

## **POTENSI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SINERGIS DARI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN KERSEN DAN DAUN ILER TERHADAP DPPH**

**<sup>1\*</sup>Asti Arum Sari, <sup>2</sup>Rizkina Ulyal Muna**

<sup>1,2</sup>Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Jalan Ahmad Yani, Sukoharjo, Jawa Tengah, Indonesia, 57162

**\*Email korespondensi:** [aas973@ums.ac.id](mailto:aas973@ums.ac.id)

*Received: 27 05 2026 – Revised: 29 07 2026 - Accepted: 04 08 2026 - Published: 05 08 2026*

**Abstrak.** Stres oksidatif akibat produksi radikal bebas yang berlebihan berperan dalam patogenesis berbagai penyakit degeneratif. Daun kersen (*Muntingia calabura* L.) dan daun iler (*Coleus scutellarioides* (L.) Benth.) diketahui mengandung senyawa fenolik dan flavonoid yang berpotensi sebagai antioksidan alami. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak etanol daun kersen dan daun iler menggunakan DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) serta spektrofotometer UV-Vis. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan etanol 96%. Kombinasi ekstrak dibuat dalam rasio 1:1, 2:1, dan 1:2 (daun kersen iler), kemudian dibandingkan dengan ekstrak tunggal masing-masing. Aktivitas antioksidan ditentukan berdasarkan nilai IC<sub>50</sub>. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai IC<sub>50</sub> ekstrak etanol daun kersen dan daun iler berturut-turut sebesar 27 µg/mL dan 19 µg/mL. Kombinasi ekstrak pada rasio 1:1, 2:1, dan 1:2 menghasilkan nilai IC<sub>50</sub> masing-masing sebesar 9,68 ± 0,059 µg/mL; 11,57 ± 0,015 µg/mL; dan 8,28 ± 0,607 µg/mL. Analisis statistik menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara ekstrak tunggal dan kombinasi (p < 0,05). Kombinasi ekstrak daun kersen dan daun iler pada rasio 1:2 menghasilkan aktivitas antioksidan tertinggi yang ditunjukkan oleh nilai IC<sub>50</sub> terendah. Hasil ini menunjukkan bahwa kombinasi kedua ekstrak berpotensi meningkatkan aktivitas antioksidan dibandingkan dengan ekstrak tunggal.

**Kata kunci:** antioksidan, daun iler, daun kersen, DPPH, sinergisme

### **PENDAHULUAN**

Ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas dan kemampuan sistem pertahanan antioksidan tubuh dapat memicu kondisi stres oksidatif, yang merupakan salah satu faktor utama penyebab berbagai penyakit degeneratif, seperti penuaan dini, kanker, diabetes melitus, penyakit kardiovaskular, serta gangguan neurodegeneratif seperti Alzheimer dan Parkinson (Hajam *et al.*, 2022). Kondisi ini terjadi akibat ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas yang dihasilkan tubuh dan kemampuan sistem pertahanan antioksidan dalam menetralsirnya. Radikal bebas, terutama *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan *Reactive Nitrogen Species* (RNS), merupakan molekul reaktif yang dapat merusak komponen sel seperti lipid, protein, dan DNA melalui proses oksidasi (Jomova *et al.*, 2023). Oleh karena itu, diperlukan upaya untuk menekan produksi radikal bebas atau

meningkatkan sistem pertahanan antioksidan tubuh guna mencegah kerusakan seluler lebih lanjut.

Antioksidan berperan penting dalam menetralkan radikal bebas dengan cara mendonorkan elektron sehingga menghambat reaksi oksidasi (M and Kurniawan, 2023). Saat ini, penggunaan antioksidan alami dari bahan alam semakin diminati karena dinilai lebih aman dibandingkan dengan antioksidan sintetis yang berpotensi menimbulkan efek toksik. Salah satu kelompok senyawa alami yang memiliki kemampuan antioksidan tinggi adalah flavonoid, yang banyak ditemukan dalam tanaman obat. Indonesia, sebagai negara tropis dengan keanekaragaman hayati yang tinggi, memiliki potensi besar untuk pengembangan bahan alam sebagai sumber antioksidan alami.

Dua tanaman yang dikenal memiliki aktivitas antioksidan tinggi adalah daun kersen (*Muntingia calabura* L.) dan daun iler (*Coleus scutellarioides* (L.) Benth). Daun kersen memiliki kandungan flavonoid yang dominan dan menunjukkan aktivitas antioksidan kuat dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 43,29  $\mu\text{g/mL}$  (Putri & Najib, 2022), sedangkan daun iler memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 3,70  $\mu\text{g/mL}$  (M and Kurniawan, 2023). Meskipun masing-masing ekstrak menunjukkan aktivitas antioksidan yang baik, efektivitas senyawa bioaktif sering kali dibatasi oleh stabilitas dan bioavailabilitasnya. Oleh karena itu, kombinasi ekstrak tanaman menjadi alternatif yang menjanjikan karena dapat menimbulkan efek sinergis, meningkatkan kapasitas antioksidan, serta menurunkan dosis penggunaan tanpa menimbulkan efek samping yang berarti.

Beberapa penelitian sebelumnya juga menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak tanaman dapat meningkatkan efektivitas antioksidan melalui sinergisme antar senyawa aktif. Kombinasi ekstrak jahe merah dan bunga telang, misalnya, terbukti menghasilkan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak tunggalnya (Jauharotus *et al.*, 2023). Penelitian Sarastri *et al.* (2023) melaporkan bahwa kombinasi ekstrak etanol jahe dan daun jeruk purut menghasilkan aktivitas antioksidan tertinggi pada perbandingan 3:1, dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar  $69,545 \pm 0,167 \mu\text{g/mL}$ . Selain itu, penelitian oleh Samodra *et al.*, (2023) menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak etanol daun kersen dan daun kelor pada perbandingan 2:1 memberikan aktivitas antioksidan paling tinggi dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 6,35  $\mu\text{g/mL}$ , yang lebih rendah dibandingkan dengan ekstrak tunggal masing-masing tanaman. Temuan-temuan tersebut memperkuat dugaan bahwa kombinasi ekstrak tanaman

berpotensi meningkatkan aktivitas antioksidan melalui interaksi sinergis antarsenyawa bioaktif.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak etanol daun kersen dan daun iler menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai potensi sinergisme antarsenyawa bioaktif dalam kombinasi ekstrak tanaman serta menentukan perbandingan terbaik yang menghasilkan aktivitas antioksidan paling tinggi. Penelitian ini didasarkan pada konsep stres oksidatif dan mekanisme kerja antioksidan, khususnya flavonoid sebagai senyawa fenolik yang berperan dalam menangkal radikal bebas. Selain itu, metode DPPH digunakan untuk mengukur kemampuan suatu senyawa dalam mereduksi radikal bebas berdasarkan nilai  $IC_{50}$  yang diperoleh.

## **METODE PELAKSANAAN**

### ***Alat dan Bahan***

Daun iler dan daun kersen yang digunakan untuk ekstraksi dibeli dari pasar tradisional dan diidentifikasi di Laboratorium UPT Universitas Setia Budi dengan nomor identifikasi daun iler (*Coleus scutellarioides* (L.) Benth.) 196/DET/UPT-LAB/21.08.2025 dan daun kersen (*Muntingia calabura* L.) 195/DET/UPT-LAB/21.08.2025. Bahan kimia yang digunakan meliputi etanol 96%, air suling, reagen DPPH (Sigma-Aldrich®), bubuk vitamin C (Merck®), pelat silika gel GF254, serbuk Mg, HCl 1 N, FeCl<sub>3</sub> 5%, dan pereaksi Dragendorff. Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah spektrofotometer UV-Vis Shimadzu UV-1280, *rotary evaporator*, dan alat-alat gelas.

### ***Ekstraksi Sampel***

Daun kersen (*Muntingia calabura* L.) dan daun iler (*Coleus scutellarioides* (L.) Benth) masing-masing sebanyak 350 g disortasi basah untuk memisahkan kotoran dan bagian tanaman yang tidak diinginkan. Sampel kemudian dicuci menggunakan air mengalir hingga bersih, ditiriskan, dan dirajang hingga ukuran lebih kecil. Selanjutnya, sampel ditimbang untuk memperoleh bobot basah, kemudian dikeringkan menggunakan oven pada suhu 40–50°C hingga mencapai kondisi kering yang ditandai dengan tekstur yang rapuh. Sampel kering kemudian digiling dan diayak menggunakan ayakan 40 mesh sehingga diperoleh serbuk simplisia.

Sebanyak 100 g serbuk simplisia daun kersen dan 100 g serbuk simplisia daun iler masing-masing diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 96% sebagai pelarut. Proses maserasi dilakukan dengan merendam serbuk simplisia dalam 500 mL etanol 96% (rasio 1:5 b/v) selama 5 hari pada suhu ruang serta terlindung dari cahaya, disertai pengadukan secara berkala setiap hari. Setelah 3 hari, campuran disaring untuk memperoleh filtrat pertama, sedangkan residu dimaserasi kembali menggunakan 500 mL etanol 96% selama 2 hari sehingga diperoleh filtrat kedua. Filtrat pertama dan filtrat kedua kemudian digabungkan dan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental (Saerang *et al.*, 2023).

### ***Skrining Fitokimia***

#### *Uji Alkaloid*

Sebanyak 1 g ekstrak ditambahkan ke 1 mL HCl 1 N dan 9 mL akuades, kemudian dipanaskan menggunakan penangas air selama 2 menit. Campuran didinginkan dan disaring untuk memperoleh filtrat. Filtrat yang diperoleh ditambahkan 5 tetes pereaksi Dragendorff. Terbentuknya endapan berwarna jingga hingga merah menunjukkan adanya senyawa alkaloid dalam sampel (Mulyani *et al.*, 2023).

#### *Uji Flavonoid*

Sebanyak 1 g ekstrak ditambahkan 0,5 g serbuk magnesium (Mg) dan 10 tetes HCl 1 N. Terbentuknya warna kuning, jingga, atau merah menunjukkan adanya senyawa flavonoid dalam sampel (Samodra *et al.*, 2023).

#### *Uji Saponin*

Sebanyak 1 g ekstrak ditambahkan 10 mL air panas, kemudian dikocok kuat selama 10 detik. Sampel selanjutnya didiamkan dan diamati pembentukan buih yang stabil. Terbentuknya busa atau buih yang tidak hilang setelah penambahan 2 tetes HCl 2 N menunjukkan adanya senyawa saponin dalam sampel (Retnowati and Setyani, 2021).

#### *Uji Tanin*

Sebanyak 1 g ekstrak ditambahkan 1 mL larutan FeCl<sub>3</sub> 5%. Terbentuknya warna hijau kehitaman atau biru kehitaman menunjukkan adanya senyawa tanin dalam sampel (Retnowati and Setyani, 2021).

### ***Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH***

Larutan DPPH 100 µg/mL dibuat dengan melarutkan 10,0 mg DPPH dalam etanol 96% hingga volume 100 mL, kemudian diencerkan hingga diperoleh larutan DPPH 40 µg/mL. Panjang gelombang maksimum ditentukan dengan mengukur absorbansi campuran 2 mL larutan DPPH 40 µg/mL dan 2 mL etanol 96% pada rentang panjang gelombang 400–800 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Operating time ditentukan dengan mengamati perubahan absorbansi campuran sampel dan DPPH pada panjang gelombang maksimum hingga diperoleh nilai absorbansi yang stabil.

Larutan stok ekstrak daun kersen dan daun iler dibuat dengan melarutkan masing-masing 20 mg ekstrak dalam etanol 96% hingga volume 100 mL sehingga diperoleh konsentrasi 200 µg/mL. Larutan stok kemudian diencerkan untuk menghasilkan seri konsentrasi 10, 20, 40, dan 60 µg/mL. Larutan kombinasi ekstrak dibuat pada perbandingan daun kersen dan daun iler sebesar 1:2, 1:1, dan 2:1, kemudian diencerkan hingga diperoleh seri konsentrasi 10, 14, 18, dan 22 µg/mL. Sebagai kontrol positif digunakan vitamin C yang dibuat dalam konsentrasi 8, 10, 12, dan 14 µg/mL. Larutan kontrol negatif dibuat dengan mencampurkan 3 mL larutan DPPH 40 µg/mL dan 1,5 mL etanol 96%.

Pengujian dilakukan dengan mencampurkan 1,5 mL larutan sampel atau vitamin C dengan 3 mL larutan DPPH 40 µg/mL, kemudian dihomogenkan dan diinkubasi pada suhu ruang selama *operating time* yang telah ditentukan. Absorbansi campuran diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum DPPH. Aktivitas antioksidan dinyatakan sebagai persentase inhibisi yang dihitung berdasarkan perbandingan absorbansi sampel terhadap kontrol negatif. Nilai IC<sub>50</sub> ditentukan melalui analisis regresi linier antara konsentrasi sampel dan persentase inhibisi, yaitu konsentrasi yang mampu menghambat 50% radikal DPPH. Data yang diperoleh dianalisis secara statistik menggunakan uji ANOVA untuk mengetahui perbedaan aktivitas antioksidan antara ekstrak tunggal dan kombinasi ekstrak.

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Hasil determinasi membuktikan sampel daun kersen teridentifikasi sebagai *Muntingia calabura* L. dan sampel daun iler teridentifikasi sebagai *Coleus scutellarioides* (Linn.) Benth. Hasil uji susut pengeringan menunjukkan bahwa masing-masing simplisia

telah memenuhi standar mutu yang dipersyaratkan, yaitu 9,63% untuk daun kersen dan 9,26% untuk daun iler. Setelah proses ekstraksi, diperoleh rendemen kersen dan daun iler masing-masing adalah 14,633% dan 5,321%. Berdasarkan hasil tersebut, rendemen ekstrak daun iler tergolong kurang baik karena nilai rendemen  $<10\%$  menunjukkan sedikitnya komponen bioaktif yang terekstraksi (Senduk *et al.*, 2020).

Hasil uji fitokimia (Tabel 1) menunjukkan bahwa ekstrak daun kersen dan daun iler mengandung senyawa aktif yang sama. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa ekstrak daun kersen mengandung senyawa flavonoid, tanin, dan saponin (Samodra *et al.*, 2023) dan daun iler mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin (Novanti and Susilawati, 2017). Namun, kedua ekstrak tersebut tidak menunjukkan adanya senyawa alkaloid.

**Tabel 1.** Hasil Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Kersen dan Daun Iler

| Identifikasi           | Indikator positif                              | Hasil      |             |           |
|------------------------|------------------------------------------------|------------|-------------|-----------|
|                        |                                                | Pembanding | Daun kersen | Daun iler |
| Alkaloid <sup>a</sup>  | Terbentuknya endapan warna merah hingga jingga | +          | -           | -         |
| Flavonoid <sup>b</sup> | Perubahan warna merah, kuning, atau jingga     | +          | +           | +         |
| Tanin <sup>c</sup>     | Perubahan warna hitam kehijauan                | +          | +           | +         |
| Saponin <sup>*</sup>   | Terbentuknya busa yang stabil selama 7 menit   | N/A        | +           | +         |

<sup>a</sup> pembanding kafein

<sup>b</sup> pembanding kuersetin

<sup>c</sup> pembanding asam galat

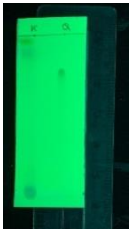
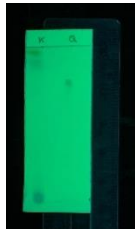
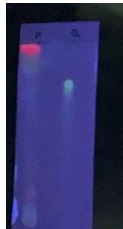
<sup>\*</sup> tidak dilakukan uji saponin pembanding karena tidak menggunakan reagen

Senyawa kimia golongan alkaloid ditentukan dengan melihat ada atau tidaknya endapan yang terbentuk setelah pemberian reagen Dragendorff. Hasil positif pada uji Dragendorff ditandai dengan terbentuknya endapan cokelat muda hingga kuning. Endapan tersebut adalah kalium alkaloid. Reaksi ini terjadi karena atom nitrogen (N) dalam struktur alkaloid memiliki pasangan elektron bebas yang dapat berikatan dengan ion logam ( $K^+$ ) dari pereaksi Dragendorff. Ikatan tersebut membentuk kompleks yang tidak larut, sehingga menghasilkan endapan berwarna khas. Dengan demikian, terbentuknya endapan kuning

sampai coklat muda menjadi tanda bahwa sampel mengandung senyawa alkaloid (Adhariani *et al.*, 2018).

Uji kualitatif menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) dilakukan untuk menegaskan keberadaan senyawa flavonoid dalam ekstrak etanol daun kersen dan daun iler. Metode ini bertujuan untuk mengamati pola kromatogram dari komponen senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak etanol 96% kedua jenis daun tersebut. Fase diam yang digunakan berupa plat KLT silika gel GF254, yang diaktivasi terlebih dahulu dalam oven pada suhu 110°C selama 30 menit guna menghilangkan kelembapan pada plat. Proses aktivasi ini dilakukan untuk meminimalkan kandungan air sehingga daya serap pelat mencapai kondisi optimal (Ayu Andira *et al.*, 2025). Sementara itu, fase gerak yang digunakan adalah campuran n-butanol, asam asetat, dan air dengan perbandingan 4:1:5. Reagen semprot yang digunakan adalah sitroborat. Hasil pemisahan senyawa melalui metode KLT tersebut disajikan pada Tabel 2 dan Tabel 3. Hasil ini menegaskan bahwa ekstrak daun kersen dan daun iler mengandung senyawa flavonoid.

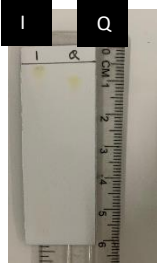
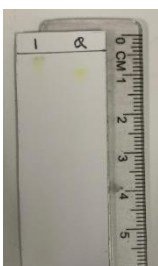
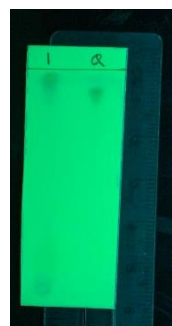
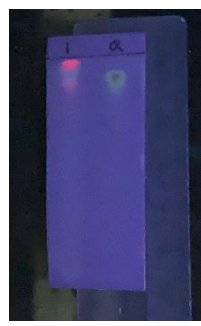
**Tabel 2.** Hasil uji penegasan flavonoid ekstrak daun kersen dengan metode KLT

| Sinar Tampak                                                                        |                                                                                     | UV 254                                                                              |                                                                                     | UV 366                                                                                |                                                                                       |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| K                                                                                   | Q                                                                                   |                                                                                     |                                                                                     |                                                                                       |                                                                                       |
|  |  |  |  |  |  |
| Sebelum reagen                                                                      | Sesudah reagen sitroborat                                                           | Sebelum reagen                                                                      | Sesudah reagen sitroborat                                                           | Sebelum reagen                                                                        | Sesudah reagen sitroborat                                                             |

K : bercak sampel ekstrak daun kersen (sisi kiri)

Q : bercak pembanding quercetin (sisi kanan)

**Tabel 3.** Hasil uji penegasan flavonoid ekstrak daun iler dengan metode KLT

| Sinar Tampak                                                                                                                                                                                                               | UV 254                                                                                                                                                                                                                     | UV 366                                                                                                                                                                                                                         |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  <p>Sebelum reagen</p>  <p>Sesudah reagen sitroborat</p> |  <p>Sebelum reagen</p>  <p>Sesudah reagen sitroborat</p> |  <p>Sebelum reagen</p>  <p>Sesudah reagen sitroborat</p> |

I : bercak sampel ekstrak daun iler (sisi kiri)  
Q : bercak pembanding quercetin (sisi kanan)

Pada sinar tampak bercak tidak menunjukkan warna khas, namun setelah penambahan reagen sitroborat muncul noda kuning kehijauan yang menandakan adanya flavonoid. Hasil ini sesuai dengan pernyataan bahwa ketika lempeng disemprot dengan reagen sitroborat, perubahan warna menjadi kuning menunjukkan adanya senyawa flavonoid (Mustaqimah, 2023). Di bawah sinar UV 254 nm, terlihat bercak gelap yang semakin jelas setelah disemprot reagen, menunjukkan interaksi positif antara flavonoid dan sitroborat. Pada UV 366 nm, muncul fluoresensi kuning kehijauan khas senyawa flavonoid, khususnya golongan flavonol dan flavon, yang membentuk kompleks dengan ion borat.

Sebelum pengujian aktivitas antioksidan dilakukan, terlebih dahulu dilakukan optimasi kondisi pengukuran yang meliputi penentuan panjang gelombang maksimum ( $\lambda_{maks}$ ) dan *operating time* (OT) larutan DPPH. Hasil pengukuran menunjukkan bahwa larutan DPPH memiliki panjang gelombang maksimum pada 517 nm dengan absorbansi kontrol sebesar 0,915. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa panjang gelombang maksimum DPPH berada pada kisaran 515–520 nm (Sayuti and Yenrina, 2015). Kesesuaian panjang gelombang yang diperoleh menunjukkan bahwa larutan DPPH yang digunakan berada dalam kondisi baik dan layak digunakan untuk pengujian aktivitas antioksidan.

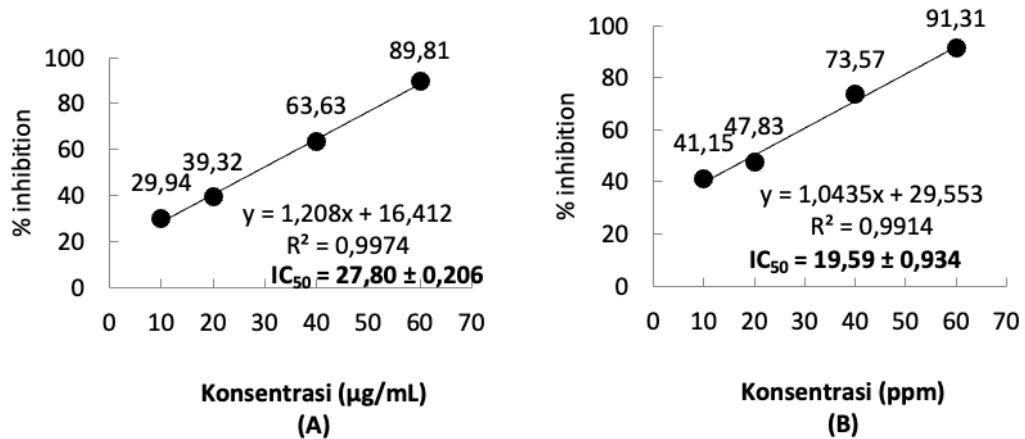
Selain penentuan panjang gelombang maksimum, dilakukan pula penentuan *operating time* untuk mengetahui waktu optimum yang dibutuhkan hingga reaksi antara

antioksidan dan DPPH mencapai kondisi stabil. Penentuan operating time dilakukan menggunakan vitamin C sebagai kontrol positif dengan pengukuran absorbansi setiap satu menit selama 30 menit pada panjang gelombang 517 nm. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa absorbansi mulai stabil pada menit ke-22 hingga menit ke-24 dengan nilai absorbansi sebesar 0,536. Waktu tersebut menunjukkan bahwa proses transfer atom hidrogen atau elektron dari antioksidan ke radikal DPPH telah berlangsung secara optimum. Hasil ini sejalan dengan penelitian Agustiarini and Wijaya (2022) yang melaporkan bahwa kestabilan reaksi DPPH umumnya dicapai pada rentang waktu 20–25 menit.

Vitamin C digunakan sebagai kontrol positif untuk memvalidasi metode pengujian karena memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dan umum digunakan sebagai senyawa pembanding pada metode DPPH. Hubungan antara konsentrasi vitamin C dan persentase inhibisi menunjukkan linearitas yang sangat baik dengan persamaan regresi  $y = 6,1447x + 0,0375$  dan nilai  $R^2$  sebesar 0,9996. Berdasarkan persamaan tersebut diperoleh nilai  $IC_{50}$  vitamin C sebesar  $8,13 \pm 0,11 \mu\text{g/mL}$  yang termasuk kategori antioksidan sangat kuat. Nilai ini tidak berbeda jauh dengan hasil penelitian sebelumnya yang melaporkan nilai  $IC_{50}$  vitamin C sebesar  $8,81 \mu\text{g/mL}$  kuat (Wahid *et al.*, 2017). Hasil tersebut mengindikasikan bahwa metode pengujian yang digunakan telah berjalan dengan baik dan reagen DPPH masih memiliki aktivitas yang optimal, sehingga layak digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan ekstrak daun kersen, daun iler, maupun kombinasi keduanya.

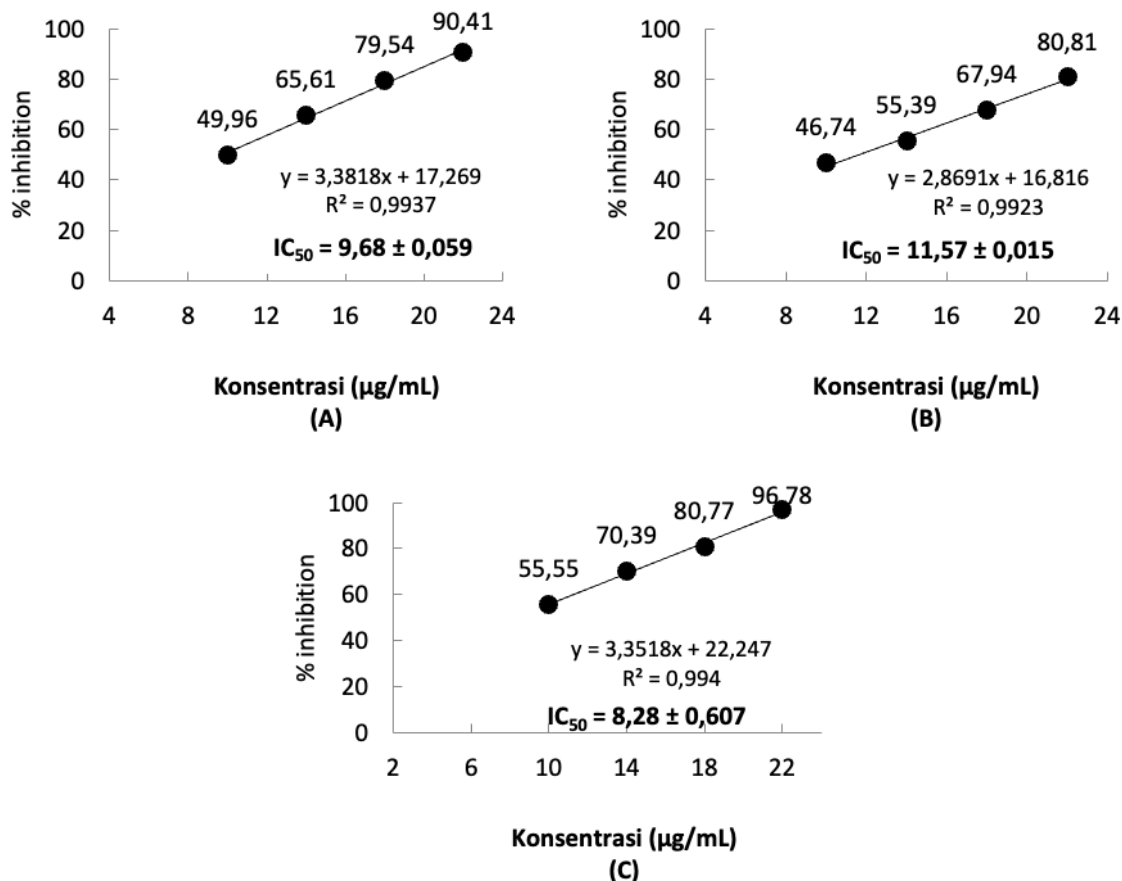
Uji aktivitas antioksidan sampel dilakukan terhadap bentuk tunggal dan kombinasi. Pengujian ekstrak tunggal bertujuan untuk mengetahui kemampuan antioksidan masing-masing tanaman secara individual sebelum dilakukan kombinasi ekstrak. Hasil pengukuran menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak menyebabkan penurunan nilai absorbansi dan peningkatan persentase inhibisi terhadap radikal DPPH. Fenomena ini menunjukkan bahwa senyawa aktif yang terkandung dalam masing-masing ekstrak mampu mendonorkan atom hidrogen atau elektron sehingga mereduksi radikal DPPH menjadi bentuk yang lebih stabil. Berdasarkan analisis regresi linier (Gambar 1), ekstrak etanol daun kersen dan daun iler memiliki nilai  $IC_{50}$  berturut-turut sebesar  $27,80 \pm 0,206 \mu\text{g/mL}$  dan  $19,59 \pm 0,934 \mu\text{g/mL}$ . Kedua nilai tersebut termasuk dalam kategori antioksidan sangat kuat karena berada di bawah  $50 \mu\text{g/mL}$ . Meskipun demikian, ekstrak daun iler menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak daun

kersen, yang ditunjukkan oleh nilai  $IC_{50}$  yang lebih rendah. Perbedaan aktivitas tersebut diduga berkaitan dengan variasi kandungan senyawa fenolik dan flavonoid pada masing-masing tanaman yang berkontribusi terhadap kemampuan penangkapan radikal bebas.



**Gambar 1.** Grafik aktivitas antioksidan ekstrak tunggal daun kersen (A) dan Grafik aktivitas antioksidan ekstrak tunggal daun iler (B)

Pengujian terhadap kombinasi ekstrak daun kersen dan daun iler menunjukkan bahwa seluruh variasi kombinasi memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak tunggal. Nilai  $IC_{50}$  yang diperoleh untuk kombinasi 1:1, 2:1, dan 1:2 berturut-turut sebesar  $9,68 \pm 0,059 \mu\text{g/mL}$ ;  $11,57 \pm 0,015 \mu\text{g/mL}$ ; dan  $8,28 \pm 0,607 \mu\text{g/mL}$  (Gambar 2). Nilai tersebut jauh lebih rendah dibandingkan dengan ekstrak daun kersen maupun daun iler secara tunggal, yang menunjukkan adanya peningkatan kemampuan penghambatan radikal bebas setelah kedua ekstrak dikombinasikan. Kombinasi dengan perbandingan 1:2 menghasilkan nilai  $IC_{50}$  terendah sehingga memiliki aktivitas antioksidan paling kuat di antara seluruh perlakuan. Hasil ini mengindikasikan bahwa penambahan proporsi daun iler yang lebih tinggi dalam kombinasi mampu meningkatkan efektivitas penangkapan radikal bebas. Peningkatan aktivitas antioksidan tersebut diduga berasal dari interaksi sinergis antara berbagai senyawa bioaktif, terutama flavonoid dan polifenol, yang bekerja melalui mekanisme antioksidan yang saling melengkapi (Sharma *et al.*, 2021; Septiawan *et al.*, 2021).



**Gambar 2.** Grafik aktivitas antioksidan ekstrak kombinasi 1:1 (A), grafik aktivitas antioksidan kombinasi 2:1 (B) dan grafik aktivitas antioksidan kombinasi 1:2 (C)

Efek sinergis yang dihasilkan menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak daun kersen dan daun iler berpotensi memberikan aktivitas biologis yang lebih baik dibandingkan penggunaan ekstrak tunggal. Keragaman metabolit sekunder yang terkandung dalam kedua tanaman memungkinkan terjadinya interaksi antar senyawa yang dapat memperkuat kemampuan dalam mendonorkan elektron maupun atom hidrogen untuk menetralkan radikal bebas. Selain itu, perbedaan struktur kimia dan polaritas senyawa aktif dapat memperluas spektrum aktivitas antioksidan sehingga menghasilkan efek penghambatan oksidasi yang lebih optimal. Temuan ini mendukung konsep penggunaan kombinasi bahan alam sebagai strategi untuk meningkatkan efektivitas aktivitas farmakologis. Namun demikian, efek sinergis sangat dipengaruhi oleh komposisi dan konsentrasi ekstrak yang digunakan karena pada konsentrasi tertentu senyawa antioksidan dapat menunjukkan aktivitas prooksidan. Oleh karena itu, rasio kombinasi 1:2 berpotensi dikembangkan lebih lanjut sebagai kandidat sumber antioksidan alami untuk aplikasi farmasi maupun pangan fungsional.

Analisis statistik terhadap nilai  $IC_{50}$  dilakukan untuk mengetahui signifikansi perbedaan aktivitas antioksidan antar kelompok perlakuan. Uji normalitas Shapiro–Wilk menunjukkan bahwa beberapa kelompok memiliki nilai signifikansi  $p < 0,05$  sehingga data tidak berdistribusi normal. Meskipun demikian, hasil uji homogenitas menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,058 ( $p > 0,05$ ), yang mengindikasikan bahwa varians antar kelompok bersifat homogen. Analisis One-Way ANOVA menghasilkan nilai signifikansi sebesar 0,000 ( $p < 0,05$ ), sedangkan uji Kruskal–Wallis sebagai konfirmasi untuk data yang tidak normal memberikan nilai signifikansi sebesar 0,009 ( $p < 0,05$ ). Hasil tersebut menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada aktivitas antioksidan antara ekstrak tunggal dan kombinasi ekstrak. Secara khusus, kombinasi ekstrak daun kersen dan daun iler dengan perbandingan 1:2 menghasilkan nilai  $IC_{50}$  terendah, yaitu  $8,28 \pm 0,607 \mu\text{g/mL}$ , sehingga dapat dinyatakan sebagai perlakuan dengan aktivitas antioksidan paling kuat. Temuan ini memperkuat dugaan adanya efek sinergis antara senyawa bioaktif kedua ekstrak yang berkontribusi terhadap peningkatan aktivitas antioksidan secara signifikan dibandingkan dengan penggunaan ekstrak tunggal.

## **KESIMPULAN**

Ekstrak tunggal daun kersen dan daun iler serta kombinasi ekstrak daun kersen dan daun iler pada perbandingan (1:1), (2:1) dan (1:1) memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai  $IC_{50}$  masing masing adalah  $27,80 \pm 0,206 \mu\text{g/mL}$ ;  $19,59 \pm 0,934 \mu\text{g/mL}$ ;  $9,68 \pm 0,059 \mu\text{g/mL}$ ;  $11,57 \pm 0,015 \mu\text{g/mL}$ ; dan  $8,28 \pm 0,607 \mu\text{g/mL}$ . Kombinasi ekstrak etanol daun kersen dan daun iler mampu meningkatkan aktivitas antioksidan dari ekstrak tunggal daun kersen dan daun iler. Kombinasi ekstrak etanol daun kersen dan daun iler (1:2) memiliki aktivitas antioksidan yang paling kuat karena nilai  $IC_{50}$  sebesar  $8,26 \pm 0,607 \mu\text{g/mL}$ .

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Universitas Muhammadiyah Surakarta yang telah mendanai kegiatan ini melalui Pengembangan Individual Dosen (PID).

## DAFTAR PUSTAKA

- Adhariani M., Maslahat M. and Sutamihardja R., 2018, Kandungan Fitokimia Dan Senyawa Kation Pada Daun Khat Merah (*Catha edulis*), *Sains Natural: Journal of Biology and Chemistry*, 8 (1), 35–42.
- Agustiarini V. and Wijaya P., 2022, Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol-air (1:1) bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), *Jurnal Penelitian Sain*, 24 (April), 29–32.
- Ayu Andira, Jufri Ubrusun and Faizal Mustamin, 2025, Identifikasi Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol 96% Cacing Tambelo (*Bactronophorus Thoracites*) Menggunakan Metode KLT, *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product*, 8 (01), 1–6.
- Hajam Y.A., Rani R., Ganie S.Y., Sheikh T.A., Javaid D., Qadri S.S., Pramodh S., Alsulimani A., Alkhanani M.F., Harakeh S., Hussain A., Haque S. and Reshi M.S., 2022, Oxidative Stress in Human Pathology and Aging: Molecular Mechanisms and Perspectives, *Cells*, 11 (3)
- Jauharotus D.S., Vifta R.L. and Susmayanti W., 2023, Potensi Antioksidan Kombinasi Ekstrak Jahe Merah (*Zingiber officinale* var *Rubrum*) dan Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) dengan Metode DPPH, *Windi Susmayanti Journal of Holistics and Health Sciences*, 5 (2), 385–394.
- Jomova K., Raptova R., Alomar S.Y., Alwasel S.H., Nepovimova E., Kuca K. and Valko M., 2023, *Reactive Oxygen Species, Toxicity, Oxidative Stress, and Antioxidants: Chronic Diseases and Aging*, Springer Berlin Heidelberg. Terdapat di: <https://doi.org/10.1007/s00204-023-03562-9>.
- M Y.S. and Kurniawan A., 2023, Uji Aktivitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Flavonoid Total pada Ekstrak Etanol Daun Iler (*Coleus scutellarioides* (L.) Benth.), *Jurnal Farmasi dan Farmakoinformatika*, 1 (1), 60–75.
- Mulyani F., Rahayu Y.P., Daulay A.S. and Nasution H.M., 2023, Phytochemical Screening and Antioxidant Activity Test of Ethanol Extract of Casturi Mango Leaves (*Mangifera casturi* Koesterm.) from Drien Bungong village, Pidie Jaya, Using The DPPH Method, *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, (1), 49–63.
- Mustaqimah, 2023, Identifikasi Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Karinat Dengan Metode KLT, *Sains Medisina*, 1 (1), 169–171.
- Novanti H. and Susilawati Y., 2017, Review: Aktivitas Farmakologi Daun Iler (*Plectranthus scutellarioides* (L.) R.Br.), *Farmaka*, 15 (1), 146–152.
- Putri C.D.I. and Najib S.Z., 2022, Uji Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Pada Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) Di Bangkalan Chintya, *Journal Pharmaceutical and Herbal Medicine*, 1 (2), 66–71.

- Retnowati E. and Setyani N.I., 2021, Effectiveness Test Of Red Spain (*Amaranthus Tricolor L.*) Ethanol Extract On Healing Incision In White Male Rats, *Proceeding of The ...*, 225–234. Terdapat di: <http://repository.urecol.org/index.php/proceeding/article/view/1579%0Ahttp://repository.urecol.org/index.php/proceeding/article/download/1579/1544>.
- Saerang M.F., Edy H.J. and Siampa J.P., 2023, Formulation Of Cream With Ethanol Extract Of Green Gedi Leaf ( *Abelmoschus manihot L .* ) Against *Propionibacterium acnes* Formulasi Sediaan Krim Dengan Ekstrak Etanol Daun Gedi Hijau ( *Abelmoschus manihot L .* ) Terhadap *Propionibacterium acnes*, *Pharmakon: Jurnal Farmasi Indonesia*, 12, 350–357.
- Samodra G., Alfathani N.F. and Octaviani P., 2023, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kombinasi Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) dan Daun Kelor (*Moringa oleifera L*) dengan Metode DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl), *Pharmakon: Jurnal Farmasi Indonesia*, 20 (1), 19–26.
- Sarasri D., Rohana E. and Saraswati I., 2023, Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Etanol Jahe (*Zingiber officinale Roscoe.*) dan Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix Dc.*), *Generics: Journal of Research in Pharmacy*, 3 (1), 45–54.
- Sayuti K. and Yenrina R., 2015, *Antioksidan Alami dan Sintetik*, Andalas University Press, Padang.
- Senduk T.W., Montolalu L.A.D.Y. and Dotulong V., 2020, The rendement of boiled water extract of mature leaves of mangrove *Sonneratia alba*, *Jurnal Perikanan dan Kelautan Tropis*, 11 (1), 9–15.
- Septiawan A.N., Emelda E. and Husein S., 2021, Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Etanol Lidah Buaya (*Aloe vera L.*) dan Ganggang Hijau (*Ulva lactuca L.*), *INPHARMED Journal (Indonesian Pharmacy and Natural Medicine Journal)*, 4 (1), 11.
- Sharma K., Guleria S., Vyas D. and Bhat M., 2021, In Vitro Synergistic Antioxidant Activity of Binary Combinations of Plant Extracts and Synthetic Compounds, *Indian Journal of Agricultural Biochemistry*, 34 (1), 50–60.
- Wahid A., Diah M. and Rama M., 2017, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air Dan Ekstrak Etanol Daun Kelor ( *Moringa Oleifera Lam* ) Antioxidant Activity Tests Of Water And Ethanol Extracts Of *Moringa ( Moringa Oleifera Lam )* Leaves, *Jurnal. Akad. Kim*, 6 (May), 125–131.

