

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN NANOPARTIKEL  
EKSTRAK DAUN INSULIN (*Tithonia diversifolia*) DENGAN  
METODE DPPH (2,2 -DIFENIL-1-PIKRILHIDRAZIL)**

**ARTIKEL**



**Oleh:**

**MEIRIANA ARTHA DANIA**

**052191043**

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS KESEHATAN  
UNIVERSITAS NGUDI WALUYO**

**2021**

## **Uji Aktivitas Antioksidan Nanopartikel Ekstrak Daun Insulin (*Tithonia diversifolia*) Dengan Metode DPPH (2,2 –Difenil-1-Pikrilhidrazil).**

*Antioxidant Activity Test Nanoparticles Insulin Leaf Extract (Tithonia diversifolia) With DPPH Method (2,2 –Diphenyl-1-Picrylhydrazil)*

Meiriana Artha Dania

Prodi Farmasi, Universitas Ngudi Waluyo Ungaran

Email : [meyrianaartha@gmail.com](mailto:meyrianaartha@gmail.com)

### **ABSTRAK**

Daun insulin merupakan salah satu tanaman yang berasal dari alam yang memiliki aktivitas antioksidan. Pada penelitian ini dilakukan modifikasi sediaan nanopartikel. Tujuan pembuatan sediaan nanopartikel yaitu agar dapat meningkatkan bioavailabilitas senyawa alam yang rendah. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antioksidan nanopartikel dengan metode DPPH. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental untuk mengetahui karakteristik ekstrak nanopartikel daun insulin dengan metode gelasi ionik dan untuk memastikan terbentuknya nanopartikel ekstrak, dilakukan karakterisasi meliputi ukuran partikel, indeks polidispersi dan nilai persen transmitan, dan menguji aktivitas antioksidan nanopartikel ekstrak daun insulin dengan metode DPPH. Pada uji karakteristik nanopartikel ekstrak daun insulin memiliki rata-rata ukuran partikel 199,7 nm dengan nilai PDI rata-rata 0,168 serta persen transmitan dengan dengan rata-rata 97,35%. Hasil nilai IC<sub>50</sub> antioksidan pada nanopartikel ekstrak daun insulin adalah lemah dengan nilai 578,383 ppm karena kurangnya konsentrasi kadar seri. Formulasi nanopartikel ekstrak daun insulin telah memenuhi kriteria sebagai nanopartikel. Namun aktivitas antioksidan nanopartikel ekstrak daun insulin masuk dalam kategori sangat lemah.

**Kata kunci :** Antioksidan, Nanopartikel ekstrak daun insulin, Metode DPPH

### **ABSTRACT**

Insulin leaf is one of the plants that comes from nature which has antioxidant activity. In this study, modification of the nanoparticle preparation was carried out. The purpose of making nanoparticle preparations is to increase the bioavailability of low natural compounds. The purpose of this study was to determine the antioxidant activity of nanoparticles using the DPPH method. This study was an experimental study to determine the characteristics of insulin leaf nanoparticle extract by ionic gelation method and to ensure the formation of extract nanoparticles, characterization was carried out including particle size, polydispersion index and transmittance percent value, and tested the antioxidant activity of insulin leaf extract nanoparticles using the DPPH method. In the characteristic test of insulin leaf extract nanoparticles, the average particle size is 199.7 nm with an average PDI value of 0.168 and a transmittance percent with an

average of 97.35%. The results of the IC<sub>50</sub> antioxidant value in insulin leaf extract nanoparticles were weak with a value of 578.383 ppm due to the lack of serial concentration. The formulation of insulin leaf extract nanoparticles has met the criteria as nanoparticles. However, the antioxidant activity of insulin leaf extract nanoparticles is in the very weak category.

**Keywords:** Antioxidant, insulin leaf extract nanoparticles, DPPH method

## **PENDAHULUAN**

Radikal bebas adalah molekul yang kehilangan satu buah elektron dari pasangan elektron bebasnya, atau dengan istilah lain, merupakan hasil pemisahan homolitik suatu ikatan kovalen. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat mencegah atau menunda oksidasi melalui cara penghambatan terjadinya reaksi rantai oksidatif. Antioksidan memiliki fungsi utama yaitu menetralkan radikal bebas, sehingga tubuh dapat terhindar dari macam-macam penyakit degeneratif (Irnawati *et al.*, 2017).

Sumber antioksidan dapat berasal dari antioksidan sintetik dan antioksidan alami (Hani & Milanda, 2016). Sumber senyawa antioksidan yang berasal dari alam dapat ditemukan pada tanaman, seperti pada daun, bunga ataupun buah baku (Didit *et al.*, 2017). Daun Insulin merupakan salah satu sumber antioksidan yang berasal dari alam (Russo *et al.*, 2015). Daun Insulin memiliki metabolit sekunder flavonoid dan fenolik, alkaloid, tanin, dan saponin merupakan kandungan metabolit sekunder lainnya yang terdapat pada daun insulin (Prasetyo, 2016).

Tujuan pembuatan sediaan nanopartikel disebabkan oleh penggunaan bahan alam yang memiliki keterbatasan, yaitu sering mengalami kegagalan pada fase klinik dikarenakan rendahnya bioavailabilitas dari senyawa bahan alam yaitu flavonoid dan fenolik (Alam *et al.*, 2012). Rendahnya bioavailabilitas diakibatkan oleh karena rendahnya kelarutan di dalam air serta potensi permeabilitas menembus *barrier* absorpsi yang berkurang dapat mempengaruhi bioavailabilitas suatu senyawa yang berasal dari bahan alam di dalam tubuh (Ramadon & Mun'im, 2016).

Berdasarkan uraian di atas maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas antioksidan nanopartikel ekstrak daun insulin menggunakan metode DPPH. Diharapkan dari penelitian ini, dengan diterapkannya teknologi sediaan nanopartikel pada ekstrak daun Insulin (*Tithonia diversifolia*) dapat meningkatkan kemampuan aktivitas fungsional dan bioavailabilitas dari senyawa-senyawa fitokimia daun Insulin (*Tithonia diversifolia*).

## **METODE PENELITIAN**

### **1. Alat dan Bahan**

#### **a. Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Ayakan 40, Blender Cosmos, Batang Pengaduk, neraca analitik, Tabung Reaksi, Pipet tetes, Corong kaca, Gelas Beaker, labu ukur, pipet ukur 10 ml, pipet ukur 1 ml, Evaporator Rotary, magnetic stirrer, *Particle Size Analyzer* (PSA),

*Moisture Analyzer*, spektrofotometri UV-VIS, rubber bulb, kertas saring, serbet, tissue, dan spatula.

**b. Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun insulin (*Tithonia diversifolia*), etanol 96%, Kitosan, Asam Askorbat, NaTPP (Natrium Tripolifosfat), Aquades, asam klorida (Emsure), asam klorida 2N, HCL 2N, pereaksi Dragendorff dan Mayer, NaCl 10%, FeCl<sub>3</sub> 1%, asam asetat glacial 5%, serbuk DPPH.

**2. Metode Penelitian**

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratorium yang dilaksanakan dari bulan April sampai Juli 2021 di Laboratorium Farmasi Universitas Ngudi Waluyo.

**a. Pembuatan Ekstrak Daun Insulin**

Ekstrak daun insulin dibuat dengan metode refluks dengan etanol 96% perbandingan 1:3 selama 5 hari dilanjutkan dengan *evaporator rotary* 50°C hingga semi kental dan dilanjutkan di *waterbath* hingga diperoleh ekstrak kental.

**b. Pengujian Kadar Air**

Dilakukan dengan menggunakan alat *moisture balance*. Sebanyak 3 g ekstrak ditimbang dengan seksama, dimasukkan kedalam alat *moisture balance* yang sebelumnya sudah disetarakan. Setelah itu, baca hasil yang terdapat pada layar (Ramadhani *et al.*, 2020).

**c. Uji Bebas Etanol**

Uji etanol secara kualitatif dilakukan dengan menambahkan 5 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat dan 2 ml karutan kalium dikromat, adanya kandungan etanol dalam ekstrak ditandai dengan adanya perubahan warna mula-mula dari jingga menjadi hijau kebiruan (Jamaliah, 2011).

**d. Skrining Fitokimia**

**1) Uji Flavonoid**

Ekstrak daun insulin (*Tithonia diversifolia*) masing-masing ditimbang sebanyak 10 mg, ditambahkan 20 mL etanol dan dipipet 10 mL ke dalam tabung reaksi lain. Campuran ditambahkan 10 tetes asam klorida pekat, 3-4 butir magnesium. Tabung reaksi dikocok beberapa saat dan diamati terjadinya perubahan. Apabila terjadi pembentukan atau perubahan warna merah, kuning atau jingga menunjukkan reaksi positif terhadap flavonoid (Tarigan *et al.*, 2008).

**2) Uji Saponin**

Ekstrak daun insulin (*Tithonia diversifolia*) masing-masing ditimbang sebanyak 10 mg, ditambahkan 20 mL air panas. Selanjutnya di kocok kuat selama 10 detik, akan terbentuk buih yang stabil setinggi 1-10 cm selama 30 menit, dan tidak hilang setelah penambahan 1 tetes asam klorida 2 N menunjukkan adanya saponin (Tarigan *et al.*, 2008).

**3) Uji Alkaloid**

Masing-masing ekstrak daun insulin (*Tithonia diversifolia*) ditimbang 10 mg kemudian ditambahkan 10 mL kloroform diaduk rata. Campuran disaring ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 1 mL HCl 2N dan dikocok baik-baik, dibiarkan beberapa saat. Lapisan yang terbentuk diuji dengan pereaksi Dragendorff dan Mayer. Hasil positif apabila terbentuk endapan kuning jingga (orange) atau merah dengan pereaksi Dragendorff dan endapan putih dengan pereaksi Mayer (Tarigan *et al*, 2008).

**4) Uji Tanin**

Ekstrak daun insulin (*Tithonia diversifolia*) ditimbang 10 mg, ditambahkan 20 mL air panas dan 5 tetes larutan NaCl 10%. Campuran dibagi menjadi 2 tabung reaksi, tabung pertama sebagai kontrol dan tabung kedua ditambahkan larutan FeCl<sub>3</sub> 1% 3 tetes. Hasil positif apabila terbentuk warna biru atau biru hitam (Tarigan *et al*, 2008).

**5) Uji Fenolik**

Ekstrak daun insulin (*Tithonia diversifolia*) ditimbang 10 mg, ditambahkan 20 mL air panas dan 5 tetes larutan NaCl 10%. Campuran dibagi menjadi 2 tabung reaksi, tabung pertama sebagai kontrol dan tabung kedua ditambahkan larutan FeCl<sub>3</sub> 1% 3 tetes. Hasil positif apabila terbentuk warna biru atau biru hitam (Tarigan *et al*, 2008).

**e. Pembuatan Nanopartikel Ekstrak Daun Insulin (*Tithonia diversifolia*)**

1) Pembuatan Larutan Kitosan 0,08%

Sebanyak 0,08 gram serbuk kitosan yang dilarutkan dalam 100 mL larutan asam asetat glacial 5% dan di aduk dengan magnetik stirrer hingga kitosan larut.

2) Pembuatan Larutan NaTPP 0,01%

Sebanyak 0,035 gram serbuk NaTPP (natrium tripolifosfat) dilarutkan dalam 350 mL aquades dan dihomogenkan dengan magnetik stirrer hingga larut.

3) Pembuatan Nanopartikel Ekstrak Daun Insulin (*Tithonia diversifolia*)

Pembuatan nanopartikel ekstrak etanol daun insulin dengan menimbang 0,1 g ekstrak etanol daun insulin. Ekstrak etanol daun insulin kemudian dilarutkan dalam etanol 96% 5 mL dalam gelas beaker dan ditambahkan dengan larutan kitosan 0.08% dengan volume 100 mL. Kemudian secara bertahap kedalam campuran tersebut ditambahkan natrium tripolifosfat 0.01% dengan volume 350 mL disertai pengadukan menggunakan magnetik stirrer dengan kecepatan 1500 rpm selama 2 jam. Kemudian nanopartikel ekstrak etanol daun insulin disaring menggunakan kertas saring.

**f. Karakterisasi Nanopartikel Ekstrak Daun Insulin (*Tithonia diversifolia*)**

1) Ukuran dan Distribusi Nanopartikel

Sampel nanopartikel ekstrak etanol daun insulin dilakukan pengukuran *Full range* dengan cara dimasukkan ke dalam *chamber wet dispersion* unit yang berisi aquades hingga warna indikator pada PC menunjukkan warna hijau pada rentang skala 10-12 secara stabil dan ditunggu beberapa menit selama proses berlangsung.

2) Persen Transmittan (% Transmittan)

Sebanyak 1 ml nanopartikel ekstrak daun insulin ditambahkan aquades hingga volume akhir 50 mL. Homogenisasi dilakukan dengan bantuan *magnetic stirrer* selama 30 detik. Nanopartikel ekstrak daun insulin kemudian diukur transmittannya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 650 nm (Nurtiyani dan Ratna, 2017).

**g. Pengujian DPPH (2,2-Diphenyl Picrylhydrazil)**

1) Penentuan Panjang Gelombang DPPH

Sebanyak 1,0 mL larutan DPPH 0,4 mM, ditambahkan dengan 4,0 mL etanol p.a sampai batas pada labu ukur 5 ml lalu didiamkan selama menit tertentu ditempat yang gelap, absorbansi diukur dengan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 450-550 nm (Molyneux, 2004).

2) Penentuan *Operating Time* DPPH

Penentuan *operating time* dilakukan dengan cara 1 ml larutan DPPH 0,4 mM 1 mL larutan standar vitamin C 6 ppm ditambahkan dengan etanol pa sampai tanda batas pada labu ukur 5 ml. Larutan tersebut kemudian dibaca absorbansinya pada panjang gelombang yang telah diperoleh dengan interval 2 menit sampai diperoleh absorbansi yang paling stabil (Bakti *et al.*, 2017).

3) Pembuatan Larutan Vitamin C

Sebagai Pembanding Larutan seri kadar dibuat dengan menggunakan vitamin C sebagai baku standar dengan kadar 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm. Sebanyak 1 ml larutan standar 0,4 mM, ditambahkan 1 ml larutan standar vitamin C kemudian diadkan dengan etanol pa sampai tanda batas pada labu ukur 5 ml, lalu didiamkan pada tempat yang terlindung dari cahaya selama *operating time* yang telah diperoleh. Absorbansi dibaca pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh (Bakti *et al.*, 2017).

**h. Penentuan Aktivitas Antioksidan Nanopartikel Ekstrak Daun Insulin (*Tithonia diversifolia*)**

Ekstrak etanol 96% nanopartikel ekstrak daun insulin 50 mg dilarutkan dalam etanol p.a 50 ml sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm (Prasditya, 2017). Larutan nanopartikel ekstrak 1000 ppm dibuat konsentrasi dengan kadar seri 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm dan 25 ppm (Bakti *et al.*, 2017). Masing-masing konsentrasi diambil 1 ml ditambahkan sebanyak 1 ml larutan DPPH 0,4 mM ditambahkan etanol

pa dalam labu takar 5 ml. Larutan didiamkan pada tempat yang terlindung dari cahaya selama operating time yang diperoleh. Dibaca absorbansi pada panjang gelombang yang diperoleh (Prasditya, 2017).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### a. Ekstraksi

Pembuatan ekstrak etanol 96% daun insulin (*Tithonia Diversifolia*). dilakukan dengan metode refluks menggunakan pelarut etanol 96% diperoleh dari serbuk simplisia daun insulin sebanyak 1800 kg menghasilkan ekstrak sebanyak 11,69 gram dan memperoleh presentase rendemen sebesar 6,205%.

### b. Pengujian Kadar Air

Pengujian kadar air pada penelitian ini dilakukan pada simplisia daun insulin dan ekstrak etanol 96% daun insulin menggunakan alat *Moisture Balance*. Pengujian kadar air telah memenuhi persyaratan yaitu <10%. Tujuan dilakukannya pengujian kadar air yaitu agar dapat meminimalisir tumbuhnya jamur sehingga menghasilkan daya tahan penyimpanan dan mutu ekstrak tetap baik (Hanif *et al.*, 2018).

**Tabel 1.** Hasil Pengujian Kadar Air

Sampel	Bobot Awal (gram)	Kadar Air (%)
Simplisia	3	8,78%
Ekstrak	3	5,02%

### c. Hasil Uji Bebas Etanol

Pengujian bebas etanol dilakukan untuk mengetahui bahwa ekstrak telah terbebas dari etanol sehingga diperoleh ekstrak yang murni tanpa adanya kontaminasi (Kurniawati, 2015). Pengujian bebas etanol dilakukan dengan mereaksikan ekstrak dengan kalium dikromat ( $K_2Cr_2O_7$ ) dan asam sulfat ( $H_2SO_4$ ).

**Tabel 2.** Uji Bebas Etanol

	Hasil	Kesimpulan
Uji Bebas Etanol	Warna larutan sampel jingga, tidak berubah menjadi warna biru	Negatif (-)

### d. Skrining Fitokimia secara Kualitatif

#### 1) Uji Flavonoid

Pada identifikasi flavonoid ekstrak sebanyak 10 mg ditambahkan dengan asam kloridan dan serbuk magnesium. Tujuan dilakukan penambahan asam klorida dan serbuk magnesium untuk mereduksi ikatan glikosida dengan flavonoid. Agar flavonoid dapat diidentifikasi, maka ikatan glikosida dengan flavonoid harus diputus dengan mereduksi ikatan tersebut yang mana hasil yang didapatkan positif dengan terbentuknya

warna kuning (Muthmainnah, 2017). Hal ini sudah sesuai dengan penelitian yang sebelumnya dilakukan oleh Ramadhani *et al.*, 2020.

2) Uji Saponin

Pada uji saponin ekstrak positif karena terbentuk buih stabil setinggi 1 cm, timbulnya buih pada uji saponin menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan untuk membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Marliana *et al.*, 2005). Buih yang dihasilkan saponin tidak terpengaruh oleh asam klorida 2N sehingga penambahan larutan asam klorida 2N buih tetap stabil dan tidak hilang (Muthmainnah, 2017). Hal ini sudah sesuai dengan penelitian yang sebelumnya dilakukan oleh Ramadhani *et al.*, 2020.

3) Uji Alkaloid

Pada uji alkaloid ekstrak prinsipnya yaitu reaksi pengendapan yang terjadi karena adanya penggantian ligan. Atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas pada alkaloid dapat mengganti ion iod dalam pereaksi dragendroff dan pereaksi mayer (Marliana *et al.*, 2005).

4) Uji Tanin

Pada uji tanin ditunjukkan dari adanya perubahan warna setelah penambahan  $\text{FeCl}_3$  yang dapat bereaksi dengan salah satu gugus hidroksil pada senyawa tanin. Penambahan  $\text{FeCl}_3$  menghasilkan warna biru kehitaman yang menunjukkan adanya tanin terkondensasi (Astarina *et al.*, 2012) Tanin merupakan senyawa fenolik yang dapat larut dalam air dan pelarut polar tujuan ditambahkan  $\text{FeCl}_3$  1% untuk menentukan apakah daun insulin mengandung gugus fenol dengan ditunjukkan warna biru atau biru kehitaman. Hasilnya yang diperoleh positif karena terbentuk warna biru kehitaman.

5) Uji Fenolik

Pada uji fenolik ciri khas dari senyawa fenolik adalah membentuk senyawa kompleks sehingga terjadi perubahan warna biru hitam atau ungu. Reaksi  $\text{FeCl}_3$  dengan sampel membuat pembentukan warna pada uji ini, yang berperan adalah ion  $\text{Fe}^{3+}$  yang mengalami hibridisasi (Agustina *et al.*, 2017). Hasil yang didapatkan positif terbentuk warna biru kehitaman.



**Tabel 3.** Skrining Fitokimia

Jenis Uji	Perlakuan	Hasil Pengujian	Keterangan
Flavonoid	Sampel + HCl 2N + Magnesium	Kuning	+
Saponin	Sampel + Air panas + dikocok kuat + HCl 2N	Buih yang stabil	+
Alkaloid	Sampel + kloroform + HCL 2N + Dragendorff/Mayer	Mayer (endapan putih), dragendorf (jingga)	+
Tanin	Sampel + air panas + NaCl 10% + FeCl <sub>3</sub>	Biru atau biru hitam	+
Fenolik	Sampel + air panas + NaCl 10% + FeCl <sub>3</sub>	Biru atau biru hitam	+

**e. Karakterisasi Nanopartikel Ekstrak Daun Insulin (*Tithonia diversifolia*).**

Dari hasil penelitian yang dilakukan dapat diketahui bahwa ukuran dan distribusi ukuran nanopartikel yang didapatkan dari hasil formulasi sesuai dengan kriteria ukuran dan distribusi ukuran nanopartikel yang memiliki ukuran 100-300 nm dengan masing-masing nilai 220,6 nm; 194,1 nm; dan 184,6 nm.. Hal ini sudah sesuai dengan penelitian yang sebelumnya telah dilakukan oleh (Gredi *et al.*, 2017). Dari hasil penelitian dapat diketahui bahwa nilai indeks polidispersi pada masing-masing replikasi menunjukkan bahwa nilai yang diperoleh sesuai dengan nilai PDI pada umumnya dibawah 0,3 dengan masing-masing nilai 0,239; 0,119; 0,148. Hal ini sudah sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh (Pakki *et al.*, 2016).

Hasil presentase uji transmittan 90%-100% menunjukkan bahwa formulasi tersebut memiliki penampakan visual yang jernih dan transparan (Costa *et al.*, 2012). Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan nilai dari hasil pembacaan % transmittan (%T) menunjukkan bahwa sediaan nanopartikel ekstrak daun insulin memiliki penampakan visual yang jernih dan transparan dengan hasil persentase 98,369%; 96,695%; dan 97,002%.

**Tabel 4.** Hasil Karakterisasi Ukuran Partikel dan Persen Transmittan

Kitosan 0,08% : NaTPP 0,01%	Ekstrak	Ukuran Partikel (d.nm)	Indeks Polidispersitas	Nilai Transmittan
100 : 350	0,1 gram	220,6	0,239	98,369%
		194,1	0,119	96,695%
		184,6	0,148	97,002%

## f. Pengujian DPPH (2,2-Diphenyl Picrylhydrazil)

### 1) Penentuan Panjang Gelombang DPPH

Pengukuran  $\lambda$  maksimum DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dilakukan dengan cara dipipet 1,0 ml larutan DPPH 0,4 mM ditambahkan dengan 4,0 ml etanol p.a sampai tanda batas labu ukur 5 ml kemudian didiamkan ditempat yang gelap selama 30 menit. Tujuan dilakukan inkubasi selama 30 menit agar reaksi antar larutan dapat berlangsung dengan sempurna (Andi *et al.*, 2014). Inkubasi DPPH didiamkan pada tempat yang gelap karena DPPH sangat rentan terhadap sinar cahaya (Hasanah *et al.*, 2017). Serapan diukur dengan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 450-550 nm.

**Tabel 5.** Hasil pengukuran  $\lambda$  maksimum DPPH pada panjang gelombang 450-550 nm

$\lambda$ (Panjang Gelombang)	Absorbansi DPPH
511	0,771
512	0,774
513	0,776
514	0,778
515	0,780
516	0,780
517	0,780
518	0,779
519	0,778
520	0,776

### 2) Penentuan *Operating Time* DPPH

Penentuan *operating time* bertujuan untuk mengetahui waktu yang dibutuhkan untuk tepat habis bereaksi. *Operating time* adalah waktu yang dibutuhkan suatu senyawa untuk bereaksi dengan senyawa lain membentuk suatu produk senyawa yang stabil. Dengan mengamati absorbansi dari waktu reaksi hingga absorbansi yang stabil (Anggraini, 2017).

Berdasarkan penelitian sebelumnya waktu *operating time* diperoleh pada menit ke-20 dengan nilai absorbansi 0,211 (Mulangsri *et al.*, 2017). Penelitian yang telah dilakukan oleh (Fauzi *et al.*, 2021) menunjukkan hasil *operating time* yang berbeda yaitu pada menit ke-40.

## 9. Penentuan Aktivitas Antioksidan

### 1) Pengujian Aktivitas Antioksidan Vitamin C

Vitamin C digunakan sebagai pembanding karena vitamin C merupakan antioksidan alami yang telah terbukti memberikan aktivitas lebih kuat dibandingkan antioksidan sintetik seperti BHT (Anggraini, 2017).

**Tabel 6.** Hasil Pengukuran Aktivitas Antioksidan Vitamin C

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Rerata±SD	% Aktivitas	IC <sub>50</sub>
	I	II	III			
2 ppm	0,449	0,426	0,419	0,431±0,016	44,70	
4 ppm	0,377	0,355	0,359	0,364±0,012	53,38	
6 ppm	0,337	0,295	0,299	0,310±0,023	60,21	3,25
8 ppm	0,285	0,243	0,255	0,261±0,022	66,54	
10 ppm	0,230	0,200	0,208	0,213±0,016	72,74	

Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai IC<sub>50</sub> yang diperoleh vitamin C sebagai kontrol positif adalah 3,25 ppm. Senyawa dikatakan memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat karena nilai IC<sub>50</sub> < 50 µg/mL.

## 2) Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Nanopartikel Daun Insulin (*Tithonia diversifolia*)

Tabel 7. Hasil pengukuran aktivitas antioksidan nanopartikel daun insulin

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Rerata±SD	% Aktivitas	IC <sub>50</sub>
	1	2	3			
5 ppm	0,606	0,600	0,598	0,601±0,004	22,91	
10 ppm	0,598	0,597	0,597	0,597±0,001	23,42	
15 ppm	0,596	0,596	0,595	0,596±0,001	23,63	578,383
20 ppm	0,596	0,595	0,594	0,595±0,001	23,72	
25 ppm	0,594	0,593	0,593	0,593±0,001	23,93	

Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai IC<sub>50</sub> dari nanopartikel ekstrak daun insulin adalah 578,383 ppm. Senyawa masuk dalam kategori sangat lemah karena nilai nilai IC<sub>50</sub> > 150 µg/mL

## SIMPULAN (PENUTUP)

Ekstrak etanol 96% daun insulin mengandung antioksidan yang lemah kemungkinan karena formula dari nanopartikel yang memiliki volume NaTPP terlalu besar ataupun konsentrasi yang digunakan terlalu kecil.

## SARAN

Saran untuk penelitian selanjutnya dapat dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai formula nanopartikel dan konsentrasi nanopartikel yang tepat.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdassah, M. (2017). Nanopartikel dengan gelasi ionik. *Jurnal Farmaka*, 15(1), 45–52.
- Agustina, W., Nurhamidah, & Handayani, D. (2017). Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Beberapa Fraksi dari Kulit Banteng Jarak (*Ricinus communis L.*). *Jurnal Pendidikan Dan Ilmu Kimia*, 1(2), Hlm. 117-122.
- Ammanati, & Sulistyowati, E. (2015). *Structure Elucidation of the Leaf of Tithonia diversifolia* *Jurnal Sains dan Matematika*. 23(4), 101–106.
- Bakti, A. A., Triyasmono, L., & Rizki, M. I. (2017). Penentuan Kadar Flavonoid Total dan Uji Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kasturi (*Mangifera casturi Kosterm.*) dengan Metode DPPH. *Jurnal Pharmascience*, 4(1), 102–108. <https://doi.org/10.20527/jps.v4i1.5762>
- Dewatisari, W. F., Rumiyantri, L., & Rakhmawati, I. (2018). Rendemen dan Skrining Fitokimia pada Ekstrak Daun Sansevieria sp . Rendemen and Phytochemical Screening using Leaf extract of Sansevieria Sp . *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 17 (3)(January), 197–202. <http://www.jurnal.polinela.ac.id/JPPT>
- Didit, P., Bahri, S., & Ridhay, A. (2017). *I\* , 1 , 1. 3*(April), 24–32.
- Hani, R. C., & Milanda, T. (2016). Review: Manfaat Antioksidan Pada Tanaman Buah Di Indonesia. *Farmaka*, 14(1), 184–190.
- Hanif, A. Q., Nur, Y., & Rijai, L. (2018). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Batang Kenitu (*Chrysophyllum cainito L.*) dengan Dua Metode Ekstraksi. *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 8(November 2018), 8–13. <https://doi.org/10.25026/mpc.v8i1.296>
- Hikmawanti, N. P. E., Prastiwi, R., Dewanti, E., Ladeska, V., Sjahid, L. R., & Anggia, V. (2019). *Penanganan Simplisia*.
- Irnawati, Purba, M., Mujadilah, R., & Sarmayani. (2017). Penetapan Kadar Vitamin C Dan Uji Aktifitas Antioksidan Sari Buah Songi (*Dillenia Serrata Thunb.*). *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 6(2), 40–44.
- Julianawati, T., Hendaro, H., & Widjiati. (2020). *Penetapan Total Flavonoid, Aktivitas Antioksidan dan Karakterisasi Nanopartikel Ekstrak Etanol Daun Kelor (Moringa pterygosperma Gaertn.)*. 2017(1), 1–9.
- Julianto, T. S. (2019). Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia. In *Journal of Chemical Information and Modeling* (Vol. 53, Issue 9). <http://library.uui.ac.id>; e-mail: [perpustakaan@uui.ac.id](mailto:perpustakaan@uui.ac.id)

- Khoirunnisa, I., & Sumiwi, S. A. (2019). Flavonoid pada berbagai aktivitas farmakologi. *Fakultas Farmasi Univertas Padjajaran, 17-02*, 131–142.
- Kurniawati. (2015). Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Tunas Bambu Apus Terhadap Bakteri Escherichia Coli dan Staphylococcus Aureus Secara In Vitro. *Jurnal Wiyata, 2(2)*, 193–199.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicryl- hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal of Science and Technology, 26(2)*, 211–219.
- Ningsih, I. Y. (2016). Penanganan Pasca Panen. *Universitas Jember, 8–30*.
- Nugraha, A., Firmansyah, M., & Jumaryatno, P. (2017). Profil Senyawa Dan Aktifitas Antioksidan Daun Yakon (*Smallanthus Sonchifolius*) Dengan Metode Dpph Dan Cuprac. *Jurnal Ilmiah Farmasi, 13(1)*, 15–18. <https://doi.org/10.20885/jif.vol13.iss1.art3>
- Pahlawan, P. P., & Oktaria, D. (2016). Pengaruh Daun Insulin (*Smallanthus sonchifolius*) sebagai Antidiabetik. *Majority, 5(4)*, 133.
- Pakki, E., Sumarheni, F. A., & Safirahidzni, S. (2016). *FORMULASI NANOPARTIKEL EKSTRAK BAWANG DAYAK (Eleutherine americana (Aubl) Merr) DENGAN VARIASI KONSENTRASI KITOSAN-TRIPOLIFOSFAT (TPP)*. 3(4), 251–263.
- Prasditya, Y. (2017). *Uji Kandungan Total Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Biji Buah Labu Kuning (Curcuma maxima D.) Dengan Metode DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl)*. Universitas Ngudi Waluyo Ungaran.
- Ramadhani, M. A., Hati, A. K., Lukitasari, N. F., & Jusman, A. H. (2020). Skrining Fitokimia dan Penetapan Kadar Flavonoid Total serta Fenolik Total Ekstrak Daun Insulin ((*Tithonia diversifolia*) dengan Maserasi Menggunakan Pelarut Etanol 96%. *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product, 03(01)*, 8–18.