

## Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bunga Krisan (*Chrysanthemum morifolium* Ramat) dengan Metode DPPH: Fraksi Larut Air, Etil Asetat, n-Heksan dari Varietas *lamet* dan *sheena*

Kharisma Mayda Mahera, Rizqa Salsabila Firdausia\*

Program Studi Farmasi, Fakultas Kesehatan, Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta

**Sitasi:** Mahera, K. M., & Firdausia, R. S. (2023). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bunga Krisan (*Chrysanthemum morifolium* Ramat) dengan Metode DPPH: Fraksi Larut Air, Etil Asetat, n-Heksan dari Varietas Lamet dan Sheena. *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 9(2), 179-188. <https://doi.org/10.35311/jmpi.v9i2.309>

**Submitted:** 03 Mei 2023

**Accepted:** 23 Agustus 2023

**Published:** 18 Desember 2023

\*Penulis Korespondensi:  
**Rizqa Salsabila Firdausia**  
Email:  
[rizqasalsabilaf@gmail.com](mailto:rizqasalsabilaf@gmail.com)



Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

### ABSTRAK

Bunga krisan (*Chrysanthemum morifolium* Ramat) varietas *lamet* dan *sheena* diketahui dapat berperan sebagai antioksidan alami yang berpotensi mencegah radikal bebas karena mempunyai kandungan senyawa fenolik dan flavonoid. Untuk mendapatkan senyawa yang lebih spesifik yang berfungsi dalam aktivitas antioksidan pada bunga krisan dilakukan dengan fraksinasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak fraksi larut air, n-heksan, dan etil asetat pada bunga krisan varietas *lamet* dan *sheena* menggunakan metode DPPH. Serbuk bunga krisan diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Selanjutnya difraksinasi menggunakan air, n-heksan, dan etil asetat. Filtrat dipekatkan menggunakan *waterbath* pada suhu 60°C hingga diperoleh ekstrak kental. Kemudian diidentifikasi fenolik dan flavonoid secara kuantitatif menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Analisis antioksidan dilakukan menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH untuk mengukur nilai IC<sub>50</sub>. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa total kadar fenolik, flavonoid, dan antioksidan yang paling baik dari varietas *lamet* sebesar 2,342% (fraksi etil asetat), 3,077% (fraksi n-heksan), dan 137,589 ppm (fraksi etil asetat). Sedangkan dari varietas *sheena* terdapat pada fraksi etil asetat dengan nilai sebesar 6,174%; 4,824%; dan 21,208 ppm. Sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak fraksi larut air, n-heksan, dan etil asetat pada bunga krisan varietas *lamet* dan *sheena* terdapat aktivitas antioksidan.

**Kata kunci:** Antioksidan, *Chrysanthemum morifolium* Ramat varietas *lamet* dan *sheena*, DPPH, Fenolik, Flavonoid, Fraksinasi

### ABSTRACT

*Chrysanthemum* (*Chrysanthemum morifolium* Ramat) varieties of *lamet* and *sheena* are known to act as natural antioxidants that have the potential to prevent free radicals because they contain phenolic compounds and flavonoids. Fractionation is used to obtain more specific compounds that function in antioxidant activity in *chrysanthemum* flowers. The aim of this research is to determine the antioxidant activity of extracts of water-soluble fractions, n-hexane, and ethyl acetate on *chrysanthemum* varieties of *lamet* and *sheena* using the DPPH method. *Chrysanthemum* flower powder was extracted by the maceration method using 70% ethanol. Then it was fractionated using water, n-hexane, and ethyl acetate. The filtrate was concentrated using a water bath at 60°C to obtain a thick extract. Then we quantitatively identified phenolics and flavonoids using a UV-Vis spectrophotometer. Antioxidant analysis was carried out using the DPPH free radical scavenging method to measure the IC<sub>50</sub> value. The results of this study indicated that the best total phenolic, flavonoid, and antioxidant levels of the *lamet* variety were 2,342% (ethyl acetate fraction), 3,077% (n-hexane fraction), and 137,589 ppm (ethyl acetate fraction). Meanwhile, the *sheena* variety was found in the ethyl acetate fraction with values of 6,174%; 4,824%; and 21,208 ppm. So it can be concluded that the extracts of the water-soluble fraction, n-hexane, and ethyl acetate in *chrysanthemum* varieties of *lamet* and *sheena* have antioxidant activity.

**Keywords:** Antioxidant, *Chrysanthemum morifolium* Ramat varieties *lamet* and *sheena*, DPPH, Phenolic, Flavonoids, Fractionation

## PENDAHULUAN

Senyawa radikal bebas mempunyai efek bahwa dapat mengakibatkan terjadinya kerusakan sel dalam tubuh manusia. Hal tersebut dapat memicu adanya berbagai penyakit seperti kanker, katarak, penyakit jantung dan penyakit degeneratif lainnya (Purnama *et al.*, 2015). Sehingga, pembentukan radikal bebas di dalam tubuh harus dicegah dengan menggunakan senyawa antioksidan (Hasanah *et al.*, 2017). Antioksidan dapat diperoleh dari senyawa sintetik dan alami, dimana senyawa alami yang biasa dapat ditemukan terdapat pada beberapa jenis tanaman. Terdapat senyawa yang berperan sebagai antioksidan pada tanaman seperti flavonoid, fenolik, beta karoten, asam askorbat, tokoferol dan lainnya.

Antioksidan terbesar yang banyak ditemui di alam diketahui berasal dari senyawa flavonoid dan fenolik. Kedua senyawa tersebut dapat bertindak melalui donor elektron atau pereduksi dengan cara menstabilkan senyawa radikal bebas menggunakan elektronnya untuk melengkapi kekurangan elektron dalam radikal bebas, mencegah reaksi berantai dengan menangkap senyawa radikal bebas, pengkelat logam yang terbawa dalam produksi senyawa radikal bebas (Irianti *et al.*, 2019). Salah satu tanaman yang diketahui memiliki kandungan flavonoid dan fenolik adalah bunga krisan. Diketahui bahwa fenolik yang paling umum yang terkandung dalam bunga krisan (*Chrysanthemum morifolium*) antara lain *acacetin*, *linarin*, asam 3,5-di-O-*caffeoylquinic* dan asam klorogenat. Sedangkan pada golongan flavonoid yang terkandung dalam bunga krisan (*C. morifolium*) meliputi *quercetin*, *apigenin* dan *luteolin* (Chen *et al.*, 2021; Gong *et al.*, 2019; Han *et al.*, 2017; Hu *et al.*, 2017; Nugroho, 2015; Shin *et al.*, 1995).

Senyawa fenolik dan flavonoid yang terdapat dalam bunga krisan dapat diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol yang secara

umum akan menarik senyawa yang bersifat polar hingga semi polar. Untuk mendapatkan senyawa yang berfungsi sebagai antioksidan yang lebih spesifik, dapat dilanjutkan dengan proses fraksinasi metode cair-cair dengan 3 pelarut yang memiliki polaritas berbeda seperti air, etil asetat dan n-heksan. Perbedaan pelarut ekstraksi diketahui akan berpengaruh terhadap kemampuan antioksidan. Sehingga pada penelitian ini dilakukan uji antioksidan terhadap ketiga fraksi dari ekstrak etanol bunga krisan. Bunga krisan yang digunakan berasal dari dua varietas yang berbeda yaitu *Chrysanthemum morifolium* Ramat varietas *lamet* dan *sheena*. Pemilihan varietas didasarkan pada perbedaan warna dari mahkota bunga krisan dengan lokasi perkebunan yang sama. Diketahui bahwa perbedaan warna dapat mempengaruhi aktivitas farmakologisnya salah satunya antioksidan. Sehingga pada penelitian ini, peneliti ingin mengetahui pengaruh dari pelarut yang digunakan pada masing-masing fraksi pada dua varietas bunga yang berbeda.

## METODE PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan: alat-alat gelas, cawan porselin (*Pyrex*), corong pisah (*Pyrex*), *hotplate magnetic stirrer*, mikropipet (*Eppendorf*), neraca analitik (*Ohaus*), oven, pipet ukur (*Pyrex*), propipet, seperangkat alat spektrofotometer UV-Vis, tabung reaksi (*Pyrex*) dan *waterbath*. Sampel dalam penelitian ini adalah bunga krisan varietas *lamet* dan *sheena* yang diambil dari daerah Kaliwinong, Banyukuning, Bandungan, Semarang, Jawa Tengah. Bahan-bahan yang dipakai:  $\text{AlCl}_3$  10%, *water for injection*, aquades, asam asetat 5%, asam galat, DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), etanol 70% (teknis), etanol (p.a), etil asetat (p.a), kuersetin, metanol (p.a),  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7%, n-heksan (p.a), *Folin-Ciocalteu* dan vitamin c.

### Preparasi Sampel

Bunga krisan diambil dari perkebunan di daerah Kaliwinong,

Banyukuning, Bandung, Semarang, Jawa Tengah, pada ketinggian 1073 mdpl dengan usia bunga 125 HST. Determinasi tanaman bunga krisan dilakukan di Laboratorium Sistematika Tumbuhan, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Mahkota bunga krisan dicuci bersih dan ditiriskan. Lalu dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C selama  $\pm 72$  jam. Simplisia yang sudah kering diukur kadar lembabnya dengan *moisture balance*, memenuhi standar jika kadar lembabnya  $<10\%$ . Simplisia diblender hingga didapatkan serbuk dan diayak menggunakan ayakan ukuran 40 mesh (Hasanah *et al.*, 2017; Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2017).

### Pembuatan Ekstrak Etanol Bunga Krisan

Serbuk simplisia dimaserasi dengan etanol 70% sebanyak 10 bagian, selama 72 jam sambil sesekali diaduk dan disimpan ditempat gelap (Hana *et al.*, 2020). Hasil maserasi disaring dan dilakukan remaserasi selama 24 jam dengan jumlah pelarut yang sama saat maserasi. Filtrat yang didapatkan digabungkan dan dipekatkan dengan penangas pada suhu terkontrol 50-70°C hingga diperoleh ekstrak kental. Hasil ekstrak kental yang didapatkan dihitung rendemennya dengan rumus:

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak etanol}}{\text{Berat simplisia}} \times 100 \%$$

### Fraksinasi Air, Etil Asetat dan n-Heksan Dari Ekstrak Etanol Bunga Krisan

Ditimbang ekstrak kental 10 gram dilarutkan menggunakan air dengan suhu 60°C sebanyak 100 mL (Maravirnadita, 2019). Fraksinasi dilakukan secara bertingkat menggunakan corong pisah, yang pertama dengan n-heksan (2:1 v/v) digojog perlahan selama 5 menit sambil sesekali dibuka tutupnya (Irianti *et al.*, 2019), lalu didiamkan hingga terbentuk 2 lapisan dan dipisahkan ke dalam wadah yang berbeda. Lapisan fraksi tidak larut n-heksan dimasukkan kembali ke dalam corong pisah untuk direfraksinasi sebanyak dua kali dengan jumlah n-heksan yang sama. Selanjutnya, dilakukan prosedur

yang sama untuk fraksi etil asetat. Hasil filtrat dikumpulkan dan dipekatkan diatas *waterbath* dengan suhu 60°C (Hasanah *et al.*, 2017). Sehingga diperoleh ekstrak kental fraksi n-heksan, etil asetat dan air, hasil ekstrak kental dihitung rendemennya dengan rumus:

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat fraksi yang diperoleh}}{\text{Berat ekstrak untuk fraksi}} \times 100 \%$$

### Uji Organoleptik

Uji organoleptik tiap ekstrak kental meliputi bau, tekstur, warna dan rasa. Pernyataan meliputi “berbau khas lemah”, “praktis tidak berbau”, “tidak berbau” atau yang lainnya, ditentukan dengan diamati setelah sampel terpapar udara selama 15 menit. Bau ekstrak tidak dianggap sebagai standar kemurnian, bau tersebut hanya bersifat deskriptif saja (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2017).

### Penentuan Kadar Total Fenolik

Penetapan kadar fenolik menggunakan metode kolorimetri *Folin-Ciocalteu* (Baba & Malik, 2015; Djuleng, 2021). Larutan standar asam galat dibuat dengan konsentrasi 2000 ppm dan dibuat seri konsentrasi 100, 200, 300, 400 dan 500 ppm dicukupkan dengan metanol p.a sampai 10 mL. Larutan sampel dibuat dengan menimbang ekstrak kental dan melarutkannya menggunakan pelarut metanol p.a.

Penetapan panjang gelombang maksimal (nm) dan *operating time* menggunakan seri larutan konsentrasi 500 ppm diambil 0,1 mL, ditambahkan 0,1 mL *Folin-Ciocalteu* dan didiamkan selama 4-8 menit. Setelah itu ditambahkan 1 mL  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7% dan dicukupkan dengan *water for injection* hingga 5 mL. *Discanning* untuk mendapatkan panjang gelombang maksimal (nm) dengan interval 1 nm rentang 600-800 nm. Untuk *operating time*, absorbansi larutan dibaca dengan panjang gelombang yang didapatkan yaitu 738 nm selama 0-2 jam dengan selang waktu 5 menit, sampai diperoleh nilai serapan yang stabil.

Pengukuran larutan standar asam galat dan sampel, diambil sebanyak 0,1 mL ditambahkan *Folin-Ciocalteu* 0,1 mL dan didiamkan selama 4-8 menit. Lalu ditambahkan 1 mL  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7% dan dicukupkan dengan *water for injection* hingga 5 mL. Didiamkan selama 1 jam 30 menit dan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 738 nm.

### Penentuan Kadar Total Flavonoid

Penentuan kadar total flavonoid dengan metode kolorimetri menggunakan pereaksi kompleks aluminium klorida (Ahmad *et al.*, 2014; Chang *et al.*, 2002; Ramadhan *et al.*, 2021). Dibuat larutan standar kuersetin konsentrasi 1000 ppm dan dibuat seri konsentrasi 40, 60, 80, 120 dan 140 ppm dicukupkan dengan pelarut etanol p.a sampai 10 mL. Larutan sampel dibuat dengan menimbang ekstrak kental dan dilarutkan menggunakan etanol p.a.

Penetapan panjang gelombang maksimal (nm) dan *operating time* dilakukan 1 mL dari seri larutan konsentrasi 100 ppm ditambahkan  $\text{AlCl}_3$  10% 1 mL dan asam asetat 5% 8 mL. *Discanning* dengan interval 1 nm pada rentang 350-450 nm untuk mendapatkan panjang gelombang maksimalnya. Untuk *operating time* dilakukan dengan dibaca absorbansi larutan menggunakan panjang gelombang yang didapatkan yaitu 415 nm selama 0-1 jam dengan selang waktu 5 menit sampai diperoleh nilai serapan yang stabil.

Pengukuran larutan standar kuersetin dan sampel dilakukan dengan mengambil 1 mL ditambahkan  $\text{AlCl}_3$  10% 1 mL dan asam asetat 5% 8 mL. Didiamkan selama 35 menit dan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 415 nm.

### Uji Aktivitas Antioksidan dengan DPPH

Dibuat stok larutan DPPH dengan konsentrasi 0,1 mM. Dilakukan penetapan panjang gelombang maksimal (nm) dan *operating time* dengan mereaksikan larutan DPPH konsentrasi 0,1 mM sebanyak 2 mL dan metanol p.a 1 mL, kemudian *discanning*

menggunakan rentang 400-600 nm dengan interval 1 nm untuk didapatkan panjang gelombang maksimal. Untuk *operating time* diukur dengan dibaca absorbansinya dengan panjang gelombang yang didapatkan yaitu 516 nm pada rentang waktu 0-40 menit, untuk memperoleh waktu serapan yang stabil (Purwasari, 2021).

Dibuat larutan induk pembanding dengan menimbang vitamin c 5 mg dan dilarutkan dengan pelarut metanol p.a hingga 50 mL. Dibuat seri konsentrasi 2, 4, 6, 8 dan 10 ppm (Hasanah *et al.*, 2017). Larutan uji sampel ditimbang 250 mg dan dilarutkan dengan metanol p.a hingga 25 mL. Diencerkan menjadi beberapa seri konsentrasi hingga diperoleh nilai absorbansi dengan rentang 0,8-0,2 (Hasanah *et al.*, 2017).

Pengukuran absorbansi sampel dan vitamin c dilakukan dengan dipipet 1 mL ditambahkan DPPH 0,1 mM sejumlah 2 mL dan didiamkan selama 25 menit ditempat gelap atau terhindar dari cahaya. Dibaca absorbansinya panjang gelombang 516 nm.

### Analisis Data Kadar Senyawa Fenolik dan Flavonoid

Analisis data menggunakan perhitungan dari Hasanah *et al.* (2017) yang dilakukan dengan membuat kurva baku antara konsentrasi standar dengan absorbansi sehingga didapatkan persamaan regresi linier, ditentukan nilai kadar terhitung dengan persamaan:  $y = ax + b$  dan kadar totalnya dengan persamaan:

$$\text{Kadar total} = \frac{\text{Kadar terhitung} \times \text{volume total}}{\text{Berat sampel}} \times 100\%.$$

### Analisis Data Aktivitas Antioksidan

Hasil yang didapatkan dihitung persentase inhibisinya dan kemudian dibuat persamaan regresi linier yang menggabungkan antara persentase inhibisi dengan konsentrasi larutan sampel untuk mendapatkan nilai  $\text{IC}_{50}$  yang ditentukan melalui perhitungan konsentrasi larutan sampel yang dapat menghambat radikal bebas DPPH (persentase inhibisi) sebesar 50 (Hasanah *et al.*, 2017). Persentase inhibisi dan



nilai  $IC_{50}$  dihitung menggunakan persamaan rumus berikut:

$$Persentase\ inhibisi = \frac{A_{kontrol} - A_{sampel}}{A_{kontrol}} \times 100\%$$

dan nilai  $IC_{50}$ :  $y(50) = ax + b$ .

### Analisis Data Statistik

Dianalisis secara statistik dengan uji normalitas menggunakan Shapiro-Wilk dan diuji homogenitasnya menggunakan uji Levene's. Apabila data yang diperoleh terdistribusi normal dan homogen, maka dapat dilakukan uji *One-way ANOVA* menggunakan taraf kepercayaan sebesar 95% dan dilanjutkan dengan uji LSD (Maravirnadita, 2019).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

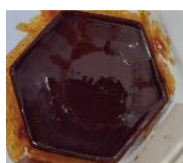
### Ekstrak Etanol Bunga Krisan

Serbuk simplisia bunga krisan ditimbang 300 gram dan diekstraksi secara

terpisah dengan etanol 70% sebanyak 3 liter. Dilihat dari senyawa yang akan diambil merupakan senyawa yang bersifat polar sehingga dipilih etanol 70% karena merupakan pelarut yang lebih polar, relatif tidak toksik dan tidak berbahaya. Maserasi dilakukan selama 72 jam sesekali sambil diaduk serta disimpan pada suhu ruang, ditempat gelap dan diremaserasi satu kali selama 24 jam. Hasil filtrat dipekatkan dan diperoleh ekstrak kental varietas *lamet* sebanyak 48,3 gram dengan rendemen sebesar 16%, sedangkan pada varietas *sheena* sebanyak 82,1 gram dengan nilai rendemen sebesar 27%. Hasil uji organoleptik dapat dilihat pada Tabel 1 serta penampakan fisik dari ekstrak kental dilihat pada Gambar 1.

Tabel 1. Hasil Uji Organoleptik Ekstrak Bunga Krisan

Uji Organoleptik	Var. <i>lamet</i>	Var. <i>sheena</i>
Bau	Khas	Khas
Warna	Coklat tua	Coklat tua
Tekstur	Kental	Kental
Rasa	Pahit	Pahit



(a)



(b)

Gambar 1. Ekstrak Bunga Krisan

Keterangan: (a) Ekstrak bunga krisan Var. *lamet*; (b) Ekstrak bunga krisan Var. *sheena*.

### Ekstrak Fraksi Air, Etil Asetat dan n-Heksan Bunga Krisan

Ekstrak kental sebanyak 10 gram dilarutkan menggunakan air dengan suhu 60°C sebanyak 100 mL. Difraksinasi dengan n-heksan sebanyak 50 mL (2:1 v/v) yang direplikasi 3 kali dan dilanjut menggunakan pelarut etil asetat dengan perlakuan yang sama. Replikasi dilakukan untuk mendapatkan senyawa yang lebih optimal. Hasil filtrate dipekatkan dan didapatkan nilai rendemen pada Tabel 2. Rendemen yang dihasilkan dikatakan mengandung senyawa metabolit yang tinggi

jika nilai rendemen yang diperoleh juga tinggi karena semakin tinggi nilai rendemen, maka semakin rendah pengotor yang ada dalam ekstrak kental. Hasil uji organoleptik dari ekstrak kental hasil fraksinasi tersajikan dalam Tabel 2 dan tampak fisik dari ekstrak kental hasil fraksi ditunjukkan pada Gambar 2.

### Kadar Total Fenolik

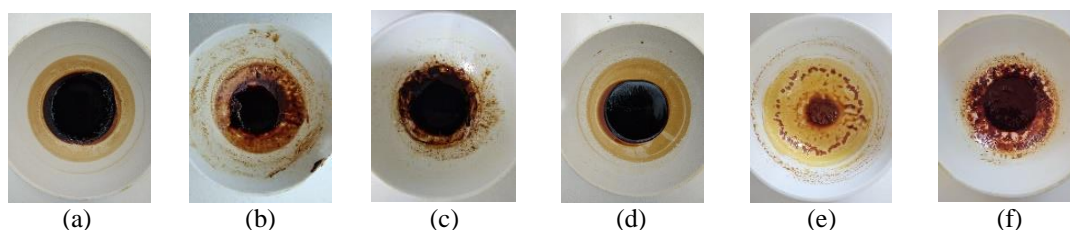
Kurva baku standar yang digunakan untuk penentuan fenolik yaitu asam galat dengan tujuan untuk mengetahui hubungan antara konsentrasi asam galat dengan absorbansinya. Asam galat sebagai senyawa

standarnya karena termasuk fenolik dengan sifat yang stabil pada strukturnya serta sering digunakan dalam penetapan total kadar fenolik. Hasil kurva standar yang diperoleh dapat dilihat pada Gambar 3. Hasil dikatakan linier apabila nilai  $r$  mendekati satu menunjukkan bahwa terdapat korelasi yang baik antara konsentrasi asam galat dan absorbansi. Hasil persamaan regresi linier digunakan untuk menghitung nilai kadar fenolik sampel. Hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa sampel yang diteliti

mengandung senyawa fenolik dengan nilai kadar yang disajikan pada Tabel 3. Didapatkan rata-rata nilai kadar yang paling tinggi pada bunga krisan varietas *sheena* dari fraksi etil asetat. Sedangkan bunga krisan varietas *lamet* total kadar fenolik paling tinggi terdapat pada etil asetat. Hal tersebut menunjukkan bahwa etil asetat dapat menarik senyawa fenolik, karena dari kepolarannya, senyawa tersebut dapat tertarik dengan menggunakan pelarut semi polar (Rondonuwu & Suryanto, 2017).

Tabel 2. Hasil Rendamen dan Uji Organoleptik Fraksi Bunga Krisan

Sampel	Ekstrak Kental	Rendemen	Uji Organoleptik			
			Bau	Warna	Tekstur	Rasa
Var. lamet						
Fraksi Air	5,99 gram	60%	Khas	Coklat tua/ Kehitaman	Kental	Pahit
Fraksi Etil Asetat	2,62 gram	26%	Khas	Coklat tua/ Kehitaman	Kental	Pahit
Fraksi n-Heksan	2,33 gram	23%	Khas	Coklat tua/ Kehitaman	Kental	Pahit
Var. sheena						
Fraksi Air	7,61 gram	76%	Khas	Coklat tua/ Kehitaman	Kental	Pahit
Fraksi Etil Asetat	1,13 gram	11%	Khas	Coklat kekuningan	Kental	Pahit getir
Fraksi n-Heksan	3,5 gram	35%	Khas	Coklat tua/ Kehitaman	Kental	Pahit



Gambar 2. Ekstrak Hasil Fraksi Bunga Krisan

Keterangan: (a) Fraksi air bunga Krisan Var. *lamet*; (b) Fraksi etil asetat Bunga Krisan Var *lamet*; (c) Fraksi n-Heksan bunga Krisan Var. *lamet*; (d) Fraksi air bunga Krisan Var. *sheena*; (e) Fraksi Etil Asetat bunga Krisan Var. *sheena*; (f) Fraksi n-Heksan bunga Krisan Var. *sheena*.

Hasil analisis kadar fenolik pada varietas *lamet* dan *sheena* didapatkan hasil yang terdistribusi normal dan homogen karena nilai signifikansinya lebih dari 0,05 dengan hasil uji ANOVA yang didapatkan signifikansinya  $<0,001$ . Hasil menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan dalam penggunaan pelarut antar sampel fraksi air, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan. Sedangkan dalam uji LSD diperoleh hasil data sampel yang menunjukkan nilai adanya perbedaan yang signifikan (sig.  $<0,05$ ). Sehingga jika dibandingkan antar varietas

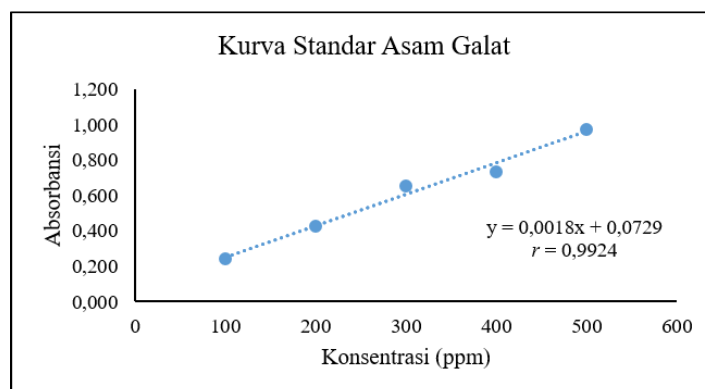
dan juga fraksi menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan.

### Kadar Total Flavonoid

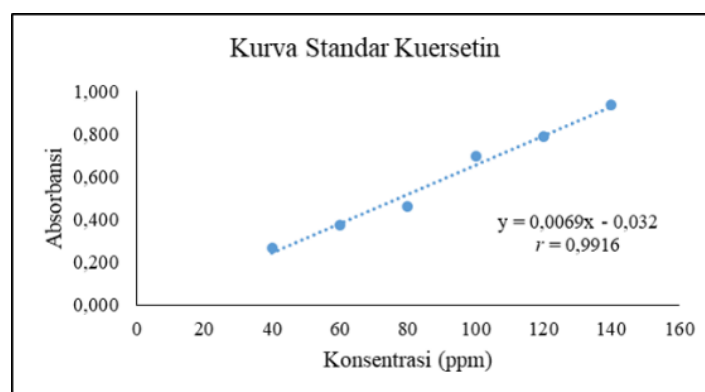
Kurva baku untuk penentuan flavonoid menggunakan standar kuersetin, tujuannya untuk mengetahui hubungan antara konsentrasi kuersetin dengan absorbansinya. Hasil persamaan regresi linier yang diperoleh dapat dilihat pada Gambar 4 yang digunakan untuk menghitung kadar flavonoid dari sampel. Dari hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa sampel yang diteliti mengandung senyawa flavonoid yang

disajikan pada Tabel 3. Didapatkan rata-rata nilai kadar yang paling tinggi pada bunga krisan varietas *sheena* dari fraksi etil asetat.

Sedangkan bunga krisan varietas *lamet* total kadar flavonoid paling tinggi terdapat pada fraksi n-heksan.



Gambar 3. Kurva Hubungan Antara Konsentrasi Asam Galat (ppm) dengan Absorbansi



Gambar 4. Kurva Hubungan Antara Konsentrasi Kuersetin (ppm) dengan Absorbansi

Tabel 3. Hasil Data Seluruh Parameter Uji

Sampel	Parameter Uji			Kapasitas Antioksidan
	Fenolik	Flavonoid	Antioksidan (IC <sub>50</sub> )	
Bunga Krisan Var. <i>lamet</i>				
Fraksi Air	1,275 ± 0,017	0,580 ± 0,003	235,607 ± 1,770	Sangat lemah
Fraksi Etil Asetat	2,342 ± 0,004	1,812 ± 0,005	137,589 ± 0,255	Lemah
Fraksi n-Heksan	1,640 ± 0,023	3,077 ± 0,015	280,317 ± 0,099	Sangat lemah
Bunga Krisan Var. <i>sheena</i>				
Fraksi Air	2,717 ± 0,020	1,120 ± 0,008	63,446 ± 0,212	Kuat
Fraksi Etil Asetat	6,174 ± 0,026	4,824 ± 0,013	21,208 ± 0,078	Sangat Kuat
Fraksi n-Heksan	3,165 ± 0,010	2,119 ± 0,004	71,552 ± 0,147	Kuat
Vitamin C	-	-	5,268 ± 0,044	Sangat Kuat

Keterangan: Nilai disajikan dalam rata-rata

Flavonoid mempunyai sifat polar karena sejumlah gugus hidroksil yang dimilikinya terikat pada beberapa jenis glikosida flavonoid, sehingga flavonoid lebih mudah larut dalam pelarut polar dan semi polar seperti air dan etil asetat. Maka penggunaan pelarut polar merupakan

pelarut yang sesuai untuk menarik komponen-komponen glikosida flavonoid. Namun, aglikon-aglikon flavonoid yang bersifat kurang polar seperti flavon, isoflavon, flavonon dan flavonol yang termetoksilasi akan menjadi mudah larut dalam pelarut non polar seperti n-heksan

(Asriany, 2013). Sehingga pada sampel bunga krisan varietas *lamet* perlu diteliti lebih dalam terkait penggunaan fraksi n-heksan sebagai pelarut dalam penetapan senyawa flavonoid.

Analisis kadar flavonoid pada varietas *lamet* dan *sheena* didapatkan hasil yang terdistribusi normal dan homogen (sig. >0,05). Sehingga pada hasil uji ANOVA diperoleh hasil yang signifikansinya <0,001. Maka dilanjutkan dengan uji LSD menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan dalam penggunaan pelarut antar sampel fraksi air, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan serta terdapat perbedaan yang signifikan antar varietas *lamet* dan *sheena* (sig. <0,05).

### Aktivitas Antioksidan

Penetapan antioksidan menggunakan pembanding vitamin C. Nilai IC<sub>50</sub> pada sampel dan vitamin C ditunjukkan pada Tabel 3. Hasil menunjukkan bahwa senyawa antioksidan yang paling baik terdapat pada vitamin C sebagai pembanding dan pada varietas *lamet* ataupun *sheena* yang paling baik yang difraksinasi menggunakan pelarut etil asetat. Dari sampel bunga krisan didapatkan kategori kapasitas antioksidan yang sangat kuat hingga sangat lemah dengan rentang nilai IC<sub>50</sub> >50 - <200 ppm. Sehingga sampel yang diteliti mengandung nilai IC<sub>50</sub> yang dapat meredam 50% dari total radikal bebas DPPH. Maka hasil menunjukkan bahwa seluruh sampel dari ekstrak bunga krisan mempunyai senyawa antioksidan baik dari penggunaan pelarut semi polar, polar ataupun nonpolar.

Hasil perolehan antioksidan yang ditunjukkan pada fraksi etil asetat varietas *sheena* menunjukkan tingginya nilai senyawa fenolik dan flavonoid memiliki pengaruh terhadap aktivitas antioksidan yang dihasilkan jika dilihat antar fraksi. Sedangkan pada varietas *lamet* dilihat dari aktivitas antioksidan yang dihasilkan menunjukkan

pengaruh terhadap tinggi rendahnya senyawa fenolik atau flavonoid. Sehingga dapat diteliti lebih dalam pengaruh dari perbedaan senyawa fenolik dan flavonoid terhadap aktivitas antioksidannya. Kemungkinan adanya senyawa lain yang dapat berperan dalam aktivitas antioksidan tidak hanya dari senyawa fenolik dan flavonoid. Menurut Han et al., (2019), senyawa lain yang dapat berperan dalam aktivitas antioksidan yaitu kemungkinan adanya senyawa antosianin yang dimiliki oleh bunga krisan. Maka perlu adanya pemeriksaan kadar senyawa antosianin pada bunga krisan.

Hasil analisis statistik didapatkan hasil yang terdistribusi normal dan homogen dengan nilai signifikan >0,05. Sedangkan dalam uji ANOVA diperoleh hasil yang signifikansinya <0,001. Dilanjutkan dengan uji LSD untuk mengetahui sampel mana yang berbeda signifikansinya. Hasil menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan dalam penggunaan pelarut antar sampel fraksi air, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan serta terdapat perbedaan yang signifikan antar varietas *lamet* dan *sheena* (sig. <0,05). Maka dilihat antar fraksi dari kedua varietas menunjukkan hasil yang beda signifikansinya. Dari kedua varietas tersebut menunjukkan antioksidan yang paling baik terdapat pada varietas *sheena*, hal ini dapat dipengaruhi oleh adanya perbedaan warna dari keduanya. Perbedaan varietas menunjukkan adanya kandungan senyawa yang berbeda juga. Sehingga perlu dipelajari lebih lanjut terkait senyawa yang dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan yang didasarkan pada pigmen atau warna dari mahkota bunga krisan.



## KESIMPULAN

Aktivitas senyawa antioksidan dari sampel bunga krisan varietas *lamet* dan *sheena* didapatkan hasil antioksidan dengan kategori nilai  $IC_{50} >50 - <200$  ppm sehingga termasuk dalam kapasitas antioksidan yang sangat kuat hingga sangat lemah. Terdapat perbedaan yang signifikan dari aktivitas antioksidan pada nilai  $IC_{50}$  antar varietas bunga krisan dan juga terdapat perbedaan yang signifikan pada tiap fraksi dari masing-masing varietas. Aktivitas antioksidan yang paling baik terdapat pada varietas *sheena*. Sehingga dalam penelitian ini perlu dilakukannya identifikasi senyawa lain yang memiliki peran dalam aktivitas antioksidan selain senyawa fenolik dan flavonoid.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Program Studi Farmasi (S-1), Fakultas Kesehatan Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta yang telah menyediakan sarana dan prasarana serta atas bantuan dan dukungannya dalam menyelesaikan penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, A. R., Sakinah, Wisdawati, & Asrifa, W. O. (2014). Study of Antioxidant activity and determination of Phenol and Flavonoid content of Pepino's Leaf extract (*Solanum muricatum* Aiton). *International Journal of PharmTech Research*, 6(2), 600–606.
- Asriany, I. (2013). *Kimia Organik Bahan Alam*. Alauddin University Press.
- Baba, S. A., & Malik, S. A. (2015). Determination of Total Phenolic and Flavonoid Content, Antimicrobial and Antioxidant Activity of a Root Extract of *Arisaema Jacquemontii* Blume. *Journal of Taibah University for Science*, 9, 449–454.
- <https://doi.org/10.1016/j.jtusci.2014.11.001>
- Chang, C., Yang, M., Wen, H., & Chern, J. (2002). Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3), 178–182.
- Chen, Y. H., Yan, S. L., Wu, J. Y., Hsieh, C. W., Wang, S. H., & Tsai, M. S. (2021). Analyses of the compositions, antioxidant capacities, and tyrosinase-inhibitory activities of extracts from two new varieties of chrysanthemum morifolium ramat using four solvents. *Applied Sciences (Switzerland)*, 11(16), 1–13. <https://doi.org/10.3390/app11167631>
- Djuleng, A. (2021). *Identifikasi Senyawa Total Fenolik dan Total Flavonoid Ekstrak Larut Etanol. Daun Kupu-Kupu (Bauhinia Purpurea) dengan Spektrofotometri UV-Vis*.
- Gong, J., Chu, B., Gong, L., Fang, Z., Zhang, X., Qiu, S., Wang, J., Xiang, Y., Xiao, G., Yuan, H., & Zheng, F. (2019). Comparison of Phenolic Compounds and the Antioxidant Activities of Fifteen Chrysanthemum morifolium Ramat cv. 'Hangbaiju' in China. *Antioxidants*, 8, 325. <https://doi.org/10.3390/ANTIOX8080325>
- Han, A. R., Kim, H. Y., So, Y., Nam, B., Lee, I. S., Nam, J. W., Jo, Y. D., Kim, S. H., Kim, J. B., Kang, S. Y., & Jin, C. H. (2017). Quantification of Antioxidant Phenolic Compounds in a New Chrysanthemum Cultivar by High-Performance Liquid Chromatography with Diode Array Detection and Electrospray Ionization Mass Spectrometry. *International Journal of Analytical Chemistry*. <https://doi.org/10.1155/2017/1254721>
- Han, A. R., Nam, B., Kim, B. R., Lee, K. C., Song, B. S., Kim, S. H., Kim, J. B., & Jin,

- C. H. (2019). Phytochemical composition and antioxidant activities of two different color chrysanthemum flower teas. *Molecules*, 24(2), 1–14. <https://doi.org/10.3390/molecules24020329>.
- Hana, P. N., Nurchayati, Y., & Budihastuti, R. (2020). Efek Naungan dan Umur Tanaman Terhadap Pertumbuhan dan Profil Metabolit Bunga Krisan (*Chrysanthemum* sp.). *Buletin Anatomi Dan Fisiologi (Bulletin Anatomy and Physiology)*, 5(1), 8–17. <https://doi.org/10.14710/BAF.5.1.2020.8-17>.
- Hasanah, M., Maharani, B., & Munarsih, E. (2017). Daya Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Daun Kopi Robusta (*Coffea Robusta*) Terhadap Pereaksi DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 4(2), 42–50. <https://doi.org/10.15416/ijpst.v4i2.10456>.
- Hu, J., Ma, W., Li, N., & Wang, K. J. (2017). Antioxidant and Anti-inflammatory Flavonoids from The Flowers of Chuju, a Medical Cultivar of *Chrysanthemum morifolium* ramat. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 61(4), 282–289. <https://doi.org/10.29356/jmcs.v61i4.458>.
- Irianti, T., Purnomo, H., Kuswandi, Nuranto, S., Kanistri, D. N., Murti, Y. B., & Farida, S. (2019). Uji Penangkapan Radikal 2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil oleh Ekstrak Etanol Bunga Kecombrang (*Nicolaia speciosa* (Bl.) Horan) dan Buah Talok (*Muntingia calabura* L.). *Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia*, 12(1), 41–53.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia* (II). Kementrian Kesehatan RI.
- Maravirnadita, A. H. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi n-Heksan, Etil Asetat, dan Air dari Buah Belimbing Manis (*Averrhoa carambola*) dengan Metode DPPH. *Skripsi*, 1–14.
- Nugroho, A. (2015). Identifikasi dan HPLC Kuantifikasi Senyawa Flavonoid pada Bunga Krisan (*Chrysanthemum boreale*). *Prosiding Seminar Nasional Forum Komunikasi Perguruan Tinggi Pertanian Indonesia*.
- Purnama, L. R., Sulistiyani, & Falah, S. (2015). Kandungan Total Fenol, Flavonoid, Dan Aktivitas Antioksidan Lima Tanaman Hutan Yang Berpotensi Sebagai Obat Alami. *Scientific Repository*.
- Purwasari, F. (2021). Uji Peredaman Radikal Bebas DPPH (2,2 diphenyl-1-pikrilhidrazil) Ekstrak Etanol Daun Kupu-Kupu (*Bauhinia purpurea* L.).
- Ramadhan, H., Rezky, D. P., & Susiani, E. F. (2021). Penetapan Kandungan Total Fenolik-Flavonoid pada Fraksi Etil Asetat Kulit Batang Kasturi (*Mangifera casturi* Kosterman). *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 8(1), 58–67. <https://doi.org/10.20473/JFIKI.V8I12021.58-67>
- Rondonuwu, S. D. J., & Suryanto, E. (2017). Kandungan Total Fenolik Dan Aktivitas Antioksidan Dari Fraksi Pelarut Sagu Baruk (*Arenga microcharpa* ). 10(1), 2–5.
- Shin, K. H., Kang, S. S., Seo, E. A., & Shin, S. W. (1995). Isolation of aldose reductase inhibitors from the flowers of *Chrysanthemum boreale*. *Archives of Pharmacal Research*, 18(2), 65–68. <https://doi.org/10.1007/BF02979135>