

## Antioxidant Activity of Ethyl Acetate Fraction of *Muntingia calabura* L. Leaves

Imrawati, Suwahyuni Mus, Sahibuddin A Gani, Kafita Inkristi Bubua

Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar, Perintis Kemerdekaan Street Km 13,7 Daya Makassar-Indonesia

---

### Artikel info

Diterima : 16 Sep 2017  
Direvisi : 16 Des 2017  
Disetujui : 22 Des 2017

---

### Keyword

Antioxidant  
Ethyl acetate fraction  
*Muntingia calabura* Linn.  
ABTS method

---

### ABSTRACT

*Muntingia calabura* is one of the plant that has potential as a natural antioxidant. The antioxidant effect of ethyl acetate fraction of *M. calabura* leaves had been done using ABTS (2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic Acid) method. The dried leaves were extracted by maceration method using ethanol than fractinated using water, n-hexane, and ethyl acetate, respectively. The chemical mayor components of *M. calabura* leaves were identified: phenolic, flavonoid and steroid. The concentration of the ethyl acetate fraction for the antioxidant testing in this research was 0.8; 1.0; 1.2; 1.4; and 1.6 ppm compared to vitamin C was 0.6; 0.8; 1.0; 1.2; and 1.4 ppm. The result shows that ethyl acetate fraction has very strong activity as an antioxidant with IC<sub>50</sub> value 1.20 ppm compared with ascorbic acid IC<sub>50</sub> 1.18 ppm. Based on the result, it can be concluded that *M. calabura* leaves had very strong antioxidant activity.

## Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun kersen (*Muntingia calabura* L.) Menggunakan Metode ABTS

---

### Kata kunci

Antioksidan  
Fraksi etil asetat  
*Muntingia calabura* Linn.  
Metode ABTS

---

### ABSTRAK

Kersen (*Muntingia calabura* L.) adalah salah satu tumbuhan yang berpotensi sebagai antioksidan alami. Penelitian tentang uji aktivitas antioksidan fraksi etil asetat daun *M. calabura* dengan menggunakan metode ABTS (2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzotiazolin)-6 sulfonate acid) telah dilakukan. Daun *M. calabura* diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol selanjutnya difraksinasi secara berturut-turut menggunakan pelarut air, n-hexan dan etil asetat. Uji golongan menunjukkan ekstrak etanol mengandung komponen kimia flavonoid, fenolik, dan steroid. Sedangkan hasil uji aktivitas antioksidan menggunakan metode ABTS menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC<sub>50</sub> 1,20 ppm yang sebanding dengan vitamin C (IC<sub>50</sub> 1,18 ppm). Sehingga dapat disimpulkan bahwa daun *M. calabura* berpotensi sebagai sumber oksidan alami.

---

### Koresponden author

Imrawati  
Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar, Perintis Kemerdekaan Street Km 13,7 Daya Makassar-Indonesia

## PENDAHULUAN

Antioksidan merupakan salah satu senyawa yang dapat menginaktifkan radikal bebas, molekul tidak stabil yang dihasilkan oleh berbagai jenis proses kimia normal tubuh atau oleh radiasi sinar ultra violet (UV), asap rokok dan pengaruh lingkungan lainnya. Penambahan antioksidan sintetik pada berbagai produk kosmetik maupun makanan merupakan cara paling efektif untuk mencegah oksidasi lemak pada produk tersebut, tetapi penggunaan antioksidan sintetik perlu mendapat perhatian serius karena beberapa penelitian membuktikan adanya efek toksik dan karsinogenik pada tubuh manusia (Handayani dan sulisty, 2008).

Kersen (*Muntingia calabura* L.) adalah salah satu tumbuhan yang berpotensi sebagai antioksidan alami. Hasanah *et al.* (2016) menyatakan bahwa ekstrak daun *M. calabura* mengandung komponen aktif flavonoid, saponin, dan tanin yang memiliki kandungan tertinggi ketika diekstraksi menggunakan pelarut metanol dan etanol.

Penelitian tentang aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun *M. calabura* juga telah pernah dilaporkan dengan metode *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH) dan *ferric reducing antioxidant power* (FRAP) dengan nilai  $IC_{50}$  berturut-turut adalah 6,82 dan 83,15 ppm, sedangkan pembanding quersetin diperoleh nilai  $IC_{50}$  sebesar 4,24 ppm (Sutrisno, 2016).

Penelitian tentang isolasi senyawa antioksidan ekstrak metanol daun *M. calabura* diketahui bahwa fraksi etil asetat merupakan fraksi yang memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi untuk menghambat radikal bebas (DPPH) dengan nilai  $EC_{50}$  2,81 ppm di bandingkan dengan fraksi-fraksi yang lain (Nanden, 2012).

Pada penelitian ini akan digunakan metode *2,2'-azino-bis (3-ethyl-benzo-thiazoline-6-sulphonic acid* (ABTS) sebagai metode uji aktivitas antioksidan. Metode ABTS dipilih karena memiliki sensitivitas lebih tinggi daripada DPPH dan dapat dipakai untuk menganalisa antioksidan pada makanan. Metode DPPH didasarkan pada kemampuan antioksidan suatu senyawa untuk mendonorkan ion hidrogen ( $H_3O^+$ ), sedangkan pada metode ABTS dilihat berdasarkan kemampuan senyawa tersebut untuk menstabilkan senyawa radikal bebas dengan mendonorkan radikal proton (Fitriana *et al.*, 2015).

Berdasarkan uraian di atas telah diteliti penelitian lebih lanjut tentang aktivitas antioksidan dari fraksi etil asetat daun *M. calabura* dengan menggunakan metode ABTS.

## METODE PENELITIAN

### Bahan penelitian

Bahan yang digunakan seperti etanol 70%; etanol 96%; aquadest; etil asetat; n-heksan; baku vitamin C; asam sulfat; asam asetat anhidrat; serbuk Mg, asam klorida; besi(III) klorida; potasium persulfat; dan ABTS diperoleh dari Merck-Indonesia.

### Pengambilan dan pengolahan sampel

Sampel daun *M. calabura* diambil dari Kelurahan Kapasa Kecamatan Tamalanrea, Makassar - Sulawesi Selatan dicuci bersih dengan air mengalir, dirajang

hingga berbentuk potongan kecil lalu dikeringkan hingga diperoleh simplisia kering.

### Pembuatan ekstrak

Simplisia kering ditimbang sebanyak 500 g, diekstraksi menggunakan metode maserasi pelarut etanol 70% lalu didiamkan selama 5x24 jam, dan sesekali dilakukan pengadukan, kemudian disaring untuk mendapatkan filtratnya, ampas sampel diremaserasi kembali. Filtrat dikumpulkan kemudian dievaporasi pada suhu 40°C dengan *rotary evaporator* (Buchi) hingga diperoleh ekstrak pekat.

### Fraksinasi dengan metode ekstraksi cair-cair (ECC)

Fraksinasi ekstrak dilakukan dengan metode ECC menggunakan pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda dan tidak saling bercampur. Sebanyak 12 g ekstrak kental dilarutkan dengan air 100 mL dan ditambahkan n-heksan dengan perbandingan volume yang sama di dalam corong pisah sampai terekstraksi sempurna dan diperoleh lapisan air dan lapisan n-heksan. Setelah itu fraksi air dimasukkan kembali ke dalam corong pisah dan kemudian ditambahkan pelarut etil asetat dengan perbandingan volume yang sama kemudian dilakukan kembali pengocokan dan pemisahan sehingga diperoleh fraksi air dan fraksi etil asetat. Setelah itu fraksi etil asetat dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan diuapkan diatas penangas air.

### Uji penapisan fitokimia

#### Pengujian Flavonoid

Sebanyak 5 mL ekstrak ditambahkan dengan 2 mL air panas, dididihkan selama 5 menit, kemudian disaring. Filtrat sebanyak 5 mL ditambahkan 0,05 mg serbuk Mg dan 1 mL HCl pekat, kemudian dikocok dengan cepat. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga.

#### Pengujian fenolik

Sebanyak 5 mL ekstrak ditambahkan 10 tetes  $FeCl_3$  1%, hasil positif ditandai dengan warna hijau sampai biru kehitaman.

#### Pengujian saponin

Dipipet sebanyak 5 ml ekstrak lalu ditambahkan 2 tetes HCl 1 N, terbentuk busa dan tetap stabil  $\pm$  7 menit, maka ekstrak positif mengandung saponin.

#### Uji steroid

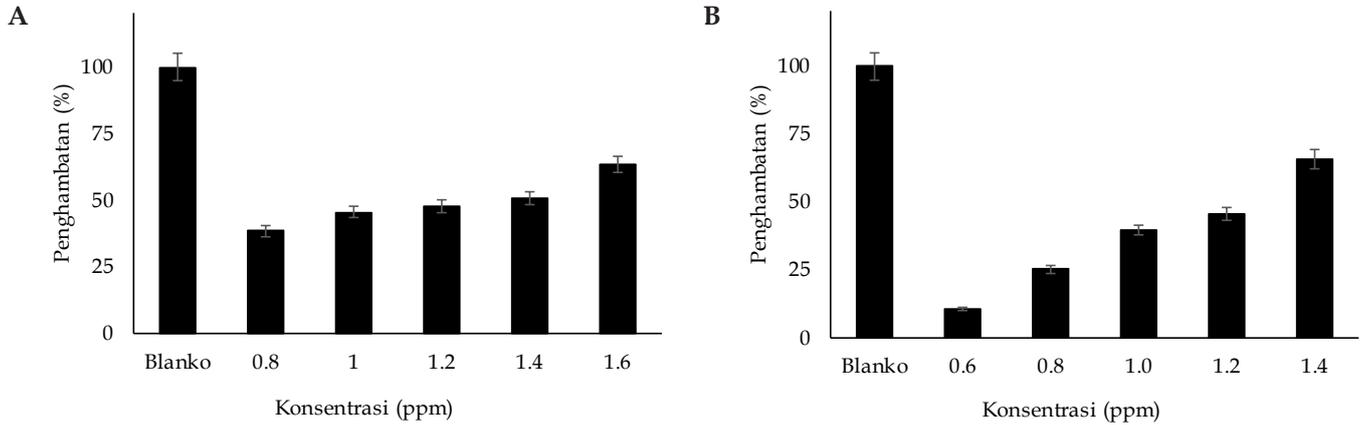
Sejumlah sampel dilarutkan dengan kloroform, kemudian ditambah dengan 2 mL asam asetat anhidrat dan ditambahkan 3 tetes  $H_2SO_4$  pekat. Hasil positif apabila terbentuk warna hijau sampai biru

#### Penentuan aktivitas antioksidan fraksi etil asetat

Larutan stok sampel fraksi etil asetat 1.000 ppm diencerkan hingga didapatkan konsentrasi 100 ppm kemudian dipipet masing-masing 40; 50; 60; 70; dan 80  $\mu$ L, ditambah 1 mL larutan ABTS lalu dicukupkan volumenya sampai 5 mL dengan etanol (konsentrasi akhir 0,8; 1,0; 1,2; 1,4; dan 1,6 ppm). Selanjutnya larutan dihomogenkan lalu di ukur serapan dengan spektrofotometri UV-Vis (Agilent) pada  $\lambda$  749 nm.

## ANALISIS DATA

Persentase peredaman ABTS yang dihasilkan oleh masing-masing konsentrasi fraksi etil asetat dan vitamin C dihitung yang dinyatakan dalam persen



Gambar 1 Perbandingan aktifitas antioksidan fraksi etil asetat daun *M. calabura* (A) terhadap vitamin C (B) pada berbagai konsentrasi (ppm)

sedangkan nilai  $IC_{50}$  didapatkan melalui analisis probit regresi linear.

## HASIL DAN DISKUSI

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun *M. calabura* yang diekstraksi menggunakan metode maserasi penyari etanol 70%. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk kedalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat Aktif akan larut dalam cairan penyari karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan didalam dan diluar sel, sehingga larutan yang terpekat terdesak keluar. Peristiwa ini terjadi berulang-ulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan didalam dan di luar sel. Untuk mengoptimalkan proses ini, maka dilakukan pengulangan maserasi (remaserasi), ampas dari ekstraksi pertama dimaserasi kembali dengan penyari yang sama. Ekstrak yang diperoleh kemudian di saring dan diuapkan sehingga didapatkan ekstrak kental. Dalam penelitian ini, metode maserasi dipilih karena prosedurnya sederhana, mudah, murah, dan dapat menghindari kerusakan senyawa bioaktif akibat panas (Gandjar, 2007).

Hasil maserasi diperoleh ekstrak kental sebanyak 41,32 g (rendamen= 8,26%). Selanjutnya dilakukan uji kualitatif komponen fitokimia, hal ini dilakukan untuk mengetahui keberadaan suatu senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak. Penentuan secara kualitatif dapat dilihat dari perubahan warna atau terbentuknya endapan ketika sampel direaksikan dengan bahan kimia tertentu. Hasil pengujian kualitatif komponen fitokimia ekstrak daun kersen dari berbagai

perlakuan disajikan pada Tabel 1.

Hasil skrining fitokimia dapat dilihat bahwa ekstrak mengandung beberapa komponen metabolit sekunder seperti fenolik, flavonoid, dan steroid. Pada penelitian ini, diperoleh hasil yang negatif untuk pengujian saponin.

Setelah dilakukan skrining fitokimia dilanjutkan dengan fraksinasi menggunakan metode ECC. Fraksinasi dilakukan untuk memisahkan senyawa yang terkandung dalam ekstrak berdasarkan tingkat kepolarannya. Fraksinasi yang dilakukan yaitu menerapkan prinsip distribusi senyawa dalam dua pelarut yang berbeda tingkat polaritasnya yang tidak saling bercampur (Gandjar, 2007). Fraksinasi ini menggunakan tiga pelarut diantaranya pelarut polar yaitu air, pelarut semipolar yaitu etil asetat, dan pelarut nonpolar yaitu n-heksana.

Fraksi etil asetat dipilih karena berdasarkan penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa fraksi ini yang memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi untuk menghambat radikal bebas DPPH ( $EC_{50}$ = 2,80 ppm) di bandingkan dengan fraksi-fraksi yang lain (Nanden, 2012).

Metode ABTS merupakan metode penentuan aktivitas antioksidan yang diperoleh dari hasil oksidasi kalium persulfat dengan garam diammonium ABTS. Adanya aktivitas antioksidan dari sampel ditandai dengan hilangnya warna biru pada pereaksi ABTS (Molyneux, 2004). Besarnya aktivitas antioksidan ditandai dengan nilai  $IC_{50}$ . Nilai  $IC_{50}$  menunjukkan nilai konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk meredam 50% aktivitas radikal bebas ABTS.

Tabel 1 Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol daun *M. calabura*

Identifikasi	Hasil	Keterangan
Fenolik	+	Terbentuk warna biru kehitaman setelah ditambah $FeCl_3$ warna berubah menjadi hijau sampai biru kehitaman
Flavonoid	+	Terbentuk warna merah terbentuk warna merah, kuning atau jingga setelah penambahan serbuk Mg dalam suasana asam
Saponin	-	Setelah dikocok 30 menit timbul buih lebih dari 3 cm, dan ditetesi HCl encer buih tidak menghilang
Steroid	+	Terbentuk warna hijau sampai biru setelah penambahan asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat

Berdasarkan Gambar 1 terlihat bahwa semakin besar konsentrasi sampel maka semakin kecil nilai absorbansinya (aktivitas antioksidan semakin tinggi). Hal ini ditandai dengan semakin besarnya nilai % inhibisi. Fraksi etil asetat daun *M. calabura* memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar 1,20 ppm dan vitamin C sebagai pembanding memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar 1,18 ppm.

Berdasarkan klasifikasi Molyneux nilai  $IC_{50}$  dari fraksi etil asetat dan vitamin C termasuk dalam kategori antioksidan yang sangat kuat yaitu  $< 50$  ppm. Adanya aktivitas antioksidan yang sangat kuat disebabkan karena daun *M. calabura* banyak mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid, selain itu pada penelitian ini sampel daun *M. calabura* yang digunakan sudah berupa fraksi yang lebih murni dibandingkan ekstrak. Faktor lain yang mempengaruhi tingginya aktivitas antioksidan yaitu waktu maserasi sampel yang maksimal pada saat proses ekstraksi yaitu selama 5 hari sehingga senyawa yang berkhasiat sebagai antioksidan terekstraksi dengan baik.

#### KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan pada Fraksi etil asetat daun *M. calabura* dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat mampu meredam radikal bebas ABTS dengan nilai  $IC_{50}$  1,20 ppm dan termasuk dalam kategori antioksidan yang sangat kuat.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Fitriana W D, Fatmawati S, Efram T. Uji aktivitas antioksidan terhadap DPPH dan ABTS dari fraksi-fraksi daun kelor (*Moringa oleifera*). Prosiding Simposium nasional Inovasi dan Pembelajaran Sains. 2015; 657-660
- Gandjar G H, Rohman A. Kimia farmasi analisis, Pustaka Pelajar. 2007. Yogyakarta
- Handayani R, Sulisty J. Sintesis senyawa flavonoid- $\alpha$ -glikosida secara reaksi transglikosilasi enzimatis dan aktivitasnya sebagai antioksidan. Biodiversitas. 2008;9(1); 1-4
- Hasanah M, Andriani N, Noprizon. Perbandingan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura* L.) hasil ekstraksi maserasi dan refluks. Scientia. 2016;6(2); 84-90
- Molyneux P. The use of the stabil free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Journal of science technology. 2004;26; 211-219
- Nanden N. Isolasi senyawa antioksidan ekstrak metanol daun kersen (*Muntingia calabura* Linn). Skripsi: Universitas Jendral Achmad Yani. 2012. Cimahi
- Sutrisno B. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura* L.) dengan metode DPPH (1,1- difenil-2-pikrilhidrazil) dan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). Skripsi: Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi. 2016. Makassar