

## Pengaruh Metode Maserasi dan Soxhletasi Terhadap Kandungan Senyawa Penangkap Radikal Bebas Daun Kersen Menggunakan LC-MS

*The Effect of Maceration and Soxhletation Methods on The Content of Free Radical Scrapping Compounds in Kersen Leaves Using LC-MS*

Afidatul Muadifah<sup>1\*</sup>, Amalia Eka Putri<sup>1</sup>, Desti Linda Dwi Rahmawati<sup>1</sup>, Sandi Mahesa Yudhantara<sup>2</sup>

<sup>1</sup> STIKES Karya Putra Bangsa

<sup>2</sup> Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Nusaputera

Corresponding author: Afidatul Muadifah | Email: afidatul.muadifah@stikes-kartrasa.ac.id

Submitted: 02-09-2024

Revised: 22-05-2025

Accepted: 03-06-2025

### ABSTRAK

Daun Kersen (*Muntingia Calabura* L.) mempunyai senyawa metabolit sekunder seperti fenol, flavonoid, terpenoid, tanin, saponin dan alkaloid yang berpotensi menjadi penangkap radikal bebas alami. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan kandungan senyawa penangkap radikal bebas di daun kersen (*Muntingia Calabura* L.) yang diekstraksi secara maserasi dan soxhletasi. Analisis senyawa pada daun kersen (*Muntingia Calabura* L.) menggunakan *Liquid Chromatograph Mass Spectrometry* (LCMS). Hasil analisis LCMS ekstrak maserasi daun kersen (*Muntingia Calabura* L.) yaitu terdapat 85 senyawa terdiri dari flavonoid 68,63%, fenol 11,67%, terpenoid 2,77%, alkaloid 0,3%, saponin 2,2%, dan tanin 1,3%. Pada ekstrak soxhletasi terdapat 92 senyawa terdiri dari flavonoid 71,47%, fenol 10,16%, terpenoid 23,91%, alkaloid 1,04%, tanin 1,4%, dan saponin 1,5%. Analisis senyawa LCMS juga diperkuat dengan uji aktivitas penangkapan radikal bebas menggunakan DPPH pada ekstrak soxhletasi nilai IC<sub>50</sub> 69,428 ppm sedangkan ekstrak maserasi 74,407 ppm, kedua ekstrak dikategorikan penangkap radikal bebas kuat. Dengan demikian, kandungan senyawa penangkap radikal bebas hasil analisis dengan LC-MS pada daun kersen (*Muntingia Calabura* L.) dari metode ekstraksi soxhletasi memperoleh persentase (% kadar) yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstraksi maserasi, didukung dengan uji DPPH ekstraksi soxhletasi dapat menghasilkan nilai IC<sub>50</sub> lebih kecil dari pada metode maserasi.

**Kata kunci:** Daun kersen; Penangkapan radikal bebas; Maserasi; Soxhletasi; *Liquid Chromatograph Mass Spectrometry*; DPPH.

### ABSTRACT

Kersen leaves (*Muntingia Calabura* L.) have secondary metabolite compounds such as phenols, flavonoids, terpenoids, tannins, saponins and alkaloids that have the potential to be natural free radical scavengers. This study aims to compare the content of free radical scavenger compounds in kersen leaves (*Muntingia Calabura* L.) extracted by maceration and soxhletation. Analysis of compounds in kersen leaves (*Muntingia Calabura* L.) using *Liquid Chromatograph Mass Spectrometry* (LCMS). The results of the LCMS analysis of macerated extracts of kersen leaves (*Muntingia Calabura* L.) contained 85 compounds consisting of 68.63% flavonoids, 11.67% phenols, 2.77% terpenoids, 0.3% alkaloids, 2.2% saponins, and 1.3% tannins. In the soxhlet extract there are 92 compounds consisting of flavonoids 71.47%, phenols 10.16%, terpenoids 23.91%, alkaloids 1.04%, tannins 1.4%, and saponins 1.5%. The analysis of LCMS compounds was also strengthened by the free radical scavenging activity test using DPPH on the soxhlet extract with an IC<sub>50</sub> value of 69.428 ppm while the maceration extract was 74.407 ppm, both extracts were categorized as strong free radical scavengers. Thus, the content of free radical scavenging compounds from the analysis using LC-MS in cherry leaves (*Muntingia Calabura* L.) from the soxhlet extraction method obtained a higher percentage (% content) compared to the maceration extraction, supported by the DPPH test soxhlet extraction can produce a smaller IC<sub>50</sub> value than the maceration method.

**Keywords:** Kersen leaves; Free radical scavenging; Maceration; Soxhletation; Liquid Chromatograph Mass Spectrometry; DPPH

## PENDAHULUAN

Indonesia negara yang kaya keragaman hayati sehingga dapat dimanfaatkan sebagai tanaman obat tradisional. Dalam dunia kesehatan, obat tradisional memiliki peranan penting, oleh karena itu perlu adanya pengembangan obat tradisional sehingga dapat memperoleh khasiat yang bermanfaat bagi kesehatan (Monica *et al.*, 2017). Dari berbagai jenis tchan obat yang mempunyai beragam khasiat salah satunya yaitu tumbuhan kersen (*Muntingia Calabura L.*), dipercaya mempunyai kandungan senyawa penangkap radikal bebas. Senyawa penangkap radikal bebas yaitu suatu senyawa yang berfungsi sebagai pencegah radikal bebas yang berada di dalam tubuh (Parfati *et.al.*, 2016). Radikal bebas yaitu suatu senyawa kimia yang terdiri dari atom atau molekul serta elektron yang tidak memiliki pasangan. Dampak radikal bebas dapat mengakibatkan adanya berbagai penyakit salah satunya penyakit degeneratif yang dapat menurunkan kualitas hidup, dampak radikal bebas dapat ditanggulangi oleh penangkapan radikal bebas yang bekerja dengan cara menghambat radikal bebas baru yang ada didalam tubuh (Ariyanti & Aditya., 2016).

Metode ekstraksi yang dipakai pada penelitian ini adalah menggunakan metode ekstraksi maserasi dan soxhletasi, metode ini dapat menarik senyawa yang berpotensi sebagai penangkap radikal bebas yang mana terkandung di daun kersen (*Muntingia Calabura L.*). Ekstraksi maserasi dipilih karena metode ini tidak menggunakan pemanasan sehingga dapat menghindari rusaknya senyawa (Asworo & Widwastuti., 2023). Metode soxhletasi dipilih karena metode ini bekerja dengan cara penyaringan secara berulang sehingga mendapatkan hasil yang sempurna dan pelarut yang digunakan relatif sedikit (Anam., 2014).

Penelitian ini menggunakan analisis kuantitatif yang bertujuan untuk menentukan kadar (%) kandungan senyawa penangkap radikal bebas dalam daun kersen (*Muntingia Calabura L.*) menggunakan instrumen LC-MS (*Liquid Chromatography- Mass Spectrometer*). LC-MS merupakan gabungan dari *Liquid Chromatography* (Kromatografi Cair) yang berperan dalam memisahkan sampel dan diteruskan *Mass Spectrometer* (Spektrometri Massa) sebagai pendeteksi muatan ion (detector). Data yang diperoleh dari LC-MS berupa berat molekul, struktur, identitas, dan kuantitas komponen sampel. Adapun keunggulan dari LC-MS yaitu dapat mengidentifikasi banyak suatu komponen yaitu jenis senyawa dan massa molekul yang tinggi (Mangurana *et al.*, 2019).

Berdasarkan uraian diatas, penelitian ini bertujuan untuk memahami pengaruh metode maserasi serta soxhletasi terhadap kandungan senyawa penangkap radikal bebas daun kersen (*Muntingia Calabura L.*) di Desa Panggungsari, Kecamatan Durenan, Kabupaten Trenggalek, menggunakan analisis *Liquid Chromatography - Mass Spectroscopy* (LC-MS) dan uji aktivitas penangkapan radikal bebas menggunakan DPPH.

## METODE

### Alat

Pada penelitian ini menggunakan serangkaian alat maserasi, serangkaian alat soxhletasi, serangkaian alat *Liquid Chromatograph-tanden Mass Spectrometry* (LC-MS) (Shimadzu LCMS-800) untuk menganalisa senyawa penangkap radikal bebas daun kersen, seperangkat alat spektrometri UV-Vis (N4S) untuk mengetahui kategori senyawa penangkapan radikal bebas dengan memberikan suatu data berupa absorbansi untuk menghitung IC<sub>50</sub>, seperangkat *waterbath* untuk proses pemekatan, peralatan gelas, timbangan digital (Acis), blender, sudip, penjepit kayu, keras saring, ayakan mess no.60, aluminium foil dan pembakar spiritus.

### Bahan

Bahan diperlukan untuk percobaan riset ini meliputi daun kersen (*Muntingia Calabura L.*) berwarna hijau tua, etanol 96% (ABSOLUTE) untuk pembuatan ekstrak, aquadest, vitamin C (asam askorbat) murni sebagai kontrol positif, C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>, reagen kloralhidrat, reagen HCL 10%, Mg, reagen Mayer, Wagner, Dagendrof, Kloroform, ammonia, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, HCL 2N, FeCl<sub>3</sub>, senyawa DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) yang merupakan radikal bebas sintetik.

### Populasi Penelitian

Populasi dalam percobaan riset menggunakan daun kersen (*Muntingia Calabura L.*) di Desa Panggungsari, Kecamatan Durenan, Kabupaten Trenggalek. Populasi merupakan total dari elemen yang telah diteliti secara lanjut (Firmansyah *et al.*,2022).

### Sampel Penelitian

Dalam penelitian ini menggunakan sample berbentuk daun kersen (*Muntingia Calabura L.*) segar yang ditandai dengan daun yang berwarna hijau dan utuh (Evi, 2013). Alasan menggunakan bagian daun yaitu karena pada bagian daun memiliki potensi sebagai penangkapan radikal bebas (LeanLe *et al.*,2016).

### Determinasi

Determinasi dilakukan di Laboratorium Herbal Matreria Medika Batu. Determinasi bertujuan untuk melihat identitas tanaman yang digunakan berdasarkan klasifikasi ilmiah.

### Pembuatan Simplisia

Sampel daun kersen yang dipetik pada pagi hari supaya masih segar, daun yang segar ditandai dengan daun yang berwarna hijau dan utuh (Evi.,2013). Setelah dipetik, kemudian daun kersen disortasi basah terlebih dahulu kemudian dicuci dengan air bersih mengalir sebanyak 3 kali pengulangan, sebelum dikeringkan daun kersen yang sudah bersih dirajang terlebih dahulu supaya mempercepat proses pengeringan (Parfati, 2018). Pengeringan dilakukan dibawah sinar matahari tidak langsung agar kandungan kimia dalam daun tidak terjadi kerusakan (Evi, 2013). Simplisia yang telah dikeringkan selanjutnya dilakukan proses sortasi kering. Sortasi kering bertujuan untuk memisahkan benda asing, seperti bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotor yang masih tertinggal pada simplisia kering (Parfati, 2018).

### Karakteristik Simplisia

#### Makroskopis

Uji makroskopik bertujuan untuk melihat bentuk, warna, dan bau yang khas pada simplisia daun kersen (*Muntingia Calabura L.*) sesuai dengan standarisasi yang terdapat pada Farmakope Herbal Edisi 1.

#### Susut Pengeringan

Susut pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air yang terdapat pada simplisia supaya tidak ditumbuhi oleh bakteri dan kapang, syarat susut pengeringan simplisia daun pada farmakope herbal edisi 1 kurang dari 10% (Wijaya.,2022).

$$\text{Susut pengeringan: } \frac{\text{Berat akhir}}{\text{Berat awal}} \times 100\%$$

Berat awal: Berat simplisia sebelum dikeringkan; Berat akhir: Berat simplisia sesudah dikeringkan

#### Uji Kadar Air Simplisia

Penetapan kadar air simplisia dengan cara dipanaskan cawan uji dengan menggunakan oven dengan suhu 105 °C selama 30 menit. Setelah itu dimasukkan 1 g sampel kedalam cawan dan ditimbang. Kemudian panaskan cawan yang berisi sampel kedalam oven selama 30 menit dengan suhu 105 °C. Setelah pemanasan telah selesai lalu dinginkan cawan yang berisi sampel selama 15 menit dan setelah itu ditimbang cawan yang berisi sampel setelah pemanasan, tujuan penetapan kadar air simplisia untuk mengetahui batasan kandungan air pada simplisia (Wandira.,2023).

Kadar air simplisia menurut Farmakope Indonesia Edisi I tidak lebih dari 10%, jika kandungan air simplisia terlalu tinggi maka akan ditumbuhi oleh mikroba, jamur, dan kapang serta dapat memicu reaksi enzimatis atau pembusukan pada ekstrak (Pambudi.,2021).

$$\text{Rumus \% kadar air} = \frac{B-(C-A)}{B} \times 100\%$$

Keterangan: A: berat cawan (g); B: berat sampel (g); C: berat cawan + sampel

### Pembuatan Serbuk Simplisia

Sebelum bahan diekstraksi harus melalui pembuatan serbuk simplisia terlebih dahulu. Pembuatan serbuk simplisia merupakan proses awal dari pembuatan suatu ekstrak. Serbuk simplisia dibuat dari serbuk simplisia utuh atau potongan halus simplisia yang sudah dikeringkan melalui proses pembuatan serbuk dengan suatu alat tanpa menyebabkan kerusakan kandungan kimia yang dibutuhkan kemudian diayak hingga terdiri dari serbuk sangat kasar, kasar, agak kasar, halus dan sangat halus (Farmakope Herbal Indonesia, 2017). Daun kersen yang sudah kering dibuat dalam bentuk serbuk dengan cara dihaluskan menggunakan blender, kemudian diayak menggunakan ayakan mesh no.60 (Lean et.al., 2017).

### Pembuatan Ekstrak

#### Maserasi

Sebanyak 200gram serbuk simplisia daun kersen (*Muntingia Calabura* L.) dituangkan ke dalam bejana berwarna gelap, kemudian ditambah dengan 2 mL pelarut etanol 96% dan ditutup rapat-rapat agar tidak terkena sinar matahari secara langsung. Perendaman dilaksanakan selama 3 hari sambil diaduk 8 jam sekali. Setelah 3 hari, gabungan dari etanol dan simplisia lalu disaring 2 kali, pada proses pertama saring pertama kain bersih, kemudian penyaringan kedua dengan penyaring kertas saring. Filtrat ekstraksi maserasi yang diperoleh dipekatkan dengan menggunakan *waterbath*.

#### Soxhletasi

Serbuk simplisia daun kersen (*Muntingia Calabura* L.) dengan jumlah 50gram dibungkus dengan kertas saring berbentuk selongsong, diikatkan menggunakan seutas benang, dimasukkan pada labu alas bulat pada soxhlet, kemudian ditambahkan 500 mL etanol 96% dalam labu alas bulat untuk merendam simplisia. Pemanas kemudian dihidupkan, dan proses soxhletasi dilakukan sampai filtrat pada lengan siphon berubah menjadi jernih. Suhu yang digunakan pada proses soxhletasi 55°C dan dilakukan pengawasan supaya suhu tidak naik, filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan menggunakan *waterbath*.

### Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak

#### Rendemen Ekstrak

Persen rendemen bertujuan untuk mengetahui berapa banyak ekstrak yang didapatkan dari simplisia yang digunakan (Muslihin & Budiyanto.,2020). Menurut penelitian (Senduk et al., 2020) bahwa nilai rendemen daun kersen yang baik adalah > 10%, semakin tinggi nilai dari rendemen yang dihasilkan maka semakin tinggi kandungan zat yang tertarik pada bahan baku.

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot akhir ekstrak}}{\text{Bobot awal simplisia}} \times 100\%$$

#### Uji Bebas Etanol

Uji bebas etanol bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya etanol yang terkandung dalam ekstrak. Uji ini dilakukan dengan cara masukkan 1 ml ekstrak kental ke dalam tabung reaksi, ditambah 2 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dan 2 tetes asam asetat kemudian dipanaskan. Ekstrak dapat dikatakan bebas etanol jika tidak ada bau ester yang khas dari etanol (Wahyuningsih, 2021).

### Analisis Kualitatif

#### Identifikasi Fenol

Sampel ekstrak kental daun kersen (*Muntingia Calabura* L.) sebanyak 1 ml dituangkan di tabung reaksi ditambah aquadest selanjutnya dididihkan ±5 menit kemudian disaring. Filtrat yang dihasilkan dituangkan pada tabung reaksi ditambahkan FeCl<sub>3</sub> 1% pada dinding tabung. Jika positif adanya fenol ditandai dengan terjadi perubahan warna biru-hitam atau hijau kehitaman (Wahyuningsih, 2021).

#### Identifikasi Flavonoid

Sampel ekstrak kental daun kersen yang sudah ditambahkan air dididihkan selama 5 menit, disaring, kemudian dikocok, ada atau tidaknya flavonoid ditandai dengan timbulnya warna merah (Wahyuningsih, 2021).

#### Identifikasi Alkaloid

Pada uji alkaloid dilakukan dengan 3 pereaksi yaitu Mayer, Weagner, dan Dragendroff. Sampel ekstrak kental daun kersen ditambahkan air, didihkan  $\pm 5$  menit kemudian dilakukan penyaringan. Hasil filtrat yang diperoleh dibagi 3 kemudian ditambahkan masing-masing 4 tetes reagen Mayer, Wagner, dan Dragendroff. Jika positif alkaloid akan membentuk endapan warna putih di reaktan Mayer, terdapat endapan warna coklat di reaktan Weagner, endapan berwarna jingga di reaktan Dragendroff (Wahyuningsih, 2021).

#### Identifikasi Saponin

Sampel ekstrak kental etanol daun kersen di didihkan terlebih dahulu dengan aquades, kemudian diambil sebanyak 5 ml dan disaring, kemudian filtratnya dituangkan dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan aquadest, dikocok kuat  $\pm 1$  menit dan ditambahkan HCl. Jika positif adanya saponin ditandai dengan adanya gelembung busa (Wahyuningsih, 2021).

#### Identifikasi Tanin

Sampel ekstrak kental etanol daun kersen 1 ml dituangkan pada tabung reaksi ditambah aquadest selanjutnya didihkan  $\pm 5$  menit kemudian disaring. Filtrat yang dihasilkan dituang pada tabung reaksi selanjutnya ditambahkan  $\text{FeCl}_3$  1% pada dinding tabung. Jika mengandung tanin ditandai dengan terjadi pembentukan warna biru-hitam atau hijau kehitam-hitaman (Wahyuningsih, 2021).

#### Identifikasi Terpenoid

Sampel ekstrak kental daun kersen 1 ml dituang pada tabung reaksi selanjutnya ditambah aquadest dan dididihkan  $\pm 5$  menit kemudian disaring, Selanjutnya ditambahkan samaset anhidrat, kloroform dan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat pada filtrat. Penambahan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  bertujuan untuk memutuskan ikatan gula pada senyawa. Jika ditandai dengan terbentuknya cincin merah maka dinyatakan positif terpenoid (Chandra *et al.*, 2019).

#### Analisis Kuantitatif

Analisis Senyawa Penangkap Radikal Bebas Menggunakan *Liquid Chromatograph Mass Spectrometry* (LC-MS)

Perlakuan uji LCMS yaitu ekstrak kental (hasil soxhletasi) dilarutkan menggunakan metanol, dengan perbandingan 1:5 (2 mg ekstrak kental daun kersen (*Muntingia Calabura* L.) : 10 mL methanol) Kemudian disaring melalui filter *cellulose acetate* 0,45  $\mu\text{m}$  untuk menghilangkan matriks pengganggu (garam, protein, atau lipid), dan dilanjutkan dengan proses *degassing*. Analisis LCMS menggunakan UPLC-MS (*Ultra Performance Liquid Chromatography- Mass Spectrometry*) yang sudah dilengkapi pompa biner. LC (*Liquid Chromatography*) di hubungkan dengan spektrometer massa *Quadrupole Time-of-Flight* (QTOF) dilengkapi sumber ionisasi *Elektrospray Ionization* (ESI). *Mass Spektrometry* (MS) yang digunakan, yaitu sistem QTOF dengan mode ionisasi positif. Parameter ESI (*Elektrospray Ionization*) yang digunakan meliputi suhu kapiler 350°C dan gas mengabut 60 mL/HR, sumber tegangan 5,0V. Modus full scan dari m/z 100-5000 dilakukan dengan suhu sumber 100°C. Kolom UPLC yang digunakan adalah tipe *Shimadzu Shim Pack* FC-ODS ( 2 mm X 150 mm, 3  $\mu\text{m}$ ). Eluen yang digunakan adalah etanol 96% Eluen diatur dengan laju alir sebesar 0,5 mL/menit (Muadifah *et.al.*, 2024)

#### Uji Aktivitas Penangkapan radikal bebas

##### Pembuatan Larutan DPPH 50 ppm

Menimbang 5 mg DPPH selanjutnya dilarutkan dalam 100 mL etanol pada labu ukur, sehingga memperoleh konsentrasi sebesar 50 ppm.

#### Penentuan panjang Gelombang Optimum Larutan DPPH

Sejumlah 4 mL larutan DPPH 50 ppm dituang pada tabung reaksi, selanjutnya didiamkan  $\pm 30$  menit dan diukur absorbansinya. Panjang gelombang maksimal dilihat dengan spektrofotometer UV-Vis pada rentang 400 - 800 nm.

#### Aktivitas Penangkapan radikal bebas Ekstrak Daun Kersen dan Vitamin C

Membuat larutan stok Ekstrak kental daun kersen (*Muntingia Calabura* L.) dengan konsentrasi 100 ppm, selanjutnya dilakukan pengenceran 3 variasi konsentrasi yaitu 10 ppm, 50 ppm, dan 100 ppm menggunakan pelarut etanol. Pengujian dilakukan dengan memipet sejumlah 2 mL pada masing-masing konsentrasi larutan kemudian dituangkan ke tabung reaksi dan ditambah 4 mL DPPH 50 ppm. Selanjutnya diinkubasi  $\pm 30$  menit. Larutan dihomogenkan dengan cara digojok dan masing-masing larutan dilihat absorbansinya dalam panjang gelombang optimum pada spektrofotometer UV-Vis.

Larutan standar yang digunakan pada uji aktivitas penangkapan radikal bebas adalah larutan vitamin C. Standar vitamin C dibuat larutan stok dengan konsentrasi 500 ppm. Kemudian dilakukan pengenceran dalam 3 variasi konsentrasi (1 ppm, 5 ppm, dan 10 ppm) dengan pelarut etanol. Masing-masing konsentrasi standar vitamin C dipipet sebanyak 2 mL dan ditambah dengan 4 mL DPPH 50 ppm. Lalu, diinkubasi  $\pm 30$  menit dan dilakukan pengukuran serapan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang optimum. Hasil serapan yang diperoleh dipergunakan untuk melihat persen peredaman radikal bebas (% inhibisi) kemudian dibuat kurva regresi linier hubungan antara % inhibisi dengan konsentrasi standar vitamin C. Berdasarkan persamaan kurva regresi linier dapat ditentukan nilai  $IC_{50}$ .

#### Penentuan Presentase Aktivitas Penangkapan radikal bebas (% Inhibisi) dan Nilai $IC_{50}$

Presentase inhibisi ditentukan dengan rumus sebagai berikut:

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

Keterangan: Absorbansi Blanko: Larutan DPPH yang tidak ditambahkan larutan uji; Absorbansi Sample: Ekstrak kental daun kersen (*Muntingia Calabura* L.).

Setelah diperoleh % inhibisi dari beberapa macam konsentrasi dilanjutkan dengan mengitung secara regresi liniernya dengan persamaan;  $y = a + bx$

Aktivitas penangkapan radikal bebas dapat dinyatakan dari nilai  $IC_{50}$  (*Inhibitory Concentration* 50%). Nilai  $IC_{50}$  yaitu nilai konsentrasi penangkapan radikal bebas yang dapat menangkak 50% radikal bebas DPPH. Jika nilai  $IC_{50}$  makin kecil maka aktivitas penangkapan radikal bebas senyawa atau ekstrak tersebut semakin bagus. Nilai  $IC_{50}$  dapat dihitung dengan rumus:

$$IC_{50} = (50 - a) : b$$

Dimana:  $y$  = Variabel terikat (% inhibisi);  $x$  = Variabel bebas (konsentrasi larutan sampel);  $a$  = Intersep (dari persamaan regresi linier);  $b$  = Koefisien regresi

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Pembuatan Ekstrak

Daun Kersen (*Muntingia Calabura* L.) yang digunakan adalah daun yang berwarna hijau dan tidak berlubang. Tujuannya untuk mendapatkan daun dengan pertumbuhan dan proses fotosintesis yang maksimal sehingga dugaan kandungan zat aktifnya banyak. Kemudian dilanjutkan dengan melakukan sortasi basah yaitu untuk memisahkan zat pengotor dengan tanaman lain yang bagiannya tidak digunakan, agar bisa mendapatkan daun kersen yang layak untuk proses pencucian, maka dilakukan pencucian sebanyak 3 kali dengan air mengalir dan ditiriskan. Setelah pencucian selesai daun yang sudah melalui proses pencucian kemudian dilakukan perajangan. Daun yang sudah dirajang kemudian dilakukan proses pengeringan dibawah sinar matahari tidak langsung supaya kandungan senyawa yang terdapat pada daun tidak rusak. Simplisia kering kemudian dilakukan sortasi kering. Tujuan sortasi kering yaitu memisahkan bagian tanaman yang tidak diperlukan dan kotoran yang masih tertinggal di simplisia kering (Parfati.,2018). Daun kersen yang sudah di sortasi

kering dilakukan penimbangan untuk mengetahui susut pengeringan daun kersen. Daun kersen yang sudah kering kemudian dilakukan pengecilan partikel dengan cara dihaluskan menggunakan blender. Serbuk yang terbentuk dari penghalusan dilakukan penyaringan menggunakan ayakan dengan ukuran mesh 60 agar serbuk daun kersen memperoleh ukuran yang seragam (Tiara *et al.*, 2022). Nilai persentase bobot kering terhadap bobot basah dan kadar air yang terdapat dalam simplisia daun kersen (*Muntingia Calabura L.*) dapat dilihat pada Tabel I.

Hasil susut pengeringan yang diperoleh sebanyak 9,6%, daun kersen mengalami penyusutan dari 6 kg berat basah menjadi 0,58 kg berat kering dan hasil kadar air yang diperoleh yaitu sebesar 8,6%, syarat susut pengeringan simplisia daun pada farmakope herbal edisi 1 kurang dari 10% (Wijaya, 2022). Sehingga dapat disimpulkan bahwa susut pengeringan simplisia dan kandungan air pada daun kersen (*Muntingia Calabura L.*) sesuai dengan standart mutu Farmakope Herbal Indonesia.

Pada proses ekstraksi baik secara dingin (maserasi) maupun secara panas (soxhletasi) pelarut yang digunakan adalah etanol 96%. Etanol 96% mampu menarik semua senyawa yang bersifat polar, semi polar, maupun yang non polar dan cepat masuk ke dinding sel sampel dari pada etanol konsentrasi lebih rendah, sehingga memperoleh hasil ekstrak lebih pekat (Wendersteyt *et.al.*, 2021). Hasil uji rendemen ekstrak pekat daun kersen (*Muntingia Calabura L.*) yaitu sebanyak 11 % untuk maserasi dan 12 % untuk soxhletasi. Hasil uji rendemen dan uji bebas etanol dapat dilihat pada tabel II.

Hasil uji rendemen pada daun kersen (*Muntingia Calabura L.*) sesuai standart pada Farmakope Herbal Indonesia, bahwa nilai rendemen daun kersen yang bagus adalah > 10%. Dari hasil uji bebas etanol baik dari ekstraksi maserasi dan soxhletasi yang di dapat tidak menimbulkan bau khas etanol sehingga dapat dinyatakan ekstrak daun kersen (*Muntingia Calabura L.*) sudah bebas etanol.

#### Analisis Kualitatif

Pengujian skrining fitokimia dilakukan untuk mempelajari ada tidaknya komponen senyawa aktif pada ekstrak daun kersen (*Muntingia Calabura L.*) dengan cara menambahkan sebagian bahan kimia agar bisa teridentifikasi perubahan warna di sample (Muthmainnah, 2017). Skrining fitokimia dilaksanakan menggunakan reagen pendeteksi kategori senyawa seperti tanin, alkaloid, terpenoid, flavonoid, saponin. Poin dari uji fitokimia bisa dilihat pada Tabel III.

#### Analisis Kuantitatif

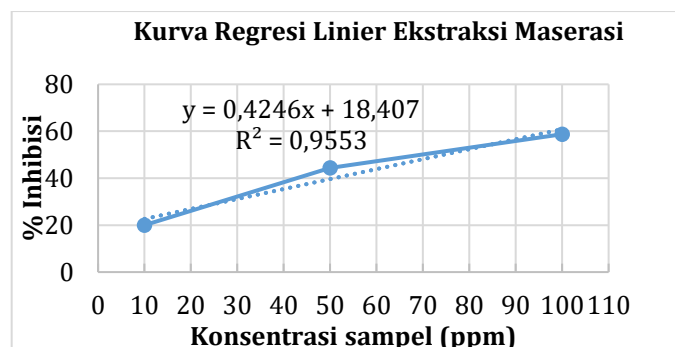
Analisis Senyawa Penangkapan radikal bebas Menggunakan *Liquid Chromatograph Mass Spectrometry* (LC-MS)

Penangkapan radikal bebas terkandung pada daun kersen (*Muntingia Calabura L.*) bisa dilihat pada data yang diperoleh dari LC-MS. Untuk mendeteksi dan mengidentifikasi senyawa yang terdapat di ekstrak daun kersen (*Muntingia Calabura L.*) dapat ditemukan melalui uji menggunakan LC-MS (*Liquid Chromatography Mass Spectrometry*) yang hasilnya merupakan informasi identitas dan kuantitas spesifik senyawa, beserta informasi tentang berat molekul dan struktur senyawa yang teridentifikasi (Muadifah *et.al.*, 2024). Hasil analisis data LC-MS lihat di tabel IV.

#### Uji Aktivitas Penangkapan radikal bebas

Pada panjang gelombang optimum DPPH dilakukan pengukuran absorbansi larutan diantara 400 - 800 nm, bertujuan memahami ukuran gelombang berapa menghasilkan nilai serapan paling optimal pada sampel, maka hasil pengukuran menjadi akurat dan dapat mempersempit kesalahan. Hasil yang diperoleh panjang gelombang optimum DPPH adalah 515 nm dengan absorbansi 0,635. Kemudian digunakan untuk perhitungan presentase % inhibisi dan penentuan IC<sub>50</sub> menggunakan regresi linier.

Aktivitas penangkapan radikal bebas berdasarkan hasil IC<sub>50</sub> (*Inibitory Concentration*) adalah konsentrasi bisa menangkap radikal bebas (DPPH) sebesar 50%, bertambah kecil nilai IC<sub>50</sub> jadi aktivitas penangkapan radikal bebas makin baik, tingkat kekuatan penangkapan radikal bebas dapat ditentukan dengan IC<sub>50</sub> (Trimadianti *et al.*, 2022). IC<sub>50</sub> bisa dihitung dengan kurva regresi linier



Gambar 1. Kurva Regresi Linier Ekstraksi Maserasi

Tabel I. Hasil Uji Susut Pengeringan serta Uji kandungan Air Daun Kersen (*Muntingia Calabura L.*)

Sampel	Bobot Daun Basah	Bobot Daun Kering	Hasil (%)	Kadar Air (%)
Daun Kersen ( <i>Muntingia Calabura L.</i> )	6 kg	0,58 kg	9,6%	8,6%

Tabel II. Hasil Uji Rendemen dan Uji Bebas Etanol Maserasi dan Soxhletasi Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia Calabura L.*)

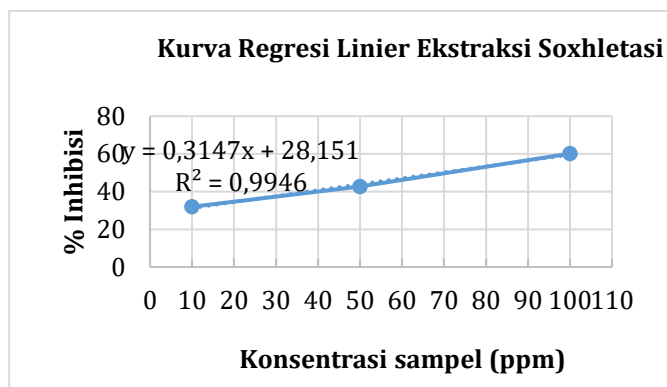
Sampel	Ekstraksi	Bobot Ekstrak (gram)	Bobot Serbuk Simplisia (gram)	Persentase (%) Hasil	Perlakuan	Hasil
Daun Kersen ( <i>Muntingia Calabura L.</i> )	Maserasi	22	200	11	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + asam asetat	+
	Soxhletasi	6	50	12	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + asam asetat	+

Tabel III. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Maserasi dan Ekstrak Hasil Soxhletasi Daun Kersen (*Muntingia Calabura L.*)

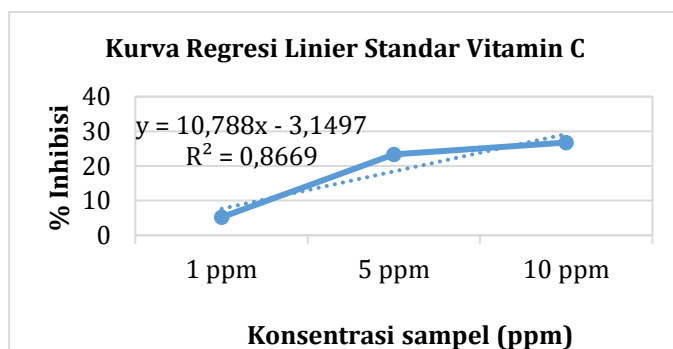
Golongan Senyawa	Pereaksi	Perubahan Warna	Maserasi	Soxhletasi
Fenol	Aquadest panas + FeCl <sub>3</sub>	Hitam Kehijauan	+	+
Flavonoid	Serbuk Mg + HCL Pekat	Merah	++++	++++
Alkaloid	HCL 2N + NaCl + Pereaksi Dragendroff	Endapan Jingga	++	++
	Wagner	Endapan Coklat	++	++
	Mayer	Tidak Berubah	-	-
Saponin	Aquadest panas + HCL 2N	Busa Stabil	+	+
Tanin	Aquadest panas + FeCl <sub>3</sub>	Hitam Kehijauan	+	+
Terpenoid	N-heksan + Kloroform + H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> pekat	Terbentuk Cincin Merah	++	++

Keterangan: (++++): Kuat; (+++): Sedang; (++) : Lemah; (+) : Sangat lemah; (-) : Tidak terdapat reaksi

ekstraksi maserasi pada Gambar 1, ekstraksi soxhletasi pada Gambar 2, dan vitamin c pada Gambar 3. Hasil uji aktifitas penangkapan radikal bebas presentase % inhibisi dan IC<sub>50</sub> atas ekstrak daun kersen bisa lihat pada Tabel V.



Gambar 2. Kurva Regresi Linier Ekstraksi Soxhletasi

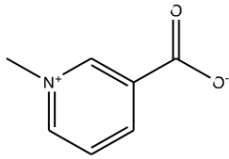
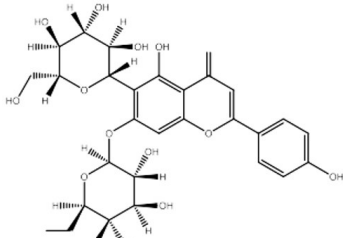
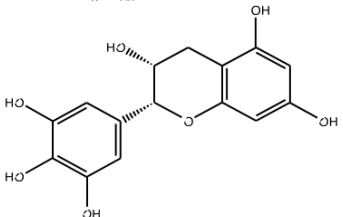
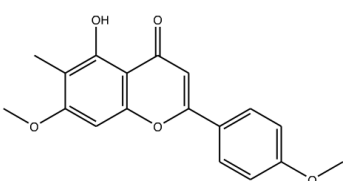
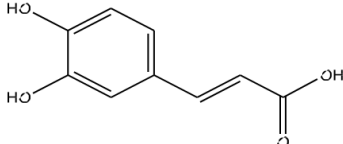
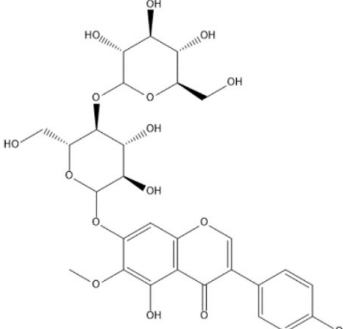


Gambar 3. Kurva Regresi Linier Standar Vitamin C

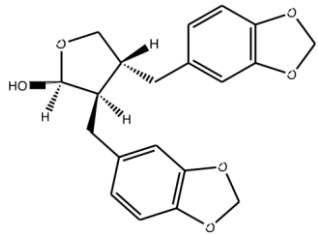
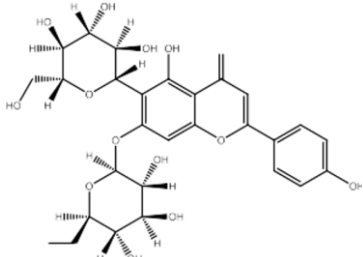
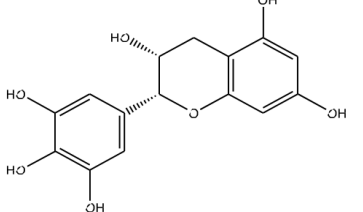
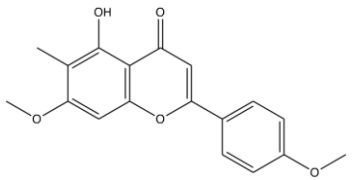
Tabel IV. Golongan Tertinggi Dari Setiap Senyawa Ekstraksi Maserasi dan Soxhletasi

Ekstraksi	No. Peak	Retensi Waktu (Rt)	Analisis	Struktur Senyawa	Golongan
Maserasi	31	4,643	Caffeic acid Rumus Kimia : $C_9H_8O_4$ Komposisi: 1,19146 % Berat Molekul : 180,1590		Fenol
	110	46,014	quercetin 3-glucosyl-(1→2)-rhamnoside-7-glucoside Rumus Kimia : $C_{33}H_{40}O_{21}$ Komposisi: 2,21713% Berat Molekul : 772,6620		Flavonoid

Tabel IV. (Lanjutan)

Ekstraksi	No. Peak	Retensi Waktu (Rt)	Analisis	Struktur Senyawa	Golongan
	18	1,485	Trigonelline Rumus Kimia : $C_7H_7NO_2$ Komposisi : 0,30489 % Berat Molekul : 137,1380		Alkaloid
	98	34,002	Saponarin Rumus Kimia : $C_{27}H_{30}O_{15}$ Komposisi: 1,41387 % Berat Molekul : 594,5220		Saponin
	48	11,503	Epigallocatechin Rumus Kimia : $C_{12}H_{14}O_7$ Komposisi : 1,34768 % Berat Molekul : 306,2700		Tanin
	49	11,511	8-demethyleucalyptin Rumus Kimia : $C_{18}H_{16}O_5$ Komposisi: 0,77814 % Berat Molekul : 312,3210		Terpenoid
	31	4,643	Caffeic acid Rumus Kimia : $C_9H_8O_4$ Komposisi: 1,19146 % Berat Molekul : 180,1590		Fenol
Soxhletasi	110	36,833	5,7,4'-trihydroxy-6-methoxyisoflavone 7-O-glucoside-4'-O-glucoside Rumus Kimia : $C_{28}H_{32}O_{16}$ Komposisi : 2,46326 % Berat Molekul : 624,5480		Flavonoid

Tabel IV. (Lanjutan)

Ekstraksi	No. Peak	Retensi Waktu (Rt)	Analisis	Struktur Senyawa	Golongan
	64	12,623	Cubabin Rumus Kimia : $C_{20}H_{20}NO_6$ Komposisi : 0,33877 % Berat Molekul : 356,3740		Alkaloid
	98	34,002	Saponarin Rumus Kimia : $C_{27}H_{30}O_{15}$ Komposisi: 1,41387 % Berat Molekul : 594,5220		Saponin
	48	11,503	Epigallocatechin Rumus Kimia : $C_{12}H_{14}O_7$ Komposisi : 1,34768 % Berat Molekul : 306,2700		Tanin
	49	11,511	8-demethyleucalyptin Rumus Kimia : $C_{18}H_{16}O_5$ Komposisi: 0,77814 % Berat Molekul : 312,3210		Terpenoid

Tabel V. Data Uji Penangkapan radikal bebas Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia Calabura L.*)

Sampel	Ekstraksi	Konsentrasi Sampel (ppm)	Absorbansi Rata-rata ( $\pm$ SD)	Inhibisi (%)	IC <sub>50</sub> (ppm)
Ekstrak daun kersen ( <i>Muntingia Calabura L.</i> )	Maserasi	10	0,508	20	74,407
		50	0,353	44,409	
		100	0,262	58,740	
	Soxhletasi	10	0,432	31,969	69,428
		50	0,364	42,677	
		100	0,253	60,157	
Vitamin C	-	1	0,602	5,197	4,927
		5	0,487	23,307	
		10	0,465	26,772	

vitamin C sebagai pembanding agar dapat diketahui apakah aktivitas penangkapan radikal bebas dari ekstrak dua metode (maserasi dan ekstraksi) sepadan dengan vitamin C yang sudah terbukti

memberikan aktivitas penangkap radikal bebas. Hasil penelitian pada Tabel V. menunjukkan nilai penangkapan radikal bebas ( $IC_{50}$ ) dari vitamin C sebesar 4,927 ppm yang termasuk dalam sangat kuat, sedangkan nilai  $IC_{50}$  ekstrak maserasi sebesar 74,407 ppm dan soxhletasi 69,428 ppm yang termasuk kategori kuat. Berdasarkan nilai  $IC_{50}$  tersebut, ekstrak daun kersen (*Muntingia Calabura* L.) berpotensi untuk penangkap radikal bebas. Aktivitas penangkapan radikal bebas dihasilkan di ekstrak daun kersen (*Muntingia Calabura* L.) baik menggunakan metode maserasi maupun soxhletasi masih dalam satu kategori aktivitas penangkapan radikal bebas kategori kuat dengan nilai  $IC_{50} < 100$  ppm, nilai  $IC_{50}$  pada metode ekstraksi soxhletasi lebih kecil yaitu sebesar 69,428 ppm dari pada metode maserasi sebesar 74,407 ppm. Apabila semakin kecil nilai  $IC_{50}$  aktivitas penangkapan radikal bebas semakin bagus, jika nilai  $IC_{50}$  kecil mempunyai potensi sebagai penangkapan radikal bebas yang paling besar dan mampu redam radikal bebas sebesar 50%.

Berdasarkan hasil data yang diperoleh uji skrining fitokimia pada Tabel III menyatakan bahwa daun kersen (*Muntingia Calabura* L.) dengan proses ekstraksi metode maserasi dan metode soxhletasi terdapat kandungan senyawa metabolit sekunder berupa fenol, flavonoid, terpenoid, alkaloid, tanin, dan saponin. Dukungan terhadap temuan di uji LC-MS sesuai dengan Tabel IV yang menyatakan bahwa daun kersen (*Muntingia Calabura* L.) kepadatan kandungan golongan fenol, flavonoid, terpenoid, alkaloid, saponin, dan tanin yang berpotensi sebagai penangkapan radikal bebas.

Pada uji LC-MS terdapat banyak senyawa yang berpotensi sebagai penangkap radikal bebas yaitu terutama senyawa flavonoid, pada ekstraksi maserasi komposisi flavonoid sebesar 68,63 % dari 56 senyawa, sedangkan pada ekstraksi soxhletasi komposisi flavonoid sebesar 71,47 % dari 57 senyawa. Turunan flavonoid seperti quercetin 3-glucosyl-(1→2)- rhamnoside-7-glucoside, disarankan untuk puncak 110, yang dikarakterisasi dari ekstrak maserat daun kersen. Spektrum MS dengan puncak 110, dengan m/z terukur 772.6620 menunjukkan ion fragmen pada m/z 775.2138, 774.2105, 774.2128, 773.2096, dan 772.2062. Turunan flavonoid seperti 5,7,4'-trihydroxy-6-methoxyisoflavone 7-O-glucoside-4'-O-glucoside, disarankan untuk puncak 110, yang dikarakterisasi dari ekstrak soxhlet daun kersen. Spektrum MS dengan puncak 110, dengan m/z terukur 624.5480 menunjukkan ion fragmen pada m/z 626.1733, 626.1757, 625.1724, dan 624.1690. Pola fragmentasi senyawa tersebut ditandai dengan hilangnya ion H.

## KESIMPULAN

Aktivitas penangkapan radikal bebas daun kersen (*Muntingia Calabura* L.) metode DPPH didapatkan bahwa ekstrak maserasi terdapat nilai  $IC_{50}$  sebesar 74,407 ppm serta ekstrak soxhletasi terdapat nilai  $IC_{50}$  sebanyak 69,428 ppm kategori kuat, tetapi nilai  $IC_{50}$  ekstrak soxhletasi lebih kecil dari maserasi dengan demikian senyawa penangkapan radikal bebas dengan ekstrak soxhletasi lebih bagus dari pada ekstrak maserasi. Hal tersebut didukung adanya keterkaitan kandungan senyawa penangkapan radikal bebas daun kersen (*Muntingia Calabura* L.) uji LC-MS, kandungan senyawa penangkap radikal bebas pada uji LC-MS soxhletasi senyawa yang dihasilkan lebih banyak dari pada maserasi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anam, C., & Agustini, T. W. (2014). Pengaruh pelarut yang berbeda pada ekstraksi spirulina platensis serbuk sebagai antioksidan dengan metode soxhletasi. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*, 3(4), 106-112.
- Andi Wijaya, N. (2022). PENETAPAN KADAR AIR SIMPLISIA DAUN KEMANGI (*Ocimum basilicum* L.) BERDASARKAN PERBEDAAN METODE PENGERINGAN. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*. 4 (2): 185-194.
- Ariyanti, P. R., & Aditya, M. A. (2016). Manfaat gambir (*Uncaria gambir* Roxb) sebagai antioksidan. *Medical Journal of Lampung University [MAJORITY]*, 5(3), 129-133.
- Asworo, R. Y., & Widhiastuti, H. (2023). Pengaruh Ukuran Serbuk Simplisia dan Waktu Maserasi terhadap Aktivitas Penangkapan radikal bebas Ekstrak Kulit Sirsak. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*, 3(2). <https://doi.org/10.37311/ijpe.v3i2.19906>

- Chandra, B., Sari, R. P., Misfadhila, S., Azizah, Z., & Asra, R. (2019). Skrining fitokimia dan aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun kemangi (*Ocimum tenuiflorum* L.) dengan metode DPPH (1, 1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Journal of pharmaceutical and sciences*, 2(2), 1-8.
- Firmansyah, D., Pasim Sukabumi, S., & Al Fath Sukabumi, S. (2022). Teknik Pengambilan Sampel Umum dalam Metodologi Penelitian: Literature Review. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Holistik (JIPH)*, 1(2), 85-114. <https://doi.org/10.55927>
- Kementerian Kesehatan RI. 2017. Farmakope Herbal Indonesia Edisi II. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Lean Syam Prayogo, L. S. P. (2017). PERBANDINGAN METODE EKSTRAKSI TERHADAP KADAR FLAVONOID TOTAL EKSTRAK METANOL DAUN KERSEN (*Muntingia calabura* L.) (Doctoral dissertation, Universitas Wahid Hasyim Semarang).
- Mangurana, W. O. I., Yusraini, Y., & Sahidin, S. (2019a). ANALISIS LC-MS/MS (Liquid Chromatograph Mass Spectrometry) DAN METABOLIT SEKUNDER SERTA POTENSI ANTIBAKTERI EKSTRAK n-HEKSANA SPONS *Callyspongia aerizusa* YANG DIAMBIL PADA KONDISI TUTUPAN TERUMBU KARANG YANG BERBEDA DI PERAIRAN TELUK STARING. *Jurnal Biologi Tropis*, 19(2), 131-141. <https://doi.org/10.29303/jbt.v19i2.1126>
- Monica, B., & Rahimamullah, M. A. (2017). Pemanfaatan Obat Tradisional dengan Pertimbangan Manfaat dan Pengenalan Profesi Apoteker Kepada Siswa SMAN 1 Pangkalanbun Kotawaringin Barat. *Jurnal Kesehatan Borneo Cendekia*, 1(2), 257-261.
- Muadifah, A., Tilarso, D. P., Sowe, M. S., Tarigan, I. L., Ngibad, K., & Yuliantari, S. D. (2024). LC-MS Based Metabolite Profiling Leaves Extract of *Pluchea indica* With Antioxidant Activity. *Chempublish Journal*, 8(2), 75-89.
- Muslihin, A. M., & Budiyanto, A. B. (2022). Penetapan Kadar Sari Larut Air, Kadar Sari Larut Etanol dan Identifikasi Alkaloid Pada Ekstrak Etanol 96% Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.). *Jurnal Etnofarmasi*, 1(02), 6-6.
- Muthmainnah, B. (2019). Skrining fitokimia senyawa metabolit sekunder dari ekstrak etanol buah delima (*Punica granatum* L.) dengan metode uji warna. *Media Farmasi*, 13(2), 36-41. <https://doi.org/10.32382/mf.v13i2.880>
- Parfati, N., Rani, K. C., & Jayani, N. I. E. (2018). Modul Penyiaian Simplisia Kelor (Aspek Produksi, Sanitasi, Dan Hygiene).
- Wendersteyt, N. V., Wewengkang, D. S., & Abdullah, S. S. (2021). Uji aktivitas antimikroba dari ekstrak dan fraksi ascidian *herdmania momus* dari perairan Pulau Bangka Likupang terhadap pertumbuhan mikroba *staphylococcus aureus*, *salmonella typhimurium* dan *candida albicans*. *Pharmacon*, 10(1), 706-712.
- Pambudi, D. B., Raharjo, D., Fajriyah, N. N., & Sya'bania, M. (2021). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) dengan Menggunakan Metode DPPH. Prosiding University Research Colloquium, 979-985. Retrieved from <https://repository.urecol.org/index.php/proceeding/article/view/1662>
- Rosmayati, J., Wandira, A., Cindiansya, C., Anandari, R., Naurah, S., & Fikayuniar, L. (2023). Menganalisis Pengujian Kadar Air Dari Berbagai Simplisia Bahan Alam Menggunakan Metode Gravimetri. *Jurnal Ilmiah Wahana Pendidikan*, 9(17), 190-193. <https://doi.org/10.5281/zenodo.8299996>
- Senduk, T. W., Montolalu, L. A., & Dotulong, V. (2022). The rendement of boiled water extract of mature leaves of mangrove *Sonneratia alba*. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan Tropis*, 11(1), 9-15.
- Tiara, A., Zannah, K. R. Y., Cundari, L., Jannah, A. M., & Santoso, D. (2022). Pengaruh dosis biokoagulan biji pepaya (*Carica papaya* L.) dan Waktu Pengadukan terhadap nilai pH dan turbiditas pada pengolahan limbah cair tempe. *Applicable Innovation of Engineering and Science Research (AVoER)*, 14(1), 317-323.
- Trimadianti, W., Faisal, M., & Sastyarina, Y. (2022). Uji Aktivitas Penangkapan radikal bebas dari Sari Rebusan Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 15, 184-187. <https://doi.org/10.25026/mpc.v15i1.640>

Wahyuningtyas, N. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* (Doctoral dissertation, Universitas Nahdlatul Ulama Sunan Giri Bojonegoro).