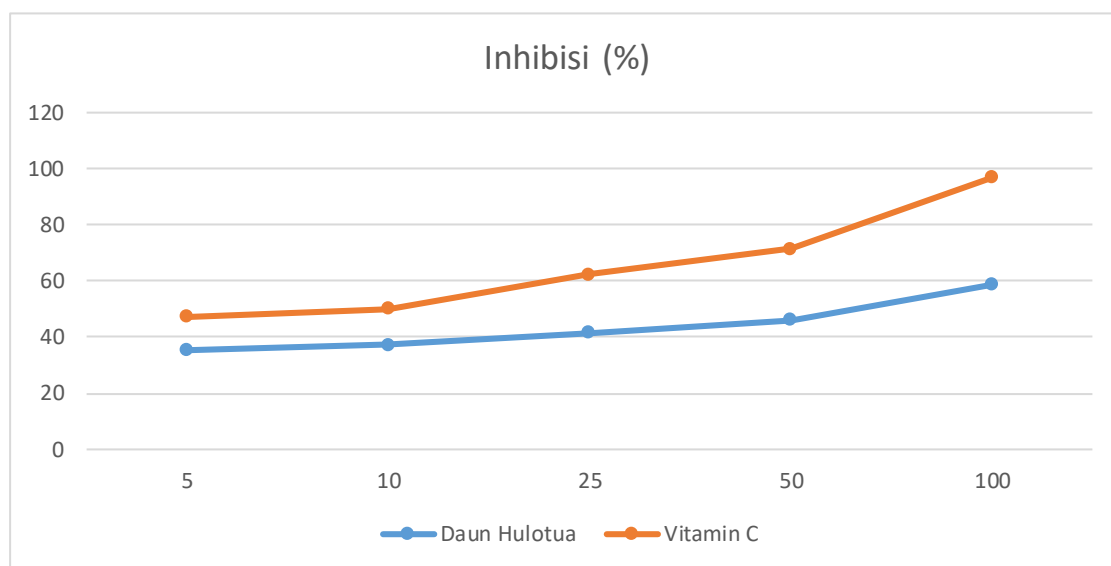
Tabel 5 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan ekstrak Daun Hulotua (*Commelina Longifolia* L) dan Vitamin C Metode DPPH

Ekstrak	Konsentrasi (PPM)	Absorbansi	Inhibis %	Persamaan Linier	IC ₅₀
Daun Hulotua (<i>Commelina Longifolia</i> L)	5	0,565	35,35	$y = 0,239x + 34,647$ $R^2 = 0,9963$ $r = 0,9981$	64,23
	10	0,549	37,22		
	25	0,512	41,42		
	50	0,472	46,00		
	100	0,361	58,66		
Vit C	5	0,462	47,18	$y = 0,5124x + 46,112$ $R^2 = 0,9902$ $r = 0,995$	7,59
	10	0,436	50,08		
	25	0,329	62,36		
	50	0,249	71,51		
	100	0,028	96,80		

Sumber : Data Primer yang diolah, 2024

Untuk mengetahui kekuatan antioksidan parameter yang digunakan adalah IC₅₀. *Inhibition Concentration* (IC₅₀) merupakan suatu gambaran konsentrasi senyawa uji yang mampu meredam radikal bebas sebesar 50%. Hasil IC₅₀ dimasukkan ke dalam persamaan regresi dengan nilai presentasi inhibisi sebagai sumbu y dan konsentrasi sampel yang digunakan sebagai sumbu x. Semakin kecil nilai IC₅₀ aktivitas peredaman radikal bebas semakin tinggi (Agustina, 2020). Hasil uji aktivitas antioksidan daun Hulotua terdapat pada nilai IC₅₀. Nilai IC₅₀ antara ekstrak ini diakibatkan oleh kemampuan masing-masing senyawa dalam memberikan elektron kepada DPPH berbeda, semakin banyak elektron yang diberikan kepada DPPH akan mengakibatkan penurunan nilai absorbansinya yang berarti meningkatnya persen inhibisi dan menurunnya nilai IC₅₀. Menurut Rustiah dkk (2018), semakin besar konsentrasi yang digunakan maka semakin kecil nilai absorbansinya. Hal ini disebabkan oleh semakin banyak substrat yang dapat bereaksi atau berikatan dengan elektron-elektron dari DPPH sehingga nilai absorbansinya semakin kecil.

Pada hasil pengukuran IC_{50} yang diperoleh dari ekstrak Daun Hulotua dan vitamin c yaitu hasil IC_{50} pada ekstrak jarak pagar yakni $64,23\mu\text{g/ml}$. Sedangkan untuk nilai IC_{50} vitamin c yakni $7,59\mu\text{g/ml}$. Berdasarkan hasil tersebut daun hulotua memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat sama hal-nya dengan vitamin c dan daun Hulotua memiliki antioksidan dengan kategori kuat. Hal ini dapat dibuktikan dengan nilai IC_{50} ekstrak daun Hulotua dan vitamin c yang berada dibawah 50 dan daun Hulotua berada diantara nilai 50-100 ppm. Vitamin C memiliki nilai IC_{50} yang lebih rendah atau bisa dikatakan memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat daripada ekstrak daun hulotua karena vitamin C merupakan isolat yang hanya mengandung satu golongan senyawa saja dan telah terbukti memiliki aktivitas.



Gambar 3 Hubungan konsentrasi ekstrak terhadap persen inhibisi sebagai persen penghambatan radikal bebas DPPH dari daun Hulotua dan vitamin C

Semakin kecil nilai IC_{50} menunjukkan semakin kuat aktivitas antioksidan yang terkandung pada suatu sampel. Suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat jika IC_{50} kurang dari $50\mu\text{g/mL}$, kuat jika IC_{50} $50-100\mu\text{g/mL}$, sedang jika IC_{50} $101-150\mu\text{g/mL}$, lemah jika IC_{50} $151-200\mu\text{g/mL}$, dan tidak berpotensi bila IC_{50} lebih dari $200\mu\text{g/mL}$. Dari hasil nilai IC_{50} yang didapatkan dapat dilihat pada tabel 4.5 dan 4.6 dimana sampel daun Hulotua memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat karena nilai IC_{50} kurang dari 50 dan vitamin c memiliki aktivitas antioksidan yang kuat karena nilai IC_{50} diantara 50-100 ppm, Temuan ini menunjukkan bahwa karena bahan kimia metabolit sekunder yang dikandungnya, keduanya memiliki penghambat antioksidan terbesar. Tumbuhan mengandung zat aktif yang disebut flavonoid yang memiliki sifat antioksidan kuat. Penelitian mengungkapkan bahwa flavonoid, yang ditemukan pada tumbuhan yang hampir sama, memiliki kemampuan berfungsi sebagai antioksidan alami yang menangkal radikal bebas dan menyelamatkan sel tumbuhan dari kerusakan oksidatif.

Analisis Statistik Uji Independent t-test

Hasil persen inhibisi yang diperoleh dari ekstrak daun Hulotua dan kontrol Vit. C dengan konsentrasi 5, 10, 25, 50 dan 100 ppm dianalisis dengan menggunakan analisis *Independent t-test*. Sample t-test merupakan uji komparatif atau uji beda untuk mengetahui ada tidaknya terdapat perbedaan mean yang signifikan antara 2 kelompok independen dengan interval/rasiodata. Dua kelompok mandiri yang dimaksud di sini adalah dua kelompok yang tidak berpasangan, maksudnya sumber data berasal dari subjek yang berbeda. Beberapa asumsi harus dipenuhi dalam uji t independen lain sebagai nya [15] Independent t-test cocok digunakan dalam pengujian ini karena hanya ada satu variabel bebas dan satu variabel terikat.

Tabel 6 Hasil Uji Independent t-test % Inhibisi

Persen Inhibisi	N	Mean $\pm$ Std Deviasi	<i>p-value</i>
EkstrakDaun Hulotua	5	41,73 $\pm$ 11,79	0,051
Vitamin C	5	65,59 $\pm$ 19,99	

Hasil yang memperoleh hasil pengujian signifikansi *Independent t-test* sebesar 0,051. Hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan rata-rata yang signifikan antar kedua kelompok perlakuan ($p\text{-value} < 0,05$). Hal ini membuktikan bahwa dari kedua kelompok yang diuji yaitu ekstrak daun Hulotua dan Vit.C terdapat perbedaan aktivitas antioksidan. Hal ini sejalan dengan penelitian [16]. bahwa dalam uji *Independent t-test* nilai signifikansi $< 0,05$, hal ini menandakan bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan diantara sampel uji. Ketika nilai $< 0,05$ maka dilanjutkan pada tes Post Hoc, tes ini digunakan untuk menentukan taraf signifikan yang diperoleh, jika lebih besar dari 0,05 maka sampel memiliki rata-rata hasil antioksidan yang sama, demikian pula jika taraf signifikan yang diperoleh lebih kecil dari 0,05 maka sampel uji tersebut tidak memiliki rata-rata antioksidan yang sama. Pada ekstrak yang diuji yaitu daun Hulotua dan kontrol positif Vit.C termasuk pada kategori sangat kuat (0,051), dengan taraf signifikan semua sampel lebih besar dari 0,05 yang menandakan memiliki nilai rata-rata hasil antioksidan yang sama.

4. Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

Berdasarkan uji skrining fitokimia dan analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) ekstrak metanol Daun Hulotua (*Commelina Longifolia* L) mengandung metabolit sekunder diantaranya yaitu flavonoid, alkaloid, steroid dan tanin. Berdasarkan data penelitian yang telah dilakukan ekstrak etanol Daun Hulotua (*Commelina Longifolia* L) Ekstrak etanol daun Hulotua (*Commelina Longifolia* L) memiliki nilai IC₅₀ sebesar 64,23 $\mu\text{g/ml}$ termasuk dalam kategori kuat (IC₅₀ kurang dari 50-100 $\mu\text{g/ml}$), sedangkan lebih berpotensi memiliki aktivitas antioksidan dengan IC₅₀ nilai 7,59 $\mu\text{g/ml}$ termasuk dalam kategori sangat kuat (IC₅₀ kurang dari 50 $\mu\text{g/ml}$).

Referensi

- [1] Kemenkes RI, "Risesdas 2010," *Lap. Nas. 2010*, pp. 1-466, 2010, [Online]. Available: <https://www.litbang.kemkes.go.id/laporan-riset-kesehatan-dasar-risesdas/>
- [2] B. I'smi, R. Hewawatiningsih, and Muflihati, "Pemanfaatan tumbuhan obat oleh masyarakat di sekitar areal IUPHK-HTIPT Bhatara Alam Lestari di kabupaten Mempawah," *J. Hutan Lestari*, vol. 6, no. 1, pp. 16-24, 2018.
- [3] F. E. Linder, "National Health Survey," *Science (80-.)*, vol. 127, no. 3309, pp. 1275-1279, 1958, doi: 10.1126/science.127.3309.1275.
- [4] Q. P. Arnanda and R. F. Nuwarda, "Penggunaan Radiofarmaka Teknisium-99M Dari Senyawa Glutation dan Senyawa Flavonoid Sebagai Deteksi Dini Radikal Bebas Pemicu Kanker," *Farmaka Suplemen*, vol. 14, no. 1, pp. 1-15, 2019, [Online]. Available: <https://jurnal.unpad.ac.id/farmaka/article/view/22071>
- [5] A. Hasan, T. A. Bondhon, and M. Rahmatullah, "Medicinal food plants in Brahmanbaria district, Bangladesh," ~ 102 ~ *J. Med. Plants Stud.*, vol. 8, no. 3, pp. 102-106, 2020, [Online]. Available: www.plantsjournal.com
- [6] T. Sultana, A. Mannan, and T. Ahmed, "Evaluation of central nervous system (CNS) depressant activity of methanolic extract of Commelina diffusa Burm . in mice," pp. 1-7, 2018, doi: 10.1186/s40816-018-0063-1.
- [7] B. C. Utamy, N. N. S. Yuliani, and D. K. Furtuna, "Perbandingan Uji Aktivitas Antibakteri Filtrat Aquadest Umbi Bawang Suna (*Allium schoenoprasum* L.) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus pneumoniae* Dan *Escherichia coli* Dengan Metode Difusi Cakram Kirby-Bauer," *Herb-Medicine J.*, vol. 4, no. 4, p. 51, 2021, doi: 10.30595/hmj.v4i4.8812.
- [8] Waras Nurcholis, Fachrur Rizal Mahendra, Milanda Fiorella Gultom, Safira Khoirunnisa, Mayang Anggita Cahya Kurnia, and Hamdan Hafizh Harahap, "Phytochemical, Antioxidant and Antibacterial Screening of Orthosiphon stamineus Leaf Extract Two Phenotypes," *J. Jamu Indones.*, vol. 7, no. 3, pp. 121-129, 2022, doi: 10.29244/jji.v7i3.280.
- [9] N. Hidayah, "Pemanfaatan Senyawa Metabolit Sekunder Tanaman (Tanin dan Saponin) dalam Mengurangi Emisi Metan Ternak Ruminansia Utilization of Plant Secondary Metabolites Compounds (Tannin and Saponin) to Reduce Methane Emissions from Ruminant Livestock," *J. Sain Peternak. Indones.*, vol. 11, no. 2, pp. 89-98, 2016.
- [10] R. Rahmawati, A. Muflihunna, and L. M. Sarif, "ANALISIS AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PRODUK SIRUP BUAH MENGKUDU (*Morinda citrifolia* L.) DENGAN METODE DPPH," *J. Fitofarmaka Indones.*, vol. 2, no. 2, pp. 97-101, 2016, doi: 10.33096/jffi.v2i2.177.
- [11] U. Aktivitas, A. Ekstrak, E. Asetat, and D. Matoa, "Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etil Asetat Daun Matoa Menggunakan Radikal Bebas DPPH (Difenilpikrilhidrazil)," vol. 13, pp. 611-618, 2024, doi: 10.35799/pha.13.2024.55951.
- [12] A. O. Putri, M. C. Hati, N. P. Ishanti, and H. S. Ilham, "Identifikasi Senyawa Flavonoid pada Beberapa Jenis Tanaman dengan Kromatografi Lapis Tipis: Literature Review," *PHARMADEMICA J. Kefarmasian dan Gizi*, vol. 3, no. 2, pp. 45-54, 2024, doi: 10.54445/pharmademica.v3i2.40.
- [13] D. Forestryana and A. Arnida, "Skrining Fitokimia Dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Etanol Daun Jeruju (*Hydrolea spinosa* L.)," *J. Ilm. Farm. Bahari*,

- vol. 11, no. 2, p. 113, 2020, doi: 10.52434/jfb.v11i2.859.
- [14] S. Fatimah and Yanlinastuti, "Pengaruh Konsentrasi Pelarut untuk Menentukan Paduan U-Zr dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri Uv-Vis," *Pus. Teknol. Bahan Nukl.*, vol. 9, no. 17, pp. 22-33, 2016.
- [15] A. Irawan, "Kalibrasi Spektrofotometer Sebagai Penjaminan Mutu Hasil Pengukuran dalam Kegiatan Penelitian dan Pengujian," *Indones. J. Lab.*, vol. 1, no. 2, p. 1, 2019, doi: 10.22146/ijl.v1i2.44750.
- [16] R. Tri, S. Yasni, T. Muhandri, and S. Yuliani, "Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Kualitas Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.)," *J. Unitek*, vol. 15, no. 2, pp. 198-211, 2022, doi: 10.52072/unitek.v15i2.389.