

Hubungan Kemampuan Aktivitas Antioksidan dengan Pelarut Ekstraksi Daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* L.)

Asni Amin^{1,*}, Risda Waris², Aminah², Dewi Yuliana², Nurul Fitri³

¹ Pasca Sarjana, Program Studi Magister Farmasi, Universitas Msulim Indonesia, Makassar, Indonesia
Jl, Urip Sumiharjo Km.4,5, 90245, Makassar Indonesia

² Fakultas Farmasi., Pogram Sarjana Farmasi. Makassar, Universitas Muslim Indonesia
Jl, Urip Sumiharjo Km.5,5, Kampus II UMI, 90245, Makassar Indonesia

³ Fakultas Farmasi., Alumni Pogram Sarjana Farmasi. Makassar, Universitas Muslim Indonesia
Jl, Urip Sumiharjo Km.5,5, Kampus II UMI, 90245, Makassar Indonesia

Email: ^{1*}asni.amin@umi.ac.id, ²risda.waris@umi.ac.id, ³aminah134@gmail.com, ⁴dewiyuliana786@gmail.com
³nurulfitri00@gmail.com

Email Penulis Korespondensi: asni.amin@umi.ac.id

Abstrak—Meningkatnya prevalensi penyakit degeneratif, kanker, dan penyakit tidak menular lainnya diakibatkan adanya paparan radikal bebas, sehingga saat ini penelitian antioksidan semakin banyak dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan adanya hubungan aktivitas antioksidan dengan pelarut ekstraksi yang berbeda kepolaran dalam meredam radikal DPPH ((1,1-Diphenyl-2-picryl hydrazyl) dari ekstrak etanol 96% dan ekstrak heksan daun pecut kuda (DPK) (*Stachytarpheta jamaicensis* L.) asal kabupaten Kolaka Utara. Penelitian dilaksanakan menggunakan post test only control eksperimen. Sampel diekstraksi secara maserasi dengan pelarut etanol 96%, dan pelarut n-heksan, kemudian tiap-tiap ekstrak dievaporasi menggunakan rotavapor, ekstrak kental diskriming fitokimia dengan pereaksi warna. Uji peredaman radikal bebas ekstrak dengan konsentrasi 1; 2; 3; 4 dan 5 µg/mL diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm, dan dibandingkan dengan standar kuersetin. Hasil skrining fitokimia didapatkan kandungan glikosida antraknon, fenol, flavonoid untuk ekstrak etanol DPK, sedangkan ekstrak heksan mengandung alkaloid, fenol, flavonoid, tanin, dan steroid. Aktivitas antioksidan ekstrak DPK dapat meredam radikal bebas DPPH dengan nilai IC₅₀ ekstrak etanol 96% adalah 12,17 µg/mL dan ekstrak heksan adalah 5,904 µg/mL. Kedua ekstrak tergolong antioksidan sangat kuat seperti kuersetin. Terdapat hubungan antara pelarut ekstraksi dengan kemampuan antioksidan ekstrak DPK yang signifikan pada p < 0,05, sedangkan hubungan antara kuersetin, ekstrak etanol dan ekstrak heksan secara signifikan berpengaruh dengan kemampuan antioksidan.

Kata Kunci: antioksidan, DPPH, ekstrak etanol 96%, ekstrak heksan, kabupaten kolaka utara, *Stachytarpheta jamaicensis*

Abstract—The increasing prevalence of degenerative diseases, cancer and other non-communicable diseases is due to exposure to free radicals, so that currently research on antioxidants is increasingly being carried out. This research aims to prove the relationship between antioxidant activity and extraction solvents of different polarities in reducing DPPH radicals ((1,1-Diphenyl-2-picryl hydrazyl) from horse whip (DPK) leaves (*Stachytarpheta jamaicensis* L.) from North Kolaka district. The research was carried out using a post test only control experiment. Samples were extracted by maceration with 96% ethanol solvent and n-hexane solvent, then each extract was evaporated using a rotary evaporator, the thick extract was screened for phytochemicals with a second color reagent. The extract was tested for antioxidants against DPPH and measured absorbance using a UV-Vis spectrophotometer at a wavelength of 515 nm, and compared with the quercetin standard. The results of the phytochemical screening showed the content of anthraquinone glycosides, phenols, and flavonoids for the DPK ethanol extract, while the hexane extract contained alkaloids, phenols, flavonoids, tannins and steroids. The antioxidant activity of DPK extract can capture DPPH free radicals with the IC₅₀ value of 96% ethanol extract being 12.17 µg/mL and hexane extract being 5.904 µg/mL. Both extracts are classified as very strong antioxidants like quercetin. There is a relationship between the extraction solvent and the antioxidant ability of HWL extract which is significant at p < 0.05, while the relationship between quercetin, ethanol extract and hexane extract significantly influences the antioxidant ability.

Keywords: antioxidant, DPPH, ethanol extract, hexane extract, North Kolaka district. *Stachytarpheta jamaicensis*

1. PENDAHULUAN

Perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi saat ini menuju era industri digital yang semakin canggih dan semakin cepat secara otomatis mengubah gaya hidup manusia menjadi serba praktis. Tersedianya kebutuhan pangan yang semakin praktis telah mengubah pola makan masyarakat secara signifikan ke arah mengkonsumsi makanan yang siap saji. Tidak dapat dipungkiri makanan siap saji mengandung zat oksidatif saat proses pengolahan atau pemasakan seperti digoreng, atau dibakar yang menyebabkan tubuh terpapar bahan berbahaya saat dikonsumsi (Ali Moustafa Elkhatieb, 2017). Paparan ultraviolet dari sinar matahari, polusi udara seperti karbonmonoksida dari asap kendaraan bermotor, asap rokok, penggunaan obat-obatan, dan racun juga adalah faktor penyumbang zat-zat oksidatif berbahaya bagi tubuh (Arnanda & Nuwarda, 2019), (Ayoka et al., 2022). Perubahan gaya hidup masyarakat yang tidak sehat dan paparan tubuh akan zat stres oksidatif yang terus menerus memicu munculnya suatu penyakit (Ayudiah R.U. et al., 2023). Reaksi oksidatif yang berlebihan pada sel-sel tubuh manusia yang terjadi sepanjang waktu, termasuk selama proses respirasi dan metabolisme dalam tubuh, yang dapat mengarah pada terbentuknya radikal bebas sebagai pemicu munculnya penyakit kronik, antara lain diabetes, hipertensi, kolesterol, jantung, gagal ginjal, atau penyakit berbahaya lainnya seperti kanker (Veneseha W et al., 2023)

Radikal bebas merupakan elektron bebas dari satu atom atau molekul yang tidak memiliki pasangan elektron yang menyebabkan terjadinya kerusakan pada sel dan jaringan, atom atau molekul ini reaktif dan tidak stabil mengakibatkan molekul yang tidak berpasangan dari radikal bebas ini akan menarik elektron dari molekul lain yang ada dalam sel. Oleh

karena itu dibutuhkan zat antioksidan yang dapat meredam dan menstabilkan radikal bebas tersebut. Antioksidan akan bekerja dengan cara mengikat molekul bebas atau menghambat pembentukan senyawa radikal bebas dalam tubuh. Mekanisme kerja antioksidan untuk meredam radikal bebas adalah dengan memadamkan radikal bebas, mengkelat logam, mengurangi jumlah enzim yang membantu pembentukan radikal bebas, dan menstimulasi enzim antioksidan internal untuk memperlambat target molekul, untuk mencegah dan menghilangkan kerusakan oksidatif (Arnanda & Nuwarda, 2019).

Penelitian dan penemuan obat yang mengandung antioksidan saat ini sangat berkembang pesat, utamanya yang bersumber dari tumbuhan sebagai antioksidan alami. Vitamin C dari buah-buahan, vitamin E atau alfa tokoferol yang dapat bersumber dari tumbuhan suku Fabaceae atau polong-polongan, seperti kacang kedele, kacang tanah, dan buah coklat, tumbuhan yang mengandung antosianin (tumbuhan yang berwarna gelap, seperti warna ungu dari manggis, warna merah dan biru dari bunga, dan buah), tumbuhan dengan kandungan betakaroten seperti wortel, semangka, labu kuning, serta senyawa turunan polifenol seperti tanin, dan flavonoid dari tumbuhan merupakan sumber antioksidan alami dari tumbuhan (Arnanda & Nuwarda, 2019); (Ayoka et al., 2022).

Salah satu tumbuhan yang diketahui memiliki aktivitas antoksidan alami adalah DPK (*Stachitarpeta jamaicensis*), tumbuhan yang tumbuh subur di nagara Indonesia ini memiliki ciri khas berupa bunga majemuk berwarna ungu berbentuk seperti pecut kuda termasuk tumbuhan liar dan dapat ditemukan di pematang sawah, pinggir hutan dan kebun, atau di pinggir selokan (Rante et al., 2020). Namun di Indonesia tumbuhan ini digunakan untuk mengobati berbagai penyakit, seperti penurun demam, mengobati luka, mengobati infeksi, melancarkan air seni, antihipertensi, rematik, hepatitis, batuk, radang tenggorokan antimikroba, antiinflamasi dan melancarkan darah haid, selain itu digunakan untuk mengatasi gangguan pencernaan seperti sakit maag, sembelit, dan antidiare, gangguan usus lainnya (Sivaranjani et al., 2014).

Data empiris oleh suku Bugis Bulukumba di Sulawesi Selatan, daun pecut kuda (DPK) telah digunakan untuk mengobati nyeri akibat sakit kanker (Amin, 2012). Ekstrak metanol DPK terbukti memiliki aktivitas antiradikal bebas terhadap DPPH dengan nilai IC_{50} adalah $5,0 \mu\text{g/mL}$ (ZS et al., 2017). Aktivitas antioksidan ekstrak etanol DPK dengan teknik ekstraksi ultrasonik terhadap DPPH memiliki kemampuan meredam radikal bebas dengan nilai IC_{50} adalah $74.32 \mu\text{g/mL}$, yang tergolong daya antioksidan kuat yang sama kuatnya dengan antioksidan vitamin C (Jumawardi et al., 2021).

Potensi aktivitas farmakologi termasuk sebagai antioksidan dari DPK dipengaruhi oleh kandungan kimianya. Adanya senyawa golongan fenol, tanin, steroid, flavonoid, dan alkaloid pada DPK, dapat memberikan efek untuk meningkatkan sistem kekebalan tubuh, mencegah, mengobati dan memelihara kesehatan tubuh dari suatu jenis penyakit tertentu (Rante et al., 2020). Kandungan metabolit sekunder pada tanaman berhubungan erat dengan aktivitas farmakologinya. Kandungan pada tumbuhan dapat ditarik senyawanya dengan cara ekstraksi, yaitu suatu sistem penarikan komponen kimia dari suatu zat atau bahan alam (tumbuhan, hewani atau mineral) berupa bahan padat dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Octavia et al., 2023) Beberapa syarat pelarut yang digunakan dalam ekstraksi adalah dapat menarik komponen kimia dari sampel uji tanpa terjadinya reaksi antara pelarut dengan senyawa dalam bahan uji, tidak toksid, dan tidak mempengaruhi aktivitas biologis sampel yang diekstraksi (Sasadara & Wiranata, 2022). Pemilihan pelarut ekstraksi berdasarkan pada prinsip *like dissolve like*, maka pelarut pengekstraksi / cairan penyari yang digunakan akan menarik komponen kimia atau metabolit dari sampel berdasarkan kepolaran senyawa yang akan diekstraksi, sehingga berpengaruh langsung terhadap aktivitas antioksidan dari sampel. Pelarut etanol memiliki kepolaran sedang dan tergolong pelarut semipolar dan dalam ekstraksi akan menarik komponen kimia polar seperti flavonoid, fenol, dan glikosida, sedangkan heksan mewakili kepolaran pelarut yang rendah atau non polar yang dapat menarik komponen kimia non polar seperti asam lemak, steroid, dan terpen (Arsa & Achmad, 2020). Berdasarkan fakta yang telah dipaparkan di atas, maka dilakukan penelitian ini untuk membuktikan adanya hubungan antara kemampuan aktivitas antioksidan terhadap perbedaan pelarut ekstraksi (ekstrak etanol 96% dan ekstrak heksan) daun pecut kuda (DPK) dari tempat tumbuh kabupaten Kolaka Utara, sehingga dapat menjadi rujukan baru dalam formulasi produk herbal antioksidan dari ekstrak DPK.

2. METODE PENELITIAN

2.1 Jenis Penelitian

Design penelitian termasuk eksperimental dengan *post test control only design*, meliputi penyiapan bahan uji (simplisia), pembuatan ekstrak dengan pelarut etanol dan pelarut n-heksan, identifikasi kandungan kimia bahan uji dengan pereaksi warna, dan pengujian antioksidan dengan DPPH, serta analisis data.

2.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada tahun 2022-2023 dan bertempat di Laboratorium Farmakognosi-Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia.

2.3 Alat Penelitian

Maserator, cawan porselin, mikropipet (Effendorf), blue tape, rotavapor (Memmert), alat-alat gelas (Pyrex), timbangan analitik (O'haus), *water bath* (Memmert), hot plate stirer (Thermo Scientific), vorteks (May Lac), spektrofotometer UV-Vis (Camag).

2.4. Bahan Penelitian

asam asetat glasial, etanol 95%, aquades, AlCl_3 , asam asetat anhidrat, asam sulfat, FeCl_3 , kuersetin (Merck), dan 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) (Merck), n-heksan, metanol p.a, reagen : Mayer, Dragendorf, Wagner, Lieberman-Buchard, HCl, floroglusin, vanilin asam sulfat, sampel tanaman daun pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis*) diambil desa Lapasi-pasi Kolaka Utara.

2.5 Prosedur Penelitian

2.5.1 Determinasi Tumbuhan DPK

Daun Pecut Kuda yang diperoleh dari desa Lapasi-pasi, kabupaten Kolaka Utara, Sulawesi Tenggara, telah dideterminasi di Unit determinasi Laboratorium Farmakognosi-Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia, dengan nama spesies *Stachytarpheta jamaicensis* L. famili verbenaceae

2.5.2 Preparasi sampel (simplisia)

Sampel segar DPK diperoleh dari desa Lapasi-Lapasi, Kolaka Utara, Sulawesi Tenggara, daun dipanen pada bulan November, dan dikumpulkan sebanyak 3 kg, sampel dibuat simplisia dengan proses sortasi basah, pencucian kotoran dengan air mengalir, pengeringan pada lemari pengering yang dilengkapi blower dengan suhu 40°C. Setelah kering, sampel disortasi kering. Selanjutnya simplisia kering yang diperoleh ditimbang dan diserbukkan dan diayak dengan mess 40 (Depkes, 2000); (Amin, A. dan Waris, 2021).

2.5.3 Ekstraksi Sampel

Proses ekstraksi mengacu pada Parameter Standar Umum Ekstrak (Depkes, 2000), dan (Octavia et al., 2023). Serbuk simplisia DPK sebanyak 300 gram diekstraksi padat cair dengan metode maserasi. Simplisia dimasukkan ke maserator dan direndam pelarut etanol 96%, dimaserasi 3 x 24 jam dan dibantu dengan pengadukan manual. Ekstrak dipisahkan dari residunya. Residu kemudian diremaserasi dengan pelarut etanol 96% yang baru. Remaserasi dilakukan hingga ekstrak yang diperoleh jernih menandakan proses ekstraksi telah berlangsung sempurna. Ekstrak etanol cair ditampung dan dievaporasi dengan rotavapor pada suhu 60°C hingga ekstrak etanol mengental, dan ekstrak lalu ditimbang untuk menghitung nilai rendemen ekstrak. Hal yang sama juga dilakukan menggunakan pelarut heksan sebagai cairan penyari.

2.5.4 Skrining fitokimia ekstrak etanol 96% dan ekstrak heksan DPK

Identifikasi kandungan kimia dilakukan dengan mengacu pada materia medika Indonesia yang telah dimodifikasi (Amin et al., 2017).

a. Identifikasi Flavonoid

Ekstrak sampel DPK (1 mL) dilarutkan dalam asam sulfat 2 N (2 tetes). Bila larutan berubah warna menjadi lebih terang seperti : warna kuning, merah, atau coklat, maka positif mengandung flavonoid

b. Identifikasi Saponin

Sejumlah ekstrak kental dalam tabung reaksi dilarutkan terlebih dahulu dengan air hangat, dikocok kuat hingga berbentuk buih setinggi 1-3cm, jika ditambahkan HCl encer dan buih tidak hilang selama 10 menit, berarti terdapat kandungan saponin.

c. Identifikasi Tanin

Ekstrak kental direaksikan dengan FeCl_3 . Perubahan warna menjadi hijau menandakan tannin golongan katekol, dan warna biru menandakan tannin golongan pirogalol.

d. Identifikasi Alkaloid

Identifikasi kandungan senyawa golongan alkaloid mengacu pada metode (Mešić et al., 2020), yaitu 40 mg ekstrak dibebaskan garam alkaloidnya dengan 2 mL kloroform dan NH_4OH encer, dan diasamkan dengan H_2SO_4 P (3-5 tetes), dikocok homogen, dan lapisan asam (lapisan atas) diuji alkaloid dengan pereaksi Mayer, bila terbentuk endapan putih berarti terdapat alkaloid, atau dengan pereaksi Dragendorff maka terbentuk endapan kuning-merah.

e. Identifikasi Fenol

Ekstrak kental direaksikan dengan HCl P dan logam magnesium, positif fenol jika terjadi perubahan warna merah.

f. Identifikasi Steroid/Triterpenoid

Ekstrak kental dilarutkan dengan etanol, dikocok dan disaring, residu ditambahkan heksan atau dietileter, lalu ditambahkan asam asetat anhidrida 3 tetes dan setetes H_2SO_4 P. Positif steroid bila terjadi perubahan warna biru atau cincin ungu, sedangkan positif triterpenoid jika berwarna merah, Khusus untuk ekstrak heksan tidak perlu dilarutkan dalam etanol tetapi langsung ditambahkan pelarut heksan dan asam asetat anhidrat.

g. Identifikasi Glikosida Antrakuinon

Sejumlah ekstrak kental direaksikan dengan reagen Lieberman-Buchard, kemudian tambahkan asam asetat anhidrat dan H_2SO_4 . Positif mengandung glikosida antrakuinon jika terbentuk warna hijau.

h. Identifikasi Lignin

Larutan floroglusin dan HCl ditambahkan pada ekstrak kental, kocok, jika berwarna merah, menunjukkan adanya lignin

2.5.5 Uji Antioksidan ekstrak DPK terhadap DPPH

Pengujian antioksidan ekstrak DPK dengan peredaman radikal bebas DPPH (1.1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), mengacu pada prosedur (Cahyono et al., 2021).

a. Optimasi panjang gelombang maksimum

Langkah pertama dalam pengujian antioksidan adalah dengan melakukan optimasi panjang gelombang maksimum yang diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Optimasi ini dilakukan dengan membuat 30 µg/mL larutan DPPH dalam metanol p.a, yang ditempatkan pada botol gelap, aduk hingga homogen dengan vorteks. Masukkan 4 mL larutan DPPH ke dalam kuvet, dan diukur panjang gelombang (λ) maksimumnya. Hasil optimasi panjang gelombang maksimum DPPH adalah 515 nm.

b. Pembuatan kurva kalibrasi kuersetin

Setelah optimasi panjang gelombang, selanjutnya dilakukan pembuatan larutan baku kuersetin sebagai pembandingan dengan konsentrasi 1.000 µg/mL dalam metanol p.a. Kemudian dibuat seri konsentrasi dari larutan baku yaitu 0,1 ; 0,2 ; 0,3 ; 0,4 ; dan 0,5 µg/mL, masing-masing seri konsentrasi larutan baku kuersetin dimasukkan ke dalam vial dengan memipet 1,5 mL, ditambahkan larutan DPPH sebanyak 2,5 mL. Dihomogenkan dengan vorteks, dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar (27°C) dalam ruangan gelap. Lalu diukur absorbansi masing-masing seri konsentrasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang (λ) 515 nm. Selanjutnya dihitung linearitasnya dan nilai IC₅₀ yaitu konsentrasi yang menyatakan hilangnya aktivitas DPPH sebesar 50%.

c. Pengujian antioksidan ekstrak DPK terhadap radikal DPPH

Ekstrak etanol DPK dibuat sebagai larutan induk dengan konsentrasi 1,000 µg/mL, lalu dibuat 5 seri konsentrasi yaitu konsentrasi : 1 ; 2 ; 3 ; 4 ; dan 5 µg/mL dari larutan induk. Kemudian dilakukan pengerjaan yang sama seperti larutan kuersetin untuk pengukuran absorbansinya. Dihitung linearitas dari nilai absorbansi dan nilai IC₅₀, Semua pengukuran direplikasi 3 kali.

2.5 Analisis Data

Data skrining fitokimia dianalisis secara deskriptif, kurva kalibrasi larutan standar dianalisis dengan regresi linier, kemampuan aktivitas antioksidan masing-masing ekstrak dianalisis menggunakan anova one way.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Hasil Penelitian

3.1.1 Pembuatan sampel (simplisia dan ekstrak)



Gambar.1 Pembuatan sampel (simplisia) daun pecut kuda (Sumber : dokumentasi pribadi)

Ket : 1. Pengumpulan sampel, 2. Pencucian, 3. Perajangan, 4. Pengeringan simplisia dengan cara diangin-anginkan, 5. Pembuatan serbuk dan penimbangan sampel



Gambar.2 Pembuatan ekstrak daun pecut kuda (Sumber : dokumentasi pribadi)

Ket : 1. Ekstraksi dengan maserasi 2. Ekstrak cair 3. Penguapan dengan rotavapor, 4. Ekstrak kental

Hasil ekstaksi DPK dengan pelarut etanol dan n-heksan, diperoleh nilai rendemen tersaji pada tabel.1.

Tabel.1 Nilai rendemen ekstrak DPK

Uraian	Jumlah	
	Ekstrak etOH 96%	Ekstrak heksan
Berat simplisia basah	3,8 kg	3,8 kg
Berat simplisia kering	938,7 g	938,7 g
Berat simplisia yang diekstraksi	300 g	300 g
Volume pelarut yang digunakan	2,5 L	1,5 L
Rendemen ekstrak etanol DPK	18,47 %	0,91 %

Adapun ciri organoleptik ekstrak etanol (etoH) 96% dan ekstrak heksan DPK, dipaparkan pada tabel.2

Tabel.2 Ciri organoleptik ekstrak DPK

Ciri organoleptik	Ekstrak etOH 96% DPK	Ekstrak heksan DPK
Bentuk	Pasta kental	Pasta kental
Warna	Coklat kehitaman	Hijau kehitaman
Bau	Tidak berbau	Bau khas
Rasa	Sepat dan lama kelamaan pahit	Agak pahit dan getir

3.1.2 Skrining fitokimia ekstrak DPK

Kandungan kimia ekstrak DPK diidentifikasi secara kualitatif menggunakan pereaksi warna. Hasil skrining fitokimia ditunjukkan pada tabel.3

Tabel.3 Hasil skrining fitokimia ekstrak DPK asal Kolaka Utara :

Uji fitokimia	Hasil identifikasi	
	Ekstrak etOH 96%	Ekstrak heksan
Alkaloid	-	+
Tanin	+	+
Saponin	+	-
Fenol	+	+
Flavonoid	+	+
Glikosida antrakuinon	+	-
Steroid	-	+
Lignin	-	-

Ket : - = tidak terdeteksi + = terdeteksi

3.1.3 Uji Antioksidan ekstrak DPK terhadap DPPH

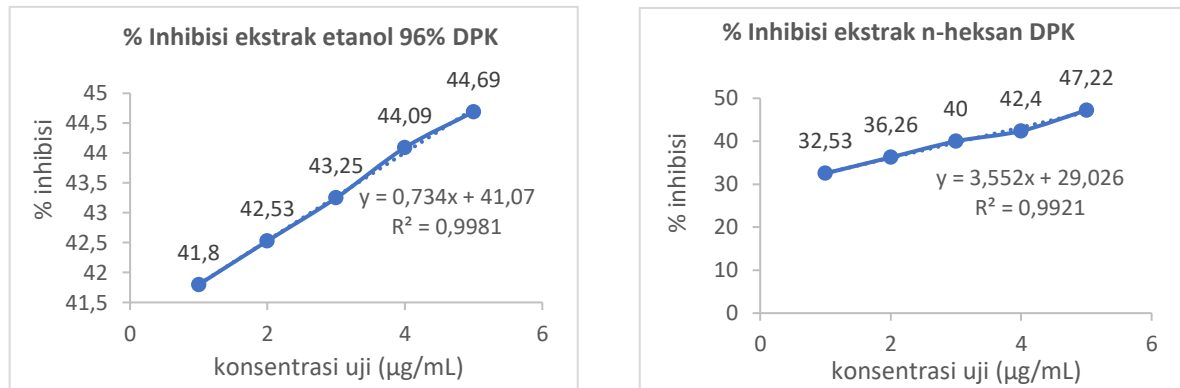
Kemampuan ekstrak DPK asal Kolaka Utara sebagai antiradikal bebas terhadap senyawa DPPH dengan pembanding kuersetin dan pelarut metanol p.a sebagai blanko atau kontrol negatif,. Adapun persen inhibisi hasil pengukuran absorbansi antioksidan kedua ekstrak DPK serta kuersetin dengan spektrofotometer U-Vis panjang gelombang hasil optimasi 515 nm adalah dipaparkan pada tabel 4.

Tabel.4 Persen inhibisi Ekstrak DPK dan Kuersetin terhadap DPPH

Sampel	Konsentrasi (µg/mL)	% Inhibisi
Ekstrak Etanol 96% DPK	1	41,817
	2	42,53
	3	43,25
	4	44,10
	5	44,70
Ekstrak heksan DPK	1	32,53
	2	36,27
	3	40,00
	4	42,41
	5	47,23
Kuersetin	0,1	36,63
	0,2	39,40
	0,3	42,77
	0,4	46,39
	0,5	49,62

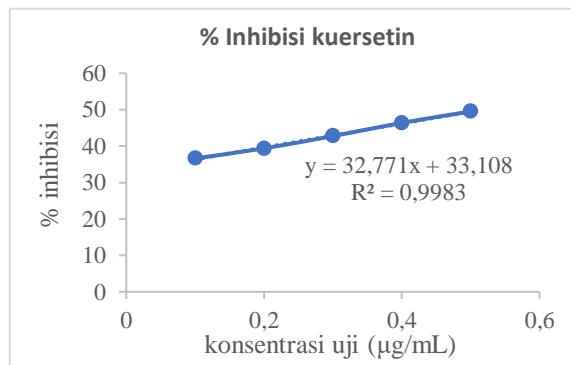
Berdasarkan data di atas, dibuat kurva kalibrasi dengan persamaan regresi linear yang menyatakan hubungan antara persentase inhibisi (y) dengan konsentrasi sampel (x), sehingga diperoleh persamaan $y = bx + a$.

Adapun masing-masing grafik kurva kalibrasi ekstrak etanol 96% dan heksan DPK dapat dilihat pada gambar.3



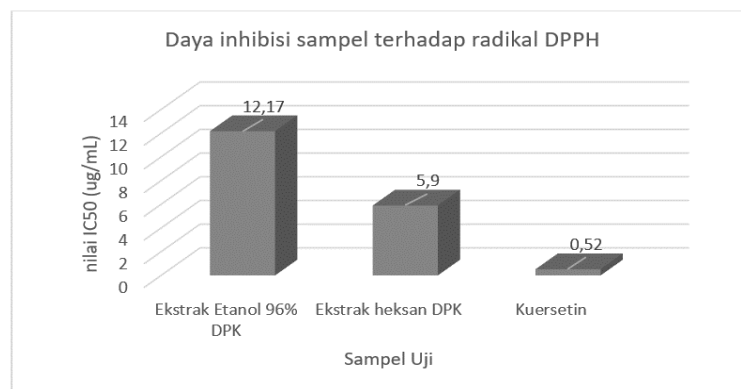
Gambar 3. Grafik linearitas persen inhibisi Ekstrak DPK.

Hasil pengukuran absorbansi antioksidan kuersetin terhadap DPPH dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 515 nm, dengan 5 konsentrasi uji, maka diperoleh data regresi linear kurva kalibrasi sebagaimana gambar.4 :



Gambar 4. Grafik linearitas persen inhibisi Ekstrak DPK

Aktivitas inhibisi sebesar 50% (IC₅₀), ekstrak etanol 96% dan ekstrak heksan DPK serta kuersetin terhadap radikal bebas DPPH terlihat pada gambar.5



Gambar.5 Diagram Aktivitas antioksidan kstrak DPK dan kuersetin terhadap radikal bebas DPPH

Kekuatan antioksidan dari masing-masing ekstrak DPK dan pembeding kuersetin berdasarkan nilai IC₅₀ yang diperoleh, dapat dilihat pada tabel.5

Tabel.5 Kategori kekuatan antioksidan ekstrak etanol DPK asal Kolaka Utara dan kuersetin.

Uraian	Kekuatan Antioksidan menurut Molyneux, 2004		
	Ekstrak EtOH 96% DPK	Ekstrak hexan DPK	Kuersetin
% Nilai IC ₅₀	12,166 µg/mL	5,90 µg/mL	0,515 µg/mL
Range antioksidan	IC ₅₀ < 50 ppm	IC ₅₀ < 50 ppm	IC ₅₀ < 50 ppm
Kategori antioksidan	Sangat kuat	Sangat kuat	Sangat kuat

3.1 Pembahasan

Ekstraksi DPK dilakukan dengan metode maserasi yaitu cara ekstraksi padat cair dengan merendam serbuk simplisia dengan pelarut organik, selama 3x24 jam. Keuntungan metode ekstraksi maserasi sehingga dipilih pada penelitian ini karena alatnya sangat sederhana, ekonomis, proses ekstraksi berlangsung tanpa pemanasan yang tidak menyebabkan terjadinya kerusakan kandungan kimia dalam sampel yang bersifat termolabil, dengan bantuan pengadukan membuat proses ekstraksi mempercepat terjadinya keseimbangan di dalam dan diluar sel, yaitu saat pelarut menembus dinding sel simplisia dan terjadi pelarutan bahan padat pada simplisia oleh pelarut (osmosis), kemudian perpindahan larutan pada pori-pori simplisia dari konsentrasi tinggi di dalam sel untuk menarik komponen kimia keluar sel yang kondisi lingkungan diluar sel memiliki konsentrasi rendah (difusi) (Octavia et al., 2023).

Ekstraksi maserasi dan ekstraksi padat cair lainnya dipengaruhi beberapa faktor antar lain : jumlah pelarut, lama ekstraksi, suhu, pengadukan, derajat halus serbuk simplisia (Sasadara & Wiranata, 2022). Luas permukaan simplisia dipengaruhi oleh kehalusan atau ukuran partikel serbuk simplisia, sehingga semakin halus serbuk simplisia semakin mudah ditembus oleh cairan penyari, sehingga proses ekstraksi berlangsung lebih cepat (Najib, 2018).

Maserat atau ekstrak dalam bentuk cair yang diperoleh dievaporasi untuk menguapkan pelarut organik dari ekstrak, karena saat ekstraksi, pelarut tidak bersifat melarutkan komponen kimia sehingga penguapan pelarut akan membantu memekatkan ekstrak dan membuat konsentrasi metabolit sekunder (komponen kimia) dalam ekstrak semakin tinggi. Rendemen ekstrak adalah jumlah ekstrak yang diperoleh dari hasil ekstraksi bahan awal yang digunakan. Rendemen merupakan gambaran banyaknya kandungan kimia dari sampel yang tertarik oleh pelarut organik pada proses ekstraksi yang dinyatakan dalam satuan persen (Alviola Bani et al., 2023). Nilai rendemen yang tinggi menandakan jumlah ekstrak dan kandungan kimia yang terdapat pada ekstrak juga semakin besar. Nilai rendemen ini sangat membantu ketika untuk menetapkan jumlah ekstrak yang dibutuhkan saat penentuan dosis dalam pengujian aktivitas farmakologi atau formulasi sediaan farmasi.

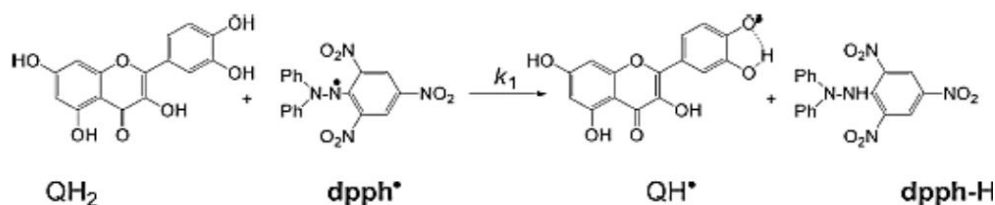
Pemilihan pelarut berdasarkan kemampuan daya melarutkan zat yang akan diekstraksi. Semakin tinggi daya melarutkan zat aktif dari pelarut, maka semakin banyak kandungan kimia atau zat aktif dari bahan uji yang terekstraksi. Hal ini berhubungan dengan tingkat kepolaran antara pelarut dan zat atau senyawa yang diekstraksi (Sasadara & Wiranata, 2022). Pada dasarnya kelarutan zat atau senyawa dengan pelarut adalah prinsip *like dissolve like*, yaitu pelarut polar akan melarutkan senyawa polar, demikian juga sebaliknya pelarut nonpolar akan melarutkan senyawa nonpolar (Hakim & Saputri, 2020).

Etanol dipilih sebagai cairan penyari dalam ekstraksi karena relatif tidak toksik dibandingkan pelarut organik lainnya, seperti aseton dan metanol, harganya murah, dapat digunakan sebagai pelarut umum untuk ekstraksi, serta aman dan direkomendasikan oleh WHO sebagai pelarut ekstraksi obat-obatan dan makanan, Alasan lainnya karena etanol mudah didapatkan, efisien, ramah lingkungan, dan memiliki tingkat ekstraksi yang tinggi (Sasadara & Wiranata, 2022). Etanol bersifat volatile yang mewakili pelarut polar dan menarik komponen kimia polar dan sedikit non polar (semi polar) karena memiliki gugus -OH yang sifatnya polar dan gugus -CH₂CH₃ bersifat nonpolar. Ekstraksi yang bertujuan untuk menarik komponen kimia non polar, maka digunakan pelarut n-heksana, dan pelarut ini biasa digunakan untuk mengekstrak minyak dan lemak yang memiliki kepolaran yang sama (non polar). (Hakim & Saputri, 2020)

Hasil skrining fitokimia antara kedua ekstrak DPK tidak jauh berbeda, yaitu terdapat tanin, fenol, dan flavonoid, sedangkan pada ekstrak etanol 96% terdapat 2 senyawa lain yaitu glikosida dan saponin, yang menandakan bahwa pada ekstrak etanol memiliki kandungan senyawa bersifat lebih polar, sedangkan ekstrak heksan tidak terdapat glikosida dan saponin, tetapi terdapat senyawa yang bersifat non polar yaitu alkaloid dan steroid. Hal ini membuktikan bahwa kepolaran senyawa berhubungan dengan kemampuan cairan penyari menarik komponen kimia yang sama kepolarannya saat ekstraksi.

Pengujian antioksidan dengan metode DPPH dipilih karena beberapa keuntungan antara lain metodenya sederhana, mudah dikerjakan, akurat, kepekaannya tinggi, dapat diaplikasikan untuk senyawa polar, serta menggunakan jumlah sampel sedikit. DPPH berperan sebagai radikal bebas yang akan diredam aktivitasnya dengan menggunakan antioksidan yang terdapat dalam sampel uji (Munadi & Arifin, 2022). Nilai persen inhibisi ekstrak DPK dan kuersetin terhadap radikal bebas DPPH dari kurva kalibrasi menunjukkan tingginya konsentrasi zat uji berbanding lurus dengan peningkatan aktivitas antioksidannya (Lumempouw et al., 2019) yang diperlihatkan dengan tingginya nilai persentase inhibisi zat uji terhadap radikal DPPH. DPPH akan mengalami reduksi membentuk warna kuning. DPPH akan mengalami penurunan intensitas warna dari warna kuat sebelumnya akibat ikatan rangkap terkonjugasi tereduksi karena satu elektronnya telah ditangkap oleh senyawa antioksidan

Kemampuan meredam radikal bebas senyawa DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dari ekstrak karena adanya kandungan kimia fenol dan flavonoidnya yang mampu mendonorkan 1 atom hidrogennya, sehingga senyawa DPPH tereduksi menjadi 1,1-difenil-1-pikrilhidrazil dan radikal (Dhianawaty & Ruslin, 2015). Kemampuan meredam radikal bebas senyawa DPPH (1,1-diphenil-2-pikrilhidrazil) dari ekstrak karena kandungan kimia fenol dan flavonoidnya, seperti halnya dengan kuersetin yang memiliki banyak gugus OH (hidroksil) mampu menghambat DPPH dengan cara mendonorkan 1 atom H ke atom N radikal yang terdapat pada DPPH, sehingga atom N berubah menjadi atom NH yang stabil, sementara itu gugus OH yang melepas atom H-nya berubah menjadi atom O radikal, tetapi kondisi radikalnya lebih stabil (Cahyono et al., 2021), mekanismenya ditunjukkan pada gambar.6



Gambar.6 Mekanisme kuersetin meredam radikal bebas DPPH

Timngginya kemampuan antioksidan ekstrak heksan dibandingkan ekstrak etanol 96% DPK membuktikan kandungan senyawa nonpolar seperti steroid dan alkaloid pada ekstrak heksan lebih kuat meredam radikal bebas DPPH dibandingkan senyawa pada ekstrak etanol yang bersifat cenderung polar seperti kandungan fenol, flavonoid, dan glikosida. Senyawa steroid, juga diperdiksi sebagai antioksidan dengan meredam DPPH karena memiliki gugus O-H pada kerangka dasar steroid, dengan gugus hidroksilnya dapat mereduksi satu senyawa radikal bebas dari DPPH (Ningsih et al., 2019).

Hubungan kemampuan aktivitas antioksidan ekstrak DPK berdasarkan perbedaan pelarut ekstraksi yaitu ekstrak etanol 96% dan ekstrak heksan dari hasil statistik menggunakan anova one way menunjukkan bahwa persen inhibisi antara ekstrak etanol dan kuersetin dengan tingkat kepercayaan ($p < 0.05$) terdapat perbedaan signifikan, begitu juga antara ekstrak heksan dan kuersetin, dan antara ekstrak etanol dan ekstrak heksan DPK masing-masing berbeda signifikan. Analisis kemudian dilanjutkan dengan uji Tukey dengan nilai ($p < 0.05$) menunjukkan bahwa hubungan antara persen inhibisi dan konsentrasi adalah signifikan secara statistik, sedangkan hubungan kemampuan antioksidan pada tingkat kepercayaan $p < 0.05$ antara kuersetin dengan ekstrak etanol menunjukkan persen inhibisi yang lebih tinggi, begitupula antara kuersetin dengan ekstrak heksan, sedangkan persen inhibisi ekstrak heksan lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak etanol yang diperkuat dengan nilai IC_{50} ekstrak heksan lebih kecil dari ekstrak etanol, sehingga dinyatakan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak heksan lebih kuat dibandingkan ekstrak etanol. Adapun kategori kekuatan antioksidan menurut (Molyneux, 2004), bahwa dikatakan antioksidan kuat jika nilai IC_{50} antara 50-100 $\mu\text{g/mL}$, dan tergolong antioksidan yang sangat kuat jika nilai $IC_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$, dari hasil pengujian antioksidan ekstrak DPK, maka kategori kekuatan antioksidan ekstrak etanol 96% dan ekstrak heksan DPK menunjukkan daya antioksidan sangat kuat yaitu $IC_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$ yang setara dengan kekuatan antioksidan kuersetin.

4. KESIMPULAN

Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak daun pecut kuda (DPK) asal Kolaka Utara dengan metode DPPH, disimpulkan bahwa ekstrak etanol 96% dan heksan DPK dapat meredam radikal DPPH dengan nilai IC_{50} ekstrak etanol adalah 12,17 $\mu\text{g/mL}$ dan ekstrak heksan adalah 5,90 $\mu\text{g/mL}$, daya antioksidan kedua ekstrak sangat kuat yang sama aktivitasnya jika dibandingkan dengan kuersetin. Hubungan antara pelarut ekstraksi dengan kemampuan antioksidan ekstrak daun pecut kuda berbeda bermakna (signifikan) antara ekstrak dengan kuersetin, dan antara ekstrak etanol dan ekstrak heksan juga berpengaruh signifikan terhadap kemampuan antioksidan.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini telah didanai oleh Universitas Muslim Indonesia melalui LP2S-Universitas Muslim Indonesia dalam Hibah Unggulan Fakultas tahun 2022, dan atas kepercayaannya, kami ucapkan terima kasih banyak

REFERENCES

- Ali Moustafa Elkhateeb, Y. (2017). Effects of Fast Foods in Relation to Free Radicals and Antioxidants. *American Journal of Laboratory Medicine*, 2(6), 156. <https://doi.org/10.11648/j.ajlm.20170206.17>
- Alviola Bani, A., Amin, A., Mun'im, A., & Radji, M. (2023). Rasio Nilai Rendamen Dan Lama Ekstraksi Maserat Etanol Daging Buah Burahol (*Stelecocharpus burahol*) Berdasarkan Cara Preparasi Simplisia. *Makassar Natural Product Journal*, 1(3), 2023–2176. <https://journal.farmasi.umi.ac.id/index.php/mnpj>
- Amin, A. dan Waris, R. (2021). *Eksplorasi Ilmiah Jahe Sebagai Obat Tradisional Dari Sisi Agama, Kesehatan, Dan Ekonomi* (1st ed.). Penerbit Insan Cendekia Mandiri.
- Amin, A. (2012). Skrining Farmakognosi Tanaman Etnofarmasi Asal Kabupaten Bulukumba Yang Berpotensi Sebagai Antikanker. *Journal Of Tropical Pharmacy And Chemistry*, 1(4), 267–276. <https://doi.org/10.25026/jtpc.v1i4.36>
- Amin, A., Radji, M., Mun'im, A., Rahardjo, A., & Suryadi, H. (2017). Halitosis activity against volatile sulfur compound of methyl mercaptan component from burahol (*Stelechocarpus burahol*) fruit extract. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 10(5), 116–119. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2017.v10i5.15862>
- Arnanda, Q. P., & Nuwarda, R. F. (2019). Penggunaan Radiofarmaka Teknisium-99M Dari Senyawa Glutation dan Senyawa Flavonoid Sebagai Deteksi Dini Radikal Bebas Pemicu Kanker. *Farmaka Suplemen*, 14(1), 1–15. <https://jurnal.unpad.ac.id/farmaka/article/view/22071>
- Arsa, A. K., & Achmad, Z. (2020). Ekstraksi Minyak Atsiri Dari Rimpang Temu Ireng (*Curcuma Aeruginosa Roxb*) Dengan Pelarut

Etanol Dan N-Heksana. *Jurnal Teknologi Technoscientia*, 13(1), 83–94.

- Ayoka, T. O., Ezema, B. O., Eze, C. N., & Nnadi, C. O. (2022). Antioxidants for the Prevention and Treatment of Non-communicable Diseases. *Journal of Exploratory Research in Pharmacology*, 000(000), 000–000. <https://doi.org/10.14218/jerp.2022.00028>
- Ayudiah R.U., Dinda T.S, & Felly T. (2023). Artikel Review : Stres Oksidatif dan Penyakitnya. *Research Gate, January*.
- Cahyono, B., Prihatini, C. S., Suzery, M., & Bima, D. N. (2021). Penentuan Aktivitas Antioksidan Senyawa Kuersetin dan Ekstrak Lengkuas Menggunakan HPLC dan UV-Vis. *Alchemy*, 8(2), 24–32. <https://doi.org/10.18860/al.v8i2.10594>
- Depkes, R. I. (2000). Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 3–30.
- Dhianawaty, D., & Ruslin. (2015). Kandungan Total Polifenol dan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Metanol Akar Imperata cylindrica (L) Beauv. (Alang-alang). *Majalah Kedokteran Bandung*, 47(1), 60–64. <https://doi.org/10.15395/mkb.v47n1.398>
- Hakim, A. R., & Saputri, R. (2020). Narrative Review: Optimasi Etanol sebagai Pelarut Senyawa Flavonoid dan Fenolik. *Jurnal Surya Medika*, 6(1), 177–180. <https://doi.org/10.33084/jsm.v6i1.1641>
- Jumawardi, R., Ananto, A. D., & Deccati, R. F. (2021). Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun pecut kuda (Stachytarpheta jamaicensis (L.) Vahl) menggunakan metode ekstraksi berbasis gelombang ultrasonik. *Sasambo Journal of Pharmacy*, 2(2), 80–86. <https://doi.org/10.29303/sjp.v2i2.85>
- Lumempouw, L. I., Paendong, J., Momuat, L. I., & Suryanto, E. (2019). Potensi Antioksidan dari Ekstrak Etanol Tongkol Jagung (Zea mays L.). *Chemistry Progress*, 5(1).
- Mešić, A., Šamec, D., Jadan, M., Bahun, V., & Tkalčec, Z. (2020). Integrated morphological with molecular identification and bioactive compounds of 23 Croatian wild mushrooms samples. *Food Bioscience*, 37, 100720.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn J. Sci. Technol*, 26(2), 211–219.
- Munadi, R., & Arifin, L. (2022). Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Jahe Putih (Zingiber officinale Rosc. var. officinarum). *Spin*, 4(2), 163–174. <https://doi.org/10.20414/spin.v4i2.5420>
- Najib, A. (2018). *Ekstraksi senyawa bahan alam*. Deepublish.
- Ningsih, D. A., Ramadhan, A. M., & Rusli, R. (2019). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Belimbing Hutan (Cnestis palala(Lour).Merr) Asal Kalimantan Timur. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 2(1), 18–24. <https://doi.org/10.25026/jsk.v2i1.99>
- Octavia, M., Amin, A., Waris, R., Yuliana, D., Farmasi, P. S., Farmasi, F., & Indonesia, U. M. (2023). Identifikasi Organoleptik , Dan Kelarutan Ekstrak Etanol Daun Pecut Kuda (Stachytarpheta jamaicensis (L .) Vahl) Pada Pelarut Dengan Kepolaran Berbeda. *NPJ* (4), 203–211.
- Rante, T. R. K., Simbala, H. E. I., & Mansauda, K. L. R. (2020). Phytochemical Screening and Antioxidant Potential of (Stachytarpheta jamaicensis L.) Leaf Extract Using 1.1 Diphenyl-2-Picrylhydracyl (DPPH) Method. *Jurnal MIPA*, 9(2), 91–96.
- Sasadara, M. M. V., & Wiranata, I. G. (2022). Pengaruh Pelarut dan Metode Ekstraksi terhadap Kandungan Metabolit Sekunder dan Nilai IC50 Ekstrak Umbi Bit (Beta vulgaris L.). *Usadha*, 2(1), 7–13. <https://doi.org/10.36733/usadha.v2i1.5277>
- Sivaranjani, R., Ramakrishnan, K., & Bhuvaneshwari, G. (2014). Pharmacognostic studies on root of Stachytarpheta jamaicensis. *International Letters of Natural Sciences*, 8(2).
- Veneseha W, F., Maulina, D., & Rochjana, A. U. H. (2023). Karakteristik Penggunaan Antioksidan Dibidang Dermatologi Pada Pasein Rawat Jalan di Rumah Sakit X Periode Januari 2022-April 2023. *Jurnal Ilmu Farmasi Dan Kesehatan*, 1(3), 213–237. <https://doi.org/10.59841/an-najat.v1i2.34>
- ZS, O., Ogunmola, O. O., Kuyooro, S. E., & Abiona, O. O. (2017). Stachytarpheta jamaicensis leaf extract: Chemical composition, antioxidant, anti-arthritis, anti-inflammatory and bactericidal potentials. *Journal of Scientific and Innovative Research*, 6(4), 119–125.