

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman telah dilaksanakan di Laboratorium Pembelajaran Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Terapan, Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta. Hasil identifikasi mengungkapkan bahwa daun mangga yang digunakan dalam penelitian ini adalah spesies *Mangifera indica* L. var. *Arumanis* (lihat **Lampiran 1**).

2. Persiapan sampel

Daun mangga yang diperoleh dilakukan sortasi basah, dikeringkan, sortasi kering dan penyerbukan. Sehingga didapatkan hasil pada **Tabel 3**.

Tabel 3. Hasil Serbuk Daun Mangga Arumanis

Berat daun segar (kg)	Berat serbuk (g)
4	506,6

3. Ekstraksi daun mangga Arumanis

Penelitian ini memakai metode maserasi dan soxhletasi. Etanol 70% digunakan sebagai pelarut dengan perbandingan masing masing 1:10 b/v. Hasil ekstrak dapat dilihat pada **Tabel 4** yang digunakan untuk menghitung persen rendemen pada **Tabel 6**.

Tabel 4. Hasil Ekstrak Kental Daun Mangga Arumanis

Metode	Ekstrak kental(g)
Maserasi	28,05
Soxhletasi	9,64

4. Kadar air

Ekstrak daun mangga kemudian di uji kadar air menggunakan *moisture balance* diperoleh kadar air seperti pada **Tabel 5**.

Tabel 5. Hasil Uji Kadar Air Ekstrak Daun Mangga Arumanis

Metode	% Kadar air
Maserasi	1,29%
Soxhletasi	1,45%

5. Kontrol kualitas ekstrak daun mangga arumanis

a. Nilai rendemen

Ekstrak yang didapat dari kedua metode kemudian dihitung rendemennya dan diperoleh nilai rendemen seperti pada **Tabel 6**.

Tabel 6. Hasil Rendemen Ekstrak Kental Daun Mangga Arumanis

Metode	Berat sampel (g)	Berat ekstrak (g)	Rendemen (%b/b)	Subaryanti <i>et al.</i> , (2022)
Maserasi	200	28,05	14,025	≥10%
Soxhletasi	40	9,64	24,1	

b. Hasil uji organoleptik

Ekstrak kental daun mangga arumanis kemudian di uji organoleptik. Berdasarkan hasil uji organoleptik, ekstrak etanol daun mangga memiliki spesifikasi seperti pada **Tabel 7**.

Tabel 7. Hasil Uji Organoleptik

Identifikasi	Hasil		(Rahmiyani & Nurdianti, 2016)
	Metode maserasi	Metode soxhletasi	
Tekstur	Ekstrak kental	Ekstrak kental	Ekstrak kental
Bau	Khas	Khas	Tidak berbau
Warna	Hijau kecoklatan	Hijau pekat	Hijau

c. Hasil skrining fitokimia

Uji fitokimia dilaksanakan untuk mengidentifikasi serta menganalisis berbagai jenis metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak daun mangga arumanis. Berikut adalah hasil uji fitokimia ekstrak daun mangga arumanis dapat dilihat pada **Tabel 8**.

Tabel 8. Hasil Uji Fitokimia

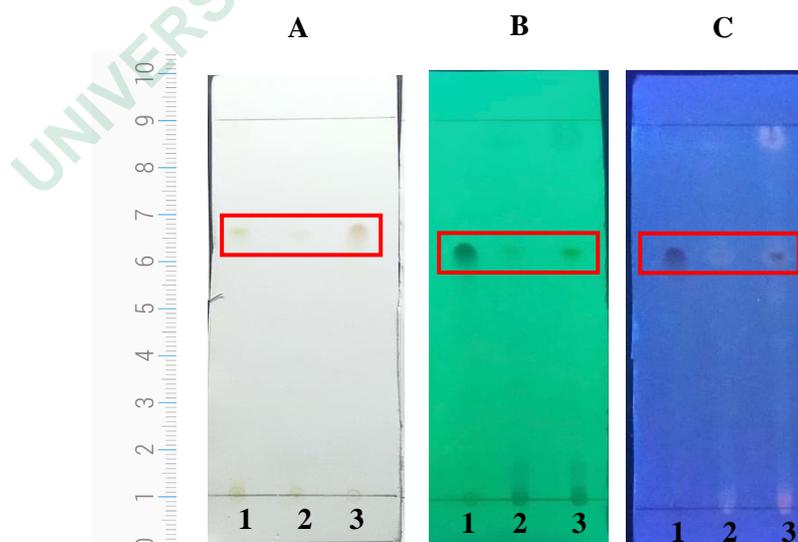
Senyawa	Hasil		Aiyuba <i>et al.</i> , (2023)	Keterangan	
	Soxhletasi	Maserasi		Soxhletasi	Maserasi
Alkaloid a. Mayer	a. Endapan kuning	a. Endapan kuning	a. Endapan putih atau kekuningan	+	+
b. Wagner	b. Endapan coklat	b. Endapan coklat	b. Endapan coklat	+	+
c. Dragondorf	c. Endapan kuning	c. Endapan coklat	c. Endapan coklat kuning, jingga	+	+

Senyawa	Hasil		Aiyuba <i>et al.</i> , (2023)	Keterangan	
	Soxhletasi	Maserasi		Soxhletasi	Maserasi
Saponin	Busa setinggi 3cm	Busa setinggi 2 cm	Buih setinggi 1-10 cm	+	+
Flavonoid	Jingga	Merah	Merah, kuning atau jingga	+	+
Tanin	Endapan putih kekuningan	Endapan putih kekuningan	Endapan putih kekuningan	+	+
Steroid/terpenoid	Hijau	Merah	Merah atau ungu dan biru atau hijau	+	+

6. KLT untuk Pengujian Flavonoid

Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) digunakan untuk mengidentifikasi senyawa flavonoid pada kedua metode. Kuersetin berfungsi sebagai standar pembanding. Fase diam yang digunakan adalah silika gel F254 dan fase gerak yang digunakan yaitu n-Butanol, asam asetat glasial, dan air 4:1:5, dengan total volume 10 mL.

Plat KLT yang sudah diberi perlakuan kemudian dibaca pada sinar tampak, uv 254 nm dan 365 nm. Bercak yang terlihat kemudian dihitung nilai Rf seperti pada **Tabel 8** dan nilai Rf dapat dilihat pada **Tabel 9**.



Gambar 7. Hasil Uji KLT Sampel Dibandingkan dengan Standar Kuersetin

Keterangan: 1: standar kuersetin; 2: ekstrak maserasi; 3: ekstrak soxhletasi; A: visualisasi sinar tampak; B: deteksi UV 254 nm; C: deteksi UV 365 nm

Tabel 9. Nilai Rf Ekstrak Maserasi dan Ekstrak Soxhletasi

Sampel	Rf
Kuersetin	0,675
Maserasi	0,662
Soxhletasi	0,662

7. Hasil Pengukuran Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH.

a. Penentuan panjang gelombang maksimum

Scaning dilakukan dalam rentang panjang gelombang antara 400 nm hingga 800 nm. Dari hasil scanning tersebut, diketahui bahwa panjang gelombang maksimum untuk DPPH adalah 516 nm. Untuk informasi lebih rinci mengenai hasil scanning panjang gelombang ini, dapat merujuk pada **Lampiran 8**.

b. Penentuan *operating time*

Penentuan waktu operasional (OT) dilaksanakan untuk mengidentifikasi waktu yang optimal di mana kuersetin dan DPPH dapat bereaksi secara efektif. Hasil dari penentuan OT menunjukkan bahwa nilai absorbansi stabil tercapai pada menit ke-35, yang menandakan bahwa pada waktu tersebut, reaksi antara kuersetin dan DPPH telah mencapai kestabilan yang diinginkan. Detail hasil scanning *operating time* dapat dilihat pada **Lampiran 9**.

c. Uji peredaman radikal bebas

Uji peredaman radikal bebas ekstrak daun mangga arumanais menggunakan kuersetin sebagai pembanding. Hasil uji peredaman radikal bebas dinyatakan dalam persen inhibisi **Lampiran 10**, kemudian diplot terhadap konsentrasi untuk mendapatkan persamaan regresi linear. Hasil ini uji peredaman radikal bebas dapat dilihat pada **Tabel 10**.

Tabel 10. Kategori Antioksidan

Sampel	IC ₅₀ (ppm)	Kategori aktivitas peredaman radikal bebas
Kuersetin	1,87193±0,031	Sangat kuat
Maserasi	15,990±0,15227	Sangat kuat

Sampel	IC ₅₀ (ppm)	Kategori aktivitas peredaman radikal bebas
soxhletasi	18,0086±0,09869	Sangat kuat

d. Analisis data

Dilakukan analisis statistik menggunakan perangkat lunak SPSS versi 26 2019 untuk menguji nilai IC₅₀ dari ekstrak maserasi dan soxhletasi secara statistik. Hasil uji dapat dilihat pada **Tabel 11**.

Tabel 11. Hasil Uji Statistika Aktivitas Antioksidan

Ekstrak	Aktivitas Antioksidan		
	Homogenitas	Normalitas	T-indepenent
Kuersetin	0,104**		-
Ekstak maserasi	0,474**	0,606*	0,000***
Ekstrak soxhletasi	0,510**		

Keterangan: (*) Homogen
 (**) Normal
 (***) Signifikan

B. Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi dampak ekstraksi maserasi dan soxhletasi terhadap peredaman radikal bebas ekstrak etanol daun mangga arumanis (*Mangifera indica* L. var. *Arumanis*). Daun mangga arumanis yang digunakan dalam penelitian diambil di daerah Brajan, Tamantirto, Kasihan, Bantul, Daerah Istimewa Yogyakarta. Penelitian ini dimulai dengan proses determinasi tanaman, yang bertujuan untuk memastikan kebenaran spesies. Proses ini dilaksanakan di Laboratorium Pembelajaran Biologi, yang terletak di Fakultas Sains dan Teknologi Terapan, Universitas Ahmad Dahlan, pada tanggal 6 Mei 2024. Pelaksanaan proses tersebut telah mendapatkan persetujuan dengan Nomor SK: 892/Kpts/TP.240/11/1984. Berdasarkan hasil uji yang tercantum di **Lampiran 2**. Dinyatakan bahwa sampel merupakan (*Mangifera indica* L. var. *Arumanis*).

Daun mangga arumanis dipetik dari daun ke tujuh hingga pangkal daun, warna daun hijau tua (Kardiansyah & Endrawati, 2023). Pengambilan dilakukan pada saat pagi hari pukul 05.00 WIB untuk menghindari fotosintesis sehingga metabolit sekunder yang didapat lebih tinggi (Sosilowati & Sari, 2020). Kemudian

preparasi dengan mencuci daun sebanyak 4 kg memakai air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang melekat dan memastikan kebersihannya. Daun dikering anginkan, disortasi basah lalu keringkan menggunakan oven dengan suhu 50°C hingga kering. Pengeringan bertujuan untuk menurunkan kadar air dan mencegah reaksi enzimatis yang mengakibatkan pembusukan. Penggunaan suhu 50°C karena senyawa flavonoid bersifat termolabil yang artinya tidak tahan terhadap panas yang akan menyebabkan senyawa antioksidan menjadi rusak dan tidak dapat berfungsi sebagai antioksidan. Daun mangga arumanis yang sudah kering disortasi untuk menghilangkan sisa, lalu dihaluskan memakai grinder hingga menjadi serbuk dan diayak dengan ayakan 40 mesh, didapat serbuk sebanyak 506,6 gram. Tujuannya adalah untuk meningkatkan kontak dengan pelarut dan mengecilkan ukuran partikel.

Setelah sampel menjadi serbuk halus kemudian diekstraksi dengan metode maserasi dan soxhletasi. Pertama adalah ekstraksi maserasi. Metode maserasi dipilih karena cocok untuk ekstraksi senyawa yang sensitif terhadap panas, seperti flavonoid, serta dianggap aman dan sederhana dalam pelaksanaannya (Puspitasari & Prayogo, 2017). Proses ekstraksi dilakukan pada tempat gelap serta terlindung dari sinar matahari untuk mencegah kontak antara sampel dan cahaya yang dapat menyebabkan degradasi senyawa antosianin (Siahaan *et al.*, 2014). Sampel yang sudah terendam dengan pelarut diaduk setiap 8 jam selama 3 hari berturut-turut untuk memastikan serbuk kontak dengan pelarut secara menyeluruh dan mempercepat waktu pelarut mengekstraksi sampel sehingga zat aktif dapat larut dengan baik. Prinsip metode maserasi adalah bahwa konsentrasi rendah akan mendorong konsentrasi tinggi di dalam sel hingga tercapai keseimbangan konsentrasi antara bagian dalam dan luar sel.

Ekstraksi kedua adalah soxhletasi. Metode soxhletasi dipilih karena kemampuannya menghasilkan jumlah ekstrak yang lebih besar, menggunakan pelarut dalam jumlah yang lebih efisien, memerlukan waktu ekstraksi yang lebih singkat, dan memastikan ekstraksi sampel secara menyeluruh melalui proses yang berulang. Prinsip dasar dari soxhletasi adalah melakukan ekstraksi berulang dengan menggunakan sedikit pelarut, sehingga memastikan hasil ekstraksi optimal dari

sampel yang diolah (Anam *et al.*, 2014). Ekstrak daun mangga arumanis hasil dari kedua ekstraksi kemudian disaring dan dipekatkan menggunakan suhu 40-50°C. Kemudian ekstrak maserasi dan soxhletasi dilakukan uji kadar air, hasil uji kadar air dari kedua metode memenuhi syarat. Wandira *et al.*, (2023) menyatakan kadar air yang baik yaitu $\leq 10\%$ yang artinya kandungan air pada ekstrak sedikit sehingga ekstrak akan lebih tahan lama karena terhindar dari kerusakan yang disebabkan oleh mikroba.

Ekstrak yang didapat kemudian dikontrol kualitasnya dengan dihitung rendemen, uji organoleptik dan uji fitokimia. Rendemen adalah jumlah ekstrak yang diperoleh yang sejalan dengan jumlah metabolit sekunder yang diperoleh. Berdasarkan hasil rendemen pada **Tabel 6** kedua metode memenuhi syarat. Subaryanti *et al.*, (2022) menyatakan rendemen yang baik $\geq 10\%$. Metode soxhletasi memperoleh persen rendemen yang tinggi dibandingkan maserasi karena dalam soxhletasi sampel diekstraksi secara sempurna dengan pelarut yang dilakukan berulang-ulang sehingga tidak terjadi kejenuhan pelarut dan menggunakan panas. Pemanasan dapat meningkatkan efisiensi ekstraksi, khususnya untuk senyawa-senyawa yang tidak larut pada suhu ruang biasa. Dengan memanaskan, proses ekstraksi menjadi lebih efektif karena panas dapat membantu melarutkan senyawa-senyawa tersebut lebih baik, sehingga proses penarikan senyawa menjadi lebih optimal dan efisien. Sebaliknya, pada metode maserasi yang tidak melibatkan pemanasan, senyawa yang tidak larut pada suhu ruang tidak dapat diekstraksi dengan efektif. Oleh karena itu, semakin tinggi rendemen ekstrak yang diperoleh, maka semakin banyak pula senyawa metabolit atau senyawa aktif yang dapat diperoleh dari tanaman tersebut. Penelitian yang dilaksanakan oleh Jubaidah *et al.*, (2024) menyatakan metode ekstraksi panas, seperti soxhletasi, menghasilkan ekstrak dalam jumlah yang lebih besar dibandingkan metode ekstraksi dingin.

Uji organoleptik dilakukan untuk mengetahui secara objektif terhadap ekstrak yang diperoleh dengan menguji tekstur, bau, dan warna yang bertujuan untuk mengetahui suatu ekstrak mengalami kerusakan atau tidak setelah melalui berbagai proses dan penyimpanan. Hasil uji memiliki kesamaan dengan penelitian

yang dilakukan Rahmiyani & Nurdianti, (2016) yaitu ekstrak kental, bau khas dan warna hijau.

Analisis fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan metabolit sekunder yang terdapat di dalam daun mangga arumanis. Didapatkan hasil pada **Tabel 8** ekstrak daun mangga dari kedua metode positif mengandung alkaloid, saponin, tannin, flavonoid, steroid, dan terpenoid. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Cahyanto *et al.*, 2020). Uji alkaloid dilakukan menggunakan larutan HCl 2 N, sifat alkaloid yang bersifat basa sehingga memungkinkan terbentuknya garam. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya endapan, yang merupakan hasil dari pengompleksan antara atom nitrogen dalam sampel dengan ion logam K⁺ dari reagen yang digunakan. Pada uji alkaloid dengan pereagen Mayer, merkuri (II) klorida dicampurkan dengan kalium iodida untuk menghasilkan kalium tetraiodomerkurat (II), yang kemudian berinteraksi dengan senyawa alkaloid dan membentuk endapan merah dari merkuri (II) iodida. Sementara itu, uji alkaloid yang dilakukan menggunakan pereagen Dragendorff menunjukkan hasil positif, yang dapat dikenali dari terbentuknya endapan berwarna jingga. Perubahan warna ini disebabkan oleh adanya ikatan kovalen antara ion kalium yang terkandung dalam kalium tetraiodobismut dari pereagen dengan atom nitrogen yang ada pada senyawa alkaloid. Reaksi ini menghasilkan endapan jingga sebagai indikasi bahwa alkaloid terdapat dalam sampel yang diuji. Sementara uji alkaloid menggunakan pereagen wagner menghasilkan endapan berwarna coklat sebagai indikasi positif, yang dihasilkan dari ikatan kovalen antara ion K⁺ dan atom nitrogen (Cahyanto *et al.*, 2020). Hasil pengujian pada kedua metode menunjukkan hasil yang positif ditunjukkan dengan adanya endapan di setiap uji.

Uji saponin dilakukan dengan melakukan penggojogan selama 10 menit. Pembentukan busa terjadi karena interaksi antara saponin yang memiliki sifat non-polar dan rantai samping yang bersifat polar. Saponin larut dalam air dan memiliki sifat aktif di permukaan, yang mengarah pada pembentukan struktur misel saat pengocokan dilakukan (Aiyuba *et al.*, 2023). Saponin, yang cenderung bersifat polar, memiliki kemampuan larut yang lebih baik dalam pelarut yang juga bersifat polar. Hasil uji menunjukkan bahwa ekstrak daun mangga arumanis dari metode

maserasi dan soxhletasi mengandung saponin, ditandai dengan terbentuknya busa setinggi 3 cm pada ekstrak dengan metode soxhletasi dan 2 cm pada ekstrak dengan metode maserasi.

Uji flavonoid dilakukan dengan cara menambahkan serbuk magnesium ke dalam larutan yang mengandung HCl 2 N. Metode ini dirancang untuk mereduksi senyawa-senyawa yang mempunyai inti α -benzopiron dalam struktur kimia flavonoid. Dengan menambahkan serbuk magnesium dan larutan HCl 2 N, proses ini akan memudahkan identifikasi dan analisis senyawa flavonoid yang memiliki inti α -benzopiron, yang merupakan karakteristik penting dalam struktur flavonoid. Hasil yang menunjukkan positif ditandai dengan perubahan warna dari jingga hingga ungu, yang mengindikasikan kehadiran golongan flavonon, dihidroflavonol, flavononol, dan flavonol. Sementara itu, hasil positif dengan warna kuning, merah, atau jingga mengindikasikan keberadaan golongan flavon, kalkon, atau auron (J. Y. Putri *et al.*, 2023). Hasil pengujian terhadap ekstrak dengan metode maserasi dan soxhletasi menunjukkan hasil positif dengan ditandai perubahan warna merah pada setiap metode.

Uji tanin dengan gelatin, terbentuk endapan berwarna putih hingga kekuningan. Keberadaan endapan tersebut menunjukkan bahwa tanin memiliki kemampuan untuk mengendapkan protein dari gelatin. Hal ini disebabkan oleh reaksi antara tannin dengan protein yang menghasilkan pembentukan kopolimer yang stabil, yang tidak larut dalam air (Desinta, 2015). Hasil uji tanin pada kedua ekstrak menunjukkan adanya indikasi positif, yang ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna putih.

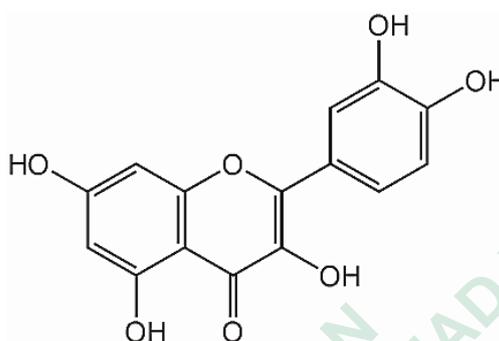
Uji steroid dan terpenoid menggunakan asam asetat glasial yang berfungsi memutuskan ikatan lain pada gugus steroid dan terpenoid. Penambahan asam sulfat pekat bertujuan untuk menghidrolisis ikatan gula yang terdapat dalam senyawa tersebut, yang akan menghasilkan perubahan warna menjadi merah. Kehadiran triterpenoid dapat ditandai dengan perubahan warna menjadi merah, sementara steroid dapat menunjukkan perubahan warna menjadi hijau (Aiyuba *et al.*, 2023). Pada metode soxhletasi menunjukkan warna hijau yang menunjukkan positif

steroid sedangkan pada maserasi menunjukkan warna merah yang menunjukkan positif triterpenoid.

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Mahdiyah *et al.*, (2020) menyatakan bahwa senyawa seperti saponin, alkaloid, fenol, tanin, dan flavonoid cenderung larut dalam pelarut seperti etil asetat, etanol, dan metanol. Di sisi lain, senyawa steroid hanya menunjukkan kelarutan dalam etanol dan metanol. Temuan ini diperkuat oleh penelitian Anggraeni *et al.*, (2020) yang mengonfirmasi bahwa daun mangga mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, triterpenoid, steroid, dan tannin.

Prinsip kerja Kromatografi Lapis Tipis (KLT) didasarkan pada proses pemisahan komponen-komponen kimia yang terjadi akibat interaksi antara fase gerak dan fase diam. Penelitian ini memakai fase diam yaitu plat silika gel, yang bersifat polar. Sebelum plat silika gel dapat digunakan dalam proses kromatografi, plat tersebut dipanaskan memakai oven dengan 110 derajat celsius selama 40 menit. Proses pemanasan bertujuan untuk menguapkan kandungan air yang mungkin ada di dalam plat, sehingga memastikan bahwa fase diam berada dalam kondisi optimal untuk pemisahan senyawa yang akan dilakukan dalam eksperimen. Proses ini bertujuan untuk memastikan kondisi optimal bagi pemisahan senyawa-senyawa kimia selama uji KLT berlangsung. Optimalisasi fase gerak dilakukan untuk menentukan kombinasi atau perbandingan yang memungkinkan pemisahan sampel dengan baik dan menghasilkan bercak flavonoid tanpa dispersi atau ekor. Fase gerak yang digunakan dalam penelitian ini adalah campuran n-butanol: asam asetat glasial: air (4:1:5) yang bersifat non polar. Pemilihan fase gerak ini didasarkan pada kemampuannya dalam memisahkan senyawa dengan efektif, di mana kuersetin yang bersifat polar terdeteksi meningkat dan terlihat noda pada kedua ekstrak daun mangga arumanis. Hasil sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Kusuma & Untari, (2018) di mana penggunaan pelarut ini menghasilkan pemisahan noda yang optimal dalam analisis KLT. Eluen yang dihasilkan menunjukkan noda tanpa ekor dan jarak noda yang terlihat dengan jelas. Kuersetin dipilih sebagai pembanding karena sering digunakan dalam isolasi flavonoid dengan noda kuning khas dan merupakan flavonoid golongan aglikon yaitu flavonol. Menurut Aminah

et al., (2017), kuersetin (**Gambar 8**) adalah aglikon dari flavonoid sub kelas flavonol, dengan gugus keto pada atom C-4 dan gugus hidroksi pada atom C-3 dan C-5.



Gambar 8. Struktur kuersetin

Sebelum penggunaan, wadah dijenuhkan untuk memastikan bahwa seluruh permukaan terisi dengan uap fase gerak menggunakan kertas saring sebagai indikator kejenuhan wadah. Plat KLT dimasukkan ke dalam bejana dan ditutup untuk mencegah penguapan eluen dan memastikan proses elusi berjalan dengan baik. Pada **Gambar 8** terlihat adanya bercak dari kedua metode yang sejajar dengan kuersetin ketika diamati di bawah sinar UV 254 nm, UV 365 nm dan sinar tampak.

Didapat bahwa warna dari kedua sampel pada plat KLT menyerupai standar yang menunjukkan indikasi awal keberadaan kuersetin kemudian dihitung nilai Rf. Nilai Rf dapat dilihat pada **Tabel 9** dengan nilai Rf antara standar dan kedua metode hampir sama. Dari kedua indikator tersebut sampel dinyatakan mengandung flavonoid, dengan potensi aktivitas antioksidan. Kusuma & Untari, (2018) menjelaskan bahwa nilai Rf dipengaruhi oleh jenis senyawa dan fase gerak yang digunakan. Forestryana & Arnida, (2020) menyatakan bahwa pemisahan yang efektif ditandai dengan noda yang terpisah dengan jelas.

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH, yang melibatkan proses reduksi DPPH melalui penyerapan elektron atau hidrogen. Pada penelitian ini, DPPH berfungsi sebagai radikal bebas yang mempunyai elektron tidak berpasangan dan berusaha mencapai kestabilan dengan berikatan dengan senyawa lain. Ketika DPPH berinteraksi dengan senyawa antioksidan, terjadi reaksi yang

mengakibatkan berubahnya warna dari ungu menjadi kuning pada larutan DPPH. Perubahan warna ini secara langsung berkaitan dengan jumlah elektron yang disumbangkan oleh senyawa antioksidan, memberikan indikasi kuantitatif tentang aktivitas antioksidan dari senyawa tersebut. Perubahan ini menyebabkan penurunan absorbansi DPPH, yang menunjukkan aktivitas antioksidan dari sampel yang diuji. Semakin rendah absorbansi DPPH, maka semakin kuat aktivitas antioksidan (Rahmatuzzahrah *et al.*, 2024). Metode DPPH dipilih karena kesederhanaannya, tidak memerlukan reagen tambahan, cocok untuk sampel dengan volume kecil, dan dapat dilakukan pada suhu rendah sehingga ideal untuk sampel yang sensitif terhadap panas. (Putri & Mahfur, 2023). Hubungan antara konsentrasi dan penurunan absorbansi bersifat linear. Namun, metode DPPH sensitif terhadap cahaya dan senyawa dapat mengalami degradasi sehingga absorbansi menurun dalam waktu lama. Oleh karena itu, dilakukan langkah dengan melapisi peralatan gelas yang digunakan untuk mengukur absorbansi dengan aluminium foil. Larutan DPPH dilarutkan dalam etanol *p.a.*, yang berfungsi sebagai blanko dan menjamin ketepatan pengukuran.

Pertama dilaksanakan pengukuran panjang gelombang DPPH yang bertujuan menemukan panjang gelombang di mana senyawa antioksidan dan DPPH menunjukkan absorbansi yang optimal. Hasil scanning menunjukkan panjang gelombang maksimum DPPH adalah 516 nm, hasil yang diperoleh sedikit berbeda dengan temuan sebelumnya yang mendapatkan nilai 515 nm (Wulandari *et al.*, 2015). Sulistyani *et al.*, (2024) menyatakan panjang gelombang maksimum DPPH berkisar pada 515-520 nm. Faktor-faktor yang memengaruhi hal ini termasuk kondisi alat serta perbedaan jenis alat yang digunakan. Selanjutnya scanning *operating time*, penentuan OT dilakukan untuk menentukan waktu optimal yang agar kuersetin dan DPPH bereaksi secara efektif. Tujuan dari *operating time* adalah untuk meminimalkan kesalahan pengukuran. DPPH yang telah direaksikan dengan kuersetin diukur absorbansinya menggunakan Spektrofotometer UV-Vis memakai panjang gelombang 516 nm. Stabilitas nilai absorbansi diamati sebagai indikator *Operating Time* (OT). Hasil penentuan waktu operasi menunjukkan bahwa absorbansi mencapai stabilitas pada menit ke-35, yang mengindikasikan bahwa

pada waktu tersebut senyawa antioksidan telah bereaksi secara optimal dengan DPPH. Hal ini sedikit berbeda dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Patria & Soegihardjo, (2013) yang mendapatkan *operating time* selama 30 menit. Faktor yang mempengaruhi perbedaan hasil OT sama seperti pada penentuan panjang gelombang, yaitu kondisi alat dan perbedaan alat yang digunakan.

Standar kuersetin dipilih karena kuersetin adalah senyawa golongan flavonol terbesar dari flavonoid. Kemudian dibuat seri konsentrasi untuk mendapatkan regresi linear sehingga diperoleh IC_{50} pada sampel. Setelah mengukur nilai absorbansi, kemudian, dilakukan perhitungan persentase inhibisi, diikuti dengan pembuatan persamaan regresi linier dengan memplot konsentrasi pada sumbu x dan persen inhibisi pada sumbu y. Nilai korelasi (r) dari ketiga sampel mendekati 1 yang berarti hubungan antara 2 variabel semakin kuat. Nilai IC_{50} didapat dengan mensubstitusi nilai y dengan angka 50. Didapat nilai IC_{50} kuersetin $1,877 \pm 0,031$ (sangat kuat), nilai IC_{50} ekstrak maserasi $15,990 \pm 0,152$ (sangat kuat) dan nilai IC_{50} soxhletasi $18,008 \pm 0,098$ (sangat kuat). Hasil ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan (Rahmiyani & Nurdianti, 2016) dengan nilai IC_{50} ekstrak etanol daun mangga metode maserasi sebesar 11,17 ppm dan penelitian oleh Manggala *et al.*, (2017) dengan nilai IC_{50} 8,35 ppm pada metode refluk dan IC_{50} sebesar 5,09 ppm pada metode maserasi.

Kuersetin dapat dilihat pada **Gambar 8** memiliki aktivitas peredaman radikal bebas tertinggi dibanding ekstrak daun mangga arumanis karena kuersetin yang digunakan merupakan kuersetin murni. Mekanisme kerja kuersetin sebagai antioksidan melibatkan kemampuannya untuk menghentikan atau menangkap reaksi oksidasi berantai yang disebabkan oleh radikal bebas. Kuersetin dikenal memiliki gugus katekol yang terletak pada cincin B, serta memiliki tiga gugus -OH yang terdistribusi di cincin A dan C. Kedua karakteristik ini memungkinkan kuersetin untuk efektif dalam menangkap radikal bebas, menjadikannya pilihan yang sangat baik sebagai senyawa antioksidan yang potensial

Analisis statistik dengan menggunakan SPSS menunjukkan bahwa nilai IC_{50} antara metode maserasi dan soxhletasi berbeda secara signifikan. Hasil uji T-Test menghasilkan nilai sig. 2-tailed $< 0,05$ (0.000), yang menyatakan bahwa

terdapat perbedaan signifikan antara metode maserasi dan soxhletasi dalam aktivitas peredaman radikal bebas ekstrak etanol daun mangga arumanis. Hal ini menunjukkan bahwa pemilihan metode ekstraksi maserasi dan soxhletasi memiliki dampak signifikan terhadap aktivitas peredaman radikal bebas tersebut.

Nilai IC_{50} ekstrak yang diperoleh dari metode maserasi menunjukkan kinerja yang lebih baik dibandingkan dengan metode soxhletasi, sesuai dengan penelitian sebelumnya oleh Yuda *et al.*, (2017) dan penelitian lain yang dilakukan oleh Najoan *et al.*, (2016). Penelitian ini menyatakan bahwa metode ekstraksi seperti maserasi dapat menghasilkan ekstrak dengan aktivitas antioksidan yang lebih efektif dalam mengurangi aktivitas radikal bebas dibandingkan dengan metode soxhletasi. Beberapa faktor yang mempengaruhi aktivitas peredaman radikal bebas adalah waktu dan suhu ekstraksi (Ibrahim *et al.*, 2015). Pada maserasi dilakukan selama tiga hari dan remaserasi sehari sehingga metabolit sekunder yang terekstrak maksimal, namun pada soxhletasi ekstraksi dilakukan kurang optimal karena pelarut yang digunakan tidak sampai jernih disebabkan keterbatasan waktu sehingga proses ekstraksi kurang maksimal. Pada ekstraksi maserasi tidak menggunakan panas sehingga metabolit sekunder seperti flavonoid dan triterpenoid yang memiliki peran sebagai antioksidan tidak rusak karena sifatnya yang termolabil. Namun, pada soxhletasi yang melibatkan pemanasan, metabolit sekunder yang bersifat termolabil seperti flavonoid dan triterpenoid dapat terdegradasi karena ekstrak terus menerus berada pada titik didih (Mukhtarini, 2014). Penurunan jumlah senyawa metabolit sekunder mengakibatkan penurunan nilai IC_{50} pada metode soxhletasi, sehingga aktivitas peredaman radikal bebas juga menurun dibandingkan metode maserasi.