

PENGARUH SUHU EKSTRAKSI CAMPURAN TANAMAN HERBAL ANTIDIABETES TERHADAP AKTIVITAS PENANGKAPAN RADIKAL BEBAS DPPH

Rusydah Hanifah^{1,*}

* corresponding author: hanifah1900023280@webmail.uad.ac.id

ARTICLE INFO

Article history
Received
Revised
Accepted

Keywords

Antioksidan, dpph, herbal antidiabetes, suhu ekstraksi

ABSTRACT

Tumbuhan obat sebagai sumber pengobatan banyak digunakan sebagai alat terapi alternatif untuk pencegahan atau pengobatan berbagai penyakit. Hal ini dibuktikan dengan banyaknya produk herbal yang beredar sebagai obat, salah satunya yaitu produk herbal antidiabetes. Diabetes dapat diperparah oleh radikal bebas sehingga membutuhkan antioksidan. Antioksidan adalah senyawa yang dapat meredam radikal bebas yang menjadi penyebab munculnya penyakit. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh suhu ekstraksi campuran tanaman herbal antidiabetes terhadap penangkapan radikal bebas 1,1 difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH).

Sampel merupakan kombinasi tanaman herbal antidiabetes dengan komposisi dan formula yang sama diekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol 96%, dan diberikan perlakuan perbedaan suhu pada saat proses pengadukan. Sampel I dengan suhu ruang dan sampel II dengan suhu 50°C pada proses pengadukan. Proses ekstraksi dilakukan hingga diperoleh ekstrak kental.

Hasil uji aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH kombinasi tanaman herbal antidiabetes sampel I dan sampel II diperoleh nilai IC_{50} berturut-turut adalah $11,464 \pm 0,045$ dan $11,409 \pm 0,079$ $\mu\text{g/mL}$. Untuk standar kuersetin diperoleh IC_{50} sebesar $5,950 \pm 0,039$ $\mu\text{g/mL}$. Kombinasi tanama herbal antidiabetes sampel I dan sampel II termasuk kategori aktivitas antioksidan yang sangat kuat.

Analisis statistik menggunakan aplikasi IBM SPSS 25 diperoleh data terdistribusi normal dan homogen, dilanjutkan dengan analisis statistik parametrik dengan menggunakan uji one way anova. Pada uji tersebut diperoleh signifikan $<0,05$ sehingga untuk mengetahui perbedaan dari masing-masing sampel dilanjutkan dengan uji Post Hoc. Diperoleh data standar kuersetin dengan sampel I dan sampel II sig $<0,05$ sehingga berbeda bermakna. Untuk sampel I dan sampel II diperoleh sig $>0,05$ yang berarti tidak memiliki perbedaan yang bermakna.

This is an open access article under the [CC-BY-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) license.



1. Pendahuluan

Tumbuhan obat sebagai sumber pengobatan menjadi salah satu langkah alternatif untuk pencegahan atau pengobatan berbagai penyakit. Banyak perhatian telah diberikan pada penggunaan produk alami, karena sifat nutrisi dan farmakologi yang dimilikinya (Russo et al., 2015). Salah satu metode pengobatan yang dilakukan secara turun temurun adalah dengan memanfaatkan alam atau isi bumi contohnya tanaman herbal. Tumbuhan obat memiliki metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, steroid, terpenoid, dan tanin. yang dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan, antidiabetes,

dan antiinflamasi (Rais, 2022). Untuk mendapatkan senyawa tersebut dapat dilakukan melalui proses ekstraksi salah satunya dengan metode maserasi. Ekstraksi dapat menimbulkan interaksi antara pelarut dan senyawa terlarut yang memiliki sifat kepolaran yang sama, yaitu terjadinya interaksi tarik menarik dimana sifat polaritas senyawa fitokimia sama dengan pelarut (Yabalak, 2020). Hal ini juga ditunjukkan oleh (Widyaningrum, 2020) yang melaporkan adanya perbedaan metode ekstraksi akan berkaitan dengan sifat fisika kimia golongan senyawa fitokimia yang dapat menghasilkan kandungan senyawa yang berbeda (Putri, Rahardhian and Ramonah, 2022).

Herbal yang digunakan dalam pengobatan tradisional banyak mengandung zat aktif seperti flavonoid. Berdasarkan penelitian (Dewi, 2014) flavonoid dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan. Flavonoid sebagai antioksidan memiliki gugus hidroksil yang terikat pada karbon cincin aromatik sehingga dapat menangkap radikal bebas. Senyawa antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan elektron bebasnya kepada radikal bebas sehingga menghasilkan radikal yang stabil. (Parwata, 2016) mengungkapkan bahwa cukup banyak jenis dari radikal bebas namun yang paling banyak ditemukan dalam sistem biologis tubuh adalah radikal bebas turunan oksigen atau reactive oxygen species (ROS) dan reactive nitrogen species (RNS). Penumpukan Radikal bebas ini menjadi salah satu penyebab munculnya penyakit diabetes melitus. Hal ini dapat dicegah dengan adanya antioksidan.

Menurut beberapa penelitian, senyawa antioksidan yang mempunyai ikatan rangkap dapat mengalami dekomposisi yaitu dengan memutuskan ikatan rangkap melalui proses oksidasi dan dapat diperkuat dengan adanya pemanasan (Gandjar dan Rohman, 2007). Aktivitas antioksidan alami bersifat sensitif terhadap cahaya dan panas. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa pemanasan dapat merusak struktur kimia senyawa penyusunnya. Suhu yang lebih tinggi dan waktu pemanasan yang lama dapat menyebabkan kapasitas antioksidan semakin menurun, demikian pula semakin tinggi intensitas cahaya menyebabkan aktivitas peredaman radikal bebasnya semakin menurun (Kunarto and Iswoyo, 2020).

Berdasarkan hal tersebut penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah terdapat pengaruh pemamasan dengan suhu 50°C terhadap aktivitas antioksidan sampel. Salah satu metode untuk menentukan aktivitas antioksidan suatu senyawa herbal adalah dengan menggunakan metode DPPH. Aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH dapat diukur dengan IC₅₀. Semakin kecil nilai IC₅₀ maka aktivitas antioksidannya semakin tinggi (Dewi et al., 2014).

2. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah produl herbal Yuniari yang berisikan kombinasi formula T1;T2;T3;T4. Bahan kimia yang digunakan adalah DPPH, etanol 96%, standar kuersetin (Sigma Aldrich).

Alat yang digunakan dalam penelitian ini ialah neraca analitik OHAUS Explorer, stirrer, rotatory evaporator (Heidolph), alat-alat gelas, cawan porselin, kuvet, kertas saring, aluminium foil, mikropipet, toples, dan spektrofotometri UV-Vis (Shimadzu UV-1900).

2.1. Prosedur Penelitian

2.1.1. Penyiapan Bahan Utama

Herbal didapatkan dari rumah produksi herbal di Gunung Kidul. Bahan yang didapatkan masih berupa herba kering. Kemudian dihaluskan dengan blender menjadi serbuk. Kemudian serbuk dari masing-masing T1;T2;T3;T4 ditimbang sesuai komposisi (1:1:2:0.5) dicampur untuk membuat formula I yaitu tanpa pemanasan saat proses pengadukan, dan formula II yaitu dengan pemanasan suhu 50°C saat proses pengadukan. Selanjutnya formula I dan formula II disebut sampel I dan sampel II

2.1.2. Pembuatan ekstrak produk herbal

Produk herbal yang sudah ditimbang menjadi sampel I dan sampel II berbentuk serbuk kering dimaserasi menggunakan pelarut etanol 96% dengan volume 700 mL samapai semua bahan terendam. Proses pengadukan dibantu oleh pengaduk batang selama 3 jam, untuk sampel I pada suhu ruang, sedangkan untuk sampel II dibantu dengan menggunakan hot plate untuk mengatur suhu pada proses pengadukan. Suhu yang digunakan adalah 50°C untuk sampel II. Kemudian didiamkan selama 24 jam lalu disaring menggunakan corong

buchner untuk mendapatkan filtratnya, ampas sisa penyarian kemudian ditambahkan lagi dengan penyari yang baru. Proses maserasi diulang sebanyak dua kali. Hasil maserasi diuapkan menggunakan alat rotatory evaporator dengan suhu 50°C dan water bath untuk mendapatkan ekstrak etanol kental. Ekstrak kental yang diperoleh dipindahkan pada wadah.

2.1.3. Uji Aktivitas Peredaman Radikal Bebas DPPH

a. Pembuatan larutan pembanding kuersetin

Larutan kuersetin dibuat konsentrasi 1 mg/mL dengan menimbang sebanyak 10,0 mg kuersetin lalu dilarutkan etanol p.a 10,0 mL. Dari larutan 1 mg/mL dibuat menjadi seri kadar 4, 6,8,10, dan 12 µg/mL.

b. Pembuatan reagen DPPH 0.15 mM

Timbang sebanyak 19,72 mg kristal DPPH dilarutkan dengan etanol p.a hingga 50,0 mL diperoleh larutan konsentrasi 1 mM dari larutan tersebut diambil 15 mL dan diencerkan dengan etanol p.a sampai 100,0 mL sehingga diperoleh konsentrasi Larutan DPPH 0,15 mM. (Kusbandari, Prasetyo and Susanti, 2018)

c. Pembuatan Larutan Uji

Ekstrak Sebanyak 10,0 mg ekstrak dilarutkan dalam etanol p.a 5,0 mL kemudian disaring dengan kertas saring dan di ad etanol p.a sampai 10,0 mL. Kemudian dibuat seri kadar 2,4,6,8,10, dan 12 µg/mL.

d. Pembuatan Kontrol Negatif

Larutan kotrol negatif dibuat dengan mengambil 1,0 mL larutan DPPH 0,15mM ditambah dengan 1,0 mL etanol p.a (Kusbandari, Prasetyo and Susanti, 2018)

e. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

DPPH Sebanyak 1,0 mL larutan DPPH 0,15 mM ditambahkan dengan 1,0 mL larutan etanol p.a kemudian diukur serapan maksimalnya pada panjang gelombang 400-800 nm menggunakan spektrofotometer.

f. Penetapan Operating Time

Penentuan operating time dilakukan dengan cara masing-masing 1,0 mL larutan uji dan larutan standar 8 µg/mL ditambahkan dengan 1,0 mL larutan DPPH 0,15 mM, kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang yang diperoleh selama 0-90 menit sehingga diperoleh waktu serapan yang stabil (Kusbandari, Prasetyo and Susanti, 2018)

g. Pengukuran Aktivitas Peredaman Radikal DPPH

Masing -masing larutan uji dan standar konsetrasi 2,4,6,8,10, dan 12 µg/mL diambil sebaanyak 1,0 mL ditambahkan dengan larutan DPPH 0,15 mM 1,0 mL, kocok hingga homogen kemudian diamkan pada suhu ruang selama 30 menit. Ukur serapan pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh sebelumnya. Serapan yang diperoleh merupakan kontrol positif (Rais et al., 2022).

2.2. Analisis Data

Aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH dinyatakan dalam IC₅₀ yang diperoleh dari persentase penangkapan radikal bebas DPPH (%inhibisi) masing-masing sampel menggunakan rumus :

$$\%inhibisi = \frac{\text{absorbansi kontrol negatif} - \text{absorbansi kontrol positif}}{\text{absorbansi kontrol negatif}} \times 100\%$$

Kemudian dilakukan perhitungan regresi linear antara %inhibisi dengan konsetrasi sampel larutan uji sehingga diperoleh $y = a+bx$, dimana $x =$ konsetrasi (µg/mL). Nilai IC₅₀ diperoleh dari nilai x setelah mengganti y dengan 50.

Data yang diperoleh kemudian diuji statistik dengan SPSS IBM 25 yaitu uji normalitas Kolmogrov-Smirnov, uji homogenitas dengan taraf kepercayaan 95%. Jika nilai signifikan lebih besar dari 0,05 maka dapat disimpulkan bahwa data yang diperoleh terdistribusi normal dan homogen kemudian dilanjutkan dengan uji one way ANOVA. Apabila hasil dari data tersebut tidak terdistribusi normal serta tidak homogen atau salah satu diantara keduanya dilanjutkan dengan pengujian non para metrik uji Mann-Whitney dan uji T untuk dua kelompok sampel (Ayuni M, 2022).

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Penyiapan Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah kombinasi beberapa tanaman yang merupakan formulasi dari produk herbal "X" yang diperoleh dari rumah produksi herbal di Gunung Kidul, Yogyakarta. Bahan yang diperoleh berupa simplisia kering yang terdiri dari empat jenis tanaman yaitu T1:T2:T3:T4. Simplisia kering ini dihaluskan menjadi serbuk yang bertujuan agar memperluas permukaan partikel simplisia, mempermudah kelarutan zat aktif dalam sel ke dalam pelarut sehingga jumlah zat aktif dalam cairan penyari semakin banyak. Kemudian ditimbang menjadi dua sampel dengan komposisi dan berat yang sama bertujuan untuk dapat mengetahui pengaruh pemanasan terhadap sampel. Penyiapan bahan dilakukan di Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan.

3.2. Ekstraksi Kombinasi Campuran Tanaman Formulasi Produk Herbal Antidiabetes

Pembuatan ekstrak etanol kombinasi tanaman dari formula produk herbal antidiabetes dilakukan proses ekstraksi menggunakan metode maserasi yaitu dengan merendam sampel dalam pelarut yang sesuai dengan zat aktif yang akan diekstraksi dengan sesekali dilakukan pengadukan. Selama maserasi terjadi proses difusi dimana cairan penyari akan masuk ke dalam sel yang mengandung senyawa aktif melewati dinding sel. Adanya perbedaan konsentrasi tinggi dalam sel dan konsentrasi rendah di luar sel akan mengakibatkan perpindahan senyawa aktif dari dalam sel keluar sel hingga terjadi kesetimbangan konsentrasi antara di dalam dan di luar sel (Anonim, 1986). Metode maserasi dipilih karena memiliki kelebihan dapat melarutkan sebagian besar senyawa aktif yang terdapat di dalam serbuk simplisia sesuai dengan tingkatan kelarutan senyawa aktif tersebut dan mencegah kerusakan kandungan kimia yang tidak tahan terhadap pemanasan.

Pada proses maserasi pengadukan awal dibantu dengan electric stirer selama 3 jam, sampel I dimaserasi pada suhu ruang atau tanpa pemanasan sedangkan untuk sampel II diberikan pengaruh panas yaitu suhu 50°C pada proses pengadukan. Diberikannya pemanasan pada proses pengadukan bertujuan untuk mengetahui adanya perbedaan aktivitas antioksidannya. Pengadukan akan meningkatkan kontak antara simplisia dengan pelarut yaitu dengan cara membantu mendesak dan meratakan larutan di luar simplisia sehingga tetap terjaga adanya derajat perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam dan di luar sel (Anonim, 1986). Pada penelitian sebelumnya (Putu Tara Hradaya and Husni, 2021) yang melaporkan bahwa suhu ekstraksi (55 ke 75 °C) mampu meningkatkan aktivitas antioksidan (362.52±10 ; 437.03±35.03) dengan adanya pengaruh suhu atau pemanasan menghasilkan kekentalan pelarut yang berkurang yang dapat mengakibatkan berkurangnya lapisan-lapisan batas, daya melarutkan cairan penyari akan meningkat sehingga dapat meningkatkan kelarutan zat aktif. Suhu 50°C tergolong suhu dengan pemanasan sedang sehingga dengan menggunakan metode maserasi ini dapat dilihat pengaruhnya terhadap aktivitas antioksidannya.

Proses maserasi pada sampel ini menggunakan pelarut etanol 96%. Pelarut ini dipilih karena memiliki efektivitas yang tinggi dalam menarik senyawa aktif. Etanol 96% bersifat semi polar dan mampu menggabungkan gugus polar dan non polar sehingga komponen pada sampel yang bersifat polar dan non polar dapat terekstraksi. Dengan digunakannya etanol 96% diharapkan etanol tersebut dapat masuk menembus dinding sel dan dapat menyari flavonoid dan fenolik yang terdapat dalam sampel. Setelah dilakukan pengadukan, selanjutnya didiamkan 24 jam agar zat aktif yang tersari didalam sel untuk berdifusi keluar sel untuk mendapatkan zat-zat yang tidak perlu tetapi ikut terlarut dalam cairan penyari. Setelah 24 jam, kemudian disaring dengan bantuan corong buchner. Ampas hasil penyaringan dilanjutkan dengan remaserasi menggunakan pelarut yang baru untuk menghindari jenuhnya cairan penyari. Remaserasi dilakukan sebanyak 2 kali hal ini bertujuan agar senyawa aktif yang tersisa dari maserasi awal dapat disari dan untuk membatasi perlakuan yang sama antar sampel. Maserat yang diperoleh kemudian diuapkan dengan bantuan alat rotary evaporator, kemudian dipindah pada waterbath agar diperoleh ekstrak kental.

3.3. Hasil Uji Aktivitas

3.3.1. Panjang Gelombang Maksimum

Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang serapan maksimal, yaitu panjang gelombang yang mempunyai absorbansi maksimal. Pada kondisi tersebut perubahan serapan setiap satuan konsentrasi adalah paling besar, sehingga diperoleh kepekaan yang optimal. Panjang gelombang diukur pada rentang 450-600 nm, secara

teoritis panjang gelombang maksimum untuk larutan DPPH adalah 515-517 nm. Panjang gelombang yang diperoleh standar kuersetin, sampel I, sampel II berturut-turut adalah 516 nm, 515 nm, 515 nm. Untuk memastikan absorbansi larutan uji yang terlihat merupakan absorbansi yang tertinggal dalam larutan maka dilakukan perbandingan antara spektra kontrol negatif dan spektra larutan uji.

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa spektra tiap formula produk herbal antidiabetes yang telah ditambahkan DPPH menciptakan puncak serapan maksimum yang mirip dengan kontrol negatifnya maka dengan kata lain absorbansi yang terukur adalah absorbansi yang masih tertinggal dalam larutan (Basuki, 2021). Berdasarkan data yang ditunjukkan pada (lampiran) memperlihatkan tidak terdapat puncak pada panjang gelombang yang sama dengan panjang gelombang maksimum larutan DPPH

3.3.2. Operating time

Operating time digunakan untuk mengetahui waktu yang dibutuhkan oleh suatu senyawa dalam sampel untuk mencapai reaksi yang sempurna dengan reagen. Operating time didapatkan dari hubungan antara waktu dengan absorbansi larutan, yaitu dapat dilihat apabila rekasi pembentukan warna telah stabil spektra yang dihasilkan berbentuk garis lurus. Penentuan operating time dilakukan pada panjang gelombang serapan maksimum yang diperoleh pada rentang waktu 0-90 menit. Kurva operating time dimulai dari saat reaksi dilakukan sampai diperoleh absorbansi yang stabil. Hasil operating time untuk standar kuersetin diperoleh pada menit 24 sampai 32, sedangkan operating time sampel I adalah 22 sampai 32, dan sampel II adalah 23 sampai 36.

3.3.3. Pengukuran Aktivitas antioksidan

Data yang diperoleh adalah absorbansi dan % inhibisi atau % penghambatan. Masing-masing % inhibisi dihitung persamaan regresi linear untuk memperoleh nilai IC₅₀.

Tabel I. Persen Inhibisi dan IC₅₀ Kuersetin

Absorbansi Kuersetin (Standar)					
Konsentrasi (µg/mL)	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III	Replikasi IV	Replikasi V
4	0.463	0.465	0.461	0.464	0.461
6	0.426	0.427	0.425	0.422	0.424
8	0.385	0.384	0.384	0.384	0.385
10	0.343	0.346	0.343	0.343	0.345
12	0.305	0.304	0.302	0.305	0.302
Persen Penangkapan Radikal Bebas DPPH (%)					
Konsentrasi (µg/mL)	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III	Replikasi IV	Replikasi V
4	39.870	39.610	40.129	39.740	40.129
6	44.675	44.545	44.805	45.194	44.935
8	50.000	50.129	50.129	50.129	50.000
10	55.454	55.034	55.454	55.343	55.194
12	60.389	60.519	60.779	60.389	60.779
Persamaan Regresi Linear	Y=2.590x+34.532 r=0.9997	Y=2.616x+34.272 r=0.9998	Y=2.610x+34.544 r=0.9996	Y=2.603x+34.558 r=0.9998	Y=2.577x+34.739 r=0.9996
IC ₅₀	5.970	6.010	5.920	5.930	5.919
X			5.950		
SD			0.039		
CV%			0.659		

Standar kuersetin dipilih karena merupakan senyawa yang telah diketahui mempunyai aktivitas antioksidan yang baik sehingga dapat digunakan sebagai kontrol positif. Dengan adanya gugus orto dihidroksi pada posisi 3' dan 4' dan gugus OH pada posisi 3,5, dan 7, gugus hidroksil pada struktur molekulnya dapat mendonorkan elektron atom hidrogen atau melalui kemampuannya mengkelat logam (Warsi and Sholichah, 2017). Dari hasil yang diperoleh diketahui bahwa standar kuersetin tergolong kepada aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC₅₀ yaitu $5,950 \pm 0,039 < 50 \mu\text{g/ml}$.

Tabel II. Persen Inhibisi dan IC₅₀ Sampel I

Absorbansi Kuersetin (Sampel I)					
Konsentrasi (µg/mL)	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III	Replikasi IV	Replikasi V
4	0.535	0.533	0.536	0.534	0.533
6	0.493	0.495	0.452	0.414	0.376
8	0.455	0.452	0.353	0.455	0.454
10	0.413	0.414	0.411	0.410	0.412
12	0.375	0.376	0.377	0.374	0.373
Persen Penangkapan Radikal Bebas DPPH (%)					
Konsentrasi (µg/mL)	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III	Replikasi IV	Replikasi V
4	30.429	30.689	30.299	30.599	30.689
6	35.894	35.630	36.020	35.760	35.500
8	40.832	41.222	41.092	40.832	40.962
10	46.293	46.163	46.533	46.684	46.423
12	51.235	51.105	50.975	51.365	51.495
Persamaan Regresi Linear	Y=2.600x + 20.132 r=0.9998	Y=2.568x + 20.4158 r=0.9997	Y=2.593x + 20.225 r=0.9991	Y=2.622x + 20.065 r=0.9995	Y=2.626x + 19.999 r=0.9997
IC ₅₀	11.485	11.519	11.481	11.413	11.421
X	11.464				
SD	0.045				
CV%	0.396				

Tabel III. Persen Inhibisi dan IC₅₀ Sampel II

Absorbansi Kuersetin (Sampel II)					
Konsentrasi (µg/mL)	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III	Replikasi IV	Replikasi V
4	0.552	0.550	0.551	0.549	0.554
6	0.505	0.507	0.501	0.503	0.504
8	0.462	0.463	0.460	0.464	0.461
10	0.413	0.416	0.415	0.411	0.412
12	0.370	0.372	0.372	0.371	0.369
Persen Penangkapan Radikal Bebas DPPH (%)					
Konsentrasi (µg/mL)	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III	Replikasi IV	Replikasi V
4	28.031	27.900	28.161	28.422	27.770

6	34.159	33.898	34.680	34.419	34.289
8	39.765	39.858	40.026	39.504	39.895
10	46.153	45.762	45.893	46.414	46.284
12	51.760	51.239	51.499	51.629	51.890
Persamaan Regresi Linear	$Y=2.972x+16.197$ $r=0.9998$	$Y=2.927x+16.259$ $r=0.9998$	$Y=2.894x+16.896$ $r=0.9995$	$Y=2.920x+16.714$ $r=0.9990$	$Y=3.011x+15.931$ $r=0.9996$
IC ₅₀	11.372	11.526	11.437	11.397	11.312
X	11.409				
SD	0.079				
CV%	0.697				

Hasil dari perhitungan IC₅₀ sampel I dan sampel II berturut-turut adalah $11,464 \pm 0,045$ dan $11,409 \pm 0,079$. Berdasarkan kategori penggolongan kekuatan antioksidan Kuersetin, sampel I dan sampel II tergolong pada antioksidan sangat kuat $< 50 \mu\text{g/mL}$.

Untuk mengetahui pengaruh suhu dengan aktivitas antioksidan metode DPPH dari standar kuersetin, sampel 1, dan sampel 2 dilakukan uji analisis statistik dengan menggunakan SPSS 25 dengan taraf kepercayaan 95%. Data yang diperoleh dapat berupa parametrik dan nonparametrik. Parametrik diartikan apabila data yang diperoleh sig $>0,05$ dimana data terdistribusi normal dan homogen. Data nonparametrik yaitu apabila sig dari salah satu normalitas maupun homogenitas $<0,05$ maka data disebut non parametrik. Uji yang dilakukan yaitu uji Kolmogrov-Smirnov untuk melihat apakah data terdistribusi normal atau tidak. Kemudian dilakukan uji homogenitas Levene. Hasil uji normalitas dan homogenitas menunjukkan bahwa data yang diperoleh terdistribusi normal dan homogen dengan melihat hasil sig $>0,05$ sehingga termasuk data parametrik.

Selanjutnya dilakukan uji one way anova untuk membandingkan antara standar kuersetin, sampel I, dan sampel II. Hasil signifikan diperoleh sig $0.000 < 0,05$ sehingga dikatakan data berbeda signifikan. Kemudian untuk dapat melihat perbedaannya dilanjutkan dengan uji post hoc Bonferroni. Hasil diperoleh bahwa antara standar kuersetin dengan sampel I dan sampel II diperoleh sig 0.000 yang berarti berbeda signifikan. Hasil ini menunjukkan standar kuersetin memiliki aktivitas antioksidan yang paling kuat dibandingkan dengan sampel I dan II, namun sampel I dan sampel II juga tergolong pada kategori antioksidan yang kuat sehingga dapat dikatakan bahwa mekanisme antioksidan dari herbal antidibaetes memiliki kesamaan dengan senyawa standar kuersetin. Untuk sampel I dan sampel II diperoleh sig $0.515 > 0,05$ yang diartikan bahwa IC₅₀ sampel I dan sampel II tidak berbeda signifikan. Pada penelitian yang dilakukan Wenjuan et al. (2010) suhu ekstraksi dapat mempengaruhi kualitas senyawa yang diekstrak. Azman dkk (2010) mengungkapkan bahwa senyawa bioaktif seperti antioksidan meningkat pada suhu antara 45°C sampai 100°C dan mengalami penurunan ketika suhu mencapai kenaikan hingga 120°C .

Dapat dilihat pada nilai rata-rata IC₅₀ sampel II dengan pengaruh suhu memiliki nilai aktivitas antioksidan yang lebih tinggi terhadap sampel I sehingga adanya pemanasan memberikan pengaruh terhadap aktivitas antioksidan namun tidak berbeda secara signifikan atau bermakna. Pada penelitian Komala Putu (2021) menggunakan suhu ekstraksi 55°C , 65°C , 75°C diperoleh hasil bahwa suhu ekstraksi memengaruhi aktivitas antioksidan DPPH paling tinggi yaitu 55°C .

4. Kesimpulan

1. Herbal antidiabetes memiliki aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH
2. Herbal antidiabetes Sampel I dan sampel II memperoleh IC_{50} berturut-turut $11,464 \pm 0,045$ dan $11,409 \pm 0,079$ dengan kategori sangat kuat.
3. Terdapat pengaruh signifikan antara standar kuersetin dengan sampel I dan sampel II. Tidak terdapat perbedaan signifikan pada sampel I dan sampel II dengan pengaruh pemanasan $50^{\circ}C$

Kontribusi Penulis

Hanifah Rusyda melakukan penelitian, merancang, melakukan analisis data, menginterpretasikan hasilnya dan menulis naskah secara keseluruhan.

Ucapan Terimakasih

Alhamdulillah puji syukur penulis panjatkan atas kehadiran Allah SWT yang telah memberikan Rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis telah menyelesaikan penelitian dan penulisan naskah ini. Tak lupa terimakasih kepada dosen pembimbing Bapak Apt. Ichwan Ridwan Rais, M. Sc., Ph.D yang telah membimbing, memberi arahan serta memotivasi penulis dalam menyelesaikan skripsi.

Penulis menyadari selama penulisan skripsi ini masih terdapat kekurangan. Oleh sebab itu, demi perbaikan selanjutnya penulis mengharapkan kritik serta saran yang membangun dari berbagai pihak. Penulis juga berharap semoga tulisan ini dapat bermanfaat bagi kita semua khususnya dalam perkembangan pengetahuan pemanfaatan herbal alam..

References

- Ayuni, M., 2022. Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Produk Herbal Antidiabetes Yang Dijual Di Pasar Beringharjo Dengan Metode Fosfomolibdat, Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan: Yogyakarta.
- Basuki, G. (2021) 'Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)', *Skripsi*, 3(3), pp. 368–374
- Bendra, Atika. 2012. *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Premna oblongata Miq. Dengan Metode DPPH dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia dari Fraksi Teraktif*. Skripsi. Program Studi Ekstensi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia, Depok.
- Chairunnisa, S., Wartini, N.M. and Suhendra, L. (2019) 'Pengaruh Suhu dan Waktu Maserasi terhadap Karakteristik Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana* L.) sebagai Sumber Saponin', *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, 7(4), p. 551. Available at: <https://doi.org/10.24843/jrma.2019.v07.i04.p07>.
- Courtney, A. (2012) 'Formularies', *Pocket Handbook of Nonhuman Primate Clinical Medicine*, pp. 213–218. Available at: <https://doi.org/10.1201/b12934-13>.
- Dewi, N.W.O.A.C. et al. (2014) 'Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol Biji Terong Belanda (*Solanum betaceum*, syn) Dalam Menghambat Reaksi Peroksidasi Lemak Pada Plasma Darah Tikus Wistar', *Cakra Kimia*, 2(1), pp. 9–9.
- Gandjar, I.G., Sudjadi., dan Rohman, A., 2019, *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar, Yogyakarta.
- Kiswandono, A.A. (2017) 'Perbandingan Dua Ekstraksi Yang Berbeda Pada Daun Kelor (*Moringa Oleifera*, Lamk) Terhadap Rendemen Ekstrak Dan Senyawa Bioaktif Yang Dihasilkan', *Jurnal Sains Natural*, 1(1), p. 53. Available at: <https://doi.org/10.31938/jsn.v1i1.13>.

- Kunarto, B. and Iswoyo (2020) 'Kinetika Degradasi Ekstrak Antioksidan Buah Parijoto Muda (*Medinilla speciosa* Blume) pada Berbagai Intensitas dan Waktu Paparan Cahaya', *Prosiding Seminar Nasional Unimus*, 3(2013), pp. 1184–1193.
- Kusbandari, A., Prasetyo, D.Y. and Susanti, H. (2018) 'Penetapan Kadar Fenolik Total Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kopi Kawa Dengan Metode Dpph', *Media Farmasi: Jurnal Ilmu Farmasi*, 15(2), p. 72. Available at: <https://doi.org/10.12928/mf.v15i2.12658>.
- Narsih, Agato., 2018. Efek kombinasi suhu dan waktu ekstraksi terhadap komponen senyawa ekstrak kulit lidah buaya. *Jurnal Galung Tropika*, 7 (1) April 2018, hlmn. 75 – 87. Politeknik Negeri Pontianak: Pontianak.
- Pahlawan, P.P., Dwita, O., 2016. The Effect of Insulin Leaves (*Smallanthus sonchifolius*) as Antidiabetic. *Jurnal Majority* 5, 133–137.
- Parwata, M.O.A. (2016) 'Antioksidan', *Kimia Terapan Program Pascasarjana Universitas Udayana*, (April), pp. 1–54.
- Putri, C.N., Rahardhian, M.R.R. and Ramonah, D. (2022) 'Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Kadar Total Fenol dan Total Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Insulin (*Smallanthus sonchifolius*) serta Aktivitas Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus*', *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 7(1), p. 15. Available at: <https://doi.org/10.20961/jpscr.v7i1.43465>.
- Putu Tara Hradaya, K. and Husni, A. (2021) 'Pengaruh Suhu Ekstraksi terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanolik *Eucommia spinosum*', *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 24(1), pp. 1–10. Available at: <https://doi.org/10.17844/jphpi.v24i1.34193>.
- Rais, I.R. (2016) 'Aktivitas Antioksidan Ekstrak *Andrographis paniculata* (Burm.F.) Ness Dengan Dua Perbedaan Penguapan', *Pharmaciana*, 6(1), pp. 95–100. Available at: <https://doi.org/10.12928/pharmaciana.v6i1.3226>.
- Rais, I.R. *et al.* (2022) 'The antioxidant activity of several antidiabetic herbal products', *Pharmaciana*, 12(2), p. 253. Available at: <https://doi.org/10.12928/pharmaciana.v12i2.22714>.
- Russo, D. *et al.* (2015) 'Evaluation of antioxidant, antidiabetic and anticholinesterase activities of *smallanthus sonchifolius* landraces and correlation with their phytochemical profiles', *International Journal of Molecular Sciences*, 16(8), pp. 17696–17718. Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms160817696>.
- Setiasih, N.L.S. and Susari, N.N.W. (2016) 'Peningkatan Produksi Radikal Bebas Pada Kasus Diabetes Melitus', pp. 1–23.
- Setiawan, agus (2019) 'Agus Setiawan', pp. 1–181.
- Warsi, & Sholichah, A. R. (2017). Phytochemical screening and antioxidant activity of ethanolic extract and ethyl acetate fraction from basil leaf (*Ocimum basilicum* L.) by DPPH radical scavenging method. In *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* (Vol. 259). Institute of Physics Publishing. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/259/1/01200>
- Wulansari, I.D., Admadi, B., Mulyani, S., 2020. Pengaruh Suhu Penyimpanan terhadap Kerusakan Antioksidan Ekstrak Daun Asam (*Tamarindus indica* L). *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri* 8, 544. doi:10.24843/jrma.2020.v08.i04.p07

This section lists only papers, books, or other types of publications referred to in the body of the manuscript. The references must be managed by **American Psychological Association (APA) 7th style** and use reference tools, such as **Mendeley**. It is desirable to add a DOI (digital object identifier).

The in-text citation of journals is as (Irham et al., 2020), books as (Murti et al., 2020), and conference proceedings as (Sulistiyani & Nurkhasanah, 2017). The authors should use at least 80% of journal references that last for ten years. Please be advised that the number of references should be 15 or more. At least 80% of the references should be publications of the last 10 years. Journal articles are preferred as references. Write the references correctly and completely.

Irham, L. M., Wong, H. S.-C., Chou, W.-H., Adikusuma, W., Mugiyanto, E., Huang, W.-C., & Chang, W.-C. (2020). Integration of genetic variants and gene network for drug repurposing in colorectal cancer. *Pharmacological Research*, *161*, 105203. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2020.105203>

Murti, B. T., Putri, A. D., Irham, L. M., Perwitasari, D. A., Hsieh, C.-M., Yang, P.-K., Kanchi, S., & Sabela, M. (2020). Current trends, achievements, and prospects of smart nanodevices in the global pharma market. In *Nanomaterials in Diagnostic Tools and Devices* (pp. 351–393). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817923-9.00013-4>

Sulistiyani, N., & Nurkhasanah. (2017). The cytotoxic effect of *Elephantopus scaber* Linn extract against breast cancer (T47D) cells. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, *259*, 012006. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/259/1/012006>