

Efektivitas Ekstrak-Campuran Simplisia Dibandingkan Dengan Campuran Ekstrak Berdasarkan Aktivitas Antioksidan dan Kapasitas Antioksidan

Riwayat artikel:

Diterima: 4 Juli 2024

Direvisi: 5 Juli 2024

Diterbitkan: 6 Juli 2024

Zaldy Rusli¹, Siti Mahyuni¹, Siti Maisaroh¹**Kata kunci:***antioksidan;**campuran ekstrak;**DPPH;**ekstrak campuran*

Copyright: © 2023 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Tanaman Indonesia banyak yang berpotensi sebagai antioksidan. Untuk mendapatkan suatu bahan yang kaya akan antioksidan, maka tumbuhan tersebut dibuat menjadi ekstrak, untuk selanjutnya diproses lebih lanjut. Tujuan dari penelitian ini untuk membandingkan efektivitas dari 2 macam ekstrak, yaitu ekstrak dari campuran 2 simplisia dan kombinasi dari ekstrak masing-masing simplisia. Parameter yang diukur adalah aktivitas antioksidan. Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode pengukuran penangkapan radikal bebas 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi. Berdasarkan aktivitas antioksidan didapatkan aktivitas antioksidan dari ekstrak campuran (IC₅₀ 67,059 ppm) lebih baik dibandingkan kombinasi ekstrak (92,419). Hasil ini menunjukkan bahwa efektivitas produksi akan meningkat, karena hanya satu tahap, yaitu mencampurkan beberapa simplisia untuk dijadikan ekstrak akan lebih efektif jika dibandingkan ekstraksi beberapa simplisia (beberapa tahapan) untuk kemudian dicampurkan..

Radikal bebas yang ada pada tubuh manusia terbentuk secara alami secara terus menerus, adanya radikal bebas dipercaya sebagai penyebab sejumlah penyakit kardiovaskuler, neurodegeneratif, dan kanker jenis tertentu [1]. Permasalahan tersebut dapat dicegah dengan senyawa-senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan karena dapat menunda, memperlambat, atau menghambat proses oksidasi. Senyawa yang memiliki antioksidan dapat diperoleh dari bahan alam.

Senyawa yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan dapat diekstraksi dari bahan alam. Hasil yang diperoleh berupa ekstrak kasar yang berwujud cair, kental maupun kering. Ekstrak yang berbentuk cair masih mengandung banyak pelarut, sehingga perlu dilakukan proses pemekatan, yaitu mengurangi

jumlah pelarut. Proses pemekatan yang dilakukan dengan pemanasan berpotensi dapat merusak senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antioksidan, seperti senyawa flavonoid yang dapat rusak pada suhu diatas 50 °C [2]. Proses pemekatan juga dapat dilakukan tanpa proses pemanasan seperti teknik freeze drying, akan tetapi teknik tersebut cocok untuk digunakan jika ekstraksi dilakukan dengan pelarut air, sedangkan jika menggunakan pelarut organik dapat menyebabkan perubahan positif dan negatif baik pada proses maupun karakteristik produk akhir [3]. Ekstraksi menggunakan pelarut air kurang sesuai untuk mengekstraksi senyawa antioksidan, karena aktivitas antioksidan yang dihasilkan lebih rendah dibandingkan pelarut etanol [4,5], selain itu ekstrak air juga memiliki potensi lebih cepat rusak karena

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan, Bogor, Jawa Barat Java 16153, Indonesia

Email: zaldy.rusli@unpak.ac.id

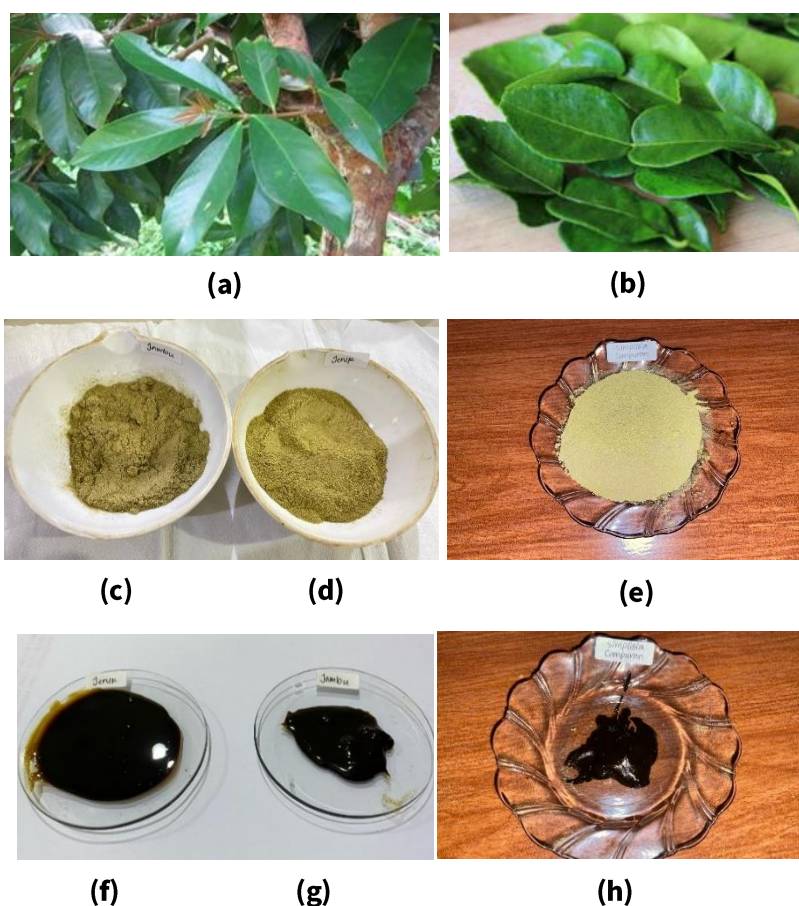
kandungan air dalam ekstrak dapat menyebabkan pertumbuhan mikro organisme.

Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan efektivitas dari 2 macam ekstrak, yaitu ekstrak dari campuran 2 simplisia dan campuran dari ekstrak masing-masing simplisia. Ekstrak yang dicampurkan atau dikombinasikan dimaksudkan untuk meningkatkan aktivitas antioksidan, karena ekstrak beberapa tanaman yang disatukan memiliki aktivitas yang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak tanaman tunggal, seperti aktivitas antioksidan [6–8] dan aktivitas antibakteri [9,10]. Akan tetapi, adanya pemanasan pada proses pemekatan pada masing-masing ekstrak dapat menurunkan aktivitas antioksidan dari masing-masing ekstrak (Kurniati 2019). Hal ini dapat diperbaiki dengan mencampurkan terlebih dahulu simplisia untuk

kemudian diekstraksi, sehingga proses pembuatan ekstrak menjadi lebih singkat dan efisien.

Hasil dan Pembahasan

Simplisia daun jambu bol dan daun jeruk purut memiliki karakteristik warna hijau yang berasal dari klorofil pada daun (**Gambar 1**). Jika dibandingkan dengan bahan baku, serbuk simplisia yang dihasilkan memiliki warna hijau yang lebih muda. Klorofil bersifat tidak stabil terhadap panas, oksigen, cahaya dan pH [12]. Proses pengeringan pada daun dapat mengakibatkan pigmen klorofil terdegradasi. Setelah diekstraksi dan mengalami proses pengeringan, warna hijau dari simplisia berubah menjadi kuning kecoklatan. Dutta et al. (2009) menyebutkan bahwa penurunan klorofil akibat pemanasan dapat merubah warna hijau menjadi kuning.



Gambar 1. Bahan baku, serbuk simplisia dan ekstrak. (a) daun jambu bol; (b) daun jeruk purut; (c) simplisia daun jambu bol; (d) simplisia daun jeruk purut; (e) campuran simplisia; (f) ekstrak daun jambu bol; (g) ekstrak daun jeruk purut; dan (h) ekstrak campuran

Rendemen simplisia daun jeruk purut lebih tinggi bila dibandingkan daun jambu bol (**Tabel 2**), hal ini mengindikasikan bahwa jumlah pengotor pada tanaman jambu bol lebih banyak dibandingkan daun jeruk purut. Setelah diekstraksi, nilai rendemen ekstrak berbanding terbalik, dimana rendemen ekstrak daun jeruk purut lebih kecil dari daun jambu bol. Rendemen ekstrak memberikan gambaran banyaknya senyawa yang dapat terlarut di dalam pelarut selama proses ekstraksi. Hal yang dapat mempengaruhi rendemen ekstrak diantaranya adalah senyawa-senyawa yang dapat terlarut dalam pelarut ekstraksi dan proses pengeringan ekstrak. Parameter-parameter yang terlibat pada proses pengeringan ekstrak, yaitu suhu dan waktu pengeringan ekstrak dibuat konstan, hal ini dimaksudkan agar tingkat penguraian senyawa dalam ekstrak akibat suhu dan lama pengeringan cenderung seragam. Sementara itu, senyawa-senyawa yang terkandung di dalam masing-masing ekstrak tidak dapat diseragamkan.

Kadar air masing-masing bahan simplisia lebih kecil dari kadar air ekstrak (**Tabel 2**). Hal ini disebabkan karena simplisia merupakan serbuk kering, sedangkan ekstrak yang diperoleh dalam bentuk ekstrak kental yang memiliki kadar air yang lebih tinggi daripada bentuk serbuk kering. Hal yang sama juga terlihat dari nilai kadar abu, dimana diperoleh nilai kadar abu simplisia lebih kecil daripada kadar abu ekstrak (**Tabel 2**), yang dapat diartikan bahwa terdapat penambahan sejumlah mineral yang berasal dari pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi. Pelarut yang digunakan adalah etanol 70% yang berasal dari pengenceran etanol pro analisis menggunakan akuadest. Akuadest diduga menjadi sumber mineral, karena akuadest dihasilkan dari proses penyulingan air mineral dan masih mengandung sejumlah mineral, sehingga sebaiknya pengenceran dilakukan menggunakan akuademin.

Berdasarkan **Tabel 3**, campuran ekstrak memiliki nilai IC₅₀ 90,60 mg/L yang lebih rendah dari nilai IC₅₀ masing-masing ekstrak yaitu 126,09 mg/L dan 118,92 mg/L. Hasil tersebut menunjukkan bahwa campuran ekstrak memiliki aktivitas antioksidan yang lebih baik

dibandingkan ekstrak tunggal, karena semakin tinggi nilai IC₅₀ maka aktivitas akan semakin rendah, begitupun sebaliknya. Hal ini sesuai dengan dugaan awal bahwa ekstrak beberapa tanaman yang disatukan memiliki aktivitas antioksidan yang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak tanaman tunggal.

Efektivitas produksi ekstrak campuran diukur menggunakan nilai IC₅₀ dan kapasitas antioksidan. Hasil menunjukkan bahwa nilai IC₅₀ campuran ekstrak (90,60 mg/L) lebih tinggi dibandingkan ekstrak campuran (64,91 mg/L), yang mengindikasikan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak campuran lebih baik dibandingkan campuran ekstrak. Jika dilihat berdasarkan parameter kapasitas antioksidan, kapasitas antioksidan campuran ekstrak (0,55 mmol/g) lebih kecil dibandingkan ekstrak campuran (0,77 mmol/g), yang menunjukkan bahwa dengan jumlah yang sama, ekstrak campuran dapat menghambat radikal bebas yang lebih tinggi dan lebih baik (0,77 mmol radikal bebas) dibandingkan campuran ekstrak (0,55 mmol radikal bebas). Hal ini disebabkan karena pada campuran ekstrak mengalami proses pemanasan dua kali yaitu pada masing-masing ekstrak sehingga dapat menyebabkan perubahan pada senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan, sedangkan ekstrak campuran hanya mengalami satu kali proses pemanasan. Pemanasan menggunakan suhu tinggi akan menyebabkan berkurangnya senyawa yang dapat berperan sebagai antioksidan [14].

Nilai IC₅₀ merupakan parameter umum yang digunakan untuk menunjukkan aktivitas antioksidan dalam suatu bahan. Nilai IC₅₀ dinyatakan dalam satuan konsentrasi ekstrak dalam larutan, yaitu jumlah ekstrak dalam larutan ekstrak (mg/L). Nilai tersebut memberikan informasi terkait dengan potensi dari larutan ekstrak dalam menghambat radikal bebas, dan belum dapat memberikan gambaran kemampuan dari ekstrak itu sendiri. Nilai IC₅₀ suatu bahan yang sama bisa berbeda, karena tergantung dari jumlah radikal bebas yang diujikan, dimana jumlah radikal bebas dapat diketahui dari

volume dan konsentrasi radikal bebas yang digunakan. Hal ini dibuktikan dengan beberapa hasil penelitian, di antaranya adalah penelitian [15] menggunakan 1 mL DPPH 0,1 mM yang menyatakan bahwa IC50 dari vitamin C adalah sebesar 2,058 mg/L, penelitian [16] yang menggunakan 1 mL DPPH 0,4 mM menyatakan bahwa IC50 dari vitamin C adalah sebesar 7,28 mg/L, penelitian [17] menggunakan 1 mL DPPH 1 mM menghasilkan nilai IC50 dari vitamin C adalah sebesar 5,08 mg/L.

Molyneux [18] menyatakan bahwa reaksi antara DPPH sebagai radikal bebas dan senyawa antioksidan bersifat stoikiometri, sehingga hasil dapat dinyatakan dalam jumlah DPPH yang dapat bereaksi dengan 1 molekul antioksidan; sedangkan, jika bobot molekul senyawa antioksidan sulit diketahui, seperti pada ekstrak, maka hasil dapat dinyatakan dalam jumlah molekul DPPH (mol) per gram ekstrak. Parameter yang dapat memberikan gambaran kemampuan tiap gram ekstrak untuk menghambat sejumlah radikal bebas dapat dinyatakan dalam istilah kapasitas antioksidan [19].

Tabel 1. Karakterisasi Simplisia dan Ekstrak

Parameter	Daun		Campuran Ekstrak	Ekstrak Campuran
	Jambu bol	Jeruk Purut		
Rendemen Simplisia (%)	28.30	30,00	-	-
Rendemen Ekstrak (%)	25,40 ± 0,42	21,75 ± 1,63	-	19,95 ± 0,49
Kadar Air Simplisia (%)	7.81 ± 1,28	8,99 ± 0,14	-	-
Kadar Air Ekstrak (%)	8,28 ± 0,21	9,02 ± 1,27	6,80 ± 0,69	8,58 ± 0,42
Kadar Abu Simplisia (%)	5,71 ± 0,13	6,05 ± 0,60	-	-
Kadar Abu Ekstrak (%)	6,3 ± 0,28	6,13 ± 0,16	8,41 ± 0,28	8,30 ± 0,80

Tabel 2. Aktivitas Antioksidan dan Kapasitas Antioksidan

Jenis sampel	IC50	Kapasitas antioksidan
	(mg/L)	(mmol radikal bebas/g ekstrak)
Ekstrak Daun Jambu bol tunggal	126,09 ± 2,03	0,40 ± 0,01
Ekstrak Daun jeruk purut tunggal	118,92 ± 0,47	0,42 ± 0,002
Campuran ekstrak	90,60 ± 1,43	0,55 ± 0,01
Ekstrak campuran simplisia	64,91 ± 0,30	0,77 ± 0,003

Kesimpulan

Aktivitas antioksidan maupun kapasitas antioksidan suatu bahan akan lebih baik apabila dikombinasikan dari beberapa bahan. Kombinasi beberapa bahan tersebut sebaiknya dilakukan pada bahan baku (simplisia) dan bukan pada ekstrak. Hal ini dapat meningkatkan produktivitas produksi, dari beberapa tahap ekstraksi dari masing-masing bahan untuk kemudian dicampurkan, menjadi satu kali ekstraksi dari bahan-bahan yang dicampurkan.

Bahan dan Metode

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah spektrofotometer UV-VIS Jasco, timbangan analitik AND®, Rotary evaporator Buchi®, ayakan 40 mesh dan alat-alat gelas pyrex. Bahan utama yang digunakan etanol p.a (Sigma), 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) serta reagen-reagen lain dari Sigma.

Pembuatan Simplisia

Masing-masing tanaman dibuat secara terpisah. Bahan sebanyak 3 kg, disortasi basah dan ditimbang beratnya sebagai berat basah, dirajang daunnya untuk memperkecil ukuran, lalu dijemur hingga kering di bawah sinar matahari, dilakukan sortasi kering, dan masing-masing simplisia yang sudah kering diblender dan di ayak menggunakan ayakan no. 40 lalu ditimbang sebagai berat serbuk simplisia kering.

Pembuatan Ekstrak

Simplisia yang diperoleh kemudian dibuat tiga jenis ekstrak, yaitu ekstrak Tunggal daun jambu bol, ekstrak Tunggal daun jeruk purut dan ekstrak dari

campuran simplisia (**Tabel 1**) dengan dua pengulangan. Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 70% dengan jumlah bahan dan pelarut seperti pada **Tabel 1**. Dilakukan pengadukan setiap 6 jam selama 24 jam, hasil ekstraksi di saring menggunakan kain batis, filtrat dan residu yang didapat di pindahkan pada tempat yang berbeda. Residu yang didapat diekstraksi kembali (re-maserasi) dua kali dengan pelarut etanol sebanyak 500 ml dilakukan maserasi yang sama seperti tahap pertama. Filtrat hasil maserasi dikumpulkan dalam satu wadah, kemudian dipisahkan menggunakan rotary evaporator dengan sistem 20/40/60, yaitu pada suhu 60 °C, tekanan 175 mbar, selama 2 jam. Ekstrak kental yang diperoleh disimpan untuk digunakan untuk pengujian lebih lanjut.

Tabel 3. Komposisi bahan dan pelarut

	Simplisia Daun jambu bol	Simplisia Daun jeruk purut	Campuran Simplisia
Jumlah Bahan	200 gram	200 gram	50 gram simplisia daun jambu bol 50 gram simplisia daun jeruk purut
Jumlah Pelarut	2000 mL	2000 mL	1000 mL

Karakterisasi Simplisia dan Ekstrak

Simplisia dan ekstrak yang diperoleh dikarakterisasi dengan parameter rendemen, kadar air dan kadar abu. Rendemen dihitung dengan membandingkan jumlah produk terhadap jumlah bahan baku. Penetapan kadar air dan kadar abu dilakukan duplo dan menggunakan metode gravimetri hingga bobot konstan.

Uji antioksidan dengan metode DPPH

Sampel campuran ekstrak diperoleh dengan mencampurkan 12,7 g ekstrak daun jambu dan 10,875 g ekstrak daun jeruk yang setara dengan 50 g simplisia masing-masing (berdasarkan data rendemen). Sampel ekstrak tunggal, campuran ekstrak dan ekstrak campuran selanjutnya ditimbang dengan jumlah yang sama untuk dibuat larutan induk sampel dengan konsentrasi 1000 mg/L, yang selanjutnya akan digunakan untuk penentuan

aktivitas antioksidan menggunakan spektrofotometer sinar tampak. Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan DPPH 1 mM sebanyak 1 mL yang ditambahkan pada masing-masing larutan uji. Sampel diencerkan sedemikian rupa dan dibuat menjadi deret hingga nilai penghambatan DPPH (Inhibition Concentration/IC) melebihi 50%. Hasil yang diperoleh selanjutnya dihitung IC50 dengan bantuan persamaan kurva kalibrasi dari hubungan antara konsentrasi dan IC. Pengujian dilakukan dengan dua pengulangan.

Daftar Pustaka

1. Lobo V., A. Patil, A. Phatak, and N. Chandra. Free Radicals, Antioxidants and Functional Foods: Impact on Human Health. *Pharmacogn Rev*, 2010. 4(8): p. 118–126.
2. Ulhusna F.A. Profil Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air Daun Tegetes Erecta L. *Jurnal Jeumpa*, 2022. 9(1): p. 690–694.
3. Stella V.J., K. Umprayn, and W.N. Waugh. Development of Parenteral Formulations of Experimental Cytotoxic Agents. I.

- Rhizoxin (NSC-332598). *Int J Pharm*, 1988. 43(3): p. 191–199.
4. Febryanto Ginting A., E. Suryanto, and L. Irma Momuat. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air Dan Etanol Dari Empelur Batang Sagu Baruk (*Arenga Microcarpha*). *Chem. Prog*, 2015. 8(2): p. 48.
 5. Padmawati I.A.G., I.K. Suter, and N.M.I. Hapsari Arihantana. Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Eceng Padi (*Monochoria Vaginalis* Burm F. C. Presel.). *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 2020. 9(1): p. 81.
 6. Permata B.R., Iswandi, and T.N. Saifullah. Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Batang Pepaya (*Carica Payaya* L) Dan Ekstrak Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera* L.) Dengan Metode DPPH. *Medical Sains: Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 2023. 8(2): p. 487–500.
 7. Zamzam M.Y., Y. Fayla, and Y.O. Anggraeni. Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus Polyrhizus*) Dan Ekstrak Kunyit (*Curcuma Longa* L.) Dengan Metode DPPH. *Medical Sains: Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 2023. 8(1): p. 85–96.
 8. Douw D.D., and T.S. Wardani. Uji Antioksidan Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Alpukat (*Persea Americana* Mill.) Dan Daun Jambu Biji (*Psidium Guajava* L.) Metode DPPH Dan FRAP. *MEDFARM: Jurnal Farmasi Dan Kesehatan*, 2023. 12(1): p. 93–104.
 9. Pratama D., A. Supriyadi, and B. Raharjo. Efektivitas Kombinasi Ekstrak Bahan Herbal (Mengkudu, Pepaya, Kunyit) Terhadap Daya Hambat Pertumbuhan *Aeromonas Hydrophila* Secara In Vitro. *J Biol (Denpasar)*, 2017. 6(2): p. 7–16.
 10. Anggraini V., and M. Masfufatun. Efektivitas Kombinasi Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum*) Dan Ekstrak Biji Alpukat (*Persea Americana*) Dalam Menghambat Pertumbuhan *Candida Albicans*. *Jurnal Kimia Riset*, 2017. 2(2): p. 86.
 11. Kurniati D. Kajian Pengaruh Pemanasan Terhadap Aktivitas Antioksidan Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia*) Sebagai Alternatif Sumber Pangan Fungsional. *Jurnal Teknologi Pangan*, 2019. 3(1): p. 20–25.
 12. Indrasti D., N. Andarwulan, E. Hari Purnomo, and N. Wulandari. Suji Leaf Chlorophyll: Potential and Challenges as Natural Colorant. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 2019. 24(2): p. 109–116.
 13. Dutta S., S. Mohanty, and B.C. Tripathy. Role of Temperature Stress on Chloroplast Biogenesis and Protein Import in Pea. *Plant Physiol*, 2009. 150(2): p. 1050–1061.
 14. Putu Tara Hradaya K., and A. Husni. Pengaruh Suhu Ekstraksi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanolik *Eucheuma Spinosum*. *J Pengolah Has Perikan Indones*, 2021. 24(1): p. 1–10.
 15. Agustiarini V., and D.P. Wijaya. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol-Air (1:1) Bunga Rosella (*Hibiscus Sabdariffa* L.) Dengan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil). *Jurnal Penelitian Sains*, 2022. 24(1): p. 29.
 16. Dan I., and M. Ulfah. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Karika (*Carica Pubescens*) Dengan Metode Dpph Beserta Identifikasi Senyawa Alkaloid, Fenol Dan Flavonoid. *Prosiding Seminar Nasional “Peluang Herbal Sebagai Alternative Medicine,”* 2017.
 17. Rusli Z., B.L. Sari, N.F. Utami, and S. Sabila. Optimization Of Microwave-Assisted Extraction Of Flavonoids From Binahong (*Anredera Cordifolia*) Leaves Using Respon Surface Methodology. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 2020. 7(3): p. 10–19.
 18. Molyneux P. The Use of the Stable Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. 2004. 26.
 19. Pisoschi A.M., A. Pop, C. Cimpeanu, and G. Predoi. Antioxidant Capacity Determination in Plants and Plant-Derived Products: A Review. *Oxid Med Cell Longev*, 2016. 2016: p. 9130976.