

**PERBANDINGAN METODE EKSTRAKSI TERHADAP KADAR FENOLIK TOTAL
DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETIL ASETAT DAUN
KERSEN (*Muntingia calabura* L.)**

Nescyaulia Agusti Pusparida¹, Tutik^{2*}, Putri Amalia³

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

[*Email korespondensi: tutiksantarjo@gmail.com]

Abstract: Comparison of Extraction Methods of Total Phenol Content and Antioxidant Activity of Ethyl Acetate Extract of Cherry Leaves (*Muntingia calabura* L.) Cherry leaves are plants that grow a lot in the tropics, but only a few are used as traditional medicine. This research aims to determine the total phenolic content and antioxidant activity of the maceration extraction method and ultrasonic extraction from ethyl acetate extract of cherry leaves (*Muntingia calabura* L.). Cherry leaves extraction was carried out by maceration and ultrasonic methods using ethyl acetate as a solvent. The concentrated ethyl acetate extract of cherry leaves was tested for phytochemical screening and the total phenolic content and antioxidant activity were measured. The results of cherry leaves ethyl acetate extract using maceration and ultrasonic extraction methods had total phenolic content of 540,416 mgGAE/g and 531,250 mgGAE/g. The total phenolic content of the ethyl acetate extract of cherry leaves from the maceration and ultrasonic methods have a significant difference. Ethyl acetate extract of cherry leaves by maceration and ultrasonic extraction methods had levels of antioxidant activity of 3,629 ppm and 58,571 ppm. The antioxidant activity of the ethyl acetate extract of cherry leaves from the maceration and ultrasonic extraction methods had significant differences.

Keywords : ethyl acetate extract, cherry leaves, total phenolic content, ultrasonic, maceration.

Abstrak: Perbandingan Metode Ekstraksi Terhadap Kadar Fenolik Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etil Asetat Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.). Daun Kersen merupakan tumbuhan yang banyak tumbuh di daerah tropis namun masih sedikit yang memanfaatkan sebagai obat tradisional. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar fenolik total dan aktivitas antioksidan dari metode ekstraksi maserasi dan ultrasonik ekstrak etil asetat daun kersen (*Muntingia calabura* L.). Ekstraksi daun kersen dilakukan dengan metode maserasi dan ultrasonik dengan menggunakan pelarut etil asetat. Ekstrak kental etil asetat daun kersen diuji skrining fitokimia dan diukur kadar fenolik total dan aktivitas antioksidan. Hasil ekstrak etil asetat daun kersen dengan metode ekstraksi maserasi dan ultrasonik memiliki kadar fenolik total sebesar 540,416 mgGAE/g dan 531,250 mgGAE/g. Kadar fenolik total ekstrak etil asetat daun kersen dari metode maserasi dan ultrasonik memiliki perbedaan yang signifikan. Ekstrak etil asetat daun kersen dengan metode ekstraksi maserasi dan ultrasonik memiliki kadar aktivitas antioksidan sebesar 3,629 ppm dan 58,571 ppm. Aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat daun kersen dari metode ekstraksi maserasi dan ultrasonik memiliki perbedaan yang signifikan.

Kata Kunci : ekstrak etil asetat, daun kersen, kadar fenolik total, ultrasonik, maserasi.

PENDAHULUAN

Tumbuhan kersen (*Muntingia calabura* L.) merupakan salah satu tumbuhan yang banyak tumbuh di daerah tropis. Tumbuhan kersen masih sedikit dimanfaatkan sebagai pengobatan. Bagian tumbuhan kersen yang digunakan sebagai pengobatan adalah pada bagian buah dan daun. Penelitian yang telah dilakukan ekstrak etil asetat daun kersen memiliki kandungan metabolit sekunder yaitu alkaloid, saponin, fenolik, flavonoid, dan tanin yang berpotensi sebagai antioksidan alami (Puspitasari dan Wulandari, 2017). Senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam daun kersen memiliki aktivitas antioksidan, analgetik, dan antibakteri sehingga dapat digunakan sebagai pengobatan (Danugroho dan Widyaningrum, 2014).

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat proses oksidasi yang disebabkan oleh radikal bebas. Antioksidan dibedakan menjadi antioksidan sintetik dan alami. Antioksidan sintetik seperti BHA (*Butil Hidroksi Anisol*) dan BHT (*Butil Hidroksil Toluena*) yang sering digunakan namun memiliki efek merusak paru-paru dan hati serta bersifat karsinogenik (Zengin *et al.*, 2011). Efek dari antioksidan sintetik yang berbahaya bagi kesehatan membuat banyak peneliti tertarik untuk mencari sumber baru dari antioksidan alami sebagai alternatif untuk menggantikan antioksidan sintetik. Antioksidan alami salah satunya senyawa fenolik terdapat di dalam tumbuhan. Antioksidan alami yang digunakan dipercaya lebih aman dibandingkan antioksidan sintetik karena diperoleh dari ekstrak tanaman (Yanishlleva dan Marinova, 2001).

Senyawa fenolik tersebut dapat diperoleh dari bagian daun kersen dengan proses ekstraksi. Penelitian yang telah dilakukan kadar fenolik total paling tinggi juga memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi (Ukeiyanna, 2012). Selain itu, rendemen hasil ekstraksi senyawa kimia yang terkandung serta aktivitas antioksidan pada sampel dapat dipengaruhi oleh

suhu ekstraksi, kepolaran pelarut, faktor pengadukan dan metode ekstraksi (Rahmadhan *et al.*, 2021).

Metode ekstraksi dengan pemanasan dapat merusak metabolit sekunder. Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini ialah maserasi dan ultrasonik. Metode ekstraksi maserasi memiliki kelebihan yaitu tidak dengan pemanasan sehingga mencegah kerusakan ekstrak pada saat ekstraksi, selain itu kelebihannya prosedur serta peralatan yang digunakan sederhana dan murah. Metode ekstraksi ultrasonik memiliki kelebihan yaitu waktu lebih singkat, ekstrak yang dikeluarkan dari matriks tanpa merusak struktur ekstrak sehingga senyawa antioksidan tetap utuh dan metode ekstraksi ultrasonik dapat mempercepat waktu proses ekstraksi (Aulia, 2018).

Metode ekstraksi yang digunakan mempengaruhi aktivitas antioksidan dan kadar fenolik total. Penelitian yang telah dilakukan pada ekstrak etanol daun kersen dengan metode ekstraksi maserasi diperoleh aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} 126,46 $\mu\text{g}/\text{mL}$ termasuk kategori antioksidan sedang dan kadar fenolik total sebesar 311,10 mg GAE/g (Puspitasari dan Wulandari, 2017). Metode ekstraksi soxhletasi ekstrak etanol diperoleh aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 209,90 ppm yang termasuk kategori antioksidan lemah (Hasanah *et al.*, 2020). Sedangkan ekstrak etil asetat dengan metode ekstraksi maserasi diperoleh aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} 53,25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ yang termasuk kategori antioksidan kuat (Puspitasari dan Wulandari, 2017).

Berdasarkan uraian diatas maka akan dilakukan penelitian ekstraksi daun kersen (*Muntingia calabura* L.) dengan metode ekstraksi maserasi dan ultrasonik menggunakan pelarut etil asetat. Ekstrak yang diperoleh akan diukur dan dibandingkan kadar fenolik total dan aktivitas antioksidan dengan Spektrofotometri UV-Vis.

METODE

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah timbangan analitik, *blender (Toshiba)*, maserator, corong, erlenmeyer (Pyrex), gelas beker (Pyrex), *ultrasonic cleaner* Delta D68H, pipet volume, *vacuum rotary evaporator* IKA RV10, botol gelap, rak tabung, tabung reaksi (Pyrex), pipet tetes, spatula, batang pengaduk, bulb, pipet ukur (Pyrex), labu ukur (Pyrex), kuvet, Spektrofotometer Genesys 10S UV-Vis. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kersen (*Muntingia calabura* L.), etil asetat, etanol p.a, aquadest, serbuk Mg, HCl, FeCl₃, *Galic acid anhydrous*, *Sodium carbonat anhydrous*, *Folin-Ciocalteu's phenol reagent*, asam askorbat, DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil*).

Determinasi Daun kersen (*Muntingia calabura* L.) yang akan digunakan dalam penelitian ini di Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Lampung. Determinasi didasari pada persamaan ciri-ciri morfologinya. Daun kersen (*Muntingia calabura* L.) yang telah diambil berwarna hijau tua, segar lalu dicuci dengan air mengalir, kemudian dipotong kecil dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan tanpa terkena sinar matahari secara langsung, setelah kering di *blender*.

Simplisia daun kersen (*Muntingia calabura* L.) sebanyak 200 gram diekstraksi menggunakan 2000 mL pelarut etil asetat. Simplisia 200 gram dimasukkan ke maserator dan ditambahkan 1000 mL pelarut etil

- Identifikasi Fenolik : sebanyak 10 mg ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan akuades panas lalu disaring menggunakan kertas saring dan ditambahkan 3 tetes FeCl₃ 3%. Hasil positif fenolik menunjukkan warna hijau kehitaman.
- Identifikasi Flavonoid : sebanyak 10 mg ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dilarutkan dengan akuades panas lalu disaring menggunakan kertas saring, kemudian ditambahkan 0,1 mg

asetat, diekstraksi selama 5 hari pada suhu ruangan dengan pergantian pelarut setiap hari hingga terbentuk warna jernih. Hasil ekstraksi maserasi disaring dengan kertas saring dan dikumpulkan, kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C dan didapatkan ekstrak kental.

Simplisia daun kersen (*Muntingia calabura* L.) sebanyak 200 gram diekstraksi menggunakan 2000 mL pelarut etil asetat. Simplisia daun kersen dimasukkan ke dalam erlenmeyer sebanyak 25 gram dan ditambahkan pelarut etil asetat sebanyak 250 mL. Ekstraksi ultrasonik dilakukan selama 20 menit, kemudian hasil ekstraksi ultrasonik disaring dengan kertas saring. Ekstrak etil asetat daun kersen dikumpulkan dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dengan temperatur 40°C. Diperoleh ekstrak kental dan dihitung rendemennya.

Skrining Fitokimia

- Identifikasi Alkaloid : sebanyak 10 mg ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 5 tetes HCl 2N kemudian dibagi menjadi dua tabung reaksi, tabung pertama ditambahkan 3 tetes pereaksi mayer, tabung kedua ditambahkan 3 tetes pereaksi dragendorff. Hasil positif alkaloid menunjukkan tabung pertama terdapat endapan putih, dan tabung kedua terdapat endapan jingga.

Magnesium dan 1 mL HCl pekat. Hasil positif flavonoid membentuk larutan berwarna merah hingga jingga.

- Identifikasi Tanin : sebanyak 10 mg ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu dilarutkan dengan akuades panas dan ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl₃ 10%. Hasil positif tanin ditunjukkan dengan warna hijau kehitaman atau biru tua.
- Identifikasi Saponin : sebanyak 10 mg ekstrak dimasukkan ke dalam

tabung reaksi dan ditambahkan 10 mL akuades, kemudian dikocok kuat lalu terbentuk buih 1-10 cm kurang lebih 10 menit, kemudian ditambahkan 2-3 tetes HCl 2N, hasil positif saponin menunjukkan bentuk busa yang stabil.

Uji Kadar Fenolik Total

- a. Pembuatan Larutan Asam Galat : larutan asam galat dibuat dengan konsentrasi 1000 ppm dengan ditimbang 10 mg dilarutkan dalam etanol p.a hingga 10 mL. Larutan asam galat dibuat dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm. Masing-masing konsentrasi ditambahkan 0,4 mL reagen *Folin-Ciocalteu* didiamkan selama 8 menit dan 4 mL Na_2CO_3 7%.
- b. Pembuatan Larutan Sampel : ekstrak etil asetat dari hasil metode ekstraksi maserasi dan ultrasonik ditimbang masing-masing 10 mg dimasukkan ke labu takar 10 mL dan ditambahkan etanol p.a hingga tanda batas diperoleh konsentrasi 1000 ppm. Larutan ekstrak etil asetat 1000 ppm dari masing-masing metode ekstraksi di pipet sebanyak 1 mL ke dalam 10 mL labu ukur lalu ditambahkan 0,4 mL reagen *Folin-Ciocalteu* didiamkan selama 8 menit dan 4 mL Na_2CO_3 7% dan dicukupkan volumenya hingga 10 mL dengan etanol p.a diperoleh konsentrasi 100 ppm. Replikasi dilakukan sebanyak 3 kali.
- c. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum : asam galat dengan konsentrasi 100 ppm diambil 0,2 mL asam galat dan ditambahkan 0,4 mL *Folin-Ciocalteu* didiamkan selama 8 menit dan ditambahkan 4 mL Na_2CO_3 7%. Panjang gelombang maksimum dibaca pada Spektrofotometer UV-Vis pada rentang 550-800 nm.
- d. Penentuan *Operating Time* : absorbansi asam galat diamati setiap 1 menit selama 15 menit pada panjang gelombang maksimum 745 nm di Spektrofotometer UV-VIS.
- e. Penetapan Kurva Baku Asam Galat : absorbansi asam galat diamati pada

panjang gelombang maksimum 745 nm.

- f. Penetapan Kadar Fenolik Total : larutan ekstrak etil asetat yang telah dibuat kemudian absorbansinya dibaca pada panjang gelombang serapan maksimum pada Spektrofotometer UV-VIS.

Uji Aktivitas Antioksidan

- a. Pembuatan Larutan DPPH : sebanyak 10 mg DPPH ditimbang dan dilarutkan menggunakan etanol p.a dimasukkan ke labu ukur 250 mL hingga tanda batas dan diperoleh konsentrasi larutan induk DPPH 40 ppm. Kemudian ditempatkan pada botol gelap.
- b. Pembuatan Larutan Asam Askorbat : sebanyak 10 mg asam askorbat dilarutkan dengan etanol p.a ke dalam labu ukur 100 mL sampai dengan tanda batas dan diperoleh konsentrasi 100 ppm. Dibuat larutan seri konsentrasi dengan konsentrasi 2, 4, 8, dan 10 ppm.
- c. Pembuatan Larutan Sampel : 10 mg ekstrak kental etil asetat daun kersen dari hasil ekstraksi metode maserasi dan ultrasonik masing-masing ditimbang, kemudian dimasukkan etanol p.a ke dalam labu takar 10 mL hingga tanda batas dan diperoleh konsentrasi 1000 ppm. Dibuat larutan seri dengan konsentrasi 20, 40, 80, dan 100 ppm.
- d. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum : penentuan panjang gelombang dilakukan dengan cara larutan DPPH 40 ppm diambil sebanyak 4 mL dan ditambahkan dengan etanol p.a sebanyak 1 mL dan dibaca absorbansi pada panjang gelombang 515 nm.
- e. Penentuan *Operating Time* : larutan asam askorbat sebanyak 1 mL dengan konsentrasi 6 ppm dipipet, kemudian ditambahkan 4 mL DPPH, dihomogenkan dan diukur panjang gelombang maksimum yang telah diperoleh dengan waktu 30 menit sampai diperoleh absorbansi yang stabil dan tidak terlihat penurunan absorbansi.

- f. Penentuan Kurva Baku Asam Askorbat : pembuatan kurva baku asam askorbat dengan konsentrasi dari masing-masing seri asam askorbat dipipet 1 mL, kemudian ditambahkan 4 mL larutan DPPH dan didiamkan 30 menit, kemudian dibaca absorbansi pada panjang gelombang maksimum.
- g. Pembuatan Kurva Baku Sampel : ekstrak etil asetat dari hasil metode

ekstraksi maserasi dan ultrasonik dengan masing-masing seri konsentrasi dipipet 1 mL dan ditambahkan 4 mL DPPH dan didiamkan menurut hasil *operating time* yang diperoleh, kemudian dimasukkan ke dalam kuvet dan dibaca absorbansi pada gelombang maksimum.

HASIL

a. Ekstraksi dan Rendemen Rendemen pada ekstraksi maserasi diperoleh sebesar 8,944% dibandingkan dengan metode ultrasonik. Rendemen ekstraksi maserasi diperoleh lebih tinggi dibandingkan dengan rendemen ekstraksi ultrasonik, hal tersebut dikarenakan waktu ekstraksi maserasi selama 5 Hari dengan pergantian pelarut, sedangkan ultrasonik hanya 20 menit dan tidak dilakukan pergantian pelarut. Ekstraksi ultrasonik sebaiknya

dilakukan dengan pergantian pelarut yang bertujuan agar senyawa fenolik dapat terekstraksi dengan sempurna. Rendemen suatu ekstrak dipengaruhi oleh waktu dan suhu ekstraksi yang digunakan. Suhu yang digunakan pada maserasi adalah suhu ruangan, sedangkan suhu ultrasonik lebih tinggi dari maserasi dikarenakan kalor yang ada di alat ultrasonik. Suhu dan waktu yang tepat dapat menghasilkan ekstrak dengan rendemen yang tinggi (Sekarsari *et al.*, 2019).

Tabel 1. Hasil Ekstraksi Ekstrak Etil Asetat Daun Kersen

Metode Ekstraksi	Bobot Simplisia Basah (gram)	Bobot Simplisia Kering (gram)	Pelarut (mL)	Bobot Ekstrak (gram)	Rendemen (%)
Maserasi	800	200	2000	17,889	8,944
Ultrasonik	800	200	2000	14,320	7,160

b. Skrining Fitokimia Skrining fitokimia digunakan untuk mengetahui komponen senyawa aktif yang terdapat dalam daun kersen. Hasil uji skrining fitokimia ekstrak etil asetat daun kersen dengan metode ekstraksi maserasi mengandung alkaloid, fenolik, flavonoid, tanin, dan saponin. Hal tersebut sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan Puspitasari dan Wulandari (2019) pada ekstrak etil asetat daun kersen dengan metode ekstraksi maserasi yang juga

menunjukkan adanya kandungan alkaloid, fenolik, flavonoid, tanin, dan saponin pada ekstrak etil asetat daun kersen. Hasil uji skrining fitokimia ekstrak etil asetat daun kersen dengan metode ekstraksi ultrasonik mengandung alkaloid, fenolik, flavonoid, tanin, dan saponin. Hal tersebut sesuai penelitian yang telah dilakukan Qotrunada (2022) yang juga menunjukkan adanya kandungan alkaloid, fenolik, flavonoid, tanin, dan saponin.

Tabel 2. Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.)

Metode Ekstraksi	Identifikasi	Hasil Pengamatan	Keterangan
Maserasi	Alkaloid	Jingga	+
	Fenolik	Biru kehitaman	+
	Flavonoid	Merah jingga	+
	Tanin	Biru kehitaman	+
	Saponin	Larutan berwarna kuning terbentuk busa	+
Ultrasonik	Alkaloid	Jingga	+
	Fenolik	Biru kehitaman	+
	Flavonoid	Merah jingga	+
	Tanin	Biru kehitaman	+
	Saponin	Larutan berwarna kuning terbentuk busa	+

- c. Kadar Fenolik Total fenolik tertinggi yaitu 540,410 mgGAE/g Kadar fenolik total ekstrak etil asetat daun kersen dengan metode ekstraksi maserasi memiliki nilai kadar dibandingkan dengan menggunakan metode ekstraksi ultrasonik.

Tabel 3. Kadar Fenolik Total

Metode Ekstraksi	Absorbansi	Konsentrasi (mg/L)	Kadar Fenolik Total (mgGAE/g ekstrak)	Rata-rata Kadar Fenolik Total (mgGAE/g ekstrak)
Maserasi	0,467	53,875	538,750	540,410
	0,463	53,375	533,750	
	0,475	54,875	548,750	
Ultrasonik	0,466	53,750	537,500	531,250
	0,465	53,625	536,250	
	0,452	52,000	520,000	

- d. Aktivitas Antioksidan Hasil aktivitas antioksidan dari metode Ekstraksi dengan metode maserasi memberikan nilai IC_{50} yang termasuk paling kuat yaitu 3,629 ppm dibandingkan metode ekstraksi ultrasonik.

Tabel 4. Aktivitas Antioksidan

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	%Inhibisi	IC_{50} (ppm)	Keterangan
Maserasi	20	0,305	56,614	3,629	Sangat Kuat
	40	0,262	62,731		
	80	0,148	78,947		
	100	0,100	85,775		
Ultrasonik	20	0,423	39,829	58,571	Kuat
	40	0,392	44,238		
	80	0,313	55,476		
	100	0,265	62,304		

PEMBAHASAN

Penelitian yang dilakukan adalah uji kadar fenolik total dan uji aktivitas antioksidan pada daun kersen (*Muntingia calabura* L.) sampel yang diperoleh dari Kecamatan Rajabasa dan Kecamatan Langkapura, Bandar Lampung. Teknik pengambilan sampel dalam penelitian ini digunakan *purposive sampling*. *Purposive sampling* adalah pengambilan sampel dengan kriteria tertentu. Pada penelitian ini sampel diambil dengan kriteria warna hijau tua. Alasan pemilihan sampel daun kersen berwarna hijau tua karena daun yang tua berpengaruh pada kandungan dan jenis polifenol, menurut penelitian oleh Aziz dan Jack (2015) daun tua memiliki kadar fenolik total lebih tinggi dari pada daun muda.

Determinasi dilakukan untuk melihat kebenaran identitas dari tanaman yang digunakan sebagai sampel penelitian. Determinasi dilakukan dengan melihat kesamaan dari segi morfologi dan histokimia suatu tanaman. Determinasi dilakukan di Laboratorium Botani Universitas Lampung. Hasil determinasi menyatakan bahwa sampel yang digunakan adalah benar sampel daun kersen (*Muntingia calabura* L.).

Simplisia daun kersen yang telah diperoleh dilakukan proses ekstraksi di Laboratorium Terpadu Universitas Malahayati. Ekstraksi yang dilakukan dengan menggunakan 2 metode yaitu ekstraksi maserasi dan ultrasonik. Metode ekstraksi maserasi dipilih karena tanpa pemanasan dan dilakukan pada suhu ruang sehingga menghindari rusaknya senyawa yang tidak tahan terhadap pemanasan. Menurut penelitian Pratiwi (2010) ekstraksi maserasi memiliki kelebihan terjaminnya zat aktif yang diekstrak tidak akan rusak. Ekstraksi maserasi dapat menarik senyawa metabolit sekunder dengan melarutkan senyawa yang terdapat di dinding sel dan membran sel yang disebabkan perbedaan tekanan antara luar sel dan di dalam sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan pecah dan larut dengan pelarut etil

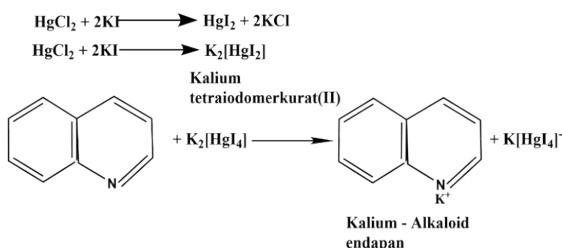
asetat. Pelarut etil asetat yang digunakan dengan pergantian pelarut etil asetat yang baru setiap 24 jam untuk mencegah terjadi penjumlahan pada pelarut dan senyawa yang tertarik pada saat ekstraksi lebih maksimal (Tetti, 2014). Metode ekstraksi ultrasonik ekstrak etil asetat daun kersen dilakukan selama 20 menit dikarenakan waktu 20 menit sudah memasuki titik jenuh sehingga tidak dapat menghasilkan ekstrak yang lebih banyak lagi (Handayani *et al.*, 2016).

Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi sesuai dengan kepolaran senyawa yang diinginkan berdasarkan prinsip *likes dissolves like*. Pelarut akan melarutkan senyawa yang memiliki tingkat kepolaran yang sama. Pelarut yang digunakan pada penelitian ini adalah etil asetat. Etil asetat bersifat semipolar sehingga dapat menarik senyawa yang bersifat polar maupun nonpolar. Pelarut etil asetat memiliki toksisitas yang rendah dan mudah diuapkan sehingga dapat digunakan untuk ekstraksi daun kersen. Filtrat etil asetat dari ekstraksi maserasi dan ultrasonik dipekatkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 40°C di Laboratorium Kimia Organik Universitas Lampung. Ekstrak kental etil asetat yang diperoleh berwarna hijau kehitaman, warna ekstrak tersebut sesuai dengan penelitian Qotrunada (2022) bahwa ekstrak kental etil asetat daun kersen berwarna hijau kehitaman. Rendemen ekstrak kental dari metode ekstraksi maserasi diperoleh rendemen sebesar 8,944% dan metode ultrasonik diperoleh rendemen sebesar 7,160%. Rendemen ekstraksi maserasi diperoleh lebih tinggi dibandingkan dengan rendemen ekstraksi ultrasonik, hal tersebut dikarenakan waktu ekstraksi maserasi selama 5 Hari dengan pergantian pelarut, sedangkan ultrasonik hanya 20 menit dan tidak dilakukan pergantian pelarut. Ekstraksi ultrasonik sebaiknya dilakukan dengan pergantian pelarut yang bertujuan agar senyawa fenolik dapat terekstraksi dengan sempurna. Rendemen suatu ekstrak dipengaruhi oleh waktu dan suhu ekstraksi yang digunakan. Suhu

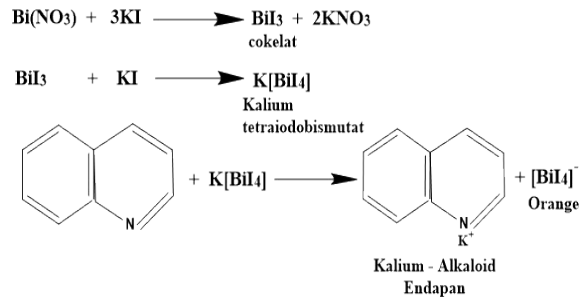
yang digunakan pada maserasi adalah suhu ruangan, sedangkan suhu ultrasonik lebih tinggi dari maserasi dikarenakan kalor yang ada di alat ultrasonik. Suhu dan waktu yang tepat dapat menghasilkan ekstrak dengan rendemen yang tinggi (Sekarsari *et al.*, 2019). Penggunaan suhu yang tinggi dapat merubah sifat fisikokimia karena dapat merusak senyawa dalam fenolik yang rentan terhadap suhu yang tinggi. Rendemen yang dihasilkan pada penelitian ini sejalan dengan penelitian Tutik *et al.*, (2022) pada ekstrak metanol kulit bawang merah bahwa metode ekstraksi maserasi mendapatkan hasil rendemen yang lebih tinggi dibandingkan metode ekstraksi ultrasonik.

Skrining fitokimia digunakan untuk mengetahui komponen senyawa aktif yang terdapat dalam daun kersen. Hasil uji skrining fitokimia ekstrak etil asetat daun kersen dengan metode ekstraksi maserasi mengandung alkaloid, fenolik, flavonoid, tanin, dan saponin.

Uji skrining fitokimia senyawa alkaloid dari ekstrak etil asetat metode ekstraksi maserasi dan ultrasonik positif mengandung alkaloid ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih ketika direaksikan dengan pereaksi mayer, dan endapan jingga dalam Dragendorff. Endapan dihasilkan karena terjadi pembentukan kompleks kalium-alkaloid. Alkaloid memiliki pasangan elektron bebas pada atom nitrogen yang akan berikatan dengan ion K^+ dalam pereaksi alkaloid (McMurry dan Fay, 2004).

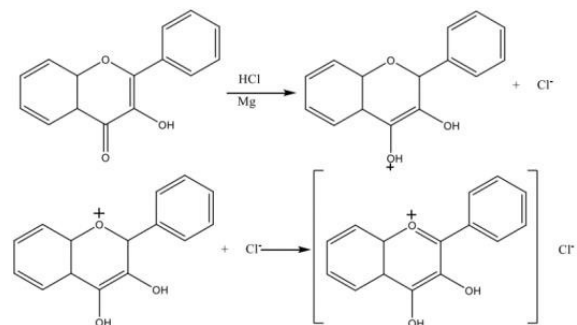


Gambar 1. Reaksi Alkaloid dengan Pereaksi Mayer



Gambar 2. Reaksi Alkaloid dengan Pereaksi Dragendorff

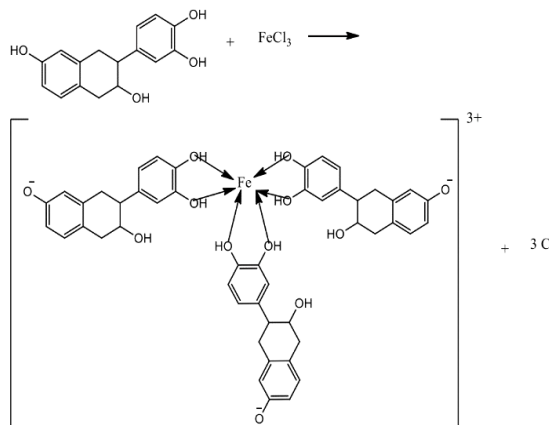
Uji skrining fitokimia senyawa flavonoid dari ekstrak etil asetat metode ekstraksi maserasi dan ultrasonik dilakukan dengan penambahan HCl pekat akan membentuk kompleks magnesium menghasilkan warna kuning atau jingga yang artinya positif mengandung flavonoid. Perubahan warna larutan menjadi berwarna jingga dikarenakan senyawa kompleks dari ion magnesium dengan ion fenoksi pada senyawa flavonoid. Reduksi senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak dengan Mg^{2+} dan HCl pekat akan membentuk kompleks $[\text{Mg}(\text{OAr})_6]^{4-}$ yang berwarna jingga (Marliana, 2005).



Gambar 3. Reaksi Flavonoid.

Uji skrining fitokimia senyawa tanin dari ekstrak etil asetat metode ekstraksi maserasi dan ultrasonik dilakukan dengan penambahan FeCl_3 10%. Tanin adalah salah satu senyawa fenol yang merupakan golongan dari senyawa polifenol. Warna biru atau hijau kehitaman yang terbentuk dari uji tanin menunjukkan

terbentuknya senyawa kompleks tanin dan ion Fe^{3+} (Marjoni, 2016).



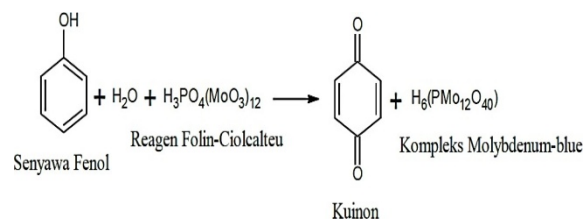
Gambar 4. Reaksi Tanin

Uji skrining fitokimia senyawa saponin ekstrak etil asetat daun kersen menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya busa stabil pada saat dilakukan pengocokan. Hal ini terjadi karena adanya senyawa glikosida yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lain sehingga dapat membentuk busa stabil.

Uji kadar fenolik total dilakukan menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis dengan reagen *Folin-Ciocalteu*. Asam galat digunakan sebagai standar atau pembanding karena asam galat termasuk salah satu senyawa fenolik alami dan stabil. Larutan asam galat dengan konsentrasi 100 ppm ditambahkan dengan reagen *Folin-Ciocalteu* menghasilkan warna kuning dan ditambahkan Na_2CO_3 7% yang bertujuan untuk pemberi suasana basa supaya terjadi reaksi reduksi *Folin-Ciocalteu* oleh gugus hidroksil dari fenolik di dalam ekstrak etil asetat daun kersen.

Gugus hidroksil dari senyawa fenolik bereaksi dengan reagen *Folin-Ciocalteu* membentuk kompleks molybdenum yang berwarna biru. Semakin tinggi kandungan fenolik dalam suatu ekstrak maka semakin pekat warna biru yang terbentuk. Warna biru yang terbentuk berbanding lurus dengan konsentrasi ion fenolat yang terbentuk, semakin besar konsentrasi senyawa fenolik maka semakin banyak

ion fenolat yang terbentuk sehingga warna biru yang dihasilkan semakin pekat (Singleton dan Rossi, 1965).



Gambar 5. Reaksi Fenol dengan Reagen *Folin-Ciocalteu*.

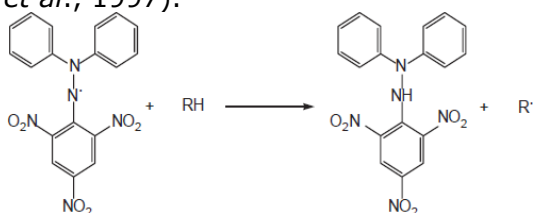
Panjang gelombang maksimum diukur dengan rentang 550-800 nm. Panjang gelombang maksimum yang diperoleh 745 nm. *Operating time* larutan asam galat 100 ppm yang telah direaksikan dengan reagen *Folin-Ciocalteu* diukur absorbansi dengan interval 1 menit selama 15 menit pada panjang gelombang 745 nm. Hasil *operating time* yaitu pada menit ke-12 sampai 14. *Operating time* bertujuan untuk mengetahui waktu yang stabil larutan yang diujikan.

Kurva kalibrasi antara absorbansi dengan konsentrasi dibuat untuk menentukan kadar fenolik total dalam sampel ekstrak etil asetat daun kersen melalui persamaan regresi. Kurva kalibrasi asam galat diperoleh persamaan regresi linear yaitu $y = 0,008x + 0,036$ dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,996. Nilai koefisien korelasi yang mendekati 1 artinya persamaan regresi tersebut ialah linear. Dari kurva kalibrasi dapat dilihat bahwa absorbansi berbanding lurus dengan konsentrasi yang mengikuti persamaan regresi linear.

Konsentrasi larutan sampel ditentukan melalui kurva kalibrasi dengan mengukur nilai absorbansi pada sampel yang dihitung dengan persamaan regresi linear dari kurva standar dengan absorbansi standar. Hasil yang diperoleh lalu dihitung kadar fenolik total rata-rata dari masing-masing ekstrak etil asetat daun kersen. Ekstrak etil asetat daun kersen dengan metode ekstraksi maserasi sebesar 540,416 mgGAE/g ekstrak sedangkan kadar fenolik total rata-rata dari ekstrak

etil asetat daun kersen dengan metode ekstraksi ultrasonik sebesar 531,250 mgGAE/g. Kadar fenolik total dari metode ekstraksi tersebut diperoleh kadar yang lebih tinggi yaitu metode ekstraksi maserasi dibandingkan dengan metode ekstraksi ultrasonik.

Uji aktivitas antioksidan pada penelitian ini dilakukan dengan DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*) menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. Prinsip dari pengujian antioksidan dengan DPPH adalah pengurangan intensitas warna ungu dari DPPH setelah direaksikan dengan senyawa antioksidan. Pengurangan intensitas warna ungu dikarenakan terjadi peredaman radikal bebas DPPH. Elektron bebas dari DPPH berikatan dengan atom hidrogen dari senyawa antioksidan sehingga warna berubah menjadi kuning. Hasil dari perubahan warna merupakan stokiometri terhadap jumlah elektron yang ditangkap (Bondet *et al.*, 1997).



Gambar 6. Reaksi antara DPPH dengan Antioksidan (Sayuti dan Rina, 2015).

Asam askorbat digunakan sebagai pembanding dalam menentukan aktivitas antioksidan karena asam askorbat merupakan antioksidan yang mampu mendonorkan atom hidrogen ke DPPH membentuk senyawa (DPPH-H) yang stabil. Pengujian aktivitas antioksidan dari ekstrak etil asetat daun kersen dengan metode ekstraksi maserasi dan ultrasonik dilakukan dengan panjang gelombang maksimum yaitu 515 nm. Penentuan *operating time* untuk mengetahui waktu optimum larutan uji bereaksi dengan radikal bebas DPPH. *Operating time* dilakukan dengan direaksikan larutan asam askorbat dan DPPH yang dibaca pada panjang gelombang maksimum 515 nm dengan interval 1 menit selama 30 menit sehingga diperoleh *Operating time* pada menit ke- 22 sampai 28.

Larutan DPPH yang direaksikan dengan asam askorbat dan ekstrak etil asetat daun kersen mengalami perubahan warna dari ungu pekat menjadi kuning, hal tersebut artinya terdapat aktivitas antioksidan pada asam askorbat maupun ekstrak etil asetat daun kersen. Antioksidan adalah donor proton terhadap DPPH, maka DPPH yang tereduksi akan stabil dan terjadi perubahan warna dari ungu menjadi kuning (Salmah dan Widyasari, 2015). Perubahan warna memberikan absorbansi pada panjang gelombang maksimum DPPH menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dan dapat diketahui nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} diperoleh dari perhitungan persamaan regresi linear $y = bx + a$ dengan mensubstitusikan nilai 50 pada y dan konsentrasi yang menghambat 50% radikal bebas sebagai x . Persamaan regresi linear digunakan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi sampel yang diuji terhadap persen hambatan. Semakin tinggi konsentrasi, semakin tinggi persen hambatan, dan semakin kecil nilai absorbansi (Diana, 2022).

Hasil pengujian aktivitas antioksidan asam askorbat terhadap DPPH dengan konsentrasi seri 2 ppm, 4 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm pada panjang gelombang maksimum 515 nm dengan persamaan regresi $y = 0,668x + 47,80$ dengan koefisien relasi sebesar 0,996 dan diperoleh nilai IC_{50} pada asam askorbat sebesar 3,293 ppm. Asam askorbat termasuk kategori antioksidan yang sangat kuat karena IC_{50} yang diperoleh kurang dari 50 ppm (Molyneux, 2004).

Hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat daun kersen dari metode maserasi dengan konsentrasi seri 20 ppm, 40 ppm, 80 ppm, dan 100 ppm pada panjang gelombang maksimum 515 nm diperoleh nilai IC_{50} sebesar 3,629 ppm dari persamaan regresi $y = 0,372x + 48,65$ dengan koefisien relasi sebesar 0,997. Ekstrak etil asetat daun kersen dengan metode maserasi termasuk kategori antioksidan yang sangat kuat

karena IC_{50} yang diperoleh kurang dari 50 ppm (Molyneux, 2004).

Hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat daun kersen dari metode ultrasonik dengan konsentrasi seri 20 ppm, 40 ppm, 80 ppm, dan 100 ppm pada panjang gelombang maksimum 515 nm dengan persamaan regresi $y = 0,280x + 33,60$ dengan koefisien relasi sebesar 0,995. Nilai IC_{50} diperoleh sebesar 58,571 ppm. Ekstrak etil asetat daun kersen dari metode maserasi termasuk kategori antioksidan yang kuat karena IC_{50} yang diperoleh masuk dalam rentang 50-100 ppm (Molyneux, 2004). Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian sebelumnya oleh Candraningsih (2022) ekstrak daun kersen dari metode ekstraksi ultrasonik diperoleh aktivitas antioksidan yang termasuk kategori kuat.

Hasil penelitian metode ekstraksi maserasi ini diperoleh nilai IC_{50} lebih rendah dan kadar fenolik total lebih tinggi dibandingkan penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Puspitasari dan Wulandari (2017) pada ekstrak etanol daun kersen dengan metode maserasi diperoleh IC_{50} 126,46 μ g/mL dan kadar fenolik 311,10 mg GAE/g sedangkan pada penelitian ini ekstrak etil asetat daun kersen dengan metode maserasi diperoleh IC_{50} 3,629 ppm dan kadar fenolik 540,416 mg GAE/g. Hal ini menunjukkan senyawa fenolik dapat diekstraksi lebih baik dengan pelarut etil asetat (semipolar) dibandingkan etanol (polar) dan waktu ekstraksi juga mempengaruhi, semakin lama waktu ekstraksi maka semakin banyak senyawa metabolit yang terekstrak karena kontak antara simplisia dan pelarut semakin lama (Mandal, 2007). Dari hasil IC_{50} dan kadar fenolik total bahwa semakin banyak kadar fenolik total maka semakin tinggi kemampuan antioksidan menghambat radikal bebas (Nur *et al.*, 2019).

Data kadar fenolik total dan aktivitas antioksidan dianalisis menggunakan *software IBM SPSS Statistic 20* untuk melihat perbedaan

yang signifikan. Uji normalitas dilakukan untuk mengetahui data terdistribusi normal atau tidak. Uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* dikarenakan data yang dianalisis <50 , hasil uji normalitas diperoleh data yang terdistribusi normal karena $p > 0,05$. Uji selanjutnya dilakukan uji Homogenitas *Levene's test* dengan diperoleh data yang homogen dengan $p > 0,05$, kemudian dilanjutkan Uji *Independent T-Test* untuk mengetahui perbedaan yang signifikan dari dua sampel yang berbeda, bila nilai $p < 0,05$ maka terdapat perbedaan yang signifikan.

Hasil analisis kadar fenolik total dengan *software IBM SPSS Statistic 20* diperoleh perbandingan antara metode ekstraksi maserasi dan ultrasonik terhadap kadar fenolik total ekstrak etil asetat daun kersen memiliki perbedaan yang signifikan dikarenakan nilai p yaitu 0,026 yang artinya $< 0,05$. Hasil analisis aktivitas antioksidan dengan *software IBM SPSS Statistic 20* diperoleh perbandingan antara metode ekstraksi maserasi dan ultrasonik terhadap aktivitas antioksidan daun kersen memiliki perbedaan yang signifikan dikarenakan nilai p yaitu 0,020 yang artinya $< 0,05$. Perbedaan yang signifikan antara metode maserasi dan ultrasonik terhadap kadar fenolik total dan aktivitas antioksidan dikarenakan metode ekstraksi yang digunakan berbeda, waktu dan suhu yang digunakan pada ekstraksi berpengaruh terhadap senyawa yang dihasilkan. Waktu ekstraksi yang dilakukan semakin lama maka semakin lama juga kontak antara pelarut dengan bahan aktif yang akan terlarut (Wahyuni, 2015). Suhu yang digunakan pada ekstraksi maserasi dan ultrasonik adalah suhu ruangan namun pada ekstraksi ultrasonik dikarenakan adanya kalor dari alat ultrasonik yang digunakan secara terus-menerus dapat menurunkan total fenol dikarenakan fenol mengalami degradasi akibat terpapar oleh panas (Ananta *et al.*, 2021).

KESIMPULAN

Hasil penelitian perbandingan metode ekstraksi terhadap kadar fenolik total dan aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat daun kersen dapat disimpulkan bahwa Ekstrak etil asetat daun kersen dengan metode ekstraksi maserasi dan ultrasonik memiliki kadar fenolik total sebesar 540,416 mgGAE/g dan 531,250 mgGAE/g. Ekstrak etil asetat daun kersen dengan metode ekstraksi maserasi dan ultrasonik

terdapat perbedaan yang signifikan terhadap kadar fenolik total. Ekstrak etil asetat daun kersen dengan metode ekstraksi maserasi dan ultrasonik memiliki kadar aktivitas antioksidan sebesar 3,629 ppm dan 58,571 ppm. Ekstrak etil asetat daun kersen dengan metode ekstraksi maserasi dan ultrasonik terdapat perbedaan yang signifikan terhadap aktivitas antioksidan.

DAFTAR PUSTAKA

- Ananta DA, Putra GG, Arnata IW. 2021. Pengaruh Suhu dan Waktu Maserasi terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.). *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*.
- Aulia LP, Widjanarko SB. 2018. Optimasi Proses Ekstraksi Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Metode MAE (*Microwave Assisted Extraction*) dengan Respon Aktivitas Antioksidan dan Total Fenol. *Jurnal argoindustri Halal*.
- Aziz A, Jack R. 2015. Total Phenolic Content of Antioxidant Activity in Nypa Fruticans Extracts. *Journal of Sustainability Science and Management*.
- Bondet V, Brand WW, Berset CLWT. 1997. Kinetics and Mechanisms of Antioxidant Activity Using the DPPH Free Radical Method. *LWT Food Science and Technology* 30(6): 609-615.
- Diana AN. 2022. Pengaruh Metode Ekstraksi Sonikasi dan Maserasi Kinetik terhadap Aktivitas Antioksidan Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) [Skripsi], Jember: Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas dr. Soebandi.
- Handayani F, Sentat T. 2016. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) Terhadap Penyembuhan Luka Bakar Pada Kulit Mencit Putih Jantan (*Mus musculus*). *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina* 1:131- 142
- Hasanah MH. 2020. Perbedaan Daya Antioksidan Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) yang diekstraksi dengan Metode Perkolasi dan Soxhletasi. *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia* 9(2).
- Mandal V. 2007. Microwave Assisted Extraction-An Innovation and Promising Extraction Tool For Medical Plant Research. *Pharmacognosy Reviews*.
- Margaretta S, Hanyani SD, Indraswati N, Hindarso H. 2013. Ekstraksi Senyawa Phenolic *Pandanus Amaryllifolius* Roxb sebagai Antioksidan Alami. *Widya Teknik* 10(1): 20-30.
- Marliana SD, Suryanti V. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechiumedule Jacq. Swartz.*) dalam Ekstrak Etanol. *Biofarmasi* 3(1).
- McMurry J, Fay RC. 2004. *Hydrogen, Oxygen and Water in: McMurry Fay Chemistry*. 4th edition ed. CA: Pearson Education International.
- Molyneux P. 2004. The Use of Stable Free Radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarinn J Sci Technol* 26:211-219.
- Nur S, Sami FJ, Awaluddin A, Afsari MI. 2019. Korelasi antara Kadar Total Flavonoid dan Fenolik dari Ekstrak dan Fraksi Daun Jati Putih (*Gmelina arborea* Roxb) terhadap Aktivitas Antioksidan. *Jurnal Farmasi Galenika* 5(1): 33-42.
- Pratiwi E. 2010. Perbandingan Metode Maserasi, Remaserasi, Perkolasi dan Reperkolasi dalam Ekstraksi Senyawa Aktif Andrographolide dari Tanaman Sambilo

- (*Andrographis paniculata* Nee). [Skripsi]. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Puspitasari AD, Wulandari RL. 2017. Aktivitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Flavonoid Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.). *Jurnal Pharmascience* 4(2).
- Puspitasari AD, Wulandari RL. 2017. Aktivitas Antioksidan, Penetapan Kadar Fenolik Total dan Flavonoid Total Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.). *Jurnal Pharmacia* 7(2).
- Qotrunada BA. 2022. Uji Aktivitas Antioksidan dan Fitokimia Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) Hasil Ekstraksi Ultrasonik dengan Variasi Pelarut. [Skripsi]. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Salmah N, Widyasari E. 2015. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kelengkeng (*Euphoria logan* L.) dengan Metode Penangkapan Radikal 2,2'-Diphenil-1-Pikrilhidrazil. *Jurnal Pharmacia*.
- Sekarsari S, Widarta IWR, Jambe AAGNA. 2019. Pengaruh Suhu dan Waktu Ekstraksi terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Jambu (*Psidium guajava* L.). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*.
- Tetti, M. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan* 2(2).
- Tukiran SD. 2017. Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Kulit Batang Tumbuhan Klampok Watu (*Syzygium Litorale*). *Unesa Journal of Chemistry*.
- Tutik, Putri GA, Lisnawati. 2022. Perbandingan Metode Maserasi, Perkolasi dan Ultrasonik terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Bawang Merah (*Allium cepa* L.). *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan* 9(3).
- Ukieyanna E. 2012. Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenolik, dan Flavonoid Total Tumbuhan Suruhan (*Peperomia peluucida* L. Kunth) [Skripsi]. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Wahyuni H. 2015. Antioksidan Alami dan Radikal Bebas. Yogyakarta: Kanisius.
- Yanishlleva NV, Marinova EM. 2001. Stabilization of Edible Oils with Natural Antioxidants. *Lipid Sci Technol*.
- Zhengjin G, Aktumsek A, Guler GO, Cakmak YS, Yildiztugay E. 2011. Antioxidant Properties of Methanolic Extract and Fatty Acid Composition of *Centaurea urville* DC. Subsp. *hayakiena* Wagenitz. *Natural Product* 5:123-132.