

## UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI n-HEKSAN, ETIL ASETAT, DAN AIR EKSTRAK DAUN BIWA (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.) DENGAN METODE DPPH

(*Antioxidant activities of n-hexane, ethyl acetate and aqueous fraction from loquat leaf (Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.) DPPH Method)

Kristi Melsi<sup>1</sup>, Vivin Nopiyanti<sup>1</sup>, Endang Sri Rejeki<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta  
Email: [endang\\_sr@setiabudi.ac.id](mailto:endang_sr@setiabudi.ac.id)

### ABSTRACT

#### Article Info:

Received: 2022-07-21  
Review: 2022-09-18  
Accepted: 2022-10-21  
Available Online: 2022-12-01

#### Keywords:

Antioxidant; DPPH; *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.; Loquat leaf.

#### Corresponding Author:

Endang Sri Rejeki  
Program Studi Sarjana Farmasi  
Fakultas Farmasi  
Universitas Setia Budi  
Surakarta  
Indonesia  
email:  
[endang\\_sr@setiabudi.ac.id](mailto:endang_sr@setiabudi.ac.id)

Loquat leaf (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.) have been known to contain flavonoid compounds, alkaloids, tannins, saponins, triterpenoids and glycosides, these compounds have the potential to be antioxidants and can ward off free radicals. The purpose of this study was to determine the fraction of n-hexane ethyl acetate and water with extract of loquat leaf which have antioxidant activity, and to find out, respectively, which fraction had the most active activity from the IC<sub>50</sub> value in activity antioxidant. The extraction method of loquat was macerated using 96% ethanol and then fractionated with n-hexane, ethyl acetate, and water. The obtained fraction was tested for antioxidant activity against free radicals using the DPPH method using UV-Vis spectrophotometer at the wavelength of 516 nm. The results of the loquat leaf fraction test have antioxidant activity which can be seen from the IC<sub>50</sub> value, namely the n-hexane fraction is 1792 ppm, the ethyl acetate fraction is 89.60 ppm, the water fraction is 394.99 ppm, and quercetin is 13.03 ppm, so the most active antioxidant is obtained ethyl acetate.



Copyright © 2020 Journal As-Syifaa Farmasi by Faculty of Pharmacy, Muslim University. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License.

#### Published by:

Fakultas Farmasi  
Universitas Muslim Indonesia

#### Address:

Jl. Urip Sumoharjo Km. 5 (Kampus II UMI) Makassar, Sulawesi Selatan.

#### Email:

[jurnal.farmasi@umi.ac.id](mailto:jurnal.farmasi@umi.ac.id)

## ABSTRAK

Daun biwa (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.) telah diketahui memiliki kandungan senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, triterpenoid dan glikosida, senyawa tersebut berpotensi sebagai antioksidan dan dapat menangkal radikal bebas. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui fraksi n-heksan, etil asetat, dan air dengan ekstrak daun yang memiliki aktivitas antioksidan, dan mengetahui masing-masing fraksi mana yang mempunyai aktivitas teraktif dari nilai  $IC_{50}$  dalam aktivitas antioksidan. Metode pembuatan ekstraksi daun biwa dimaserasi menggunakan etanol 96% kemudian difraksinasi dengan n-heksan, etil asetat, dan air. Fraksi yang diperoleh, diuji aktivitas antioksidan terhadap radikal bebas dengan metode DPPH menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis panjang gelombang 516 nm. Hasil uji fraksi daun biwa memiliki aktivitas antioksidan yang terlihat dari nilai  $IC_{50}$  yaitu dari fraksi n-heksan adalah 1792 ppm, fraksi etil asetat 89,60 ppm, fraksi air 394,99 ppm, dan kuersetin 13,03 ppm, jadi didapatkan antioksidan teraktif adalah etil asetat.

**Kata kunci:** Antioksidan; Daun biwa; DPPH; *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.

## PENDAHULUAN

Tanaman biwa (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.) yang dikenal dengan nama loquat di Indonesia. Daun biwa merupakan tanaman yang memiliki begitu banyak manfaat menjadi obat tradisional, tetapi tidak banyak masyarakat Indonesia yang mengetahuinya. Daun biwa mengandung amygdalin (amygdalin dikenal sebagai anti kanker), tanin dan flavonoid yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan buahnya. Telah banyak hasil penelitian yang menunjukkan bahwa flavonoid pada daun biwa berfungsi sebagai anti-proliferatif. Kandungan senyawa flavonoid pada tanaman biwa tersebut memungkinkan bahwa tanaman ini memiliki aktivitas sebagai antioksidan.<sup>1</sup>

Tanaman biwa memiliki nilai pengobatan yang tinggi karena telah digunakan secara historis sebagai obat-obatan tradisional selama ribuan tahun. Ekstrak biwa telah digunakan untuk pengobatan batuk, bronkitis kronis, peradangan, diabetes, dan kanker pada pengobatan tradisional Tiongkok, sebagaimana dicatat oleh literatur kuno seperti "Kompendium Materia Medica". Khasiat biwa, seperti yang digunakan dalam pengobatan tradisional Tiongkok, didukung oleh bukti ilmiah terkini mengenai senyawa aktif farmakologis dalam ekstrak tumbuhan dan asosiasi struktur

aktivitasnya. Ekstrak daun, buah, dan bunga biwa memiliki berbagai aktivitas, seperti antioksidan, antiinflamasi, antidiabetes, antikanker, dan gastroprotektif.<sup>2</sup>

Antioksidan adalah zat yang menghentikan molekul lain dari oksidasi dengan cepat atau melucuti radikal bebas. Kehadiran radikal bebas dalam makromolekul seluler dapat menyebabkan beberapa kondisi patofisiologi seperti alzheimer, hipertensi, kerusakan hati, penyakit parkinson, dan *down syndrome*.<sup>3</sup> Aktivitas antioksidan belum banyak dipelajari pada tanaman biwa. Teknik DPPH (1,1-diphenyl-2 picrylhydrazil) dipakai buat mengukur tingkat aktivitas antioksidan. Reaksi DPPH yang menarik hidrogen dari antioksidan itu sendiri, membentuk dasar dari teknik ini. Aktivitas antioksidan bisa diukur dengan menggunakan nilai  $IC_{50}$ . Konsentrasi efektif ekstrak yang diperlukan guna mengurangi semua radikal bebas hingga 50% dikenal sebagai nilai  $IC_{50}$ .<sup>4</sup>

Sesuai dengan riset sebelumnya yang dilaksanakan oleh Yuliana (2020) tentang uji aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol daun biwa dengan teknik DPPH memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 56,55  $\mu\text{g/mL}$ . Dalam penelitian ini, aktivitas antioksidan dari fraksi n-heksan, etil asetat, dan

air ekstrak daun biwa diuji dengan menggunakan metode DPPH, yang didasarkan pada temuan penelitian sebelumnya yang hanya meneliti ekstrak daun biwa saja.

## METODE PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik, *rotary evaporator*, *waterbath*, spektrofotometer UV-Vis, blender, corong pisah, oven, penyaringan, pipet tetes, tabung reaksi, rak tabung reaksi, labu tentukur, kertas saring, kain flanel, botol coklat maserasi, pisau, batang pengaduk, cawan petri, ayakan 60 mesh, erlenmeyer. Bahan simplisia yang digunakan adalah daun biwa (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.), aquadest (PT Bratachem), etanol 96% (Merck), *n*-heksan (Merck), etil asetat (Merck), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Merck), CeSO<sub>4</sub> (PT Bratachem), FeCl<sub>3</sub> (Merck), serbuk Mg (Merck), HCl (Merck), NaOH (PT Bratachem), amoniak (PT Bratachem), CH<sub>3</sub>COOH (PT Bratachem), reagen *dragendorf* (PT Bratachem), reagen *Mayer* (PT Bratachem), kloroform (PT Bratachem), DPPH (Sigma).

### Prosedur Penelitian

#### Pengumpulan sampel

Bahan simplisia yang dipakai yaitu daun biwa (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.), simplisia didapatkan di daerah Surakarta, Jawa Tengah. Daun yang bakal dipakai dipilih dengan kondisi daun yang masih segar. Selanjutnya daun biwa dibersihkan dengan dicuci, dirajang, ditimbang, lalu dikeringkan pada suhu 50°C menggunakan oven. Setelah daun simplisia kering didapatkan, daun diblender dan diayak 60 mesh sehingga diperoleh bubuk daun biwa, kemudian dimasukkan ke dalam kantong plastik dan disimpan pada suhu kamar.<sup>5</sup>

### Pembuatan ekstrak

Ekstrak dari daun biwa dibuat dengan teknik maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Serbuk halus dari daun biwa ditambahkan pada maserator sebanyak 800 gram dan sebanyak 1000 mL etanol 96%, lalu selama 3 hari direndam dan sesekali dikocok. Pemisahan maserasi dilakukan dengan filtrasi atau cara penyaringan. Sebanyak 2 kali pengulangan dalam proses penyarian dengan jumlah dan jenis pelarut yang sama. Maserasi yang sudah terkumpul sampai didapatkan ekstrak kental dengan *rotary evaporatory* lalu diuapkan hingga menjadi ekstrak kental kemudian dihitung rendemennya.<sup>6</sup>

### Pembuatan fraksi

Cara fraksinasi ekstrak etanol daun biwa dilakukan dengan menimbang 20 gram ekstrak dari maserasi dalam beker gelas lalu dilarutkan dengan 75 mL air, yang diletakkan pada corong pisah kemudian memasukkan pelarut *n*-heksan 3 kali masing-masing sebanyak 75 mL. setelah itu menampung fase *n*-heksan yang didapatkan dan untuk mendapatkan hasil fraksinya, *n*-heksan dipekatkan dengan *vacuum rotary epevaporator*. Selanjutnya menggunakan pelarut etil asetat yang dilakukan 3 kali fraksinasi masing-masing 75 mL, untuk memperoleh fraksi etil asetat maka etil asetat dipekatkan dengan *vacuum rotary epevaporator*. Kemudian, didapatkan residu air yang telah ditampung pada wadah akan dikeringkan dengan *waterbath* sampai mendapatkan hasil fraksi air dan ditimbang.<sup>7</sup>

### Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH

#### Pembuatan larutan DPPH

Menimbang sebanyak 15,8 mg serbuk DPPH pada wadah gelap, kemudian dimasukkan dalam labu takar yang telah

dilapisi dengan alumunium foil 100 mL dan ditambah etanol p.a hingga tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi larutan DPPH sebesar 0,4 Mm. Pembuatan larutan DPPH harus selalu dibuat baru pada saat akan digunakan dan tidak boleh berlebihan, karena larutan DPPH akan menjadi tidak stabil saat sudah menjadi larutan.

**Pembuatan larutan sampel**

Ekstrak etanol fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air sebanyak 25 mg ditimbang, lalu masing-masing dilarutkan dengan metanol dalam labu tentukur 50 mL sampai tanda batas (konsentrasi 500 ppm). Masing- sampel sampel dipipet sebanyak 2,5 mL; 5 mL; 7,5 mL; dan 10 mL, lalu dimasukkan dalam labu tentukur 25 mL (agar didapatkan konsentrasi 50, 100, 150, dan 200 ppm). Menambahkan 5 mL larutan DPPH (konsentrasi 0,04 ppm) dalam masing-masing labu tentukur sebanyak dan ditambahkan etanol p.a sampai tanda batas. Kemudian didiamkan selama 23 menit di tempat yang gelap, lalu serapannya diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 516 nm.<sup>8</sup>

**Pembuatan larutan pembanding**

Larutan kuersetin dibuat dengan menimbang kuersetin sebanyak 10 mg dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL,

kemudian ditambahkan etanol p.a sampai tanda batas, sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 1000 ppm, kemudian larutan dipipet sebanyak 0,1 mL; 0,2 mL; 0,3 mL; dan 0,4 mL larutan induk dan dimasukkan dalam labu tentukur 5 mL (agar didapatkan konsentrasi 2, 4, 6, dan 8 ppm). Lalu ditambahkan dalam masing-masing labu tentukur sebanyak 1 mL larutan DPPH (konsentrasi 200 ppm) dan tambahkan etanol p.a sampai tanda batas. Kemudian mengukur serapannya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 516 nm.<sup>9</sup>

**Perhitungan nilai IC<sub>50</sub>**

Nilai IC<sub>50</sub> ditentukan dari nilai absorbansi dari konsentrasi masing-masing larutan. Dari data tersebut sehingga dihasilkan persen inhibisi yang dihitung berdasarkan persamaan berikut ini:

$$\% \text{ Peredaman} = \frac{\text{Abs Blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs Blanko}} \times 100$$

Nilai IC<sub>50</sub> dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linear, konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan persen inhibisi sebagai sumbu y. Dari persamaan :  $y = a + bx$  dapat dihitung nilai IC<sub>50</sub> dengan menggunakan rumus

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

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Tabel 1.** Hasil uji kuantitatif fraksi *n*-heksan daun biwa

Konsentrasi (ppm)	% inhibisi	IC <sub>50</sub> (µg/mL)
50	6,18	1792
100	7,08	
150	8,68	
200	9,85	

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun biwa yang didapatkan di daerah Surakarta, Jawa Tengah. Tanaman biwa dilakukan determinasi di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu.

Hasil ekstraksi yang diperoleh dari daun biwa pada pembuatan maserasi sebanyak 800 gram serbuk, diperoleh persentasi sebesar 18,6%. Selanjutnya, dilakukan pemisahan dengan menggunakan metode cair-cair menggunakan

corong pisah. Ekstrak daun biwa ditimbang 20 gram dan hasil dari fraksinasi ekstrak etanol daun biwa diperoleh rendemen fraksi *n*-heksan sebesar 15,4%, fraksi etil asetat sebesar 32,75% dan fraksi air sebesar 51,5%.<sup>10</sup> Hasil pengujian aktivitas antioksidan fraksinasi dari

daun biwa dengan menggunakan metode DPPH yang di ukur absorbansinya pada spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 516 nm dapat dilihat pada Tabel 1, Tabel 2, Tabel 3, dan Tabel 4.

**Tabel 2.** Hasil uji kuantitatif fraksi etil asetat daun biwa

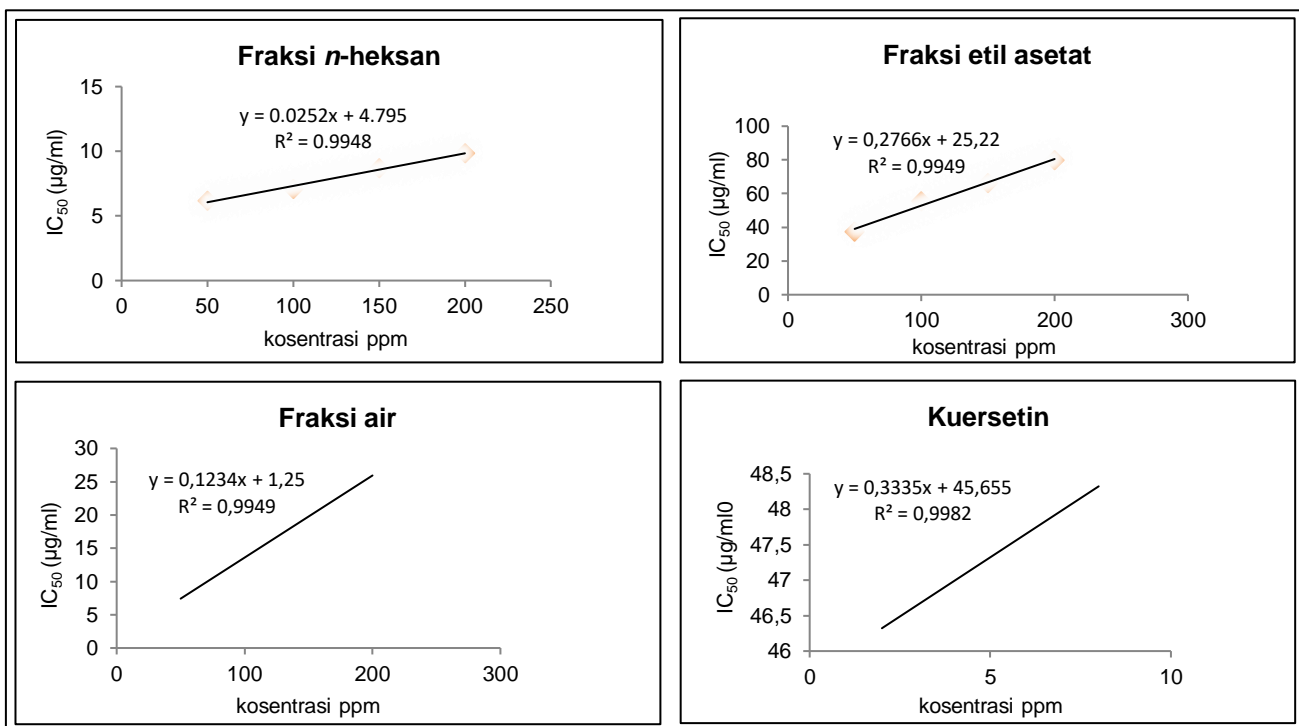
Konsentrasi (ppm)	% inhibisi	IC <sub>50</sub> (µg/mL)
50	37,44	89,60
100	55,48	
150	66,32	
200	79,92	

**Tabel 3.** Hasil uji kuantitatif fraksi air daun biwa

Konsentrasi (ppm)	% inhibisi	IC <sub>50</sub> (µg/mL)
50	8,12	394,99
100	12,43	
150	19,99	
200	26,17	

**Table 4.** Hasil uji kuantitatif kuersetin daun biwa

Konsentrasi (ppm)	% inhibisi	IC <sub>50</sub> (µg/mL)
2	46,37	13,03
4	46,93	
6	47,63	
8	48,36	



**Gambar 1.** Grafik hasil analisis aktivitas antioksidan fraksi daun biwa; (A) *n*-Heksan; (B) Etil Asetat; (C) Air; (D) Kuersetin.

Dari hasil penelitian pada Tabel 1, Tabel 2, Tabel 3, dan Tabel 4, menunjukkan bahwa Fraksi etil asetat memiliki aktivitas antioksidan kuat dan kuersetin memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat karena kuersetin merupakan senyawa flavonoid yang efektif untuk meredam aksi radikal. Sedangkan fraksi *n*-heksan dan fraksi air tidak dapat di katakan antioksidan karena nilai inhibisi tidak mencapai 50%. Nilai IC<sub>50</sub> masing-masing yaitu fraksi *n*-heksan = 1792 ppm; etil asetat = 89,60 ppm; air = 394,99 ppm dan kuersetin = 13,03 ppm. Selain itu, fraksi *n*-heksan dan fraksi air kurang aktif disebabkan oleh adanya senyawa pengganggu seperti protein, lemak dan senyawa lainnya yang dapat terlarut dalam pelarut senyawa nonpolar, dalam pelarut *n*-heksan dan air, sehingga menghalangi proses penangkapan radikal bebas.

#### KESIMPULAN

Fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan fraksi air daun biwa (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.) memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Fraksi *n*-heksan dan fraksi air tidak dapat di katakan antioksidan karena nilai inhibisi tidak mencapai 50%. Fraksi etil asetat daun biwa (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.) memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi dibandingkan dengan fraksi lainnya, dengan nilai 89,60 ppm.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Bangun E. Biwa Tanaman Buah Langka, Kebun Percobaan Tanaman Buah Berastagi. Berastagi; 2004.
2. Yokota, J, Takuma D, Hamada A, Onogawa M, Yoshioka S., Kusunose M. *et al.* Gastroprotective activity of *Eriobotrya japonica* seed extract on experimentally induced gastric lesions in rats. *J Nat Med.* 2008;62(1):96–100.
3. Kumaresan S, Karthi V, Senthilkumar V, Balakumar BS, Stephen A. Biochemical Constituents and Antioxidant Potential of Endophytic Fungi isolated from the Leaves of *Azadirachta indica* A. Juss (Neem) from Chennai, India. *J Acad Ind Res.* 2015;3(8):355.
4. Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin *J Sci Technol.* 2004;26(2):211–9.
5. Ditjen POM DR. *Cara Pembuatan Simplisia.* Departemen kesehatan RI. Jakarta; 1985.
6. Ditjen POM DR. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat.* Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta; 2000.
7. Hamsidi R, Widyawaruyanti A, Hafid AF, Ekasari W, Kasmawati H, Akib NI, *et al.* In vitro antimalarial activity of chloroform, *n*-butanol, and ethyl acetate fractions of ethanol extracts of *Carthamus tinctorius* Linn. Flowers. *Asian J Pharm Clin Res.* 2018;11(2):121–3.
8. I Kuncahyo S. Uji aktivitas antioksidan ekstrak belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap DPPH. *Semin Nas Teknol.* 2007;1–1.
9. Marianne, Septiani R, Yuliana Y. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Biwa (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.) Terhadap DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). Talenta Conference Series: Tropical Medicine (TM). 2018. p. 086–9.
10. Mukhriani. *Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif.* J Kesehat. 2014;7(2):363.
11. Kuncahyono I and Sunardi. *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi L.) Terhadap 1,1-Diphenyl-2-Picrylhidrazyl (DPPH).* Seminar Nasional Teknologi. 2007:1-9.