

PERBANDINGAN STUDI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK METANOL, ETANOL 70%, DAN ETANOL 96% DAUN KAWISTA (*Limonia acidissima* L.)

Tri Nur Azizah^{*}, Nuraini Harmastuti, Tri Wijayanti

Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Kota Surakarta, Jawa Tengah

*Email: trinur.azizah4@gmail.com

Received: 31-05-2023

Accepted: 15-02-2024

Published: 30-06-2024

INTISARI

Antioksidan alami yang berasal dari bahan tanaman dapat dijadikan pilihan alternatif akibat adanya kemungkinan efek samping dari antioksidan sintetik. Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antioksidan alami yaitu kawista (*Limonia acidissima* L.). Tujuan penelitian ini untuk membandingkan aktivitas antioksidan dari daun kawista dengan proses ekstraksi beberapa pelarut yaitu metanol, etanol 70%, dan etanol 96%. Metode penelitian yang dilakukan meliputi maserasi, identifikasi senyawa, dan pengujian antioksidan dengan metode DPPH. Pengukuran antioksidan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dinyatakan dengan nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration 50*) yang kemudian dikonversikan ke nilai AAI (*Antioxidant Activity Index*). Nilai aktivitas antioksidan yang diperoleh paling tinggi dari ekstrak metanol yaitu nilai rata-rata IC_{50} $82,2034 \pm 0,5733$ dan nilai rata-rata AAI $1,2165 \pm 0,00852$ artinya mempunyai sifat antioksidan kuat. Aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol 70% daun kawista dengan nilai rata-rata IC_{50} $135,5030 \pm 7,2238$ dan nilai rata-rata AAI $0,7934 \pm 0,0382$ mempunyai sifat antioksidan sedang. Sedangkan ekstrak etanol 96% dengan nilai rata-rata IC_{50} $123,5900 \pm 2,9718$ dan nilai rata-rata AAI $0,8094 \pm 0,0195$ mempunyai sifat antioksidan sedang. Hasil ekstraksi dengan berbagai pelarut menunjukkan aktivitas antioksidan yang berbeda signifikan. Antioksidan tertinggi terdapat pada ekstrak metanol dengan nilai IC_{50} 82,20 ppm dan AAI sebesar 1,22.

Kata kunci: Antioksidan, Daun Kawista, DPPH, ekstraksi

ABSTRACT

Natural antioxidants (plants) are used as an alternative choice due to the possible side effects of synthetic antioxidants. One of the plants that has the natural antioxidant potential is kawista (*Limonia acidissima* L.). The purpose of this study was to compare the antioxidant activity of kawista leaves with several solvent extraction processes, methanol, 70% ethanol, and 96% ethanol. The research methods are maceration, compound identification, and antioxidants using the DPPH method. Antioxidant measurements using a spectrophotometer UV - Vis are expressed by IC_{50} (*Inhibitory Concentration 50*) which are then converted to AAI (*Antioxidant Activity Index*). The highest antioxidant activity obtained from the methanol extract, with the average of IC_{50} $82,2034 \pm 0,5733$ and the average of AAI $1,2165 \pm 0,00852$ means that it has strong antioxidant properties. The antioxidant activity of 70% ethanol extract of kawista leaves with an average of IC_{50} 135.5030 ± 7.2238 and an average of AAI 0.7934 ± 0.0382 has moderate antioxidant properties. Meanwhile, the 96% ethanol extract with an average of IC_{50} 123.5900 ± 2.9718 and an average of AAI 0.8094 ± 0.0195 has moderate antioxidant properties. In conclusion, the comparison of the extraction results

with various solvents showed significantly different antioxidant activity. The highest antioxidant was found in methanol extract with an IC_{50} 82.20 ppm and an AAI 1.22.

Keywords: Antioxidant, DPPH, extraction, Kawista Leaves

*corresponding author:

Nama : Tri Nur Azizah
Institusi : Universitas Setia Budi Surakarta
Alamat institusi : Jl. Letjend Sutoyo Mojosongo Solo 57127
E-mail : trinur.azizah4@gmail.com

PENDAHULUAN

Gaya hidup masyarakat di masa modern seperti merokok, makan yang digoreng, dibakar, dan makanan siap saji, disertai dengan peningkatan polusi udara dari asap kendaraan bermotor dapat meningkatkan jumlah radikal bebas. Radikal bebas atau oksidan di dalam tubuh merupakan bahan yang sangat berbahaya. Bahan radikal bebas tersebut sebenarnya merupakan senyawa atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada bagian orbital luarnya. Adanya elektron yang tidak berpasangan itulah yang mengakibatkan senyawa tersebut sangat reaktif untuk mencari pasangannya. Elektron tidak berpasangan dapat mengikat atau menyerang elektron molekul yang berada di sekitarnya seperti lipid, protein, maupun DNA (pembawa sifat) yang akan mengakibatkan kerusakan sel atau pertumbuhan sel yang tidak bisa dikendalikan (Sayuti dan Yenrina, 2015). Tubuh memerlukan tambahan antioksidan dari luar yang dapat melindungi dari serangan radikal bebas (Wahdaningsih dkk., 2011).

Antioksidan dibagi menjadi dua kelompok yaitu antioksidan alami (berasal dari bahan alami) dan antioksidan sintetik (diperoleh dari hasil sintesis secara kimia), namun adanya kekhawatiran akan kemungkinan efek samping dari antioksidan sintetik menyebabkan antioksidan alami menjadi alternatif. Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antioksidan alami adalah kawista (*Limonia acidissima* L.). Kawista dikenal sebagai tanaman obat paling penting di India, salah satu bagian tanaman yaitu daun dapat digunakan sebagai antibakteri (Panda dkk., 2013), diuretika (Parial dkk., 2009) dan hipoglikemia (Joshi dkk., 2009). Daun kawista dapat digunakan sebagai antioksidan (Rahmi dan Rahmadewi, 2020).

Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) merupakan metode yang mudah dan sederhana untuk pengujian aktivitas antioksidan dan tidak memerlukan pereaksi dalam pengukuran (Koleva dkk., 2002). Penelitian mengenai aktivitas antioksidan tanaman kawista telah dilakukan dari tahun ke tahun, antioksidan pada buah kawista telah dilakukan Ilango dan Chitra (2010) dan Nanasombat dkk. (2012) tentang ekstrak metanol buah kawista menggunakan FRAP dan DPPH. Penelitian Mandade dan Jadhav (2013) menggunakan metode DPPH dan ABTS. Berdasarkan penelitian Patil dkk. (2012) aktivitas antioksidan juga ditemukan dalam daun, akar, dan kulit buah kawista. Menurut Tjahjandarie dkk. (2017) senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan merupakan kumarin dalam akar kawista.

Pelarut bersifat polar yang biasa digunakan untuk ekstraksi adalah air, metanol dan etanol. Penelitian Darsini dkk. (2013) menyebutkan bahwa aktivitas antioksidan paling tinggi pada ekstrak metanol buah kawista bersifat sangat kuat karena nilai IC_{50} yang diperoleh < 50 ppm. Aktivitas antioksidan yang diperoleh dalam penelitian (Rahmi & Rahmadewi, 2020) sampel daun kawista dengan pelarut aquades nilai IC_{50} 134,56 ppm dan pelarut etanol 96% nilai IC_{50} 296,37 ppm. Perlu dilakukan perbandingan pelarut dari metanol dan etanol dengan konsentrasi yang berbeda untuk mengetahui perbedaan aktivitas antioksidan bahan alam. Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak metanol, ekstrak etanol 70%, dan ekstrak etanol 96% daun kawista dengan menggunakan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) yang

dinyatakan dengan nilai *Inhibitory Concentration 50* (IC₅₀) dan dikonversikan ke nilai *Antioxidant Activity Index* (AAI) secara in vitro menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah peralatan maserasi yang terdiri dari bejana maserasi, *beaker glass* (Herma). Alat lain yang digunakan dalam penelitian ini yaitu lampu UV (Recent RCC), seperangkat alat spektrofotometri UV-VIS Shimadzu 1700, neraca analitik (Fujitsu), oven (Binder ED), ayakan mesh 40, *blender* (Phillips), *rotary evaporator* (B ONE RE 2000), silica GF 254 nm (Merck).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah serbuk daun kawista yang diperoleh dari Desa Dresi Kulon, Kecamatan Kaliore, Kabupaten Rembang. Bahan-bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol *p.a* 96% (Sigma), DPPH (Sigma), metanol *p.a* (Sigma), aquadest (Bratachem), n-butanol (Bratachem), vitamin C (Sigma), eter (Bratachem), asam asetat (Bratachem), asam sulfanilat (Nitrokimia), formaldehid (Bratachem), uap ammonia (Bratachem), kloroform (Bratachem), amil alkohol (Bratachem), NaOH (Sigma), NaNO₂ (Bratachem), HCl (Bratachem), asam sulfat (Bratachem), vanillin (Bratachem), anisaldehyd (Bratachem), pereaksi dragendorff (Bratachem), pereaksi meyer (Bratachem) dan FeCl₃ (Bratachem).

Preparasi Daun Kawista

Pengambilan bahan

Daun kawista yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari Desa Dresi Kulon, Kecamatan Kaliore, Kabupaten Rembang, Jawa Tengah sebagai satu – satunya daerah pembudidaya tanaman kawista di Jawa Tengah, yang dilakukan pada bulan Maret 2023. Langkah selanjutnya dilakukan determinasi tanaman yang bertujuan untuk menetapkan kebenaran sampel berdasarkan ciri-ciri morfologi tanaman. Determinasi tanaman kawista dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi STIFAR “Yayasan Pharmasi” Semarang.

Pembuatan serbuk

Daun kawista dibersihkan, dicuci, dan dipotong kecil-kecil kemudian dikeringkan dalam lemari pengering simplisia selama 3-4 hari dengan suhu 40°C. Daun yang sudah kering kemudian dihaluskan dengan *blender* sampai menjadi serbuk halus, lalu diayak dengan ayakan mesh 40.

Prosedur ekstraksi

Serbuk daun kawista dilakukan ekstraksi menggunakan metanol, etanol 70%, dan etanol 96%. Ekstraksi dilakukan dengan cara re-maserasi 30 gram serbuk daun kawista dimasukkan bejana kemudian ditambahkan 300 mL cairan penyari (1:10) (Depkes RI, 1986). Sampel direndam selama 5 hari pada tempat yang terlindung cahaya, sambil sesekali diaduk. Tiap 24 jam filtrat disaring, filtrat yang diperoleh dikumpulkan dan cairan penyari diganti baru dengan jumlah yang sama dengan yang pertama (Saleh dkk., 2012).

Studi Aktivitas Antioksidan

Identifikasi senyawa

Identifikasi senyawa yang dilakukan terdiri dari uji kualitatif antioksidan, uji KLT Flavonoid, uji KLT Alkaloid, uji KLT Saponin, uji KLT Tanin. Fase diam yang digunakan adalah silika gel GF254. Fase gerak untuk uji flavonoid n-butanol:asam asetat:air (4:1:5), dan pereaksi yang digunakan adalah uap amoniak. Fase gerak untuk uji alkaloid metanol: kloroform (0,5:9,5), dan pereaksi yang digunakan adalah dragendorff. Fase gerak untuk uji saponin kloroform:metanol:air (6:3:1), dan pereaksi yang digunakan adalah H₂SO₄ – anisaldehyd. Fase gerak untuk uji tanin etil asetat : metanol : air (100:13,5:10), kromatogram yang dihasilkan dideteksi dengan sinar tampak, sinar UV254, dan sinar UV 366 kemudian ditandai dan dihitung nilai R_f (Harborne, 1987).

Pembuatan larutan DPPH

Sebanyak 50 mg serbuk DPPH dilarutkan dengan metanol p.a dimasukkan ke dalam labu ukur 50,0 mL diperoleh konsentrasi 1000 ppm, kemudian ditambahkan metanol p.a sampai batas tanda dan dihomogenkan. Diencerkan 10 kali dengan dipipet 5,0 mL larutan kemudian ditambahkan metanol p.a sampai batas labu ukur 50,0 mL diperoleh konsentrasi 100 ppm (Sulistiawati dkk., 2021).

Pembuatan larutan standar Vitamin C

Pembuatan larutan standar induk Vitamin C 50 mg diencerkan sampai batas labu ukur 50,0 mL diperoleh konsentrasi 1000 ppm, kemudian diencerkan 10 kali dengan dipipet 5,0 mL larutan baku induk diencerkan sampai batas labu ukur 50,0 mL diperoleh konsentrasi 100 ppm sehingga dapat dibuat larutan deret baku Vitamin C 10, 20, 30, 40, 50 ppm. (Sami dan Rahimah, 2015)

Pembuatan larutan sampel ekstrak

Larutan ekstrak metanol, etanol 70%, dan etanol 96% 100 mg diencerkan sampai batas labu ukur 100,0 mL diperoleh konsentrasi 1000 ppm, dibuat seri konsentrasi yaitu 60, 80, 100, 120, 140 ppm dengan dilarutkan dalam metanol p.a. Larutan sampel direplikasi sebanyak tiga kali.

Spektrofotometri UV-Vis

Penentuan panjang gelombang maksimum

Larutan stok DPPH sebanyak 2 mL diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang gelombang 400 – 800 nm kemudian diamati serapannya sehingga ditemukan panjang gelombang maksimum. Panjang gelombang maksimum digunakan untuk mengukur serapan dari larutan uji (Sulistiawati dkk., 2021).

Penentuan *operating time*

Penentuan *operating time* dilakukan dengan cara diambil 2 mL larutan uji ditambah dengan 2 mL DPPH. Larutan tersebut kemudian dihomogenkan dengan vortex selama 10 detik dan diukur absorbansinya tiap menit pada spektrofotometer UV-Vis. Pencarian *operating time* pada spektrofotometer UV-Vis dilakukan pada masing-masing ekstrak serta baku vitamin C dengan prosedur kerja yang sama.

Penentuan aktivitas antioksidan

Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara 2 mL DPPH konsentrasi 100 ppm dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan dengan 2 mL larutan masing-masing ekstrak metanol, etanol 70%, dan etanol 96% daun kawista untuk masing - masing konsentrasi yaitu 60, 80, 100, 120, 140 ppm. Selanjutnya campuran dihomogenkan dengan vortex selama 10 detik dan didiamkan sesuai *operating time* masing-masing larutan uji di tempat gelap. Larutan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimal. Dilakukan pula pengukuran absorbansi larutan kontrol (DPPH) dan baku vitamin C (Erika dkk., 2014). Nilai absorbansi dari daun kawista kemudian digunakan untuk menghitung persentase aktivitas penangkal radikal bebas dengan rumus:

$$\text{Rumus \% inhibisi} = ((\text{Abs Kontrol} - \text{Abs Sampel}) / (\text{Abs Kontrol})) \times 100\%$$

Setelah didapatkan persentase inhibisi dari masing-masing replikasi, dilanjutkan perhitungan regresi linier antara konsentrasi sampel (ppm) (X) dan persen inhibisi DPPH (%) (Y) sehingga didapatkan persamaan : $Y = BX + A$

Nilai IC_{50} didapatkan dari nilai x setelah mengganti y dengan 50 dengan memasukkan nilai B dan A. Dihitung juga pada baku vitamin c dengan perhitungan yang sama. Setelah didapatkan nilai IC_{50} kemudian dikonversikan menjadi nilai AAI yang digunakan untuk mengetahui indeks aktivitas antioksidan dengan rumus :

$$\text{Rumus AAI} = (\text{Konsentrasi DPPH (ppm)}) / (IC_{50} \text{ (ppm)})$$

Analisis Data

Dilakukan analisis data menggunakan program *Statistical Product and Service Solution* (SPSS) versi 21.0. Langkah pertama setelah didapatkan data IC₅₀ dan AAI dari masing – masing replikasi nilai antioksidan, kemudian diuji normalitas dan homogenitas. Data yang berdistribusi normal dan homogen dianalisis menggunakan uji Anova, jika terdapat perbedaan yang signifikan maka dilakukan uji pasca (*Post Hoc*). Bila tidak homogen dan tidak berdistribusi normal atau tidak keduanya dilakukan analisis statistika non parametrik uji Kruskal Wallis.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun kawista diambil dari ujung daun sampai anak tangkai ke-3 yang diperoleh dari Desa Dresi Kulon, Kecamatan Kaliiori, Kabupaten Rembang, Jawa Tengah. Dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Kawista (a) Daun Kawista (b) Tanaman Kawista (Dokumentasi Pribadi)

Pemilihan pelarut pada penelitian ini didasarkan pada indeks polaritas dan kepolaran dari senyawa yang dituju. Berdasarkan indeks polaritas metanol dan etanol yang cukup tinggi, dimana nilai indeks polaritas metanol 5,1 dan etanol 5,2 sehingga peneliti memilih pelarut metanol dan etanol sebagai perbandingan pelarut untuk ekstraksi. Berdasarkan hasil rendemen paling besar pada ekstrak metanol, dapat diartikan bahwa dalam ekstrak metanol mengandung 13,54 % senyawa aktif. Rendemen ekstrak daun kawista seperti ditunjukkan pada tabel I.

Tabel I. Hasil Rendemen Ekstrak Daun Kawista

Sampel	Rendemen
Ekstrak Metanol	13,51 %
Ekstrak Etanol 70%	10,35 %
Ekstrak Etanol 96%	11,54 %

Suatu pelarut dengan polaritas yang mirip dengan zat terlarut akan melarutkan zat terlarut dengan baik (Holil & Griana, 2020). Senyawa metabolit di dalam tanaman ada pada dinding sel, vakuola dan inti sel, sedangkan pelarut dengan polaritas yang rendah tidak akan dapat mengikat senyawa metabolit di dalam sel pada sampel kering (*simplisia*). Hasil pada Tabel I menunjukkan bahwa hasil rendemen ekstrak metanol lebih besar dibandingkan ekstrak lain, hal ini dikarenakan tingginya senyawa bioaktif yang terdapat pada sampel metanol.

Kemudian dilakukan pengujian KLT (Kromatografi Lapis Tipis) dengan tujuan untuk menegaskan adanya senyawa terkandung dalam daun kawista. Uji KLT menunjukkan bahwa flavonoid, tanin, dan

saponin terkandung pada ekstrak daun kawista. Hasil identifikasi senyawa kimia dapat dilihat pada tabel II.

Tabel II. Hasil Uji KLT

Kandungan Kimia	Fase Gerak	Penampak Bercak	Rf (Visual)				Keterangan (Pustaka)
			Ekstrak Metanol	Ekstrak Etanol 70%	Ekstrak Etanol 96%	Baku	
Antioksidan	n-butanol : asam asetat : air (4 : 1 : 5)	DPPH 5%	0,66 Noda kuning berlatar belakang ungu	0,68 Noda kuning berlatar belakang ungu	0,68 Noda kuning berlatar belakang ungu	0,68 Noda kuning berlatar belakang ungu ⁽¹⁾	(Positif) Kuning (Nurfadillah dkk., 2016)
Flavonoid	n-butanol : etil asetat : air (4 : 1 : 5)	Uap Ammonia	0,36 Noda kuning berlatar belakang putih	0,36 Noda kuning berlatar belakang putih	0,36 Noda kuning berlatar belakang putih	0,36 Noda kuning berlatar belakang putih ⁽²⁾	(Positif) Kuning, jingga, merah (Koeriwa dkk., 2010)
Tanin	etil asetat : metanol : air (100 : 13,5 : 10)	FeCl ₃ 5%	0,69 Noda biru hitam berlatar belakang putih	-	-	0,69 Noda biru hitam berlatar belakang putih ⁽³⁾	(Positif) Biru hingga ungu biru, kadang - kadang kekuningan (Hanani, 2015)
Alkaloid	metanol : kloroform (0,5 : 9,5)	Dragendorff	-	-	-	0,74 Noda coklat berlatar belakang oranye ⁽⁴⁾	(Positif) Coklat, jingga (Harborne, 1987)
Saponin	kloroform : metanol (9 : 1)	Anisaldehyd e – H ₂ SO ₄	0,88 Noda ungu berlatar belakang putih	0,88 Noda ungu berlatar belakang putih	0,88 Noda ungu berlatar belakang putih	0,88 Noda ungu berlatar belakang putih ⁽⁵⁾	(Positif) Biru hingga ungu biru, kadang - kadang kekuningan (Hanani, 2015)

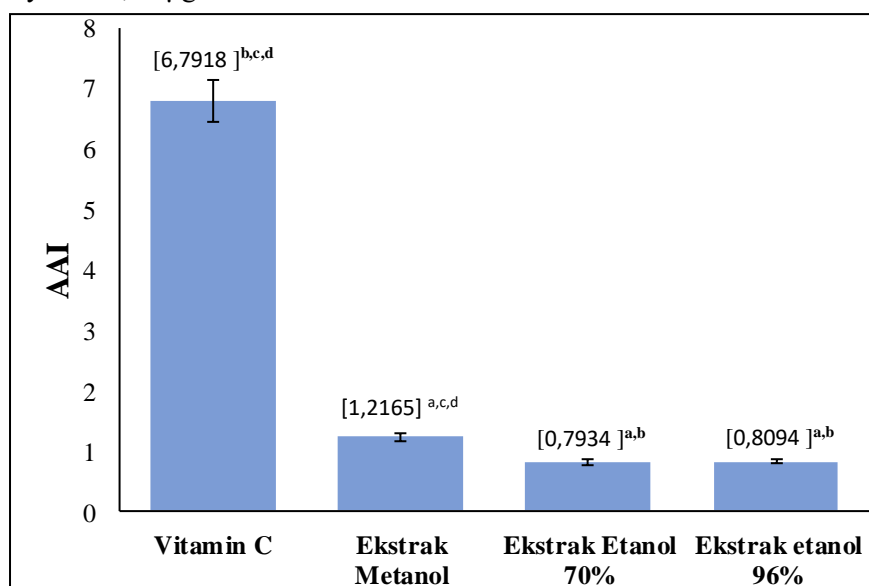
Nilai IC₅₀ berbanding terbalik dengan kemampuan senyawa yang bersifat antioksidan. Semakin kecil IC₅₀ maka semakin besar kemampuan senyawa tersebut untuk meredam radikal bebas. Nilai IC₅₀ < 50 ppm menunjukkan kekuatan antioksidan sangat kuat, nilai IC₅₀ 51-100 ppm menunjukkan kekuatan antioksidan kuat, nilai IC₅₀ 101-250 ppm menunjukkan kekuatan antioksidan sedang, nilai IC₅₀ 250-500 ppm menunjukkan kekuatan antioksidan lemah, dan nilai IC₅₀ > 500 ppm menunjukkan kekuatan antioksidan tidak aktif (Zou dkk., 2004). Data nilai IC₅₀ dan AAI dapat dilihat pada Tabel III.

Berdasarkan hasil pada Tabel III dapat disimpulkan bahwa aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol daun kawista mempunyai sifat antioksidan kuat dengan nilai IC₅₀ 82,2034 (IC₅₀ 51 – 100) dan nilai AAI 1,2165 (1,0 – 2,0). Aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol 70% dan 96% daun kawista mempunyai sifat antioksidan sedang dengan nilai rata – rata IC₅₀ 135,5030 dan 123,5900 (IC₅₀ 101 – 250) dan nilai AAI 0,7934 dan 0,8094 (0,5 – 1,0).

Tabel III. Hasil Nilai IC₅₀ dan AAI

Sampel	Replikasi	IC ₅₀	Rerata	AAI	Rerata
Ekstrak Metanol	I	77,2370	82,2034 ± 0,5733	1,2947	1,2165 ± 0,00852
	II	82,5658		1,2112	
	III	82,5020		1,2121	
Ekstrak Etanol 70%	I	143,8920	135,5030 ± 7,2238	0,6953	0,7934 ± 0,0382
	II	130,9040		0,7639	
	III	131,7750		0,7589	
Ekstrak Etanol 96%	I	123,7700	123,5900 ± 2,9718	0,8079	0,8094 ± 0,0195
	II	126,4700		0,7907	
	III	120,5300		0,8297	
Vitamin C	I	15,8709	14,8061 ± 1,3264	6,3008	6,7918 ± 0,6338
	II	13,3203		7,5073	
	III	15,2272		6,5672	

Aktivitas antioksidan vitamin C sebagai pembanding atau kontrol positif mempunyai sifat antioksidan sangat kuat dengan nilai IC₅₀ 14,8061 (IC₅₀ < 50) dan nilai AAI 6,7918 (> 2,0). Nilai tersebut mendekati aktivitas antioksidan dari penelitian Jackie dan Dika (2017) tentang studi efek antioksidan vitamin memberikan hasil bahwa vitamin C merupakan senyawa pembanding yang paling sering digunakan karena aktivitas antioksidannya yang sangat tinggi dengan mempunyai rata-rata nilai IC₅₀ yaitu 14,79 µg/mL.

**Gambar 2. Hasil perbandingan uji antioksidan ekstrak daun kawista**

Keterangan:

- a. berbeda signifikan ($p < 0,05$) terhadap vitamin C
- b. berbeda signifikan ($p < 0,05$) terhadap ekstrak metanol
- c. berbeda signifikan ($p < 0,05$) terhadap ekstrak etanol 70%
- d. berbeda signifikan ($p < 0,05$) terhadap ekstrak etanol 96%

Berdasarkan hasil pengukuran nilai aktivitas antioksidan ekstrak metanol mempunyai aktivitas antioksidan paling tinggi dari ekstrak daun kawista. Hal ini mungkin dikarenakan senyawa yang terkandung pada daun kawista yang berperan sebagai antioksidan yaitu flavonoid dan tanin lebih banyak tertarik pada pelarut metanol. Baik flavonoid maupun tanin memiliki potensi antioksidan karena memiliki gugus hidroksil yang dapat memberikan atom hidrogen pada radikal bebas. Sebaliknya, senyawa flavonoid lebih sering larut dalam pelarut polar dan semipolar (Markham, 1988).

Hasil aktivitas antioksidan ekstrak daun kawista dianalisis dengan SPSS didapatkan hasil dari tabel Test of Normality nilai Sig > 0,05 sehingga data antioksidan dinyatakan terdistribusi normal. Sehingga dilanjutkan uji parametrik yaitu *anova one way*, didapatkan hasil keseluruhan berbeda signifikan ($p < 0,05$) dan data tidak homogen ($p < 0,05$) sehingga dilanjutkan uji post hoc dengan *variable not assumed*. Hasil uji perbandingan antioksidan ekstrak dapat dilihat pada Gambar 2.

Berdasarkan hasil uji statistika dapat disimpulkan bahwa kelompok vitamin C memiliki perbedaan signifikan terhadap semua ekstrak daun kawista, sehingga aktivitas ekstrak tidak memiliki aktivitas yang setara dengan kontrol positif. Kelompok ekstrak metanol dengan nilai IC₅₀ dan AAI paling besar dan dilihat dari uji statistika pada ditunjukkan pada Gambar 2 bahwa ekstrak etanol baik konsentrasi 70% maupun 96% tidak memiliki perbedaan signifikan satu sama lain sehingga jika dipilih salah satu konsentrasi saja yang dilanjutkan ke pemurnian selanjutnya, besar kemungkinan tidak berbeda secara aktivitas antioksidannya.

KESIMPULAN

Hasil ekstraksi dengan berbagai pelarut menunjukkan aktivitas antioksidan yang berbeda signifikan. Antioksidan tertinggi terdapat pada ekstrak metanol dengan nilai IC₅₀ 82,2034 ppm dan AAI sebesar 1,2165 mengindikasikan antioksidan yang kuat.

DAFTAR PUSTAKA

- Departemen Kesehatan RI. 1986 *Sediaan Galenik 2 & 10*. Jakarta :Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Eluru, J.R., Taranalli A.D., Kawatra S. 2015 'Anti-tumour activity of *Limonia acidissima* L. methanolic extract in mice model of dalton's ascitic lymphoma', *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 7(6), pp. 1094–1100.
- Erika B.R., Marita D., Rini S. 2014 'Aktivitas Penangkapan Radikal DPPH oleh Fraksi n-Heksan dan Fraksi Etil Asetat Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lamk)', *Media Farmasi*, 11(1), pp. 1-6. <http://dx.doi.org/10.12928/mf.v11i1.1392>.
- Hanani, E. 2015 *Analisis Fitokimia*, Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Harborne J. 1987 *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Bandung : Penerbit ITB.
- Ilango K., Chitra V. 2010 'Wound Healing and Antioxidant Activities of the Fruit Pulp of *Limonia Acidissima* Linn (Rutaceae) in Rats', *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 9(3), pp. 223–230. <https://dx.doi.org/10.4314/tjpr.v9i3.56281>.
- Koeriwa, Y.A., Faatimawali, Wiyono W.I. 2010 'Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.)', Manado : FMIPA UNSRAT.
- Koleva II, Van Beek T.A., Linssen J.P.H., De Groot A., Evstatieva L.N. 2002 'Screening of plant extracts for antioxidant activity: A comparative study on three testing methods', *Phytochemical Analysis*, 13(1), pp. 8–17. <https://doi.org/10.1002/pca.611>.
- Mandade S., Jadhav J. 2013 'Antioxidant and radical scavenging activity of *Limonia acidissima* (Linn) extract', *Planta Med*, 73, pp. 1–3. <https://dx.doi.org/10.1055/s-0033-1351925>.
- Markham K.R. (1988) *Cara Mengidentifikasi Flavonoid Diterjemahkan oleh Padmawinata K.*, Bandung : Penerbit ITB.
- Nachimutu S., Kumaravel V. 2014 'Phytochemical screening and evaluation of antioxidant potential of *Feronia limonia* leaves and fruit extracts', *Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences*, 2, pp. 36-40. <https://www.jchps.com/specialissues/Special%20issue2/jchps%20si2%204%20saraswathi%2036-40.pdf>

- Nurfadillah, Chadijah S., Rustiah W. 2016 'Analisis Antioksidan Ekstrak Etil Asetat Dari Kulit Buah Rambutan (*Nephelium lappaceum*) Dengan Menggunakan Metode DPPH', Makassar : UIN Alauddin Makassar.
- Panda N., Jagannath Patro V., Kumar Jena B., Panda P. 2013 'Evaluation of Phytochemical and Anti-Microbial Activity of Ethanolic Extract of *Limonia Acidissima* L. Leaves', *International Journal of Herbal Medicine*, 1(1), pp. 22–27. <https://www.florajournal.com/archives/2013/vol1issue1/PartA/4.1.pdf>
- Parial S., Jain D. C., Joshi S. B. 2009 'Diuretic Activity Of The Extracts Of *Limonia Acidissima* In Rats', 2(1), pp. 53–56.
- Patil S. P., Kalkar S. A., Kulkarni A.S. 2012 'Phytochemical Screening, Antibacterial and Antioxidant Activity of *Limonia Acidissima* (L)', *BIONANO FRONTIER*, 5, pp. 2–11.
- Rahmi H., Rahmadewi R. 2020 'Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Dan Kulit Buah Kawista (*Limonia acidissima* L) Asal Kabupaten Karawang', *Jurnal MIDPRO*, 12(1), pp. 2086–2792. <https://doi.org/10.30736/md.v12i1.149>.
- Saleh L.P., Suryanto E., Yulistira A. 2012 'Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea mays* L.)', *Pharmacon*, 1(2), pp. 20–24. <https://doi.org/10.35799/pha.1.2012.465>.
- Sami F. J., Rahimah, S. 2015 'Uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol bunga brokoli (*brassica oleracea* l. var. *italica*) dengan metode DPPH (2, 2 diphenyl-1-picrylhydrazyl) dan metode ABTS (2, 2 azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-asam sulfonat)', *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 2(2), pp. 107-110. <https://doi.org/10.33096/jffi.v2i2.179>.
- Sayuti K, Yenrina R. 2015 *Antioksidan alami dan sintetik*, Padang: Andalas University Press.
- Scherer R., Godoy H. T. 2009 'Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method', *Food Chemistry*, 112(3), pp. 654–658. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.026>.
- Sulistiawati I., Saleh C., Erwin. 2021 'Phytochemical Screening And Antioxidant Activity Test Using Dpph Method Of Kluwih Seed (*Artocarpus camansi* Blanco)', *Jurnal Atomik*, 6(1), pp. 1-5.
- Tjahjandarie T.S., Saputri R.D., Tandjung M. 2017 'Aktivitas Antioksidan Senyawa Kumarin Ter-O-Geraniisasi Dari Akar *Limonia acidissima* L.', *Journal Of Tropical Pharmacy And Chemistry*, 4(2), pp. 79–88. <https://doi.org/10.25026/jtpc.v4i2.143>.
- Wahdaningsih S., Setyowati P. E., Subagus W. 2011 'Aktivitas Penangkap Radikal Bebas Dari Batang Pakis (*Alsophila glauca* J. Sm)', *Majalah Obat Tradisional*, 16(3), pp. 156-160. <https://doi.org/10.22146/tradmedj.8053>.
- Zou Y., Lu Y., and Wei D. 2004 'Antioxidant Activity of Flavonoid-Rich Extract of *Hypericum Perforatum* L. in vitro', *Journal Agric Food Chem*, 52, pp. 5032-5039. <https://doi.org/10.1021/jf049571r>.