

# Pengaruh Metode Preparasi Ekstrak Daun Waru (*Hibiscus tiliaceus*) sebagai Antioksidan terhadap Kadar Flavonoid dan Fenolik Total

*By Oktavina Kartika Putri*

## Pengaruh Metode Preparasi Ekstrak Daun Waru (*Hibiscus tiliaceus*) sebagai Antioksidan terhadap Kadar Flavonoid dan Fenolik Total

### Abstract

The main problem with the use of extracts is that the active substance inside is trapped in a large extract/simplicia then it is difficult to penetrate the lipid membranes of body cells. The way to solve this problem is to reduce the particle size of the extract, one of which is by converting it into an extract suspension. The study was initiated by extracting waru leaves (*Hibiscus tiliaceus*) by remaceration method using methanol as a solvent. After that, the suspension of *Hibiscus tiliaceus* leaves extract was made by ionic gelation method. Then both (methanol extract and extract suspension) were measured for total flavonoid and phenolic content and antioxidant activity by UV-Vis spectrophotometry method. The purpose of this study was to compare the total flavonoid content, total phenolic content, and antioxidant activity of methanol extract and suspension extract of *Hibiscus tiliaceus* leaves. The results showed that the particle size of the methanol extract and the extract suspension were  $1.509 \pm 0.553 \mu\text{m}$  and  $0.715 \pm 0.390 \mu\text{m}$ , respectively. The total flavonoid content of the methanol extract was  $3434.890 \pm 0.008 \mu\text{gQE/mL}$  while the suspension extract was  $409.891 \pm 0.001 \mu\text{gQE/mL}$ . The total phenolic content of the methanol extract was  $244352.685 \pm 1016.713 \mu\text{gGAE/mL}$  while the suspension extract was  $12068.316 \pm 86.970 \mu\text{gGAE/mL}$ . The  $\text{IC}_{50}$  value of methanol extract was  $58.564 \pm 1.412 \mu\text{g/mL}$  while the extract suspension was  $7917.333 \pm 21.385 \mu\text{g/mL}$ . In conclusion, the total flavonoid content, total phenolic content, and antioxidant activity of the methanol extract were higher than the suspension extract.

**Key words:** antioxidant activity, extract suspension, methanol extract, total flavonoid content, total phenolic content, waru leaves (*Hibiscus tiliaceus*)

### Abstrak

Kendala pemanfaatan ekstrak yang sering terjadi adalah zat aktif di dalamnya terperangkap di dalam ekstrak/simplisia yang berukuran besar sehingga sulit menembus membran lipid dari sel tubuh. Upaya untuk mengatasi masalah ini adalah dengan memperkecil ukuran partikel ekstrak, salah satunya dengan menjadikannya sebagai suspensi ekstrak. Penelitian diawali dengan mengekstrak daun waru (*Hibiscus tiliaceus*) dengan metode remaserasi menggunakan pelarut metanol. Setelah itu dilakukan pembuatan suspensi ekstrak daun waru dengan metode gelasi ionik. Kemudian keduanya (ekstrak metanol dan suspensi ekstrak) diukur kadar flavonoid dan fenolik total serta aktivitas antioksidannya dengan metode spektrofotometri UV-Vis. Tujuan penelitian ini adalah membandingkan kadar flavonoid total, kadar fenolik total, dan aktivitas antioksidan ekstrak metanol dan suspensi ekstrak daun waru. Hasil penelitian menunjukkan ukuran partikel ekstrak metanol dan suspensi ekstrak secara berturut-turut  $1,509 \pm 0,553 \mu\text{m}$  dan  $0,715 \pm 0,390 \mu\text{m}$ . Kadar flavonoid total ekstrak metanol adalah  $3434,890 \pm 0,008 \mu\text{gQE/mL}$  sedangkan suspensi ekstrak adalah  $409,891 \pm 0,001 \mu\text{gQE/mL}$ . Kadar fenolik total ekstrak metanol adalah  $244352,685 \pm 1016,713 \mu\text{gGAE/mL}$  sedangkan suspensi ekstrak adalah  $12068,316 \pm 86,970 \mu\text{gGAE/mL}$ .  $\text{IC}_{50}$  ekstrak metanol bernilai  $58,564 \pm 1,412 \mu\text{g/mL}$  sedangkan suspensi ekstrak bernilai  $7917,333 \pm 21,385 \mu\text{g/mL}$ . Kesimpulannya, kadar flavonoid total, kadar fenolik total, dan aktivitas antioksidan ekstrak metanol lebih tinggi dibandingkan dengan suspensi ekstrak.

**Kata kunci:** aktivitas antioksidan, daun waru (*Hibiscus tiliaceus*), ekstrak metanol, kadar fenolik total, kadar flavonoid total, suspensi ekstrak

## 1. Pendahuluan

Daun waru (*Hibiscus tiliaceus*) adalah salah satu tanaman khas Indonesia yang secara empiris digunakan sebagai penghasil busa. Daun waru mengandung senyawa aktif saponin [1],[2], flavonoid, dan paling sedikit lima senyawa fenolik [3]. Saponin merupakan senyawa yang bersifat seperti sabun, penghasil busa stabil, dan produk dari lebih 200.000 tanaman yang telah dikenal [4]. Senyawa fenolik terkandung pada sekitar delapan ribu tumbuhan. Sedangkan senyawa flavonoid merupakan setengah bagian dari jumlah tersebut. Ada atau tidaknya aktivitas antioksidan ditentukan oleh golongan fitokimia terbesar pada tumbuhan, yaitu senyawa fenolik [5]. Hal tersebut menunjukkan bahwa daun waru memiliki potensi sebagai antioksidan. Antioksidan diketahui dapat memberikan efek perlindungan terhadap penyakit kanker, kardiovaskular, serta penyakit yang disebabkan oleh stres oksidatif (neoplasia, aterosklerosis, dan penyakit neurodegeneratif) [6].

Pemanfaatan obat herbal bukanlah tanpa kendala, kendala yang sering terjadi adalah zat aktif di dalamnya terperangkap di dalam ekstrak/simplisia yang berukuran besar sehingga sulit menembus membran lipid dari sel tubuh. Akibatnya, absorpsi dan bioavailabilitas zat aktif tersebut tidak dapat terjadi dengan baik. Kendala tersebut menyebabkan banyak tanaman yang memiliki zat aktif potensial tetapi tidak dapat digunakan secara *in vivo* meskipun pada uji *in vitro* memiliki hasil yang baik [7],[8]. Hal ini menyebabkan maraknya usaha untuk menghasilkan ekstrak dengan ukuran yang lebih rendah. Semakin kecil ukuran partikel ekstrak akan memperluas permukaan bahan sehingga memperbesar terjadinya kontak antara partikel ekstrak dengan pelarut. Akibatnya, pelarut akan lebih mudah memecah dinding sel sehingga zat aktif dapat dilepaskan dan mencapai sel target yang diinginkan. Meningkatkan rendemen ekstrak [9], jumlah zat aktif [10],[11], kelarutan ekstrak dalam air, aktivitas antidiabetes [12], luas permukaan, viskositas [13], aktivitas antibakteri [14], efek terapi obat herbal, dan mengurangi toksisitas [7] adalah beberapa keunggulan lain yang diperoleh dengan menurunnya ukuran partikel ekstrak.

Metode yang paling sering digunakan untuk memproduksi ekstrak berukuran partikel rendah adalah metode gelasi ionik [15]–[17]. Proses pembuatan yang sederhana, tanpa menggunakan pelarut organik berbahaya, dan juga tanpa pemanasan sehingga tidak merusak zat aktif dalam ekstrak merupakan beberapa keuntungan yang ditawarkan oleh metode ini. Sintesis ekstrak berukuran partikel rendah dapat dilakukan melalui pembentukan suspensi. Biasanya suspensi yang diperoleh selanjutnya dikeringkan untuk dimanfaatkan lebih lanjut. Namun ada pula peneliti yang langsung menguji aktivitas farmakologis suspensi ekstrak tanpa melakukan pengeringan terlebih dahulu, seperti menguji aktivitas analgesik [18], [19], aktivitas penghantaran obat [16], dan aktivitas antioksidan [20]. Suspensi ekstrak mengandung ekstrak kental, natrium tripolifosfat, asam asetat, etanol, dan kitosan. Melihat beragam kandungan yang dimilikinya, peneliti ingin membandingkan kadar flavonoid total, kadar fenolik total, dan aktivitas antioksidan ekstrak metanol (hasil metode remaserasi) dan suspensi ekstrak (hasil metode gelasi ionik) untuk mengetahui formula yang terbaik dan lebih aplikatif.

## 2. Metode Penelitian

### Bahan dan Alat

Serbuk daun waru didapatkan dari Materia Medica Batu, Jawa Timur dan telah mengalami uji ontentitas. Bahan-bahan yang digunakan antara lain akuades, asam asetat anhidrat, asam galat,  $\text{FeCl}_3$  10%,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat, kloroform, metanol,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7,5%, reagen Folin-Ciocalteu, serbuk Mg, dan 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH). Alat utama yang digunakan adalah spektrofotometer UV-Vis (Hitachi U-2900).

Commented [HDR1]: Apakah metode ekstrak memang benar-benar dapat memperkecil ukuran molekul? Atau hanya ukuran partikel ekstrak saja? Karena biasanya ekstraksi hanya proses mengambil senyawa tertentu dari suatu sampel sumber senyawa. Jika memang benar dapat memperkecil ukuran molekul mungkin akan lebih baik di dukung dengan referensi!

## Prosedur

Secara garis besar penelitian diawali dengan ekstraksi daun waru dengan metode remaserasi menggunakan pelarut metanol. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak metanol yang bertekstur kental. Ekstrak metanol yang didapatkan dibagi menjadi dua bagian. Setengah bagian ekstrak metanol digunakan untuk menyintesis suspensi ekstrak dengan metode gelasi ionik. Kemudian keduanya diuji kadar flavonoid total, kadar fenolik total, dan aktivitas antioksidannya.

### 1. Pembuatan Ekstrak Metanol Daun Waru

Serbuk daun waru diayak kemudian diekstrak dengan metode remaserasi menggunakan pelarut metanol. Proses remaserasi dilakukan berulang kali hingga didapatkan filtrat yang mendekati warna metanol (tidak berwarna). Setelah itu, filtrat disatukan kemudian dipekatkan dengan alat *rotary evaporator* dengan suhu maksimal 50°C hingga berbobot tetap dan didapatkan ekstrak bertekstur kental.

### 2. Pembuatan Suspensi Ekstrak Daun Waru

1 g ekstrak metanol daun waru dilarutkan dalam 12,5 mL etanol 96% sambil disonikasi pada 40 kHz selama 10 menit (Campuran 1). Kemudian 12,5 mL aquadest dituangkan ke dalam *beaker glass* berisi 0,013 g natrium tripolifosfat dan disonikasi pada 40 kHz selama 5 menit (Campuran 2). Setelah itu 75 mL larutan asam asetat 1% di dalam *beaker glass* ditambah dengan 0,225 g kitosan kemudian disonikasi pada 40 kHz selama 25 menit (Campuran 3). Campuran 1 kemudian dituangkan ke dalam Campuran 2 sambil disonikasi pada 40 kHz selama 20 menit (Campuran 4). Proses pembuatan suspensi diakhiri dengan menuangkan Campuran 4 ke dalam campuran 3 kemudian disonikasi pada 40 kHz selama 50 menit.

### 3. Penentuan Ukuran Partikel Ekstrak Metanol dan Suspensi Ekstrak Daun Waru

Ukuran partikel ekstrak metanol dan suspensi ekstrak ditentukan dengan alat mikroskop cahaya yang dilengkapi dengan mikrometer. 1 sampai 2 tetes ekstrak metanol atau suspensi ekstrak ditetaskan di atas kaca preparat kemudian ditutup dengan *cover glass* lalu diamati di bawah mikroskop hingga partikel-partikel ekstrak terlihat dengan jelas.

### 4. Pengukuran Kadar Flavonoid Total

Metode yang digunakan untuk menentukan kadar flavonoid total adalah Metode Kolorimetri  $AlCl_3$  dengan larutan standar kuersetin [21]. Setelah diperoleh panjang gelombang maksimum larutan standar kuersetin, kemudian kurva standar kuersetin ditentukan. Setelah itu sampel dipreparasi dengan cara 4 mL metanol dan 1 mL larutan  $AlCl_3$  2% ditambahkan ke dalam ekstrak metanol atau suspensi ekstrak daun waru. Setelah diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang, campuran diukur absorbasinya pada panjang gelombang maksimum.

### 5. Pengukuran Kadar Fenolik Total

Metode yang digunakan untuk menentukan kadar fenolik total adalah Metode Folin-Ciocalteu dengan larutan standar asam galat [22]. 2,5 mL akuades, 0,5 mL metanol, dan 2,5 mL pereaksi Folin-Ciocalteu 50% ditambahkan ke dalam ekstrak metanol dan suspensi ekstrak daun waru. Setelah didiamkan selama 5 menit, campuran ditambahkan dengan 2 mL larutan  $Na_2CO_3$  7,5%. Setelah campuran tersebut diinkubasi selama 15 menit pada suhu 45°C, absorbasinya diukur pada panjang gelombang maksimum 765 nm.

### 6. Pengukuran Aktivitas Antioksidan

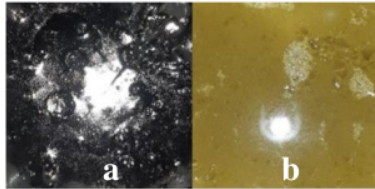
Metode yang digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan adalah Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidazil) dengan penentuan  $IC_{50}$  [23]. Ekstrak metanol dan suspensi ekstrak dilarutkan hingga mencapai lima konsentrasi yang berbeda yaitu antara 5 ppm sampai dengan

20 ppm. Kemudian ke dalam masing-masing larutan ditambahkan dengan larutan DPPH dan dihomogenkan. Setelah diinkubasi selama 30 menit pada kondisi gelap, absorbansi campuran diukur pada Panjang gelombang maksimum DPPH. Aktivitas antioksidan diketahui dari perhitungan persentase inhibisi serapan.

### 3. Hasil dan Pembahasan

#### 1. Ekstrak Metanol dan Suspensi Ekstrak Daun Waru

Ekstrak metanol daun waru yang dihasilkan berwarna hitam kecoklatan dan berwujud sangat kental dengan rendemen sebesar  $10,495 \pm 1,280 \%$ . Rendemen ini lebih besar jika dibandingkan dengan hasil rendemen ekstrak metanol daun waru yang telah diteliti sebelumnya yaitu sebesar  $9,885 \pm 0,524\%$  dan  $7,483 \pm 0,282\%$  [24]. Hal ini karena proses remaserasi dilakukan berulang kali hingga didapatkan filtrat mendekati tidak berwarna sehingga semakin maksimal jumlah senyawa-senyawa yang tersari. Suspensi ekstrak daun waru yang dihasilkan berwarna coklat muda dan berwujud cair. Penampakan keduanya tersaji pada Gambar 3.1.

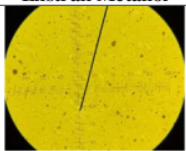
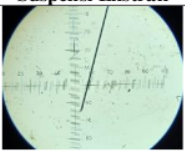


Gambar 3.1. Penampakan (a) Ekstrak Metanol (Hasil Metode Remaserasi) dan (b) Suspensi Ekstrak Daun Waru (Hasil Metode Gelasi Ionik)

#### 2. Ukuran Partikel Ekstrak Metanol dan Suspensi Daun Waru

Hasil pengamatan menunjukkan terjadinya penurunan ukuran partikel ekstrak. Gambar pada Tabel 3.1. menunjukkan perbandingan citra ekstrak metanol dan suspensi ekstrak daun waru di bawah mikroskop. Setelah dianalisis dengan menggunakan *Software ImageJ* didapatkan nilai ukuran partikel masing-masing seperti tersaji pada Tabel 3.1.

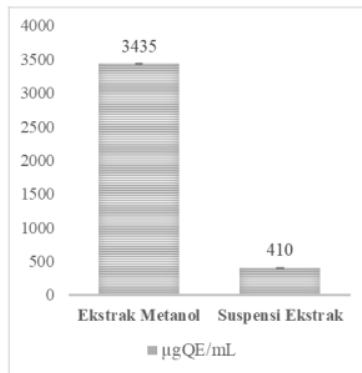
Tabel 3.1. Perbandingan Partikel Ekstrak Metanol dan Suspensi Ekstrak Daun Waru

	Ekstrak Metanol	Suspensi Ekstrak
Citra		
Rata-rata Ukuran Partikel ( $\mu\text{m}$ )	$1,509 \pm 0,553$	$0,715 \pm 0,390$
Ukuran Partikel Terkecil ( $\mu\text{m}$ )	0,517	0,291
Ukuran Partikel Terbesar ( $\mu\text{m}$ )	3,236	1,820

Ukuran partikel ekstrak metanol lebih besar dua kali lipat jika dibandingkan dengan suspensi ekstrak. Hal ini menandakan bahwa tujuan pembuatan suspensi ekstrak dengan metode gelasi ionik untuk mendapatkan ukuran partikel yang lebih rendah telah tercapai dengan baik. Namun, perlu dilakukan beberapa optimasi agar didapatkan ekstrak dengan ukuran berskala lebih kecil atau berskala nano.

### 3. Kadar Flavonoid Total

Kadar flavonoid total ekstrak metanol delapan kali lebih besar dibandingkan dengan suspensi ekstrak sebagaimana tersaji pada Gambar 3.2. Hal ini terjadi karena selain ekstrak metanol, suspensi ekstrak juga mengandung natrium tripolifosfat, asam asetat, etanol, dan kitosan. Penambahan zat-zat tambahan tersebut semakin menurunkan kadar flavonoid total karena menurunnya kandungan ekstrak metanol yang terkandung di dalam suspensi ekstrak.

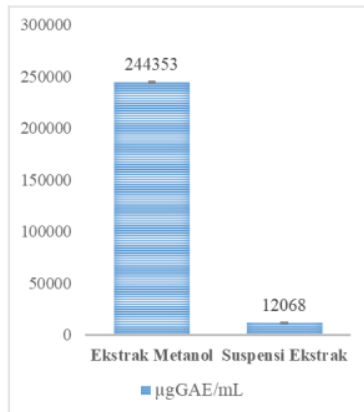


Gambar 3.2. Kadar Flavonoid Total Ekstrak Metanol dan Suspensi Ekstrak Daun Waru

### 4. Kadar Fenolik Total

Senyawa fenolik terkandung pada sekitar delapan ribu tumbuhan. Sedangkan senyawa flavonoid merupakan setengah bagian dari jumlah tersebut [5]. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada ekstrak metanol daun waru, senyawa flavonoid merupakan satu per tujuh puluh bagian dari jumlah senyawa fenolik. Hal tersebut mengindikasikan bahwa senyawa-senyawa turunan fenolik lain (non-flavonoid) lebih dominan terkandung dalam ekstrak metanol daun waru. Diperlukan analisis lebih lanjut untuk mengidentifikasi dengan pasti senyawa-senyawa turunan fenolik apa saja yang terkandung di dalam ekstrak metanol daun waru.

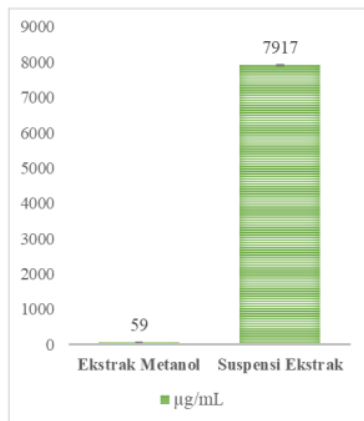
Kadar fenolik total ekstrak metanol dua puluh kali lebih besar dibandingkan dengan suspensi ekstrak. Sama halnya dengan kadar flavonoid total, adanya senyawa-senyawa tambahan pada suspensi menyebabkan jumlah senyawa fenolik yang terkandung menurun. Adapun kadar fenolik total ekstrak metanol dan suspensi ekstrak secara lengkap tersaji pada Gambar 3.3.



Gambar 3.3. Kadar Fenolik Total Ekstrak Metanol dan Suspensi Ekstrak Daun Waru

#### 5. Aktivitas Antioksidan

Jika suatu senyawa memiliki nilai  $IC_{50}$  kurang dari 50 maka dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat, jika nilai  $IC_{50}$  50-100 maka dikatakan sebagai antioksidan kuat, jika nilai  $IC_{50}$  100-150 maka dikatakan sebagai antioksidan sedang, jika nilai  $IC_{50}$  151-200 maka dikatakan sebagai antioksidan lemah [25], dan jika nilai  $IC_{50}$  lebih besar dari 250 maka dikatakan sebagai antioksidan sangat lemah [26]. Berdasarkan hasil penelitian yang tersaji pada Tabel 3.4. dapat diketahui bahwa ekstrak metanol memiliki  $IC_{50}$  sebesar  $58,564 \pm 1,412 \mu\text{g/mL}$  dan dikatakan sebagai antioksidan kuat. Sedangkan suspensi ekstrak memiliki  $IC_{50}$  sebesar  $7917,333 \pm 21,385 \mu\text{g/mL}$  dan dikatakan sebagai antioksidan sangat lemah. Ekstrak metanol memiliki aktivitas antioksidan yang lebih besar 135 kali dibandingkan dengan suspensi ekstrak daun waru. Lagi-lagi penambahan natrium tripolifosfat, asam asetat, etanol, dan kitosan semakin menurunkan aktivitas antioksidan sebagaimana kadar flavonoid total dan kadar fenolik total.



Gambar 3.4. Aktivitas Antioksidan (IC<sub>50</sub>) Ekstrak Metanol dan Suspensi Ekstrak Daun Waru

Natrium tripolifosfat merupakan senyawa antioksidan [27] sebagaimana kitosan [28]. Namun keberadaanya di dalam suspensi ekstrak daun waru tidak meningkatkan aktivitas antioksidan. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun waru yang paling dominan dalam menyumbangkan kemampuan dalam menangkap radikal bebas.

#### 4. Kesimpulan

Kadar flavonoid total, kadar fenolik total, dan aktivitas antioksidan ekstrak metanol (hasil metode remaserasi) lebih tinggi dibandingkan dengan suspensi ekstrak (hasil metode gelasi ionik). Melalui metode gelasi ionik telah dihasilkan ukuran partikel ekstrak yang lebih kecil, namun metode ini belum dapat meningkatkan aktivitas antioksidan walaupun beberapa zat tambahan yang digunakan juga memiliki kemampuan dalam menghambat radikal bebas.

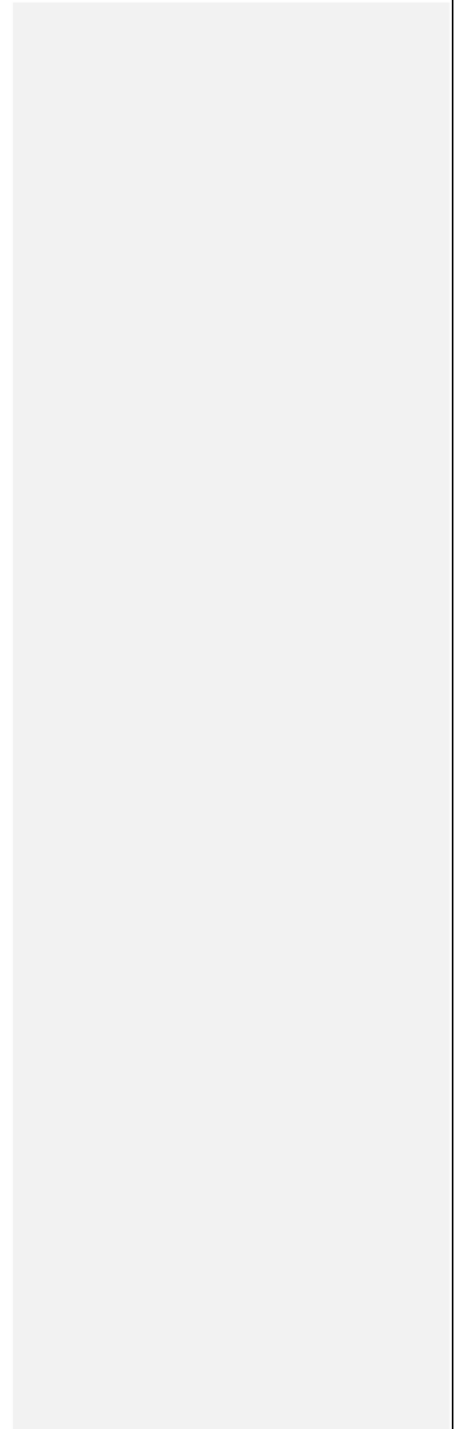
Commented [HDR2]: Akan lebih baik ditambahkan sedikit narasi di kesimpulan, kaitannya antara metode yang digunakan dengan hasil yang diperoleh.

#### Ucapan Terimakasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kementerian Riset dan Teknologi/Badan Riset dan Inovasi Nasional (Indonesia) yang telah mendanai penelitian ini dengan skema Penelitian Dosen Pemula Tahun 2020.



**Daftar Pustaka**



# Pengaruh Metode Preparasi Ekstrak Daun Waru (*Hibiscus tiliaceus*) sebagai Antioksidan terhadap Kadar Flavonoid dan Fenolik Total

---

ORIGINALITY REPORT

---

# 19%

SIMILARITY INDEX

---

MATCHED SOURCE

---

**1** [journal2.um.ac.id](http://journal2.um.ac.id)  
Internet

91 words — **4%**

---

★[journal2.um.ac.id](http://journal2.um.ac.id)  
Internet

4%

---

EXCLUDE QUOTES OFF

EXCLUDE SOURCES OFF

EXCLUDE BIBLIOGRAPHY OFF

EXCLUDE MATCHES OFF