

Penetapan Kadar Fenolik Total dan Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi dari Ekstrak Etanol Daun Cempedak (*Artocarpus integer*) dengan Metode DPPH

Muhammad Ikhwan Rizki^{1,2}, Anna Khumaira Sari^{1,2}, Dewi Kartika², Amalia Khairunnisa² dan Normaidah²

¹ Program Studi Farmasi, FMIPA, Universitas Lambung Mangkurat, Banjar Baru, Indonesia

² Program Studi Pendidikan Profesi Apoteker, FMIPA, Universitas Lambung Mangkurat, Banjar Baru, Indonesia

Korespondensi: Muhammad Ikhwan Rizki
Email: ikhwanrizki@ulm.ac.id

Submitted: 19-03-2022, Revised: 23-10-2022, Accepted: 22-12-2022

ABSTRAK: Daun cempedak (*Artocarpus integer*) dimanfaatkan secara tradisional oleh masyarakat Kalimantan Selatan dalam pengobatan. Golongan fenolik terkandung dalam ekstrak daun cempedak dan memiliki kemampuan sebagai antioksidan. Fraksi dari ekstrak daun cempedak belum pernah ditetapkan kadar fenolik total dan aktivitas antioksidannya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui fraksi dari ekstrak daun cempedak yang mengandung kadar fenolik dan aktivitas antioksidan tertinggi. Penelitian dimulai dengan pengeringan daun segar menggunakan lemari pengering, pembuatan serbuk simplisia, proses ekstraksi secara maserasi, pengeringan ekstrak dengan lemari pengering, dan proses fraksinasi dengan pelarut n-heksan, etil asetat dan aquadest. Penetapan kadar fenolik total dapat dilakukan dengan reagen Folin-Ciocalteu dan menggunakan baku pembanding asam galat. Aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode DPPH berdasarkan nilai IC_{50} dan dengan pembanding kuersetin. Kadar fenolik total pada fraksi n-heksan $9,352 \pm 0,113\%$ b/b, fraksi etil asetat $12,595 \pm 0,415\%$ b/b, dan fraksi aquadest $9,992 \pm 0,485\%$ b/b ekuivalen asam galat. Fraksi n-heksan, etil asetat, dan aquadest masing-masing memiliki nilai IC_{50} sebesar $89,192 \pm 2,91$ bpj (kuat), $64,754 \pm 2,803$ bpj (kuat), dan $82,247 \pm 23,034$ bpj (kuat). Kesimpulan dari penelitian ini bahwa fraksi etil asetat memiliki kadar fenolik total tertinggi dan aktivitas antioksidan paling kuat diban-dingkan fraksi n-heksan dan fraksi aquadest dari ekstrak daun cempedak.

Kata kunci: *Artocarpus integer*; antioksidan; cempedak; DPPH; total fenol

ABSTRACT: Cempedak (*Artocarpus integer*) leaves are traditionally used by people in South Kalimantan as medicine. The phenolic group contained in cempedak leaf extract has known as an antioxidant. The fraction of cempedak leaf extract has never been determined for total phenolic content and antioxidant activity. This study aimed to determine the fraction of cempedak leaf extract that contains the highest levels of phenolic and antioxidant activity. The study started with drying of fresh leaves using a drying cabinet, simplicia powder preparation, maceration extraction, extract drying, and fractionation with n-hexane, ethyl acetate and aquadest as solvents. Determination of total phenolic content was obtained with Folin-Ciocalteu reagent and gallic acid as a standard for comparison. Antioxidant activity was measured using the DPPH method based on the IC_{50} value and comparison with quercetin. The total phenolic content of the n-hexane, ethyl acetate and aquadest fraction were $9.352 \pm 0.113\%$ w/w, ethyl acetate fraction $12.595 \pm 0.415\%$ w/w, and aquadest fraction $9.992 \pm 0.485\%$ w/w equivalent gallic acid, respectively. The n-hexane, ethyl acetate, and aquadest fractions showed IC_{50} values of 89.192 ± 2.91 ppm (strong), 64.754 ± 2.803 ppm (strong), and 82.247 ± 23.034 ppm (strong), respectively. The conclusion of this study was that the ethyl acetate fraction had highest total phenolic content and strongest antioxidant activity compared to n-hexane and aquadest fraction from cempedak leaf extract.

Keywords: *Artocarpus integer*; antioxidant; cempedak; DPPH; phenolic total

1. Pendahuluan

Indonesia merupakan negara dengan keanekaragaman hayati yang sangat tinggi. Salah satunya adalah jenis tanaman yang dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional, yaitu sekitar 9.600 jenis tanaman yang ditemukan memiliki khasiat obat [1]. Tanaman yang sering dimanfaatkan secara tradisional oleh masyarakat di Kalimantan Selatan adalah daun cempedak (*Artocarpus integer*). Secara empiris daun cempedak digunakan masyarakat Kalimantan sebagai antidiabetes, antihipertensi, penghilang flek, dan bedak dingin pada wajah [2]. Senyawa yang terkandung pada daun cempedak adalah flavonoid, fenol, dan heteriflavin C, yang merupakan senyawa fenolik [3]. Tanaman yang memiliki kandungan fenolik juga diketahui berkhasiat sebagai antioksidan [4]. Penelitian daun cempedak telah dilakukan uji kadar fenol total yang didapatkan pada ekstrak yaitu $37,20 \pm 2,2\%$ b/b ekuivalen asam galat dan antioksidan pada ekstrak didapatkan nilai IC_{50} 52,7706 bpj dengan kategori kuat [3]. Penetapan kadar flavonoid total pada ekstrak kering daun cempedak diketahui sebesar $1,283 \pm 0,032\%$ b/b ekuivalen kuersetin [5].

Fenolik memiliki kemampuan antioksidan yang kuat dan dapat bertindak sebagai penetralisir radikal bebas yang mengakibatkan rusaknya sel-sel dalam tubuh [6]. Radikal bebas merupakan zat kimia yang dapat merusak sel tubuh karena memiliki sifat yang tidak stabil [7]. Bahaya akibat radikal bebas yaitu penuaan dini hingga penyakit seperti gangguan fungsi hati, jantung, kanker, katarak, dan diabetes [8]. Penelitian ini melibatkan fraksinasi dengan pelarut yaitu n-heksan, etil asetat dan *aquadest*. Fraksinasi dengan 3 pelarut bertujuan untuk menarik senyawa non polar pada pelarut n-heksan, senyawa semi polar pada pelarut etil asetat dan senyawa polar pada pelarut *aquadest*. Penelitian ini berkontribusi dalam menetapkan kadar fenolik total dan aktivitas antioksidan dari fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi *aquadest* pada ekstrak etanol daun cempedak (*Artocarpus integer*).

2. Bahan dan metode

2.1. Alat dan bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat-alat gelas (Pyrex®Iwaki Glass), ayakan mesh No.20, oven (Memmert), lemari pengering, mikro-pipet (Socorex), blender, neraca analitik (Ohaus, Kern ALJ), maserator, batang pengaduk, corong kaca, corong pisah, cawan porselen, waterbath (SMIC), propipet, rak tabung reaksi, tabung reaksi (Iwaki Glass), spektrofotometer UV-Vis (Perkin Elmer UV/VIS lambda 365), hot plate, magic com, gunting, dan chamber KLT (6x10 cm).

Bahan yang digunakan pada penelitian kali ini adalah daun *Artocarpus integer* (*A. integer*), etanol 96% (Merck), plat KLT silika gel GF254 (Sigma-Aldrich), reagen $FeCl_3$ (Sigma-Aldrich), etanol p.a (Merck), DPPH (Merck), Na_2CO_3 (Merck), kuersetin (Sigma-Aldrich), *aquadest* (Eralika), n-heksan (Sigma-Aldrich), etil asetat (Sigma-Aldrich), kertas saring (Eralika), aluminium foil (Total Wrap), asam galat (Merck), dan reagen Folin-Ciocalteu 5% (Merck).

2.2. Metode penelitian

2.2.1. Preparasi sampel daun *A.integer*

Sampel daun *A.integer* diambil di Desa Pengaron, Kabupaten Banjar, Kalimantan Selatan pada September 2021. Daun *A.integer* dikumpulkan, disortasi basah dan dicuci dengan air mengalir. Daun *A.integer* dirajang dan dikeringkan menggunakan lemari pengering pada suhu 50°C. Setelah kering, sortasi kering dilakukan untuk memisahkan benda-benda asing. Kemudian proses penghalusan dengan blender dilakukan sampai terbentuk serbuk kasar dan diayak dengan pengayak mesh No. 20. Serbuk yang diperoleh dibungkus dan di-simpan [9].

2.2.2. Pembuatan ekstrak etanol daun *A.integer*

50 gram simplisia daun *A.integer* ditimbang lalu dimaserasi dengan etanol 96% (1:10). Sampel diaduk setiap 8 jam sekali dan disaring pelarutnya setiap 1x24 jam. Ekstraksi dilakukan selama 3x24 jam dengan 3 kali replikasi. Ekstrak

cair diuapkan dengan lemari pengering (ukuran tinggi 2 meter dengan lebar 1,5 meter, dilengkapi blower). Ekstrak cair diletakkan diatas loyang dengan ukuran lebar 60 cm dan panjang 100 cm pada suhu 50°C hingga didapatkan ekstrak kering selama 4x24 jam. Ekstrak yang dihasilkan berupa ekstrak kering [10].

2.2.3. Pembuatan fraksi daun *A.integer*

Ekstrak kering daun *A.integer* ditimbang sebanyak 2,5 gram dan disuspensikan dengan *aquadest* 25 mL (suspensi ekstrak), ekstrak tidak dapat terlarut sempurna karena proses ekstraksi menggunakan pelarut etanol yang memiliki kelarutan berbeda dengan *aquadest*. Suspensi ekstrak kemudian difraksi dengan pelarut n-heksan 100 mL menggunakan corong pisah, sehingga terbentuk 2 lapisan. Fraksi n-heksan dipisahkan, kemudian suspensi ekstrak difraksi kembali dengan pelarut yang sama. Fraksinasi menggunakan n-heksan tersebut dilakukan sebanyak 5 kali. Pada hasil fraksinasi ke-6, dilakukan uji KLT yang menunjukkan tidak terdapat bercak noda, sehingga fraksinasi selesai pada tahapan kelima. Lapisan yang tidak larut n-heksan kemudian difraksinasi menggunakan etil asetat dengan perlakuan yang sama seperti fraksinasi sebelumnya. Fraksinasi menggunakan etil asetat dilakukan sebanyak 5 kali. Lapisan yang tidak larut etil asetat dipisahkan kembali dengan *aquadest*. Fraksi n-heksan, etil asetat, dan *aquadest* masing-masing dipekatkan menggunakan *waterbath* hingga diperoleh fraksi kental [10].

2.2.4. Penetapan kadar fenolik total

a. Penentuan panjang gelombang maksimum asam galat.

Reagen Folin-Ciocalteu 5% dan larutan standar asam galat 40 bpj disiapkan. Larutan asam galat 40 bpj diambil sebanyak 1 mL dan ditambahkan reagen Folin-Ciocalteu 5% sebanyak 2,5 mL, lalu dikocok dan didiamkan selama 3 menit. Na_2CO_3 1M kemudian ditambahkan sebanyak 2 mL dan dikocok sampai homogen. Absorbansi diukur pada panjang

gelombang 600-800 nm dan dilakukan replikasi sebanyak 3 kali [11].

b. Penentuan *operating time* asam galat.

Larutan asam galat 40 bpj diambil sebanyak 1 mL dan ditambahkan reagen Folin-Ciocalteu 5% sebanyak 2,5 mL, dikocok, dan didiamkan selama 3 menit. Na_2CO_3 1M lalu ditambahkan sebanyak 2 mL. Pembacaan dilakukan pada panjang gelombang maksimum dalam rentang waktu 0-60 menit dan interval waktu 2 menit sampai absorbansinya stabil [12,13].

c. Pembuatan kurva baku asam galat.

Larutan asam galat dibuat dengan konsentrasi 10, 20, 30, 40, dan 50 bpj. Masing-masing konsentrasi diambil sebanyak 1 mL, dipindahkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan reagen Folin-Ciocalteu 5% sebanyak 2,5 mL. Proses dilakukan dengan pengocokan dan didiamkan selama 3 menit. Masing-masing tabung reaksi lalu ditambahkan dengan larutan Na_2CO_3 1M sebanyak 2 mL, dikocok hingga homogen dan didiamkan selama 50 menit. Absorbansi lalu dibaca dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 738 nm. Kurva kalibrasi kemudian dibuat berdasarkan hubungan antara konsentrasi asam galat (pada sumbu x) dengan absorbansi pada sumbu y, hingga diperoleh persamaan kurva baku $y = bx + a$ [3,12,13].

d. Penetapan kadar fenolik total fraksi n-heksan, etil asetat dan *aquadest* daun cempedak (*A.integer*).

Fraksi kental masing-masing ditimbang sebanyak 100 mg dan ditambahkan etanol p.a sampai tanda batas dalam labu ukur 10 mL. Larutan tersebut diambil sebanyak 1 mL dan diperlakukan sama seperti perlakuan terhadap larutan kurva baku [11]. Kadar fenolasi total diperoleh berdasarkan persamaan kurva baku yang diperoleh.

2.2.5. Uji aktivitas antioksidan fraksi kental daun cempedak (*A.integer*)

a. Penentuan panjang gelombang maksimum DPPH.

DPPH 0,4 mM diambil sebanyak 0,5 mL, dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 2 mL etanol p.a, dikocok dan didiamkan selama 30 menit pada tempat gelap. Absorbansi larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV-vis pada panjang gelombang 450-600 nm. Proses pengujian ini dilakukan sebanyak 3 kali replikasi [12,14].

b. Penentuan *operating time* DPPH.

DPPH 0,4 mM diambil sebanyak 0,5 mL lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi, dan ditambahkan 2 mL standar kuersetin 2 bpj. Absorbansi kemudian dibaca pada panjang gelombang maksimum dalam interval waktu 2 menit selama 60 menit [12,14].

c. Penetapan nilai IC_{50} larutan kuersetin sebagai pembanding.

Larutan kuersetin dibuat seri konsentrasi 2, 4, 6, 8 dan 10 bpj. DPPH 0,4 mM kemudian diambil sebanyak 0,5 mL, dimasukkan kedalam masing-masing tabung reaksi, dan ditambahkan 2 mL konsentrasi beragam larutan standar kuersetin. Larutan pada tabung kemudian didiamkan selama 30 menit ditempat gelap dan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 516 nm [12].

d. Penetapan nilai IC_{50} fraksi kental daun cempedak (*A.integer*).

Fraksi kental daun cempedak dibuat dalam konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 bpj. Larutan DPPH 0,4 mM kemudian diambil sebanyak 0,5 mL, dimasukkan ke dalam tabung reaksi, dan ditambahkan beragam konsentrasi larutan fraksi kedalam masing-masing tabung. Larutan didiamkan selama 30 menit dan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 516 nm [12].

2.3. Analisis data

Analisis data yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu data kuantitatif kadar fenolik total dan kategori aktivitas antioksidan yang dihasilkan oleh sampel fraksi ekstrak etanol pelarut n-heksan, etil asetat dan *aquadest* daun *A.integer*. Kadar fenolik total dihitung dengan persamaan regresi linear : $y = bx + a$. Kadar fenolik total disajikan

dalam satuan mg ekuivalen asam galat/gram sampel (GAE/g).

Kategori aktivitas antioksidan dapat diketahui dengan nilai IC_{50} berdasarkan kategori sangat kuat (<50 bpj), kuat (50-100 bpj), sedang (100-250 bpj), lemah (250-500 bpj), tidak aktif (>500 bpj). Hasil absorbansi (abs) dianalisis menggunakan persamaan [3] :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{abs DPPH} - \text{abs sampel}}{\text{abs DPPH}} \times 100\%$$

Nilai IC_{50} dikategorikan berdasarkan kategori aktivitas antioksidan yang dihasilkan pada sampel. Perhitungan nilai tersebut berdasarkan persamaan regresi linear : $y = bx + a$.

3. Hasil dan pembahasan

Sampel segar daun *A.integer* diambil pada bulan September 2021 di Desa Maniapun, Kecamatan Simpang Empat Pengaron, Kabupaten Banjar, Provinsi Kalimantan Selatan sebanyak 3,5 kg. Daun *A.integer* yang telah disortasi basah dan dicuci, lalu dirajang, kemudian dikeringkan dengan lemari pengering pada suhu 50°C. Simplisia yang telah kering lalu dilakukan sortasi kering kemudian ditimbang, sehingga didapat berat simplisia sebesar 149,12 gram dengan nilai rendemen simplisia $42,60 \pm 0,98\%$. Simplisia selanjutnya dihaluskan dengan blender. Serbuk yang didapat selanjutnya diayak menggunakan pengayak No. 20, didapatkan serbuk simplisia seperti yang ditunjukkan pada Gambar 1a.

Serbuk simplisia diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% selama 3 x 24 jam, dengan pergantian pelarut setiap 24 jam. Ekstrak cair yang didapat selanjutnya diuapkan pelarutnya dengan lemari pengering hingga didapat ekstrak kering dengan rendemen senilai $20,51 \pm 1,15\%$. Ekstrak kering daun cempedak yang didapatkan ditunjukkan pada Gambar 1b yaitu berbentuk kering, berwarna hijau kehitaman, berbau khas, dan memiliki rasa sangat pahit. Bentuk ekstrak kering yang dipe-

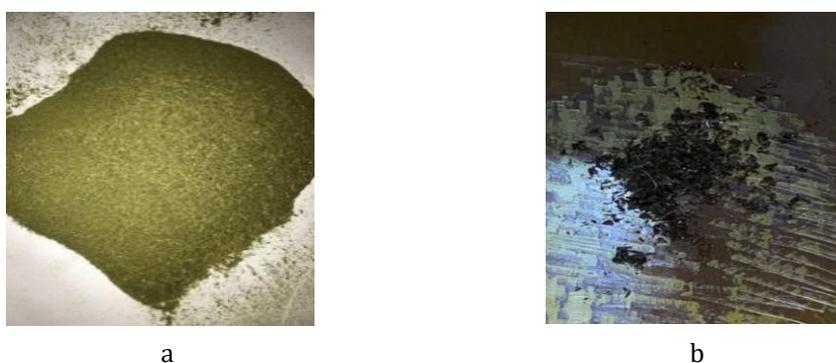
roleh disebabkan penguapan pelarut yang menyebabkan terbentuknya ekstrak kering. Secara umum ekstrak dari bahan alam memiliki warna yang gelap dan memiliki variasi berbeda, tergantung karakteristik senyawa yang terkandung pada tanaman tersebut. [15].

Fraksinasi dilakukan secara bertingkat yang diawali *aquadest* sebagai pelarut polar, diikuti pelarut non polar yaitu n-heksan, dan semi polar. Prosedur ini umum dilakukan pada berbagai jurnal penelitian [13,14]. Hasil rendemen fraksi menunjukkan banyaknya jumlah senyawa kimia yang dapat terlarut berdasarkan polaritasnya. Hasil penelitian kali ini menunjukkan rendemen fraksi dari yang terbesar hingga terkecil yaitu fraksi *aquadest*, etil asetat dan n-heksan dengan persen rendemen berturut-turut senilai $26,13 \pm 1,24\%$; $18,65 \pm 3,62\%$; dan $4,33 \pm 0,4\%$.

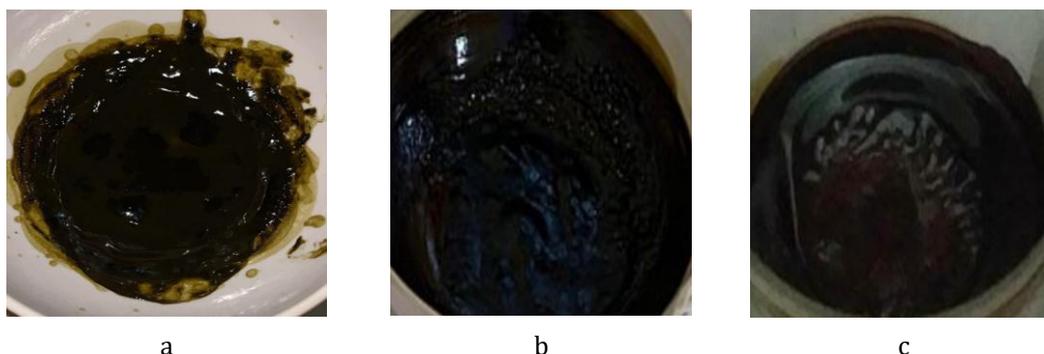
Fraksi n-heksan dan etil asetat dapat dilihat pada Gambar 2a dan 2b yang memiliki bentuk kental, bau khas yang kuat, dengan warna hijau tua dan rasa sangat pahit. Fraksi *aquadest* disaji-

kan pada Gambar 2c yang memiliki bentuk kental, bau khas yang kuat, dengan warna coklat kemerahan dan rasa sangat pahit. Warna fraksi n-heksan dan etil asetat yang didapatkan akibat terkonsentrasinya warna hijau menjadi hijau tua dan warna fraksi *aquadest* yang didapatkan akibat terkonsentrasinya warna hijau menjadi coklat kemerahan [15]. Hasil skrining fitokimia pada fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat yaitu terdapat senyawa golongan fenolik, alkaloid, dan flavonoid. Sedangkan pada fraksi *aquadest* terdapat senyawa golongan fenolik dan alkaloid.

Pada proses penetapan kadar fenol total, diawali dengan penentuan panjang gelombang maksimum. Panjang gelombang maksimum ditetapkan untuk mengetahui daerah panjang gelombang dengan serapan yang optimum. Pada panjang gelombang maksimum dihasilkan data yang akurat dan dapat mengurangi terjadinya kesalahan [16]. Panjang gelombang maksimum yang didapat pada penelitian ini yaitu 738 nm dengan nilai absorbansi senyawa asam galat



Gambar 1. (a) Serbuk simplisia dan (b) ekstrak kering daun *A.integer*



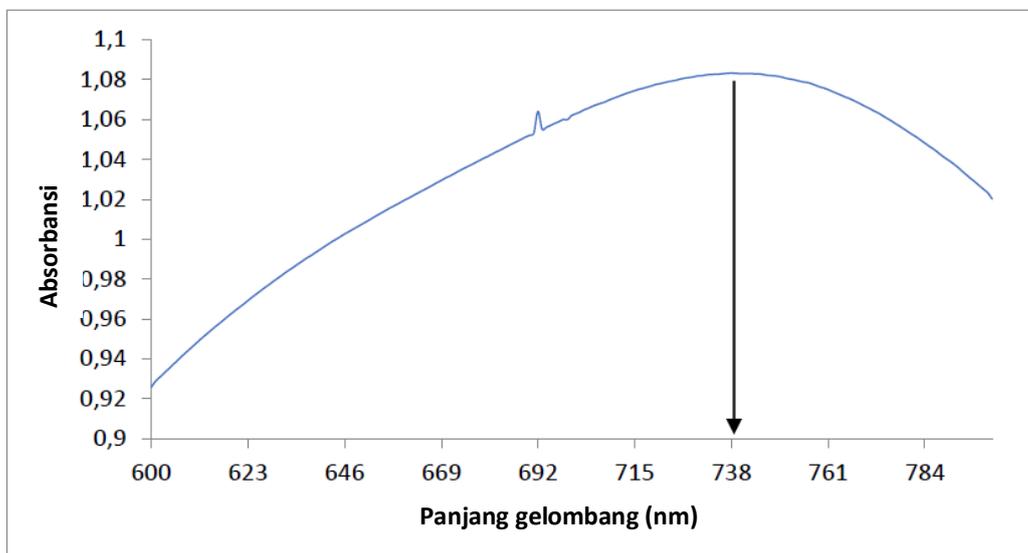
Gambar 2. (a) Fraksi n-heksan, (b) Fraksi etil asetat dan (c) Fraksi *aquadest* daun *A.integer*

sebesar 1,083 yang terlihat pada Gambar 3. Hasil panjang gelombang yang diperoleh pada penelitian ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Ramadhan *et al.*, (2021) yang menyatakan panjang gelombang maksimum untuk kadar fenolik total yaitu 738 nm (pada rentang pengamatan 600-800 nm) [17].

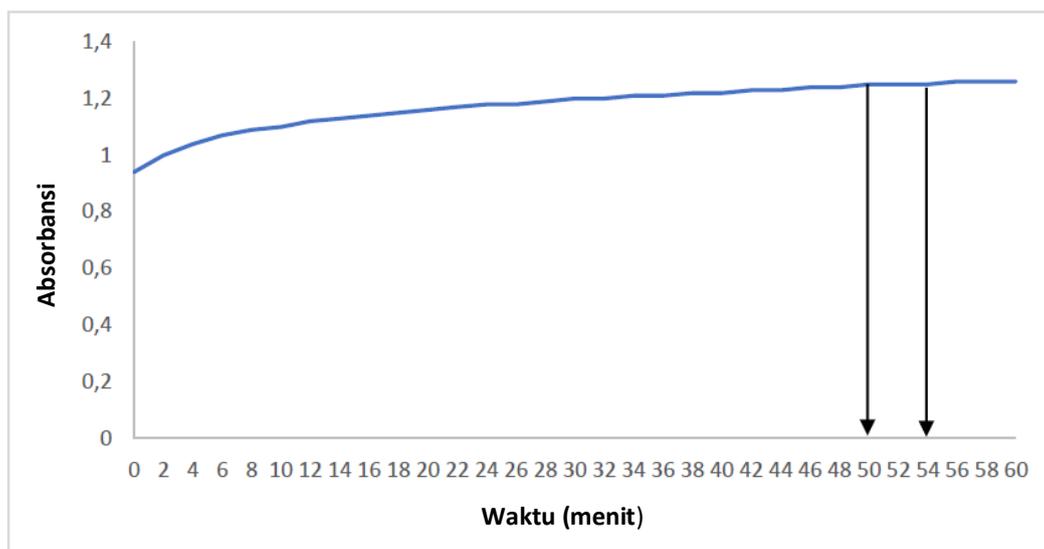
Penentuan *operating time* bertujuan untuk mengetahui waktu senyawa untuk bereaksi dengan senyawa yang lain hingga membentuk senyawa yang stabil. *Operating time* asam galat ditetapkan berdasarkan optimasi pada 0-60 menit yang disajikan pada Gambar 4. Hasil pengamatan menunjukkan nilai stabil mulai pada

menit ke-50 sampai menit ke-54 dengan nilai absorbansi 1,250. Setelah menit ke-54 absorbansi mengalami ketidakstabilan yang berarti menandakan reaksi asam galat dan Folin-Ciocalteu telah terurai (tidak bereaksi). Menurut Saputra *et al.*, (2018) *operating time* kadar fenol total pada menit ke-40. Perbedaan penelitian dengan literatur kemungkinan disebabkan perbedaan asal bahan yang digunakan [18].

Persamaan regresi linear kurva baku asam galat didapatkan $y = 0,037041x - 0,31535$. Nilai koefisien korelasi yaitu (r) 0,997 yang artinya menunjukkan adanya hubungan keakuratan antara konsentrasi asam galat dengan nilai absor-



Gambar 3. Penentuan panjang gelombang maksimum asam galat



Gambar 4. Penentuan *operating time* asam galat

bansi (99,9%). Menurut Utami (2017) syarat linearitas yaitu memiliki nilai koefisien korelasi (r) $\geq 0,977$. Nilai koefisien korelasi (r) pada penelitian kali ini sesuai dengan persyaratan [19].

Kadar fenolik yang diperoleh pada penelitian disajikan pada Tabel 1, dimana fraksi n-heksan didapatkan $9,35 \pm 0,11\%$ b/b ekuivalen asam galat, fraksi etil asetat didapatkan $12,59 \pm 0,41\%$ b/b ekuivalen asam galat dan hasil fraksi aquadest senilai $9,99 \pm 0,48\%$ b/b ekuivalen asam galat. Penelitian Rizki *et al.*, (2021) menyatakan kadar fenolik total pada ekstrak yaitu $37,20 \pm 2,2\%$ b/b ekuivalen asam galat [3]. Berdasarkan hasil tersebut dapat diketahui bahwa kadar fenolik tertinggi terdapat pada fraksi etil asetat. Hal tersebut menunjukkan kemampuan etil asetat untuk menarik senyawa golongan fenolik yang didominasi senyawa golongan semipolar. Kadar fenolik total pada ekstrak lebih tinggi dibandingkan pada fraksi.

Hal tersebut disebabkan fenolik yang terdapat pada ekstrak terpisah pada ketiga fraksi tersebut [3,9,13].

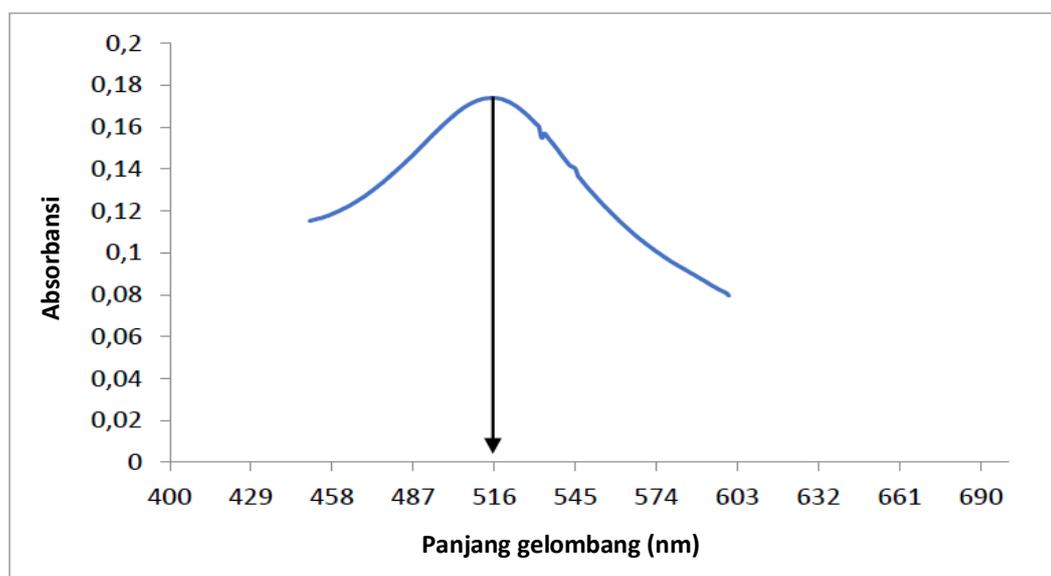
Penentuan panjang gelombang maksimum DPPH dilakukan untuk mengetahui panjang gelombang dimana DPPH mencapai serapan yang maksimum [20]. Hasil panjang gelombang maksimum DPPH pada penelitian kali ini yaitu 516 nm (Gambar 5), [21].

Penentuan *operating time* DPPH dilakukan untuk mengetahui waktu yang dibutuhkan senyawa untuk bereaksi membentuk senyawa yang stabil, sehingga absorbansi yang dihasilkan nilainya tetap. *Operating time* ditetapkan dengan optimasi dalam rentang 0-40 menit seperti terlihat pada Gambar 6. Pada penelitian ini, absorbansi mulai stabil pada menit ke-26 sampai 36, dan setelah menit ke-36 terjadi ketidakstabilan yang menandakan senyawa telah terurai. Menurut pustaka,

Tabel 1. Hasil kadar fenolik total fraksi n-heksan, etil asetat, dan aquadest

No	Sampel	Rata-Rata Kadar Fenol Total \pm SD (% b/b EAG)
1.	Fraksi n-Heksan	$9,35 \pm 0,11$
2.	Fraksi Etil Asetat	$12,59 \pm 0,41$
3.	Fraksi Aquadest	$9,99 \pm 0,48$

Ket: EAG = Equivalent Acid Galic



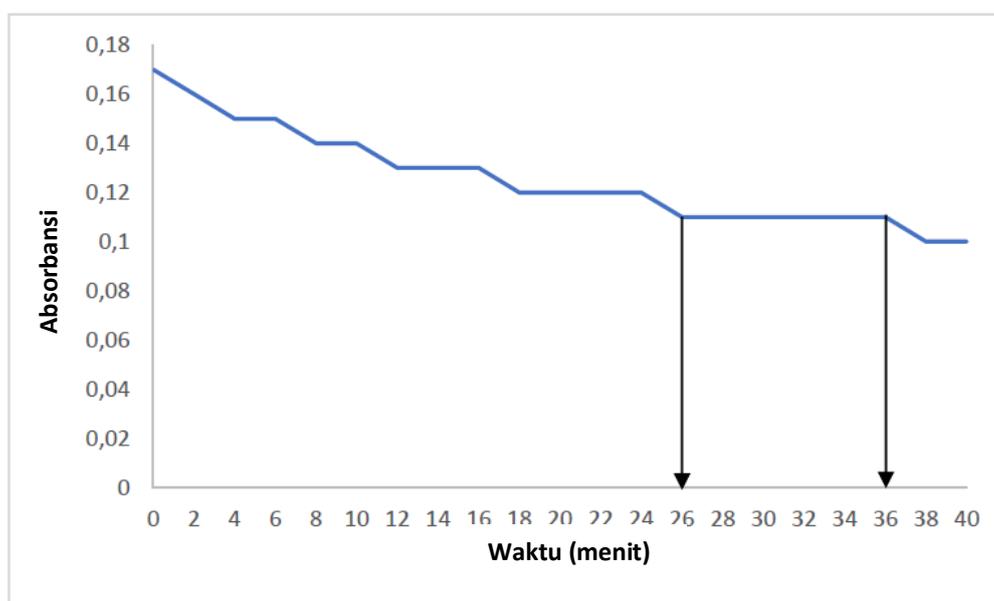
Gambar 5. Penentuan panjang gelombang maksimum DPPH

operating time DPPH yaitu pada menit ke-30, sesuai dengan *operating time* DPPH pada penelitian ini [22].

Hasil persamaan regresi yang diperoleh yaitu $y = 6,217x + 5,331$ dengan koefisien korelasi (r) 0,998. Nilai IC_{50} dari kuersetin sebagai senyawa pembanding didapatkan senilai 7,183 bpj, dan termasuk ke dalam kategori sangat kuat dalam menghambat radikal bebas. Apabila semakin tinggi konsentrasi kuersetin, maka semakin kecil nilai absorbansinya, yang berarti semakin tinggi persen inhibisi terhadap radikal bebas. Semakin rendah nilai IC_{50} , maka semakin kuat aktivitas antioksidan. Aktivitas kuersetin sangat kuat karena memiliki gugus OH yang terdapat pada posisi 3', 4', 3', 5', dan 7 [23].

Hasil uji aktivitas antioksidan fraksi n-heksan pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 2. Fraksi n-heksan memiliki nilai IC_{50} sebesar 89,192 bpj dan termasuk dalam kategori kuat dalam menghambat radikal bebas. Apabila dibandingkan tanaman lain yang masih termasuk satu genus, yaitu fraksi n-heksana dari ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) dengan aktivitas antioksidan sebesar 2511,29 bpj, nilai tersebut termasuk dalam kategori sangat lemah [24]. Fraksi n-heksan dari daun cempedak diketahui memiliki kemampuan antioksidan yang lebih baik dibandingkan daun sukun.

Hasil uji aktivitas antioksidan fraksi etil asetat pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 2. Fraksi etil asetat memiliki nilai IC_{50} sebesar 64,75 bpj (kuat).



Gambar 6. Penentuan *operating time* DPPH

Tabel 2. Tabel hasil persen inhibisi dan IC_{50} dari fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi *aquadest* daun *A.integer*

Konsentrasi (bpj)	inhibisi Rata-Rata (%)		
	Fraksi n-Heksan	Fraksi Etil Asetat	Fraksi Aquadest
20	30,16	35,73	26,56
40	34,86	43,05	35,36
60	40,83	48,30	41,38
80	47,10	54,76	48,53
100	53,73	60,76	56,96
IC_{50}	89,19 bpj	64,75 bpj	82,24 bpj

Hasil penelitian lain pada fraksi etil asetat daun nangka (*Artocarpus heterophyllus*) memiliki nilai IC_{50} sebesar 48,48 bpj (sangat kuat) [25]. Hal tersebut menunjukkan aktivitas antioksidan pada fraksi etil asetat daun nangka memiliki aktivitas yang lebih kuat meskipun termasuk dalam genus yang sama dengan daun cempedak. Berdasarkan studi literatur belum pernah dilakukan penelitian terkait uji aktivitas antioksidan pada fraksi dari ekstrak daun cempedak.

Hasil uji aktivitas antioksidan fraksi *aquadest* pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 2. Fraksi *aquadest* memiliki IC_{50} sebesar 82,24 bpj dan termasuk dalam kategori kuat dalam menghambat radikal bebas. Hasil penelitian yang didapatkan dibandingkan dengan tanaman lain yang masih termasuk satu genus yaitu daun sukun (*Artocarpus altilis*) dengan aktivitas antioksidan fraksi *aquadest* sebesar 2869,72 bpj, dan termasuk dalam kategori sangat lemah [24]. Penelitian Rizki *et al.*, (2021) yang telah dipublikasikan sebelumnya menyatakan aktivitas antioksidan pada ekstrak daun *A.integer* dengan nilai IC_{50} sebesar 52,77 bpj termasuk dalam kategori kuat dalam menghambat radikal bebas [3]. Aktivitas antioksidan ekstrak lebih besar dibandingkan fraksi, karena salah satu mekanisme kerja bahan alam bersifat *synergism effect*. *Synergism effect* adalah efek saling menguatkan antar senyawa untuk memberikan aktivitas farmakologis. Apabila bahan yang digunakan ekstrak maka aktivitas antioksidan akan kuat, namun apabila digunakan pada fraksi maka aktivitas antioksidan berkurang [26].

Pada penelitian ini fraksi etil asetat memiliki kemampuan aktivitas antioksidan lebih kuat daripada fraksi n-heksan dan fraksi *aquadest*. Aktivitas antioksidan dari fraksi untuk setiap ekstrak tanaman dapat berbeda disebabkan perbedaan kandungan senyawa secara kualitatif maupun kuantitatif pada setiap tanaman [27]. Hasil uji aktivitas antioksidan pada penelitian ini linear dengan data fenolik total yang didapat. Fenolik bertanggung jawab terhadap aktivitas antioksidan, sehingga kadar fenolik yang tinggi pada

fraksi etil asetat menyebabkan aktivitas antioksidannya juga lebih tinggi dibandingkan fraksi n-heksan dan fraksi *aquadest*. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian Anwar & Triyasmono (2016), yang menyatakan bahwa kandungan fenolik total akan berbanding lurus dengan aktivitas antioksidan [27]. Demak *et al.*, (2017) menyatakan apabila semakin besar kandungan fenol maka semakin besar aktivitas antioksidannya [28]. Senyawa golongan fenolik mampu memberikan atom hidrogen pada saat bereaksi dengan senyawa radikal bebas, sehingga senyawa radikal bebas akan menjadi stabil [29].

4. Kesimpulan

Kadar fenolik total pada fraksi n-heksan senilai $9,352 \pm 0,113\%$ b/b ekuivalen asam galat, fraksi etil asetat $12,595 \pm 0,415\%$ b/b, dan fraksi *aquadest* $9,992 \pm 0,485\%$ b/b. Aktivitas antioksidan fraksi n-heksan, etil asetat, dan *aquadest* masing-masing memiliki nilai IC_{50} sebesar 89,19 bpj (kuat), 64,75 bpj (kuat), dan 82,24 bpj (kuat). Kesimpulan dari penelitian ini bahwa fraksi etil asetat memiliki kadar fenolik total tertinggi dan aktivitas antioksidan paling kuat dibandingkan fraksi n-heksan dan fraksi *aquadest* dari ekstrak daun cempedak.

Ucapan terima kasih

Ucapan terima kasih penulis disampaikan kepada Universitas Lambung Mangkurat atas pendanaan penelitian melalui Program Dosen Wajib Meneliti (PDWM) tahun 2022 No. 458/UN8/PG/2022.

Daftar pustaka

1. Nugroho AW. Review: Konservensi keanekaragaman hayati melalui tanaman obat dalam hutan di Indonesia dengan teknologi farmasi: Potensi

- si dan tantangan. *Jurnal Sains dan Kesehatan*. 2017;1:377-383.
2. Whenny, Rusli R, Rijai L. Aktivitas tabir surya ekstrak daun cempedak (*Artocarpus champeden* Spreng). *Jurnal Sains dan Kesehatan*. 2015;1(4):154-158.
 3. Rizki MI, Nurlely, Fadlilaturrahmah, Ma'shumah. Skrining fitokimia dan penetapan kadar fenol total pada ekstrak daun nangka (*Artocarpus heterophyllus*), cempedak (*Artocarpus integer*) dan tarap (*Artocarpus odoratissimus*) asal Desa Pengaron Kabupaten Banjar. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*. 2021;4(1):95-102.
 4. Halimatussa'diah F, Fitriani VY, Rijai L. Aktivitas antioksidan kombinasi daun cempedak (*Artocarpus champedan*) dan daun bandotan (*Ageratum conyzoides* L). *J. Trop Pharm Chem*. 2014;2:248-251.
 5. Rizki MI, Auliani S, Khairunnisa A, Fadlilaturrahmah, Normaidah, Sari AK. Penetapan kadar flavonoid total dan nilai sun *protection factor* (SPF) dari ekstrak kering daun cempedak (*Artocarpus integer*). *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*. 2022;5:76-86.
 6. Bagheri N, Lawati HAJA, Hassanzadeh J. Simultaneous determination of total phenolic acids and total flavonoids in tea and honey samples using an integrated lab on a chip device. *Journal Homepage*. 2020;6:1-9.
 7. Ifeanyi OE. A review on free radicals and antioxidants. *International Journal of Current Research in Medical Sciences*. 2018;4:123-133.
 8. Fakriah, Kurniansih E, Adriana, Rusydi. Sosialisasi bahaya radikal bebas dan fungsi antioksidan alami bagi kesehatan. *Jurnal Vokasi*. 2019;3:1-7.
 9. Rizki MI. Farmakognosi dan metabolit sekunder. Malang: CV. IRDH; 2020.
 10. Kemenkes RI. Farmakope Indonesia edisi V. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2014.
 11. Ahmad AR, Juwita, Ratulangi SAD, Malik A. Penetapan kadar fenolik dan flavanoid total ekstrak metanol buah dan daun patikala (*Etlintera elatior* (Jack) R.M.SM). *Journal Pharm Sci Res*. 2015;2:1-10.
 12. Irawati NA. Penetapan kadar fenol total, aktivitas antioksidan, dan analisis spektra FTIR ekstrak etanol akar pasak bumi (*Eurycoma longifolia* Jack.). Skripsi. Banjarbaru: Universitas Lambung Mangkurat; 2019.
 13. Sumaryanto AC. Penetapan kadar fenol total dan aktivitas antioksidan fraksi etil asetat rimpang purun danau (*Lepironia articulata* (Retz.) Domin). Skripsi. Banjarbaru: Universitas Lambung Mangkurat; 2019.
 14. Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakar Journal of Science Technology*. 2004;26:211-216.
 15. Putri WDR, Zubaidah E, Sholahudin N. Ekstraksi pewarna alami daun suji, kajian pengaruh blanching dan jenis bahan pengekstrak. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 2012;4:13-25.
 16. Gandjar IG, Rohman A. Kimia Farmasi Analisis. Yogyakarta: Pustaka Pelajar; 2014.
 17. Ramadhan H, Rezky DP, Susiani EF. Penetapan kandungan total fenolik-flavonoid pada fraksi etil asetat kulit batang kasturi (*Mangifera casturi* Koesterman). *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 2021;8:58-67.
 18. Saputra G, Wardatun S, Utami NF. Kajian kadar fenolik serbuk daun teh hijau dan teh hitam (*Camelia sinensi*. L, *Kuntze*) yang beredar di pasaran. *Kumpulan Jurnal Farmasi*. 2018;1:1-10.
 19. Utami AR. Verifikasi metode pengujian sulfat dalam air dan air limbah sesuai SNI. *Jurnal Teknologi Proses dan Inovasi Industri*. 2017;2:19-25.
 20. Priyanto A, Islamiyati R. Uji aktivitas antioksidan pada batang tebu hijau dan batang tebu merah menggunakan metode perendaman radikal bebas DPPH. *Cendikia Journal of Pharmacy*. 2018;2:50-59.
 21. Diniatik S, Anggraeni D, Amar I. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun dan kulit batang manggis *Garcinia mangostana* L. *Pharmaciana*. 2016;6:21-30.
 22. Patria WD, Soegihardjo CJ. Uji aktivitas antioksidan menggunakan radikal 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) dan penetapan kandungan fenolik total fraksi etil asetat ekstrak etanolik daun be-

- nalu (*Dendrophthoe pentadra* L. Miq.) yang tumbuh di pohon kepel (*Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook.f.). *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*. 2013;10:51-60.
23. Agustikawati N, Andayani Y, Suhendra D. Uji aktivitas antioksidan dan penapisan fitokimia dari ekstrak daun pakoasi dan kluwih sebagai sumber antioksidan alami. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*. 2017;3:60-67.
24. Misfadhila S, Azizah Z, Maisarah L. Penggunaan metode DPPH dalam penentuan aktivitas antioksidan ekstrak metanol dan fraksi daun sukun (*Artocarpus Altilis* (Parkinson Ex F. A. Zorn) Fosberg). *Jurnal Farmasi Higea*. 2019;11:75-82.
25. Adnyani N, Parwata I, Negara I. Potensi ekstrak daun nangka (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) sebagai antioksidan alami. *Jurnal Kimia*. 2016;10(2):162-167.
26. Heinrich M, Barnes J, Gibbons S, Williamson EM. *Fundamentals of Pharmacognosy and Phytotherapy*. Edinburgh: Elsevier; 2012.
27. Anwar K, Triyasmono L. Kandungan total fenolik, total flavonoid, dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.). *Jurnal Pharmascience*. 2016;3:83-92.
28. Demak PUK, Suryanto E, Pontoh J. Efek pemangangan terhadap aktivitas antioksidan dan kandungan fenolik dari jagung manado kuning. *Chem. Prog*. 2017;10:19-23.
29. Tursiman, Ardiningsih P, Nofiani R. Total fenol fraksi etil asetat dari buah asam kandis (*Garcinia diocia* Blume). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. 2012;1(1):45-48.