

## Aktivitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etil Asetat Daun Kersen (*Muntingia calabura*)

\*Anita Dwi Puspitasari, Ririn Lispita Wulandari

Universitas Wahid Hasyim Semarang

\*Email : anita@unwahas.ac.id

### ABSTRAK

Daun kersen (*Muntingia calabura*) secara empiris di masyarakat digunakan untuk mengobati berbagai macam penyakit. Salah satu potensi yang dimiliki dari daun kersen adalah sebagai antioksidan. Senyawa aktif yang dimiliki oleh daun kersen yang memiliki aktivitas antioksidan diantaranya adalah fenolik, flavonoid, dan alkaloid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan penetapan kadar flavonoid total ekstrak etil asetat daun kersen (*Muntingia calabura*). Pembuatan ekstrak etil asetat daun kersen menggunakan metode maserasi dengan pelarut etil asetat. Analisis aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dengan pembanding vitamin C. Penetapan kadar flavonoid total menggunakan metode spektrofotometri Ultra Ungu-Sinar Tampak dengan pembanding Quersetin. Hasil penapisan fitokimia menunjukkan adanya kandungan senyawa alkaloid, saponin, fenolik, flavonoid, dan tannin. Hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat daun kersen dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 53,25  $\mu\text{g/mL}$  dengan penbanding vitamin C ( $IC_{50}$  25,74  $\mu\text{g/mL}$ ). Hasil penetapan kadar flavonoid total sebesar 93,21 mgEQ/g Ekstrak.

**Kata kunci:** antioksidan, flavonoid total, *muntingia calabura*

### ABSTRACT

*Kersen leaf (Muntingia calabura) empirically in the community used to treat various diseases. One of the potential possessed of leaf kersen is as an antioxidant. Active compounds possessed by the leaves of kersen that have antioxidant activity such as phenolic, flavonoids, and alkaloids. This study aims to determine the antioxidant activity and determination of total flavonoid content of ethyl acetate extract of kersen leaf (Muntingia calabura). Preparation of ethyl acetate leaf extract of kersen using maseration method with ethyl acetate solvent. Analysis of antioxidant activity using DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) method with vitamin C comparator. Determination of total flavonoid content using Ultra Purple-Spectrophotometric Surface Method with Quersetin comparator. The results of phytochemical screening showed the presence of alkaloid, saponin, phenolic, flavonoid, and tannin compounds. The results of antioxidant activity of ethyl acetate extract of kersen leaf with  $IC_{50}$  value equal to 53,25  $\mu\text{g} / \text{mL}$  with vitamin C*

*(IC<sub>50</sub> 25,74 µg / mL). Results of determination of total flavonoid level of 93.21 mg EQ / g Extract.*

**Keywords:** *antioxidant, total flavonoid, muntingia calabura*

## I. PENDAHULUAN

Radikal bebas (*reactive oxygen and nitrogen species, ROS/RNS*) diproduksi secara normal dalam metabolisme sel dan dikendalikan oleh enzim endogen seperti superoksida dismutase, glutathione peroksidase, katalase, senyawa kimia seperti a-tocopherol, asam askorbat, karotenoid, senyawa polifenol dan glutathione. Produksi radikal bebas yang sangat besar dapat mempercepat timbulnya berbagai penyakit (Matkowski et al., 2009). Buah-buahan dan sayuran-sayuran merupakan bahan-bahan alami yang dapat dijadikan sumber antioksidan yang dapat membantu tubuh mengurangi kerusakan oksidatif akibat radikal bebas. Salah satunya adalah daun kersen atau talok. Kersen merupakan tanaman yang digunakan sebagai sumber antioksidan alami (Khan et al., 2015).

Kersen (*Muntingia calabura*) merupakan tanaman yang telah lama digunakan masyarakat untuk berbagai tujuan pengobatan antara lain sebagai obat batuk, sakit kuning, dan asam urat (Isnarianti, 2013). Secara ilmiah, penelitian manfaat daun kersen telah dilakukan oleh Ibrahim et al., 2012) yang

menyatakan bahwa pemberian ekstrak etanol daun kersen dapat memberikan perlindungan yang signifikan pada tikus yang mengalami luka parah pada mukosa lambung. Penelitian air rebusan daun kersen telah dilakukan oleh Zahroh dan Musriana (2016) yang menyatakan bahwa daun kersen berperan sebagai antioksidan yang menyekresi hormon insulin yang bekerja untuk metabolisme gula (Zahroh dan Musriana, 2016).

Tumbuhan kersen merupakan tumbuhan dikotil yang secara mikroskopis struktur anatomi daun kersen muda dan tua yaitu terdiri dari epidermis atas dan epidermis bawah, trikoma, mesofil (parenkim palisade/tiang dan parenkim spons/bunga karang), jaringan penguat (kolenkim), Kristal, jaringan pembuluh (xylem dan floem) (Kuntorini et al, 2013). Daun kersen kaya akan kandungan senyawa flavonoid diantaranya flavon, flavonon, flavan, dan biflavan yang mempunyai aktivitas antidiabetes dan sitotoksik (Krishnaveni dan Dhanalakshmi, 2014). Senyawa fenolik, tannin dan flavon merupakan senyawa utama yang berperan sebagai antioksidan (Sindhe et al., 2013). Uji fitokimia dari daun kersen mengandung senyawa

flavonoid, triterpenoid, alkaloid, saponin, dan steroid (Arum et al., 2012). Zakaria (2017) menyatakan bahwa kandungan senyawa daun kersen antara lain flavonoid, tannin, triterpen, saponin, dan polifenol menunjukkan adanya aktivitas antioksidan. Pemberian rebusan daun kersen Kersen pada penderita Diabetes Mellitus tipe 2 di Desa Geger Madura berpengaruh terhadap penurunan glukosa darah (Zahroh dan Musriana, 2016). Tujuan dari penelitian ini adalah penapisan fitokimia ekstrak etil asetat daun kersen, mengetahui berapakah aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat daun kersen yang dinyatakan dengan  $IC_{50}$ , dan berapakah kadar flavonoid total ekstrak etil asetat daun kersen yang dinyatakan dengan mgEQ/g ekstrak.

## II. METODE PENELITIAN

Pembuatan simplisia daun kersen dilakukan dengan cara daun kersen disortir kemudian dikeringkan menggunakan oven selama 3 hari. Daun yang telah kering diserbuk dengan blender kemudian diayak dengan ayakan 60 *mesh* sehingga diperoleh serbuk daun kersen. Ekstraksi daun kersen dilakukan menggunakan metode maserasi menggunakan pelarut etil asetat. Serbuk daun kersen ditimbang sebanyak 100 g, kemudian dimasukkan ke dalam toples, kemudian ditambahkan pelarut etil asetat sebanyak 750 mL disimpan pada suhu ruang selama 3 x 24

jam sambil sesekali diaduk. Kemudian saring dengan kertas saring sehingga diperoleh ekstrak etil asetat (I) dan residu. Residu hasil maserasi diekstraksi sekali lagi dengan 250 mL etil asetat selama 1 x 24 jam sambil sesekali diaduk sehingga diperoleh ekstrak etil asetat (II) dan residu. Ekstrak etil asetat (I) dan ekstrak etil asetat (II) dicampur kemudian dipisahkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40° sehingga diperoleh ekstrak kental etil asetat yang selanjutnya disebut ekstrak etil asetat.

### A. Penapisan Fitokimia

Identifikasi saponin dilakukan dengan cara 100 mg ekstrak etil asetat dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 10 mL aquades panas. Selanjutnya digojok kuat selama 10 detik, maka akan terbentuk buih yang mantap setinggi 1-10 cm dalam waktu 10 menit. Kemudian ditambahkan 1 tetes HCl 2 N dan diamati.

Identifikasi tannin dilakukan dengan cara 100 mg ekstrak etil asetat dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 10 ml air panas dan 5 tetes  $FeCl_3$  1%. Perubahan warna diamati.

Identifikasi fenolik dilakukan dengan cara 100 mg ekstrak etil asetat dimasukkan dalam cawan porselen dilarutkan dalam pelarut etil asetat

kemudian ditambahkan 5 mL aquades lalu disaring dengan kertas saring. Kemudian larutan dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 5 tetes  $\text{FeCl}_3$ . Perubahan warna diamati.

Identifikasi flavonoid dilakukan dengan cara 100 mg dilarutkan dalam pelarut etil asetat kemudian ditambahkan aquades panas sebanyak 5 mL dan disaring. Kemudian larutan ditambah 10 butir  $\text{MgCl}_2$ , 5 tetes HCl pekat (37%) digojog dan diamati perubahan warna yang terjadi.

Identifikasi alkaloid dilakukan dengan cara 100 mg ekstrak etil asetat ditambahkan 5 mL HCl 2N kemudian dibagi ke dalam 3 tabung reaksi. Dilakukan penambahan pereaksi pada masing-masing tabung. Tabung pertama ditambahkan 3 tetes HCl 2 N sebagai blanko. Tabung kedua ditambahkan 3 tetes pereaksi dragendroff dan tabung ketiga ditambahkan pereaksi mayer sebanyak 3 tetes. Pada tabung kedua akan memberikan hasil positif jika terbentuk endapan jingga dan tabung tiga terbentuk endapan putih.

### **B. Uji Aktivitas Antioksidan**

Pembuatan larutan induk DPPH 0,1 mM dilakukan dengan cara 10 mg DPPH dilarutkan dengan sedikit etanol p.a dalam gelas beker kemudian dimasukkan dalam labu takar 250 mL dan ditambahkan etanol p.a sampai tanda batas.

Pembuatan larutan induk vitamin C dilakukan dengan cara 10 mg vitamin C dilarutkan dengan etanol p.a dalam labu takar 100 mL hingga tanda batas.

Pembuatan seri konsentrasi vitamin C yaitu 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, dan 8 ppm dari larutan induk vitamin C.

Pembuatan larutan induk ekstrak etil asetat dilakukan dengan cara 500 mg ekstrak etil asetat dimasukkan dalam gelas beker dan dilarutkan dalam pelarut etil asetat dengan bantuan magnetic stirrer selama 2 jam kemudian disaring dan dimasukkan dalam labu takar 10 mL kemudian ditambahkan etanol p.a sampai tanda batas.

Pembuatan seri konsentrasi sampel yaitu 5, 10, 15, 20, dan 25 ppm dari larutan induk ekstrak etil asetat.

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan cara larutan DPPH 0,1 mM dan blanko etanol p.a dimasukkan dalam masing-masing kuvet kemudian dibaca absorbansinya pada 450-550 nm.

Penentuan Operating Time (OT) dilakukan dengan cara vitamin C konsentrasi 6 ppm dipipet 1 mL, ditambahkan 4 mL DPPH. Dibaca pada panjang gelombang maksimum ditunggu hingga absorbansi stabil kemudian dicatat menit OT yang didapat.

Pembuatan kurva baku vitamin C dilakukan dengan cara masing-masing seri

konsentrasi vitamin C dipipet 1 ml kemudian ditambahkan 4 mL DPPH, didiamkan menurut hasil OT yang didapat dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Replikasi dilakukan sebanyak 3 kali.

Pembuatan kurva baku sampel ekstrak dilakukan dengan cara masing-masing seri konsentrasi dipipet 1 mL kemudian ditambahkan 4 mL DPPH didiamkan menurut hasil OT yang didapat kemudian dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Replikasi dilakukan sebanyak 3 kali.

### C. Penetapan Kadar Flavonoid Total

Pembuatan larutan induk Quersetin dilakukan dengan cara 20 mg Quersetin dilarutkan dengan etanol p.a dalam labu takar 50 mL hingga tanda batas.

Pembuatan larutan  $\text{AlCl}_3$  10 % dilakukan dengan cara 500 mg  $\text{AlCl}_3$  dilarutkan dengan etanol p.a dalam labu takar 5 mL hingga tanda batas.

Pembuatan larutan Kalium Asetat 1 M dilakukan dengan cara 490,7 mg Kalium asetat dilarutkan dengan etanol p.a dalam labu takar 5 mL hingga tanda batas.

Pembuatan seri konsentrasi 2, 4, 6, 8, 10 dan 12 ppm Quersetin dari larutan induk Quersetin.

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan cara mengambil sebanyak 1000  $\mu\text{L}$  dari seri konsentrasi Quersetin 2 ppm ditambahkan 200

$\mu\text{L}$   $\text{AlCl}_3$  10% dan 200  $\mu\text{L}$   $\text{CH}_3\text{COOK}$  1 M. Dibaca absorbansinya pada interval 400-500 nm. Dicatat panjang gelombang maksimumnya.

Penentuan Operating Time dilakukan dengan cara 1000  $\mu\text{L}$  dari seri konsentrasi Quersetin 2 ppm ditambahkan 200  $\mu\text{L}$   $\text{AlCl}_3$  10% dan 200  $\mu\text{L}$   $\text{CH}_3\text{COOK}$  1 M dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum hingga absorbansi stabil, kemudian dicatat menit OT yang didapat.

Penetapan kurva baku quersetin dilakukan dengan cara 1000  $\mu\text{L}$  dari seri konsentrasi 2, 4, 6, 8, 10, dan 12 ppm ditambahkan 200  $\mu\text{L}$   $\text{AlCl}_3$  10% dan 200  $\mu\text{L}$   $\text{CH}_3\text{COOK}$  1 M. Didiamkan menurut hasil OT yang didapat, dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Replikasi dilakukan sebanyak 3 kali.

Pembuatan larutan induk ekstrak etil asetat dilakukan dengan cara 500 mg ekstrak etil asetat dimasukkan dalam gelas beker 50 mL kemudian dilarutkan dengan pelarut etil asetat dengan bantuan magnetic stirrer disaring dengan kertas saring ke dalam labu takar 10 mL ditambahkan etanol p.a hingga tanda batas.

Pembacaan absorbansi sampel dilakukan dengan cara sampel ekstrak dari larutan induk diencerkan kemudian dipipet 1 mL ditambahkan 200  $\mu\text{L}$   $\text{AlCl}_3$  dan 200  $\mu\text{L}$  Kalium asetat. Dibaca absorbansinya

pada panjang gelombang maksimum pada menit OT setelah pencampuran. Replikasi dilakukan sebanyak 3 kali.

### III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi dari serbuk daun kersen dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etil asetat. Dalam penelitian ini ingin diketahui daya antioksidan dan kadar flavonoid total dari sampel ekstrak etil asetat daun kersen.

#### A. Penapisan Fitokimia

Ekstrak etil asetat daun kersen hasil maserasi diuji kandungan fitokimianya. Hasil pengamatan uji fitokimia ekstrak etil asetat daun kersen dapat dilihat pada Tabel I.

**Tabel I.** Hasil pengamatan uji fitokimia ekstrak etil asetat daun kersen

No	Konstituen	Ekstrak etil asetat daun kersen
1	alkaloid	+
2	Saponin	+
3	Fenolik	+
4	Flavonoid	+
5	Tannin	+

Berdasarkan uji fitokimia, ekstrak etil asetat daun kersen mengandung alkaloid, saponin, fenolik, flavonoid, dan tannin.

#### B. Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (1,1 difenil-2-pikrilhidrazil) dan pengukuran absorbansinya menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Aktivitas

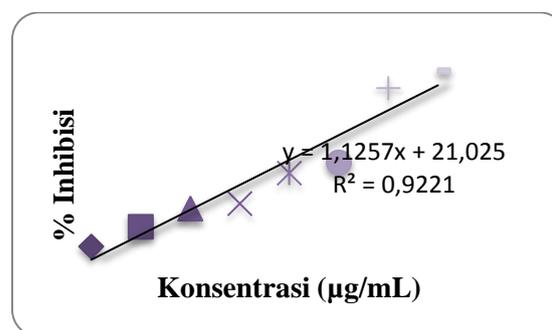
antioksidan dinyatakan dengan nilai  $IC_{50}$ . Kontrol positif yang digunakan adalah vitamin C. Aktivitas antioksidan dari vitamin C dapat dilihat pada Tabel II.

**Tabel II.** Aktivitas Antioksidan Vitamin C

sampel	Konsentrasi ( $\mu\text{g/mL}$ ) (x)	Rerata Absorbansi	Rerata % Inhibisi (y)	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
Vitamin C	1	0,691	22,744	25,740
	2	0,683	23,639	
	3	0,675	24,459	
	4	0,673	24,683	
	5	0,661	26,063	
	6	0,657	26,547	
	7	0,627	29,903	
	8	0,620	30,686	

Absorbansi kontrol (DPPH 0,1 mM) : 0,894

Kurva aktivitas antioksidan vitamin C dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Aktivitas Antioksidan vitamin C

Aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat daun kersen ditetapkan menggunakan spektrofotometri UV-Vis sehingga diperoleh nilai absorbansinya. Dari nilai absorbansi tersebut dihitung aktivitas penghambatnya (% inhibisi) dibandingkan dengan absorbansi kontrol DPPH sehingga diperoleh nilai  $IC_{50}$  dari ekstrak etil asetat daun kersen. Aktivitas

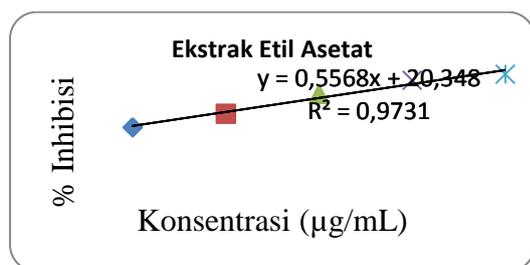
antioksidan ekstrak etil asetat dapat dilihat pada Tabel III.

**Tabel III.** Aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat daun kersen

sampel	Konsentrasi (µg/mL) (x)	Rerata Absorbansi	Rerata % Inhibisi (y)	IC <sub>50</sub> (µg/mL)
Ekstrak etil asetat daun kersen	5	0,724	22,834	53,254
	10	0,699	25,533	
	15	0,662	29,510	
	20	0,636	32,209	
	25	0,625	33,416	

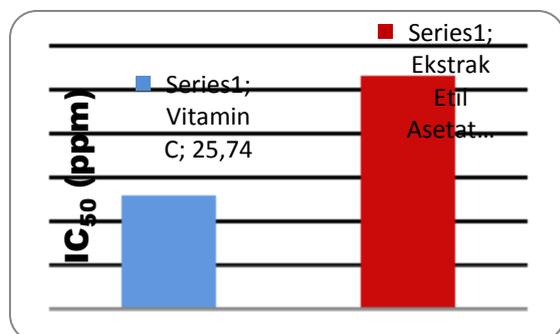
Absorbansi kontrol DPPH ekstrak etil asetat 0,939

Kurva aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat daun kersen dapat dilihat pada Gambar 2.



**Gambar 2.** Aktivitas Antioksidan ekstrak etil asetat

Nilai IC<sub>50</sub> dari vitamin C dan ekstrak etil asetat daun kersen dapat dilihat pada Gambar 3.



**Gambar 3.** IC<sub>50</sub> vitamin C dan Ekstrak Etil Asetat daun kersen

Dari Tabel 3 dapat dilihat bahwa IC<sub>50</sub> dari ekstrak etil asetat daun kersen adalah 53,254 µg/mL. Sesuai dengan parameter nilai IC<sub>50</sub> pada tabel 4, ini menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat daun kersen merupakan antioksidan yang kuat (5 µg/mL 0 – nilai IC<sub>50</sub> –100 µg/mL).

**Tabel IV.** Antioksidan berdasarkan nilai IC<sub>50</sub> (Sumber: Molyneux, 2004)

Nilai IC <sub>50</sub> (µg/mL)	Sifat Antioksidan
50 <	Sangat kuat
50 - 100	Kuat
100 - 150	Sedang
150 - 200	Lemah

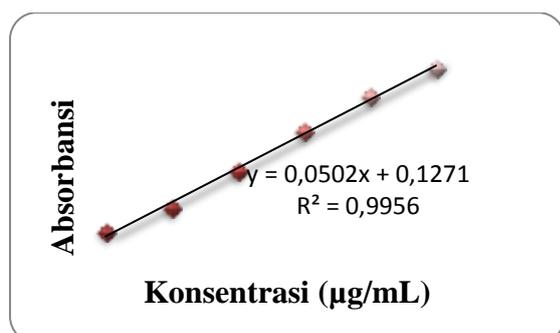
### C. Penetapan Kadar Flavonoid Total

Penentuan kandungan flavonoid total dilakukan dengan pereaksi AlCl<sub>3</sub> dan menggunakan standar Quersetin. Nilai absorbansi standar Quersetin dapat dilihat pada Tabel V.

**Tabel V.** Nilai absorbansi Quersetin

Sampel	Konsentrasi (µg/mL)	Rerata Absorbansi
Quersetin	2	0,241
	4	0,311
	6	0,420
	8	0,537
	10	0,641
	12	0,723

Persamaan regresi linier dari standard quersetin dapat dilihat pada gambar 4.



**Gambar 4.** Persamaan regresi linier Quersetin

Nilai absorbansi dari ekstrak etil asetat diplotkan terhadap kurva baku Quersetin dan dihitung kandungan flavonoid totalnya. Kandungan flavonoid total dihitung untuk satu gram ekstrak sampel. Kandungan flavonoid total dapat dilihat pada tabel VI.

**Tabel VI.** Kandungan flavonoid total

Sampel	Konsentrasi (µg/mL)	Rerata absorbansi	Kandungan Flavonoid Total (mg EQ/g ekstrak)
Ekstrak etil asetat	100	0,595	93,21

Dari tabel 3 dapat dilihat bahwa kandungan flavonoid total ekstrak etil asetat daun kersen adalah sebesar 93,21 mg EQ/g ekstrak.

#### IV. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat daun kersen ( $IC_{50} = 53,25$  ppm) termasuk antioksidan kuat namun lebih lemah dibandingkan vitamin C ( $IC_{50} = 25,74$  ppm). Penetapan kadar

flavonoid total ekstrak etil asetat daun kersen sebesar 93,21 mg EQ/g ekstrak.

#### UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada Simlitabmas Ristek Dikti melalui skem Penelitian Dosen pemula yang sudah membiayai penelitian ini.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Arum YP, Supartono, Sudarmin. 2012. Isolasi dan Uji Daya Antimikroba Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*). *Jurnal MIPA*. 35(2): 165-174
- Ibrahim IAA, Abdulla MA, Abdelwahab SI, Al-Bayaty F, Majid NA. 2012. Leaves Extract of *Muntingia Calabura* Protects Against Gastric Ulcer Induced by Ethanol in Sprague-Dawley Rats. *Clinical and Experimental Pharmacology*. S5:004. Doi:10.4172/2161-1459.S5-004
- Isnarianti R, Wahyudi IA, Puspita RM. 2013. *Muntingia calabura* L Leaves Extract Inhibits Glucosyltransferase Activity of *Streptococcus mutans*. *Journal of Dentistry Indonesia*. 20(3): 59-63
- Khan MAY, Ramadas D, Mundasada SC, Kumar SN, Chikkanna D. 2015. Antioxidant and free radical scavenging activities off root extracts of *Muntingia calabura*. *Scholar Journal of Applied Medical Sciences (SJAMS)*. 3(6B): 2309-2312
- Krishnaveni M dan Dhanalakshmi R. 2014. Qualitative and Quantitative Study of Phytochemicals in *Muntingia Calabura* L. Leaf and Fruit. *World Journal of Pharmaceutical Research*. 3(6): 1687-1696

- Kuntorini M, Fitriana S dan Astuti MD. 2013. *Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung*. 291-296
- Matkowski A, Hajones M, Skalicka-Wozniak K, Slusarczy K. 2009. Antioxidant activity of polyphenols from *Lycopus lucidus* Turcz. *Food Chem* 113: 134-138
- Molyneux, P. The use of the stable free radical diphenilpicryl-hidrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn J. Sci. Technol.* 2004, 26, 211-219.
- Sindhe AM, Bodke YD, dan Candrashekar A. 2013. Antioxidant and in vivo anti-hyperglycemic activity of *Muntingia calabura* leaves extracts. 5(3): 427-435
- Zakaria ZA. 2017. Free radical scavenging activity of some plants available in Malaysia. *IJPT*. 6:87-91
- Zahroh R dan Musriana. 2016. Pemberian Rebusan Daun Kersen Menurunkan Kadar Glukosa Darah Pasien Diabetes Mellitus Tipe 2. *Journal of Ners Community*. 07(02):125-135