

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN KERSEN (*Muntingia calabura* L.) HASIL MASERASI DAN UAE (ULTRASONIC ASSISTED EXTRACTION) DENGAN METODE DPPH (2,2-DIFENIL-1-PIKRILHIDRAZIL)

ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST OF KERSEN LEAF EXTRACT (*Muntingia calabura* L.) RESULTS OF MACERATION AND UAE (ULTRASONIC ASSISTED EXTRACTION) BY DPPH METHOD (2,2-DIPHENYL-1-PIKRILHYDRAZYL)

Asyifa Nindyasari¹, Muhammad Haqqi Hidayatullah^{1*}

¹Laboratorium Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Sukoharjo, Indonesia

*E-mail correspondence : mhh996@ums.ac.id

Dikirim : 2 Oktober 2024, Disetujui : 28 November 2024, Diterbitkan : 30 November 2024

Abstrak

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menetralkan masalah radikal bebas. Tanaman kersen diketahui merupakan tanaman yang berkhasiat sebagai antioksidan alami yang biasa digunakan masyarakat sebagai obat tradisional. Salah satu senyawa yang terkandung dalam tanaman kersen adalah flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa antioksidan terbesar yang dapat mencegah kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan dua metode ekstraksi maserasi dan UAE dengan pelarut etanol dan n-heksana menggunakan metode DPPH yang akan dibaca menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis dengan harapan diperoleh perbandingan kadar aktivitas antioksidan dari daun kersen dan mengidentifikasi kandungan flavonoid total. Hasil penelitian uji flavonoid total dan pengujian aktivitas antioksidan dengan ekstrak etanol metode maserasi menghasilkan kadar flavonoid total sebesar 3,007 mgQe yang menandakan adanya kadar flavonoid yang tinggi dan pada aktivitas antioksidan memiliki kemampuan antioksidan yang sangat tinggi dengan nilai IC_{50} 22,501 ppm. Namun, berbanding terbalik dengan hasil total flavonoid ekstrak n-heksan metode UAE sebesar 0,454 mgQe yang menandakan kadar flavonoid total lebih sedikit dan memiliki aktivitas antioksidan yang rendah dengan nilai IC_{50} 69,065 ppm.

Kata Kunci: antioksidan, flavonoid, *Muntingia calabura* L., maserasi, *ultrasonic assisted extraction*

Abstract

Antioxidants are compounds that can neutralize free radical problems. The kersen plant is known to be a plant that is efficacious as a natural antioxidant that is commonly used by the community as a traditional medicine. One of the compounds contained in the kersen plant is flavonoids. Flavonoids are the largest antioxidant compounds that can prevent damage caused by free radicals. This study aims to compare two maceration and UAE extraction methods with ethanol and n-hexane solvents using the DPPH method which will be read using a UV-Vis spectrophotometer in the hope of obtaining a comparison of antioxidant activity levels from kersen leaves and identifying the total flavonoid content. The results of the total flavonoid test and antioxidant activity testing with ethanol extract maceration method produced a total flavonoid level of 3.007 mgQe which indicates a higher level of flavonoids and antioxidant activity has a very high antioxidant ability with an IC_{50}

value of 22.501 ppm. However, it is inversely proportional to the total result of flavonoids extracted from the UAE method of *n*-hexane extract of 0.454 mgQe which indicates that the total flavonoid levels are less and have low antioxidant activity with an IC₅₀ value of 69.065 ppm.

Keywords: antioxidants, flavonoids, *Muntingia calabura* L., maceration, ultrasonic assisted extraction

PENDAHULUAN

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menetralkan masalah radikal bebas yang mampu memutus reaksi rantai oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas dengan cara memberikan elektron kepada molekul radikal bebas (Mutammimah et al., 2022). Pada dasarnya tubuh manusia sudah mengandung antioksidan alami berupa enzim seperti superoksidas dismutase, katalase, dan glutathione peroksidase (Maharani et al., 2021). Flavonoid merupakan senyawa utama yang berperan sebagai antioksidan yang memiliki manfaat sebagai penangkal radikal bebas. Flavonoid mempunyai aktivitas antioksidan yang tinggi karena mempunyai gugus hidroksil yang tersubstitusi oleh orto dan para terhadap gugus -OH dan -OR. Aktivitas antioksidan pada flavonoid dapat mencegah kerusakan akibat reaksi kimia yang melibatkan radikal bebas (Husna et al., 2022).

Akibat adanya paparan radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh manusia secara berlebihan menyebabkan tubuh manusia membutuhkan antioksidan eksogen seperti vitamin A, C, E, flavonoid, isoflavon, antosianin, flavon, katekin, dan isokatekin, yang merupakan antioksidan yang dapat diperoleh oleh tubuh melalui suplemen dan makanan seperti buah maupun sayur yang merupakan alternatif alami yang dapat dijadikan sebagai sumber antioksidan yang dapat membantu tubuh mengurangi kerusakan oksidatif akibat radikal bebas (Rumyaan et al., 2022; Dewi et al., 2020). Tanaman kersen merupakan salah satu tumbuhan dengan kandungan antioksidan alami yang mudah ditemukan di lingkungan sekitar. Secara empiris masyarakat menggunakan tumbuhan kersen sebagai obat tradisional sebagai obat batuk, penyakit kuning, dan asam urat. Daun kersen mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid, triterpen, saponin, tanin, dan steroid.

Terdapat berbagai macam metode ekstraksi yang dapat dilakukan untuk mengetahui senyawa yang terkandung di dalam daun kersen yaitu, metode ekstraksi konvensional seperti maserasi dan refluks dan metode ekstraksi modern seperti UAE (*Ultrasonic Assisted Extraction*) dan MAE (*Microwave Assisted Extraction*). Hasil penelitian yang telah dilakukan menggunakan daun kersen menunjukkan nilai rendemen menggunakan metode UAE sebesar 18,09% (Isdiyanti et al., 2021). Hasil penelitian lain menggunakan metode ekstraksi maserasi selama 3 hari pada suhu kamar didapatkan kadar flavonoid sebesar 26,58% (Puspitasari & Proyogo, 2017). Perbedaan metode ekstraksi yang digunakan akan menghasilkan adanya perbedaan kadar suatu senyawa (Suhendar et al., 2020). Terdapat beberapa penelitian lain yang menunjukkan daun kersen mempunyai aktivitas antioksidan untuk menangkal radikal bebas. Penelitian yang telah dilakukan Sami et al. (2017) menggunakan ekstrak etanol daun kersen menggunakan metode DPPH diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 6,8249 ppm. Pada penelitian Siara et al. (2017) dengan membandingkan hasil uji antioksidan ekstrak etanol dan fraksi *n*-heksana didapatkan

IC₅₀ masing-masing yaitu, 19,632 ppm dan 34,376 ppm, keduanya masuk dalam kategori antioksidan sangat kuat.

Penelitian ini bertujuan membandingkan aktivitas antioksidan dua metode ekstraksi, yaitu maserasi dan UAE, dengan pelarut etanol dan n-heksana. Aktivitas antioksidan diukur dengan menggunakan metode DPPH, dan diukur juga kandungan flavonoid total daun kersen.

METODE PENELITIAN

Alat dan bahan

Timbangan analitik (Ohaus), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu), Mikropipet, Ultrasonicator Bath, rotary evaporator, alat maserasi, dan silika gel 254.

Daun kersen dilakukan determinasi di Laboratorium Biologi Universitas Muhammadiyah Surakarta yang dibuktikan dengan nomor surat 004/A.E-1/LAB.BIO/III/2024. Hasil determinasi menunjukkan bahwa daun kersen yang digunakan dalam penelitian dapat dipastikan bahwa tanaman yang diteliti adalah *Muntingia calabura L.*, etanol 70%, etanol p.a (Merck), kuersetin p.a (Merck), n-heksana p.a (Merck), natrium asetat p.a 1 M, AlCl₃ p.a 10%, etil asetat p.a, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) TCI.

Ekstraksi maserasi

Daun kersen yang telah disortasi cuci hingga bersih lalu dikeringkan menggunakan almari pengering dengan suhu 50 °C selama 24 jam. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan dua pelarut yaitu etanol dan n-heksana 500 mL. Sebanyak 500 gram simplisia daun kersen dimasukkan ke dalam maserator dan ditambahkan 5000 mL pelarut (1:10). Larutan diaduk selama 1 jam kemudian didiamkan selama kurang lebih 1 jam, lalu dikocok lagi selama 15 menit dan didiamkan selama 1 jam. Proses ini diulangi hingga 5 kali, kemudian larutan didiamkan selama 3 hari kemudian dipisahkan residu dan filtrat yang terbentuk. Filtrat yang terbentuk dikumpulkan kemudian diuapkan dengan rotary evaporator. Setelah itu, ekstrak yang didapatkan di waterbath selama 12 jam sehingga diperoleh ekstrak kental (Setiani *et al.*, 2017).

Ekstraksi Ultraviolet Assisted Extraction (UAE)

Limapuluh gram ekstrak daun kersen dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer. Kemudian sampel pertama dilarutkan dalam 500 mL pelarut etanol 70% (1:10) dan sampel kedua dilarutkan dalam 500 mL pelarut n-heksana (1:10). Kedua sampel diekstraksi dengan suhu secara bertingkat 30 °C selama 10 menit, 40 °C selama 20 menit, dan 50 °C selama 30 menit menggunakan ultrasonic bath dengan frekuensi 47 kHz.

Setelah dilakukan maserasi, larutan disaring dengan kertas whatman no.1. kemudian filtrat yang dihasilkan, diuapkan untuk memisahkan senyawa aktif biologis dari pelarut. Penguapan dilakukan menggunakan vacum evaporatory dengan tekanan 100 mbar, pada suhu 40-60 °C dengan kecepatan 100 rpm. Setelah itu, ekstrak yang didapatkan dikeringkan dengan waterbath selama 12 jam dengan suhu 40 °C hingga didapatkan ekstrak kental. Kemudian ditimbang jumlah ekstrak kental yang diperoleh dan dihitung rendemen ekstraksi, selanjutnya dihitung jumlah total flavonoid dan aktivitas antioksidan (Andriani *et al.*, 2019).

Uji kualitatif flavonoid

Ekstrak etanol daun kersen dilarutkan dalam etanol 70% kemudian sampel ditotolkan pada fase diam yang digunakan yaitu silika gel GF254. Kemudian dielusi dengan fase gerak n-heksana : etil asetat (2:8). Selanjutnya diamati dibawah sinar UV 254 nm dan UV 366 nm dan dihitung nilai R_f nodanya, kemudian bercak totolan disemprot dengan preaksi spesifik flavonoid yaitu $AlCl_3$ yang akan memberikan warna kuning. Hasil KLT dihitung nilai R_f (*Retention Factor*) dengan menggunakan rumus :

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh senyawa dari titik asal}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut dari titik asal}}$$

Penetapan kadar flavonoid total

Timbang secara seksama sebanyak 0,2 gram ekstrak, masukkan ke dalam labu erlenmeyer dan ditambahkan 25 mL etanol p.a. kemudian digojog hingga sampel larut, kemudian saring ke dalam labu ukur 25 mL. Larutan pembanding kuersetin ditimbang sebanyak 10 mg, kemudian masukkan ke dalam labu ukur 25 mL, larutkan dan ditambahkan etanol p.a hingga tanda batas. Buat seri pengenceran pembanding dengan larutan 100, 75, 50, 25 ppm. Prosedur penetapan kadar flavonoid total diambil sebanyak 0,5 mL larutan uji dan masing-masing seri larutan pembanding ke dalam wadah yang sesuai, tambahkan pada masing-masing 1,5 mL etanol p.a., 0,1 mL aluminium klorida 10%, 0,1 mL natrium asetat 1 M, dan 2,8 mL akuades. Kemudian larutan dikocok dan didiamkan pada OT selama 14 menit pada suhu ruang. Kemudian ukur pada serapan panjang gelombang 455,5 nm. Lakukan pengukuran blanko tanpa penambahan aluminium klorida. Kemudian buat kruva kalibrasi dan hitung kadar larutan uji (Kemenkes, 2017).

Uji aktivitas antioksidan

Larutan DPPH diambil sebanyak 0,015 gram kemudian dilarutkan dengan etanol 70% 100 mL sehingga diperoleh konsentrasi 14,2 ppm. Langkah pertama yang dilakukan yaitu dengan membuat larutan stok kuersetin dengan menimbang 10 mg kuersetin dan dimasukkan ke dalam labu ukur, kemudian dilarutkan menggunakan etanol 70% sebanyak 100 mL hingga tanda batas sehingga diperoleh larutan induk dengan konsentrasi 100 ppm, kemudian dari larutan induk tersebut dibuat seri konsentrasi 2, 3, 4, 5, dan 6 ppm (Samodra et al., 2023). Selanjutnya pembuatan larutan sampel yang diambil dari dua proses metode ekstraksi yaitu maserasi dan UAE dengan pelarut etanol dan n-heksana. Masing-masing ekstraksi diambil dengan seri konsentrasi 12,5; 25; 50; 100; dan 200 ppm dari larutan induk 1000 ppm ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura* L.).

Langkah berikutnya dilakukan pengujian larutan kontrol positif dan larutan seri konsentrasi yang diambil dari ekstrak maserasi dan UAE. Masing-masing dipipet sebanyak 1 mL dan ditambahkan larutan DPPH 14,2 ppm 1 mL. Kemudian ditambahkan etanol hingga 10 mL, dikocok dan didiamkan selama 30 menit di ruang gelap. Selanjutnya absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer Vis dengan panjang gelombang 516-520 nm. Persen inhibisi yang dinyatakan sebagai nilai IC_{50} dihitung kemudian dibuat kurva regresi linier untuk mendapatkan nilai IC_{50} .

Analisis data

Kadar flavonoid total yang diperoleh dari nilai absorbansi masing-masing sampel kemudian dimasukkan ke dalam persamaan kurva baku. Nilai yang diperoleh dapat dihitung dengan rumus :

$$\text{Kadar Flavonoid Total} = \frac{X \times Fp \times \text{Volume total ekstrak}}{\text{Bobot penimbangan (gram)} \times 1000} \text{ mg/gram}$$

Keterangan : FP = faktor pengenceran

Aktivitas antioksidan pada sampel dapat ditentukan dengan menghitung besar hambatan serapan DPPH menggunakan % inhibisi dan IC₅₀. IC₅₀ merupakan jumlah konsentrasi sampel sebesar 50% yang menyebabkan penangkapan radikal bebas.

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi Kontrol} - \text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Kontrol}} \times 100\%$$

Keterangan :

Absorbansi kontrol = serapan radikal DPPH 14,2 ppm

Absorbansi sampel = serapan sampel dalam radikal bebas DPPH 14,2 ppm

Persamaan regresi linier : $Y = Bx + A$

Keterangan :

Y = % Inhibisi

A = Perpotongan pada sumbu x ; y = 0 (intersep)

B = Kemiringan (*slope*)

X = Konsentrasi

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi

Penelitian ini dilakukan menggunakan metode ekstraksi maserasi dan UAE. Metode maserasi merupakan metode yang dilakukan pada suhu ruang tanpa menaikkan suhu. Teknik ini memerlukan pengadukan secara berulang untuk mempercepat waktu larutan penyari dalam mengekstraksi sampel (Handoyo, 2020). Ekstraksi dilakukan menggunakan dua pelarut yang berbeda kepolarannya, yaitu, etanol 70% dan n-heksana. Sedangkan metode UAE (*Ultrasonic Assisted Extraction*) adalah metode yang berdasarkan prinsip kavitasi akustik untuk memproduksi gelombang spontan (kavitasi) pada fase cair di bawah titik didih dan akan merusak dinding sel sehingga pelarut dapat masuk ke dalam bahan (Marlina *et al.*, 2022). Metode ini dilakukan menggunakan pelarut yang berbeda kepolarannya yaitu etanol 70% dan n-heksana. Kemudian diekstraksi dengan kenaikan suhu bertingkat 30 °C selama 10 menit, 40 °C selama 20 menit, dan 50 °C selama 30 menit dengan frekuensi 47 kHz.

Setelah dilakukan ekstraksi, filtrat yang dihasilkan kemudian dipekatkan menggunakan alat rotary evaporator. Ekstrak dipekatkan kembali dengan menggunakan waterbath selama 12 jam dengan suhu 40 °C, sehingga didapatkan rendemen ekstrak (Tabel 1 dan 2).

Tabel 1. Hasil rendemen metode ekstraksi maserasi

Jenis pelarut	Bobot simplisia basah (g)	Bobot simplisia kering (g)	Pelarut (mL)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (%)
Etanol 70%	4000	500	5000	26,4	5,28%
N-heksana	4000	200	2000	7,8	3,9%

Tabel 2. Hasil rendemen metode ekstraksi UAE

Jenis pelarut	Bobot simplisia basah (g)	Bobot simplisia kering (g)	Pelarut (mL)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (%)
Etanol 70%	4000	200	2000	20,7	10,35%
N-heksana	4000	150	1500	7,7	5,133%

Berdasarkan data tabel nilai rendemen hasil ekstraksi UAE lebih besar dibandingkan dengan hasil ekstraksi maserasi. Hal ini dikarenakan pada ekstraksi UAE terdapat tambahan gelombang ultrasonik yang dapat menyari senyawa dari simplisia. Selain itu, pada suhu ekstraksi pada metode UAE dapat mempengaruhi rendemen ekstrak. Penelitian yang dilakukan oleh (Andriani et al., 2019), suhu rendah pada ekstraksi daun belimbing wuluh menyebabkan kandungan daun belimbing wuluh tidak dapat terekstrak secara sempurna, sehingga pada metode ekstraksi UAE pada pengaturan suhu yang tinggi bahan akan terkontak ke dalam pelarut sehingga proses ekstraksi berjalan dengan sempurna dan memberikan nilai rendemen yang tinggi. Hal ini terjadi karena terjadinya kontak antar pelarut dengan bahan yang tinggi akibat pergerakan molekul. Kelarutan suatu bahan akan terus meningkat sehingga pelarut dan bahan mencapai titik kesetimbangan (Hermawan et al., 2017). Sedangkan, pada metode ekstraksi maserasi didapatkan hasil rendemen yang lebih kecil dikarenakan pada proses maserasi tidak dilakukan remaserasi. Semakin lama waktu maserasi dan perlakuan remaserasi maka akan semakin besar rendemen yang dihasilkan (Maulia & Muhammad, 2023).

Ekstraksi daun kersen menggunakan etanol menghasilkan rendemen yang lebih banyak dibandingkan dengan ekstraksi dengan pelarut n-heksana. Hal ini dapat dipengaruhi oleh kandungan yang ada pada daun kersen. Kandungan yang ada pada daun kersen dihubungkan senyawa yang polar yang dapat diduga asam lemak yang tersusun pada daun kersen merupakan asam lemak dengan rantai pendek seperti senyawa flavonoid, fenol, alkaloid, saponin. Sedangkan asam lemak dengan rantai panjang akan lebih mudah diekstraksi menggunakan n-heksana seperti senyawa terpenoid dan triterpenoid, karena polaritasnya akan menurun dengan bertambahnya panjang rantai karbon (Ramadhani & Nintiasari., 2023; Rachma et al., 2021).

Uji kualitatif flavonoid

Proses identifikasi senyawa flavonoid dilakukan menggunakan uji KLT yang tujuannya adalah untuk melihat pemisahan sampel sebagai kromatogram yang khas dalam suatu ekstrak berdasarkan perbedaan polaritas antara sampel dan pelarut. Proses ini juga memberikan gambaran awal tentang polaritas kandungan kimia berdasarkan sampel kromatogram (Depkes RI, 2000).

Pada penelitian ini ekstrak etanol dan n-heksana hasil ekstraksi maserasi dan UAE, ditotolkan masing-masingnya ke fase diam silika gel GF254 kemudian bercak totolan disemprot dengan pereaksi spesifik flavonoid yaitu AlCl_3 yang akan memberikan warna kuning (Akib *et al.*, 2022).

Tabel 3. Hasil pengamatan plate KLT di bawah sinar UV

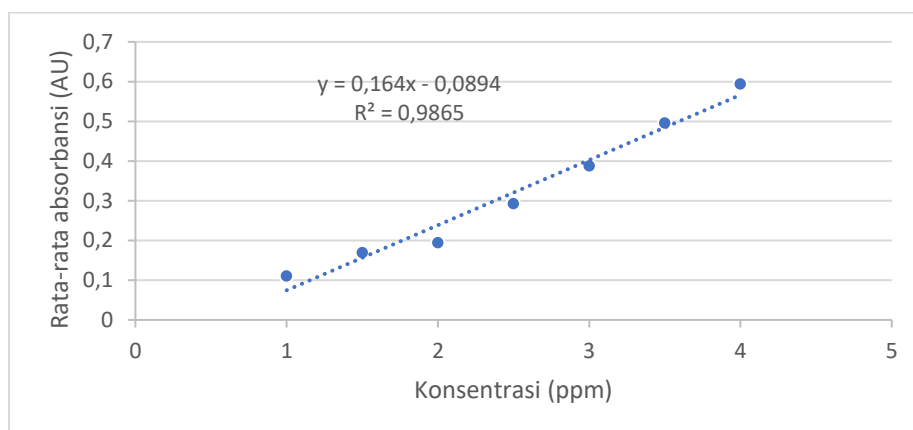
UV 254	UV 366	UV 254 Setelah disemprot AlCl_3	UV 366 Setelah disemprot AlCl_3
			

Dapat dilihat pada tabel 3, secara berurutan dari kiri ke kanan ditotolkan ekstrak n-heksana hasil ekstraksi UAE, ekstrak n-heksana hasil ekstraksi maserasi, ekstrak etanol hasil ekstraksi UAE, dan ekstrak etanol hasil ekstraksi maserasi. Masing-masing memiliki nilai R_f 0,12; 0,16; 0,33; dan 0,39. Nilai R_f ini menyatakan bahwa senyawa yang terdapat pada keempat sampel memiliki karakteristik yang mirip (Romlah *et al.*, 2019). Kemudian hasil bercak totolan disemprot menggunakan AlCl_3 . Hasil totolan yang telah disemprot AlCl_3 dilihat pada UV 254 dan UV 366. Pada UV 366 adanya bercak kuning yang menandakan bahwa keempat sampel tersebut memiliki flavonoid. Namun pada hasil uji KLT yang dilihat menggunakan UV 254, bercak totolan yang naik pada lempeng tidak terlalu tampak. Hal ini dikarenakan adanya kemungkinan kesalahan dari penulis seperti kurangnya penotolan sampel.

Validasi metode

Validasi metode merupakan kegiatan yang bertujuan untuk memastikan bahwa metode yang digunakan sudah sesuai dengan parameter yang telah ditetapkan (Iman & Auli, 2023). Pengujian validasi dianalisis menggunakan beberapa parameter meliputi linieritas, replikasi, dan akurasi. Penentuan linieritas digunakan 7 kadar yang berbeda dari larutan sampel n-heksana metode UAE. Dengan pengambilan sampel sebanyak 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5; 4 mL yang kemudian dicukupkan dengan 10 mL etanol 70% dan diukur serapan panjang gelombang maksimum 455,5 nm. Nilai regresi linier diperoleh dengan nilai kadar (x) dengan nilai serapan

(y). Hasil dari persamaan regresi linier yaitu $y = 0,164x + 0,0894$ dengan nilai $R^2 = 0,9865$ (Gambar 1). Linieritas yang baik dinyatakan apabila nilai korelasi R^2 yang mendekati 1 (Rohmah *et al.*, 2021).



Gambar 1. Kurva baku uji linieritas

Pengujian presisi dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis yang dilakukan dengan pembacaan konsentrasi yang sama sebanyak 6 kali. Kemudian diukur konsentrasi sampel menggunakan persamaan regresi linier $y = 0,0070x + 0,0332$. Uji presisi dilakukan bertujuan untuk menunjukkan keakuratan metode yang dilakukan (Iman dan Auli, 2023). Sampel yang digunakan adalah sampel n-heksana metode ekstraksi UAE diperoleh nilai *RSD* sebesar 1,2573% (Tabel 4). Nilai *RSD* ini sesuai dengan batas penerimaan *RSD* <2% (Rohmah *et al.*, 2021).

Tabel 4. Hasil parameter presisi

Replikasi ke-	Konsentrasi (µg/mL)	Rata-rata konsentrasi (ug/mL)	SD	RSD
1	0,058	0,0575	0,000723	1,2573
2	0,057			
3	0,057			
4	0,059			
5	0,057			
6	0,056			

Penentuan akurasi dilakukan menggunakan sampel n-heksana metode UAE sebanyak 2 mL kemudian dicukupkan dengan etanol 70% 10 mL yang kemudian ditambahkan larutan baku kuersetin dengan konsentrasi 40 ppm, 60 ppm, dan 80 ppm. Prosedur ini direplikasi sebanyak 3 kali dan diukur serapan panjang gelombang maksimum 455,5 nm dengan persamaan regresi linier $y = 0,0070x + 0,0332$. Uji akurasi dapat diterima jika % *Recovery* yang diperoleh berada pada rentang 80-120% (Rohmah *et al.*, 2021). Dapat dilihat pada tabel 5 konsentrasi standar 40 ppm, 60 ppm, dan 80 ppm berada pada rentang 80%-120%.

Tabel 5. Data hasil perolehan kembali (% recovery)

Konsentrasi penambahan standar kuersetin (ppm)	Absorbansi sampel + standar kuersetin	%Recovery*
40	0,534	115,712
60	0,606	94,445
80	0,725	92,081

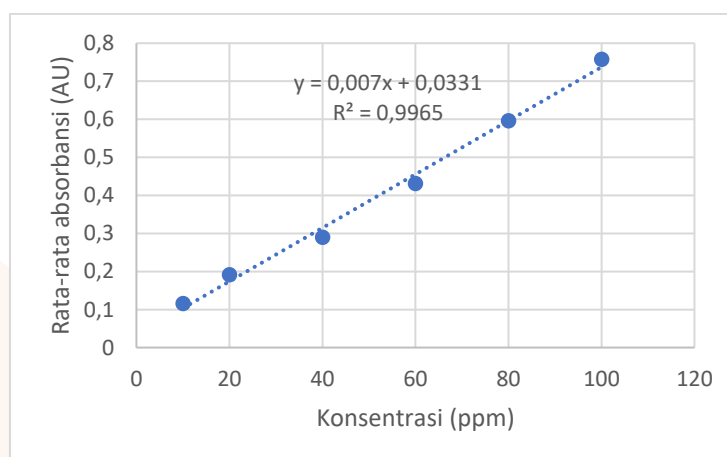
Keterangan : * = %recovery hasil replikasi 3x

Penetapan kadar flavonoid total

Flavonoid merupakan senyawa utama yang memiliki peran sebagai antioksidan dan bermanfaat sebagai penangkap radikal bebas (Dewi et al., 2020). Flavonoid memiliki aktivitas antioksidan karena flavonoid mempunyai gugus hidroksil pada posisi orto dan para yang dapat tersubstitusi oleh gugus -OH dan -OR. Aktivitas antioksidan yang terdapat pada flavonoid dapat mencegah kerusakan komponen akibat reaksi kimia yang melibatkan radikal bebas (Husna et al., 2022).

Hasil analisis kualitatif diketahui bahwa daun kersen mengandung senyawa flavonoid. Penetapan kadar flavonoid total digunakan untuk mengetahui kadar flavonoid total pada daun kersen, serta untuk membandingkan kadar flavonoid total hasil ekstraksi maserasi dan UAE. Metode yang digunakan dalam penetapan kadar flavonoid total adalah metode kolorimetri menggunakan reagen natrium asetat dan aluminium klorida 10% (Kemenkes, 2017).

Penetapan kadar flavonoid total berdasarkan pada kurva kalibrasi, persamaan regresi yang didapatkan $y = 0,007x + 0,0331$ dan nilai koefisien korelasi yaitu 0,9965 (Gambar 2).



Gambar 2. Kurva baku kuersetin

Dari tabel 6 dapat dilihat bahwa etanol metode maserasi mengandung flavonoid total lebih besar yaitu 3,007 mgQe dibandingkan dengan ekstrak etanol metode UAE 2,559 mgQe, ekstrak n-heksana metode maserasi 0,601 mgQe, dan ekstrak n-heksana metode UAE 0,454 mgQe. Hasil kadar total flavonoid pada ekstraksi n-heksana dan etanol memberikan perbedaan yang cukup besar. Pelarut etanol memiliki sifat polar sehingga mampu melarutkan senyawa

flavonoid lebih banyak, sedangkan n-heksana bersifat nonpolar, yang dapat melarutkan senyawa flavonoid berupa aglikon polimetoksik atau isoflavon yang gugus gula atau bentuk glikosidanya sudah terlepas (Satria et al., 2022). Pada pelarut yang sama, metode ekstraksi maserasi dapat menghasilkan kadar flavonoid yang lebih besar dibandingkan metode ekstraksi UAE. Hal ini disebabkan oleh adanya pengaruh suhu dan waktu yang lama menyebabkan adanya perubahan struktur kimia dari suatu senyawa pada sampel mengalami perubahan struktur karena terjadinya proses oksidasi (Andriani et al., 2019).

Tabel 6. Kandungan flavonoid total hasil ekstraksi maserasi dan UAE

Metode ekstraksi	Pelarut	Kadar Flavonoid (mgQE/g ekstrak)
Maserasi	n-heksana	0,601 mgQe
	etanol	3,007 mgQe
UAE	n-heksana	0,454 mgQe
	etanol	2,559 mgQe

Uji aktivitas antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode DPPH dengan pengukuran absorbansinya menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis. Aktivitas antioksidan yang diuji dinyatakan dengan parameter IC_{50} yang menyatakan konsentrasi antioksidan yang digunakan untuk menurunkan konsentrasi DPPH sebanyak 50%. Semakin rendah nilainya maka akan semakin besar aktivitas antioksidannya seperti terlihat pada tabel 7 (Mu'nisa, 2022).

Tabel 7. Tingkat kekuatan antioksidan dengan metode DPPH (Wilapangga & Sari, 2018)

Intensitas	Nilai IC_{50}
Sangat kuat	< 50 $\mu\text{g/mL}$
Kuat	50 – 100 $\mu\text{g/mL}$
Sedang	101 – 150 $\mu\text{g/mL}$
Lemah	> 150 $\mu\text{g/mL}$

Hasil pengujian baku kuersetin dimanfaatkan sebagai senyawa pembanding dalam uji aktivitas antioksidan karena memiliki sifat sebagai antioksidan yang dapat menyerap radikal bebas yang sangat kuat. Hasil penelitian menunjukkan baku kuersetin memiliki nilai IC_{50} sebesar 1,312 ppm. Hal ini menandakan adanya aktivitas antioksidan yang sangat kuat.

Pada tabel 8 hasil penelitian ekstrak etanol dan n-heksana metode ekstraksi maserasi dan UAE menunjukkan bahwa ekstrak etanol metode maserasi memiliki kemampuan antioksidan yang sangat tinggi dengan nilai IC_{50} 22,501 ppm, dilanjutkan dengan ekstrak n-heksana metode maserasi 36,888 ppm, ekstrak etanol metode UAE 51,696 ppm, dan ekstrak n-heksana metode UAE 69,065 ppm.

Tabel 8. Aktivitas antioksidan ekstrak daun kersen

Metode	Konsentrasi (ppm)	%inhibisi	Nilai IC ₅₀ (ppm)	Keterangan
Etanol UAE	12,5	35,851	51,696	Kuat
	25	48,855		
	50	53,551		
	100	63,134		
	200	86,246		
N-heksana UAE	12,5	33,934	69,065	Kuat
	25	40,361		
	50	51,071		
	100	60,766		
	200	71,928		
Etanol maserasi	12,5	44,419	22,501	Sangat kuat
	25	49,831		
	50	57,721		
	100	66,742		
	200	77,564		
N-heksana maserasi	12,5	39,008	36,888	Sangat kuat
	25	48,478		
	50	56,144		
	100	67,864		
	200	85,907		

Aktivitas antioksidan pada ekstraksi dengan metode maserasi dan metode UAE memiliki perbedaan, terlihat bahwa ekstraksi dengan metode maserasi mempunyai aktivitas antioksidan yang sangat kuat dibandingkan dengan aktivitas antioksidan metode UAE. Hal ini dikarenakan pada ekstraksi metode maserasi tidak menggunakan pemanasan sehingga tidak merusak struktur kimia yang ada pada suatu sampel. Berbeda dengan ekstraksi metode UAE, akibat adanya pemanasan yang dilakukan dalam waktu yang terlalu lama menyebabkan terjadinya perubahan struktur kimia suatu sampel sehingga terjadi proses oksidasi, yang mengakibatkan kadar antioksidan pada sampel dengan metode UAE lebih sedikit dibandingkan ekstraksi metode maserasi (Andriani et al., 2019). Metode ekstraksi menggunakan maserasi lebih baik dibandingkan metode UAE, hal ini dikarenakan perendaman dan pengadukan pada metode maserasi dapat meningkatkan jumlah senyawa bioaktif yang diperoleh dari tanaman, jaringan yang ada pada tanaman akan dipecah terlebih dahulu oleh proses perendaman dan pengadukan, sehingga senyawa bioaktif akan terlarut dan menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstraksi UAE. Namun, pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi juga memiliki peran yang penting (Shahinuzzaman et al., 2020).

Larutan yang digunakan pada proses ekstraksi yaitu n-heksana dan etanol tidak memberikan perbedaan yang jauh berbeda. Etanol termasuk ke dalam pelarut yang bersifat polar sehingga mampu melarutkan senyawa flavonoid lebih banyak, sedangkan n-heksana bersifat nonpolar, yang dapat melarutkan senyawa flavonoid berupa aglikon polimetoksik atau isoflavon yang gugus gula atau bentuk glikosidanya sudah terlepas (Satria et al., 2022). Pelarut polar lebih efektif dibandingkan pelarut non polar dalam mengekstraksi senyawa bioaktif dari tanaman. Pelarut non polar seperti n-heksana dan pelarut semi polar seperti etil asetat

menunjukkan kemampuan yang rendah untuk mengekstraksi senyawa bioaktif (Shahinuzzaman et al., 2020).

KESIMPULAN

Aktivitas antioksidan pada ekstrak daun kersen dengan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol IC_{50} 22,501 ppm dan dengan pelarut n-heksana IC_{50} 36,888 ppm menghasilkan kadar aktivitas antioksidan yang sangat kuat. dibandingkan dengan ekstrak daun kersen dengan metode UAE dengan pelarut etanol IC_{50} 51,696 ppm dan dengan pelarut n-heksana IC_{50} 69,065 ppm dengan kadar aktivitas antioksidan kuat.

DAFTAR PUSTAKA

- Akib, N.I., Putri, A.E.P., Adjeng, A.N.T., Hendra, N.S., Armadhani, I., dan Mahmudah, R., 2022, Preparation Of Phytosome Of Kersen Leaves (*Muntingia calabura* L.) Ethanol Exrtact As Antioxidant, *Jurnal Farmasi Sains dan Praktis*, (February), 199–211. <https://journal.unimma.ac.id/index.php/pharmacy/article/view/6206/3117>.
- Andriani, M., Permana, G.D.M. dan Widarta, I.W.R., 2019, Pengaruh Suhu Dan Waktu Ekstraksi Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap Aktivitas Antioksidan Dengan Metode Ultrasonic Assisted Extraction (UAE), *Ilmu dan Teknologi Pangan*, 8 (3), 330–340. <https://ojs.unud.ac.id/index.php/itepa/article/download/53466/31652>.
- Depkes RI, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Departemen Kesehatan RI, Jakarta.
- Dewi, I.P., Sakoikoi, H.G. dan Verawaty, 2020, Uji Aktivitas Antioksidan Infusa Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) Dengan Menggunakan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), *Jurnal Akademik Farmasi Prayoga*, 5 (1), 49–57. <https://doi.org/10.56350/jafp.v5i1.39>.
- Handoyo, D.L.Y., 2020, The Influence Of Maseration Time (Immeration) On The Vocity Of Birthleaf Extract (*Piper betle*), *Jurnal Farmasi Tinctura*, 2 (1), 34–41. DOI 10.35316/tinctura.v2i1.1546.
- Hermawan, W., Sapei, A., Seminar, K., Saputra, D. dan Purwanto, Y., 2017, Aplikasi Gelombang Ultrasonik untuk Meningkatkan Rendemen Ekstraksi dan Efektivitas Antioksidan Kulit Manggis, *JTEP Jurnal Keteknikan Pertanian*. <https://doi.org/10.19028/jtep.05.2.%25p>.
- Husna, P.A.U., Kairupan, C.F. dan Lintang, P.M., 2022, Tinjauan Mengenai Manfaat Flavonoid pada Tumbuhan Obat Sebagai Antioksidan dan Antiinflamasi, *eBiomedik*, 10(1), 76–83. <https://doi.org/10.35790/ebm.v10i1.38637>.
- Iman, A. dan Auli, W., 2023, Validasi dan Pengembangan Metode Analisis Spektrofotometer UV-Vis pada alfa tokoferol asetat, *Jurnal Ilmiah Farmasi (Scientific Journal of Pharmacy)*, 19 (1), 87–96. Terdapat di: <http://journal.uui.ac.id/index.php/JIF>.
- Isdiyanti, S.I., Kurniasari, L. dan Maharani, F., 2021, Ekstraksi Flavonoid Dari Daun Kersen (*Muntingia calabura* L) Menggunakan Pelarut Etanol Dengan Metode MAE dan UAE, *Inovasi Teknik Kimia*, 6(2), 105–109. <http://dx.doi.org/10.31942/inteka.v6i2.5513>.
- Kemenkes, 2017, *Farmakope Herbal Indonesia*, Edisi II, Kementrian Kesehatan RI. Direktorat Jenderal Kefarmasian dan Alat Kesehatan, Jakarta, hal. 97–103.
- Maharani, A.I., Riskierdi, F., Febriani, I., Kurnia, K.A., Rahman, N.A., Ilahi, N.F. dan Farma, S.A., 2021,

- Peran Antioksidan Alami Berbahan Dasar Pangan Lokal dalam Mencegah Efek Radikal Bebas, *Prosiding Seminar Nasional Bio*, 1 (2), 390–399. <https://doi.org/10.24036/prosemnasbio/vol1/355>.
- Marlina, K.C.V., Ari, Y.N.L. dan Yusa, N.M., 2022, Pengaruh Waktu Ekstraksi Dengan Menggunakan Metode Ultrasonic Assisted Extraction (UAE) Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Duwet (*Syzygium cumini*), *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 11 (1), 13. <https://doi.org/10.24843/itepa.2022.v11.i01.p02>
- Maulia, K.H. dan Muhammad, F.A., 2023, Pengaruh Waktu Maserasi dan Konsentrasi Pelarut Etanol Terhadap Rendemen dan Aktivitas Antioksidan pada Bayam Merah (*Amaranthus tricolor L*), *Jurnal Ilmiah Teknik Kimia*, 7(2), 72–78. <https://openjournal.unpam.ac.id/index.php/JITK/article/view/29537/15688>.
- Mu'nisa, A., 2022, *Antioksidan Pada Tanaman Dan Peranannya terhadap Penyakit Degeneratif*, Penerbit Brillian Internasional Surabaya Anggota IKAPI, Nomor Anggota: 354/JTI/2022.
- Mutammimah, S., Supriyanto, S. dan Mu'tamar, M.F.F., 2022, Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura L*) dengan Metode Microwave Assisted Extraction, *Rekayasa*, 15 (1), 21–28. <https://doi.org/10.21107/rekayasa.v15i1.13229>.
- Puspitasari, A.D., dan Proyogo, L.S., 2017, Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi terhadap Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*), *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*, 1–8. <http://dx.doi.org/10.31942/jiffk.v13i2.1695>.
- Rachma, D.F., Widyasanti, A. dan Harnesa, S., 2021, Ekstraksi Oleoresin dari Kulit Mangga Kuweni (*Mangifera odorata* Griff) dengan Ultrasound Assisted Extraction (UAE) Bertingkat, *Jurnal Keteknikan Pertanian Tropis dan Biosistem*, 9(1), 20–25. <https://doi.org/10.21776/ub.jkptb.2021.009.01.03>.
- Ramadhani, M., dan Nintiasari, J., 2023, Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*) Dan Daun Kencur (*Kaempferia galanga L.*), *Jurnal Farmasi dan Manajemen Kefarmasian (JFMK)*, 1, 2 (2), 66. DOI 10.17605/OSF.IO/XK6PM.
- Rohmah, S.A.A., Muadifah, A. dan Martha, R.D., 2021, Validasi Metode Penetapan Kadar Pengawet Natrium Benzoat pada Sari Kedelai di Beberapa Kecamatan di Kabupaten Tulungagung Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis, *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 3 (2), 120–127. <http://repository.stikes-kartrasa.ac.id/id/eprint/8>.
- Romlah, Pratiwi L. dan Nurbaeti, S.N., 2019, Uji Kualitatif Senyawa Flavonoid Ekstrak Etil Asetat Daun Senggani (*Melastoma malabathricum L.*), *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*, 4 (1), 1–4. <https://jurnal.untan.ac.id/index.php/jmfarmasi/article/view/42813/75676587160>.
- Rumyaan, E.F., Tetuko, A., Loni, I.M., Salu, C.P.K. dan Arisa, Y., 2022, Aktivitas Antioksidan Ekstrak Tanaman Kersen Menggunakan DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), *Jurnal Ilmu Kesehatan (JIKA)*, 1 (2), 47–54. <https://doi.org/10.36307/kvq4s054>.
- Sami, F.J., Nur, S., Ramli, N. dan Sutrisno, B., 2017, Uji Aktivitas Antioksidan Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) Dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) Dan FRAP (Ferric Reducing Antioxidan Power), *Jurnal Ilmiah As-Syifaa*, 9 (2), 106–111. <https://doi.org/10.56711/jifa.v9i2.258>.
- Samodra, G., Alfathani, N.F. dan Octaviani, P., 2023, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kombinasi Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) dan Daun Kelor (*Moringa oleifera L*) Dengan Metode DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl), *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia*, 19–26, 19–26. DOI: 10.23917/pharmacon.v20i1.22293.

- Satria, R., Hakim, A.R. dan Darsono, P.V., 2022, Penetapan Kadar Flavonoid Total Dari Fraksi n-Heksana Ekstrak Daun Gelinggang dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis, *Journal of Engineering, Technology, and Applied Science*, 4 (1), 33–46. <https://lamintang.org/journal/index.php/jetas/article/download/353/249/>.
- Setiani, L.A., Sar,i B.L., Indriani, L. dan Jupersio, J., 2017, Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol 70% Kulit bawang Merah (*Allium cepa* L.) Dengan Metode Maserasi Dan Mae (Microwave Assisted Extraction), *Fitofarmaka: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 7 (2), 15–22. Terdapat di: <http://www.albayan.ae>. DOI: 10.33751/jf.v7i2.772.
- Shahinuzzaman, M., Yaakob Z., Anuar F.H., Akhtar P., Kadir N.H.A., Hasan A.K.M., Sobayel K., Nour M., Sindi H., Amin N., Sopian K. dan Akhtaruzzaman M., 2020, In Vitro Antioxidant Activity of *Ficus carica* L. latex from 18 Different Cultivars, *Scientific Reports*, 10 (1), 1–14. Terdapat di: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-67765-1>.
- Siara, F.O., Ibrahim, A., Arifian, H. dan Rusli, R., 2017, Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Batang Kersen (*Muntingia calabura* L.), *Farmaka Tropis*, (April 2017), 23–24. DOI: <https://doi.org/10.30872/mpc.v5i.397>.
- Suhendar, U., Utami, N.F., Sutanto, D. dan Nurdayanty, S.M., 2020, Pengaruh Berbagai Metode Ekstraksi Pada Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Iler (*Plectranthus scutellarioides*), *Fitofarmaka : Jurnal Ilmiah Farmasi*, 10 (1), 76–83. DOI: 10.33751/jf.v10i1.2069.
- Wilapangga, A. dan Sari, L.P., 2018, Analisis Fitokimia Dan Antioksidan Metode DPPH Ekstrak Metanol Daun Salam (*Eugenia polyantha*), *Indonesian Journal of Biotechnology and Biodiversity*, Universitas Esa Unggul, 2 (1), 19–24. DOI: <https://doi.org/10.47007/ijobb.v2i1.27>.