

PENETAPAN KADAR FENOLIK TOTAL DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN KUPU-KUPU (*BAUHINIA PURPUREA* L.)

Muhammad Amin Nasution^{1*}, Rhyzha Asparyzha², Gabena Indrayani Dalimunthe³, Anny Sartika Daulay⁴

Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah Medan^{1,2,3}

*Corresponding Author : mhdaminnst@umnaw.ac.id

ABSTRAK

Senyawa fenolik diketahui memiliki efek biologis seperti antioksidan yang dapat menangkal radikal bebas. Daun kupu-kupu (*Bauhinia purpurea* L.) diketahui mengandung fenolik, dimana senyawa golongan fenolik juga diketahui sangat berperan terhadap aktivitas antioksidan, karena semakin besar kandungan senyawa golongan fenoliknya maka semakin besar aktivitas antioksidannya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar fenolik total serta uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol dari daun kupu-kupu terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Pada penelitian ini dilakukan uji karakterisasi terhadap serbuk simplisia dan daun kupu-kupu dimaserasi dengan etanol 96%. Selanjutnya ekstrak etanol ditetapkan kadar fenolik total menggunakan Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 744 nm. Penentuan kadar fenolik total menggunakan metode *Folin-Ciocalteu* dengan standar asam galat. Kadar fenolik total dinyatakan dalam mg equivalent asam galat (GAE)/g simplisia. Kemudian dilakukan uji aktivitas antibakter terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan menggunakan metode difusi agar. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diperoleh kadar fenolik total ekstrak etanol daun kupu-kupu sebesar $209,56 \pm 0,5398$ mg GAE/g. Data hasil uji antibakteri dianalisa statistika menggunakan uji *One Way Anova* menunjukkan adanya pengaruh perlakuan terhadap pertumbuhan bakteri uji dilihat dari nilai $P < 0,005$. Hasil Penelitian menunjukkan ekstrak etanol daun kupu-kupu mempunyai aktivitas antibakteri paling tinggi pada konsentrasi 100% terhadap *Staphylococcus aureus* dengan diameter zona hambat kategori kuat yaitu 19,12 mm sedangkan pada *Escherichia coli* termasuk kategori kuat dengan diameter zona hambat yaitu 13,57 mm.

Kata kunci : antibakteri, *bauhinia purpurea* l. fenolik total

ABSTRACT

Phenolic compounds are known to have biological effects such as antioxidants that can counteract free radicals. This study aims to determine the total phenolic content and antibacterial activity test of ethanol extract from butterfly leaves against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria. Translated with DeepL.com (free version) In this study, characterization tests were carried out on simplisia powder and butterfly leaves macerated with 96% ethanol. Furthermore, the ethanol extract was determined the total phenolic content using Spectrophotometry UV-Vis at a wavelength of 744 nm. Determination of total phenolic content using Folin-Ciocalteu method with gallic acid standard. Total phenolic content is expressed in mg gallic acid equivalent (GAE)/g of simplisia. Then the antibacterial activity test was carried out against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria using the agar diffusion method. Based on the research that has been done, the total phenolic content of ethanol extract of butterfly leaves is 209.56 ± 0.5398 mg GAE/g. Data from the antibacterial test results were analyzed statistically using the *One Way Anova* test, showing the effect of treatment on the growth of test bacteria seen from the *P* value < 0.005 . The results showed that the ethanol extract of butterfly leaves had the highest antibacterial activity at a concentration of 100% against *Staphylococcus aureus* with a strong inhibition zone diameter of 19.12 mm, while *Escherichia coli* was in the strong category with an inhibition zone diameter of 13.57 mm.

Keywords : antibacterial, *bauhinia purpurea* l. total phenolic

PENDAHULUAN

Indonesia adalah salah satu negara yang memiliki keanekaragaman hayati yang luar biasa. Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa tanaman menghasilkan senyawa metabolit sekunder dengan berbagai struktur molekuler dan fungsi biologis. (Winata *et al.*, 2023). Di Indonesia *Bauhinia purpurea* dikenal sebagai Tumbuhan Kupu-kupu dan memiliki nama daerah Tangkan putih/Tawar seribu (Kalimantan Timur) dan Kedayakan (Kabupaten Situbondo) (Noorcahyati, 2012). Daun kupu-kupu (*Bauhinia purpurea* L.) diketahui mengandung fenolik, dimana senyawa golongan fenolik juga diketahui sangat berperan terhadap aktivitas antioksidan, karena semakin besar kandungan senyawa golongan fenoliknya maka semakin besar aktivitas antioksidannya (Shahwar *et al.*, 2010). Antioksidan dipengaruhi oleh kontribusi senyawa fenolik yang dapat bertindak sebagai antioksidan dengan memutus ikatan rantai radikal bebas secara langsung dan menangkap berbagai spesies reaktif. Semakin kecil nilai IC₅₀ semakin besar kadar antioksidan (Khadijah *et al.*, 2017).

Menurut (Sari, 2017) *Bauhinia purpurea* digunakan oleh masyarakat adat etnis Dayak Maratus yang ada di Hulu Sungai Selatan, Kalimantan Selatan dan masyarakat Polahi yang bermukim di Kecamatan Asparaga, Kabupaten Gorontalo untuk obat sakit perut, pembengkakan paha dan kejang. Menurut (Austria *et al.*, 2013) masyarakat Dusun Semoncol menggunakan akar *Bauhinia purpurea* sebagai obat sariawan dan daunnya digunakan sebagai obat panas dalam Tumbuhan ini juga digunakan sebagai obat bisul, batuk, luka, tumor, kembung, wasir dan gigitan ular (Krishnaveni, 2015) Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh (Syukur *et al.*, 2011) tentang uji aktivitas antoksidan dari ekstrak etanol daun *Bauhinia purpurea*, nilai IC₅₀ sebesar 820 mg/mL sedangkan ekstrak *n*-heksana daun nilai IC₅₀ sebesar 415 mg/mL. Menurut penelitian (Vijayan *et al.*, 2019) ekstrak daun *Bauhinia purpurea* memiliki aktivitas antioksidan pada konsentrasi 200 µg/mL dan dengan nilai IC₅₀ sebesar 129,9 µg/mL. Dari hasil penelitian (Zakaria *et al.*, 2011) ekstrak air dan ekstrak metanol daun *Bauhinia purpurea* memiliki aktivitas antioksidan dengan konsentrasi masing-masing 500 µg/mL. Banyaknya gugus fungsi hidroksil (OH) pada fenol berhubungan dengan tingkat toksisitasnya terhadap mikroorganisme. Semakin tinggi senyawa fenol teroksidasi maka penghambatan pertumbuhan mikroorganisme semakin kuat (Lukaraja, et.al., 2020).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh (Dhale, 2011) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun tumbuhan kupu-kupu pada bakteri *Staphylococcus aureus* juga menunjukkan aktivitas antibakteri dengan zona hambat yang dihasilkan 15 mm dan pada bakteri *Escherichia coli* zona hambat yang dihasilkan 10 mm pada konsentrasi masing-masing 20 mg/mL. Ekstrak etanol kulit batang tumbuhan kupu-kupu pada bakteri *Staphylococcus aureus* juga menunjukkan aktivitas antibakteri dengan zona hambat yang dihasilkan 18 mm dan pada bakteri *Escherichia coli* zona hambat yang dihasilkan 12 mm pada konsentrasi masing-masing 20 mg/mL. Aktivitas antibakteri ditunjukkan oleh penelitian (Sunarti *et al.*, 2008) bahwa ekstrak etanol kulit batang tumbuhan kupu-kupu dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Aspergillus niger*, dan *Candida albicans*, dengan zona hambat yang dihasilkan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu 20,4 mm dan pada bakteri *Escherichia coli* zona hambat yang dihasilkan 16,4 mm pada konsentrasi masing-masing 20 mg/mL. Ekstrak metanol kulit batang memiliki aktivitas antimikroba pada *Escherichia coli* dengan zona hambat 14 mm dengan konsentrasi hambat minimum 150 µg/ml. Kemudian ekstrak air kulit batang *Bauhinia purpurea* memiliki aktivitas antimiroba pada *Bacillus subtilis* dengan zona hambat 20 mm dengan konsentrasi hambat minimum 100 µg/ml, pada *Staphylococcus aureus* dengan zona hambat 14 mm dengan konsentrasi hambat minimum 100 µg/ml, pada *Escherichia coli* dengan zona hambat 16 mm dengan konsentrasi hambat minimum 100 µg/ml, pada dengan zona hambat (Avinash *et al.*, 2011). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui penetapan kadar

fenolik total dengan menggunakan metode *Folin ciocalteu* secara Spektrofotometri UV-Vis dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol Daun Kupu-kupu (*Bauhinia purpurea L.*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

METODE

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental. Tahap penelitian dimulai dengan pengumpulan bahan, pembuatan ekstrak etanol daun kupu-kupu (*Bauhinia purpurea L.*) dengan menggunakan metode ekstraksi maserasi, skrining fitokimia, penetapan kadar fenolik total dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dan pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kupu-kupu (*Bauhinia purpurea L.*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* metode Difusi Agar. Absorbansi sampel dimasukkan ke dalam persamaan kurva standar sebagai nilai y, dimana nilai x yang diperoleh merupakan konsentrasi fenolik di dalam ekstrak dalam satuan ppm ($\mu\text{g/mL}$). Kemudian konsentrasi tersebut diubah menjadi mg/ml. Aktivitas antibakteri dilakukan dengan mengukur rata-rata diameter hambat menggunakan jangka sorong. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif dan datanya disajikan dalam bentuk tabel dan gambar menggunakan SPSS (*Statistical Product and Service Solutions*) Versi 25 Tahun 2017. Sampel tumbuhan kupu-kupu diperoleh dari Jl. Delima, Kec. Tampan, Kota Pekanbaru, Riau. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2023 – Maret 2024, dan dilakukan di Laboratorium Penelitian Fakultas Farmasi Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah Medan. Pada penelitian ini bagian tumbuhan yang digunakan adalah daun tumbuhan kupu-kupu (*Bauhinia purpurea L.*). Metode pengambilan sampel dilakukan secara *purposive* yaitu tanpa membandingkan dengan tumbuhan serupa dari daerah lain.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Identifikasi Sampel

Pada penelitian ini telah dilakukan identifikasi tanaman yang telah dilakukan di Laboratorium Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau. Hasil identifikasi tersebut menunjukkan bahwa tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Daun Kupu-kupu (*Bauhinia purpurea L.*) yang termasuk ke dalam famili Fabaceae.

Hasil Pengolahan Sampel

Daun Kupu-kupu (*Bauhinia purpurea L.*) yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Jl. Delima Kec. Tampan Pekanbaru Provinsi Riau. Daun yang telah dikumpulkan dilakukan sortasi basah terlebih dahulu untuk memisahkan kotoran dan benda asing dari bahan simplisia. Daun segar sebanyak 5000 gram cuci kemudian dikeringkan. Setelah proses pengeringan, dilakukan sortasi kering untuk memisahkan kotoran yang masih menempel pada simplisia kemudian simplisia dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk halus, kemudian diperoleh serbuk sebanyak 1600 gram. Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi menggunakan pelarut etanol 96% hingga diperoleh ekstrak kental 82,5864 gram yang berwarna hijau kehitaman dengan bau yang khas.

Pemeriksaan Karakteristik

Pemeriksaan Makroskopik Simplisia Daun Kupu-kupu (*Bauhinia purpurea L.*)

Pengamatan makroskopik dilakukan dengan mengamati secara langsung kondisi fisik Daun Kupu-kupu (*Bauhinia purpurea L.*) yang digunakan dalam penelitian ini. Dari hasil pemeriksaan makroskopik daun kupu-kupu diperoleh hasil seperti pada tabel 1.

Tabel 1. Pengamatan Makroskopik Daun Kupu-kupu

No.	Parameter	Keterangan
1	Bentuk	Daun berukuran 10-20 cm, bewarna hijau dengan bentuk menyerupai sayap kupu-kupu, bagian pangkal membulat ganda (seperti pangkal hati) dan bagian ujungnya pun ganda melonjong.
2	Warna	Hijau
3	Rasa	Asam
4	Bau	Khas

Pemeriksaan Mikroskopik Daun Kupu-kupu (*Bauhinia purpurea* L.)

Pemeriksaan mikroskopik serbuk simplisia bertujuan untuk melihat fragmen pengenal pada Daun Kupu-kupu. Berdasarkan dari hasil pemeriksaan secara mikroskopik terlihat adanya Epidermis atas dengan Stomata, Serabut Skrelenkim, Kristal Kalsium Oksalat, Mesofil dengan Serabut Sklerenkim.

Penentuan Rendeman

Dari 500 gram serbuk simplisia Daun Kupu-kupu diperoleh rendemen ekstrak kental etanol 96% sebanyak 82,5864 g (16,517%).

Pemeriksaan Karakteristik Simplisia

Karakterisasi merupakan suatu langkah awal untuk mengendalikan mutu simplisia agar dapat diperoleh bahan baku seragam yang akhirnya dapat menjamin efek farmakologi tanaman tersebut (BPOM, 2005). Parameter mutu simplisia mencakup penetapan kadar air, penetapan kadar abu total, penetapan kadar abu tidak larut asam, penetapan kadar sari larut air dan penetapan kadar sari larut etanol. Hasil dari karakterisasi serbuk simplisia Daun Kupu-kupu tertera pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Karakterisasi Simplisia Daun Kupu-kupu

No.	Parameter	Hasil (%)	Syarat MMI (%)
1	Kadar air	3,33	< 10
2	Kadar abu total	3,68	< 4,9
3	Kadar abu tidak larut asam	0,55	< 1,7
4	Kadar sari larut air	24,43	> 15
5	Kadar sari larut etanol	8,03	> 4,5

Penetapan kadar air adalah pengukuran kandungan air pada simplisia yang telah dikeringkan dan diserbukkan. Tujuan penetapan kadar air adalah memberikan batasan minimal rentang besarnya kandungan air dalam serbuk simplisia tersebut (Ditjen POM, 2000). Persyaratan kadar air simplisia menurut parameter standar yang berlaku adalah tidak lebih dari 10%. Hasil penetapan kadar air untuk simplisia daun kupu-kupu adalah 3,33 %. hal ini berarti simplisia Daun Kupu-kupu memenuhi persyaratan kadar air.

Penetapan kadar abu total adalah suatu parameter dimana bahan simplisia dipanaskan pada temperatur dimana senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap sehingga tinggal unsur mineral dan anorganik. Penetapan kadar abu total bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak (Ditjen POM, 2000). Persyaratan kadar abu simplisia menurut parameter standar yang berlaku adalah tidak lebih dari 4,9 %, hasil penetapan kadar abu total untuk simplisia daun kupu-kupu adalah 3,68 %. Hal ini berarti simplisia daun kupu-kupu memenuhi persyaratan kadar abu total. Abu yang diperoleh pada penetapan kadar abu selanjutnya dididihkan dengan 25 ml asam klorida selama 5 menit, bagian tidak larut asam dikumpulkan, disaring melalui kertas saring bebas abu, dicuci dengan air panas lalu dipijarkan hingga bobot tetap kemudian ditimbang. Persyaratan kadar abu tidak larut asam adalah tidak lebih dari 1,7

% . Hasil penetapan kadar abu tidak larut asam pada daun kupu-kupu adalah 0,55 %, dimana hasil tersebut memenuhi persyaratan kadar abu tidak larut asam. Kadar abu tak larut asam ini menunjukkan jumlah abu yang diperoleh dari faktor eksternal, bersumber dari pengotor yang berasal dari pasir atau tanah silikat (Depkes RI, 2000).

Penetapan kadar sari yang larut dalam air dan etanol bertujuan memberikan gambaran awal jumlah senyawa kandungan yang dapat tersari oleh pelarut air dan tenal. Pada uji kadar sari larut air dilakukan dengan menimbang 5 gram serbuk simplisia Daun Kupu-kupu kemudian dimaserasi selama 24 jam dengan 100 ml kloroform dan air menggunakan labu bersumbat sambil dikocok selama 6 jam pertama kemudian dibiarkan selama 18 jam, disaring dan 20 ml filtrat yang diperoleh diuapkan hingga kering dalam cawan yang telah ditara. Residu dipanaskan pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Kemudian kadar dihitung dalam persen senyawa yang larut dalam air terhadap ekstrak awal (Ditjen POM, 2000). Berdasarkan parameter standar yang berlaku, kadar sari larut air tidak kurang dari 15 %. Kadar sari larut air daun kupu-kupu yang diperoleh adalah 24,43 %. Penetapan kadar sari larut air dibandingkan dengan kadar sari larut etanol, menunjukkan bahwa jumlah senyawa polar yang larut dalam pelarut air lebih besar dibandingkan dengan senyawa non polar yang larut dalam pelarut etanol, dan masih memenuhi persyaratan yang disyaratkan.

Hasil Ekstraksi Daun Kupu-kupu

Ekstraksi merupakan suatu metode pemisahan suatu zat yang didasarkan pada perbedaan kelarutan terhadap dua cairan tidak saling larut yang berbeda, biasanya yaitu air dan yang lainnya berupa pelarut organik. Ada beberapa metode yang dapat dilakukan dalam ekstraksi, salah satu yang paling umum dilakukan adalah metode maserasi. Maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi yang paling umum dilakukan dengan cara memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam suatu wadah inert yang ditutup rapat pada suhu kamar. Penggunaan metode maserasi adalah untuk menghindari resiko rusaknya senyawa-senyawa dalam tanaman yang bersifat termolabil (Tetti, 2014).

Pada penelitian ini menggunakan metode ekstraksi maserasi dengan pelarut etanol 96%. Pemilihan pelarut yang sesuai merupakan faktor penting dalam proses ekstraksi. Pelarut yang digunakan adalah pelarut yang dapat menyari sebagian besar metabolit sekunder yang diinginkan dalam simplisia (Depkes RI, 2008). Maserasi menggunakan pelarut etanol 96% dikarenakan etanol 96% merupakan pelarut yang bersifat universal yang mampu menarik senyawa polar maupun non polar (senyawa kurang polar). Ekstrak kental yang diperoleh dari hasil maserasi sebanyak 82,5864 gram dari 500 gram serbuk simplisia dengan rendemen 16,517 % dengan ekstrak yang berbentuk cairan kental, berwarna hijau kehitaman dan memiliki bau yang khas.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan salah satu cara yang dapat dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder suatu bahan alam. Skrining fitokimia dapat dilakukan, baik secara kualitatif, semi kuantitatif, maupun kuantitatif sesuai dengan tujuan yang diinginkan. Metode skrining fitokimia secara kualitatif dapat dilakukan melalui reaksi warna dengan menggunakan suatu pereaksi tertentu (Kristianti *et al.*, 2008). Skrining Fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder dalam bentuk serbuk dan ekstrak etanol Daun Kupu-kupu. Hasil skrining fitokimia dapat dilihat pada tabel 3.

Berdasarkan tabel 3 hasil skrining fitokimia serbuk dan ekstrak etanol Daun Kupu-kupu menunjukkan adanya senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, steroid, polifenol dan glikosida. Pada uji senyawa alkaloid, hasil positif pada pereaksi Mayer ditandai dengan terbentuknya endapan putih, pada pereaksi Dragendorff terdapat endapan berwarna merah atau jingga sedangkan pada pereaksi Bouchardat terdapat endapan berwarna

coklat (Septia Ningsih *et al.*, 2020). Alkaloid dianggap positif apabila 2 dari tiga pereaksi terbentuk endapan atau terjadi perubahan warna, yang berarti serbuk simplisia dan ekstrak etanol Daun Kupu-kupu positif mengandung alkaloid.

Tabel 3. Hasil Skrining Fitokimia Serbuk dan Ekstrak Etanol Daun Kupu-Kupu

No	Golongan Senyawa	Serbuk	Ekstrak Etanol
1	Alkaloid		
	- Mayer	+	+
	- Dragendorf	+	+
	- Bouchardat	+	+
2	Flavonoid	+	+
3	Saponin	+	+
4	Tanin	+	+
5	Steroid/Triterpenoid	+ Steroid	+ Steroid
7	Glikosida	+	+

Keterangan :

- : Tidak mengandung metabolit sekunder

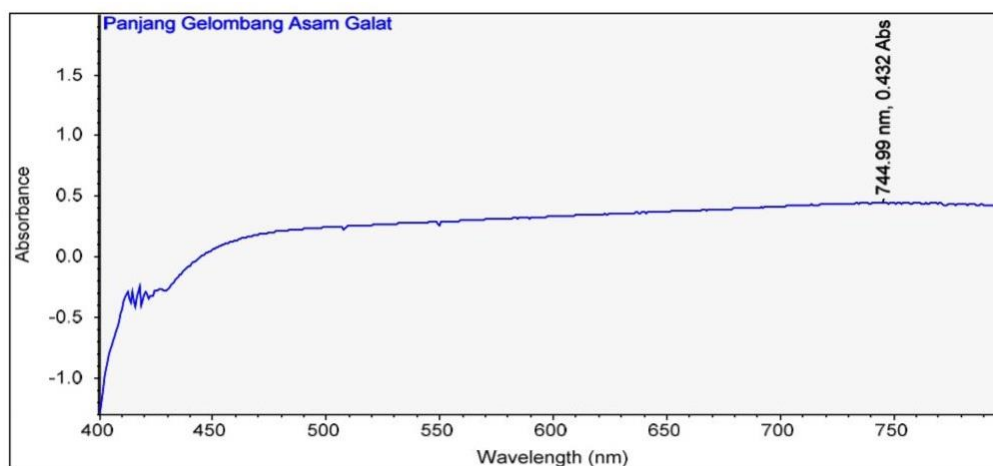
+ : Mengandung metabolit sekunder

Pada uji flavonoid, terbentuknya warna hitam kemerahan, kuning atau jingga menunjukkan hasil positif flavonoid. Dari uji flavonoid pada serbuk simplisia daun kupu-kupu diperoleh hasil yang positif karena terbentuknya warna kuning. Sedangkan pada ekstrak etanol terbentuk warna jingga. Pada uji saponin serbuk simplisia dan ekstrak etanol Daun Kupu-kupu menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya busa dan dapat bertahan selama 10 menit serta tidak hilang setelah penambahan HCl. Timbulnya busa pada uji saponin menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan untuk membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Marliana *et al.*, 2005). Hasil positif pada uji tanin ditandai dengan terbentuknya warna hijau kehitaman setelah penambahan FeCl_3 1%. Hal ini dapat terjadi karena penambahan FeCl_3 pada tanin akan membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe^{3+} (Septia Ningsih *et al.*, 2020). Serbuk simplisia dan ekstrak etanol daun kupu-kupu menunjukkan adanya senyawa tanin.

Warna biru sampai hijau pada sampel menunjukkan hasil positif senyawa steroid, sedangkan untuk warna merah kecoklatan sampai ungu menyatakan hasil positif uji terpenoid (Septia Ningsih *et al.*, 2020). Serbuk simplisia dan ekstrak etanol Daun Kupu-kupu menunjukkan warna hijau yang berarti positif steroid. Hal ini terjadi karena senyawa steroid bereaksi dengan H_2SO_4 sehingga menghasilkan warna hijau kebiruan. Pada hasil skrining glikosida dengan metode refluks. Serbuk simplisia dan ekstrak etanol daun kupu-kupu menunjukkan hasil positif senyawa glikosida. Hal ini ditandai dengan terbentuknya cincin ungu pada batas kedua cairan yang menunjukkan adanya glikosida. Sedangkan pada fraksi n-heksan menunjukkan hasil negatif.

Hasil Pengukuran Panjang Gelombang Absorbansi Maksimum

Penetapan kadar fenolik total diawali dengan mengukur panjang gelombang maksimum dari baku asam galat dengan menggunakan metode *Folin ciocalteu* dengan bantuan instrumen Spektrofotometer UV-Vis dengan konsentrasi 8 mcg/ml dan diperoleh panjang gelombang maksimum 744 nm dengan absorbansi 0,432. Menurut (Gandjar dan Rohman, 2007) warna komplementer untuk pengujian fenolik yaitu bewarna hijau kebiruan dengan rentang panjang gelombang yaitu 744 nm. Hasil panjang gelombang dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Panjang Gelombang Asam Galat

Hasil Pengukuran *Operating Time*

Operating time bertujuan untuk mengetahui waktu paling stabil dari pengukuran senyawa yang diperoleh saat absorbansi. *Operating time* dilakukan dengan mengukur antara waktu pengukuran dengan absorbansi larutan. Penetapan *operating time* perlu dilakukan untuk meminimalisir terjadinya kesalahan saat pengukuran (Suharyanto dan Prima, 2020). Larutan baku yang akan diukur absorbansinya dalam penelitian ini merupakan senyawa kompleks yang membutuhkan waktu agar terbentuk hasil yang stabil. Penentuan *Operating Time* dilakukan dengan menggunakan larutan baku dengan penambahan reagen *Folin Ciocalteu* yang diukur pada panjang gelombang 610-750 nm.

Hasil Penetapan Kurva Kalibrasi Asam Galat dengan Reagen *Folin Ciocalteu*

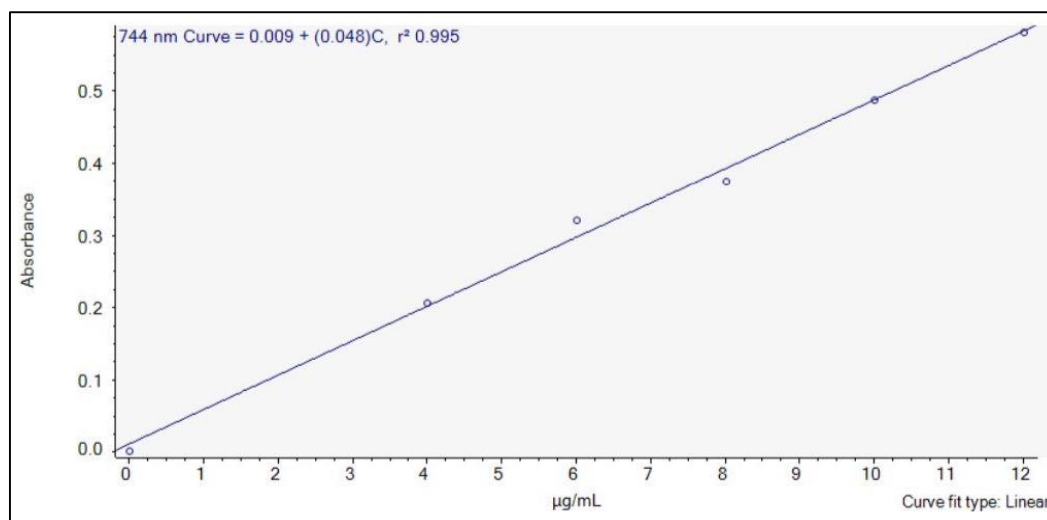
Penetapan kurva kalibrasi dengan berbagai seri konsentrasi dari larutan baku asam galat yaitu 4 µg/ml, 6 µg/ml, 8 µg/ml, 10 µg/ml dan 12 µg/ml yang telah direaksikan dengan reagen *Folin Ciocalteu*. Masing-masing seri konsentrasi diukur pada panjang gelombang 744 nm sehingga diperoleh kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi asam galat (µg/ml) dengan absorbansi 0,2 – 0,6 Hasil dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Nilai Absorbansi Larutan Baku Asam Galat

Konsentrasi	Absorbansi	Persamaan Regresi
0	0	$y = 0,0478x + 0,0093$
4	0,205	
6	0,321	
8	0,374	
10	0,486	
12	0,582	

Tabel 4 menunjukkan nilai absorbansi larutan baku asam galat dari berbagai konsentrasi. Dari data di atas diperoleh kurva kalibrasi seperti ditunjukkan pada gambar 2.

Persamaan regresi yang diperoleh dari larutan baku asam galat yaitu $y = 0,0478x + 0,0093$ dengan koefisien korelasi sebesar 0,9951. Nilai linieritas menunjukkan korelasi antara konsentrasi dan hasil absorbansinya.

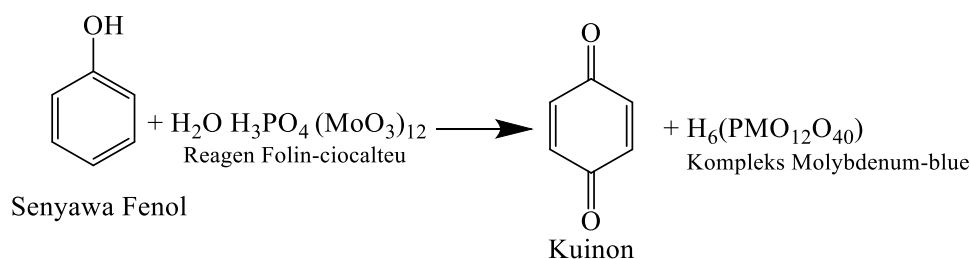


Gambar 2. Kurva Kalibrasi Asam Galat

Hasil Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Daun Kupu-kupu

Penetapan kadar fenolik dengan metode *Folin Ciocalteu* dengan bantuan instrumen Spektrofotometer UV-Vis. *Folin Ciocalteu* akan membentuk kompleks molibdenum tungsten yang berwarna biru dikarenakan reduksi senyawa fosfotungstat-fosfomolibdat oleh senyawa fenolik dan semakin pekat warna biru yang dihasilkan menunjukkan semakin banyaknya kandungan senyawa fenol yang terdeteksi. Reaksi antara senyawa fenolik dengan *Folin Ciocalteu* terjadi pada suasana basa agar membentuk ion fenolat dari senyawa fenolik. Oleh karena itu, untuk memberi suasana basa ditambahkan Na_2CO_3 agar terjadi reaksi reduksi *Folin Ciocalteu* oleh gugus hidroksil dari fenolik yang terdapat dalam sampel (Febriyanto *et al.*, 2021).

Reaksi yang terjadi adalah reaksi reduksi-oksidasi. Senyawa fenolik mereduksi fosfomolibdat - fosfotungstat dalam *Folin-Ciocalteu* membentuk molybdenum yang berwarna biru. Adapun reaksi yang terjadi antara senyawa fenol dan reagen *Folin-Ciocalteu*, yaitu:



Gambar 3. Reaksi Reagen Folin-Ciocalteu dengan Senyawa Fenol

Pada penelitian ini digunakan pelarut yang berbeda kepolarannya. Proses ekstraksi dan fraksinasi dengan pelarut organik yang berbeda tingkat kepolarannya akan mempengaruhi jenis kadar senyawa boaktif. Pelarut yang berbeda ini akan berpengaruh terhadap perolehan senyawa fenolik pada daun kupu-kupu (Pratiwi dan Wardani, 2022). Penetapan kadar fenolik total dihitung dengan menggunakan persamaan garis regresi linier $y = ax + b$ yang diperoleh dari hasil kurva kalibrasi larutan baku asam galat sehingga didapat nilai konsentrasi (x). Nilai x kemudian akan disubstitusikan dalam rumus perhitungan kadar fenolik total. Penetapan kadar fenolik tota; dilakukan dengan replikasi sebanyak 6 kali pengulangan dan diambil nilai rata-rata. Berdasarkan hasil yang diperoleh diketahui kadar fenolik total dari ekstrak etanol diperoleh kadar rata-rata fenolik total ekstrak etanol 96% daun kupu-kupu adalah $209,56 \pm 0,5398$ mg GAE/g. Senyawa organik dari bagian tanaman mempunyai afinitas yang berbeda-

beda terhadap sifat polaritas pelarut yang digunakan, oleh sebab itu untuk mengekstrak senyawa-senyawa fenolik yang terkandung dalam jaringan tanaman sebaiknya digunakan pelarut yang berbeda-beda tingkat polaritasnya (Ginting *et al.*, 2015). Sebaliknya menurut (Ansel, 1989), pelarut etanol dapat melarutkan komponen yang bersifat polar, semi polar, dan non polar.

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* dan *Escherichia Coli*

Pada uji ini dimulai dari sterilisasi alat dan media, tujuan dilakukannya sterilisasi yaitu agar semua alat dan media yang digunakan terbebas dari kontaminasi yang tidak diinginkan selama proses pengujian. Sterilisasi alat dilakukan dengan menggunakan oven pada suhu 180°C selama 1 jam, untuk media *Mueller Hilton Agar* (MHA) disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Metode yang digunakan pada uji ini yaitu metode difusi agar dengan menggunakan kertas cakram, karena kemudahan pengukuran luas zona hambat yang terbentuk karena bakteri beraktivitas di atas permukaan media dan memiliki penentuan aktivitas didasarkan pada kemampuan difusi dari zat antimikroba dalam lempeng agar yang telah di inokulasi dengan mikroba uji. Media yang digunakan adalah media MHA, MHA merupakan media pertumbuhan dan sebagai sumber nutrisi bagi pertumbuhan bakteri aerob maupun anaerob, dan merupakan media terbaik untuk pemeriksaan sensibilitas tes khususnya pada metode difusi Kirby-Bauer (Atmojo, 2016).

Pada penelitian ini digunakan bakteri uji *Staphylococcus aureus* jenis bakteri gram positif dan *Escherichia coli* gram negatif. Hal ini terbukti dari pengujian identifikasi bakteri dengan pewarnaan gram yang menghasilkan warna ungu dari kristal violet pada bakteri gram positif *Staphylococcus aureus* dengan bentuk sel bulat bergerombol seperti buah anggur. Bakteri gram positif setelah dilakukan proses pewarnaan gram akan menghasilkan warna ungu, ketika diamati dibawah mikroskop dikarenakan dinding sel bakteri gram positif tersusun atas peptidoglikan yang tebal sehingga mampu mempertahankan zat warna kristal violet meskipun telah diberikan larutan pemucat (Hamidah *et al.*, 2019). Sedangkan untuk *Escherichia coli* terbentuk warna merah. Bakteri Gram negatif berwarna merah sebab kompleks warna tersebut larut pada saat pemberian larutan alkohol, sehingga mengambil warna merah safranin (Nurhidayati *et al.*, 2015)

Prinsip dasar penelitian ini yaitu pemberian ekstrak etanol yang diujikan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* ke dalam media agar sehingga diharapkan terjadi penghambatan pertumbuhan bakteri. Bakteri yang digunakan harus diremajakan terlebih dahulu, peremajaan bakteri dilakukan untuk mendapatkan bakteri yang aktif, karena bakteri sebelumnya berada dalam lemari pendingin dalam kondisi inaktif. Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* diambil dengan menggunakan ose steril dari kultur murninya. Lalu diinokulasikan dalam media agar miring, diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam (Retnaningsih *et al.*, 2017). Selanjutnya bakteri yang telah diremajakan disuspensikan dalam larutan NaCl fisiologis (0,9% b/v). Penambahan NaCl fisiologis 0,9% bertujuan agar sel bakteri tetap dalam keadaan isotonis. Penelitian ini menggunakan pembanding kontrol positif dan kontrol negatif. Kontrol positif yang digunakan yaitu sediaan antibiotik Siprofloksasin sebanyak 10 mg dalam 1 mL DMSO (Dimetil Sulfoksida), pemilihan siprofloksasin sebagai kontrol positif karena siprofloksasin merupakan golongan obat flouoroquinolon yang memiliki berfungsi untuk menghambat sintesis DNA bakteri sehingga menghambat resistensi mikroba dan merupakan antimikroba berspektrum luas (Levinson, 2008). Sedangkan kontrol negatif yang digunakan yaitu DMSO Hal ini dikarenakan pada uji antibakteri DMSO telah terbukti tidak memberikan penghambatan pada bakteri uji. Penggunaan kontrol negatif bertujuan untuk memastikan bahwa zona hambat yang dihasilkan bukan berasal dari pelarut yang digunakan.

Selanjutnya dilakukan preparasi sampel uji, media dituangkan ke dalam cawan Petri 15 mL ditunggu hingga memadat. Suspensi bakteri dituang dan diratakan dengan *cotton swab* steril. Pada sampel uji masing-masing konsentrasi dipipet sebanyak 10 μ L lalu ditetesi pada kertas cakram steril, setelah itu kertas cakram diletakkan pada media agar. Setelah penanaman kertas cakram pada cawan Petri diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Selanjutnya dilakukan pengamatan dengan cara mengukur diameter zona hambat yang ditunjukkan dengan adanya zona bening disekitar cakram. Kategori daya hambat ekstrak etanol yang diperoleh dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Kategori Daya Hambat Ekstrak Etanol

Sampel	Bakteri Uji	Konsentrasi	Zona Hambat (mm)			Rata-Rata	Kategori
			P1	P2	P3		
Ekstrak Etanol	<i>Staphylococcus aureus</i>	50%	14,8	13,9	15,55	14,75	Kuat
		75%	15,8	15,9	16,05	15,92	Kuat
		100%	19	19,35	19	19,12	Kuat
	<i>Escherichia coli</i>	50%	7,5	8,1	8,9	8,16	Sedang
		75%	10,4	11,05	11,45	10,98	Kuat
		100%	12,1	14	14,55	13,57	Kuat
Kontrol	<i>Staphylococcus aureus</i>	Kontrol (+) Siprofloksasin	38,8	39,95	40,2	39,65	Sangat Kuat
		Kontrol (-) DMSO	0	0	0	0	-
	<i>Escherichia coli</i>	Kontrol (+) Siprofloksasin	22,3	20,85	24,7	22,63	Sangat Kuat
		Kontrol (-) DMSO	0	0	0	0	-

Keterangan :

P1 : Pengulangan 1

P2 : Pengulangan 2

P3 : Pengulangan 3

Berdasarkan hasil potensi antibakteri ekstrak etanol daun kupu-kupu terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi ekstrak 50, 75 dan 100% diperoleh rata-rata zona hambat sebesar 14,75 mm, 15,92 mm dan 19,12 mm. Selanjutnya hasil potensi antibakteri ekstrak etanol daun kupu-kupu terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan konsentrasi ekstrak 50, 75 dan 100% diperoleh zona hambat sebesar 8,16 mm, 10,98 mm, 13,57 mm. Pada kontrol positif menggunakan antibiotik siprofloksasin terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki daya hambat sebesar 39,65 mm. Sedangkan kontrol positif terhadap bakteri *Escherichia coli* didapatkan daya hambat sebesar 22,63 mm. Pada kontrol negatif tidak memiliki daya hambat. Rata-rata diameter zona hambat terbentuk paling besar diperoleh dari konsentrasi 100% hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi sampel yang digunakan semakin besar pula pengaruh terhadap pertumbuhan bakteri (Vivi *et al.*, 2015).

Rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk, diketahui sampel ekstrak etanol daun kupu-kupu terhadap *Staphylococcus aureus* memiliki zona hambat lebih besar dibandingkan rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk pada bakteri *Escherichia coli*, hal ini dikarenakan jenis bakteri gram positif memiliki struktur dinding sel yang lebih sederhana dibandingkan dengan bakteri gram negatif (Kartika, 1999). Menurut (Pelczar dan Chan, 1986) menyatakan bahwa sel bakteri gram negatif mempunyai struktur yang berlapis serta kandungan lemak yang relatif lebih tinggi (11-12%), sehingga lebih tahan terhadap perubahan lingkungan yang disebabkan oleh bahan kimia. Sedangkan jenis bakteri gram positif secara umum mempunyai dinding sel lebih sederhana yaitu 90% dimana dinding selnya terdiri dari lapisan peptidoglikan sedangkan lapisan lainnya adalah asam teikoat (Fardiaz, 1989). Hal inilah yang

diduga mengakibatkan dinding sel bakteri gram positif mudah dirusak oleh senyawa antibakteri dari ekstrak etanol daun kupu-kupu dari pada bakteri gram negatif. (Purwanto, 2015), menyatakan besarnya diameter zona bening yang terbentuk dipengaruhi oleh tinggi rendahnya senyawa atau zat aktif yang terkandung di dalam suatu sampel. Selain itu, senyawa-senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan steroid ekstrak etanol dapat bekerja sebagai antibakteri sehingga menghasilkan zona hambat yang terbentuk pada media.

Ekstrak Etanol 96% Daun Kupu-kupu (*Bauhinia purpurea* L.) terhadap *Staphylococcus Aureus* dan *Escherichia Coli*

Data hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dianalisis secara statistik menggunakan metode One Way Anova (analisis varians satu arah) dengan program SPSS (Statistical Package for the Social Science) 25 dengan taraf kepercayaan 95% atau $\alpha = 0,05$. Oleh karena itu, dilakukan uji normalitas untuk memastikan data berdistribusi normal dan uji varians karena data harus homogen. Pada hasil uji normalitas saphiro-wilk dan analisis homogenitas ekstrak etanol daun kupu-kupu yang menunjukkan bahwa data memiliki nilai $p > 0,05$ berarti data tersebut terdistribusi normal dan data penelitian memiliki varian yang sama. Data penelitian yang terdistribusi normal dan memiliki varian yang sama sehingga dapat dilakukan pengujian dengan menggunakan *One Way Anova*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa hasil uji *One Way Anova* terhadap kelompok perlakuan ekstrak etanol daun kupu-kupu memiliki nilai $p = 0,000$. Karena nilai $p < 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi pemberian ekstrak etanol berpengaruh terhadap zona hambat atau pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwanya Kadar rata-rata fenolik total ekstrak etanol 96% daun kupu-kupu adalah $209,56 \pm 0,5398$ mg GAE/g. Dan data hasil uji antibakteri dianalisa statistika menggunakan uji One Way Anova menunjukkan adanya pengaruh perlakuan terhadap pertumbuhan bakteri uji dilihat dari nilai $P < 0,005$. Hasil Penelitian menunjukkan ekstrak etanol daun kupu-kupu mempunyai aktivitas antibakteri paling tinggi pada konsentrasi 100% terhadap *Staphylococcus aureus* dengan diameter zona hambat kategori kuat yaitu 19,12 mm sedangkan pada *Escherichia coli* termasuk kategori kuat dengan diameter zona hambat yaitu 13,57 mm.

UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji syukur penulis ucapkan kepada Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dengan judul “Penetapan Kadar Fenolik Total Dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kupu-Kupu (*Bauhinia Purpurea* L.)” sebagai syarat memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Fakultas Farmasi Universitas Muslim Nusantara Al Washliyah Medan.

DAFTAR PUSTAKA

- Ansel, H.C. (1989). Pengantar bentuk sediaan farmasi, diterjemahkan oleh Farida Ibrahim, Asmanizar, Iis Aisyah. Jakarta: UI Press.
- Astria, Budhi, S. dan Sisillia, L. (2013). Kajian Etnobotani Tumbuhan Obat Pada Masyarakat Dusun Semoncol Kecamatan Balai Kabupaten Sanggau. *Jurnal Hutan Lestari*, 1(3): 399–407.
- Atmojo, A.T. (2016). Media Mueller Hinton Agar. *Indonesian Medical Laboratory*.

- Avinash, P., Attitalla, I.H., Ramgopal, M., Ch, S. dan Balaji, M. (2011). In Vitro Antimicrobial and Antioxidant Activities of Bark Extracts of Bauhinia purpurea. *African Journal of Biotechnology*, 10(45): 9160–9164.
- Avinash, A., et al. (2011). Antimicrobial activity of Bauhinia purpurea extracts. *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development*, 9(4), 554-559.
- BPOM RI. (2005). Kriteria dan Tata Laksana Pendaftaran Obat Tradisional, Obat Herbal Terstandar dan Fitofarmaka. Jakarta: Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia, 02-04.
- Chandrashekar, K. S., & Kumar, T. (2011). Bauhinia purpurea Linn.: A review of its ethnobotany, phytochemical and pharmacological profile. *Research Journal of Medicinal Plant*, 5(4), 420-431.
- Cowan MM. 1999. Plants Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Review*, 12(4): 564-582.
- Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 564-582.
- Depkes RI. (2000). Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Depkes RI. (2008). Profil Kesehatan Republik Indonesia Tahun 2007. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dhale, D. A. (2011). Phytochemical screening and antimicrobial activity of Bauhinia variegata Linn. *Journal of Ecobiotechnology*, 3(9): 04-07.
- Ditjen POM. (2000). Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Jakarta: Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan Direktorat Pengawasan Obat Tradisional.
- Djide, M. Natsir, dan Sunarti. (2008). Dasar-Dasar Mikrobiologi Farmasi. Makassar: Lembaga Penerbitan UnHas.
- Febriyanto, Isneni, N, dan Muliastari, H. (2021). Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Kulit Buah Kopi Robusta (*Coffea canephora* L) Di Pulau Lombok. 2(2),89-95.
- Fitmawati, F., Sofiyanti, N., Roza, R.M., Isnaini, I., Irawan, Y.R., Winata, D.R. & Dewi, A.P.K. (2017). Antioxidant Activity of Dominant Plants Species in Obat Pahit from Lingga Malay Ethnic in Riau Archipelago. *Biosaintifika: Journal of Biology and Biology Education*, 9(2): 325–331.
- Gandjar, I. G., dan Rohman, A. (2007). Kimia Farmasi Analisis. Yogyakarta : Pustaka Pelajar.
- Ginting, A.F., Suryanto, E., Momuat, L.I. 2015. Aktivitas antioksidan ekstrak air dan etanol dari empelur batang sagu baruk (*Arenga microcarpha*). *Chemistry Progress*, 8(2), 63-70.
- Hamidah MN, Rianingsih L, dan Romadhon. (2019). Aktivitas Antibakteri Isolat Asam Laktat Dari Peda Dengan Jenis Ikan Berbeda Terhadap *E.coli* dan *S. aureus*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Perikanan*;1(2):11-21.
- Krishnaveni, M. (2015). Phytochemical Study of Bauhinia purpurea Linn. Stem.
- Krishnaveni, M. (2014). Antioxidant potential of Bauhinia purpurea (L) leaf. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(7), 558-560.
- Kristianti, A. N., Aminah, N. S., Tanjung, M., dan Kurniadi, B. (2008). Buku Ajar Fitokimia. Surabaya: Airlangga University Press.
- Levinson W. (2008). Review of Medical Microbiology. America: The McGraw-Hill Companies, p. 25-26, 78-79.
- Lukaraja, W., Lessy, W., Seumahu, C. A., & Pesik, A. (2020). Aktivitas Antibakteri Dan Penghambatan Biofilm Ekstrak Methanol Kulit Batang Pohon Waru (*Hibiscus Tiliaceus*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Streptococcus Mutans. *Rumphius Pattimura Biological Journal*, 2(2), 37-43.
- Lukaraja, D., et al. (2020). Phenolic compounds as natural antioxidants and antibacterial agents. *Phytochemistry Reviews*, 19(1), 151-163.

- Marliana SD, Suryanti V, dan Suyono. (2005). Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. FMIPA Universitas Sebelas Maret (UNS) Surakarta. *Biofarmasi* 3(1): 26-31.
- Negi, B. S., Dave, B. P., & Agarwal, Y. K. (2012). Evaluation of antimicrobial activity of *Bauhinia purpurea* leaves under in vitro conditions. *Indian Journal of Microbiology*, 52(3), 360-365.
- Nurhidayati S, Faturrahman, dan Ghazali M. (2015). Deteksi Bakteri Patogen Yang Berasosiasi Dengan *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Bergejala Penyakit Ice-Ice. *Jurnal Sains Teknologi dan Lingkungan*. Vol ;1(2):24-30.
- Pelczar, Michael J., dan Chan, E. C. S. (1986). *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Universitas Indonesia, UI-Press.
- Pratiwi, D, dan Wardaniati, I. (2022). Penetapan Kadar Fenolik Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Rimpang Kunyit Pada Berbagai Fraksi. *Jurnal Iimiah Farmasi*, 11(1), 41-48.
- Purwanto, S. (2015). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Aktif Ekstrak Daun Senggani (*Melastoma malabathbunciusriucum* L.) Terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal Keperawatan Sriwijaya*. Vol, 2. No. 2.
- Ravindra G. Mali, Shailaja G. Mahajan and Anita A.Mehta. (2008). Evaluation of *Bauhinia variegata* Linn Stem Bark for Anthelmintic and Antimikrobacterial. *Journal of Natural Remedies*. 8(1) 39-43.
- Retnaningtyas et al. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Daun Kopi Arabika. 9(1), 26-32.
- Sari, F.C. (2017). Efektivitas Ekstrak Daun Bunga Kupu-Kupu (*Bauhinia Purpurea* L.) dan Taurin Terhadap Antidiabetes dan Jumlah Spermatozoa Mencit Jantan (*Mus musculus* L.) yang di Induksi Alokasan. Thesis Bandar Lampung: Universitas Lampung.
- Septia Ningsih, D., Henri, H., Roanisca, O., dan Gus Mahardika, R. (2020). Skrining Fitokimia dan Penetapan Kandungan Total Fenolik Ekstrak Daun Tumbuhan Sapu-sapu (*Baeckea frutescens* L.) *Biotropika : Journal of Tropical Biology*, 8(3) : 178-185.
- Shahwar, D., Shafiq-ur-Rehman, Ahmad, N., Ullah, S. dan Raza, M.A. (2010). Antioxidant Activities of The Selected Plants From The Family Euphorbiaceae, Lauraceae, Malvaceae and Balsaminaceae. *African Journal of Biotechnology*, 9(7): 1086–1096.
- Suharyanto dan Prima, D. A. N. (2020). Penetapan Kadar Flavonoid Total pada Juice Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea Batatas* L.) yang Berpotensi Sebagai Hepatoprotektor dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 4(2), 110-119.
- Sunarti, S., et al. (2008). Antibacterial and antioxidant activities of *Bauhinia purpurea* bark. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2(9), 243-250.
- Syukur, S., et al. (2011). Evaluation of antioxidant activity in *Bauhinia purpurea* using DPPH assay. *International Journal of Biological Sciences*, 7(4), 450-455.
- Syukur, R., Alam, G., Mufidah, A.R. dan Tayeb, R. (2011). Aktivitas Antiradikal Bebas Beberapa Ekstrak Tanaman Familia Fabaceae Radical. *JST Kesehatan*, 1(1): 61–67.
- Tetti, M. (2014). Ekstraksi, Pemisahan Senyawa , dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*, 7 (2): 361-367.
- Vijayan, R., Joseph, S. dan Mathew, B. (2019). Anticancer, Antimicrobial, Antioxidant, and Catalytic Activities of Green-Synthesized Silver and Gold Nanoparticles Using *Bauhinia purpurea* Leaf Extract. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 42(2): 305–319.
- Vijayan, P., et al. (2019). *Phytochemical analysis and antioxidant activity of Bauhinia purpurea* leaves. *Pharmacognosy Journal*, 11(3), 528-532.

Zakaria, Z.A., Abdul Hisam, E.E., Rofiee, M.S., Norhafizah, M., Somchit, M.N., Teh, L.K. dan Salleh, M.Z. (2011). *In Vivo Antiulcer Activity of The Aqueous Extract of Bauhinia purpurea Leaf*. *Journal of Ethnopharmacology*, 137(2): 1047–1054.

Zakaria, S., et al. (2011). *Antioxidant and antimicrobial activity of methanol extracts of Bauhinia purpurea leaves*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3(5), 34-38.