

PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAUN KARINAT (*Rubus moluccanus* L)

Fitri Sadlia^{1)*}, Ali Rakhman Hakim²⁾, Rina Saputri³⁾, Rohama⁴⁾

^{1,3,4} Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Kesehatan, Universitas Sari Mulia, Jalan Pramuka Nomor 2, Banjarmasin, Indonesia

² Program Studi Pendidikan Profesi Apoteker, Universitas Sari Mulia, Jalan Pramuka Nomor 2, Banjarmasin, Indonesia

Info Artikel

Submitted: 18-10-2024

Revised: 26-10-2024

Accepted: 20-11-2024

*Corresponding author
Fitri Sadlia

Email:
fitrisadlia604@gmail.com

DOI: 10.33859/jpcs.v5i1.655

ABSTRAK

Latar Belakang: Paparan lingkungan dapat memicu pembentukan radikal bebas yang disebut juga *reactive oxygen spesies* (ROS). Selain disebabkan faktor eksogen, radikal bebas juga dibentuk secara alamiah melalui metabolisme sel fisiologis. Radikal bebas yang tidak ditangani akan memberikan dampak negatif terhadap manusia, diantaranya terjadi perubahan abnormal yang mengenai gen tertentu dalam tubuh yang menyebabkan penyakit kanker. Salah satu senyawa kelompok metabolit sekunder yang memiliki potensi sebagai antioksidan adalah senyawa flavonoid. Ekstrak daun karinat juga terbukti secara kualitatif mengandung senyawa flavonoid berdasarkan hasil Kromatografi Lapis Tipis.

Tujuan: Penelitian ini secara umum bertujuan mengetahui kadar total flavonoid dan aktivitas antioksidan pada ekstrak daun karinat (*Rubus moluccanus* L).

Metode: Metode penelitian ini adalah eksperimental laboratorium dengan desain penelitian *true-experimental* dengan menggunakan rancangan *post test only control group design*. Kelompok kontrol dalam penelitian ini adalah kuersetin (DPPH) dan variasi konsentrasi ekstrak etanol daun karinat sebagai kelompok perlakuan.

Hasil: Hasil penelitian menjelaskan bahwa ekstrak daun karinat memiliki kadar flavonoid total sebesar 143,8 mg/Qe/g dengan nilai rata-rata IC50 sebesar 1,32 ppm yang berarti aktivitas antioksidan daun karinat sangat kuat dan lebih baik daripada kuersetin dengan nilai rata-rata IC50 2,19 ppm. Hasil analisis *T-Independent Test* diperoleh sebesar 0,000 yang berarti adanya perbedaan aktivitas antioksidan yang signifikan antara daun karinat dan kuersetin.

Simpulan: Daun karinat memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat sehingga daun karinat dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan.

Kata Kunci: antioksidan, daun karinat, flavonoid

ABSTRACT

Background: This environmental exposure triggers the formation of free radicals, also known as *reactive oxygen species* (ROS). Apart from being caused by exogenous factors, free radicals are also formed naturally through physiological cell metabolism. Free radicals that are not handled will have a negative impact on humans, including abnormal changes that affect certain genes in the body that cause cancer. Carinate leaf extract is also qualitatively proven to contain flavonoid compounds based on Thin Layer Chromatography results which have potential as antioxidants.

Objective: This study generally aims to determine the total flavonoids and antioxidant activity in carinate leaf extract (*Rubus moluccanus* L) leaf extract

Methods: This research method is a laboratory experiment with a *true-experimental research design* using a *post test only control group design*. The

control group in this study was quercetin (DPPH) and variations in the concentration of ethanol extract of carinate leaves as the treatment group.

Results: The results explained that carinate leaf extract has a total flavonoid content of 143.8 mg/Qe/g with an average IC50 value of 1,32 ppm which means the antioxidant activity of carinate leaves is very strong and better than quercetin with an average IC50 value of 2,19 ppm. T Independent Sample analysis results obtained of 0.000 which that there is a significant difference in antioxidant activity between carinate leaves and quercetin.

Conclusion: Carinate leaves have very strong antioxidant activity so that carinate leaves can be utilized as antioxidants.

Keywords : antioxidants, carinate leaf, flavonoids

PENDAHULUAN

Kulit termasuk bagian dari organ tubuh yang terletak paling luar dan terbesar pada manusia, berfungsi sebagai lapisan penghalang untuk melindungi tubuh terhadap pengaruh lingkungan, serta dapat merupakan cermin bagi kesehatan seseorang. Sebagai organ paling luar tubuh, kulit langsung terpapar dengan lingkungan prooksidan seperti radiasi ultraviolet, obat, polusi udara, dan asap rokok. Paparan lingkungan ini memicu pembentukan radikal bebas yang disebut juga *reactive oxygen spesies* (ROS). Selain disebabkan faktor eksogen, radikal bebas juga dibentuk secara alamiah melalui metabolisme sel fisiologis (Maharani *et al.*, 2021). Radikal bebas dibentuk apabila molekul oksigen mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Mekanisme kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas cukup kompleks melalui reaksi berantai hingga terjadi stres oksidatif yang menyebabkan kerusakan sel (Maharani *et al.*, 2021).

Radikal bebas yang tidak ditangani akan memberikan dampak negatif terhadap manusia, diantaranya terjadi perubahan abnormal yang mengenai gen tertentu dalam tubuh yang menyebabkan penyakit kanker. Bila kadar radikal bebas melampaui kemampuan tubuh untuk mengelolanya maka akan timbul kondisi stress oksidatif (*oxidative stress*). Stress oksidatif menjadi penyebab utama penyakit yang menyebabkan kematian, yaitu kanker (Fakriah *et al.*, 2019).

Jumlah kasus kanker di Indonesia di Indonesia berjumlah 396.314 kasus dengan jumlah kematian sebesar 234.511 orang pada tahun 2020 (Kementrian Kesehatan, 2022). Kanker disebabkan salah satunya oleh zat radikal bebas yang terlalu banyak di tubuh. Radikal bebas diduga merupakan penyebab kerusakan sel yang mendasari timbulnya penyakit kanker (Budiarti *et al.*, 2022). Oleh sebab itu, perlunya senyawa yang mampu mencegah penyakit akibat radikal bebas terhadap tubuh manusia.

Diantara beberapa senyawa yang termasuk kelompok metabolit sekunder yang memiliki potensi sebagai antioksidan adalah senyawa flavonoid dan senyawa fenolik. Senyawa flavonoid tersebar hampir pada semua bagian tumbuhan pada akar daun bunga buah ataupun biji. Senyawa fenol tersebar luas pada tumbuhan, terutama dalam tumbuhan yang memiliki Senyawa aromatik yang memiliki karakteristik struktur benzen dan hidroksil (Hakim & Saputri, 2020).

Salah satu tumbuhan yang digunakan sebagai obat herbal adalah tumbuhan karinat pada bagian daunnya. Daun karinat (*Rubus moluccanus* L) sering dikonsumsi oleh penduduk Tumbang Samba, Kalimantan Tengah untuk pengobatan penyakit keputihan dan obat sakit gigi (nyeri) (Hakim, 2023). Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa ekstrak daun karinat terbukti mengandung flavonoid secara kualitatif dengan *reagen* asam klorida (Hakim, 2023). Ekstrak daun

karinat juga terbukti secara kualitatif mengandung senyawa flavonoid berdasarkan hasil Kromatografi Lapis Tipis (Mustaqimah, 2023). Aktivitas senyawa flavonoid terhadap jamur *Candida albicans* memiliki gugus hidroksil yang bekerja dengan cara membentuk kombinasi dengan fosfolipid dari membran sel jamur yang mengakibatkan sel jamur rusak (Agustina *et al.*, 2021). Selain itu, aktivitas flavonoid sebagai analgesik yaitu menghambat kerja enzim siklooksigenase sehingga produksi prostaglandin akan menurun dan rasa nyeri akan berkurang atau menghilang. Senyawa flavonoid juga dapat menghambat degranulasi neutrophil sehingga akan menghambat pengeluaran sitokin, radikal bebas serta enzim yang berperan dalam proses peradangan (Wardani *et al.*, 2021). Akan tetapi, dari penelitian sebelumnya belum dilakukan penetapan kadar flavonoid dan aktivitas antioksidan dari ekstrak daun karinat (*Rubus moluccanus* L).

METODE

Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratorium dengan desain penelitian *true-experimental* dengan menggunakan rancangan *post test only control group design*. Kelompok kontrol dalam penelitian ini adalah kuersetin (DPPH) dan variasi konsentrasi ekstrak etanol daun karinat sebagai kelompok perlakuan.

Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun karinat (*Rubus moluccanus* L). Daun yang digunakan adalah daun yang telah dideterminasi di Laboratorium FMIPA Universitas Lambung Mangkurat Banjarbaru.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah peralatan gelas lab (Pyrex), batang pengaduk, kertas saring Whattman, pipet volume, tabung reaksi (Pyrex), rak tabung reaksi, pipet tetes, kuvet, spektrofotometri UV-Vis, timbangan analitik (Shimadzu Corporation), *waterbath*, labu ukur, botol kaca. Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun karinat, etanol 70%, $AlCl_3$, kalium asetat, aquadest, dan DPPH (1,1 – difenil – pikrilhidrazil).

Prosedur Kerja

- a. Ekstraksi Daun Karinat
 1. Timbang 100 gram daun karinat (*Rubus moluccanus* L).
 2. Rendam daun yang telah dikeringkan pada botol kaca, kemudian tambahkan pelarut etanol 70% sampai daun seluruhnya terendam dengan jarak ± 1 cm dari. Ekstraksi cara maserasi dilakukan selama 3 kali 24 jam, dengan setiap 24 jam pelarut diganti dengan yang baru.
 3. Uapkan ekstrak cair di atas *waterbath* dengan suhu $60^\circ C$ sampai memperoleh ekstrak kental
- b. Penentuan Kadar Flavonoid Total
 1. Pembuatan Larutan Induk Kuersetin 100 ppm
 - a) Timbang 10 mg kuersetin.
 - b) Larutkan menggunakan etanol 70% sebagai pelarut dalam labu ukur 100 ml
 2. Penentuan Panjang Gelombang Maksimal
 - a) Larutan baku 100 ppm dipipet 1 ml ke dalam labu ukur 10 ml.
 - b) Tambahkan 1 ml $AlCl_3$ dan 8 ml kalium asetat ke larutan a).

- c) Vortex larutan agar homogen.
- d) Ukur panjang gelombang maksimum dengan Spektrofotometri Uv-Vis pada rentang 400-500 nm.
3. Penentuan Waktu Operasi (*Operating Time*)
 - a) Ambil 1 mL larutan quercetin 100 ppm dan masukkan ke dalam tabung reaksi.
 - b) Tambahkan 1 mL $AlCl_3$ 10% dan tambahkan 8 mL kalium asetat 1 M ke dalam larutan.
 - c) Absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang maksimum yang telah diperoleh dengan selang waktu 2 menit hingga diperoleh absorbansi yang stabil atau konstan.
4. Pembuatan Kurva Kalibrasi
 - a) Timbang 10 mg kuersetin dan larutkan 100 ml dalam labu ukur 100 ml ad etanol 70% untuk memperoleh konsentrasi larutan kuersetin 100 ppm
 - b) Ambil larutan sebanyak 0,2; 0,4; 0,6, 0,8 dan 1 ml dari larutan 100 ppm masing-masing ke dalam labu ukur 10 ml ad etanol 70% menggunakan pipet sebagai kurva kalibrasi dengan konsentrasi berturut-turut 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm.
 - c) Ambil larutan sebanyak 1 ml masing-masing konsentrasi ke dalam tabung reaksi
 - d) Tambahkan 1 ml $AlCl_3$ 10% dan 8 ml kalium asetat 1 M, ke dalam tabung reaksi masing-masing setiap konsentrasi
 - e) Vortex larutan setiap konsentrasi
 - f) Larutan diinkubasi pada suhu kamar sesuai operating time terlebih dahulu sebelum diperiksa dengan spektrofotometri Uv-Vis.
5. Pembuatan Larutan Sampel
 - a) Sediaan larutan ekstrak daun karinat (*Rubus moluccanus* L) ditimbang sebanyak 10 mg
 - b) Larutkan dengan 100 ml pelarut etanol 70% dalam dalam labu ukur 100 ml.
 - c) Ambil larutan sebanyak 1 ml ke dalam labu ukur 10 ml ad etanol 70% menggunakan pipet sebagai larutan sampel dengan konsentrasi 10 ppm
 - d) Ambil 1 ml larutan sampel 10 ppm dan masukkan ke tabung reaksi
 - e) Tambahkan 1 ml aluminium klorida 10% dan 8 ml kalium asetat 1 M
 - f) Vortex larutan
 - g) Penyerapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada dan diulang 5 kali
- c. Uji Aktivitas Antioksidan
 1. Pembuatan Larutan DPPH
 - a) Timbang 9,858 mg DPPH
 - b) Larutkan dengan pelarut etanol 70% sebanyak 250 ml (Hakim *et al.*, 2022).
 2. Penentuan Panjang Gelombang Maksimal DPPH pada rentang 400 – 600 nm.
 3. Penentuan Waktu Operasi (*Operating Time*)
 - a) Sebanyak 2,0 ml larutan DPPH 10 ppm ditambahkan dengan 2 ml kuersetin sebagai kontrol positif.
 - b) Absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang maksimum yang telah diperoleh dengan selang waktu 2 menit hingga diperoleh absorbansi yang stabil atau konstan.
 4. Ekstrak daun Karinat dibuat dalam beberapa konsentrasi (2; 4; dan 6).
 5. Membuat kontrol positif dengan menggunakan kuersetin dalam beberapa konsentrasi (2; 4; dan 6) dari larutan 100 ppm.
 6. Sebanyak 2,0 ml larutan DPPH 0,1 mM ditambahkan dengan 2,0 ml larutan sampel (ekstrak dengan berbagai konsentrasi dan kuersetin dengan berbagai konsentrasi), kemudian divortex dan didiamkan dalam tempat gelap sesuai operating time.
 7. Uji aktivitas kuantitatif dilakukan dengan membaca hasil uji menggunakan spektrofotometer UV-Vis sesuai panjang gelombang maksimum yang diperoleh.

8. Hitung aktivitas antioksidan dengan menghitung nilai IC₅₀

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

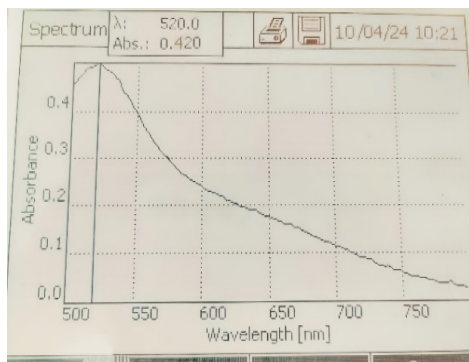
1. Rendemen Ekstrak

Tabel 1. Rendemen Ekstrak

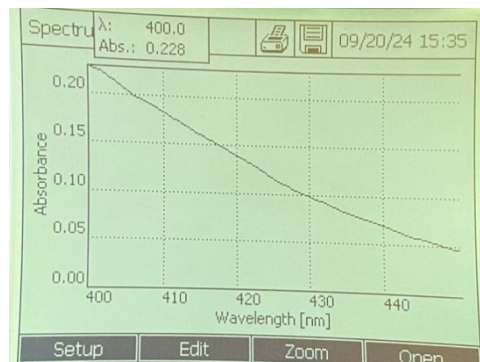
Keterangan	Bobot
Bobot Ekstrak	17,44 g
Bobot Serbuk	100 g
Rendemen Ekstrak	17,44%

Pada pembuatan ekstrak kental daun karinat (*Rubus moluccanus* L) dilakukan dengan metode maserasi dengan simplisia kering sebanyak 100 gram. Kemudian diekstrak dengan pelarut etanol 70% sampai simplisia seluruhnya terendam dengan jarak ± 1 cm. Ekstraksi dengan cara maserasi dilakukan selama 3 kali 24 jam, dengan setiap 24 jam pelarut diganti dengan yang baru. Ekstrak kental yang diperoleh berjumlah 17,44 gram.

2. Panjang Gelombang



Panjang Gelombang DPPH



Panjang Gelombang Kuersetin

Gambar 1. Panjang Gelombang

Panjang gelombang maksimum dari DPPH pada penelitian ini berjumlah 520 nm dengan absorbansi blanko sebesar 0,402 nm. Panjang gelombang maksimum dari kuersetin pada penelitian ini berjumlah 400 nm.

3. Kadar Flavonoid Total Daun Karinat

Tabel 1. Absorbansi Ekstrak Daun Karinat (*Rubus moluccanus* L)

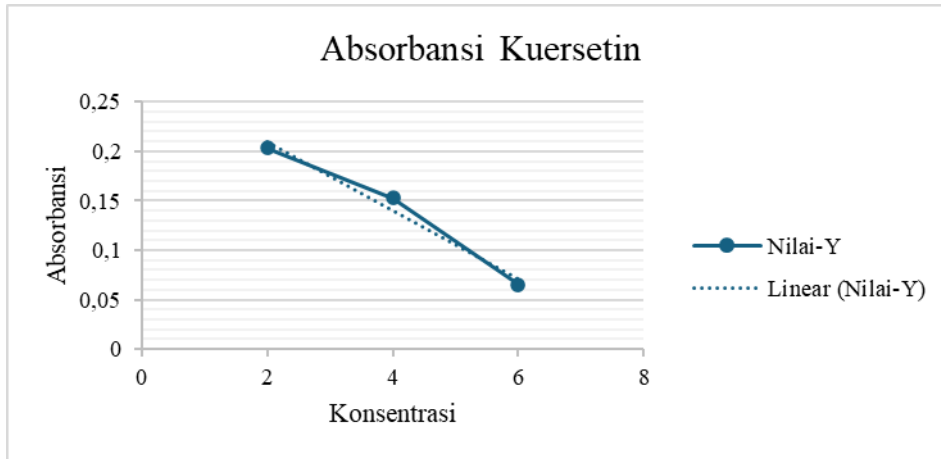
Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
10	0,029

Tabel 2. Kadar Flavonoid Total

ppm	Absorbansi	Konsentrasi (ppm)	Kadar Flavonoid Total (mg.QE/g)
10	0,029	14,38	143,8

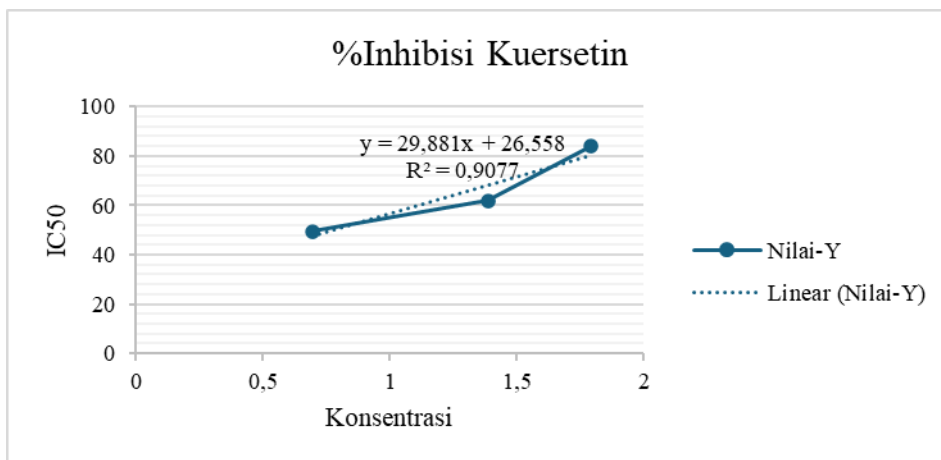
Berdasarkan Tabel 3, penentuan kadar flavonoid didapatkan hasil dengan cara memasukkan nilai absorbansi konsentrasi 10 ppm ke dalam rumus $y = 0,0018x + 0,0031$. Kadar flavonoid total yang diperoleh pada konsentrasi 10 ppm sebesar 143,8 mg.Qe/g.

4. %Inhibisi



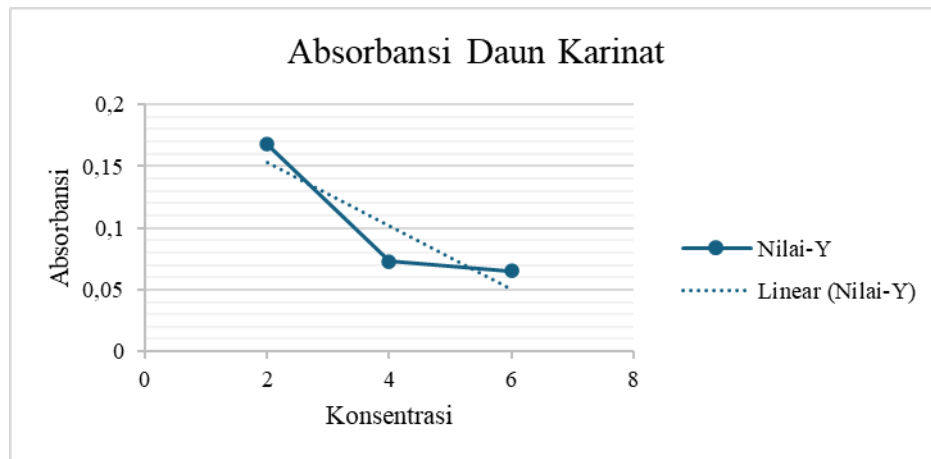
Gambar 2. Grafik Konsentrasi Kuersetin terhadap Absorbansi

Berdasarkan Gambar 2 di atas menunjukkan hasil dari kurva baku kuersetin mengalami penurunan seiring meningkatnya konsentrasi kuersetin yang menjelaskan semakin tinggi konsentrasi kuersetin maka aktivitas antioksidan semakin meningkat sehingga radikal bebas dari DPPH berkurang.



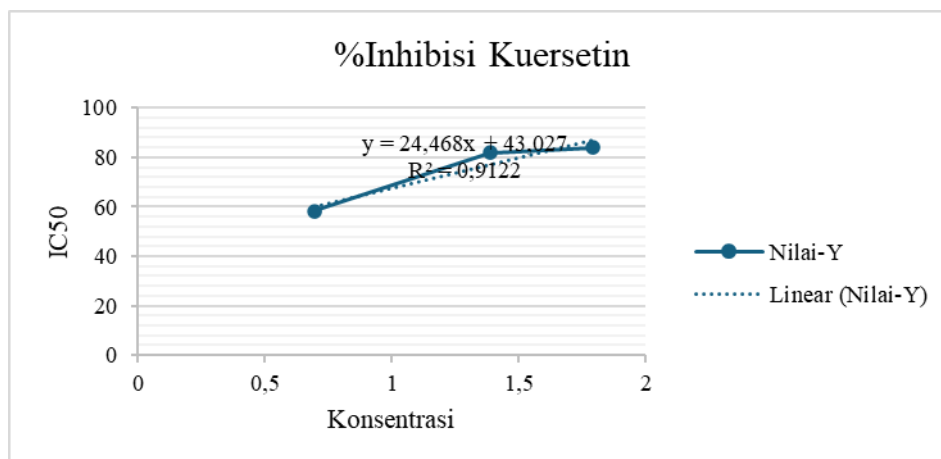
Gambar 3. Grafik Rata-rata Konsentrasi Kuersetin terhadap %Inhibisi

Berdasarkan Gambar 3 di atas menunjukkan hasil dari kurva baku kuersetin terhadap %Inhibisi memiliki persamaan regresi linear, yaitu $y = 29,881x + 26,558$ dengan nilai a sebesar 26,558, nilai b sebesar 29,881 dan r^2 sebesar 0,9077.



Gambar 4 Grafik Konsentrasi Daun Karinat terhadap Absorbansi

Berdasarkan Gambar 4 di atas menunjukkan hasil dari kurva baku daun Karinat mengalami penurunan seiring meningkatnya konsentrasi kuersetin yang menjelaskan semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun karinat maka aktivitas antioksidan semakin meningkat sehingga radikal bebas dari DPPH berkurang.



Gambar 5. Grafik Rata-rata Konsentrasi Daun Karinat terhadap %Inhibisi

Berdasarkan Gambar 5 di atas menunjukkan hasil dari kurva baku kuersetin terhadap %Inhibisi memiliki persamaan regresi linear, yaitu $y = 24,468x + 43,027$ dengan nilai a sebesar 24,468, nilai b sebesar 43,027 dan r^2 sebesar 0,9122.

Tabel 4. Hasil Aktivitas Antioksidan Karinat

Sampel	Konsentrasi	Rata-rata Absorbansi	Rata-rata %Inhibisi	Regresi Linear	Nilai IC50
Kuersetin	2	0,203	49,50	$y = 29,881x + 26,558$	2,19
	4	0,153	61,94		
	6	0,065	83,91		
Karinat	2	0,168	58,21	$y = 24,468x + 43,027$	1,32
	4	0,073	81,76		
	6	0,065	83,83		

Hasil nilai IC50 rata-rata kuersetin sebesar 2,19 ppm dan menunjukkan aktivitas antioksidan dalam kategori sangat kuat, sedangkan nilai IC50 karinat sebesar 1,32 ppm yang mana daun karinat menunjukkan aktivitas antioksidan dalam kategori sangat kuat.

Tabel 3. Analisis Statistik Aktivitas Antioksidan IC50

Replikasi	Kuersetin	Daun Karinat	P-value
1	2,18	1,27	0,000
2	2,19	1,41	
3	2,19	1,30	
Rata-rata	2,19	1,32	

Hasil nilai IC50 rata-rata kuersetin sebesar 2,19 ppm dan menunjukkan aktivitas antioksidan dalam kategori sangat kuat, sedangkan nilai IC50 karinat sebesar 1,32 ppm. Berdasarkan hasil analisis statistik *T-Independent sample*, nilai p value <0,05 yang menunjukkan adanya perbedaan aktivitas antioksidan yang signifikan antara kuersetin dan daun karinat.

Pembahasan

Daun karinat yang sudah ditimbang akan dilakukan ekstraksi untuk memisahkan senyawanya. Metode yang digunakan adalah metode maserasi karena metode ini terbilang yang paling sederhana dan mudah dilakukan. Maserasi bertujuan untuk memudahkan proses menyari sehingga ekstrak yang akan di dapatkan lebih maksimal (Widi *et al.*, 2019). Pelarut yang digunakan adalah etanol 70%, pelarut ini bersifat polar sehingga pelarut mampu melarutkan senyawa-senyawa polar, seperti kuersetin (Putri *et al.*, 2023). Berdasarkan hasil penelitian, penggunaan konsentrasi etanol lebih besar dari 70%, tingkat ekstraksi komponen target sedikit menurun karena adanya denaturasi protein meningkatkan resistensi difusi pada konsentrasi etanol yang lebih tinggi (Hakim & Saputri, 2020).

Hasil ekstrak kental dengan pelarut etanol 70% yang diperoleh sebanyak 17,44 gram dari berat simplisia 100 gram sehingga hasil rendemennya ekstrak sebesar 17,44%. Rendemen di katakan baik jika nilai >10%. Semakin tinggi rendemen ekstrak maka semakin tinggi pula kandungan zat yang tertarik pada suatu bahan baku (Oktavia *et al.*, 2023).

Penetapan kadar flavonoid total ekstrak daun karinat (*Rubus moluccanus*) diawali dengan pengukuran panjang gelombang maksimal kuersetin 10 ppm dengan menggunakan spektrofotometer Uv-Vis. Panjang gelombang maksimum untuk kuersetin dengan konsentrasi 10 ppm. Hasil yang didapatkan dari pengukuran panjang gelombang maksimum yaitu 400 nm. Panjang gelombang yang diperoleh sesuai dengan literatur dimana rentang panjang gelombang 370-450 nm (Nofita *et al.*, 2020).

Konsentrasi kurva baku standar kuersetin menunjukkan berbanding lurus dengan nilai absorbansi, semakin besar konsentrasi maka nilai absorbansi semakin tinggi. Pengukuran diperoleh dari persamaan regresi kuersetin $y = 0,0018x + 0,0031$. Hasil nilai linearitas ditunjukkan dengan nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,9197. Nilai (r) yang didapat mendekati angka 1 menunjukkan bahwa persamaan regresi tersebut adalah linier, sehingga dapat dikatakan bahwa absorbansi dan konsentrasi memiliki korelasi yang sangat kuat (Satria *et al.*, 2022). Perhitungan hasil kadar dilakukan dengan memasukan nilai absorbansi sampel yang sudah diperoleh kedalam persamaan garis linier $y = 0,0018x + 0,0031$ dengan koefisien korelasi (r) 0,9197. Hasil konsentrasi flavonoid yang diperoleh dari ekstrak daun karinat dengan konsentrasi 10 ppm sebesar 143,8 mg.QE/g.

Pada tanaman lain yang juga dimanfaatkan untuk pengobatan keputihan yaitu ekstrak daun *Citrus aurantifolia* memiliki aktivitas antijamur dengan kadar flavonoid sebesar 34,426 mg.QE/g yang menunjukkan kadar flavonoid ekstrak daun karinat lebih tinggi daripada ekstrak daun *Citrus* <https://ejurnal.unism.ac.id/index.php/jpcs>

aurantifolia (Musiam *et al.*, 2017). Selain itu, tanaman lain yang juga digunakan untuk pengobatan inflamasi yaitu ekstrak etanol daun mangga arumanis (*Mangifera indica* L.) memiliki aktivitas antiinflamasi dengan kadar flavonoid sebesar 56,24 mg.QE/g. yang menunjukkan kadar flavonoid ekstrak daun karinat lebih tinggi daripada ekstrak daun mangga arumanis (Hidayati *et al.*, 2022). Kadar flavonoid total yang diperoleh menunjukkan hipotesis A1 diterima yang bermakna ekstrak daun karinat mengandung flavonoid dengan kadar yang tinggi.

Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH. Metode DPPH dipilih karena potensi redoksnya yang cukup tinggi untuk mengoksidasi antioksidan. Uji aktivitas antioksidan ekstrak daun karinat dilakukan dengan mengukur besarnya aktivitas hambatan terhadap radikal bebas DPPH menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Prinsipnya adalah interaksi antara antioksidan dengan DPPH. Radikal DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) akan direduksi menjadi DPPH-H (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazine) melalui pengikatan atom hidrogen atau elektron ke pusat radikal karena reaksi dengan antioksidan yang ditandai dengan perubahan warna larutan ungu dari DPPH menjadi larutan kuning (Flieger & Flieger, 2020).

Perhitungan nilai IC50 kuersetin dan sampel diawali dengan pengukuran *operating time*. Pengukuran dilakukan dengan panjang gelombang 520 nm dan *operating time* dilakukan selama 60 menit. *Operating time* memiliki tujuan untuk mengetahui waktu pengukuran suatu senyawa yang diperoleh saat absorbansi paling stabil. *Operating time* dilakukan dengan mengukur antara waktu pengukuran dengan absorbansi larutan. Pengukuran *operating time* dilakukan selama 60 menit dengan interval 2 menit. *Operating time* ditetapkan pada menit ke-50 karena absorbansi sudah stabil sejak menit ke-50 sampai menit ke-60 yang dapat dilanjutkan perhitungan IC50.

Variasi konsentrasi kuersetin dan sampel menunjukkan adanya peningkatan %inhibisi. Peningkatan %inhibisi sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan semakin tinggi konsentrasi maka semakin rendah absorbansi yang diperoleh dan nilai absorbansi bergantung pada kadar zat yang terkandung didalamnya sehingga semakin banyak kadar zat yang terkandung dalam suatu sampel maka semakin banyak molekul yang akan menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu (Yanti & Purwanti, 2023). %Inhibisi menggambarkan aktivitas antioksidan yang selanjutnya dihitung nilai IC50 dari kuersetin dan daun karinat.

Hasil perhitungan rata-rata IC50 yang diperoleh pada kuersetin sebesar 2,19 ppm, sedangkan hasil perhitungan rata-rata IC50 pada daun karinat sebesar 1,32 ppm. Hasil uji aktivitas antioksidan menunjukkan antioksidan ekstrak daun karinat lebih besar dibandingkan kuersetin sebagai kontrol positif. Analisis data dilakukan dengan pengujian statistik untuk mengetahui perbedaan pada tiap kelompok. Berdasarkan hasil uji statistik uji analisis dengan metode analisis yang digunakan adalah *T-Independent Sample* karena dua data tersebut telah terdistribusi normal ($p > 0,05$) dan homogen ($p > 0,05$).didapatkan nilai probabilitas sebesar 0,000 sehingga dapat dimaknai bahwa terdapat perbedaan aktivitas antioksidan yang signifikan atau bermakna antara kuersetin dan daun karinat (p value $0,000 < 0,05$). Hasil penelitian menunjukkan hipotesis A2 diterima yang menunjukkan aktivitas antioksidan daun karinat sangat kuat.

Berdasarkan pernyataan (Jun *et al.*, 2003) dalam (Hakim *et al.*, 2022) nilai IC50 tersebut artinya ekstrak daun karinat memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan rentang nilai IC50 <50 ppm. Aktivitas antioksidan yang kuat memiliki molekul atau senyawa yang cukup stabil untuk mendonorkan elektron atau hidrogennya kepada molekul atau senyawa radikal bebas dan menetralkannya, sehingga mengurangi kemampuannya untuk melakukan reaksi berantai radikal

bebas. Antioksidan ini menunda atau menghambat kerusakan sel terutama melalui sifat penangkal radikal bebasnya (Ibroham *et al.*, 2022). Aktivitas antioksidan dipengaruhi dengan metabolit sekunder pada daun karinat, yaitu flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa aktif yang termasuk dalam jenis intermediet antioksidan yang berperan sebagai antioksidan hidrofilik dan lipofilik (Hardiningtyas *et al.*, 2019).

Flavonoid merupakan senyawa yang berperan sebagai antioksidan. Mekanisme antioksidan dari flavonoid adalah menangkap ROS secara langsung, mencegah regenerasi ROS dan secara tidak langsung dapat meningkatkan aktivitas antioksidan enzim antioksidan seluler. Flavonoid merupakan senyawa yang paling efektif sebagai antioksidan dengan cara mentransfer atom H⁺. Pencegahan terbentuknya ROS oleh flavonoid dilakukan dengan beberapa cara, yaitu menghambat kerja enzim xantin oksidase dan *Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate* (NADPH) oksidase, serta mengkelat logam (Fe²⁺ dan Cu²⁺) sehingga dapat mencegah reaksi redoks yang dapat menghasilkan radikal bebas (Hardiningtyas *et al.*, 2019).

Hasil IC₅₀ yang diperoleh menyatakan daun karinat memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Kemampuan ini juga dipengaruhi dengan metabolit sekunder lainnya yang memiliki kemampuan antioksidan, diantaranya alkaloid dan terpenoid dimana daun karinat teruji mengandung alkaloid dan terpenoid. Terpenoid berpotensi memiliki aktivitas antioksidan. Adapun salah satu senyawa terpenoid yang memiliki aktivitas antioksidan adalah karotenoid. Karotenoid adalah agen pewarna dan antioksidan sekunder karena banyaknya ikatan rangkap terkonjugasi pada rantai poliena yang memungkinkan pembersihan radikal, membersihkan oksigen tunggal dan radikal peroksil. Oksigen tunggal adalah salah satu jenis oksigen yang paling reaktif (ROS) dalam oksidasi kolesterol, karotenoid berpotensi mencegah serangan oksidatif sterol oleh reaksi oksidasi (Gutiérrez-Del-río *et al.*, 2021).

KESIMPULAN

Daun ekstrak karinat (*Rubus molucanus* L) memiliki total kadar flavonoid sebesar 143,8 mg.QE/g. Hasil uji aktivitas antioksidan kuersetin memiliki nilai rata-rata IC₅₀ sebesar 2,19 ppm dimana memiliki aktivitas antioksidan dalam kategori sangat kuat, sedangkan ekstrak daun karinat (*Rubus moluccanus* L) memiliki nilai rata-rata IC₅₀ sebesar 1,32 ppm dimana memiliki aktivitas antioksidan dalam kategori sangat kuat. Hasil analisis *T-Independent Sample* diperoleh sebesar 0,000 yang berarti adanya pengaruh signifikan antara aktivitas antioksidan daun karinat dan kuersetin. Dengan demikian, daun karinat memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi daripada kuersetin.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, E., Andiarna, F., Hidayati, I., & Kartika, V. F. (2021). Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Black Garlic Terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida Albicans*. *Bioma: Jurnal Ilmiah Biologi*, 10(2), 143–157. <https://doi.org/10.26877/Bioma.V10i2.6371>
- Budiarti, G. I., Sulistiawati, E., Insani, V., & Harmony, S. (2022). Pengaruh Pelarut Hydrogen Rich Water Terhadap Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria Ternatea* L.). *Jurnal Rekayasa Bahan Alam Dan Energi Berkelanjutan*, 6(1), 28–32.
- Fakriah, Kurniasih, E., Adriana, & Rusydi. (2019). Sosialisasi Bahaya Radikal Bebas Dan Fungsi Antioksidan Alami Bagi Kesehatan. *Jurnal Vokasi*, 3(1), 1. <https://doi.org/10.30811/Vokasi.V3i1.960>
- Flieger, J., & Flieger, M. (2020). The [Dpph•/Dpph-H]-Hplc-Dad Method On Tracking The Antioxidant Activity Of Pure Antioxidants And Goutweed (*Aegopodium Podagraria* L.) <https://ejurnal.unism.ac.id/index.php/jpcs>

- Hydroalcoholic Extracts. *Molecules*, 25(24).
<https://doi.org/10.3390/Molecules25246005>
- Gutiérrez-Del-Río, I., López-Ibáñez, S., Magadán-Corpas, P., Fernández-Calleja, L., Pérez-Valero, Á., Tuñón-Granda, M., Miguélez, E. M., Villar, C. J., & Lombó, F. (2021). Terpenoids And Polyphenols As Natural Antioxidant Agents In Food Preservation. *Antioxidants*, 10(8).
<https://doi.org/10.3390/Antiox10081264>
- Hakim, A. R. (2023). Identifikasi Senyawa Flavonoid Ekstrak Daun Karinat. *Sains Medisina*, 1(1), 167–168.
- Hakim, A. R., & Saputri, R. (2020). Narrative Review: Optimasi Etanol Sebagai Pelarut Senyawa Flavonoid Dan Fenolik. *Jurnal Surya Medika*, 6(1), 177–180.
<https://doi.org/10.33084/Jsm.V6i1.1641>
- Hakim, A. R., Saputri, R., Savitri, A. S., Ujuldah, A., & Sadlia, F. (2022). Aktivitas Antioksidan Kulit Buah Cempedak (*Artocarpus Integer* (Thunb.) Merr.) Asal Kalimantan Selatan. *Jurnal Surya Medika*, 7(2), 10–13. <https://doi.org/10.33084/Jsm.V7i2.2858>
- Hardiningtyas, S. D., Purwaningsih, S., & Handharyani, E. (2019). Aktivitas Antioksidan Dan Efek Hepatoprotektif Daun Bakau Api-Api Putih. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 17(1), 80–91. <https://doi.org/10.17844/Jphpi.V17i1.8140>
- Hidayati, S., Oktavianti, F., Susanti, D. A., & Aini, Q. (2022). Aktivitas Antiinflamasi In Vitro Dan In Vivo Ekstrak Etanol Daun Mangga Arumanis (*Mangifera Indica* L.). *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 4(5), 488–494. <https://doi.org/10.25026/Jsk.V4i5.1195>
- Ibroham, H. Muhammad, Siti, J., & Ika, Dyah Kumalasari. (2022). Potensi Tumbuh-Tumbuhan Di Indonesia Sebagai Antioksidan Alami. *Jurnal Umj*, 1–13.
<http://jurnal.umj.ac.id/index.php/Semnaslit>
- Kemntrian Kesehatan. (2022). *Kanker Payudara Paling Banyak Di Indonesia, Kemenkes Targetkan Pemerataan Layanan Kesehatan. Sehat Negeriku*.
<https://sehatnegeriku.kemkes.go.id/baca/umum/20220202/1639254/kanker-payudara-paling-banyak-di-indonesia-kemenkes-targetkan-pemerataan-layanan-kesehatan/>
- Kemit, N., Permana, I. D. G. M., & Kencana, P. K. D. (2019). Stabilitas Senyawa Flavonoid Ekstrak Daun Alpukat (*Persea Americana* Mill.) Terhadap Perlakuan Ph Dan Suhu. *Media Ilmiah Teknologi Pangan (Scientific Journal Of Food Technology)*, 6(1), 34–42.
- Maharani, A. I., Riskierdi, F., Febriani, I., Kurnia, K. A., Rahman, N. A., Ilahi, N. F., & Farma, S. A. (2021). Peran Antioksidan Alami Berbahan Dasar Pangan Lokal Dalam Mencegah Efek Radikal Bebas. *Prosiding Seminar Nasional Bio*, 1(2), 390–399.
- Musiam, S., Ulfah, F., Faisal, I. A., Kumalasari, E., & Alfian, R. (2017). Aktivitas Antifungi Flavonoid Dari Ekstrak Daun Citrus *Aurantifolia* Kalimantan Selatan Terhadap Pertumbuhan *Candida Albicans*. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 6(1), 51–66.
- Mustaqimah. (2023). Identifikasi Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Karinat Dengan Metode Klt. *Sains Medisina*, 1(1), 169–171.
- Nofita, D., Sari, S. N., & Mardiah, H. (2020). Penentuan Fenolik Total Dan Flavonoid Ekstrak Etanol Kulit Batang Matoa (*Pometia Pinnata* J.R. & G. Forst) Secara Spektrofotometri. *Chimica Et Natura Acta*, 8(1), 36. <https://doi.org/10.24198/Cna.V8.N1.26600>
- Oktavia, R., Saputri, R., & Rohama, R. (2023). Aktivitas Antioksidan Dan Penetapan Kadar Flavonoid Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum* Ruiz & Pav.) Dengan Variasi. *Journal Pharmaceutical Care ...*, 25–33. <https://doi.org/10.33859/jpcs>
- Putri, F. E., Diharmi, A., & Karnila, R. (2023). Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Pada Rumput Laut Coklat (*Sargassum Plagiyophyllum*) Dengan Metode Fraksinasi. *Jurnal*

- Teknologi Dan Industri Pertanian Indonesia*, 15(1), 40–46.
<https://doi.org/10.17969/jtipi.v15i1.23318>
- Sari, R., Pratiwi, L., & Apridamayanti, P. (2019). Efektivitas Snedds Ekstrak Kulit Manggis Terhadap Bakteri *P. Mirabilis* Dan *S. Epidermidis* Yang Terdapat Pada Ulkus Diabetik. *Pharmaceutical Sciences And Research*, 3(3), 130–138.
<https://doi.org/10.7454/psr.v3i3.3287>
- Satria, R., Hakim, A. R., & Darsono, P. V. (2022). Penetapan Kadar Flavonoid Total Dari Fraksi N-Heksana Ekstrak Daun Gelinggang Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Journal Of Engineering, Technology, And Applied Science*, 4(1), 33–46.
<https://doi.org/10.36079/lamintang.jetas-0401.353>
- Wardani, I. G. A. A. K., Putra, I. M. A. S., Adrianta, K. A., & Udayani, N. N. W. (2021). Efektivitas Analgesik Ekstrak Etil Asetat Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) Pada Mencit Putih (*Mus musculus*) Dengan Metode Rangsangan Panas (Hot Plate Method). *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 7(1), 8–12. <https://doi.org/10.36733/medicamento.v7i1.1385>
- Widi, Y., Asbanu, A., Wijayati, N., & Kusumo, E. (2019). Identifikasi Senyawa Kimia Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Dan Uji Aktivitas Antioksidannya Dengan Metode Dpph (2,2-Difenil-1- Pikrilhidrasil). *Indonesian Journal Of Chemical Science*, 8(3), 153–160.
- Yanti, E. F., & Purwanti, N. (2023). Penetapan Kadar Falvonoid Total Dan Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Makadamia (*Macadamia integrifolia*) dengan Metode DPPH. *Journal Of Islamic Pharmacy*, 7(2), 100–103. <https://doi.org/10.18860/jip.v7i2.17522>