

**PENGARUH METODE EKSTRAKSI DAN PELARUT TERHADAP KANDUNGAN
METABOLIT SEKUNDER DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN
INSULIN (*Smallanthus sonchifolius*)**

**SOLVENTS EFFECT AND EXTRACTION METHODS ON SECONDARY
METABOLITE CONTENT AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF INSULIN LEAF
EXTRACT (*Smallanthus sonchifolius*)**

Alip Desi Suyono Saputri, Muhammad Sa'ad*, Putri Maharani, Maya Tesa Prahesti
Program Studi DIII Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional

Email : muhammads@stikesnas.ac.id
0812 2807 8074

Abstract

*Insulin leaves (*Smallanthus sonchifolius*) are reported to have strong antioxidant activity. This activity comes from the content of secondary metabolite compounds such as phenolics, flavonoids, tannins, as well as anthocyanin and betacyanin pigments. To obtain the phytochemical content of a plant, an extraction process is carried out. The extraction method and solvent are factors that influence the amount of phytochemical content in the extract. There has been no research analyzing effective methods and solvents for extracting insulin leaves to obtain the highest antioxidant effect. This research was conducted to determine the effect of extraction methods and solvents on the antioxidant activity of insulin leaf extract. Maceration and digestion methods with distilled water, 50% ethanol and 96% ethanol were used in the extraction of insulin leaf simplicia in this study. Samples obtained were Aquadest Macerated Extract (EMA), 50% Ethanol Macerated Extract (EME50), 96% Ethanol Macerated Extract (EME96), Aquadest Digested Extract (EDA), 50% Ethanol Digested Extract (EDE50), and 96% Ethanol Digested Extract (EDE96). Testing the antioxidant activity of each sample used the DPPH method by calculating the IC_{50} value and using Quercetin as a positive control. Data analysis was carried out using one way anova analysis. The results show that the choice of solvent and extraction method influences the antioxidant activity of the extract. The IC_{50} values for each extract from low to high are: EDA, EDE50, EMA, EDE96, EME50, and EME96, with values: 20.06ppm; 22.44ppm; 23.77ppm; 23.84ppm; 24.55ppm; and 27.71ppm. It can be concluded that the method and solvent to obtain the best antioxidant activity from insulin leaves (*Smallanthus sonchifolius*) is extraction using the digestion method with distilled water as a solvent ($p < 0,05$).*

Keywords: *antioxidant, digestion, insulin leaf, maceration, solvent*

Abstrak

Daun Insulin (*Smallanthus sonchifolius*) dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan kuat. Aktivitas tersebut berasal dari kandungan senyawa metabolit sekunder seperti fenolik, flavonoid, tannin, serta pigmen antosianin dan betasianin. Untuk memperoleh sari kandungan fitokimia pada suatu tanaman, dilakukan proses ekstraksi. Metode dan pelarut

ekstraksi menjadi faktor yang mempengaruhi jumlah kandungan fitokimia pada ekstrak. Belum terdapat penelitian yang menganalisis metode serta pelarut yang efektif untuk ekstraksi daun insulin untuk mendapatkan efek antioksidan tertinggi. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh metode dan pelarut ekstraksi terhadap aktivitas antioksidan ekstrak daun insulin. Metode maserasi dan digesti dengan pelarut aquadest, etanol 50%, dan etanol 96% digunakan dalam ekstraksi simplisia daun insulin pada penelitian ini. Didapatkan sampel Ekstrak Maserasi Aquadest (EMA), Ekstrak Maserasi Etanol 50% (EME50), Ekstrak Maserasi Etanol 96% (EME96), Ekstrak Digesti Aquadest (EDA), Ekstrak Digesti Etanol 50% (EDE50), dan Ekstrak Digesti Etanol 96% (EDE96). Pengujian aktivitas antioksidan masing-masing sampel menggunakan metode DPPH dengan menghitung nilai IC_{50} dan menggunakan Kuersetin sebagai kontrol positif. Analisis data dilakukan dengan analisis *one way anova*. Hasil menunjukkan bahwa pemilihan pelarut dan metode ekstraksi mempengaruhi aktivitas antioksidan ekstrak. Nilai IC_{50} masing-masing ekstrak dari rendah ke tinggi yaitu: EDA, EDE50, EMA, EDE96, EME50, dan EME96, dengan nilai: 20,06ppm; 22,44ppm; 23,77ppm; 23,84ppm; 24,55ppm; dan 27,71ppm. Dapat disimpulkan bahwa metode dan pelarut untuk mendapatkan aktivitas antioksidan terbaik dari daun insulin (*Smallanthus sonchifolius*) yaitu ekstraksi menggunakan metode digesti dengan pelarut aquadest ($p < 0,05$).

Kata Kunci: antioksidan, daun insulin, digesti, maserasi, pelarut

PENDAHULUAN

Dalam bagian tanaman terdapat senyawa metabolit sekunder yang menjadi sumber senyawa antioksidan alami [1]. Daun insulin (*Smallanthus sonchifolius*) merupakan salah satu tanaman yang diketahui memiliki efektifitas sebagai antioksidan. Daun insulin menjadi sumber antioksidan alami yang didalamnya terkandung senyawa metabolit sekunder seperti: fenolik, flavonoid, alkaloid, saponin dan tanin [2].

Aktivitas antioksidan berasal dari senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid dan fenolik. Potensi antioksidan flavonoid berasal dari cincin aromatik yang mengikat gugus hidroksi (-OH) yang dapat menangkap radikal bebas dari peroksidasi lemak. Radikal peroksidasi lemak distabilkan oleh satu atom hidrogen yang disumbangkan oleh senyawa flavonoid [3]. Senyawa lain yang berperan sebagai antioksidan alami adalah senyawa fenolik, merupakan golongan senyawa terbesar

pada tumbuhan. Senyawa fenolik memiliki cincin aromatis yang mengikat gugus hidroksi (cincin fenol). Gugus hidroksi mudah teroksidasi pada radikal bebas dengan menyumbangkan atom hidrogen. Senyawa fenolik sangat potensial sebagai antioksidan karena kemampuannya membentuk radikal fenoksi yang stabil [4]. Selain kedua metabolit tersebut, beberapa penelitian juga menunjukkan senyawa metabolit lainnya yang berperan pada aktivitas antioksidan antara lain: alkaloid, saponin, dan tanin [5–7].

Untuk mengisolasi senyawa kimia pada sumber tanaman tertentu, dilakukan proses ekstraksi. Ekstraksi merupakan proses pemisahan senyawa campuran menggunakan pelarut tertentu yang sesuai. Keberhasilan proses isolasi sangat bergantung pada metode ekstraksi dan pelarut yang digunakan. Sedangkan efektifitas pelarut dalam mengekstraksi senyawa sangat bergantung pada kelarutan senyawa terhadap pelarut yang mengacu pada prinsip *like dissolve like*. Flavonoid dan

fenol merupakan senyawa polar sehingga untuk melarutkannya diperlukan pelarut polar seperti air, etanol, metanol, butanol dan lain-lain. [8].

Aktivitas farmakologis suatu ekstrak sangat dipengaruhi oleh pemilihan metode ekstraksi. Aktivitas dapat meningkat atau bahkan menjadi tidak aktif bergantung pada metode ekstraksi. Senyawa pada suatu simplisia bersifat relatif tidak stabil dan mudah terurai apabila tidak tepat dalam penggunaan metode ekstraksi [9]. Stabilitas dan kadar senyawa yang terekstraksi dalam pelarut juga dipengaruhi oleh pemilihan metode ekstraksi [10]. Maserasi merupakan metode ekstraksi yang paling sederhana dan mudah dilakukan, sehingga metode tersebut sering dijadikan pilihan untuk proses ekstraksi. Digesti merupakan metode ekstraksi maserasi dengan pemanasan lemah (40-50°C), memberikan keuntungan dalam efektifitas penyarian senyawa [11].

Sampai saat ini belum terdapat penelitian yang menganalisis metode ekstraksi serta pelarut yang efektif untuk ekstraksi daun insulin untuk mendapatkan aktivitas antioksidan tertinggi. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh metode ekstraksi maserasi dan digesti serta pengaruh pelarut ekstraksi terhadap aktivitas antioksidan ekstrak daun insulin.

METODE PENELITIAN

Alat

Spektrofotometer UV-Vis (*Shimadzu UV-1280*), kuvet (*Hellma analytics*) *rotary vacuum evaporator (IKA)*, neraca analitik (*Ohaus*), oven (*Memmert*), mikropipet (*Eppendorf*), *Stirring Hot Plate (MS-H280-Pro)*, maserator, *waterbath (Memmert)*, corong *buchner*.

Bahan

Daun Insulin (Wonosobo), etanol 96% (*Brataco*), etanol 50%, *aquadest*, kuersetin (*Sigma Aldrich*), AlCl_3 10%, FeCl_3 , CH_3COOK 1M, serbuk Mg, dan HCl p, butanol, asam asetat, metanol, air, DPPH (*Sigma Aldrich*), dan serbuk logam Mg.

Prosedur

Pengambilan Sampel

Sampel Daun Insulin dipanen dari Kecamatan Kertek, Kabupaten Wonosobo. Pemanenan pada waktu sore hari dan dipilih daun tua. Pemastian tanaman daun insulin dilakukan determinasi di Unit Pelaksana Fungsional (UPF), Pelayanan Kesehatan Tradisional (Yankestrad), RSUP Dr. Sardjito, Tawangmangu.

Ekstraksi

Maserasi. Serbuk simplisia daun insulin sebanyak 200 gram, maserasi menggunakan pelarut aquadest, etanol 50%, etanol 96% dengan perbandingan 1:10. Pelarut yang digunakan sebanyak 2 Liter. Maserasi dilakukan selama 5 hari menggunakan bejana maserasi, setiap harinya diaduk sesekali kurang lebih 15 menit. Setelah itu diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* kemudian dipekatkan diatas *waterbath* (12).

Digesti. Serbuk simplisia daun insulin sebanyak 200 gram ditambahkan pelarut aquadest, etanol 50%, etanol 96% dengan perbandingan 1:10. Pelarut yang digunakan sebanyak 2000 ml. *Beker glass* berisi simplisia dan pelarut diletakkan diatas *hot plate stirrer*. Pengadukan dengan *stirrer* disetting selama 2 jam pada kecepatan ± 1000 rpm dan dipanaskan pada suhu 40°C. Ekstrak kemudian disaring dengan corong *buchner* untuk memisahkan maserat dan filtrat. Filtrat

yang diperoleh kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* dan *waterbath* untuk mendapatkan ekstrak kental (13).

Identifikasi Senyawa Kimia

Uji identifikasi senyawa metabolit sekunder dalam sampel meliputi uji: flavonoid, fenolik, tanin, saponin dan alkaloid, mengacu pada penelitian Krisdiyanto, 2023 (14) tersaji dalam tabel 1.

Tabel 1. Uji Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder

Uji	Reagen	Hasil Positif
Flavonoid	n-heksana+etanol 70%+Logam Mg+HCl	Hijau/Merah muda/ungu
Fenolik	FeCl ₃ 5%	Hijau- Coklat/Biru- Hitam
Tanin	FeCl ₃	Hijau- Coklat/Biru- Hitam
Saponin	n-Heksana + HCl + Lieberman-Bourchard Meyer	Hijau-Biru Endapan Putih
Alkaloid	Dragendorff	Endapan Merah
	Wagner	Endapan Kuning

Uji Aktivitas Antioksidan

Pembuatan Larutan DPPH 0,1 mM

Dibuat larutan DPPH 0,1mM dengan menimbang serbuk DPPH sebanyak 0,39432 g, dimasukkan labu takar 10 mL dan ditambahkan methanol p.a sampai tanda. Dari larutan tersebut, dipipet 0,1 mL, dimasukkan dalam labu takar 100 mL, ditambahkan methanol p.a sampai tanda batas, didapatkan larutan DPPH 0.1 mM.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Sebanyak 2 mL larutan baku DPPH 0.1 mM ditambahkan 2 mL metanol p.a dalam tabung reaksi, dibuat homogen dengan vortek kemudian dituang dalam

kuvet. Dilakukan *scanning* panjang gelombang pada 400-800 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Pembuatan Blanko DPPH

Sebanyak 2 mL larutan DPPH 0,1 mM, ditambahkan metanol p.a 2 mL dalam tabung reaksi, dihomogenkan dengan vortek, kemudian dilakukan inkubasi selama 30 menit tanpa terkena cahaya (ditutup *aluminium foil*), selanjutnya diukur absorbansi pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh.

Pembuatan Larutan Induk Sampel Ekstrak (1000ppm)

Sampel sebanyak 100 mg, dimasukan dalam labu takar 100 mL, ditambahkan methanol p.a sampai tanda batas. Didapatkan larutan sampel ekstrak 1000ppm.

Pengukuran Absorbansi Spektrofotometri Sampel

Larutan uji pada masing-masing konsentrasi, diambil 2 mL dan dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan 2 mL larutan DPPH 0,1mM, dilakukan vortex hingga 30 menit. Selanjutnya, diukur absorbansi dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum.

Penetapan Persen Daya Hambat

Aktivitas penangkapan radikal bebas dihasilkan sebagai persen daya hambat (inhibisi), dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{abs blanko} - \text{abs sampel}}{\text{abs blanko}} \times 100$$

Penetapan Nilai IC₅₀

Penetapan IC₅₀ dilakukan dengan melakukan *plotting* konsentrasi masing-masing sampel yang dianalisa (x) dengan nilai % inhibisi (y). Dari hasil *plotting* didapatkan rumus regresi linier

untuk mengukur IC_{50} masing-masing sampel. [15]

Analisa Data

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan SPSS (IBM SPSS Statistics 23) dengan tingkat kepercayaan 95%. Analisis data dilakukan dengan variansi satu arah yaitu menggunakan *One way annova* yang diikuti dengan *Post Hoc Test* untuk menentukan signifikansi antar kelompok data atau membandingkan hasil antara satu dengan yang lainnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan sampel daun insulin (*Smallanthus sonchifolius*) yang telah dipastikan kebenaran identitas tanaman di UPF Yankestrad RSUP Dr. Sardjito Tawangmangu dengan surat hasil pengujian No.TL.02.04/D.XI.5/16536.391/2023.

Proses pemanenan dilakukan pada waktu sore hari, dipilih daun dengan warna hijau segar dan sudah tua. Hal ini bertujuan agar memperoleh senyawa metabolit sekunder atau senyawa aktif lebih banyak. Kandungan flavonoid pada daun tua lebih tinggi bila dibandingkan dengan daun yang masih muda [16]. Pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi ini yaitu aquadest, etanol 50% dan etanol 96%. Pemilihan pelarut aquadest karena aquadest dapat digunakan untuk penyiapan larutan standar, kultur jaringan atau sel, pelarut media biakan mikrobiologi, dan analisis kimia ultra-mikron sesuai Permenkes RI No. 43 tahun 2013. Namun perlu diwaspadai karena aquadest merupakan media yang sangat cocok untuk pertumbuhan jamur dan bakteri. Sedangkan penggunaan pelarut etanol dipilih karena etanol memiliki daya penarikan yang luas, dapat menarik senyawa yang bersifat polar maupun non polar, sehingga

semua jenis senyawa metabolit dapat tersari [17]. Dibandingkan pelarut organik lainnya, etanol dapat menyari senyawa aktif yang lebih banyak, etanol juga memiliki titik didih rendah yaitu $79^{\circ}C$ sehingga memerlukan panas lebih sedikit untuk proses pemekatan [18].

Proses ekstraksi dengan pelarut aquadest, etanol 50%, etanol 96% menggunakan metode ekstraksi maserasi dan digesti. Pada metode maserasi membutuhkan waktu yang relatif lebih lama dibandingkan metode yang lain. Maserasi dilakukan selama 5 hari kemudian disaring menggunakan kain flannel dan kertas saring. Sedangkan untuk metode digesti dilakukan selama kurang lebih 3 jam pada suhu $40^{\circ}C$ dengan kecepatan 1000 rpm. Hasil filtrat masing-masing pelarut dari maserasi dan digesti diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu $60^{\circ}C$ dengan kecepatan 150 rpm. Tujuan dipekatkan dengan *rotary evaporator* adalah untuk memisahkan antara pelarut dan ekstrak. Selanjutnya dipekatkan lagi menggunakan *waterbath* pada suhu $60^{\circ}C$ sampai didapatkan ekstrak kental.

Hasil rendemen ekstrak yang didapatkan tersaji pada tabel 2. Rendemen yang didapatkan mengandung sejumlah senyawa yang tersari oleh pelarut, tergantung dengan berbagai macam tingkat kepolaran yang berbeda. Banyaknya rendemen yang didapat berkaitan dengan banyaknya kandungan senyawa aktif yang terkandung pada tumbuhan. Budiyanto, 2015 mengungkapkan bahwa semakin besar nilai rendemen ekstrak, maka semakin besar pula kandungan zat aktif yang tertarik pada sampel [19].

Tabel 2. Rendemen Ekstrak

Metode ekstraksi	Pelarut	Serbuk simplisia (gram)	Ekstrak kental (gram)	Rendemen (%)
Maserasi	Aquadest	200	18,59	9,30
	Etanol 50%	200	29,46	14,73
	Etanol 96%	200	17,23	8,62
Digesti	Aquadest	200	19,67	9,84
	Etanol 50%	200	31,35	15,68
	Etanol 96%	200	18,62	9,31

Hasil penelitian ini menunjukkan rendemen yang baik diperoleh dengan pelarut etanol 50%, baik pada metode maserasi maupun pada metode digesti. Rendemen tertinggi didapatkan pada metode digesti dengan pelarut etanol 50%. Hal ini disebabkan kandungan senyawa metabolit sekunder pada daun insulin banyak yang memiliki polaritas semi polar dan polar yang lebih cocok terlarut pada pelarut etanol 50%. Sejalan dengan penelitian oleh Kinasih & Indriasari 2023, metode ekstraksi dengan beberapa konsentrasi pelarut etanol, rendemen tertinggi didapatkan pada pelarut etanol 50% dibanding 70% & 96% [20].

Analisis kualitatif senyawa metabolit sekunder dilakukan dengan metode penapisan fitokimia. Penapisan fitokimia merupakan tahapan awal untuk mengidentifikasi kandungan kimia yang terdapat dalam tumbuhan. Penapisan fitokimia dapat memberikan gambaran mengenai golongan senyawa yang terkandung dalam daun insulin. Metode penapisan fitokimia dilakukan melalui pengujian warna dengan menggunakan pereaksi warna [21]. Analisis kualitatif yang dilakukan pada daun insulin meliputi uji flavonoid, uji tanin, uji saponin, uji fenolik dan uji alkaloid. Hasil skrining fitokimia dari masing-masing perlakuan menunjukan bahwa positif senyawa flavonoid, fenolik, tanin dan alkaloid. Sedangkan untuk senyawa saponin pada masing-

masing perlakuan menunjukan hasil yang negatif. Hasil penapisan fitokimia dapat dilihat pada Gambar 1.

Penetapan aktivitas antioksidan pada penelitian ini digunakan metode DPPH. Penggunaan metode DPPH dipilih karena metode tersebut terbukti paling efektif dan efisien dibanding metode lainnya (22). Panjang gelombang (λ) maksimum DPPH pada penelitian ini berada pada 515nm dengan nilai serapan sebesar 0,5625. Hal tersebut menunjukkan terjadi kepekaan absorbansi yang tinggi dari DPPH pada panjang gelombang maksimum 515nm. Jika suatu senyawa dalam ekstrak daun insulin memiliki aktivitas antioksidan, maka akan terjadi penurunan nilai serapan DPPH pada pengukuran panjang gelombang di 515,0nm. Penurunan serapan DPPH diukur terhadap serapan larutan blanko, yaitu serapan DPPH tanpa penambahan bahan uji (sampel) maupun kontrol positif.

Dalam penelitian ini digunakan kontrol positif kuersetin, yang telah terbukti sebagai antioksidan sangat kuat. Nilai serapan DPPH yang diperoleh kemudian digunakan untuk menghitung efek daya hambat radikal DPPH (% inhibisi) [23]. Penentuan *operating time* pada penelitian ini dilakukan pada menit ke-0 sampai menit ke-60. Menit ke-0 mulai dihitung saat DPPH mulai direaksikan dengan larutan uji.

Ekstrak	Flavonoid	Fenolik	Tanin	Saponin	Alkaloid		
					Dragendorff	Wagner	Mayer
Etanol 96%							
Hasil	Positif (+)	Positif (+)	Positif (+)	Negatif (-)	Positif (+)	Positif (+)	Positif (+)
Etanol 50%							
Hasil	Positif (+)	Positif (+)	Positif (+)	Negatif (-)	Positif (+)	Positif (+)	Positif (+)
Aquades							
Hasil	Positif (+)	Positif (+)	Positif (+)	Negatif (-)	Positif (+)	Positif (+)	Positif (+)

Gambar 1. Hasil Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak

Operating time merupakan waktu yang dibutuhkan oleh suatu senyawa untuk bereaksi sempurna dengan senyawa lainnya hingga terbentuk senyawa baru yang stabil. Tujuan dilakukan *operating time* pada penelitian ini yaitu menentukan waktu yang optimal untuk inkubasi sampel uji dengan larutan DPPH untuk bereaksi secara sempurna. *Operating time* ditentukan pada saat penurunan serapan yang dihasilkan relatif stabil atau selisih serapan mulai mengecil dengan selang waktu yang diujikan [23]. Berdasarkan absorbansi penentuan *operating time* diperoleh hasil DPPH ditambah methanol p.a menghasilkan OT pada menit ke 35. Pada waktu yang diperoleh tersebut merupakan waktu dimana senyawa DPPH dapat bereaksi

sempurna, sehingga diperoleh absorbansi DPPH yang stabil.

Penetapan kurva baku bertujuan untuk mengetahui hubungan antara masing-masing konsentrasi larutan uji (sampel) dengan nilai absorbansinya. Pada penelitian ini penentuan kurva baku dilakukan pada seri konsentrasi 2ppm, 4ppm, 6ppm, 8ppm dan 10ppm. Korelasi antara konsentrasi dan absorbansi adalah berbanding lurus. Apabila hukum *Lambert-Beer* terpenuhi maka kurva baku berupa garis lurus [24]. Absorbansi yang didapatkan digunakan untuk penghitungan nilai % inhibisi masing-masing sampel. Kemudian dilakukan *plotting* antara konsentrasi (x) dengan % inhibisi (y) sehingga didapatkan persamaan regresi linier untuk menghitung nilai

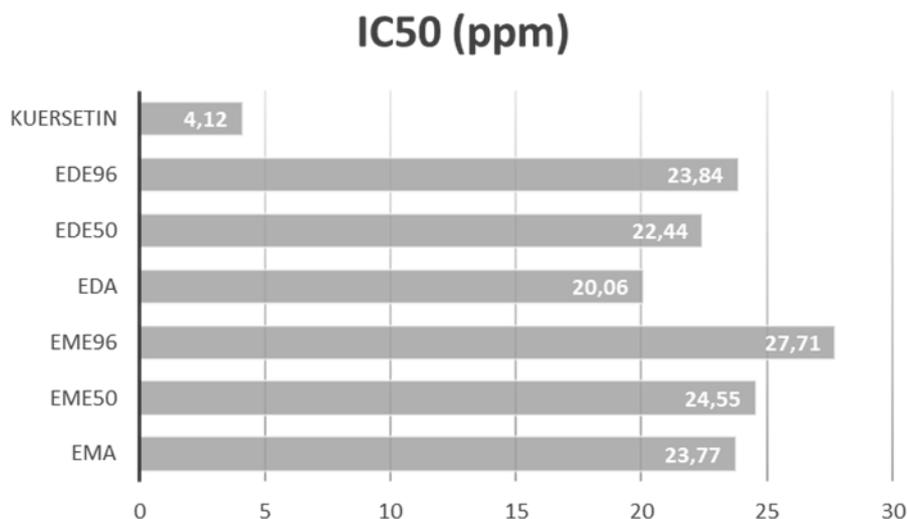
IC₅₀. Persamaan yang didapatkan dan perhitungan IC₅₀ tertera pada tabel 3.

Tabel 3. Regresi Linier dan IC₅₀ Sampel

Sampel	Persamaan Linier	IC ₅₀ (ppm)
EMA	$y = 1,0439x + 25,522$ $R^2 = 0,9993$	23,77
EME50	$y = 1,9847x + 0,4267$ $R^2 = 0,9902$	24,55
EME96	$y = 1,3134x + 13,348$ $R^2 = 0,9959$	27,71
EDA	$y = 2,0434x + 6,2631$ $R^2 = 0,9881$	20,056
EDE50	$y = 2,1774x + 1,4507$ $R^2 = 0,9958$	22,44
EDE96	$y = 1,9612x + 3,52$ $R^2 = 0,9902$	23,84
Kuersetin	$y = 5,9688x + 0,8695$ $R^2 = 0,9997$	4,12

Hasil uji aktivitas antioksidan dari masing-masing pelarut ekstrak menunjukkan bahwa pemilihan pelarut saat ekstraksi mempengaruhi aktivitas antioksidan sampel. Ekstrak etanol 50%, ekstrak etanol 96% dan aquadest memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat karena nilai IC₅₀ <50 ppm. Semakin kecil nilai IC₅₀ yang dihasilkan maka semakin kuat sampel dalam menangkal radikal bebas, sedangkan semakin besar nilai IC₅₀ yang dihasilkan maka semakin lemah sampel dalam menangkal radikal bebas. Hasil penentuan aktivitas antioksidan dari ketiga pelarut tersebut dapat berbeda karena adanya kandungan senyawa yang berbeda didalam masing-masing sampel. Senyawa yang memiliki potensi sebagai antioksidan antara lain flavonoid, fenolik, saponin, tanin, dan alkaloid [25]. Penelitian Attasih dkk 2024 membuktikan adanya korelasi yang kuat antara aktifitas antioksidan terhadap kandungan fenol dan flavonoid suatu tanaman [26].

Aktivitas antioksidan dari keenam ekstrak daun insulin tergolong antioksidan yang sangat kuat (Gambar 2). Ekstrak daun insulin dengan pelarut aquadest pada metode digesti menghasilkan aktivitas antioksidan yang paling kuat ($p < 0,05$). Perbedaan hasil IC₅₀ perbedaan tersebut dipengaruhi oleh kepolaran pelarut. Aquadest memiliki tingkat kepolaran yang lebih tinggi dibandingkan pelarut etanol 50% dan etanol 96%. Senyawa flavonoid termasuk senyawa polar sehingga aquadest memiliki kemampuan untuk menarik senyawa flavonoid didalam ekstrak daun insulin lebih tinggi dan hasil IC₅₀ yang didapatkan semakin rendah [27]. Perbedaan hasil dapat berpengaruh pada suhu, pengaruh suhu sehingga senyawa kimia yang ada didalam sampel akan terioniasi secara sempurna dan menghasilkan ekstrak yang lebih banyak [28].



Gambar 2. Nilai IC₅₀ Sampel Uji dan Kuersetin.

Pada proses ekstraksi dengan pemanasan, terdapat adanya kerusakan sel tanaman yang mendapatkan tekanan dari dalam maupun luar sel yang menyebabkan pecahnya dinding sel akibat pemanasan. Sehingga kandungan senyawa yang terdapat pada simplisia akan tertarik keluar bersama pelarut yang digunakan lebih efektif [29]. Efek pengadukan secara berulang juga dapat mempercepat waktu larutan penyari dalam mengekstraksi sampel [30].

KESIMPULAN DAN SARAN

KESIMPULAN

Pelarut dan metode ekstraksi mempengaruhi aktivitas antioksidan ekstrak daun insulin (*Smallanthus sonchifolius*). Pelarut aquadest, etanol 50% dan etanol 96% dengan metode ekstraksi maserasi serta digesti menghasilkan ekstrak dengan aktivitas antioksidan sangat kuat.

Metode ekstraksi dan pelarut yang menghasilkan aktivitas antioksidan terbaik dari daun insulin yaitu ekstraksi menggunakan metode digesti dengan pelarut aquadest dengan IC₅₀ sebesar 20,06 ppm ($p < 0,05$).

SARAN

Aktivitas antioksidan perlu dikonfirmasi melalui beberapa metode penentuan aktivitas lainnya.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih kami ucapkan kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta atas dukungan pendanaan terhadap penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Purwanto D, Bahri S, Ridhay A. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Purnajiwa (*Kopsia arborea* Blume.) Dengan Berbagai Pelarut. *Kovalen*. 2017;3(1):24.
- [2] Prasetyo A, Denashurya TG, Putri WS, Ilmawan MI. Perbandingan Efek Hipoglikemik Infusa Daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia* (Hamsley) A. Gray) dan Metformin pada Tikus yang Diinduksi Aloksan. *Contin Prof Dev*. 2016;43(2):91–4.
- [3] Dewi NWOAC, Puspawati NM, Swantara IMD, I. A. R. Astiti, Rita WS. Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol Biji Terong Belanda (*Solanum betaceum*, syn) dalam Menghambat Reaksi Peroksidasi Lemak Pada Plasma Darah Tikus Wistar. *Cakra Kim*. 2014;2(1):9–9.
- [4] Dhurhanian CE, Novianto A. Uji Kandungan Fenolik Total dan Pengaruhnya terhadap Aktivitas Antioksidan dari Berbagai Bentuk Sediaan Sarang Semut (*Myrmecodia pendens*). *J Farm Dan Ilmu Kefarmasian Indones*. 2019;5(2):62.
- [5] Lisi AKF, Runtuwene MRJ, Wewengkang DS. Uji Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Bunga Soyogik (*Saurauia bracteosa* DC). *J Ilm Pharmacon*. 2017;6(1).
- [6] Cahyaningsih E, Yuda PESK, Santoso P. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) dengan Metode Spektrofotometri UV-VIS. *J Ilm Medicam*. 2019;5(1):51–7.
- [7] Safitri ER, Rohama, Vidiyari P. Skrining Fitokimia serta Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bunga Ketepeng Cina (*Senna alata* (L.) Roxb.) dengan Metode DPPH. *J Pharm Care Sci*. 2020;1(1):10–8.
- [8] Yulianingtyas A, Kusmartono B. Optimasi Volume Pelarut Dan Waktu Maserasi Pengambilan Flavonoid Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi* L.) Optimization of Solvent Volume and Maceration Time on Extraction of Flavonoids From *Averrhoa Bilimbi* Leaves. *Tek Kim*. 2016;10(2):58–64.
- [9] Hasnaeni, Wisdawati, Usman S. Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Dan Kadar Fenolik Ekstrak Tanaman Kayu Beta-Beta (*Lunasia amara* Blanco). *J Farm Galen (Galenika J Pharmacy)*. 2019;5(2):175–82.
- [10] Luliana S, Riza H, Indriyani EN. The Effect of Extraction Method on Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Salam Leaves (*Syzygium polyanthum*) using DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhidrazil). *Maj Obat Tradis*. 2019;24(2):72–6.
- [11] Azhar SF, Y KM, Kodir RA. Pengaruh Waktu Aging dan Metode Ekstraksi terhadap Aktivitas Antioksidan Black Garlic yang Dibandingkan dengan Bawang Putih (*Allium sativum* L.). *J Ris Farm*. 2021;1(1):16–23.
- [12] Masloman A, Pangemanan D, Anindita P. Daya Hambat Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida albicans*. *PHARMACON J Ilm Farm*. 2016;5(4):61–8.
- [13] Uddin AH, Khalid RS, Alaama M, Abdulkader AM, Kasmuri A, Abbas SA. Comparative study of three digestion methods for elemental analysis in traditional medicine products using atomic absorption spectrometry. *J Anal Sci Technol [Internet]*. 2016;7(1). Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s40543-016-0085-6>

- [14] Krisdiyanto NR, Sa'ad M. Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L) Dengan Metode Spektrofotometri UV-Visibel. *J Farm Medica/Pharmacy Med J*. 2023;6(1):34–42.
- [15] Irwingsyah AD, Assa JR, Oesoe YYE. Analisis Aktivitas Antioksidan Dengan Metode Dpph Serta Tingkat Penerimaan Kopi Arabika Koya. *TjybjbAcCn*. 2019;3(2):58–66.
- [16] Tehubijuluw H, Watuguly T, Tuapattinaya PM. Analisis Kadar Flavonoid pada Teh Daun Lamun (*Enhalus acoroides*) berdasarkan Tingkat Ketuaan Daun. *Biopendix J Biol Pendidik dan Terap*. 2019;5(1):1–7.
- [17] Aswandi. Pengaruh Metode Ekstraksi terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Batang Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*) yang Ditetapkan Dengan Pereaksi DPPH. *J Kesehat Luwu Raya*. 2022;09(01):128–36.
- [18] Ramadhani VN. Efektivitas Ekstraksi antara Maserasi dengan Digesti terhadap Kadar Flavonoid Buah Naga Putih (*Hylocereus undatus*). 2018.
- [19] Budiyanto MSA. Potensi Antioksidan, Inhibitor Tirosinase, dan Nilai Toksisitas dari Beberapa Spesies Tanaman Mangrove di Indonesia. 2015.
- [20] Kinasih YDE. Pengaruh Konsentrasi Pelarut Etanol terhadap Kadar Flavonoid Total Ekstrak Krokot Magenta (*Portulaca grandiflora*) dengan Spektrofotometri UV-Vis. *J Ilmu Pendidik*. 2023;7(2):809–20.
- [21] Vifta RL, Advistasari YD. Skrining Fitokimia, Karakterisasi, dan Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* B.). *Pros Semin Nas Unimus*. 2018;1:8–14.
- [22] Maesaroh K, Kurnia D, Al Anshori J. Perbandingan Metode Uji Aktivitas Antioksidan DPPH, FRAP dan FIC Terhadap Asam Askorbat, Asam Galat dan Kuersetin. *Chim Nat Acta*. 2018;6(2):93.
- [23] Patria WD, Soegihardjo C. Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Radikal 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH) Dan Penetapan Kandungan Fenolik Total Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanolik Daun Benalu (*Dendrophthoe pentandra* L. Miq.) Yang Tumbuh Di Pohon Kepel (*Stelechocarpus burahol* (Bl. J Farm Sains Dan Komunitas. 2013;10(1):51–60.
- [24] Padmawati IAG, Suter IK, Hapsari Arihantana NMI. Pengaruh Jenis Pelarut terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Eceng Padi (*Monochoria vaginalis* Burm F. C. Presel.). *J Ilmu dan Teknol Pangan*. 2020;9(1):81.
- [25] Firdayani F, Winarni Agustini T. Ekstraksi Senyawa Bioaktif sebagai Antioksidan Alami *Spirulina Platensis* Segar dengan Pelarut yang Berbeda. *J Pengolah Has Perikan Indones*. 2015;18(1):28–37.
- [26] Attasih M, Pambudi DB, Sa'ad M. Determination of Total Phenolic, Flavonoid Contents, and Antioxidant Activity Evaluation of Ethanolic Extract From *Plumeria alba*. *J Nutraceuticals Herb Med*. 2024;5(1):14–27.
- [27] Noviyanti. Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jambu Brazil Batu (*Psidium guineense* L.) dengan Metode DPPH. *J Farm Bahari*. 2016;7(1):29–35.
- [28] Maria Ulfa AS, Emelda E, Munir MA, Sulistyani N. Pengaruh Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi terhadap Standardisasi Parameter Spesifik dan Non Spesifik Ekstrak Etanol Biji Pepaya (*Carica papaya* L.). *J Insa Farm Indones*.

2023;6(1):1–12.

- [29] Riyani DWW, Rohadi, Pratiwi E. Variasi Suhu Maserasi terhadap Rendemen dan Karakteristik Minyak Atsiri Jahe Emprit (Zingiber majus Rumph). *ESkripsi USM*. 2018;1–13.
- [30] Handoyo DLY. The Influence Of Maseration Time (Immeration) On The Vocity Of Birthleaf Extract (Piper Betle). *J Farm Tinctura*. 2020;2(1):34–41.