



Gambar 5 Ekstrak kental daun cemcem

Nanoekstrak diperoleh melalui proses enkapsulasi, kemudian transmitansinya diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 650 nm. Berikut adalah hasil transmitansi yang diperoleh:

Tabel 5
Transmitan Nano Ekstrak Daun Cemcem

No	Pengulangan	Visual	Transmitan
1.	1	Larutan Jernih	93,07%
2.	2	Larutan Jernih	93,03%
3.	3	Larutan Jernih	93,03%
Rerata			93,04% $\pm$ 0.018

Berdasarkan hasil tabel 5 hasil transmitansi dari sampel nano ekstrak yang di uji adalah 93,04% . Hasil tersebut sudah memenuhi syarat sampel sebagai nano ekstrak yaitu direntang 90 – 100%.

2. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia nano ekstrak etanol 96% daun cemcem dilakukan secara kualitatif dan diperoleh hasil sebagai berikut:

Tabel 6
Hasil Skrining Fitokimia Nano Ekstrak Etanol 96% Daun Cemcem

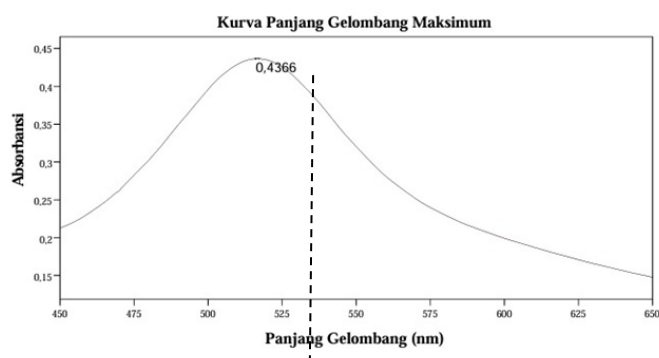
No	Parameter Uji	Hasil	Perubahan Yang Terjadi
1.	Alkaloid (Mayer)	-/Negatif	Tidak Terdapat Endapan Putih
2.	Alkaloid (Wagner)	-/Negatif	Tidak Terdapat Endapan Coklat Kemerahan
3.	Flavonoid	+/Positif	Terjadi Perubahan Warna Orange
4.	Tanin	+/Positif	Terjadi Perubahan Warna Hijau Kehitaman
5.	Fenol	+/Positif	Terjadi Perubahan Warna Biru Kehitaman
6.	Saponin	+/Positif	Terdapat Busa

Berdasarkan hasil skrining fitokimia pada tabel di atas, sampel nano ekstrak mengandung senyawa fitokimia berupa flavonoid, tanin, fenol, dan saponin.

3. Uji Aktivitas Antioksidan

- a. Penentuan lamda maksimal DPPH 0,1M pada panjang gelombang 450-650nm pada spektrofotometer uv-vis.

Sebelum mengukur aktivitas antioksidan dilakukan terlebih dahulu penentuan lamda maksimal dari DPPH 0,1Mm.



Gambar 6 Kurva panjang gelombang maksimum

Dari hasil pengukuran, diperoleh pada panjang gelombang 516 nm dengan absorbansi 0,4366, sehingga pengukuran absorbansi sampel dilakukan pada panjang gelombang tersebut.

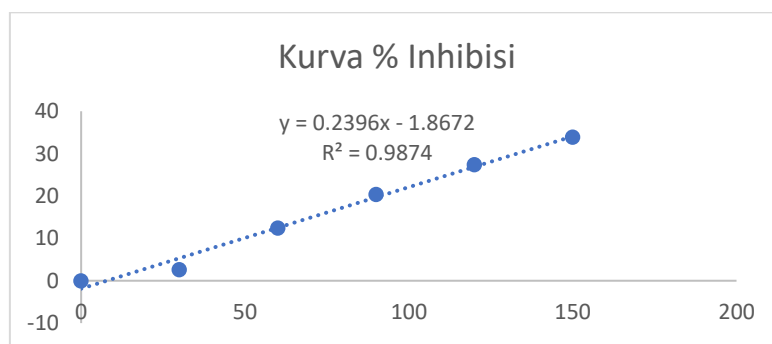
- b. Uji aktivitas antioksidan pada nano ekstrak etanol daun cemcem ditunjukkan pada tabel dan gambar .

Larutan seri konsentrasi 0, 30, 60, 90, 120, dan 150 ppm diukur dengan panjang gelombang maksimal yaitu 516 nm pada spektrofotometer uv-vis.

Tabel 7
Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Nano Ekstrak Etanol 96% Daun Cemcem

No	Konsentrasi Sampel (ppm)	Rerata Absorbansi	% Inhibisi
1.	0 ppm	0,4180 ± 0.000367	0
2.	30 ppm	0,4071 ± 0.000606	2.607
3.	60 ppm	0,3661 ± 0.000230	12.416
4.	90 ppm	0,3329 ± 0.000414	20.358
5.	120 ppm	0,3036 ± 0.000327	27.368
6.	150 ppm	0,2764 ± 0.000432	33.875

Berdasarkan % Inhibisi diperoleh persamaan regresi linier antara seri konsentrasi dan % Inhibisi dapat dilihat pada gambar di bawah ini:



Gambar 7 Kurva % Inhibisi

Berdasarkan hasil % inhibisi diperoleh persamaan regresi linier $y = 0.2396x - 1.8672$, dengan nilai $R^2 = 0.9874$, dan berdasarkan persamaan regresi linier tersebut diperoleh nilai IC_{50} yaitu 200,88ppm, yang termasuk ke dalam kategori sangat lemah.

B. Pembahasan

1. Nano Ekstrak Etanol 96% Daun Cemcem

Pada proses pengeringan daun cemcem suhu oven yang dipakai yaitu 45°C, dalam penelitian terdahulu bahwa suhu pengeringan yang disarankan dalam pengeringan adalah pada suhu 20°C sampai 90°C (Widayanti *dkk.*, 2023). Berdasarkan hasil yang diperoleh, kombinasi antara suhu dan waktu pengeringan menunjukkan pengaruh yang nyata terhadap beberapa parameter penting, seperti kadar air, kandungan esens, total fenol, flavonoid, antosianin, hingga kemampuan antioksidan dari sampel yang diuji (Martini, Ekawati dan Ina, 2020). Kadar air yang didapatkan setelah pengujian ialah 4,384%. Berdasarkan hasil penelitian, kadar air yang terkandung dalam daun *Simplicia* memenuhi standar yang telah ditetapkan. Merujuk pada literatur, kadar air dalam ekstrak seharusnya tidak melebihi 10% agar mencegah pertumbuhan jamur yang cepat dalam ekstrak (Wandira *dkk.*, 2023).

Setelah simplisia dihaluskan dilakukan proses ekstraksi, ekstraksi merupakan tahapan awal dan yang paling penting suhu dan waktu sangat berpengaruh pada proses ekstraksi, ekstraksi bertujuan untuk menarik komponen kimia atau metabolit sekunder yang terkandung dalam sampel. Dalam penelitian ini, pelarut yang digunakan untuk proses ekstraksi adalah etanol 96%. Pemilihan etanol didasarkan pada sifatnya yang bersifat polar, umum digunakan, serta memiliki kemampuan ekstraksi yang tinggi. Etanol mampu melarutkan senyawa dengan berbagai tingkat kepolaran, mulai dari non-polar hingga polar. Selain itu, etanol 96% dipilih karena konsentrasi ini lebih efektif dalam menembus dinding sel sampel dibandingkan dengan etanol berkadar lebih

rendah, sehingga dapat menghasilkan ekstrak yang lebih terkonsentrasi (Martini, Ekawati dan Ina, 2020).

Dari penelitian yang sebelumnya pernah dilakukan bahwa hasil aktivitas antioksidan yang paling kuat yaitu pada pelarut etanol konsentrasi 96% dengan waktu maserasi selama 96 jam hal ini menunjukkan bahwa pada perlakuan tersebut bayam merah memiliki kemampuan mengekstrak senyawa yang lebih baik. Makin lama waktu maserasi dan makin tinggi konsentrasi pelarut etanol maka makin besar rendemen dan makin kecil nilai IC^{50} atau makin baik aktivitas antioksidan dalam menangkap radikal bebas (Martini, Ekawati dan Ina, 2020).

Dalam penelitian ini, metode ekstraksi perendaman dipilih karena mampu menghindari kerusakan senyawa yang tidak stabil terhadap panas. Salah satu keunggulan dari metode ini adalah prosedurnya yang sederhana serta tidak memerlukan peralatan yang rumit. Prinsip kerja dari metode perendaman ini didasarkan pada kemampuan pelarut untuk menembus dinding sel, sehingga dapat mencapai bagian dalam sel (vakuola) yang mengandung senyawa aktif. Senyawa aktif tersebut kemudian larut ke dalam pelarut. Lama waktu perendaman diketahui dapat memengaruhi hasil ekstraksi yang diperoleh. Semakin lama waktu perendaman, maka interaksi antara pelarut dan senyawa bioaktif pun meningkat, hingga mencapai titik jenuh. Berdasarkan penelitian sebelumnya, perendaman selama 24 jam merupakan waktu optimal untuk mendapatkan rendemen tertinggi dari ekstrak etanol-aquadest kulit buah sirsak (Martini, Ekawati dan Ina, 2020).

Kemudian dilakukan proses remaserasi, remaserasi adalah metode ekstraksi yang dilakukan berulang kali dengan menambahkan pelarut baru setelah ampas hasil penyaringan dari proses ekstraksi pertama disaring, kemudian proses ekstraksi dilanjutkan kembali untuk memperoleh kandungan zat aktif yang lebih maksimal.

Tujuan dari proses pengendapan ulang adalah untuk meningkatkan efisiensi ekstraksi. Prinsip dasar dari metode ini adalah dengan menggunakan pelarut secara bergantian guna melarutkan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam bahan herbal, disesuaikan dengan sifat kelarutan senyawa tersebut dalam setiap pelarut yang digunakan.

Proses ekstraksi metabolit sekunder dilakukan pada suhu ruang dan dilindungi dari paparan cahaya dengan menggunakan pelarut yang diganti secara berkala. Pada kondisi setimbang, pelarut dapat dengan mudah menembus dinding sel tumbuhan karena adanya perbedaan konsentrasi, di mana konsentrasi metabolit di dalam sel lebih tinggi sehingga menyebabkan metabolit keluar dari sel melalui proses difusi. Penggantian pelarut bertujuan untuk mencegah kejenuhan pelarut, karena jika pelarut sudah jenuh, proses pelarutan senyawa aktif akan terhambat (Fatwami dan Royani, 2023).

Kemudian dilakukan evaporasi pada suhu 50°C sampai diperoleh ekstrak kental, Variabel suhu dan lamanya proses penguapan memengaruhi kadar air; semakin tinggi suhu dan semakin lama waktu penguapan, maka kadar air yang tersisa akan semakin berkurang (Widayanti *dkk.*, 2023). Rendemen ekstrak yang diperoleh dalam penelitian ini adalah sebesar 30,57%.

Rendemen atau hasil produksi adalah perbandingan antara berat kering produk yang dihasilkan dengan berat bahan baku awal. Nilai yield yang tinggi menandakan bahwa ekstrak tersebut mengandung banyak senyawa aktif biologis. Semakin besar hasil yang diperoleh, semakin banyak pula senyawa aktif yang berhasil diekstraksi dari bahan tanaman (Senduk, Montolalu dan Dotulong, 2020).

Metode yang digunakan untuk membuat nano ekstrak yaitu metode gelas ionik, metode ini memiliki keunggulan karena prosesnya sederhana, tidak menggunakan

pelarut organik, serta memungkinkan pengendalian proses yang mudah sehingga dapat membentuk nanopartikel melalui teknik penggelselan ion. Metode gelasi ionik melibatkan proses pembentukan sambungan silang antara polielektrolit dengan pasangan ion multivalen. Proses ini sering disertai dengan kompleksasi antara polielektrolit yang bermuatan berlawanan. Ikatan sambung silang yang terbentuk akan meningkatkan kekuatan mekanis partikel yang dihasilkan (Windy dkk., 2022).

Polimer yang digunakan untuk membuat nano ekstrak yaitu Kitosan dan NaTPP sebagai bahan enkapsulasi dan penaut silang. Kitosan adalah polisakarida yang merupakan hasil deasetilasi dari kitin, senyawa yang terdapat dalam cangkang hewan krustasea seperti udang dan kepiting. Kitosan dipilih karena memiliki sifat bioaktif, biokompatibel, dan dapat terbiodegradasi. Namun, kitosan memiliki kekurangan seperti penyerapan air yang cepat, yang menyebabkan pembesaran dan membuat sistem penghantaran serta pelepasan obat menjadi kurang efektif. Oleh karena itu, ditambahkan bahan penaut silang yaitu NaTPP (Natrium Tripolifosfat) yang dapat mengurangi derajat pembengkakan (swelling) dan meningkatkan biokompatibilitas. NaTPP merupakan senyawa poli-anionik yang tidak beracun dan mampu berinteraksi dengan kitosan melalui gaya elektrostatik, sehingga membentuk ikatan silang ionik. Karena kemampuannya dalam membentuk gel secara cepat, NaTPP sering digunakan dalam pembuatan butiran dan mikrosfer kitosan. Interaksi antara kitosan dan NaTPP menghasilkan nanopartikel kitosan yang terjalin silang dan memiliki sifat biokompatibel. Setelah nano ekstrak terbentuk dilakukan pengujian transmitan dengan spektrofotometer uv-vis pada panjang gelombang 650nm, dari pengukuran yang dilakukan didapatkan hasil transmitansi dengan rerata sebesar 93,04%, hal ini menunjukkan pembentukan nanoekstrak daun cemcem telah terbentuk dengan cukup

baik. Nanoekstrak yang baik memiliki visual yang jernih serta nilai transmittansi lebih besar dari 90%.

Nilai persen transmittansi yang mendekati 100 menandakan bahwa ukuran partikel semakin kecil dengan luas permukaan yang lebih besar, sehingga memudahkan pembacaan serapan. Partikel yang kecil juga mempercepat gerakan Brown, yang mencegah sedimentasi dan membuat larutan menjadi lebih jernih (Ramadhani *dkk.*, 2021; Widayanti *dkk.*, 2023; Qonitannisa, Fadli dan Sunarno, 2020).

2. Skrining Fitokimia Ekstrak dan Nano Ekstrak Etanol 96% Daun Cemcem

Pemeriksaan fitokimia merupakan metode analisis kualitatif yang digunakan untuk mengenali jenis-jenis senyawa aktif yang terdapat dalam sampel dan membedakan komposisi kimia dari berbagai jenis tanaman. Reaksi antara metabolit sekunder dengan pereaksi dalam sampel akan menunjukkan keberadaan senyawa tertentu. Pemilihan metode skrining sangat menentukan deteksi senyawa metabolit sekunder yang ada dalam tanaman. Analisis ini penting sebagai dasar penelitian, terutama untuk tumbuhan yang belum banyak diteliti. Skrining fitokimia juga dapat dilakukan secara cepat dan efisien melalui teknik seperti reaksi warna dan pengendapan (Qonitannisa, Fadli dan Sunarno, 2020). Dari penelitian yang telah dilakukan didapatkan hasil skrining fitokimia pada sampel nano ekstrak etanol 96% daun cemcem yang positif yaitu flavonoid, tannin, fenol, dan saponin, dan yang negatif yaitu alkaloid (Mayer dan Wagner).

a. Flavonoid

Pada uji flavonoid reaksi yang terjadi yaitu terjadi perubahan warna orange, pada pemeriksaan flavonoid menggunakan reagen Mg dan 10% HCl, terlihat perubahan warna larutan dari hijau menjadi oranye sebagai tanda hasil positif. Penambahan serbuk Mg bertujuan agar gugus karbonil pada flavonoid dapat berikatan dengan Mg,

membentuk kompleks yang mempermudah reaksi selanjutnya. Sedangkan penambahan HCl berfungsi untuk mengasamkan larutan, sehingga terbentuk garam flavilium yang berwarna merah jingga sebagai indikator keberadaan flavonoid (Nurjannah *dkkl.*, 2022).

b. Tanin

Kemudian pada uji tanin terjadi perubahan warna menjadi hijau kehitaman. Perubahan warna ini terjadi karena tanin membentuk senyawa kompleks dengan FeCl_3 . Tanin memiliki banyak gugus $-\text{OH}$ yang membuatnya bersifat polar, sehingga larut dalam pelarut polar seperti metanol dan dapat terekstrak dengan baik menggunakan pelarut tersebut (Halimu, S.Sulistijowati dan Mile, 2017).

c. Fenol

Pada uji fenol, perubahan warna menjadi biru kehitaman menunjukkan adanya senyawa fenolik dalam sampel. Fenol bereaksi dengan FeCl_3 membentuk kompleks berwarna seperti hijau, ungu, merah, biru, cokelat, atau hitam pekat. Variasi warna ini terjadi karena perbedaan jumlah dan posisi gugus hidroksil pada senyawa fenolik (Syamsudin, Alimuddin dan Sitorus, 2022).

d. Saponin

Pada uji saponin, terbentuknya busa menunjukkan adanya senyawa saponin dalam sampel. Saponin adalah senyawa glikosida kompleks yang aktif di permukaan, sangat larut dalam air, dan dapat dengan mudah diidentifikasi berdasarkan busa yang terbentuk saat dikocok. Senyawa ini dibuat dengan menggabungkan senyawa hidroksil organik dengan gula, dan ketika dihidrolisis, ia terurai menjadi gula (glikon) dan non-gula (aglikon). Karena sifat saponin, ia dikenal sebagai surfaktan alami yang bertindak seperti sabun atau deterjen. Selain itu, dapat diperoleh secara efektif dari tanaman

melalui metode ekstraksi yang tepat., seperti maserasi atau sokletasi, tergantung pada jenis pelarut dan karakteristik bahan tumbuhan yang digunakan.

e. Alkaloid

Hasil negatif pada uji alkaloid ditunjukkan dengan tidak adanya endapan putih pada pereaksi Mayer dan tidak terbentuknya endapan coklat kemerahan pada pereaksi Wagner. Ketidakterbentukan endapan ini menunjukkan tidak adanya interaksi antara pereaksi dengan senyawa alkaloid dalam sampel. Dalam kondisi positif, pereaksi seperti Mayer, Wagner, atau Dragendorff biasanya membentuk endapan karena adanya ikatan antara atom nitrogen pada alkaloid dengan ion dari pereaksi. Oleh karena itu, tidak munculnya endapan mengindikasikan bahwa ekstrak tidak mengandung senyawa alkaloid (Putri dan Lubis, 2022).

3. Uji Aktivitas Antioksidan Nano Ekstrak Etanol 96% Daun Cemcem

Uji aktivitas antioksidan nano ekstrak etanol 96% daun cemcem dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan metode DPPH. Metode DPPH digunakan untuk mengukur kemampuan antioksidan dalam sampel berdasarkan kemampuannya mereduksi radikal bebas DPPH. Radikal bebas DPPH yang berwarna ungu akan mengalami perubahan warna menjadi kuning pucat setelah bereaksi dengan senyawa antioksidan, dan perubahan ini dapat diamati melalui penurunan nilai absorbansi pada panjang gelombang tertentu (Rahmawati, Muflihunna dan Sarif, 2016).

Sebelum melakukan uji aktivitas antioksidan, tahap awal yang dilakukan adalah menentukan panjang gelombang maksimum (λ_{max}), yang bertujuan untuk menemukan panjang gelombang dengan tingkat serapan tertinggi. Berdasarkan hasil pengukuran, diperoleh bahwa panjang gelombang maksimum berada pada 516 nm dengan nilai absorbansi sebesar 0,4366. Panjang gelombang ini kemudian dijadikan acuan dalam mengukur absorbansi sampel pada uji aktivitas antioksidan. Pengukuran sampel

dilakukan pada panjang gelombang maksimum agar kepekaannya lebih maksimal dan meminimalkan kesalahan karena pada panjang gelombang tersebut perubahan absorbansi untuk setiap satuan konsentrasi adalah yang paling besar. Hasil penentuan panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer UV-Vis menunjukkan bahwa serapan maksimum DPPH terjadi pada panjang gelombang 516 nm (Masykuroh dan Abna, 2022).

Selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas antioksidan pada larutan konsentrasi seri 0, 30, 60, 90, 120, dan 150 ppm, setelah didapatkan % Inhibisi Dari hubungan kurva antara konsentrasi (ppm) dan tingkat penghambatan pada sampel nano ekstrak etanol daun semsem, diperoleh nilai R^2 sebesar 0,9874. Nilai ini menunjukkan bahwa kurva tersebut memiliki karakteristik linier. Semakin mendekati angka 1 nilai koefisien regresinya, maka semakin kuat dan baik hubungan antara konsentrasi dengan tingkat penghambatan (Martiningsih *dkk.*, 2016).

Setelah diperoleh persamaan regresi linier antara konsentrasi sampel dan persen inhibisi, kemudian dihitung nilai IC_{50} yang didapat sebesar 200,88 ppm dengan kategori sangat lemah. Nilai 200,88 ppm ini menunjukkan konsentrasi sampel yang mampu menghambat 50% radikal bebas DPPH. Rendahnya aktivitas ini dapat disebabkan oleh komposisi senyawa bioaktif dalam ekstrak yang terbatas, terutama karena tidak terdeteksinya alkaloid, yang diketahui memiliki kontribusi terhadap mekanisme penangkapan radikal bebas.

Meskipun proses nanoformulasi telah mencapai efisiensi >90% dan secara teoritis mampu meningkatkan kelarutan serta ketersediaan hayati senyawa aktif, namun tidak ada keberadaan senyawa bioaktif alkaloid dan kadar seperti flavonoid, fenol, atau tanin dalam kadar yang belum optimal kemungkinan masih menjadi faktor pembatas utama. Faktor iklim dan kelembaban tanah juga dapat mempengaruhi hasil dari

rendahnya aktivitas antioksidan sampel, Kelembapan udara memengaruhi tanaman dengan membantu mencegah dehidrasi kutikula dan mengurangi stres air. Tingkat kelembapan yang tinggi dapat menyebabkan penurunan kandungan flavonoid total pada tanaman. Faktor lingkungan, termasuk kondisi stres, memainkan peran penting dalam sintesis metabolit sekunder. Salah satu pemicu stres lingkungan tersebut adalah kelembapan tanah. Ketika kelembapan tanah tinggi, kadar flavonoid dan aktivitas antioksidan cenderung meningkat, sedangkan kelembapan tanah yang rendah umumnya menghasilkan kandungan flavonoid dan kapasitas antioksidan yang lebih rendah (Nintowati, Solichatun dan Suratman). Meskipun demikian, hasil ini tetap menunjukkan adanya potensi aktivitas antioksidan, walaupun pada tingkat yang rendah.