

Ekstraksi, Fraksinasi, Dan Uji Antioksidan Daun Pakis Sawit (*Davallia denticulata*)

Eti Norhaslinda, Jufrizal Syahri, Fitra Perdana*

Program Studi S1 Kimia, Fakultas MIPA dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Riau
Jl. Tuanku Tambusai Pekanbaru 28294, Riau, Indonesia

*Correspondence e-mail: fitra.perdana@umri.ac.id

Abstract

Antioxidants are compounds that are able to counteract the negative effects of oxidants by donating an electron to compounds that are oxidants so that they can be inhibited. Fern leaves contain several secondary metabolites that provide potential as a source of natural antioxidants. In this study, extraction, fractionation, and antioxidant tests were carried out on palm fern (*Davallia denticulata*) leaves. The palm fern leaf extraction method was carried out by maceration using ethanol as a solvent and fractionation was carried out in three fractions, namely the ethanol, ethyl acetate and n-hexane fractions. Then the phytochemical tests were carried out on the extract and fraction of the palm fern leaves obtained. The ethanol extract indicated the presence of flavonoids, saponins, tannins, triterpenoids and steroids, the n-hexane fraction indicated the presence of flavonoids and phenolic compounds, the ethyl acetate fraction indicated the presence of flavonoids, tannins and phenolic compounds, and the ethanol fraction indicated the presence of flavonoids, saponins, tannins, triterpenoids and steroids. Testing the antioxidant activity of the ethanol extract showed an IC50 value of 1.406 $\mu\text{g/mL}$, the n-hexane fraction showed an IC50 value of 2.91 $\mu\text{g/mL}$, the ethyl acetate fraction showed an IC50 value of 103 $\mu\text{g/mL}$, the ethanol fraction showed an IC50 value of 18.99 $\mu\text{g/mL}$, and vitamin C as a comparison showed an IC50 value of 2.22 $\mu\text{g/mL}$. Based on a comparison with vitamin C, it can be seen that there is very strong antioxidant activity in the ethanol extract and moderate activity in the ethyl acetate fraction.

Keywords: Antioxidant activity, Palm fern leaves, *Davallia denticulata*, Extraction, Fractionation

Abstrak

Antioksidan merupakan salah satu senyawa yang mampu menangkal dampak negatif oksidan dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga dapat terhambat. Daun pakis mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder sehingga memberikan potensi sebagai sumber antioksidan alami. Pada penelitian ini dilakukan ekstraksi, fraksinasi, dan uji antioksidan daun pakis sawit (*Davallia denticulata*). Metode ekstraksi daun pakis sawit dilakukan secara maserasi menggunakan pelarut etanol dan fraksinasi dilakukan sebanyak tiga fraksi yaitu fraksi etanol, etil asetat dan n-heksan. Kemudian dilakukan uji fitokimia dari ekstrak dan fraksi daun pakis sawit yang didapat. Ekstrak etanol menunjukkan adanya senyawa flavonoid, saponin, tanin, triterpenoid dan steroid, pada fraksi n-heksan menunjukkan adanya senyawa flavonoid dan fenolik, fraksi etil asetat menunjukkan adanya senyawa flavonoid, tanin dan fenolik, dan pada fraksi etanol menunjukkan adanya senyawa flavonoid, saponin, tanin, triterpenoid dan steroid. Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol menunjukkan nilai IC50 1,406 $\mu\text{g/mL}$, fraksi n-heksan menunjukkan nilai IC50 2,91 $\mu\text{g/mL}$, fraksi etil asetat menunjukkan nilai IC50 103 $\mu\text{g/mL}$, fraksi etanol menunjukkan nilai IC50 18,99 $\mu\text{g/mL}$, dan vitamin C sebagai perbandingan menunjukkan nilai IC50 2,22 $\mu\text{g/mL}$. Berdasarkan perbandingan dengan vitamin C dapat diketahui bahwa terdapat aktivitas antioksidan yang sangat kuat pada ekstrak etanol dan aktivitas sedang pada fraksi etil asetat.

Kata kunci: Aktivitas antioksidan, Daun pakis sawit, *Davallia denticulata*, Ekstraksi, Fraksinasi

1. Pendahuluan

Perubahan pola konsumsi makanan hingga dampak dari kemajuan sains dan teknologi menyebabkan semakin meningkatnya masyarakat yang menderita penyakit degeneratif yakni kanker, aterosklerosis, rematik, jantung koroner, katarak, dan penyakit degenerasi saraf seperti parkinson (Ikhrar et al., 2019). Hal ini disebabkan karena proses metabolisme tubuh yang menghasilkan radikal bebas berlebihan sehingga menyebabkan kerusakan pada fungsi sel-sel tubuh (Fitriani et al., 2019). Tubuh manusia memiliki sistem antioksidan agar dapat mengetahui reaktivitas radikal bebas yang terbentuk dengan sendirinya oleh setiap tubuh. Tetapi pada keadaan tertentu tubuh tidak dapat mengatasinya sendiri sehingga memerlukan zat

antioksidan dari luar tubuh untuk mencegah terjadinya reaksi reaktif radikal bebas tersebut. Antioksidan merupakan salah satu senyawa yang mampu menangkal dampak negatif oksidan dalam tubuh yang bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut dapat terhambat (Surya, 2019). Antioksidan diperlukan karena tubuh manusia tidak memiliki sistem pertahanan antioksidan yang cukup, sehingga apabila terjadi paparan radikal berlebihan maka tubuh membutuhkan antioksidan eksogen (Tamunu et al., 2022).

Daun pakis mengandung beberapa komponen non gizi yang penting bagi kesehatan. Komponen non Gizi yang utama pada pakis adalah flavonoid dan polifenol (Noprianto, 2018). Tanaman pakis sawit (*Davallia denticulata*) adalah salah satu tanaman paku epifit yang paling banyak tumbuh di Pohon Sawit. Beberapa spesies dari genus *Davallia* (*Davalliaceae*) secara luas digunakan dalam pengobatan tradisional karena efek farmakologisnya sebagai antioksidan, antiosteoporosis, dan asam urat. Daun tumbuhan pakis sawit diketahui memiliki senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid, terpenoid/steroid, saponin dan fenolik (Hendra et al., 2020). Kandungan senyawa metabolit sekunder ini memberikan potensi daun pakis sawit sebagai sumber antioksidan alami.

Pada penelitian ini dilakukan ekstraksi menggunakan pelarut etanol dengan metode maserasi dan dilanjutkan dengan fraksinasi serta uji antioksidan dengan sampel utama daun pakis sawit. Keuntungan metode maserasi yaitu dapat menghindari resiko rusaknya senyawa-senyawa dalam tanaman yang bersifat tidak tahan panas. Proses fraksinasi dilakukan dengan metode sederhana menggunakan corong pisah dan pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan larutan vitamin C sebagai pembanding. Hasil penelitian diharapkan memberikan data kuantitatif terkait potensi daun pakis sawit sebagai antioksidan alami.

2. Metodologi

2.1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah vakum rotary, destilasi, hot plate, timbangan, kertas whatman, botol gelap, tabung reaksi, rak tabung reaksi, beaker glass, corong pisah, pipet tetes, cawan petri, labu ukur, spatula, kaca arloji, aluminium foil, pipet ukur, kuvet, spektrofotometer UV-Vis Pharo 300 dan alat-alat gelas laboratorium lainnya.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun pakis sawit, etanol, n-heksan, metanol, etil asetat, HCl, eter, aquades, reagen meyer, bubuk Mg, H₂SO₄ pekat, FeCl₃, AgNO₃, vitamin C, dan DPPH.

2.2. Persiapan Ekstrak

Daun diambil dari perkebunan sawit di Kota Pekanbaru dan dilakukan uji taksonomi di Laboratorium Biologi Universitas Riau. Daun yang sudah terkumpul kemudian dicuci menggunakan air mengalir untuk menghilangkan partikel debu, setelah itu dikeringkan menggunakan suhu ruangan selama 2 minggu untuk menghilangkan kadar air. Setelah kering daun diblender dan ditimbang 250 gram serbuk daun kering untuk dilakukan maserasi menggunakan pelarut etanol. Serbuk daun kering dimasukkan ke dalam botol gelap kemudian ditambahkan pelarut etanol hingga menutupi seluruh serbuk dan dilakukan perendaman selama 3x24 jam. Setelah itu diambil hasil rendaman dan lakukan pengulangan sampai pelarut bening. Setelah bening dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring dan hasil yang didapat dipekatkan menggunakan vakum rotary pada suhu 78°C. Ekstrak yang di peroleh disimpan pada suhu 4°C untuk penggunaan selanjutnya.

2.3. Uji Fitokimia

- Uji Alkaloid Sebanyak 0,05 g sampel dimasukkan dalam tabung reaksi dan dilarutkan dengan 10 mL larutan HCl, kemudian lakukan penyaringan. Filtrat selanjutnya diuji dengan pereaksi meyer, sebanyak 4 mL filtrat dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan pereaksi meyer sebanyak 1 mL. Uji positif bila terbentuk endapan putih kekuningan (Khasanah *et al.*, 2020).
- Uji Triterpenoid dan Steroid Sebanyak 0,05 g ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi dan diencerkan dengan etanol 70%, kemudian ditambahkan eter sebanyak 5 tetes hingga terbentuk 2 lapisan larutan air dan etanol. Lapisan bagian atas etanol dipisahkan dan diuapkan dalam plat tetes lalu ditambahkan H₂SO₄ pekat sebanyak 3 tetes. Endapan warna hijau kehitaman menunjukkan hasil

yang positif (Khasanah *et al.*, 2020).

- Uji Flavonoid Sebanyak 0,05 g sampel tumbuhan yang telah diekstrak dengan 5 mL etanol dan dipanaskan selama \pm 5 menit didalam tabung reaksi. Selanjutnya ditambah 3 tetes HCl. Kemudian ditambahkan 0,02 g bubuk Mg. Hasil positif ditunjukkan dengan timbulnya warna merah tua (magenta) menunjukkan senyawa flavonol/flavonon, endapan merah menunjukkan senyawa flavon, dan endapan hijau menunjukkan senyawa glikosida/aglikon (Khasanah *et al.*, 2020).
- Uji Saponin Sebanyak 0,05 g sampel tumbuhan yang telah dihaluskan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian diencerkan dengan etanol 70% ditambahkan air hangat lalu dikocok selama 30 menit. Dilihat busa dan diukur berapa cm busa yang terbentuk. Dibiarkan selama 10 menit dan jika busanya tidak hilang ditambahkan HCl pekat. Apabila masih terdapat busa yang konstan maka menunjukkan hasil positif (Khasanah *et al.*, 2020).
- Uji Tanin Sebanyak 0,05 g sampel tumbuhan yang telah dihaluskan dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan 10 mL aquades yang mendidih, kemudian lakukan penyaringan. Filtrat ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl₃ 1%. Uji positif ditandai dengan adanya warna hijau kecoklatan atau biru kehitaman (Khasanah *et al.*, 2020).
- Uji Fenolik. Sebanyak 0,05 gram sampel diekstrak dengan 20 mL etanol 70%. Ekstrak sebanyak 1 mL kemudian ditambahkan 2 tetes larutan FeCl₃ 5%. Pembentukan warna hijau atau hijau biru menunjukkan senyawa fenol dalam sampel (Khasanah *et al.*, 2020).

2.4. Fraksi n-Heksan, Etil Asetat dan Etanol

Ekstrak daun pakis kelapa sawit yang diperoleh dimasukkan ke dalam erlenmeyer sebanyak 20 gram, kemudian dilarutkan dengan aquadest 200 ml dan dilarutkan dengan pelarut nonpolar *n*-heksan 200 mL dikocok sampai homogen, diamkan selama 30 menit hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan bawah etanol-air dan lapisan atas *n*-heksan. Lapisan etanol-air sisa fraksinasi *n*-heksan selanjutnya ditambahkan pelarut semi polar etil asetat 200 mL kemudian masukan kedalam corong pisah lalu dikocok dan diamkan hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan bawah etanol-air dan lapisan atas etil asetat. Selanjutnya ketiga fraksi tersebut dievaporasi sehingga diperoleh tiga fraksi yaitu fraksi *n*-heksan (F1), fraksi etil asetat (F2), dan fraksi etanol-air (F3) (Novia *et al.*, 2019). Tahap selanjutnya dilakukan uji fitokimia meliputi, alkaloid, polifenol, tanin, flavonoid, steroid dan triterpenoid, dan saponin (Herdiana dan Aji 2020).

2.5. Uji Aktivitas Antioksidan

2.5.1. Pembuatan larutan DPPH 0.1 mM

Serbuk DPPH ditimbang 3 mg dimasukkan kedalam labu ukur 100 mL dan dilarutkan dengan metanol sampai tanda batas kemudian dihomogenkan (Maitulung *et al.*, 2022).

2.5.2. Optimasi Panjang Gelombang DPPH

Larutan DPPH 0.1 mM sebanyak 2 mL dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan metanol 2 mL, divortex hingga homogen, diinkubasi dalam ruangan gelap selama 30 menit, lalu dituang ke dalam kuvet dan diukur pada panjang gelombang 517 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan ditentukan panjang gelombangnya (Maitulung *et al.*, 2022).

2.5.3. Persiapan Larutan Uji

Pembuatan larutan induk (konsentrasi 1000 ppm) Sebanyak 10 mg sampel dilarutkan dengan metanol p.a lalu dimasukkan ke dalam labu takar 5 mL, volume dicukupkan dengan metanol p.a sampai tanda batas. Kemudian lanjutkan ke pembuatan larutan seri ekstrak daun pakis sawit dibuat dengan variasi konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm. Masing-masing dipipet 0,25 mL, 0,5 mL, 0,75 mL, 1 mL dan 1,25 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL dan dicukupkan volumenya dengan methanol p.a hingga 5 mL. (Maitulung *et al.*, 2022).

2.5.4. Pembuatan Vitamin C

Pembuatan Larutan Induk (konsentrasi 1000 ppm) Ditimbang vitamin C p.a sebanyak 50 mg, dilarutkan dengan metanol p.a lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL, volume dicukupkan dengan metanol p.a sampai tanda batas. Larutan induk vitamin C, masing-masing dipipet 0,25 mL, 0,5 mL, 0,75 mL, 1 mL dan 1,25 mL dimasukkan ke dalam labu ukur masing-masing 5 mL, volume dicukupkan dengan metanol p.a sampai tanda batas.

2.5.5. Pengukuran Serapan Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis Pharo 300

Received: 26 September 2022, Accepted: 15 Mei 2023 - Jurnal Photon Vol.13 No.2

DOI: <https://doi.org/10.37859/jp.v13i2.4116>

PHOTON is licensed under a [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/)

Sebanyak 2 mL masing-masing konsentrasi larutan uji dimasukkan ke dalam tabung rekasi, ditambahkan 2 mL larutan DPPH 0.1 mM, divortex hingga homogen, diinkubasi dalam ruang gelap dan pada menit ke 26 dan maksimal pada menit ke 30 diukur serapannya pada panjang gelombang (Maitulung *et al.*, 2022).

2.5.6. Penentuan Persen Inhibisi

Aktivitas penangkal radikal dinyatakan sebagai persen inhibisi yang dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\%inhibisi\ DPPH = \frac{Absorbansi\ kontrol - Absorbansi\ bahan\ uji}{Absorbansi\ kontrol} \times 100\%$$

(Maitulung *et al.*, 2022).

2.5.7. Penentuan Nilai IC₅₀ (Inhibitory Concentration)

Dari persen peredaman yang diperoleh ditentukan IC₅₀ yaitu konsentrasi yang mampu menghambat 50% radikal bebas. Nilai IC₅₀ ditentukan dengan rumus :

$$IC_{50} = \frac{50 - a}{b}$$

Keterangan:

a = nilai x pada kurva linear

b = nilai y pada kurva linear

Senyawa yang dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat apabila nilai IC₅₀ kurang dari 50 ppm, kuat apabila nilai IC₅₀ antara 50-100 ppm, sedang apabila nilai IC₅₀ berkisar antara 100-150 ppm, dan lemah apabila nilai IC₅₀ berkisar antara 150-200 ppm. Semakin kecil nilai IC₅₀ suatu senyawa maka semakin kuat pula aktivitas antioksidan senyawa tersebut karena dengan konsentrasi yang kecil mampu menghambat radikal bebas DPPH dengan baik (Maitulung *et al.*, 2022).

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Hasil

3.1.1. Preparasi bahan dan ekstraksi

Hasil proses ekstraksi daun pakis sawit (*Davallia denticulata*) dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Rendemen (%) Ekstrak Daun Pakis Sawit

Sampel	Berat ekstrak (g)	Rendemen (%)
Daun pakis sawit basah	1000	-
Daun pakis sawit kering	250	25
Ekstrak	74	29,6

3.1.2. Hasil uji fitokimia

Uji fitokimia dilakukan terhadap ekstrak etanol daun pakis sawit (*Davallia denticulata*) untuk mengetahui golongan senyawa alkaloid, flavonoid, fenolik, saponin, steroid, tanin dan terpenoid dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Pakis Sawit.

Golongan senyawa	Pereaksi	Hasil
Alkaloid	HCl dan Meyer	-
Titerpenoid dan Steroid	Etanol 70%, Eter dan H ₂ SO ₄	+
Flavonoid	Etanol, HCl dan bubuk Mg	+
Saponin	Etanol 70% dan HCl	+
Tanin	Aquadest dan FeCl ₃ 1%	+
Fenolik	Etanol 70% dan FeCl ₃ 5%	-

Keterangan: (+) : Mengandung
(-) : Tidak mengandung

3.1.3. Hasil fraksinasi

Fraksinasi dari ekstrak etanol daun benalu pakis sawit menggunakan metode fraksinasi cair-cair yang dipisahkan berdasarkan perbedaan kepolaran dan hasil ekstrak dari fraksinasi ini didapatkan:

Tabel 3. Hasil Fraksinasi Ekstrak Etanol Daun Pakis Sawit

Sampel	Warna asal	Warna setelah proses rotary evaporator	Hasil fraksi (g)	Rendemen%
Ekstrak etanol	Hijau	Coklat	20	-
Fraksi <i>n</i> -heksan	Hijau	hijau kehitaman	6	30
Fraksi Etil asetat	Hijau kecoklatan	Hijau kecoklatan	3	15
Fraksi Etanol	uning kecoklatan	Kuning kecoklatan	10	50

3.1.4. Hasil uji fitokimia fraksinasi

Hasil uji fitokimia daun pakis sawit dari hasil ekstraksi dan hasil fraksinasi berikut hasil uji fitokimia yang didapatkan:

Table 4. Hasil Uji Fitokimia Fraksi Daun Pakis Sawit

Golongan senyawa	Fraksi		
	<i>n</i> -heksan	Etil asetat	Etanol
Alkaloid	-	-	-
Titerpenoid dan Steroid	-	-	+
Flavonoid	+	+	+
Saponin	-	-	+
Tanin	-	+	+
Fenolik	+	+	-

3.1.5. Hasil uji aktivitas antioksidan

Berikut data dari pengujian antioksidan yang didapatkan untuk mengetahui seberapa besar aktivitas antioksidan dalam daun pakis sawit:

Tabel 5. Hasil Uji Antioksidan Ekstrak Etanol

Konsentrasi	Rata-rata	Abs Sampel	% Inhibisi	IC ₅₀ µg/mL
50	0,355	0,314	64,41	1,406
100	0,330	0,289	67,25	
150	0,310	0,269	69,52	
200	0,310	0,269	69,52	
250	0,320	0,279	68,38	

Tabel 6. Hasil Uji Antioksidan Fraksi *n*-heksan

Konsentrasi	Rata-rata	Abs Sampel	% Inhibisi	IC ₅₀ µg/mL
50	0,286	0,245	72,24	2,91
100	0,096	0,054	93,87	
150	0,052	0,011	98,80	
200	0,034	-0,008	100,90	
250	0,031	-0,011	101,19	

Tabel 7. Hasil Uji Antioksidan Fraksi Etil Asetat

Konsentrasi	Rata-rata	Abs Sampel	% Inhibisi	IC ₅₀ µg/mL
50	0,595	0,554	37,17	
100	0,505	0,464	47,38	
150	0,450	0,409	53,63	103
200	0,345	0,304	65,55	
250	0,305	0,264	70,09	

Tabel 8. Hasil Uji Antioksidan Fraksi Etanol

Konsentrasi	Rata-rata	Abs Sampel	% Inhibisi	IC ₅₀ µg/ml
50	0,336	0,295	66,57	
100	0,310	0,269	69,52	18,99
150	0,265	0,224	74,63	
200	0,205	0,164	81,44	
250	0,127	0,085	90,35	

Tabel 9. Hasil Uji Antioksidan Vitamin C

Konsentrasi	Rata-rata	Abs Sampel	% Inhibisi	IC ₅₀ µg/ml
50	0,243	0,201	77,18502	
100	0,205	0,164	81,44154	2,22
150	0,165	0,124	85,98184	
200	0,140	0,099	88,81952	
250	0,093	0,052	94,15437	

3.2. Pembahasan

Pada penelitian ini dilakukan beberapa tahap penelitian yang diantaranya yaitu dimulai dari pengambilan simplisia dan uji taksonomi, pembuatan ekstrak, fraksinasi dan uji fitokimia, pembuatan larutan DPPH, pembuatan larutan ekstrak dan pengujian aktivitas antioksidan. Tahapan pertama yaitu pembuatan simplisia. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah tanaman daun pakis sawit (*Davallia denticulata*). Daun yang telah dipetik, dicuci, dan dikeringkan di udara terbuka dengan suhu ruangan. Setelah kering, daun dihaluskan dengan blender sampai menjadi serbuk dan diayak kemudian hasil ayakan disimpan pada wadah tertutup untuk dipakai pada perlakuan selanjutnya.

Metode yang digunakan untuk penyarian simplisia yakni metode maserasi. Maserasi merupakan proses perendaman sampel pelarut organik yang digunakan pada temperatur ruangan. Proses ini sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam karena dengan perendaman sampel tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstrak senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan (Hasrianti, 2017).

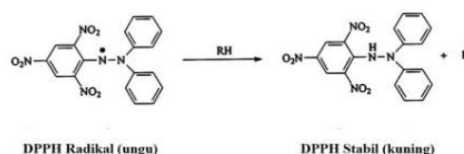
Ekstrak daun pakis sawit (*Davallia denticulata*) dibuat dengan mengekstraksi 250 gram serbuk daun pakis sawit secara maserasi dengan pelarut etanol. Simplisia direndam dalam pelarut etanol sebanyak 10 L selama 3 x 24 jam sambil sesekali diaduk. Hasil ekstraksi selanjutnya dipekatkan dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak etanol yang diperoleh berupa ekstrak kental sebanyak 74 gram dari 250 gram serbuk daun pakis sawit dan diperoleh rendemen sebanyak 29,6 %. Rendemen merupakan nilai berat ekstrak kental yang diperoleh dibandingkan dengan berat simplisia atau serbuk awal (Fatoni, 2019).

Setelah didapatkan ekstrak kental dilanjutkan proses fraksinasi. Fraksinasi adalah suatu cara untuk memisahkan senyawa berdasarkan sifat kepolarannya. Senyawa polar akan masuk ke polar, begitu pula senyawa non polar akan masuk pada pelarut non polar (Lona, 2018). Fraksinasi diambil dari ekstrak kental hasil ekstraksi yang ditimbang sebanyak 20 gram kemudian dilakukan fraksinasi cair-cair

dengan pelarut beda kepolaran yaitu pelarut *n*-heksan (non-polar), etil asetat (semi polar), dan etanol (polar). Setelah dilakukan fraksinasi lanjutkan ke *rotary evaporator* untuk pengentalan ekstrak kemudian timbang ekstrak sesuai yang didapatkan yaitu *n*-heksan mendapatkan 6 gram ekstrak dan 30% rendemen dengan warna hijau kehitaman, etil asetat mendapatkan 3 gram ekstrak dan 15% rendemen dan warna ekstrak hijau kecoklatan, dan etanol mendapatkan ekstrak 10 gram sedangkan rendemen yang didapatkan 50% dengan warna ekstrak kuning kecoklatan.

Pengujian fitokimia pada ekstrak etanol didapat uji terpenoid dan steroid menunjukkan hasil positif ditandai dengan ada endapan hijau kehitaman, uji flavonoid mendapatkan hasil positif ditandai dengan timbulnya endapan warna hijau, uji saponin mendapatkan hasil positif ditandai dengan terbentuknya busa konstan, uji tanin mendapatkan hasil positif ditandai terbentuknya warna biru kehitaman. Pada fraksi *n*-heksan mendapatkan hasil positif pada pengujian flavonoid ditandai adanya warna hijau dan fenolik ditandai adanya warna hijau, sedangkan alkaloid, triterpenoid dan steroid, saponin, tannin tidak terjadi reaksi apapun dan dinyatakan negatif. Pada fraksi etil asetat yang mendapatkan hasil positif yaitu flavonoid terdapat warna hijau, tanin terdapat warna hijau kecoklatan dan fenolik terdapat warna hijau dan yang negatif adalah alkaloid, triterpenoid dan steroid, saponin tidak terjadinya reaksi apapun. Sedangkan fraksi etanol hasil positif yaitu triterpenoid dan steroid ditandai dengan adanya endapan coklat, flavonoid adanya warna merah, saponin terdapat busa konstan dan tannin terdapat warna hijau kecoklatan sedangkan yang hasil negatif yaitu alkaloid dan fenolik tidak terjadinya reaksi apapun. Berdasarkan hasil uji fitokimia ini terlihat potensi sebagai antioksidan alami. Keberadaan senyawa flavonoid memiliki potensi sebagai antioksidan karena memiliki gugus hidroksil yang terikat pada karbon cincin aromatik sehingga dapat menangkap radikal bebas yang dihasilkan dari reaksi peroksidasi lemak. Senyawa.

Flavonoid akan menyumbangkan satu atom hidrogen untuk menstabilkan radikal peroksi lemak (Dewi, 2014). Pengujian antioksidan dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif. Secara kualitatif dilihat dari adanya perubahan warna pada larutan ketika ditambahkan sampel yang mengandung antioksidan. Sedangkan secara kuantitatif yang dilakukan dengan mengukur kadar dari hasil absorbansi dan persen inhibisi yang didapat pada pengujian menggunakan spektrofotometer Uv-Vis (Hartini, 2020). Peredaman radikal bebas oleh antioksidan terjadi ketika elektron tak berpasangan menjadi berpasangan dengan adanya sebuah donor hidrogen, sehingga membentuk DPPH yang lebih stabil, reaksi yang terjadi antara radikal bebas dan antioksidan dapat di lihat pada gambar berikut;



Gambar 1. Reaksi yang terjadi antara radikal bebas dan antioksidan (Wulansari, 2018).

Elektron tak berpasangan pada DPPH memberikan suatu absorpsi yang kuat, maksimum pada $\lambda = 517$ nm dan berwarna ungu. Peredaman radikal bebas oleh antioksidan terjadi ketika elektron tak berpasangan menjadi berpasangan dengan adanya sebuah donor hidrogen, sehingga membentuk DPPH yang lebih stabil. Penetapan aktivitas antioksidan dapat dilakukan secara *in vitro* dengan metode DPPH. DPPH (2,2 difenil-1- pikrihidrazil) merupakan metode uji aktivitas antioksidan menggunakan reagen DPPH yang berperan sebagai radikal. DPPH digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidan melalui kemampuannya dalam menangkap radikal bebas (Wulansari, 2018). Metode DPPH dipilih karena sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel.

Pengujian dilakukan dengan memipet 2 mL DPPH dalam 2 mL metanol. Dilakukan vortex dan diinkubasi pada suhu 37°C dalam ruangan gelap. Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 517 nm (Yuliani, 2016). Hasil dari pengukuran absorbansi adalah 0,925 untuk DPPH. Penetapan aktivitas antioksidan dilakukan dengan mereaksikan 2 mL DPPH dengan 2 mL larutan uji dengan pada konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, dan 250 ppm, kemudian dilanjutkan dengan pengukuran absorbansi menggunakan instrumen Spektrofotometri UV-Vis sehingga diketahui nilai absorbansinya. Data absorbansi kemudian digunakan untuk menghitung nilai persen inhibisi dari larutan uji terhadap DPPH. Data inhibisi dengan konsentrasi sampel kemudian digunakan untuk menentukan persamaan regresi linier pada masing-masing larutan uji. Penetapan konsentrasi inhibisi 50 (IC₅₀) dilakukan dengan memasukkan nilai $y = 50$ pada

persamaan regresi linier. Persentase inhibisi menyatakan besarnya kemampuan perendaman radikal bebas oleh suatu sampel. Sementara inhibitor concentration (IC_{50}) merupakan parameter yang digunakan untuk menunjukkan aktivitas antioksidan, merupakan nilai yang menggambarkan konsentrasi sampel paling efektif meredam radikal bebas 50% (Hartini, 2020).

Tabel 10. Tingkat Kekuatan Antioksidan dengan Metode DPPH (Maitulung *et al.*, 2022).

Intensitas Antioksidan	Nilai IC_{50}
Sangat Kuat	<50 ppm
Kuat	50-100 ppm
Sedang	100-250 ppm
Lemah	250-500 ppm

Pada penelitian uji aktivitas daun pakis sawit didapatkan hasil perhitungan IC_{50} yang didapat dari absorbansi pada hasil ekstraksi etanol yaitu pada 50 ppm mempunyai nilai % inhibisi sebesar 64,2 %, untuk 100 ppm sebesar 66,69 %, untuk 150 ppm sebesar 69,52 %, untuk 200 ppm sebesar 69,52 % dan 250 ppm sebesar 68,39 %. Data % inhibisi dari hasil ekstraksi awal etanol dimasukkan kedalam aplikasi agar didapatkan persamaan regresi linier untuk penentuan IC_{50} , dengan cara konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan % inhibisi sebagai sumbu y dari persamaan: $y = bx + a$. Hasil yang didapat yaitu persamaan $y = 14,339lnx + 45,113$, Untuk penentuan nilai IC_{50} dapat dihitung dengan menggunakan rumus: $IC_{50} = (50-a)/b$. Hasil perhitungan yaitu Nilai IC_{50} : 1,406 $\mu\text{g/ml}$ yang termasuk golongan antioksidan sangat kuat. Rentang $IC_{50} < 50 \mu\text{g/ml}$ merupakan aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Kemudian dilanjutkan ke hasil perhitungan IC_{50} yang didapat dari absorbansi pada hasil fraksinasi menggunakan pelarut *n*-heksan yaitu pada 50 ppm mempunyai nilai % inhibisi sebesar 72,25 %, untuk 100 ppm sebesar 93,87 %, untuk 150 ppm sebesar 98,81 %, untuk 200 ppm sebesar 100,91 % dan 250 ppm sebesar 101,19 %. Hasil yang didapat yaitu persamaan $y = 85,516lnx - 41,349$, Untuk penentuan nilai IC_{50} dapat dihitung dengan menggunakan rumus: $IC_{50} = (50-a)/b$. Hasil perhitungan yaitu Nilai IC_{50} : 2,91 $\mu\text{g/ml}$ yang termasuk golongan antioksidan sangat kuat. Hasil perhitungan IC_{50} yang didapat dari absorbansi pada hasil fraksinasi menggunakan pelarut etil asetat yaitu pada 50 ppm mempunyai nilai % inhibisi sebesar 37,17 %, untuk 100 ppm sebesar 47,39 %, untuk 150 ppm sebesar 53,63 %, untuk 200 ppm sebesar 65,55 % dan 250 ppm sebesar 70,09 %. Hasil yang didapat yaitu persamaan $y = 85,516lnx - 41,349$, Untuk penentuan nilai IC_{50} dapat dihitung dengan menggunakan rumus: $IC_{50} = (50-a)/b$. Hasil perhitungan yaitu Nilai IC_{50} : 103 $\mu\text{g/ml}$ yang termasuk golongan antioksidan sedang. Dilanjutkan hasil perhitungan IC_{50} yang didapat dari absorbansi pada hasil fraksinasi menggunakan pelarut etanol yaitu pada 50 ppm mempunyai nilai % inhibisi sebesar 66,57 %, untuk 100 ppm sebesar 69,52 %, untuk 150 ppm sebesar 74,63 %, untuk 200 ppm sebesar 81,44 % dan 250 ppm sebesar 90,35 %. Hasil yang didapat yaitu persamaan $y = 13,764x + 9,4785$, Untuk penentuan nilai IC_{50} dapat dihitung dengan menggunakan rumus: $IC_{50} = (50-a)/b$. Hasil perhitungan yaitu Nilai IC_{50} : 18,99 $\mu\text{g/ml}$ yang termasuk golongan antioksidan sangat kuat dan hasil nilai larutan vitamin C yaitu IC_{50} : 2,22 $\mu\text{g/ml}$ sebagai larutan pembanding. Rentang $IC_{50} < 50 \mu\text{g/ml}$ merupakan aktivitas antioksidan sangat kuat.

Aktivitas antioksidan yang diperoleh dari hasil analisa pengujian ekstrak etanol sangat kuat sedangkan fraksi *n*-heksan dan etanol mendapatkan hasil sangat kuat pada fraksi etil asetat aktivitasnya sedang. Hal ini kemungkinan disebabkan karena beberapa faktor diantaranya adalah sifat yang mudah rusak bila terpapar oksigen, cahaya, pengeringan dan suhu yang terlalu panas pada saat proses pengentalan ekstrak menggunakan *rotary evaporator*, sehingga membuat kandungan senyawa flavonoid dan fenolik pada ekstrak daun pakis sawit yang mana berpotensi sebagai antioksidan menjadi berkurang. Senyawa flavonoid dan fenolik memiliki potensi sebagai antioksidan karena memiliki gugus hidroksil yang terikat pada karbon cincin aromatik sehingga dapat menangkap radikal bebas yang dihasilkan dari reaksi peroksidasi lemak. Senyawa flavonoid akan menyumbangkan satu atom hidrogen untuk menstabilkan radikal peroksi lemak (Haveni *et al.*, 2019). nilai IC_{50} dimana semakin besar aktivitas antioksidannya semakin kecil nilai IC_{50} yang diperoleh.

4. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maserasi menggunakan pelarut etanol menghasilkan rendemen sebesar 29,6 %. Metode fraksinasi yang digunakan yaitu metode cair-cair pemisahan berdasarkan perbedaan

kepolaran dengan rendemen masing-masing pelarut yang didapatkan yaitu *n*-heksan 30 %, etil asetat 15 % dan etanol fraksi 50 %. Hasil maserasi dan fraksinasi dilakukan uji fitokimia dengan pelarut etanol didapatkan triterpenoid dan steroin, flavonoid, saponin dan tanin sedangkan pada pelarut hasil fraksinasi yaitu *n*-heksan didapatkan flavonoid dan fenolik. Etil asetat didapatkan flavonoid, tannin dan fenolik. Etanol fraksi didapatkan triterpenoid dan steroin, flavonoid, saponin dan tannin. Hasil pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menggunakan pelarut etanol yaitu hasil ekstraksi mendapatkan nilai IC₅₀ 1,406 µg/ml, fraksi *n*-heksan mendapatkan nilai IC₅₀ 2,91 µg/ml, fraksi etil asetat mendapatkan nilai IC₅₀ 103 µg/ml dan fraksi etanol mendapatkan nilai IC₅₀ 18,99 µg/ml dan vitamin C mendapatkan nilai IC₅₀ 2,22 µg/ml sebagai pembanding jadi hasil yang didapatkan pada etanol sangat kuat dibandingkan vitamin C, fraksi *n*-heksan dan fraksi etanol menunjukkan hasil sangat kuat sedangkan yang fraksi etil asetat memiliki hasil sedang.

Daftar Pustaka

- Aji, A., Bahri, S., & Tantalia, T. (2017). Pengaruh Waktu Ekstraksi dan Konsentrasi HCl untuk Pembuatan Pektin dari Kulit Jeruk Bali (*Citrus maxima*). *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*, 6(1), 33–44.
- Cahyaningrum, K., Husni, A., & Budhiyanti, S. A. (2016). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut Cokelat. *Journal of Marine Research*, 36(2), 137–144.
- Fitriani, N., Herman, & Rijai, L. (2019). Antioksidan Ekstrak Daun Sumpit (*Brucea javanica* (L). Merr) dengan Metode DPPH Nurul. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 2(1), 57–52.
- Fatoni, G. (2019). Penetapan Aktivitas Antioksidan Metode Dpph Tumbuhan Paku (*Pteridophyta*) Di Kabupaten Lumajang. *Tugas Akhir*. Progam Studi Farmasi Universitas Jember.
- Hartati, S., Rugayah, & Praptosuwiryo, T. N. (2016). Isolasi Kandungan Senyawa Kimia dari Pakis Simpei (*Cibotium barometz*) serta Uji Bioaktivitas Antioksidan, Uji Toksisitas (BSLT) dan Antidiabetes. *Jurnal Kimia Terapan Indonesia*, 18(1), 1–10.
- Hasrianti. (2017). Data Kandungan Gizi Bahan Pangan Pokok dan Penggantinya. *skripsi*. Makasar: Universitas Hassanudin.
- Haveni, D., Mastura, Sari, R.P. (2019). Ekstrak Etanol Bunga Kertas (*Bougainvillea*) Pink Sebagai Anti Oksidan Dengan Menggunakan Metode DPPH. *Jurnal Pendidikan Kimia dan Ilmu Kimia*, 2(1), 1-7
- Hartini, N. (2020). Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Metanol Batang dan Akar Gulma Siam (*Chromolaena odorata*) menggunakan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil). *Skripsi*. Banda Aceh: Universitas Islam Negri Ar-Raniry.
- Hendra, R., Khodijah, R., Afham, M., Fachira, R., Sofiyanti, N., & Teruna, H. Y. (2020). Tingkat Toksisitas dari Beberapa Ekstrak Tanaman Paku Kaki Tupai (*Davallia denticulate*). *Majalah Farmasetika*, 4(1), 46–49.
- Herdiana, I., & Aji, N. (2020). Fraksinasi Ekstrak Daun Sirih dan Ekstrak Gambir serta Uji Antibakteri *Streptococcus mutans*. *Jurnal Ilmiah Kesehatan*, 19(3), 100–106.
- Ikharr, M. S., Yudistira, A., & Wewengkang, D. S. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan *Stylissa sp.* Dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Pharmakon*, 8(4), 961.
- Khasanah, N. W., Karyadi, B., & Sundaryono, A. (2020). Uji Fitokimia dan Toksisitas Ekstrak Umbi *Hydnophytum sp.* terhadap *Artemia salina* Leach. *Journal of Science Education*, 4(1), 47–53.
- Kasminah. 2016. Aktivitas Antioksidan Rumput Laut *Halymenia Durvillaei* Dengan Pelarut Non Polar, Semi Polar Dan Polar. *Skripsi*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Lona, A.T. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi *N*-Heksana, Etil Asetat, Dan Air Dari Ekstrak Daun Hijau Tanaman Pucuk Merah (*Syzygium Myrtifolium Walp*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Atcc 25923. *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.
- Maitulung, I., Maarisit, W., Pareta, D. N., & Lengkey, Y. K. (2022). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Akar Manukan (*Rhinacanthus nasutus* (L) Kurz). 5(2), 127–134.
- Meliza, R., Chikmawati, T., & Sulistijorini, S. (2019). Morfologi Spora dan Perkembangan Gametofit *Davallia denticulata* dan *Davallia trichomanoides*. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia (JBBI)*, 6(1), 1. 20-35
- Mukhtarini. (2014). Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*, 7(2), 361–367.
- Mutiara, R., Djangi, M. J., & Herawati, N. (2016). Isolasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Metanol Kulit Buah Mangrove Pidada (*Sonneratia caseolaris*). *Jurnal Chemical*, 17(2), 52–62.

- Nonci, F. Y., Pine, T. D., & Hasnia. (2016). Uji Aktivitas Antimikroba Hasil Fraksinasi Ekstrak Etanol Daun Patikala (*Etlintera Elatior*) Terhadap Beberapa Mikroba Uji. *Jurnal farmasi Uin alauddin makassar*, 4(2), 35-42.
- Noprianto. (2018). Pengaruh Penggunaan Ekstrak Pakis (*Diplazium esculentum*) Terhadap Mutu Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*) Segar. *Biomass Chem Eng*, 3(2). 14-16
- Novia, D., Noviyanti, Y., & Anggraini, Y. N. (2019). Identifikasi dan Fraksinasi Ekstrak Akar Tebu Hitam (*Saccharum officinarum* l.) dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis. *Jurnal Ilmiah Farmacy*, 6(1), 77-85.
- Pratiwi, L., Fudholi, A., Martien, R., & Pramono, S. (2016). Ethanol Extract, Ethyl Acetate Extract, Ethyl Acetate Fraction, and n-Heksan Fraction Mangosteen Peels (*Garcinia mangostana* L.) As Source of Bioactive Substance Free-Radical Scavengers. *JPSCR : Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 1(2), 71.
- Surya, A. (2019). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol The Hijau Kemasan Merek X Terhadap DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). *Jurnal Analis Kesehatan*, 7(1), 43-49.
- Surya, A., & Rahayu, D. P. (2020). Antioksidan Ekstrak Metanol Kulit Petai (*Parkia Speciosa Hassk*) Dengan Metode 2,2-diphenyl-1-picrylhidrazyl. *JOPS (Journal Of Pharmacy and Science)*, 4(2), 1-5.
- Tamunu, M. sarra, Pareta, D. N., Hariyadi, H., & Karauwan, F. A. (2022). Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Benalu Pada Kersen *Dendrophloe pentandra* (L.) Dengan Metode 2,2-diphenyl -1- Picrylhydrazyl (DPPH). *Biofarmasetikal Tropis*, 5(1), 79-82.
- Wulansari, A.N. (2018). Alternatif Cantigi Ungu (*Vaccinium varigiaefolium*) Sebagai Antioksidan. *Jurnal Farmaka Suplemen*, 16(2), 19-29
- Yuliani, N.N., Sambaran, J., & Mau, M.A. (2016). Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Rimpang Jahe Merah (*zingiber officinale* var. *Rubrum*) Dengan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl). *Jurnal Info Kesehatan*, 14(1), 1092-1111.