



## Pengaruh Waktu Maserasi dan Konsentrasi Pelarut Etanol Terhadap Rendemen dan Aktivitas Antioksidan Kayu Secang

Aulia Firda Salsabila<sup>1</sup>, Ahmad M. Fuadi<sup>2</sup>

Universitas Muhammadiyah Surakarta, Jawa Tengah, Indonesia

d500190022@student.ums.ac.id

Received: 27-03-2023

Accepted: 18-04-2023

Published: 25-04-2023

### Abstract

*The aim of this study was to determine the optimum conditions and the effect of maceration time and concentration of ethanol solvent on the yield and antioxidant activity of sappan wood extract. Extraction of sappan wood by maceration method was carried out with variations in maceration time of 24, 48, 72, and 96 hours and ethanol solvent concentrations of 55%, 65%, 75%, 85%, and 95%. This method uses a quantitative research method in which the research begins with sample preparation, sappan wood extraction, identification of phytochemical content, DPPH testing of antioxidant activity of sappan wood ethanol extract, and analysis of research results are the steps in this study. Next, prepare a sample solution with a concentration of 1000 ppm, weighing 25 mg of secang wood ethanol extract, dissolve it by adding ethanol in a 50 mL volumetric flask, and vary the concentrations of 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm, 100 ppm, 125 ppm. The results showed that the yield and antioxidant activity were affected by maceration time and ethanol concentration. The best treatment for optimum yield and antioxidant activity was maceration time of 96 hours using 95% ethanol concentration, resulting in an extract weight of 9.31 grams, yield yield of 15.52%, and antioxidant activity to inhibit free radicals of 33.78mg/L. This it can be concluded that the yield and antioxidant activity of the ethanol extract of secang wood in suppressing free radicals are strongly influenced by the length of maceration and the concentration of ethanol solvent.*

**Keywords:** *antiaging, antioxidant, sappan wood, maceration, free radicals*

### Abstrak

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kondisi optimum serta pengaruh lama maserasi dan konsentrasi pelarut etanol terhadap rendemen dan aktivitas antioksidan ekstrak kayu secang. Ekstraksi kayu secang dengan metode maserasi dilakukan dengan variasi waktu maserasi 24, 48, 72, dan 96 jam dan konsentrasi pelarut etanol 55 %, 65 %, 75 %, 85 %, dan 95 %. Metode ini menggunakan metode penelitian kuantitatif yang dimana Penelitian dimulai dengan persiapan sampel, ekstraksi kayu secang, identifikasi kandungan fitokimia, pengujian DPPH aktivitas antioksidan ekstrak etanol kayu secang, dan analisis hasil penelitian merupakan langkah-langkah dalam penelitian ini. Selanjutnya pembuatan larutan sampel konsentrasi 1000 ppm, dengan menimbang ekstrak etanol kayu secang sebanyak 25 mg, dilarutkan dengan menambah etanol dalam labu ukur 50 mL, dan dibuat variasi konsentrasi 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm, 100 ppm, 125 ppm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rendemen dan aktivitas antioksidan terbukti dipengaruhi oleh waktu maserasi dan konsentrasi etanol. Perlakuan terbaik untuk hasil optimum rendemen dan aktivitas antioksidan yaitu dengan waktu maserasi 96 jam dengan menggunakan konsentrasi pelarut etanol 95 %, sehingga diperoleh berat ekstrak sebesar 9,31 gram, dengan hasil rendemen sebesar 15,52 %, dan aktivitas antioksidan untuk menghambat radikal bebas sebesar 33,78 mg/L. Dengan demikian dapat ditarik kesimpulan rendemen dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol kayu secang dalam menekan radikal bebas sangat dipengaruhi oleh lama maserasi dan konsentrasi pelarut etanol.

**Kata Kunci:** *antiaging, antioksidan, kayu secang, maserasi, radikal bebas*

Corresponding Author; Aulia Firda Salsabila

E-mail: d500190022@student.ums.ac.id



## Pendahuluan

Kepadatan penduduk di Indonesia relatif tinggi. Proporsi penduduk berusia 60 tahun ke atas (penduduk lanjut usia) kini melebihi 7 persen, dan inilah salah satu alasan mengapa penduduk Indonesia cepat beruban dan negara ini telah memasuki era populasi yang menua sejak tahun 2015. Prakiraan menunjukkan bahwa dengan tahun 2050, Indonesia akan menjadi rumah bagi 100 juta orang berusia 60 tahun ke atas (Zalukhu dkk., 2016). Statistik Kementerian Kesehatan Republik Indonesia menunjukkan bahwa pada tahun 2025 akan ada 33,69 juta penduduk Indonesia berusia 60 tahun ke atas (9,03 %), 40,95 juta pada tahun 2030, dan 48,19 % pada tahun 2035. Sejak tahun 2013 (13,4 %), global prevalensi orang di atas usia 65 terus meningkat, mencapai 25,3 % pada tahun 2050 dan 35,1 % pada tahun 2100.

Ketika jaringan menua, kemampuannya untuk memperbaiki dirinya sendiri dan mempertahankan struktur normalnya secara bertahap menurun ke titik di mana ia tidak dapat lagi bertahan dan memperbaiki kerusakan yang telah terjadi padanya. Proses penuaan tidak dapat dihindari dan dapat memiliki efek negatif pada setiap dan semua bagian tubuh. Ada kemungkinan faktor internal dan eksternal berkontribusi terhadap penuaan kulit. Penuaan dini dipercepat oleh radikal bebas dan kerusakan DNA, keduanya intrinsik dalam proses penuaan. Sementara stres, polusi, gizi buruk, dan faktor lingkungan lainnya bersifat intrinsik, menyebabkan kesehatan yang buruk. Penuaan dini adalah efek umum lainnya yang dikaitkan dengan radikal bebas. Atom atau molekul reaktif dengan satu atau lebih elektron tidak berpasangan dikenal sebagai radikal bebas (Yuslianti, 2018). Kelebihan produksi radikal bebas pada kulit merusak kolagen pada membran sel kulit, menyebabkan hilangnya elastisitas dan berkembangnya kerutan (Kammeyer & Luiten, 2015).

Berdasarkan temuan penelitian dengan topik memformulasikan dan menguji aktivitas antiaging gel *slime* lidah buaya (*Aloe vera Linn.*), menemukan bahwa sediaan gel lidah buaya 15 % lebih stabil dan menghasilkan hasil yang lebih cepat. perubahan dalam hal meningkatkan kadar air, kehalusan kulit, mengecilkan ukuran pori, mengurangi noda, dan mengurangi kerutan (Iskandar et al., 2021). Kayu secang merupakan salah satu jenis tanaman yang memiliki potensi antiaging, bersama dengan lidah buaya dan lain-lain.

Antioksidan primer dan sekunder dari golongan flavonoid dapat ditemukan pada ekstrak etanol kayu secang (Safitri, 2002). Bahkan di luar sifat antioksidan dan antibakterinya, aktivitas flavonoid memiliki banyak aplikasi praktis lainnya (Noval et al., 2019). Antioksidan sangat penting bagi tubuh manusia karena dapat menghentikan atau memperlambat proses oksidasi yang disebabkan oleh radikal bebas (Theafelicia & Wulan, 2023). Pewarna merah yang terdapat pada ekstrak secang, yang merupakan senyawa golongan brazilin dan pertama kali diisolasi oleh Sanusi (1993), adalah kumarin. *Brazilianin* adalah senyawa antioksidan yang mengandung katekol. Kami mengantisipasi bahwa aktivitas antioksidan brazilin akan memungkinkannya melindungi tubuh dari toksisitas radikal kimia (Nirmal et al., 2015). Sebelumnya juga telah dilakukan penelitian dengan menggunakan uji *-galactosidase* terkait penuaan, menyelidiki potensi antipenuaan secang sebagai penghambat penuaan sel (uji SA -Gal) (Putri et al., 2018). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kandungan brazilin dalam ekstrak kayu secang dapat menghambat proses penuaan. Tujuan perawatan *anti-aging*

adalah untuk menunda atau bahkan membalikkan tanda-tanda penuaan kulit yang terlihat (Rachmadini et al., 2023).

Ekstrak kayu secang dapat diperoleh melalui ekstraksi. Istilah "ekstraksi" mengacu pada teknik pemisahan zat dalam larutan menurut kelarutan relatifnya. Metode persiapan sampel yang berbeda, waktu ekstraksi, jumlah sampel, suhu, dan pelarut semuanya berperan dalam efisiensi ekstraksi secara keseluruhan (Utami, 2009).

Pembuatan ekstrak etanol kayu secang dilakukan dengan metode maserasi karena merupakan metode yang sederhana dan tidak memerlukan pemanasan sehingga dapat menghindari terjadinya kerusakan dari senyawa termolabil yang bisa saja memiliki efek sebagai antioksidan (Setyawardhani & Saputri, 2021). Sampel yang direndam akan mengalami pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik (Hidayah et al., 2021).

Mengekstrak zat yang diinginkan, pelarut harus melarutkannya dengan melarutkan bahan aktif sesuai dengan kepolarannya. maserasi adalah metode ekstraksi yang layak. Pendekatan yang paling umum adalah maserasi, yang juga paling sederhana. Teknik ini bekerja dengan baik pada skala rumah tangga dan industri. Maserasi melindungi senyawa termolabil dari panas (Mukhriani, 2014). *Brazilin* yang merupakan golongan flavonoid sebagai isoflavonoid merupakan senyawa polar karena memiliki sejumlah gugus hidroksil. Flavonoid yang bersifat polar maka akan larut dalam pelarut polar seperti etanol. Oleh karena itu, *brazilin* akan larut dalam pelarut etanol karena memiliki tingkat kepolaran yang sama.

## Metode Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Teknik Kimia Universitas Muhammadiyah Surakarta. Penelitian dimulai dengan persiapan sampel, ekstraksi kayu secang, identifikasi kandungan fitokimia, pengujian DPPH aktivitas antioksidan ekstrak etanol kayu secang, dan analisis hasil penelitian merupakan langkah-langkah dalam penelitian ini. Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi bejana maserasi, spektrofotometer UV-Vis, timbangan analitik, corong kaca, beaker glass 250 mL, erlenmeyer 250 mL, kain flannel, kertas saring, labu ukur 50 mL, mesh 80, labu ukur 10 mL, blender, pipet volume, *rotary vacuum evaporator*, kaca arloji, tabung reaksi, karet hisap, spatel, pipet tetes. Bahan yang digunakan terdiri dari akuades, simplisia kayu secang, etanol p.a, metanol p.a, etanol 55 %, 65 %, 75 %, 85 %, dan 95%, *2,2-diphenyl-1-picrylhy-drazyl* atau DPPH, Mg, HCl, *Dragendroff*, FeCl<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>COOH, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Bahan bakunya adalah kayu secang (*Casalpinia sappan L.*) yang diiris dan dikeringkan, yang bersumber dari Grobogan di Jawa Tengah. Setelah itu, digunakan ayakan 80 *mesh* untuk menyaring simplisia kayu secang yang sudah menjadi serbuk.

Maserasi 60gram serbuk kayu secang dalam 300 mL etanol selama 24, 48, 72, dan 96 jam menghasilkan profil fenolik yang berbeda pada konsentrasi etanol sebesar 55 %, 65 %, 75 %, 85 %, dan 95 %. Aduk campuran berulang kali untuk memastikan memasak merata. Kemudian, kain flanel dan kertas saring digunakan untuk menyaring sampel maserasi. Selanjutnya, ekstrak pekat diperoleh dengan mengevaporasi filtrat etanol dari kayu secang melalui *rotary vacuum evaporator* dengan suhu sebesar 78°C.

Identifikasi kandungan senyawa fitokimia pada ekstrak kayu secang dilakukan dengan menguji kandungan senyawa seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, fenolik, dan triterpenoid.

Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol kayu secang menggunakan DPPH diawali dengan pembuatan larutan DPPH 1000 ppm, dengan cara menimbang 25 mg DPPH, kemudian dilarutkan dengan menambah metanol dalam labu ukur 50 mL.

Langkah selanjutnya yaitu pembuatan larutan blanko dengan cara mengambil 3 mL metanol dengan pipet, memasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1 mL larutan DPPH. Kemudian membuat larutan perbandingan (Vitamin C) 1000 ppm, dengan menimbang sebanyak 25 mg vitamin C, kemudian dilarutkan dengan 25 mL metanol, dan dibuat variasi konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, 25 ppm.

Selanjutnya pembuatan larutan sampel konsentrasi 1000 ppm, dengan menimbang ekstrak etanol kayu secang sebanyak 25 mg, dilarutkan dengan menambah etanol dalam labu ukur 50 mL, dan dibuat variasi konsentrasi 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm, 100 ppm, 125 ppm.

Analisis panjang absorbansi gelombang sampel dilakukan dengan cara memipet 3 mL metanol ditambah dengan 1 mL larutan DPPH dengan pipet, masukkan ke dalam tabung reaksi, dan diamkan selama 30 menit, kemudian, baca panjang absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang serapan gelombang antara 400-800 nm, dan ditentukan panjang gelombang optimumnya.

Analisa uji aktivitas antioksidan ekstrak kayu secang dilakukan dengan cara larutan variasi sampel dimasukan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan 4 mL larutan sampel ke dalam tabung reaksi, menambahkan 1 mL 1000 ppm larutan DPPH terlarut, kemudian menghomogenkan campuran, dan diamkan selama 30 menit. Larutan tersebut diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Perlakuan yang sama juga dilakukan untuk larutan blanko (larutan DPPH yang tidak mengandung bahan uji) dan kontrol positif asam askorbat (vitamin C). Setelah itu, dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dilakukan perhitungan %inhibisi dan nilai IC<sub>50</sub>.

### Analisis Hasil Penelitian

Panjang absorbansi sampel diukur menggunakan spektrofotometri, dan ditentukan daya hambat radikal bebas DPPH 50% menggunakan Microsoft Excel untuk menganalisis hasil penelitian berupa uji aktivitas antioksidan.

Setelah menguapkan ekstrak etanol dalam *rotary vacuum evaporator* pada suhu 78 °C, rendemen dapat ditentukan dengan menimbang produk yang diuapkan pada timbangan analitik, kemudian menghitung rendemen sesuai dengan rumus yang diberikan oleh AOAC, (1999), dalam Aristyanti dkk (2017).

$$\% \text{Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak yang diperoleh (gram)}}{\text{Bobot simplisia sebelum diekstraksi (gram)}} \times 100 \% \quad (1)$$

Menggunakan nilai absorbansi masing-masing sampel dan persamaan berikut, kita dapat menghitung aktivitas penangkapan radikal DPPH yang dinyatakan sebagai persentase redaman.

$$\% \text{ penghambat} = \frac{\text{Abs Blanko} - \text{Abs Sampel}}{\text{Abs Blanko}} \times 100 \% \quad (2)$$

Sampel Abs adalah absorbansi sampel ekstrak dengan penambahan larutan DPPH (ppm), dan Blank Abs adalah absorbansi DPPH tanpa sampel (ppm).

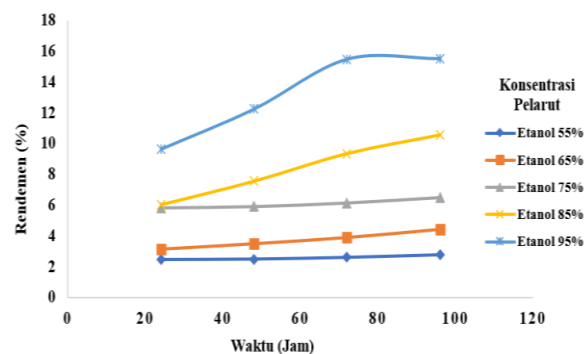
Persentase atenuasi yang dihitung kemudian digunakan sebagai variabel independen dalam persamaan regresi linier  $y = a + bx$ , di mana  $x$  menyatakan konsentrasi dalam mg/L dan  $y$  menyatakan atenuasi dalam persen yang diukur dengan uji DPPH. Jika 50 kita ganti dengan  $y$  pada ( $x$ ), maka kita akan mendapatkan besar nilai  $IC_{50}$  (Pamungkas, 2017).

## Hasil dan Pembahasan

Pada penelitian yang telah dilakukan ini menggunakan bahan baku berupa bubuk kayu secang dari grobogan Jawa Tengah. Penelitian ini menggunakan rasio 1:5 dimana bubuk kayu secang sebanyak 60 gram dan volume pelarut etanol sebanyak 300 mL. Sampel kayu secang dievaporasi menggunakan *rotary vaccum evaporator* dengan suhu 78 °C. Variasi lama waktu maserasi yang digunakan yaitu selama 24, 48,72, dan 96 jam. Konsentrasi pelarut etanol yang digunakan pada proses ini yaitu sebesar 55 %, 65 %, 75 %, 85 %, dan 95 %.

### Pengaruh Lama Waktu Maserasi dan Konsentrasi Pelarut Etanol Terhadap Hasil Rendemen Ekstrak Kayu Secang

Dari segi rendemen, semakin lama waktu maserasi maka hasil rendemen yang diperoleh semakin tinggi, namun pengaruh variasi konsentrasi pelarut etanol yang digunakan juga berpengaruh. Hasil rendemen akan meningkat dengan meningkatnya konsentrasi pelarut etanol. Hal ini dapat dilihat pada grafik gambar 1 sebagai berikut.



Gambar 1. Grafik pengaruh waktu maserasi dan konsentrasi pelarut etanol terhadap hasil rendemen

Besarnya nilai rendemen hasil ekstraksi dapat dipengaruhi oleh banyak variabel, termasuk polaritas pelarut, ukuran partikel, konsentrasi pelarut, dan waktu perendaman, dapat mempengaruhi nilai hasil. Perbedaan kepolaran atau kelarutan antara senyawa aktif yang akan dipisahkan dengan pelarut atau pelarut dapat mempengaruhi efisiensi proses pemisahan pada saat ekstraksi.

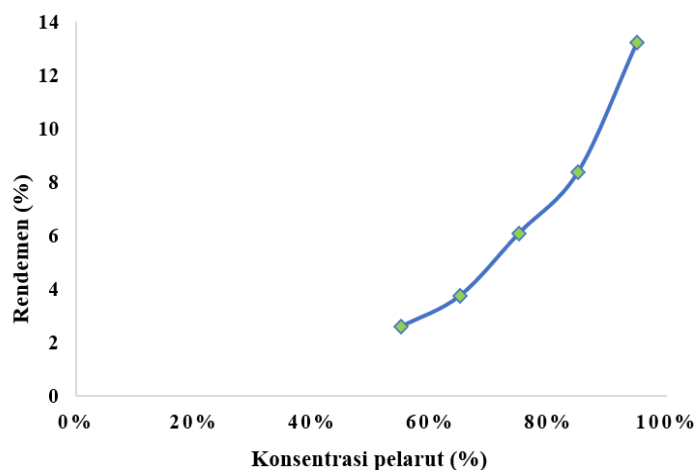
Gambar 1 menunjukkan grafik pengaruh waktu maserasi yang menunjukkan bahwa semakin lama waktu maserasi maka rendemen semakin besar. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa rendemen terendah sebesar 2,45 % diperoleh setelah 24 jam maserasi dengan konsentrasi pelarut etanol yaitu 55 %, sedangkan rendemen tertinggi

15,52 % diperoleh setelah 96 jam maserasi dengan konsentrasi etanol 95 %. Gambar 1 juga menunjukkan bahwa hasil meningkat dengan meningkatnya konsentrasi.

Ditentukan berdasarkan waktu maserasi dan konsentrasi, hasil rendemen ekstrak etanol kayu secang ditunjukkan pada tabel 1. hasil rendemen ekstrak etanol kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*) berikut.

Tabel 1. Hasil rendemen ekstrak etanol kayu Secang (*Caesalpinia sappan L.*)

Konsentrasi sampel (%)	Waktu Maserasi (jam)	Berat Ekstrak (gram)	(%) Rendemen
55	24	1,47	2,45
	48	1,49	2,48
	72	1,56	2,60
	96	1,67	2,78
65	24	1,87	3,12
	48	2,09	3,48
	72	2,34	3,90
	96	2,67	4,45
75	24	3,49	5,82
	48	3,54	5,90
	72	3,68	6,13
	96	3,89	6,48
85	24	3,61	6,02
	48	4,53	7,55
	72	5,61	9,35
	96	6,34	10,57
95	24	5,79	9,65
	48	7,35	12,25
	72	9,29	15,48
	96	9,31	15,52



Gambar 2. Grafik pengaruh konsentrasi pelarut etanol terhadap hasil rendemen

Gambar 1 dan 2 menggambarkan hubungan antara rendemen ekstrak etanol kayu secang dengan konsentrasi pelarut etanol yang digunakan. Hasil meningkat dengan meningkatnya konsentrasi pelarut etanol yang digunakan.

Penelitian ini mengikuti beberapa penelitian lain yang telah menggunakan pelarut etanol. Beberapa pelarut dan tekniknya, menurut penelitian (Septianingsih et al., 2018), dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa *brazilin*. Senyawa *brazilin* pada kayu secang dapat diekstrak menggunakan pelarut air mendidih selama 20 menit pada suhu 70°C. Ekstraksi senyawa *brazilin* berbasis maserasi dengan pelarut etanol

menghasilkan ekstrak yang lebih unggul dibandingkan dengan ekstraksi senyawa *brazilin* yang berbasis aquadest.

Etanol pelarut memiliki polaritas yang sama dengan senyawa yang diekstraksi. Senyawa polar karena adanya banyak gugus hidroksil, *brazilin* termasuk dalam kelas flavonoid yang dikenal sebagai isoflavonoid. Misalnya flavonoid polar seperti lutein akan larut dalam etanol. Akibat berbagi polaritas yang sama, *brazilin* dapat larut dalam etanol. Meningkatkan absorbansi senyawa *brazilin* maka konsentrasi pelarut etanol harus ditingkatkan (Putri et al., 2018).

Persentase hasil juga dapat dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti ukuran simplisia dan pelarut yang digunakan. Semakin luas permukaan serbuk yang akan diekstraksi, atau semakin kecil simplisia, maka semakin banyak kontakannya dengan pelarut, yang menyebabkan lebih banyak interaksi dengan pelarut (Sineke, 2016).

### Identifikasi Kandungan Fitokimia Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan L.*)

Berdasarkan uji fitokimia yang telah dilakukan diperoleh senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, fenolik, dan triterpenoid yang ditemukan dalam ekstrak etanol kayu secang, serta sejumlah senyawa lainnya (tabel 2), aktivitas antioksidan tertinggi didapatkan dari bagian batang kayunya yang juga memiliki kandungan senyawa fenolik tertinggi (Arsiningtyas, 2021). Berdasarkan penelitian secang mengandung flavonoid, *brazilin*, alkaloid, tanin, fenil propane, serta terpenoid (Nomer et al., 2019). Ada dua senyawa penting di dalamnya yang berkhasiat untuk melawan radikal bebas, yaitu fenolik dan flavonoid (Syarif et al., 2015). Berikut merupakan tabel data uji fitokimia ekstrak etanol kayu secang yang telah dilakukan.

Tabel 2. Data uji fitokimia kandungan antioksidan ekstrak etanol kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*)

Kandungan	Hasil Uji	Warna yang Terbentuk
Alkaloid	+	Endapan kecokelatan
Brazilin	+	Biru pudar
Flavonoid	+	Merah orange
Fenolik	+	Jingga
Saponin	+	Tidak ada busa tetap
Tanin	+	Biru kehitaman
Triterpenoid	+	Merah

Keterangan:

(-): Tidak mengandung seanyawa kimia

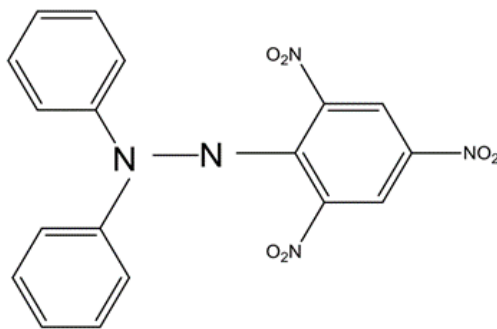
(+): Mengandung senyawa kimia

Analisis fitokimia ekstrak etanol kayu secang (*Caselpania sappan L.*) mengungkapkan adanya kandungan alkaloid, *brazilin*, flavonoid, fenolik, tanin, dan triterpenoid. Di antara bahan aktif dalam ekstrak etanol kayu secang adalah *brazilin*, pigmen yang bertanggung jawab atas rona merah kayu secang, yang memiliki sifat anti-penuaan saat dioleskan. Sesuai dengan temuan penelitian yang dilakukan oleh (Rina, 2013) yang mengidentifikasi senyawa aktif dalam ekstrak etanol kayu secang (*Caselpania sappan L.*) bahwa senyawa yang ada pada kayu secang mempunyai kromofor yang dapat menyerap pada panjang gelombang maksimum sekitar 287 nm dengan pewarnaan merah yang mengalami perubahan karena pH asam. Spektrum IR menginformasikan bahwa senyawa memiliki gugus fungsi -OH dan ikatan rangkap yang berkonjugasi.

## Pengaruh Lama Waktu Maserasi dan Konsentrasi Pelarut Etanol Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caselpania sappan L.*)

Hasil pengujian aktivitas antioksidan pada penelitian dinyatakan dengan parameter  $IC_{50}$ . Nilai  $IC_{50}$  digunakan untuk menggambarkan seberapa baik sampel uji dilakukan dalam hal aktivitas antioksidan. Nilai  $IC_{50}$  di bawah 50 mg/L menunjukkan antioksidan sangat kuat, sedangkan nilai  $IC_{50}$  antara 100 dan 200 mg/L menunjukkan antioksidan cukup kuat, dan nilai  $IC_{50}$  di atas 200 mg/L menunjukkan aktivitas antioksidan lemah (Utari et al., 2017).

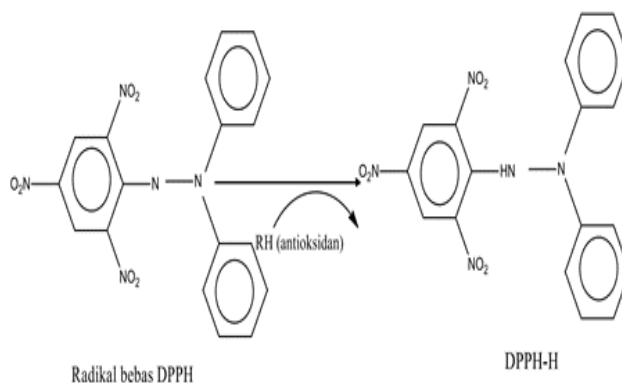
Pengujian aktivitas antioksidan suatu bahan alam dengan menggunakan beberapa metode, salah satu metode yang dapat digunakan yaitu dengan metode DPPH (1,1- diphenyl-2- picrylhydrazil). Uji DPPH (1,1-*diphenyl-2-picrylhydrazil*) adalah salah satu dari beberapa metode yang mungkin untuk menentukan aktivitas antioksidan dari produk alami. Radikal nitrogen organik DPPH memiliki warna ungu tua dan stabil pada suhu kamar, tetapi menjadi tidak stabil pada panjang gelombang 517 nm, memberikan warna oranye kemerahan gelap. Dibandingkan dengan metode lain, DPPH hanya membutuhkan sedikit reagen, menjadikannya pilihan yang sangat nyaman. Bentuk fisik DPPH dapat dilihat pada gambar di bawah ini.



Gambar 3. Struktur radikal DPPH

Reaksi yang terjadi antara DPPH dengan senyawa antioksidan yang bertindak sebagai donor atom, dengan adanya senyawa antioksidan yang berfungsi sebagai donor atom, DPPH dapat mengalami perubahan warna menjadi kuning. Berikut ini adalah interaksi antara DPPH dan antioksidan. Spektrofotometer Uv-Vis yang disetel ke panjang gelombang 515 nm akan mendeteksi pergeseran warna. Senyawa kimia yang diuji dengan radikal stabil dapat ditentukan aktivitas antioksidannya dengan menggunakan metode DPPH. Aktivitas sebagai antioksidan diamati pada konsentrasi yang digunakan untuk menghambat senyawa ( $IC_{50}$ ).

$IC_{50}$  mewakili konsentrasi antioksidan yang diperlukan untuk menonaktifkan 50% karakter radikal DPPH. Untuk aktivitas antioksidan, nilai  $IC_{50}$  yang lebih rendah lebih baik. Reaksi DPPH dengan antioksidan digambarkan pada gambar di bawah ini.

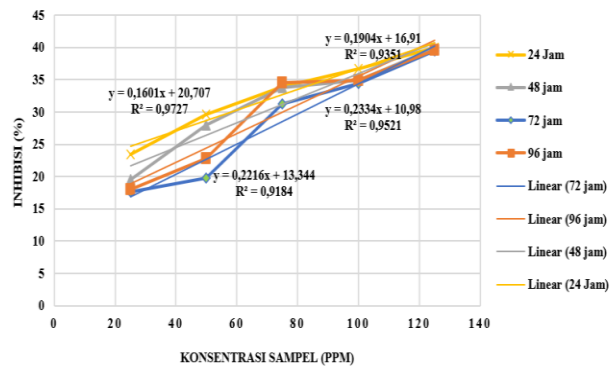




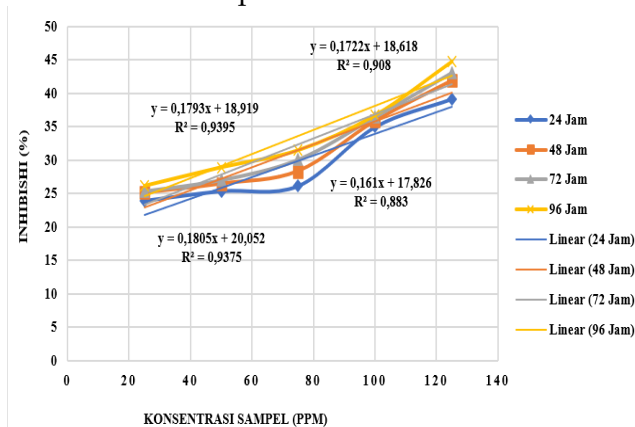
Gambar 4. Mekanisme reaksi DPPH dengan antioksidan

Setelah dilakukan pengujian terhadap aktivitas antioksidan ekstrak etanol kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*), hasilnya dibandingkan dengan yang diperoleh dengan menggunakan larutan pembanding vitamin C. Saat membandingkan vitamin C, senyawa referensi yang dipilih adalah (asam askorbat). Karena senyawa antioksidan alami vitamin C tidak beracun dan tidak membuat ketagihan, senyawa tersebut sering digunakan sebagai standar referensi saat mengevaluasi kemanjuran antioksidan lain (Lung & Destiani, 2017).

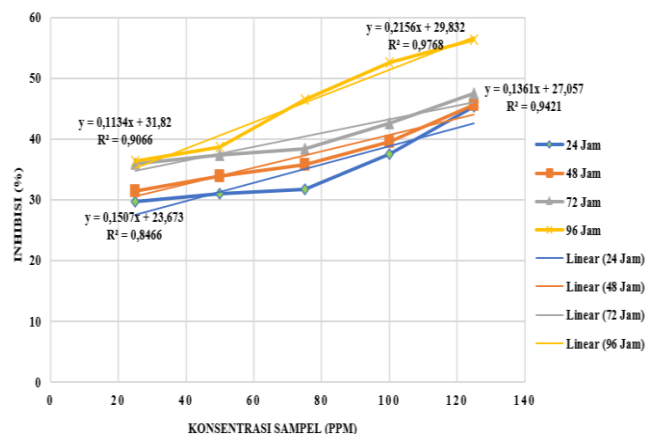
Berikut representasi grafik pengukuran aktivitas antioksidan IC<sub>50</sub> dari kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*) dengan konsentrasi etanol 55 %, 65 %, 75 %, 85 %, dan 95 % dengan variasi waktu maserasi.



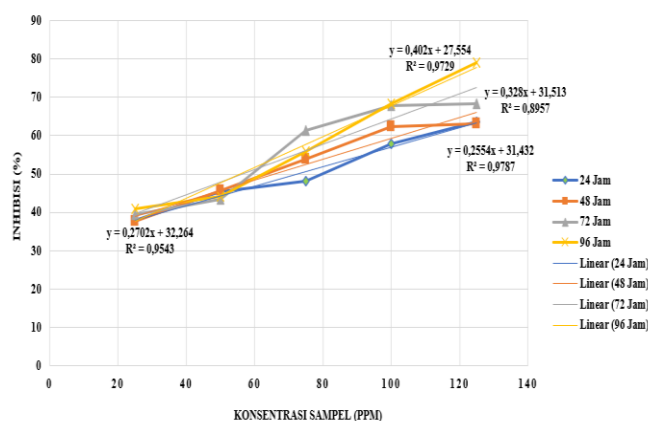
Gambar 5. Grafik uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol kayu secang konsentrasi pelarut 55 %



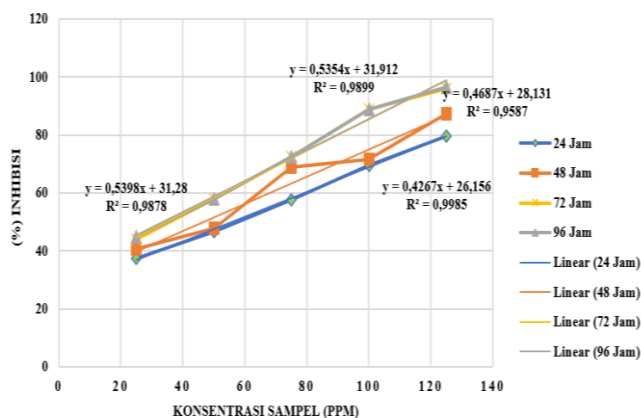
Gambar 6. Grafik uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol kayu secang konsentrasi pelarut etanol 65 %



Gambar 7. Grafik uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol kayu secang konsentrasi pelarut 75 %



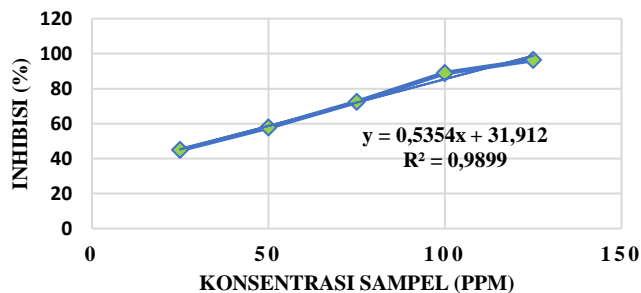
Gambar 8. Grafik uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol kayu secang konsentrasi pelarut 85 %



Gambar 9. Grafik uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol kayu secang konsentrasi pelarut 95 %

Berdasarkan grafik hasil representasi uji antioksidan ekstrak etanol kayu secang pada masing-masing sampel dengan menggunakan variasi waktu maserasi dan konsentrasi terlihat bahwa semakin lama waktu maserasi dan tinggi konsentrasi pelarut etanol maka, %inhibisi juga akan mengalami kenaikan, semakin tinggi %inhibisi berarti semakin kuat aktivitas antioksidan dalam menghambat radikal bebas.

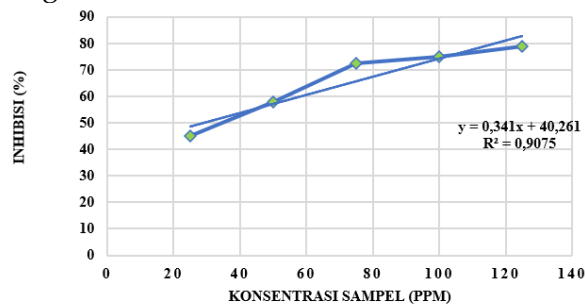
Berikut representasi grafik pengukuran aktivitas antioksidan IC<sub>50</sub> dari konsentrasi etanol 95 % dan waktu maserasi ekstrak etanol kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*) 96 jam.



Gambar 10. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol kayu secang 96 jam konsentrasi pelarut 95 %

Penggunaan konsentrasi pelarut etanol sebesar 95 % dan waktu maserasi 96 jam memberikan hasil terbaik untuk aktivitas antioksidan pada penelitian yang dilakukan (Gambar 10). Ini menghasilkan rumus  $y = 0,5354x + 31,912$ . Dengan mengganti nilai  $y=50$  dalam persamaan  $y=ax+b$ , kita dapat menghitung nilai  $IC_{50}$ , sehingga diperoleh nilai  $IC_{50}$  sebesar 33,78, karena nilai  $IC_{50}$  yang diperoleh lebih rendah dari 50 mg/L, aktivitas antioksidannya dianggap kuat.

Jika dibandingkan dengan vitamin C (asam askorbat), ekstrak etanol kayu secang memiliki nilai  $IC_{50}$  yang lebih rendah, namun masih tergolong kuat. Nilai  $IC_{50}$  vitamin C sebesar 28,56 mg/L diperoleh dari hasil regresi persamaan nilai  $y$ , yaitu  $y=0,341x+40,261$ . Hasil uji aktivitas antioksidan vitamin C digambarkan dalam grafik di bawah ini (asam askorbat). Representasi dari aktivitas antioksidan vitamin C dapat dilihat pada gambar 11 grafik antioksidan vitamin C.



Gambar 11. Grafik antioksidan vitamin C

Aktivitas antioksidan ekstrak etanol kayu secang bervariasi tergantung lama waktu maserasi dan konsentrasi pelarut etanol. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol kayu secang ditemukan bervariasi sebagai fungsi waktu dan konsentrasi maserasi seperti yang ditunjukkan pada tabel di bawah (*Caesalpinia sappan L.*).

Tabel 3. Hasil pengujian antioksidan ( $IC_{50}$ ) ekstrak etanol kayu secang

Konsentrasi Pelarut (%)	Waktu Maserasi (jam)	Inhibisi (%)	$IC_{50}$ (mg/L)
55	24	31,54	182
	48	32,37	173
	72	32,67	167
	96	33,58	165
65	24	29,90	199
	48	31,54	182
	72	32,37	173
	96	33,58	165
75	24	34,97	174
	48	37,26	168
	72	40,32	56,83
	96	46,02	55,53
85	24	50,59	73
	48	52,53	65,64
	72	56,11	56,36
	96	57,70	55,83
24	24	58,16	55,88
	48	63,28	46,66
	72	71,76	34,68
	96	72,07	33,78

Aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol kayu secang meningkat seiring dengan lamanya waktu maserasi. Pengaruh antara penggunaan pelarut etanol dalam berbagai konsentrasi berhubungan lurus dengan aktivitas antioksidan, yang berarti Aktivitas

antioksidan pada ekstrak etanol kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*) meningkat dengan meningkatnya konsentrasi pelarut etanol. Pada tabel 3, terlihat kondisi optimum diperoleh pada lama waktu maserasi yaitu selama 96 jam dan konsentrasi pelarut etanol sebesar 95 %, maka diperoleh aktivitas antioksidan dalam menghambat radikal bebas ( $IC_{50}$ ) paling kuat sebesar 33,78 mg/L. Sehingga dapat ditarik kesimpulan terdapat pengaruh yang nyata antara lama waktu maserasi dan konsentrasi pelarut etanol aktivitas antioksidan.

## Kesimpulan

Kondisi optimum diperoleh pada lama waktu maserasi yaitu selama 96 jam dan konsentrasi pelarut etanol sebesar 95 %, maka diperoleh hasil rendemen sebesar 15,52 %, serta aktivitas antioksidan dalam menghambat radikal bebas ( $IC_{50}$ ) paling kuat sebesar 33,78 mg/L. Dengan demikian dapat ditarik kesimpulan rendemen dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol kayu secang dalam menekan radikal bebas sangat dipengaruhi oleh lama maserasi dan konsentrasi pelarut etanol. Pada ekstrak kayu secang mengandung senyawa flavonoid dan brazilin sebagai antioksidan pencegah penuaan pada kulit.

## Daftar Pustaka

- Arsiningtyas, I. S. (2021). Antioxidant Profile of Heartwood and Sapwood of *Caesalpinia sappan L.* Tree's Part Grown in Imogiri Nature Preserve, Yogyakarta. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 810(1), 12040. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/810/1/012040> DownloadArticle PDF
- Hidayah, N., Nurbani, S. Z., Kusuma, J., & Siregar, A. N. (2021). Identifikasi Senyawa Fitokimia Ekstrak Waru Laut (*Thespesia populnea*) Dari Pesisir Pantai Semarus Kabupaten Natuna. *Jurnal Bluefin Fisheries*, 2(2), 8–19. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.15578/jbf.v2i2.57>
- Iskandar, B., Lukman, A., Elfritri, O., Safri, S., & Surboyo, M. D. C. (2021). Formulasi Dan Uji Aktivitas Anti-Aging Gel Lendir Lidah Buaya (*Aloe vera Linn.*). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 19(2), 154–165. <https://doi.org/https://doi.org/10.35814/jifi.v19i2.907>
- Kammeyer, A., & Luiten, R. M. (2015). Oxidation events and skin aging. *Ageing Research Reviews*, 21, 16–29. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.arr.2015.01.001>
- Lung, J. K. S., & Destiani, D. P. (2017). Uji aktivitas antioksidan vitamin A, C, E dengan metode DPPH. *Farmaka*, 15(1), 53–62. <https://doi.org/https://doi.org/10.24198/jf.v15i1.12805>
- Nirmal, N. P., Rajput, M. S., Prasad, R. G. S. V., & Ahmad, M. (2015). Brazilin from *Caesalpinia sappan* heartwood and its pharmacological activities: A review. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 8(6), 421–430. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2015.05.014>
- Nomer, N., Duniaji, A. S., & Nocianitri, K. A. (2019). kandungan senyawa flavonoid dan antosianin ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*) serta aktivitas antibakteri terhadap *Vibrio cholerae*. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan*, 8(2), 216–225.
- Noval, N., Yuwindry, I., & Syahrina, D. (2019). Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity of Bundung Plants Extract by Dilution Method. *Jurnal Surya Medika (JSM)*, 5(1), 143–154. <https://doi.org/https://doi.org/10.33084/jsm.v5i1.954>
- Putri, A. M., Putri, N. B., Rachmady, R., Dilalah, I., Murwanti, R., & Meiyanto, E. (2018). Secang heartwood ethanolic extract (*Caesalpinia sappan L.*) inhibits mesenchymal

- stem cells senescence. *Indonesian Journal of Cancer Chemoprevention*, 8(3), 126–134. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.14499/indonesianjcanchemoprev8iss3pp126-134>
- Rachmadini, A. K., Poerwantoro, B., & Arifandi, F. (2023). Terapi Hiperbarik Sebagai “Penunda” Penuaan Kulit Ditinjau dari Kedokteran dan Islam. *Cerdika: Jurnal Ilmiah Indonesia*, 3(1), 57–62. <https://doi.org/https://doi.org/10.59141/cerdika.v3i1.509>
- Rina, O. (2013). Identifikasi Senyawa Aktif dalam Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan L.*). *Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung*, 215–218.
- Septianingsih, S. R., Mukaromah, A. H., & Wahyuni, E. T. (2018). Effectiveness Of Secang Wood (*Caesalpinia Sappan L*) Concentration As Natural Indicator For Acidimetry Method. *Prosiding Seminar Nasional & Internasional*, 1(1).
- Setyawardhani, D. A., & Saputri, C. M. (2021). Pembuatan dan Uji Organoleptik Hand Sanitizer dari Daun Mangga (*Mangifera indica*) dengan Metode Maserasi. *Equilibrium Journal of Chemical Engineering*, 4(1), 1–7. <https://doi.org/https://doi.org/10.20961/equilibrium.v4i1.42852>
- Sineke, F. U. (2016). Penentuan kandungan fenolik dan sun protection factor (spf) dari ekstrak etanol dari beberapa tongkol jagung (*Zea mays L.*). *Pharmacon*, 5(1). <https://doi.org/https://doi.org/10.35799/pha.5.2016.11316>
- Syarif, R. A., Muhajir, M., Ahmad, A. R., & Malik, A. (2015). Identifikasi Golongan Senyawa Antioksidan dengan Menggunakan Metode Peredaman Radikal Dpph Ekstrak Etanol Daun *Cordia Myxa L.* *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 2(1). <https://doi.org/https://doi.org/10.33096/jffi.v2i1.184>
- Theafelicia, Z., & Wulan, S. N. (2023). Perbandingan Berbagai Metode Pengujian Aktivitas Antioksidan (Dpph, Abts Dan Frap) Pada Teh Hitam (*Camellia sinensis*). *Jurnal Teknologi Pertanian*, 24(1), 35–44. <https://doi.org/https://doi.org/10.21776/ub.jtp.2023.024.01.4>
- Utari, F. D., Sumirat, S., & Djaeni, M. (2017). Produksi antioksidan dari ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*) menggunakan pengering berkelembaban rendah. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 6(3). <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.17728/jatp.241>