

PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN BIDARA (*Ziziphus spina-christi* L.) DENGAN TEKNIK EKSTRAKSI PERKOLASI DAN INFUSA

Anike Putri¹, Nofita^{2*}, Ade Maria Ulfa³

^{1,2,3}Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Malahayati

*)Email korespondensi: nofita82apt@gmail.com

Abstract: Comparison of Antioxidant Activity of Bidara Leaf Extract (*Ziziphus spina-christi* L.) with Percollation and Infusion Extraction Techniques. Antioxidants are compounds capable of delaying, slowing, or inhibiting oxidation reactions. Natural antioxidants are types of antioxidants that come from plants and animals. One plant that has the potential as a natural antioxidant is bidara leaf (*Ziziphus spina-christi* L.). The purpose of this study was to determine the antioxidant activity of percolation extract and infusion extract of bidara leaf (*Ziziphus spina-christi* L.) with ethanol solvent 96 %. The results obtained were tested for antioxidant activity using the DPPH method. The yield obtained from the percolation extraction was 4.59% while the yield from the Infusion technique was 11.19%. Phytochemical analysis on bidara leaves (*Ziziphus spina-christi* L.) using percolation and infusion techniques contains alkaloids, flavonoids, saponins and tannins. The results of the antioxidant activity test obtained IC₅₀ at percolation of 134.58 ppm and infusion of 110.15 ppm as an antioxidant with a moderate category. Statistical results of antioxidant activity showed significant difference ($P < 0.05$) between percolation and infusion extraction techniques.

Keywords: Bidara leaf extract (*Ziziphus spina-christi* L.), Antioxidant, Percollation, Infusion, DPPH.

Abstrak: Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) dengan Teknik Ekstraksi Perkolasi dan Infusa. Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menunda, memperlambat, atau menghambat reaksi oksidasi. Antioksidan alami yaitu jenis antioksidan yang berasal dari tumbuhan dan hewan. Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antioksidan alami adalah daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.). Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak perkolasi dan ekstrak infusa daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) dengan pelarut etanol 96%. Hasil yang diperoleh di uji aktivitas antioksidannya dengan metode DPPH. Hasil rendemen yang didapat dari ekstraksi perkolasi yaitu 4,59% sedangkan hasil rendemen dari teknik Infusa yaitu 11,19%. Analisis fitokimia pada daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) dengan teknik perkolasi maupun infusa memiliki kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin. Hasil uji aktivitas antioksidan didapatkan IC₅₀ pada perkolasi sebesar 134,58 ppm dan infusa sebesar 110,15 ppm sehingga dapat digolongkan sebagai antioksidan dengan kategori sedang. Hasil statistik aktivitas antioksidan menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna ($P < 0,05$) antara teknik ekstraksi perkolasi dengan infusa.

Kata kunci: Ekstrak daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.), Antioksidan, Perkolasi, Infusa, DPPH.

PENDAHULUAN

Penyakit degeneratif adalah penyakit yang menyebabkan kerusakan

terhadap organ tubuh dan jaringan. Oksidasi yang berlebihan terhadap protein, asam nukleat, lemak, dan DNA

sel dapat menginisiasi terjadinya penyakit degeneratif (Syaifuddin, 2015). Penyakit degeneratif diantaranya seperti stroke, jantung koroner, kanker, hipertensi, dan penuaan dini yang disebabkan karena adanya radikal bebas (Sie, 2013).

Radikal bebas merupakan suatu molekul yang tidak stabil dengan atom pada orbit terluarnya yaitu memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan (Haeria dkk., 2016). Elektron yang tidak berpasangan tersebut berusaha untuk mencari pasangan elektron baru, sehingga mudah bereaksi dengan zat lain (protein, lemak maupun DNA) dari dalam tubuh (Winarti, 2010). Radikal bebas terbentuk dalam tubuh secara terus-menerus, baik melalui metabolisme sel normal, kekurangan gizi, peradangan, serta akibat respons terhadap pengaruh dari luar tubuh, seperti ultraviolet (UV), polusi lingkungan, dan asap rokok (Sayuti dan Yerrina, 2015). Oleh karena itu, diperlukan suatu senyawa yang dapat membantu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas berlebih yaitu antioksidan (Widyani dkk., 2019).

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menunda, memperlambat ataupun mencegah reaksi oksidasi. Antioksidan tersebut dapat melindungi sel melawan kerusakan (Hasanah, 2015). Antioksidan alami bisa diperoleh dari tumbuhan disekitar kita umumnya terkandung senyawa fenolik atau polifenol yang dapat berupa golongan flavonoid, tokoferol, turunan asam sinamat, kumarin dan asam-asam fungsional (Markham, 1988).

Menurut hasil penelitian oleh (Haeria dkk., 2016) ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) memiliki kadar flavonoid total sebesar 1,5312% dan IC50 90,9584 ppm. Nilai ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) memiliki potensi sebagai antioksidan yang kuat. Tanaman bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) memiliki kandungan fenolat dan flavonoid yang kaya akan manfaat biologis antara lain: antioksidan, antiinflamasi, antimikroba, antifungi dan mencegah timbulnya tumor (Prior, 2003). Tanaman bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) banyak digunakan sebagai pengobatan tradisional antara lain semua

bagiannya (akar, batang, daun, buah, dan biji). Penarikan senyawa metabolit serta aktivitas biologis dari suatu tanaman sangat dipengaruhi oleh metode ekstraksi yang digunakan.

Terdapat beberapa jenis metode ekstraksi, baik itu tanpa pemanasan (maserasi dan perkolasi) maupun cara pemanasan (refluks, digesti, sokletasi, infusa, dan dekokta). Sudah ada beberapa penelitian tanaman yang memiliki aktivitas antioksidan yang diperoleh bahwa flavonoid dari daun beluntas (*Pluchea indica* L.) yang diekstraksi secara perkolasi memiliki kadar lebih tinggi di bandingkan secara sokletasi (Safitri dkk., 2018). Berdasarkan pada hasil penelitian metode ekstraksi sokletasi dan maserasi terhadap aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% daun jambu bol (*Syzygium malaccense* L.) keduanya tergolong memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat tetapi pada metode ekstraksi sokletasi memiliki aktivitas antioksidan lebih baik dibandingkan dengan metode maserasi (Nurhasnawati dkk., 2017).

Penelitian ini dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) secara spektrofotometri. DPPH merupakan suatu senyawa radikal bebas yang relatif stabil. Senyawa ini cocok digunakan sebagai pereaksi untuk pengujian pada senyawa yang mempunyai efek sebagai peredam radikal bebas (senyawa antioksidan). Parameter yang digunakan untuk uji penangkal radikal DPPH adalah IC50 yaitu konsentrasi ekstrak atau fraksi uji yang di butuhkan untuk menangkap radikal DPPH sebanyak 50% (Taufik, 2016).

Berdasarkan latar belakang diatas peneliti tertarik untuk melakukan penelitian aktivitas antioksidan dengan menggunakan DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) untuk membedakan teknik ekstraksi dengan cara pemanasan (infusa) dan tanpa pemanasan (perkolasi) untuk melihat metabolit sekunder.

METODE PENELITIAN

Jenis dan rancangan penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental yaitu membandingkan aktivitas antioksidan ekstrak daun bidara (*Ziziphus spina-*

christi L.) dengan variasi metode secara perkolasi dan infusa sebagai perlakuan.

Tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium kimia Universitas Lampung pada bulan Mei 2021.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik, panci infusa, kain flanel, kompor gas, batang pengaduk, cawan porselin, erlenmeyer, pisau, tabung reaksi, micropipet, labu ukur, vial, beaker glass, gelas ukur, pipet tetes, seperangkat alat perkolasi, kuvet, spektrofotometri UV-Vis.

Bahan untuk diekstraksi dalam penelitian ini adalah daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) hijau segar, akuades, etanol 96%. Bahan untuk identifikasi senyawa: pereaksi Mayer, pereaksi Dragen-dorff, pereaksi Wagner, HCl 2N, serbuk Mg, HCl pekat, besi (III) klorida 5%, DPPH, Asam Askorbat.

Preparasi Sampel

Penelitian ini sampel yang diambil menggunakan metode rambang (*random sampling*) yaitu sampel daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) yang di petik berwarna hijau segar mulai daun ke-3 dari pucuk yang berada di Desa Proyek Pancasila, Kecamatan Labuhan Ratu, Lampung Timur memiliki kesempatan yang sama untuk dipilih. Sampel yang telah dikumpulkan dilakukan penyortiran untuk mendapatkan bagian dari tanaman daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) yang tidak cacat fisik kemudian dicuci bersih dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel, tiriskan kemudian dikering-anginkan pada suhu kamar tanpa terkena cahaya matahari langsung hingga kering dan dihaluskan. Tujuannya agar simplisia tidak mudah rusak dan tidak terjadi penguraian kandungan senyawa kimia dalam daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.).

Pembuatan Ekstrak Etanol 96% Daun Bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) Dengan Cara Perkolasi

Serbuk daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) sebanyak 500 gram diekstraksi dengan menggunakan metode perkolasi

dengan pelarut etanol 96% sebanyak 5 L. Serbuk daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) direndam terlebih dahulu dengan pelarut etanol. Ekstraksi didahului dengan melakukan perendaman sampel sekurang-kurangnya 3 jam dalam bejana tertutup, kemudian proses ekstraksi dilanjutkan pada alat perkolator selama 15 jam, hingga cairan yang menetes dari alat perkolator berwarna bening. Kemudian didapatkan ekstrak cair. Ekstrak cair ini didestilasi vakum dan selanjutnya dengan bantuan *rotary evaporator* pada suhu 40°C diperoleh ekstrak kental.

Pembuatan Ekstrak Infusa Daun Bidara (*Ziziphus spina-christi* L.)

Serbuk daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) yang sudah kering ditimbang sebanyak 500 gram, dimasukkan dalam 5 L panci infusa etanol. Lalu dipanaskan diatas penangas air selama 15 menit dimulai sejak suhu mencapai 50-55°C pada thermometer sambil sesekali diaduk. Setelah itu saring infusa selagi panas dengan menggunakan kain flanel dan disaring dengan kertas saring kemudian ekstrak cair ini didestilasi vakum dan selanjutnya dengan bantuan *rotary evaporator* pada suhu 40°C diperoleh ekstrak kental.

Skrining Fitokimia

a. Uji Alkaloid

Ekstrak daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) diambil sebanyak 2 mg dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan beberapa HCl dan beberapa pereaksi mayer bila terbentuk endapan putih atau larutan menjadi keruh menunjukkan adanya senyawa alkaloid.

b. Uji Flavonoid

Ekstrak daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) sebanyak 1 mg dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan dengan serbuk Magnesium dan HCl pekat jika terbentuk warna kuning hingga merah muda (pink) menandakan adanya senyawa flavonoid.

c. Uji Tanin

Ekstrak daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) diambil sebanyak 1 mg dan dimasukkan kedalam tabung reaksi ditambahkan 3 tetes FeCl₃ diamkan beberapa saat, bila terjadi perubahan

warna menjadi hijau, kemudian biru pekat menunjukkan adanya senyawa tanin.

d. Uji Saponin

Ekstrak daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) diambil sebanyak 2 mg kemudian masukkan kedalam tabung reaksi lalu ditambahkan beberapa tetes HCl 2 M, kocok beberapa saat (10 detik) bila terbentuk busa, menunjukkan adanya senyawa saponin.

Pengujian Aktivitas Antioksidan

a. Penyiapan Larutan DPPH

Larutan ini dibuat dengan cara menimbang 20 mg serbuk DPPH dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL ditambah etanol 96% sebagian, kemudian dikocok untuk melarutkan serbuk DPPH dan ditambahkan etanol 96% sampai tanda batas (Yuliani & Dienina, 2015).

b. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum larutan DPPH 0,5 mM ditambahkan 4 mL etanol 96% setelah itu dikocok homogen dan diukur serapannya yang diperoleh pada rentang λ 400 - 800 nm dengan blanko etanol (Molyneux, 2004).

c. Penyiapan Larutan Uji Sampel

Ekstrak infusa dan ekstrak perkolasi daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) dibuat dengan konsentrasi 500 ppm dalam 100 ml dari larutan induk tersebut dibuat deret konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, dan 100 ppm kemudian masing-masing dimasukkan dalam labu ukur 10 mL dan tambahkan etanol 96% hingga tanda batas (Ridho, 2013).

d. Penyiapan Larutan Pembanding Asam Askorbat

Kontrol positif asam askorbat dibuat 100 ppm di masukkan ke dalam labu

ukur 100 ml dengan cara menimbang 10 mg serbuk asam askorbat, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan etanol 96% hingga tanda batas. Dibuat konsentrasi 100 ppm dengan cara memipet 1 mL dari larutan induk kedalam labu ukur 10 mL. Kemudian dibuat deret konsentrasi 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm, dan 12 ppm (Ridho, 2013).

e. Pengukuran Peredaman Absorbansi Radikal Bebas DPPH

Larutan uji, blanko dan kontrol positif yang dibuat dalam beberapa konsentrasi diambil sebanyak 1 mL ditambahkan 4 mL larutan pereaksi DPPH dalam vial, dikocok dan didiamkan selama 30 menit. Serapan diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Asam askorbat sebagai kontrol positif dan blanko yang digunakan adalah etanol (Ridho, 2013).

Analisis statistik t-test

Untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan yang bermakna antara daya antioksidan dari ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) yang didapat dari hasil ekstraksi dengan metode ekstraksi perkolasi dan infusa, maka dilakukan analisa statistik menggunakan metode *t-test* terhadap nilai IC50 yang didapat. Bila hasil *t* hitung lebih besar daripada *t*-tabel pada $\alpha = 0,05$ maka terdapat perbedaan yang bermakna antara daya antioksidan dari ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) yang didapat dari hasil ekstraksi dengan metode ekstraksi secara perkolasi dibanding dengan secara infusa (Sie, 2013).

HASIL

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada tabel 1 persen rendemen ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) dengan teknik infusa lebih besar yaitu

11,19% dibandingkan dengan ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) dengan teknik perkolasi sebesar 4,59%.

Tabel 1. Hasil ekstraksi daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.)

Metode Ekstraksi	Bobot Kering (gram)	Bobot Ekstrak (gram)	% Rendemen
Perkolasi	500	22,99	4,59
Infusa	500	55,95	11,19

Pada tabel 2 uji skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak etanol dengan teknik ekstraksi perkolasi dan teknik ekstraksi infusa. Skrining fitokimia

ini untuk mengetahui adanya senyawa metabolit dalam suatu tumbuhan yang mana dinyatakan bahwa adanya unsur metabolit dalam sampel berbanding lurus dengan hasil IC50 yang didapat.

Tabel 2. Kandungan kimia ekstrak daun bidara dengan teknik perkolasi

Senyawa Fitokimia	Hasil Pengamatan	Keterangan
Alkaloid	Terbentuk endapan coklat	(+)
Flavonoid	Terbentuk warna kuning	(+)
Tanin	Terbentuk hitam kehijauan	(+)
Saponin	Terbentuk busa	(+)

Keterangan +: positif mengandung senyawa yang diuji

Pada tabel 3, memperlihatkan kandungan kimia ekstrak daun bidara dengan teknik infusa. Dari hasil

pemeriksaan terlihat semua senyawa fitokimia positif mengandung senyawa yang diuji.

Tabel 3. Kandungan kimia ekstrak daun bidara dengan teknik infusa

Senyawa Fitokimia	Hasil Pengamatan	Keterangan
Alkaloid	Terbentuk endapan coklat	(+)
Flavonoid	Terbentuk warna kuning	(+)
Tanin	Terbentuk hitam kehijauan	(+)
Saponin	Terbentuk busa	(+)

Keterangan +: positif mengandung senyawa yang diuji

Hasil uji aktivitas antioksidan asam askorbat menunjukkan persentase inhibisi. Tabel 4 menunjukkan bahwa dengan bertambahnya konsentrasi

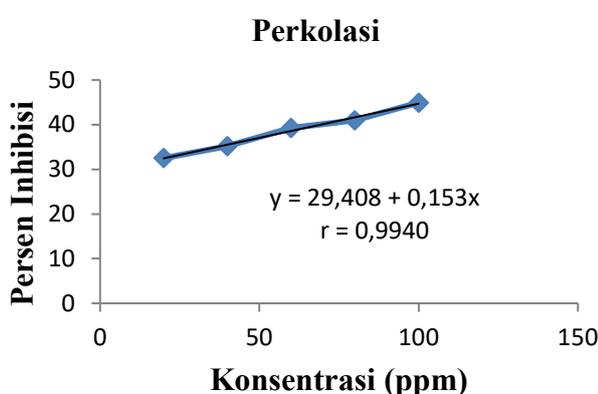
ekstrak maka absorbansi sampel menurun dan nilai tingkat inhibisi akan naik.

Tabel 4. Hasil uji aktivitas antioksidan asam askorbat

Sampel	% Inhibisi	Nilai LC	Keterangan
Asam askorbat	15, 62	18, 426	Sangat Kuat
	21, 13		
	25, 61		
	30, 09		
	34, 70		

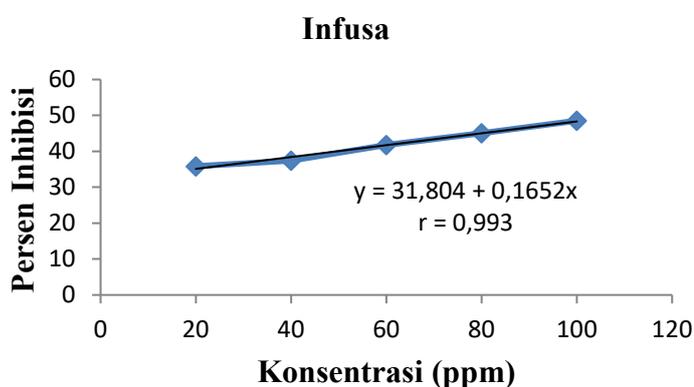
Tabel 5. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Daun Bidara (*Ziziphus spina-christi* L.)

Sampel		Konsentrasi (ppm)	% Inhibisi	IC50 (ppm)
Ekstrak daun teknik perkolasi	Etanol bidara	20	32,52%	134,58
		40	35,21%	
		60	39,31%	
		80	40,97%	
		100	44,94%	
Ekstrak Daun Teknik Infusa	Etanol Bidara	20	35,85%	110,15
		40	37,39%	
		60	41,74%	
		80	45,07%	
		100	48,53%	



Gambar 1. Kurva % inhibisi DPPH terhadap ekstrak daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.)

Dari gambar kurva persentase inhibisi DPPH terhadap ekstrak daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) di atas dapat dihitung nilai konsentrasi yang dapat menghambat DPPH sebanyak 50% dari persamaan linier $y = 29,408 + 0,153x$ yaitu sebesar 134,58 ppm.



Gambar 2. Kurva % inhibisi DPPH terhadap ekstrak daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) dengan teknik infusa.

Dari gambar kurva persentase bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) di atas, inhibisi DPPH terhadap ekstrak daun dapat dihitung nilai konsentrasi yang

dapat menghambat DPPH sebanyak 50% dari persamaan linier $y = 31,804$

$+0,1652x$ yaitu sebesar 110,15 ppm.

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan pengujian aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) dengan menggunakan teknik ekstraksi perkolasi dan infusa. Determinasi dari suatu tanaman bertujuan untuk mengetahui dan memastikan kebenaran identitas tanaman yang akan digunakan dalam penelitian untuk menghindari terjadinya kesalahan dalam pengambilan sampel analisis fitokimia. Dengan demikian kesalahan dalam pengumpulan bahan yang akan diteliti dapat dihindari. Daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) yang digunakan untuk penelitian ini dideterminasi di Laboratorium kimia (FMIPA) Universitas Lampung. Hasil dari determinasi bahwa sampel yang digunakan adalah benar daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.).

Penelitian ini sampel yang diambil menggunakan metode rambang (*random sampling*) yaitu sampel daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) yang di petik berwarna hijau segar mulai daun ke-3 dari pucuk yang berada di Desa Proyek Pancasila, Kecamatan Labuhan Ratu, Lampung Timur memiliki kesempatan yang sama untuk dipilih. Sampel yang telah dikumpulkan dilakukan penyortiran untuk mendapatkan bagian dari tanaman daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) yang tidak cacat fisik kemudian dicuci bersih dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel, tiriskan kemudian dikering-anginkan. Proses pengeringan harus terhindar dari sinar matahari langsung, hal ini karena beberapa senyawa yang terkandung di dalam sampel akan mengalami kerusakan akibat panas dan sinar yang bersumber dari sinar matahari langsung. Simplisia yang sudah dikeringkan kemudian dihaluskan untuk mempermudah proses ekstraksi. Semakin kecil ukuran simplisia maka semakin besar pula luas permukaannya, sehingga interaksi antara pelarut dan zat terlarut akan semakin besar (Sarinastiti, 2018).

Teknik ekstraksi yang dipilih untuk mengekstraksi daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) ini yaitu ekstraksi

menggunakan perkolasi dan infusa. Perkolasi merupakan ekstraksi dengan cara dingin, tidak memerlukan pemanasan yang dapat merusak zat aktif yang tidak tahan terhadap pemanasan. Infusa merupakan metode ekstraksi menggunakan pemanasan dengan pelarut etanol dengan tujuan untuk mendapatkan zat aktif yang bersifat polar dapat tersari dengan optimal. Zat aktif yang dimaksud seperti Polifenol dan flavonoid yang bersifat sebagai antioksidan dimana flavonoid terdapat dalam tanaman kebanyakan dalam bentuk glikosida flavonoid yang bersifat polar sehingga penyariannya dapat dilakukan dengan air panas (Widyani dkk., 2019)

Ekstraksi dilakukan menggunakan pelarut etanol 96%. Alasan penggunaan pelarut etanol 96% karena memiliki tingkat kepolaran yang sama dengan senyawa yang diambil. Pelarut 96% efektif untuk mendapatkan senyawa flavonoid, saponin dan tanin karena merupakan pelarut polar. Selain itu kapang dan khamir sulit tumbuh, mudah menguap dan mendapatkan ekstrak kental lebih cepat dibandingkan pelarut etanol 70% (Misna dan Diana, 2016). Hasil maserat yang didapat dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*, dan ditimbang untuk mengetahui rendemen. *Rotary evaporator* digunakan untuk menghilangkan pelarut yang digunakan selama proses ekstraksi sehingga dihasilkan filtrat yang pekat. *Rotary evaporator* akan memisahkan ekstrak dan cairan penyaringnya dengan pemanasan yang dipercepat oleh putaran. Kemudian untuk menghilangkan sisa pelarut yang masih terdapat filtrat, dihilangkan dengan cara memanaskan filtrat menggunakan oven dengan suhu 40°C sampai didapatkan filtrat dengan jumlah sisa pelarut yang sedikit mungkin.

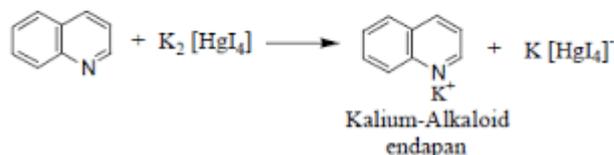
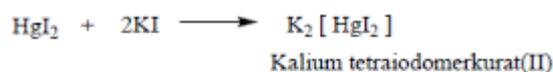
Hasil rendemen ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) teknik infusa lebih besar dibandingkan ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) dengan teknik perkolasi. Semakin tinggi suhu ekstraksi menyebabkan gerakan partikel ke pelarut semakin

cepat karena suhu mempengaruhi nilai koefisien transfer massa senyawa antioksidan dari sel daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.). Kenaikan suhu juga menyebabkan permeabilitas sel semakin lemah sehingga memudahkan etanol sebagai pelarut untuk mengekstrak zat aktif pada bahan sehingga rendemen yang di peroleh semakin tinggi (Damanik dkk., 2014). Hasil rendemen ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) dengan teknik perkolasi sebesar 4,59% sedangkan rendemen ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) dengan teknik infusa sebesar 11,19%. Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh (Purnamasari dan Sagala, 2020) didapatkan rendemen ekstrak etanol 70% yang di ekstraksi dengan maserasi sebesar 10,32%. Rendemen ini menunjukkan banyaknya senyawa bioaktif yang larut dalam pelarut. Semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan menandakan nilai ekstrak yang dihasilkan semakin banyak (Dewatisari dkk., 2017).

Komponen bioaktif seperti flavonoid, tanin, dan fenol rusak pada suhu diatas 50°C karena dapat mengalami perubahan struktur serta menghasilkan ekstrak yang rendah (Yuliantari dkk, 2017). Waktu ekstraksi juga berpengaruh terhadap senyawa yang dihasilkan. Menurut (Budiyanto dan Yulianingsih, 2008) waktu ekstraksi yang tepat akan menghasilkan senyawa yang optimal. Waktu ekstraksi yang terlalu lama akan menyebabkan ekstrak terhidrolisis, sedangkan waktu ekstraksi yang terlalu singkat menyebabkan tidak semua senyawa aktif terekstrak dari bahan, maka perlu ditentukan suhu dan waktu ekstraksi yang tepat untuk ekstrak daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) teknik infusa sehingga dihasilkan ekstrak dengan aktivitas antioksidan tertinggi. Penelitian pada ekstrak daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) dengan ekstraksi pemanasan masih didapat senyawa metabolit jika suhu masih bisa di jaga di bawah titik didihnya sehingga tidak menyebabkan senyawa menguap atau terurai.

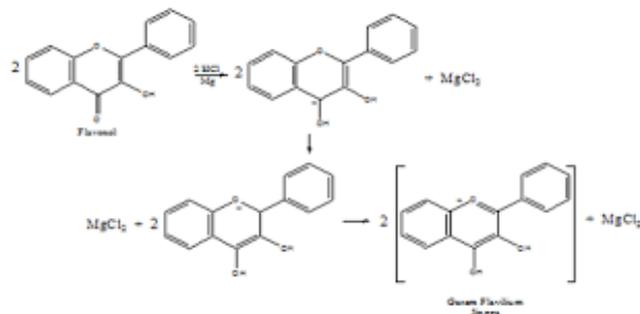
Alkaloid mengandung atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas sehingga dapat digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat

dengan ion logam. Pada uji alkaloid dengan pereaksi Mayer, diperkirakan nitrogen pada alkaloid akan beraksi dengan ion logam K⁺ dari kalium tetraiodomerkurat (II) membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap. Reaksi yang terjadi pada uji Mayer ditunjukkan pada Gambar 1.



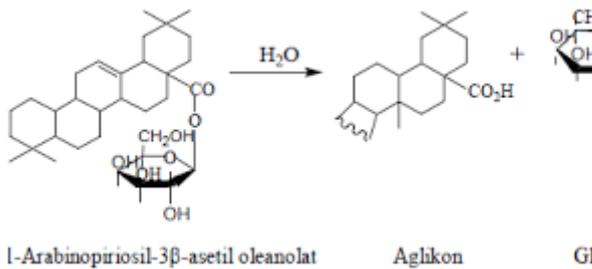
Gambar 1. Reaksi uji mayer (Ergina dkk., 2014).

Flavonoid merupakan senyawa yang mengandung dua cincin aromatik dengan gugus hidroksil lebih dari satu. Senyawa fenol dengan gugus hidroksil semakin banyak memiliki tingkat kelarutan dalam air semakin besar atau bersifat polar, sehingga dapat terekstrak dalam pelarut-pelarut polar (Ergina dkk., 2014). Reaksi yang terjadi antara senyawa flavonoid dengan HCl dan logam Mg dapat dilihat pada Gambar 2.



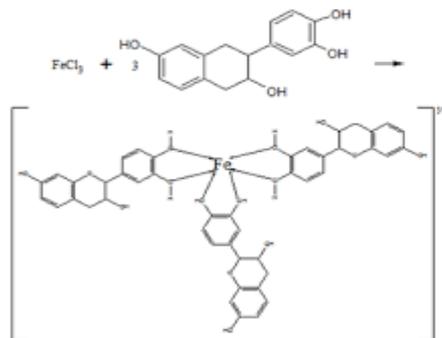
Gambar 2. Reaksi flavonoid dengan logam Mg dan HCl (Septyaningsih, 2010).

Saponin di uji dilakukan memanaskan sampel selama 5 menit hingga mendidih, kemudian didinginkan dan dikocok dengan kuat. Timbunya busa pada sampel menandakan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk busa dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Nugrahani dkk., 2016).



Gambar 3. Reaksi pembentukan busa saponin (Nugrahani dkk., 2016).

Pengujian tanin dilakukan dengan mengambil 1 mg ekstrak kemudian ditambahkan dengan beberapa tetes larutan FeCl_3 1%. Hasil yang didapatkan adalah terbentuk warna hitam hijau kehitaman yang menandakan terbentuknya senyawa kompleks antara tanin dan Fe^{3+} . Terbentuknya warna hijau kehitaman pada ekstrak setelah penambahan FeCl_3 1% karena tanin akan membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe^{3+} , seperti yang terlihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Reaksi antara Tanin dan FeCl_3 (Sa'adah, 2010).

Metode untuk menentukan aktivitas antioksidan pada penelitian ini menggunakan metode uji aktivitas antioksidan DPPH (*1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl*). DPPH merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu kamar dan sering digunakan untuk menilai aktivitas antioksidan beberapa senyawa atau bahan alam. Interaksi antioksidan dengan DPPH baik secara transfer elektron atau radikal hidrogen pada DPPH akan menetralkan karakter radikal bebas dari DPPH (Prasanto dkk., 2017). Panjang gelombang DPPH (*1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl*) diukur pada panjang gelombang 400-800 nm dengan spektrofotometri UV-Vis. Pengukuran

dilakukan dengan konsentrasi tertinggi DPPH untuk menentukan panjang gelombang yang digunakan untuk mengetahui λ maks pada senyawa berwarna sehingga diperoleh kepekaan maksimum dan stabil (Anton dkk., 2021). Menurut Junaid dkk., (2016) radikal bebas stabil dengan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 515-520 nm dan dapat direduksi oleh senyawa antioksidan. Pada penelitian ini panjang gelombang maksimum 520 nm dan serapan maksimum sebesar 0,781.

Nilai IC_{50} (*Inhibition Concentration*) pada penelitian ini diukur dengan membuat kurva hubungan antara konsentrasi dan persen inhibisi. Semakin tinggi inhibisinya maka aktivitas antioksidan juga akan semakin tinggi. Semakin kecil nilai IC_{50} , maka semakin tinggi antioksidan (Molineux, 2004).

Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) teknik perkolasi dengan konsentrasi yang tertera pada tabel 4.4. diukur dengan panjang gelombang 520 nm. Persamaan regresi linier dengan konsentrasi sebagai sumbu x dan persen inhibisi sebagai sumbu y, sehingga diperoleh persamaan regresi linier $y = 29,41 + 0,153x$ dan memiliki nilai koefisien relasi (r) sebesar 0,9940. Nilai IC_{50} ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) dengan teknik perkolasi pada penelitian ini diketahui sebesar 134,58 ppm. Penelitian sebelumnya nilai IC_{50} ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) yang diekstraksi dengan metode maserasi didapatkan sebesar 90,9584 ppm. Hal ini menjadikan ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) dengan teknik maserasi memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dibandingkan dengan ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) dengan teknik perkolasi dalam kategori sedang karena memiliki nilai IC_{50} diantara 101-150 ppm (Molyneux, 2004).

Aktivitas antioksidan antioksidan ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) teknik infusa dengan konsentrasi yang tertera pada tabel 4.4. diukur dengan panjang gelombang 520

nm. Persamaan regresi linier dengan konsentrasi sebagai sumbu x dan persen inhibisi sebagai sumbu y untuk memperoleh nilai IC50, sehingga diperoleh persamaan regresi linier $y = 31,804 + 0,1652x$ dan memiliki nilai koefisien relasi (r) sebesar 0,993. Nilai IC50 ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) dengan teknik infusa pada penelitian ini diketahui sebesar 110,15 ppm merupakan kategori antioksidan sedang karena memiliki nilai IC50 diantara 101-150 ppm menurut tingkat kekuatan antioksidan (Molyneux., 2004). Nilai IC50 ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) dengan teknik infusa lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) dengan teknik perkolasi. Hal ini dapat terjadi karena adanya pengaruh suhu ekstraksi, dimana dengan cara infusa suhu ekstraksi dapat diatur agar tidak merusak senyawa antioksidan yang dibutuhkan. Senyawa antioksidan yang dibutuhkan dapat terekstrak sempurna dengan penambahan suhu ekstraksi sehingga semakin banyak senyawa yang terlarut maka semakin besar aktivitas antioksidannya. Meskipun kedua metode menunjukkan aktivitas antioksidan yang sedang, dapat disimpulkan bahwa perbedaan metode ekstraksi berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan yang dihasilkan (Nurhasnawati dkk., 2017).

Setelah dilakukan uji aktivitas antioksidan maka tahap selanjutnya adalah uji analisis data dengan perangkat lunak SPSS dengan melakukan uji normalitas data menggunakan Shapiro-Wilk karena jumlah data <50. Hasil uji normalitas data menggunakan Shapiro-Wilk menunjukkan bahwa data terdistribusi secara normal karena nilai signifikan > 0,05 dan bila hasil t hitung lebih besar dari pada t-tabel $\alpha = 0,05$ maka terdapat perbedaan bermakna antara aktivitas antioksidan dari teknik perkolasi dan infusa. Namun keduanya memiliki aktivitas antioksidan masih berbeda jauh dengan aktivitas antioksidan asam askorbat.

KESIMPULAN

Hasil penelitian perbandingan aktivitas antioksidan ekstrak daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) dengan teknik

ekstraksi perkolasi dan infusa terhadap aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) dengan teknik ekstraksi perkolasi dan infusa memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC50 134,58 dan 110,15 termasuk dalam kategori sedang. Ekstrak infusa daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) memiliki nilai IC50 berbeda bermakna dengan nilai IC50 perkolasi sehingga lebih baik aktivitas antioksidan ekstrak infusa dibanding ekstrak perkolasi daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.). Namun, keduanya memiliki aktivitas antioksidan dalam kategori sedang.

DAFTAR PUSTAKA

- Anton, N., Yudistira, A., & Siampa, J. P. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Etanol Spons *Ianthella basta* Dari Desa Tumbak Kecamatan Pusomaen Kabupaten Minahasa Tenggara. *Pharmakon*, 10(1), 713-719.
- Budiyanto, A. dan Yulianingsih. 2008. Pengaruh suhu dan waktu ekstraksi terhadap karakter pektin dari ampas jeruk siam (*Citrus nobilis* L.). *J. Pascapanen*. 5(2): 37-44
- Damanik, D.D.P., N. Surbakti dan R. Hasibuan. 2014. Ekstraksi katekin dari daun gambir (*Uncaria gambir roxb*) dengan metode maserasi. *Jurnal Teknik Kimia*. 3(2):10-15.
- Dewatisari, W. F., Rumiyantri, L., & Rakhmawati, I. (2017). Rendemen dan Skrining Fitokimia pada Ekstrak Daun *Sansevieria* sp. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 17(3), 197-202.
- Ergina, Nuryanti, S., & Pursitasari, I. (2014). Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) yang DiEkstraksi dengan Pelarut Air dan Etanol. *Jurnal Akademika Kimia*, 3(3): 165-172.
- Haeria, H., & Andi, T. U. (2016). Penentuan kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.). *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Science* (1), 57-61.
- Hasanah, M., Tasriyanti, F., & Darwis, D. (2015). Aktivitas Antioksidan

- Ekstrak Etanol Daun Benalu Sawo (*HELIXANTHERE SP*) Hasil ekstraksi Soxhletasi dan Perkolasi. *Prosiding SNaPP: Kesehatan (Kedokteran, Kebidanan, Keperawatan, Farmasi, Psikologi)*, 1(1), 189-194.
- Junaid, R. H., Ardana, M., & Rijai, L. (2016, November). Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Kulit Batang Pila-Pila (*Mallotus paniculatus*) Terhadap 1, 1-Diphenyl-2 Picrylhidrazyl (DPPH). In *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences* (Vol. 4, pp. 303-309).
- Markham, K. R. (1988). *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata. Bandung: Intitut Teknologi Bandung.
- Misna, M., & Diana, K. (2016). Aktivitas antibakteri ekstrak kulit bawang merah (*Allium cepa* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*, 2(2), 138-144.
- Molyneux, 2004, The use of The Stable Free Radical Diphenyl Picrylhidrazil (DPPH) for Estimating Antioxidant Actifity, dalam *J. Sci. Technol.*, 26 (2), 211-219.
- Nugrahani, R., Andayani, Y., & Hakim, A. 2016. Skrining Fitokimia dari Ekstrak Buah Buncis (*Phaseolus vulgaris* L.) dalam Sediaan Serbuk. *Jurnal Pendidikan IPA*. Vo. 2 No. 1. E-ISSN:2407-795x.
- Nurhasnawati, H., Sukarmi, S., & Handayani, F. (2017). Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi Dan Sokletasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jambu Bol (*Syzygium Malaccense* L.). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 3(1), 91-95.
- Purnamasari, D.R & Sagala, Zuraida. (2019). Uji Aktivitas Inhibitor Enzim Tirosinase Ekstrak Etanol Daun Bidara Arab (*Ziziphus spina-christi* L.) Secara In Vitro. *Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal*. Vol 5, No. 1 pp. 35-44.
- Prasonto, D., Riyanti, E., & Gartika, M. (2017). Uji aktivitas antioksidan ekstrak bawang putih (*Allium sativum*). *ODONTO: Dental Journal*, 4(2), 122-128.
- Ridho, E. (2014). *Uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol buah lakum (Cayratia trifolia) dengan metode DPPH (2, 2-Difenil-1-Pikrilhidrazil)* (Doctoral dissertation, Tanjungpura University).
- Safitri, I., Nuria, M. C., & Puspitasari, A. D. (2018). Perbandingan Kadar Flavonoid Dan Fenolik Total Ekstrak Metanol Daun Beluntas (*Pluchea Indica* L.) Pada Berbagai Metode Ekstraksi. *Jurnal Inovasi Teknik Kimia*, 3(1).
- Sayuti, K., & Yenrina, R. (2015). Antioksidan alami dan sintetik. *Padang. Universitas Adalas*, 40.
- Septyaningsih, D. (2010). Isolasi Dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Biji Buah Merah (*Pandanus Conoideus* Lamk). Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Sie, J. O. (2013). Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Manggis (*Gracinia mangostana* Linn) Hasil Pengadukan dan Refluk. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa*. Volume 2. Nomor 1.
- Syaifuddin, S. (2015). *Uji aktivitas antioksidan bayam merah (alternanthera amoena voss.) segar dan rebus dengan metode DPPH (Doctoral dissertation, UIN Walisongo)*.
- Taufik, A. N. (2016). Perbandingan Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Kayu Secang Putih Dan Merah (*Caesalpinia sappan* L.) Terhadap DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhidrazyl). *CALYPTRA*, 5(1), 1-16.
- Widyani, M., Ulfa, M., & Wirasisya, D. G. (2019). Efek Penghambatan Radikal Bebas Infusa dan Ekstrak Etanol Herba Pegagan (*Centella Asiatica* (L.) Urb) Dengan Metode DPPH. *Jurnal Pijar Mipa*, 14(1), 100-106.
- Winarti, S. (2010). Makanan fungsional. *Yogyakarta: Graha Ilmu*, 137-165.
- Yuliani, N. N., & Dienina, D. P. (2015). Uji aktivitas antioksidan infusa daun kelor (*Moringa oleifera* Lamk)

dengan Metode 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). *Jurnal Info Kesehatan*, 14(2), 1061-1082.

Yuliantari, N. W., Widarta, I. W. R., & Permana, I. D. G. M. (2017). Pengaruh suhu dan waktu ekstraksi terhadap kandungan flavonoid dan aktivitas antioksidan daun sirsak (*Annona muricata* L.) menggunakan ultrasonik. *Media Ilmiah Teknologi Pangan*, 4(1), 35-42.