

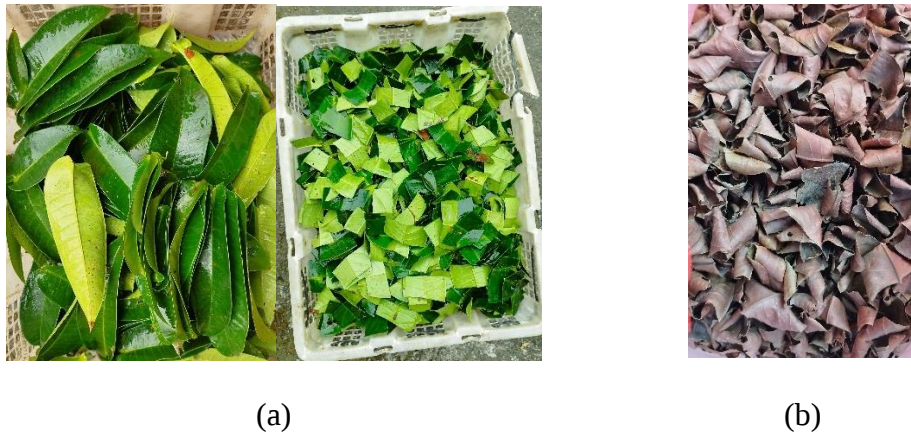
## BAB V

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. Hasil

##### 1. Ekstrak etanol 70% dan 96% daun kaliasem (*Syzygium polycephalum*)

Pada penelitian daun kaliasem ini, sampel yang digunakan yaitu daun yang berukuran 15-20 cm, dimana terletak di helai daun kelima dari pangkal, berwarna hijau segar, serta tidak berlubang. Daun kaliasem yang telah disortasi, dicuci dan dicacah dengan memotong menjadi beberapa bagian, dan ditimbang. Kemudian dilakukan proses pembuatan simplisia melalui proses pengeringan dengan diangin-anginkan selama dua minggu tanpa terpapar sinar matahari secara langsung.

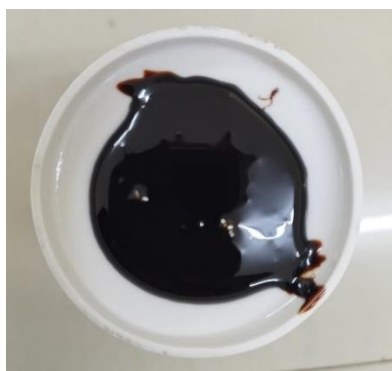


**Gambar 6. (a) Daun Kaliasem Segar, (b) Daun Kaliasem Kering**

Setelah daun kaliasem kering, kemudian dihaluskan dengan blender. Selama tujuh hari, proses ekstraksi dilakukan melalui metode maserasi dan remaserasi dengan etanol 70% dan 96%. Setelah itu, ekstrak disaring dan dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* untuk menghasilkan ekstrak kental



**Gambar 7. Proses Maserasi Ekstrak Etanol 70% dan 96% Daun Kaliasem**



(a)



(b)

**Gambar 8. (a) Hasil Ekstrak Kental Etanol 70% Daun Kaliasem dan (b) Hasil Ekstrak Kental Etanol 96% Daun Kaliasem**

| <b>Tabel 4</b><br><b>Hasil Randemen Ekstrak Etanol Daun Kaliasem (<i>Syzygium polycephalum</i>)</b> |                        |                             |                       |                  |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|-----------------------------|-----------------------|------------------|
| <b>Ekstrak</b>                                                                                      | <b>Berat simplisia</b> | <b>Berat Ekstrak Kental</b> | <b>Hasil Randemen</b> | <b>Warna</b>     |
| Ekstrak Etanol 70%                                                                                  | 400 gr                 | 29,74 gr                    | 7,435%                | Coklat kehitaman |
| Ekstrak Etanol 96%                                                                                  | 400 gr                 | 43 gr                       | 10,75%                | Coklat kehitaman |

Pada penelitian ini menggunakan bahan baku segar dengan berat 5000 gr serta menghasilkan berat kering atau simplisia 1839 gr. Ekstraksi dilakukan menggunakan dua jenis pelarut yaitu etanol 70% dan 96%, dimana berat simplisia yang diekstraksi sebanyak 400 gr pada masing-masing pelarut. Berdasarkan hasil

perhitungan randemen, pada ekstrak etanol 70% didapatkan hasil randemen yaitu sebesar 7,435% sedangkan ekstrak etanol 96% sebesar 10,75 %, dari hasil tersebut menunjukkan hasil randemen ekstrak yang paling baik yaitu yang menggunakan pelarut etanol 96%. Dimana syarat randemen ekstrak kental yang baik yaitu nilainya lebih dari 10% (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2017).

## 2. Skrining fitokimia

Hasil uji skrining fitokimia ekstrak etanol 70% dan 96% daun kaliasem dapat dilihat pada tabel di bawah ini.

**Tabel 5**  
**Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 70% Daun Kaliasem (*Syzygium polycephalum*)**

| No. | Uji Fitokimia | Perekasi                                  | Hasil                                                          | Kesimpulan                 |
|-----|---------------|-------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|----------------------------|
| 1.  | Flavonoid     | Mg, HCl 2%                                | Merah                                                          | Positif (+)                |
| 2.  | Alkaloid      | Dragendorf, Mayer, Wagner, HCl 2N         | a. Dragendorf: merah jingga<br>b. Mayer & Wagner: merah jingga | Negatif (-)<br>Negatif (-) |
| 3.  | Terpenoid     | Kloroform, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | Biru kehijaun                                                  | Positif (+)                |
| 4.  | Saponin       | HCl 2N                                    | Tidak terbentuk busa                                           | Negatif (-)                |
| 5.  | Tanin         | FeCl <sub>3</sub> 5%                      | Biru kehitaman                                                 | Positif (+)                |

**Tabel 6**  
**Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 96% Daun Kaliasem (*Syzygium polycephalum*)**

| No. | Uji Fitokimia | Pereaksi                                  | Hasil                                                            | Kesimpulan                 |
|-----|---------------|-------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|----------------------------|
| 1.  | Flavonoid     | Mg, HCl 2%                                | Merah                                                            | Positif (+)                |
| 2.  | Alkaloid      | Dragendorf, Mayer, Wagner, HCl 2N         | a. Dragendorf : merah jingga<br>b. Mayer & Wagner : merah jingga | Negatif (-)<br>Negatif (-) |
| 3.  | Terpenoid     | Kloroform, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | Hijau kekuningan                                                 | Positif (+)                |
| 4.  | Saponin       | HCl 2N                                    | Tidak terbentuk busa                                             | Negatif (-)                |
| 5.  | Tanin         | FeCl <sub>3</sub> 5%                      | Biru kehitaman                                                   | Positif (+)                |

Berdasarkan hasil uji skrining fitokimia tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% dan 96% daun kaliasem terdapat kandungan senyawa flavonoid, terpenoid, dan tanin. Namun, uji terhadap senyawa alkaloid dan saponin menunjukkan hasil negatif, yang berarti tidak terdeteksi keberadaan senyawa alkaloid dan saponin dalam ekstrak tersebut.

### 3. Uji aktivitas antioksidan

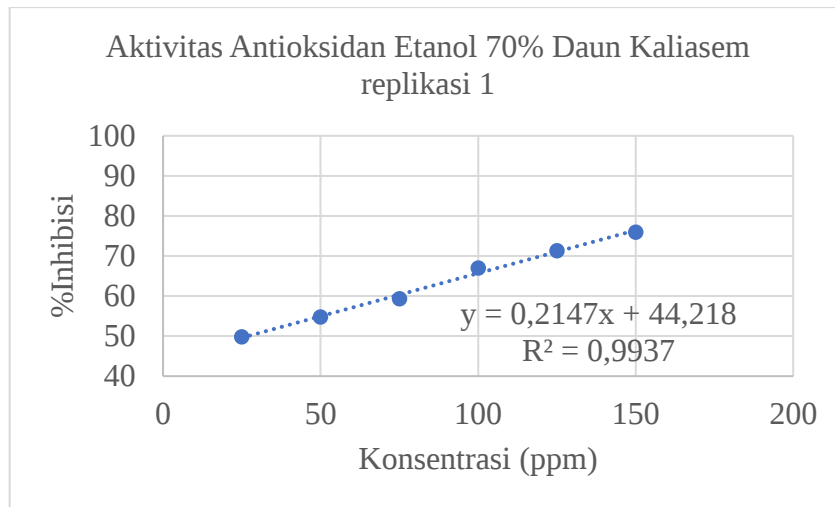
Aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% dan 96% diukur menggunakan metode DPPH pada spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang maksimum 517 nm. Setiap sampel ekstrak etanol 70% dan 96% dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali pemeriksaan. Dalam suatu penelitian eksperimen, disarankan untuk melakukan setidaknya tiga kali pengulangan untuk setiap kondisi atau perlakuan yang diuji.

#### a. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% daun kaliasem

Berikut disajikan tabel hasil perhitungan absorbansi sampel dan % inhibisi ekstrak etanol 70% daun kaliasem dengan tiga kali pengulangan

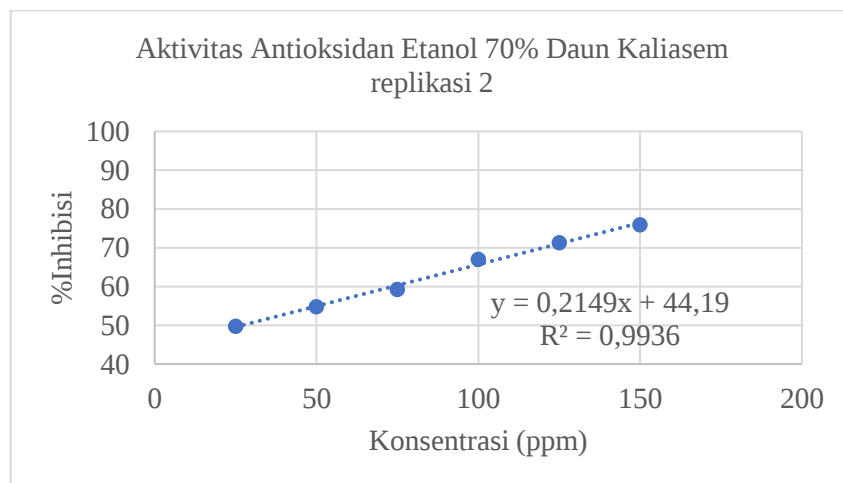
| Tabel 7                                    |                      |                   |        |        |                    |            |         |         |
|--------------------------------------------|----------------------|-------------------|--------|--------|--------------------|------------|---------|---------|
| %Inhibisi Ekstrak Etanol 70% Daun Kaliasem |                      |                   |        |        |                    |            |         |         |
| No                                         | Konsentrasi<br>(ppm) | Absorbansi sampel |        |        | Absorbansi<br>DPPH | % Inhibisi |         |         |
|                                            |                      | Replikasi         |        |        |                    | Replikasi  |         |         |
|                                            |                      | (1)               | (2)    | (3)    |                    | (1)        | (2)     | (3)     |
| 1                                          | 25                   | 0,2900            | 0,2901 | 0,2903 | 0,5776             | 49,7951    | 49,7778 | 49,7432 |
| 2                                          | 50                   | 0,2613            | 0,2614 | 0,2612 | 0,5776             | 54,7637    | 54,7464 | 54,7810 |
| 3                                          | 75                   | 0,2352            | 0,2354 | 0,2356 | 0,5776             | 59,2821    | 59,2475 | 59,2129 |
| 4                                          | 100                  | 0,1906            | 0,1906 | 0,1908 | 0,5776             | 67,0033    | 67,0033 | 66,9687 |
| 5                                          | 125                  | 0,1659            | 0,1659 | 0,1658 | 0,5776             | 71,2794    | 71,2794 | 71,2967 |
| 6                                          | 150                  | 0,1391            | 0,1391 | 0,1390 | 0,5776             | 75,9190    | 75,9190 | 75,9363 |

Konsentrasi larutan serta %inhibisi yang didapat kemudian diplot pada sumbu y dan x sehingga didapatkan kurva regresi linear sebagai berikut:



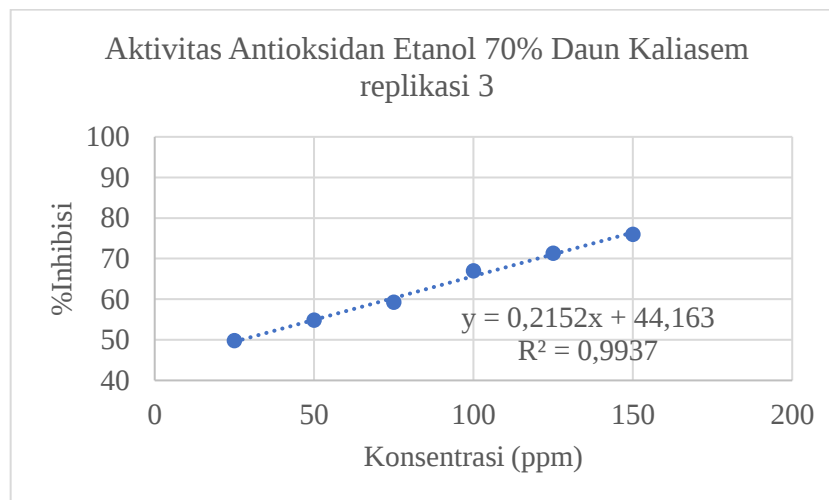
**Gambar 9. Aktivitas Antioksidan Etanol 70% Daun Kaliasem replikasi 1**

Berdasarkan analisis kurva diatas, didapatkan persamaan regresi linear pada ekstrak etanol 70% daun kaliasem replikasi pertama yaitu  $y = 0,2147x + 44,218$  dengan nilai  $R^2 = 0,9937$ , dari persamaan tersebut menunjukkan nilai x atau nilai  $IC_{50}$  (*Inhibition Consentratation* 50) sebesar 26,9306 ppm. Sehingga hasil dari uji aktivitas antioksidan berdasarkan *Antioxidant Activity Index* (AAI) adalah 1,4, digolongkan pada aktivitas antioksidan yang kuat (1,0-2,0).



**Gambar 10. Aktivitas Antioksidan Etanol 70% Daun Kaliasem replikasi 2**

Berdasarkan analisis kurva diatas, didapatkan persamaan regresi linear pada ekstrak etanol 70% daun kaliasem replikasi kedua yaitu  $y = 0,2149x + 44,19$  dengan nilai  $R^2 = 0,9936$ , dari persamaan tersebut menunjukkan nilai x atau nilai  $IC_{50}$  (*Inhibition Consentration 50*) sebesar 26,27,0358 ppm. Sehingga hasil dari uji aktivitas antioksidan berdasarkan *Antioxidant Activity Index* (AAI) adalah 1,4, digolongkan pada aktivitas antioksidan yang kuat (1,0-2,0).



**Gambar 11. Aktivitas Antioksidan Etanol 70% Daun Kaliasem replikasi 3**

Berdasarkan analisis kurva diatas, didapatkan persamaan regresi linear pada ekstrak etanol 70% daun kaliasem replikasi ketiga yaitu  $y = 0,2152x + 44,163$  dengan nilai  $R^2 = 0,9937$ , dari persamaan tersebut menunjukkan nilai x atau nilai  $IC_{50}$  (*Inhibition Consentration 50*) sebesar 27,1236 ppm. Sehingga hasil dari uji aktivitas antioksidan berdasarkan *Antioxidant Activity Index* (AAI) adalah 1,4, digolongkan pada aktivitas antioksidan yang kuat (1,0-2,0).

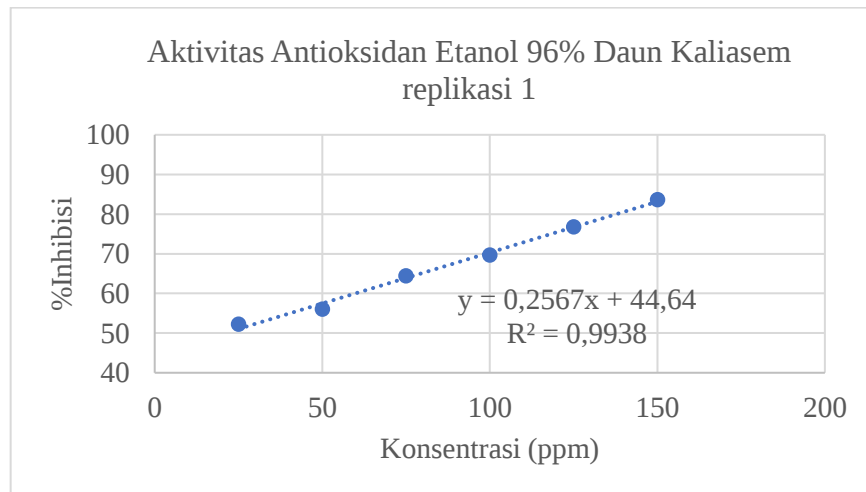
b. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96% daun kaliasem

Sedangkan hasil aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol 96% daun kaliasem, sebagai berikut:

**Tabel 8**  
**%Inhibisi Ekstrak Etanol 96% Daun Kaliasem**

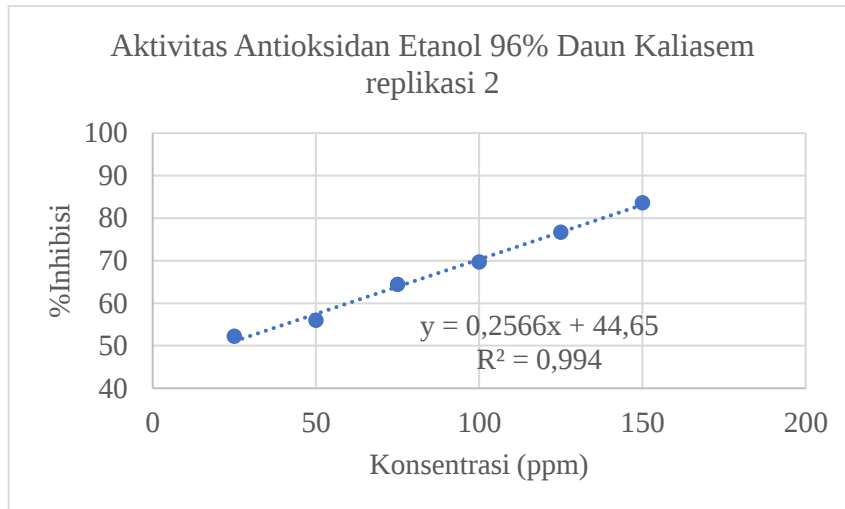
| No | Konsentrasi<br>(ppm) | Absorbansi sampel |        |        | Absorbansi<br>DPPH | % Inhibisi |         |         |
|----|----------------------|-------------------|--------|--------|--------------------|------------|---------|---------|
|    |                      | Replikasi         |        |        |                    | Replikasi  |         |         |
|    |                      | (1)               | (2)    | (3)    |                    | (1)        | (2)     | (3)     |
| 1  | 25                   | 0,2761            | 0,2762 | 0,2763 | 0,5776             | 52,2015    | 52,1842 | 52,1669 |
| 2  | 50                   | 0,2543            | 0,2542 | 0,2543 | 0,5776             | 55,9755    | 55,9928 | 55,9755 |
| 3  | 75                   | 0,2056            | 0,2055 | 0,2055 | 0,5776             | 64,4065    | 64,4238 | 64,4238 |
| 4  | 100                  | 0,1752            | 0,1751 | 0,1750 | 0,5776             | 69,6693    | 69,6867 | 69,6988 |
| 5  | 125                  | 0,1345            | 0,1346 | 0,1345 | 0,5776             | 76,7153    | 76,6980 | 76,7153 |
| 6  | 150                  | 0,0946            | 0,0947 | 0,0947 | 0,5776             | 83,6228    | 83,6055 | 83,6055 |

Konsentrasi larutan serta %inhibisi yang didapat kemudian diplot pada sumbu y dan x sehingga didapatkan kurva regresi linear sebagai berikut:



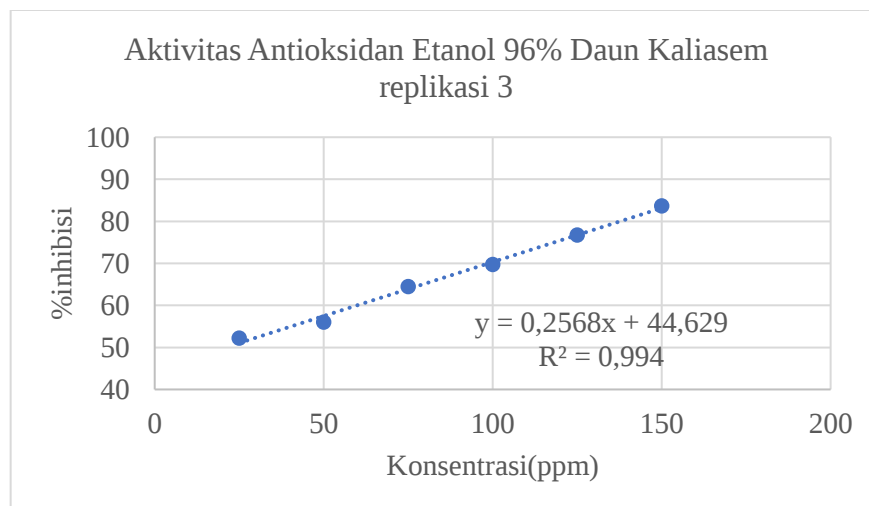
**Gambar 12. Aktivitas Antioksidan Etanol 96% Daun Kaliasem replikasi 1**

Berdasarkan analisis kurva diatas, didapatkan persamaan regresi linear pada ekstrak etanol 96% daun kaliasem replikasi pertama yaitu  $y = 0,2567x + 44,64$  dengan nilai  $R^2 = 0,9938$ , dari persamaan tersebut menunjukkan nilai x atau nilai  $IC_{50}$  (*Inhibition Consentration 50*) sebesar 20,8804 ppm. Sehingga hasil dari uji aktivitas antioksidan berdasarkan *Antioxidant Activity Index* (AAI) adalah 1,9, digolongkan pada aktivitas antioksidan yang kuat (1,0-2,0).



**Gambar 13. Aktivitas Antioksidan Etanol 96% Daun Kaliasem replikasi 2**

Berdasarkan analisis kurva diatas, didapatkan persamaan regresi linear pada ekstrak etanol 96% daun kaliasem replikasi kedua yaitu  $y = 0,2566x + 44,65$  dengan nilai  $R^2 = 0,994$ , dari persamaan tersebut menunjukkan nilai  $x$  atau nilai  $IC_{50}$  (*Inhibition Consentration 50*) sebesar 20,8885 ppm. Sehingga hasil dari uji aktivitas antioksidan berdasarkan *Antioxidant Activity Index* (AAI) adalah 1,9, digolongkan pada aktivitas antioksidan yang kuat (1,0-2,0).



**Gambar 14. Aktivitas Antioksidan Etanol 96% Daun Kaliasem replikasi 3**

Berdasarkan analisis kurva diatas, didapatkan persamaan regresi linear pada ekstrak etanol 96% daun kaliasem replikasi ketiga yaitu  $y = 0,2568x + 44,629$  dengan nilai  $R^2 = 0,994$ , dari persamaan tersebut menunjukkan nilai x atau nilai  $IC_{50}$  (*Inhibition Consentration 50*) sebesar 20,9151 ppm. Sehingga hasil dari uji aktivitas antioksidan berdasarkan *Antioxidant Activity Index* (AAI) adalah 1,9, digolongkan pada aktivitas antioksidan yang kuat (1,0-2,0).

**Tabel 9**  
**Nilai  $IC_{50}$  dan AAI Ekstrak Etanol 70% dan 96% Daun Kaliasem**

| Sampel                | Replikasi | $IC_{50}$ | AAI | Keterangan |
|-----------------------|-----------|-----------|-----|------------|
| Ekstrak etanol<br>70% | 1         | 26,9306   | 1,4 | Kuat       |
|                       | 2         | 27,0358   | 1,4 | Kuat       |
|                       | 3         | 27,1236   | 1,4 | Kuat       |
| Ekstrak etanol<br>96% | 1         | 20,8804   | 1,9 | Kuat       |
|                       | 2         | 20,8885   | 1,9 | Kuat       |
|                       | 3         | 20,9151   | 1,9 | Kuat       |

#### 4. Analisis data

##### a. Uji normalitas

**Tabel 10**  
**Uji Normalitas Data**

| Variabel                                     | Saphiro wilk |    |       |
|----------------------------------------------|--------------|----|-------|
|                                              | Statistic    | df | Sig.  |
| AAI ekstrak etanol 70% dan 96% daun kaliasem | 0,683        | 6  | 0,005 |

Berdasarkan tabel di atas, didasarkan oleh nilai  $\text{sig} < 0,05$ , sehingga data menunjukkan berdistribusi tidak normal dan dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*.

b. Uji *Mann-Whitney*

**Tabel 11**  
**Uji *Mann-Whitney***

| Uji <i>Mann-Whitney</i>                      | Sig. |
|----------------------------------------------|------|
| AAI ekstrak etanol 70% dan 96% daun kaliasem | 0,05 |

Berdasarkan tabel di atas, diketahui bahwa nilai  $\text{sig} \leq 0,05$ , maka  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima. Dengan demikian terdapat pengaruh yang signifikan antara penggunaan pelarut etanol 70% dan 96% terhadap aktivitas antioksidan.

## **B. Pembahasan**

### **1. Ekstrak etanol 70% dan 96% daun kaliasem**

Ekstrak bahan alam dihasilkan melalui proses ekstraksi simplisia dengan cara memisahkan zat yang diinginkan dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Simplisia merupakan bahan alam yang dipergunakan sebagai bahan dalam pengobatan tradisional dan belum mengalami pengolahan apapun dan masih berupa bahan alami yang dikeringkan (Wandira *dkk.*, 2023). Simplisia didapat melalui proses pengeringan bahan alam, dimana metode yang dapat digunakan untuk pengeringan simplisia, yaitu pengeringan dengan sinar matahari tidak langsung dan pengeringan menggunakan oven. Teknik pengeringan merupakan salah satu faktor yang berpengaruh terhadap kualitas simplisia. Tujuan dari pengeringan adalah untuk mengurangi kadar air dalam daun, sehingga dapat mencegah kerusakan yang disebabkan oleh jamur atau mikroorganisme lainnya, serta mencegah perubahan kimia yang bisa menurunkan kualitas simplisia (Yanti, Karta dan Dewi, 2020). Sehingga, teknik pengeringan memiliki peran penting dalam menciptakan simplisia berkualitas tinggi, dapat disimpan dalam jangka waktu panjang, dan menjaga kestabilan bahan aktifnya. Selain itu, pengeringan di

bawah paparan sinar matahari secara langsung tidak dianjurkan, karena sinar ultraviolet dan suhu tinggi dapat mengganggu komposisi kimianya (Rina Wahyuni, Guswandi, 2014). Pada penelitian ini, proses pengeringan daun kaliasem dilakukan menggunakan metode pengeringan dengan sinar matahari tidak langsung atau diangin-anginkan selama dua minggu, dimana secara berkala simplisia dibolak-balik sehingga dapat kering secara merata.

Metode maserasi dan remaserasi digunakan dalam proses ekstraksi. Remaserasi adalah teknik ekstraksi yang melibatkan proses berulang dengan penambahan pelarut setelah proses penyaringan maserat pertama dan seterusnya. Hal tersebut dilakukan untuk memaksimalkan proses penyarian simplisia bahan alam (Ningsih, Utami dan Nugrahani, 2015). Waktu ekstraksi sangat mempengaruhi senyawa yang dihasilkan. Waktu macerasi yang tepat akan menghasilkan senyawa optimal. Waktu macerasi yang terlalu singkat dapat menyebabkan tidak semua senyawa larut dalam pelarut yang digunakan, sehingga diperlukan waktu satu minggu untuk ekstraksi metabolit sekunder ini dilakukan secara optimal (Ratih dan Habibah, 2022). Maserasi dilakukan untuk mengekstraksi simplisia daun kaliasem menggunakan pelarut etanol 70% dan 96%. Pelarut etanol dipilih karena etanol memiliki kemampuan untuk melarutkan senyawa fitokimia secara optimal sehingga dapat menarik asam amino, gula, serta beberapa senyawa fitokimia seperti alkaloid, flavonoid, glikosida flavonoid, dan klorofil yang larut dalam pelarut polar. Oleh karena itu, penggunaan etanol sebagai pelarut dalam ekstraksi menghasilkan banyaknya senyawa yang diekstrak dan randemen yang tinggi (Dewatisari, 2020).

Hasil penyaringan maserat tersebut menghasilkan filtrat yang dievaporasi menggunakan alat *rotary evaporator* pada suhu 50° C. proses ini bertujuan untuk memisahkan ekstrak daun kaliasem dengan pelarut etanol 70% dan 96% sehingga didapat ekstrak kentalnya. Hasil ekstrak kental daun kaliasem kemudian ditimbang dan dihitung randemen ekstrak.

Randemen merupakan perbandingan antara jumlah ekstrak yang diperoleh dengan bahan simplisia awal. Semakin tinggi nilai randemen menunjukkan bahwa jumlah ekstrak yang dihasilkan semakin banyak. Syarat randemen ekstrak kental yaitu nilainya tidak kurang dari 10% (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2017). Pada penelitian ini hasil randemen ekstrak etanol 70% daun kaliasem didapatkan hasil randemen yaitu sebesar 7,435% sedangkan ekstrak etanol 96% daun kaliasem sebesar 10,75%, dari hasil tersebut menunjukkan pelarut etanol 96% memiliki kemampuan penyarian ekstrak yang lebih besar daripada etanol 70%.

Etanol 96% memiliki kadar air yang lebih sedikit daripada etanol 70%. Pelarut etanol 96% lebih efektif dalam menembus dinding sel sampel dibandingkan dengan etanol berkonsentrasi lebih rendah, sehingga menghasilkan ekstrak yang kental (Wendersteyt, Wewengkang dan Abdullah, 2021). Berdasarkan penelitian Islamiyati dan Saputri (2018), randemen ekstrak etanol 96% daun salam lebih besar daripada ekstrak etanol 70% daun salam. Pada penelitian Yunita dan Khodijah (2020) menunjukkan bahwa ekstraksi menggunakan etanol dengan konsentrasi 96% menghasilkan randemen ekstrak daun asam jawa yang lebih besar dibandingkan dengan pelarut etanol konsentrasi 70%.

## 2. Skrining fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan pada ekstrak etanol daun kaliasem 70% dan 96% untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya, sehingga dapat diketahui metabolit sekunder yang berpotensi memiliki aktivitas antioksidan. Hasil skrining fitokimia yang dilakukan pada ekstrak etanol 70% dan 96% daun kaliasem menunjukkan adanya kandungan senyawa flavonoid, terpenoid, dan tanin. Pada penelitian yang dilakukan oleh Puspitasari dan Sofandi (2020), hasil skrining fitokimia pada sediaan buah kupa kering menunjukkan bahwa buah kupa mengandung flavonoid, alkaloid, tanin, dan terpenoid (Puspitasari dan Sofandi, 2020). Selain itu, hasil skrining fitokimia pada ekstrak biji dan daging buah kupa juga menunjukkan bahwa senyawa alkaloid, flavonoid, kuinon, tanin, polifenol, steroid, dan terpenoid, serta monoterpen dan seskuiterpen (Aryani, Hazar dan Mardliyani, 2023).

Kandungan metabolit sekunder dalam tanaman ditentukan oleh faktor internal dan eksternal. Faktor genetik adalah faktor internal utama yang berpengaruh terhadap kualitas senyawa yang terdapat dalam tanaman. Sementara itu, faktor eksternal seperti intensitas sinar matahari, suhu udara, kelembapan, pH tanah, ketersediaan unsur hara dalam tanah, dan elevasi atau ketinggian lokasi juga memainkan peran dalam menentukan kandungan metabolit sekunder dalam tanaman (AP dkk., 2022).

Flavonoid adalah jenis metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman dan termasuk dalam kategori polifenol. Senyawa ini dapat ditemukan di seluruh bagian tanaman, mulai dari daun, akar, batang, kulit, serbuk sari, nektar, bunga, buah, hingga biji. Flavonoid berfungsi sebagai antioksidan sehingga mempunyai

kemampuan dalam menangkap radikal bebas dan menghambat oksidasi lipid (Zuraida *dkk.*, 2017). Selain itu, terdapat senyawa terpenoid yang berfungsi sebagai antioksidan. Senyawa ini beraksi sebagai antioksidan primer dengan kemampuan untuk menghambat pembentukan radikal bebas baru, menghentikan reaksi berantai, dan mengubahnya menjadi bentuk yang lebih stabil seperti superoksida (Kartika, Ardana dan Rusli, 2020). Selanjutnya adalah senyawa tanin, tanin merupakan zat organik yang memiliki struktur kompleks, terdiri dari senyawa fenolik yang sulit untuk dipisahkan dan mengkristal. Senyawa ini memiliki kemampuan untuk mengekstrak protein dari larutan dan juga berinteraksi dengan protein tersebut (Pratama, Razak dan Rosalina, 2019). Tanin memiliki gugus OH, atom hidrogennya dapat ditransfer ke radikal bebas, sehingga mengubah tanin menjadi bentuk non-radikal seperti DPPH-H (Hasan *dkk.*, 2022).

### **3. Uji aktivitas antioksidan**

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak daun kaliasem dilakukan dengan metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*). DPPH (*2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) adalah radikal bebas yang stabil dengan warna ungu kehitaman. Analisis dengan menggunakan metode DPPH cepat, mudah, dan sensitif terhadap sampel konsentrasi rendah (Apriyandi, 2022). Radikal bebas DPPH dengan elektron tidak berpasangan akan berwarna ungu, tetapi saat elektronnya berpasangan, warnanya berubah menjadi kuning. Peredaman radikal bebas terjadi saat molekul DPPH bereaksi dengan atom hidrogen yang dilepaskan oleh molekul sampel, menghasilkan senyawa *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazine*. Akibatnya, intensitas warna ungu berubah menjadi kuning. Perubahan warna ini menyebabkan

penurunan absorbansi seiring peningkatan konsentrasi, sementara nilai % inhibisi ekstrak daun kaliasem meningkat (Hasan *dkk.*, 2022).

Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% dan 96% dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan. Pada pengulangan pertama pada ekstrak etanol 70% didapatkan  $IC_{50}$  sebesar 26,9306 ppm dengan nilai AAI 1,4, pengulangan kedua  $IC_{50}$  sebesar 27,0358 ppm dengan nilai AAI 1,4 serta pada pengulangan ketiga  $IC_{50}$  sebesar 27,1236 ppm dengan nilai AAI 1,4 juga. Sedangkan pada ekstrak etanol 96% pada pengulangan pertama diperoleh nilai  $IC_{50}$  sebesar 20,8804 ppm dengan nilai AAI 1,9, pengulangan kedua didapatkan nilai  $IC_{50}$  sebesar 20,8804 ppm dengan nilai AAI 1,9, dan nilai  $IC_{50}$  sebesar 20,8804 ppm serta nilai AAI 1,9 pada pengulangan ketiga.

Nilai  $IC_{50}$  menunjukkan seberapa kuat antioksidan untuk menghambat radikal bebas sebanyak 50%. Nilai  $IC_{50} < 50$  ppm menunjukkan kekuatan antioksidan sangat kuat, nilai  $IC_{50}$  50-100 ppm menunjukkan kekuatan antioksidan kuat, nilai  $IC_{50}$  101-250 ppm menunjukkan kekuatan antioksidan sedang, nilai  $IC_{50}$  250-500 ppm menunjukkan kekuatan antioksidan yang lemah, dan nilai  $IC_{50}$  500 ppm menunjukkan kekuatan antioksidan sangat lemah. Menurut penggolongan tersebut ekstrak etanol 70% dan 96% daun kaliasem memiliki tingkatan kekuatan yang sangat kuat. Pada penelitian yang dilakukan oleh Nurmalsari, *dkk.* (2016), aktivitas antioksidan pada ekstrak biji buah menunjukkan aktivitas antioksidan sangat kuat yaitu dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 5,246 ppm serta ekstrak daging buah termasuk kedalam antioksidan kuat dengan  $IC_{50}$  sebesar 60,187 ppm.

Sedangkan nilai AAI mengindikasikan aktivitas antioksidan. Jika nilai AAI  $< 0,5$  menunjukkan aktivitas antioksidan yang lemah, nilai AAI antara 0,5-1

menandakan aktivitas antioksidan sedang, nilai AAI antara 1-2 menunjukkan aktivitas antioksidan kuat, dan nilai AAI  $> 2$  adalah aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Berdasarkan penggolongan tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% dan 96% memiliki aktivitas antioksidan yang kuat.

Berdasarkan hasil perhitungan pengujian aktivitas antioksidan tersebut ekstrak etanol 96% daun kaliasem memiliki nilai AAI yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak yang menggunakan etanol 70%. Hal tersebut membuktikan bahwa kandungan senyawa metabolit sekunder tersari lebih baik pada ekstrak etanol 96% daun kaliasem daripada ekstrak etanol 70% daun kaliasem. Sejalan penelitian Islamiyati dan Saputri (2018), menunjukkan ekstrak etanol 96% daun salam lebih besar dari ekstrak etanol 70% daun salam.

Dalam penelitian ini, digunakan etanol sebagai pelarut ekstraksi. Etanol dikenal sebagai pelarut universal yang efisien dalam mengekstrak senyawa-senyawa yang berifat polar maupun nonpolar. Etanol 96% memiliki selektivitas yang baik, absorpsi yang efisien, dan kemampuan penyarian yang tinggi. Oleh karena itu, pelarut ini sangat mampu untuk mengekstrak senyawa-senyawa yang bersifat non-polar, semi-polar, dan polar. Terpenoid, flavonoid serta tanin merupakan senyawa metabolit sekunder yang mempengaruhi aktivitas antioksidan. Terpenoid, flavonoid, dan tanin adalah senyawa metabolit sekunder yang berfungsi sebagai antioksidan dalam daun kaliasem. Terpenoid memiliki sifat non-polar, sehingga sulit larut dalam pelarut polar seperti air. Sebaliknya, flavonoid memiliki sifat yang polar dan dapat larut dengan baik dalam pelarut polar seperti etanol. Kelarutan senyawa bioaktif dapat dipengaruhi oleh perubahan konsentrasi etanol. Semakin tinggi konsentrasi etanol, tingkat kepolaran pelarutnya akan semakin

rendah. Hal tersebut mempengaruhi kemampuan ekstraksi senyawa dengan berbagai sifat kepolaran. Suatu zat dapat larut dengan baik jika pelarut yang digunakan memiliki tingkat kepolaran yang sebanding (Islamiyati dan Saputri, 2018). Suhendra dkk. (2019) juga menyebutkan nilai randemen, total fenol, total flavonoid, dan aktivitas antioksidan ekstrak dapat dipengaruhi oleh perbedaan konsentrasi etanol sebagai pelarut.

Analisis data dilakukan dengan menggunakan uji *Mann-Whitney*, diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,05 ( $p \leq 0,05$ ). Berdasarkan analisis data tersebut, terdapat pengaruh yang signifikan dari penggunaan pelarut etanol 70% dan 96% terhadap aktivitas antioksidan daun kaliasem. Hal ini dapat dilihat dari *Antioxidant Activity Index* (AAI) yang menunjukkan nilai yang berbeda. Nilai AAI yang berbeda ini menunjukkan adanya variasi aktivitas antioksidan yang signifikan antara daun kaliasem yang diekstraksi menggunakan etanol 70% dan 96%.

Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa penggunaan pelarut etanol dengan konsentrasi 70% dan 96% mempengaruhi aktivitas antioksidan secara signifikan berdasarkan hasil uji statistik yang dilakukan, dan ekstrak kaliasem dapat dianggap sebagai sumber potensial antioksidan yang stabil dan konsisten. Meskipun demikian, perlu dicatat bahwa meski terdapat perbedaan signifikan, hasil nilai AAI masih berada pada kategori yang sama yaitu sama-sama kuat. Dengan demikian, hasil ini memberikan informasi penting bahwa pemilihan pelarut etanol dengan konsentrasi yang berbeda dapat mempengaruhi kualitas dan efektivitas aktivitas antioksidan dari ekstrak daun kaliasem. Oleh karena itu, dalam proses ekstraksi, pemilihan pelarut etanol yang tepat menjadi faktor kunci yang perlu diperhatikan untuk memaksimalkan aktivitas antioksidan dari ekstrak daun kaliasem.

### **C. Kelemahan Penelitian**

Adapun kelemahan dalam penelitian ini yaitu sebagai berikut:

1. Peneliti tidak melakukan pengujian kadar air pada simplisia, sehingga tidak dapat dipastikan apakah kadar air dalam sampel sudah mencapai batas  $<10\%$  sesuai dengan pedoman kadar air yang ditetapkan. Pemeriksaan kadar air berfungsi untuk menghindari cepatnya pertumbuhan jamur dan bakteri dalam simplisia sehingga dapat mempertahankan kualitas simplisia tahan disimpan lama dan tidak terjadi perubahan bahan aktif yang dikandungnya