

ABSTRAK

Daun kratom (*Mitragyna speciosa*) merupakan tanaman endemik Kalimantan Barat yang berpotensi sebagai antioksidan alami. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan fraksinya (fraksi etanol, fraksi etil asetat, dan fraksi n-Heksan) yang berasal dari ekstrak etanol daun kratom berdasarkan nilai persen inhibisi (% inhibisi), serta menentukan nilai IC_{50} dari sampel dengan aktivitas terbaik. Ekstraksi dilakukan melalui maserasi menggunakan etanol 96%, dilanjutkan fraksinasi cair-cair dengan pelarut etanol, n-heksan dan etil asetat. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH pada panjang gelombang maksimum 519 nm. Uji awal menggunakan larutan sampel 50 ppm yang dicampur dengan DPPH 100 ppm. Hasil menunjukkan bahwa semua sampel memiliki aktivitas antioksidan. Ekstrak etanol memiliki % inhibisi tertinggi sebesar 59,081%, diikuti fraksi etil asetat (51,922%), fraksi etanol (28,678%), dan fraksi n-Heksana (9,219%). Penentuan nilai IC_{50} dilakukan pada ekstrak etanol menggunakan seri konsentrasi 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm, dan diperoleh nilai rata-rata IC_{50} sebesar 36,195 ppm yang tergolong sebagai antioksidan sangat kuat. Oleh karena itu, ekstrak etanol daun kratom berpotensi dikembangkan sebagai sumber antioksidan alami.

Kata kunci: aktivitas antioksidan, DPPH, ekstrak etanol, IC_{50} , *Mitragyna speciosa*,

ABSTRACT

Kratom leaves (Mitragyna speciosa) are endemic plants of West Kalimantan and have potential as natural antioxidants. This study aimed to determine the antioxidant activity of ethanol extract and its fractions (ethanol fraction, ethyl acetate fraction, and n-hexane fraction), all derived from the ethanol extract of kratom leaves, based on the percentage of inhibition (% inhibition), and to determine the IC₅₀ value of the sample with the best antioxidant activity. Extraction was carried out through maceration using 96% ethanol, followed by liquid-liquid fractionation using ethanol, n-hexane, and ethyl acetate as solvents. Antioxidant activity was tested using the DPPH method at a maximum wavelength of 519 nm. The initial test used a 50 ppm sample solution mixed with 100 ppm DPPH. The results showed that all samples exhibited antioxidant activity. The ethanol extract had the highest % inhibition at 59.081%, followed by the ethyl acetate fraction (51.922%), ethanol fraction (28.678%), and n-hexane fraction (9.219%). IC₅₀ determination was conducted on the ethanol extract using a concentration series of 10, 20, 30, 40, and 50 ppm, resulting in an average IC₅₀ value of 36.195 ppm, which is classified as a very strong antioxidant. Therefore, ethanol extract of kratom leaves has great potential to be developed as a natural antioxidant source.

Key words: antioxidant activity, DPPH, ethanol extract, IC₅₀, *Mitragyna speciosa*

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Antioksidan adalah senyawa yang berperan dalam menghambat, menunda, atau bahkan mencegah reaksi oksidasi lipid yang dipicu oleh radikal bebas. Radikal bebas sendiri merupakan atom atau gugus atom yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan, sehingga bersifat sangat reaktif (Puspitasari *et al.*, 2025). Antioksidan mampu menghambat terbentuknya radikal bebas dengan cara menetralkan atau menstabilkan senyawa radikal yang bersifat reaktif tersebut (Setyawati, 2020). Radikal bebas merupakan atom yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Senyawa ini dikenal sangat reaktif, tidak stabil, dan hanya bertahan dalam waktu singkat. Dalam upaya mencapai kestabilannya, radikal bebas akan mengambil elektron dari molekul lain di dalam tubuh. Proses ini berpotensi merusak struktur biomolekul penting seperti protein, lipid, dan DNA. Kerusakan tersebut dapat memicu peningkatan stres oksidatif yang berhubungan dengan berbagai kondisi kesehatan, seperti penyakit neurodegeneratif, diabetes melitus, gangguan kardiovaskular, penuaan dini, hingga kanker. (Puspitasari *et al.*, 2025).

Salah satu sumber antioksidan eksogen yang dapat berperan dalam memerangkap radikal bebas adalah tanaman. Salah satu tanaman yang terbukti memiliki aktivitas antioksidan adalah kratom (*Mitragyna Speciosa Korth.*) (Setyawati, 2020). Kratom merupakan tanaman endemik dari Putussibau, Kalimantan Barat. Bagian dari tanaman kratom yang sering dimanfaatkan

adalah daunnya. Daun kratom biasanya dikonsumsi sebagai teh, dikunyah langsung, atau dibuat rokok. Kratom biasanya dijual dalam bentuk kapsul, daun kering, dan tepung (serbuk) (Setyawati, 2020).

Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak daun kratom mengandung beragam senyawa bioaktif yang berpotensi memberikan efek antioksidan. Senyawa-senyawa tersebut meliputi alkaloid, flavonoid, triterpenoid, saponin, serta tanin (Ramadhan, 2025). Sementara itu, *mitragynine* dan *7-hidroksi mitragynine* diketahui sebagai senyawa alkaloid dengan persentase terbesar pada daun kratom hijau (Wahyono, 2019). Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kratom hijau memiliki potensi aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 91,86 oleh Setyawati & Lestari (2020), lalu 38,56 oleh Yuniarti *et al* (2020), dan 26,39 oleh Melania *et al* (2024).

Diketahui penggunaan pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda, seperti etanol, etil asetat, dan n-Heksana, penting untuk diteliti lebih lanjut. Hal ini dikarenakan perbedaan polaritas pelarut dapat memengaruhi jenis serta jumlah senyawa metabolit sekunder yang terekstraksi. Variasi ini berkontribusi pada perbedaan aktivitas antioksidan yang dihasilkan, mengingat senyawa antioksidan yang larut dalam masing-masing pelarut juga berbeda (Seran *et al.*, 2023).

Dalam hal ini proses fraksinasi dapat dilakukan untuk memisahkan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak kental menjadi beberapa fraksi berbeda berdasarkan polaritas pelarut yang digunakan. Jenis pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi dan fraksinasi sangat mempengaruhi jenis dan jumlah

senyawa yang terekstraksi. Pelarut dengan polaritas berbeda akan mengekstraksi senyawa dengan polaritas yang sesuai.

Maka pada penelitian ini dipilihlah pelarut non-polar seperti n-Heksan yang mengekstraksi senyawa non-polar, sedangkan pelarut polar adalah etanol dan etil asetat akan mengekstraksi senyawa semi-polar. Perbedaan jenis pelarut pada fraksi ini diharapkan akan mempengaruhi aktivitas antioksidan dari ekstrak atau fraksi yang dihasilkan, karena senyawa antioksidan memiliki polaritas yang beragam. Pengujian akan dilakukan dengan menentukan aktivitas antioksidan masing-masing dengan parameter berupa persen inhibisi (% aktivitas antioksidan).

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah sampel uji ekstrak etanol, fraksi etanol, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksan dari daun kratom (*Mitragyna speciosa*) memiliki aktivitas sebagai antioksidan?
2. Berapakah nilai IC_{50} pada sampel uji ekstrak etanol, fraksi etanol, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksan dari daun kratom (*Mitragyna speciosa*) yang memiliki aktivitas antioksidan terbaik?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui sampel uji ekstrak etanol, fraksi etanol, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksan dari daun kratom (*Mitragyna speciosa*) memiliki aktivitas sebagai antioksidan.
2. Untuk mengetahui nilai IC_{50} dari persen inhibisi terbaik pada sampel uji ekstrak etanol, fraksi etanol, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksan dari daun kratom (*Mitragyna speciosa*) yang memiliki aktivitas antioksidan.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Bagi Peneliti

Penelitian ini akan memperluas pengetahuan peneliti mengenai pengaruh pelarut pada daun kratom terhadap aktivitas antioksidannya, serta menyediakan data yang berharga untuk referensi akademik.

2. Bagi Instansi

Hasil penelitian ini dapat diterapkan oleh instansi yang bergerak di bidang industri farmasi dan kosmetik untuk mengoptimalkan aktivitas antioksidan, serta dapat digunakan untuk menetapkan pedoman atau standar baru dalam regulasi produk obat yang berbasis pada daun kratom.

3. Bagi Masyarakat

Penelitian ini dapat meningkatkan manfaat terapeutik dari produk berbasis daun Kratom dengan memaksimalkan potensi aktivitas antoksidan, serta dapat meningkatkan kesadaran masyarakat tentang potensi kesehatan dari tanaman ini, bahkan membuka peluang ekonomi baru bagi komunitas lokal yang terlibat dalam budidaya dan pemanfaatan daun kratom.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Kratom (*Mitragyna speciosa*)

2.1.1 Kratom (*Mitragyna speciosa*)

Tanaman Kratom diklasifikasikan sebagai berikut:

Kerajaan	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Tracheophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i> (dicots)
Ordo	: <i>Gentianales</i>
Famili	: <i>Rubiaceae</i>
Genus	: <i>Mitragyna</i>
Spesies	: <i>Mitragyna speciosa</i> Korth.



Gambar 1. Daun Kratom (*Mitragyna speciosa*)

Sumber: Dokumentasi pribadi (2024)

2.1.2 Morfologi Kratom (*Mitragyna speciosa*)

Habitus tanaman ini berupa pohon berkayu setinggi 10-30 meter, umumnya tumbuh secara soliter atau berdekatan dengan jenis yang serupa.

Batang lurus dengan kulit batang berwarna abu-abu kehijauan saat masih muda dan cenderung menjadi abu-abu kecoklatan ketika tua. Tekstur permukaan batang (*epidermis*) saat muda lebih mulus dibanding saat tua yang cenderung lebih kasar dan memiliki banyak pustular lentisel (*pustular lenticeles*). Pada satu batang muda terdapat 10-12 daun yang berpasangan, tumbuh berhadapan dan bersilangan. Sepasang daun tumbuh diikuti dengan dua daun penumpu antar tangkai daun (*interpetiolar stipule*), daun penumpu (*stipule*) tepatnya berada di atas berdekatan atau sedikit di atas dua tangkai daun (*petiole*). Ujung batang pohon diakhiri dengan bunga dan buah yang tumbuh di bagian ketiak daun (*axil*) di antara beberapa daun (Shellard & Lees, 1965).

Daun kratom berbentuk elips hingga bulat telur (*ovate*), berukuran 10-20 x 7-12 cm, memiliki tulang daun sekunder yang tampak jelas berjumlah 12-17 pasang. Warna daun hijau dan cenderung lebih muda dan kontras dibanding warna hijau tanaman di sekitarnya. Tekstur daun seperti kertas dengan ujung daun berbentuk lancip dan pangkal daun bulat atau berbentuk seperti hati (*sub cordate*). Permukaan atas daun tidak berambut, sedangkan permukaan bawah tepatnya pada tulang daun utama dan urat daun lateral sedikit berambut. Umumnya warna tulang dan urat daun berwarna coklat pucat atau coklat kemerahan, tetapi terdapat pula beberapa jenis kratom dengan warna tulang dan urat daun berwarna hijau. Daun penumpu berbentuk seperti tombak (*lanceolatus*) dengan panjang 2-4 cm, berambut jarang dan memiliki 9 urat daun (Shellard & Lees, 1965).

2.1.3 Kandungan Senyawa Kimia

Penelitian fitokimia terkait senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam kratom telah dimulai sejak lama. Berdasarkan beberapa hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa kratom memiliki 57 senyawa, 40 diantaranya termasuk golongan senyawa alkaloid (Meireles *et al.*, 2019). Senyawa metabolit sekunder lain yang cukup dominan, diantaranya golongan triterpenoid, flavonoid, steroid, saponin, monoterpenoid dan sekoiroidoid (Gogineni *et al.*, 2014).

Alkaloid adalah senyawa-senyawa organik yang terdapat dalam tumbuh-tumbuhan, bersifat basa, dan struktur kimianya mempunyai lingkaran heterosiklis dengan nitrogen sebagai hetero atomnya. (Sumardjo, 2009). Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme kerjanya adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh, terganggunya sintesis peptidoglikan sehingga pembentukan sel tidak sempurna karena tidak mengandung peptidoglikan dan dinding selnya hanya meliputi membran sel. Rusaknya dinding sel akan menyebabkan terhambatnya perumbuhan sel bakteri dan pada akhirnya bakteri akan mati (Dharma *et al.*, 2020)

2.1.4 Manfaat Kratom (*Mitragyna speciosa*)

Kratom telah digunakan secara tradisional di Asia Tenggara selama setidaknya satu abad terakhir. Penggunaan tradisional daun kratom secara alami belum menimbulkan masalah kesehatan, penyalahgunaan dan keracunan dalam skala besar. Dalam beberapa tahun terakhir, informasi

penggunaan kratom cukup menarik perhatian di Indonesia. Kapuas Hulu sebagai daerah penghasil kratom, menjadikan kratom sebagai tanaman yang membawa keberkahan, terutama dari sisi ekonomi. Kratom terutama digunakan sebagai analgesik serta mengatasi gejala putus obat (*withdrawal*) opioid (Wahyono, 2019).

Penggunaan kratom pertama kali didokumentasikan pada tahun 1836, disebutkan bahwa daun kratom digunakan di Malaysia sebagai pengganti opium. Pada awal tahun 1900, dilaporkan dalam literatur ilmiah bahwa daun kratom dapat meringankan gejala putus obat golongan opiat. Secara tradisional kratom digunakan untuk mengatasi malaria, batuk, hipertensi, diare, stress, menurunkan demam, dan meredakan nyeri. Penggunaan kratom memiliki sejarah tradisi panjang di Thailand dan Asia Tenggara (Griffin, 2018). Budaya tradisional Thailand menggunakan daun kratom sebagai jamuan teh saat menerima tamu serta bagian dari ritual pemujaan leluhur dan dewa (Singh *et al.*, 2016). Pohon kratom tumbuh alami di wilayah Malaysia, Thailand, dan Indonesia, sehingga penggunaannya secara tradisional telah menjadi bagian dari tatanan sosial di daerah tersebut selama ratusan tahun (Veltri & Grundmann, 2019).

2.2 Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain simplisia merupakan bahan yang dikeringkan. Simplisia dapat berupa bahan simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan atau mineral. Simplisia nabati adalah simplisia berupa bagian tanaman atau eksudat tanaman. Simplisia

hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat yang berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia yang berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni (Depkes RI., 1985). Pada umumnya pembuatan simplisia meliputi tahapan sebagai berikut: Pengumpulan bahan baku, sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering, pengepakan, penyimpanan dan pemeriksaan mutu (Depkes RI., 1985):

1. Pengumpulan Bahan Baku

Kadar senyawa aktif dalam suatu simplisia berbeda-beda antara lain tergantung pada:

- a. Bagian tanaman yang digunakan

Bagian tanaman yang digunakan daun kratom.

- b. Umur tanaman atau bagian tanaman pada saat panen.

Umur tumbuhan atau bagian yang dipanen tidak tepat dan berbeda-beda. Umur tumbuhan atau bagian tanaman yang dipanen berpengaruh pada kadar senyawa aktif. Ini berarti bahwa mutu yang dihasilkan sering tidak sama, karena umur saat panen tidak sama (Depkes RI., 1985).

- c. Waktu Panen

Waktu panen yang tepat pada saat bagian tanaman tersebut mengandung senyawa aktif dalam jumlah terbesar. Senyawa aktif yang terbentuk secara maksimal didalam bagian tanaman atau tanaman pada umur tertentu (Depkes RI., 1985).

d. Lingkungan tempat tumbuh

Lingkungan tempat tumbuh yang berbeda sering mengakibatkan perbedaan kadar kandungan senyawa aktif. Pertumbuhan tumbuhan dipengaruhi tinggi tempat, keadaan tanah dan cuaca (Depkes RI., 1985).

2. Sortasi basah

Sortasi basah dilakukan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya dari bahan simplisia. (Depkes RI., 1985).

3. Pencucian

Pencucian dilakukan untuk menghilangkan tanah atau pengotoran lainnya yang melekat pada bagian simplisia (Depkes RI., 1985).

4. Perajangan

Perajangan bahan simplisia dilakukan untuk mempermudah proses pengeringan, pengepakan dan penyimpanan (Depkes RI., 1985).

5. Pengeringan

Tujuan pengeringan ialah untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Pengeringan dilakukan sampai kadar air $<5\%$, sebab pada kadar air tersebut reaksi enzimatik akan berhenti dan tidak akan timbul pembusukan atau tumbuh jamur. Hal-hal yang perlu diperhatikan dalam pengeringan antara lain:

- a. Suhu pengeringan (tergantung pada bahan simplisia dan cara pengeringannya). Bahan simplisia dapat dikeringkan pada suhu 30-

90 °C, tetapi suhu yang terbaik <60 °C, untuk zat yang mudah menguap atau tidak tahan panas harus dikeringkan pada suhu serendah mungkin, misalnya 30-45 °C atau dengan cara pengeringan vakum.

- b. Kelembaban udara
- c. Aliran udara
- d. Waktu pengeringan
- e. Luas permukaan bahan (Depkes RI., 1985).

6. Sortasi Kering

Tujuan sortasi kering yaitu memisahkan simplisia yang sudah kering dari bahan pencemaran yang masih ada (Depkes RI., 1985).

7. Pengepakan

Simplisia harus dikemas dalam wadah yang sesuai dengan sifat simplisianya. Hal yang perlu diperhatikan:

- a. Wadah tidak beracun
- b. Wadah tidak bereaksi dengan simplisia
- c. Wadah dapat menghindarkan simplisia dari kelembaban, penyerapan, air, penguapan zat berkhasiat dan sebagainya (Depkes RI., 1985).

8. Penyimpanan

Sebaiknya simplisia disimpan pada:

- a. Ruang yang sejuk dan kering (temperatur 15-30 °C, bahkan pada temperature dingin 0-5 °C).

- b. Ruangan dengan ventilasi udara yang cukup.
- c. Ruangan yang dapat menghindarkan simplisia tersebut dari sinar matahari langsung, air hujan, serangga, binatang-binatang lain serta pencemaran (Depkes RI, 1985).

2.3 Ekstrak dan Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes., 1995). Ada beberapa jenis ekstrak yakni ekstrak cair, ekstrak kental dan ekstrak kering. Ekstrak cair jika hasil ekstraksi masih bisa dituang, biasanya kadar air lebih dari 30%. Ekstrak kental jika memiliki kadar air antara 5-30%. Ekstrak kering jika mengandung kadar air kurang dari 5% (Voigt., 1994).

Ekstraksi adalah penarikan komponen senyawa yang diinginkan dari suatu sampel dengan menggunakan pelarut yang dipilih dimana komponen senyawa yang diinginkan larut. Pemilihan pelarut yang digunakan dalam ekstraksi berdasarkan daya larut zat aktif dan zat yang tidak diinginkan, juga bergantung pada tipe preparat farmasi yang diperlukan (Ansel., 1989).

Ekstraksi dilakukan untuk mengambil zat-zat yang terkandung dalam suatu campuran. Ekstraksi merupakan proses yang secara selektif mengambil zat terlarut dengan bantuan pelarut. Metode pemisahan pada ekstraksi pelarut menggunakan prinsip kelarutan. Prinsip kelarutan adalah like dissolve like,

yaitu pelarut polar akan melarutkan senyawa polar dan pelarut nonpolar akan melarutkan senyawa nonpolar (Harborne., 1987).

2.4 Metode Ekstraksi

Ekstraksi dengan menggunakan pelarut.

1. Cara Dingin

a. Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang *continue* (terus menerus). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya (Depkes RI., 2000).

Maserasi merupakan cara ekstraksi yang sederhana. Istilah *maceration* berasal dari bahasa latin *macere*, yang artinya merendam. Jadi maserasi dapat diartikan sebagai proses dimana simplisia yang sudah halus memungkinkan untuk direndam dalam bejana sampai meresap dan melunakkan susunan sel, sehingga zat-zat yang mudah larut akan melarut (Ansel., 2011).

Maserat adalah sediaan cair yang dibuat dengan cara mengekstraksi bahan nabati yaitu direndam menggunakan pelarut bukan air (pelarut nonpolar) atau setengah air, misalnya etanol encer, selama periode waktu tertentu sesuai dengan aturan dalam buku resmi kefarmasian (Depkes RI., 1995). Rendemen ekstrak dikatakan baik apabila nilainya dilihat persen pada

rendemen ekstrak, rendemen ekstrak dilakukan baik apabila nilainya kurang dari 50% (Evitasari dan Susanti, 2021).

b. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada temperature ruangan. Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/ penampungan ekstrak), terus menerus sampai di peroleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan (Depkes RI., 2000).

2. Cara Panas

a. Soxhlet

Soxhlet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinudengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Depkes RI., 2000).

b. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar). yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50°C (Depkes RI., 2000).

c. Infusa

Infusa adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur (96-98 °C) selama waktu tertentu (15-20 menit) (Depkes RI., 2000).

d. Dekokta

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama (≥ 30 °C) dan temperatur sampai titik didih air (Depkes RI., 2000).

2.5 Fraksinasi

Fraksinasi adalah proses pemisahan senyawa dalam suatu ekstrak menggunakan dua jenis pelarut yang tidak saling bercampur. Pelarut yang umum digunakan dalam proses ini antara lain n-heksan, etil asetat, dan metanol. n-heksan digunakan untuk mengekstrak senyawa non polar seperti lemak, etil asetat untuk senyawa semi polar, sedangkan metanol digunakan untuk senyawa yang bersifat polar. Melalui proses ini, sifat kepolaran senyawa yang dipisahkan dapat diperkirakan, karena secara umum senyawa non polar akan larut dalam pelarut non polar, dan senyawa polar cenderung larut dalam pelarut polar. (Shina *et al*, 2024).

2.6 Antioksidan

Radikal bebas merupakan suatu senyawa atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital luarnya dan bersifat reaktif. Radikal bebas dapat masuk ke dalam tubuh dan menyerang sel-sel sehat dan menyebabkan sel-sel tersebut kehilangan fungsi dan strukturnya. Efek negatif dari radikal bebas terhadap tubuh tersebut dapat dicegah dengan senyawa antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menghambat reaksi radikal bebas dalam tubuh manusia. Adanya radikal bebas merupakan faktor penyebab sejumlah penyakit. Antioksidan berfungsi mengatasi atau menetralkan radikal bebas sehingga diharapkan dengan pemberian antioksidan tersebut dapat mencegah terjadinya kerusakan tubuh

dari timbulnya penyakit degeneratif yakni seperti kardiovaskular, *neurodegeneratif*, dan kanker (Fatmawati *et al.*, 2023).

Vitamin C atau asam askorbat merupakan salah satu contoh antioksidan alami penting dan secara signifikan dapat menurunkan efek samping spesies reaktif seperti reaktif oksigen yang dapat menyebabkan kerusakan dengan reaksi oksidatif pada makromolekul seperti lipid, DNA, dan protein, yang mana terlibat dalam penyakit kronis termasuk penyakit *neurodegeneratif* (Cahyani, *et al.*, 2020). Selain itu menurut Fatwami & Royani (2023) senyawa fenolik dan alkaloid telah terbukti berpotensi sebagai antioksidan alami berasal dari tumbuhan yang memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder tersebut dapat digunakan sebagai penangkal radikal bebas mempunyai sifat sebagai fitofarmaka. Penentuan aktivitas antioksidan suatu zat dapat dilakukan dengan metode DPPH (Fatmawati *et al.*, 2023).

2.7 Metode DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl)

Aktivitas antioksidan diukur berdasarkan transfer elektron atau proses donasi atom hidrogen yang dilakukan oleh antioksidan. Semula DPPH yang berwarna ungu pekat, namun setelah mengalami reduksi maka DPPH akan berubah menjadi senyawa *difenil pikril hidrazin* atau DPPH-H yang warnanya akan berangsur-angsur memudar menjadi warna kuning dan DPPH tidak memberikan serapan pada panjang gelombang 517 nm. Nilai serapannya akan sebanding dengan jumlah elektron yang diterima. Metode DPPH memiliki keunggulan yaitu metode analisisnya yang bersifat sederhana, cepat, mudah dan sensitif terhadap sampel dengan konsentrasi yang kecil (Fatmawati *et al.*, 2023).

Metode ini menggunakan persen inhibisi (% aktivitas antioksidan), yaitu merupakan salah satu parameter yang menunjukkan kemampuan suatu antioksidan dalam menghambat radikal bebas. Tinggi atau rendahnya aktivitas antioksidan sampel dengan metoda penangkapan radikal DPPH ini diketahui dari persentase inhibisinya. Semakin besar nilai persentase inhibisi sampel maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Proses inhibisi dapat terjadi ketika radikal DPPH bereaksi dengan senyawa antioksidan melalui pengambilan ion hidrogen (Palimbong *et al.*, 2020) .

Persen inhibisi (% inhibisi) dapat menggambarkan kemampuan senyawa antioksidan dalam sampel untuk menangkap radikal bebas pada konsentrasi larutan uji. Naiknya % inhibisi dipengaruhi oleh menurunnya nilai absorbansi DPPH yang dihasilkan oleh sampel. Hal ini mengakibatkan semakin tinggi konsentrasi sampel, maka semakin kecil nilai absorbansinya, sehingga mengakibatkan % inhibisi semakin naik (Kamoda *et al.*, 2021). Sementara itu metode IC_{50} (Inhibitory Concentration 50%) digunakan sebagai parameter untuk menentukan konsentrasi efektif (ppm) zat antioksidan yang mampu menghambat aktivitas suatu radikal bebas sebesar 50% proses oksidasi. Semakin kecil nilai IC_{50} , semakin tinggi aktivitas antioksidan. Selanjutnya, dibuat kurva hubungan antara konsentrasi dan persen inhibisi untuk menentukan nilai (Yuniarti *et al.*, (2020).

Persentase inhibisi, yang berkisar antara 0–100%, merupakan indikator kuantitatif untuk mengukur efektivitas senyawa antioksidan dalam menghambat radikal bebas. Nilai ini dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti konsentrasi antioksidan dan oksidan, jenis pelarut, rasio reagen, waktu

inkubasi, suhu, serta keberadaan logam, hidrogen, atau air dalam sistem pengukuran. Rentang persentase inhibisi yang ideal untuk evaluasi aktivitas antioksidan adalah 50–90%, karena pada kisaran ini hubungan antara konsentrasi antioksidan dan aktivitas penghambatan masih bersifat linier, sehingga meminimalkan risiko kesalahan pengukuran yang sering terjadi saat nilai inhibisi melebihi 90% akibat ketidaklinearan respons. Untuk menyeleksi senyawa potensial, sampel dengan inhibisi >50% pada konsentrasi ppm yang diuji dipilih untuk analisis lanjutan melalui penentuan nilai IC_{50} , yang merepresentasikan konsentrasi senyawa yang dibutuhkan untuk menghambat 50% aktivitas radikal bebas. Semakin rendah nilai IC_{50} semakin kuat aktivitas antioksidan senyawa tersebut, karena menunjukkan efisiensi penghambatan yang tinggi pada konsentrasi rendah. Dengan demikian, kombinasi antara persentase inhibisi dalam rentang optimal dan validasi melalui IC_{50} menjadi pendekatan untuk menilai potensi antioksidan secara akurat dan terukur (Olszowy-Tomczyk, M, 2021).

2.8 Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer adalah alat untuk mengukur transmittan atau absorban suatu sampel sebagai fungsi panjang gelombang, tiap media akan menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu tergantung pada senyawa atau warna yang terbentuk (Cairns., 2009)

Spektrofotometer merupakan alat yang digunakan untuk mengukur absorbansi dengan cara melewatkan cahaya dengan panjang gelombang tertentu pada suatu objek kaca atau kuarsa yang disebut kuvet. Sebagian dari cahaya tersebut akan di serap dan sisanya akan dilewatkan. Nilai absorbansi

dari cahaya yang di serap sebanding dengan konsentrasi larutan di dalam Kuvet (Sastrohamidjojo., 2007).

Spektrofotometer UV-Vis adalah pengukuran serapan cahaya di daerah ultraviolet (200-350nm) dan sinar tampak (350-800nm) oleh suatu senyawa. Serapan cahaya UV atau Vis (cahaya tampak) mengakibatkan transisi elektronik, yaitu promosi elektron-elektron dari orbital keadaan dasar yang berenergi rendah ke orbital keadaan tereksitasi berenergi lebih rendah.

Spektrofotometer UV-Vis merupakan salah satu jenis spektroskopi yang sering digunakan dalam analisis kimia dan biologi. Spektrofotometer ini didasarkan pada interaksi antara materi dengan radiasi elektromagnetik. Apabila seberkas radiasi (cahaya) dikenakan pada cuplikan (larutan sampel), maka sebagian dari cahaya diserap oleh molekul-molekul sesuai dengan struktur dari molekul. Setiap senyawa dalam sampel memiliki tingkatan tenaga yang spesifik. Bila cahaya mempunyai perbedaan energi antara tingkatan dasar dan tingkatan tereksitasi yang mengenai cuplikan, maka elektron elektron pada tingkatan dasar akan dieksitasi ke tingkatan tereksitasi, dan sebagian energi cahaya yang sesuai diserap dengan panjang gelombang ini. Elektron yang tereksitasikan melepaskan tenaga melalui proses radiasi panas dan akan kembali pada tingkatan dasar lagi. Perbedaan energi antara tingkat dasar dengan tingkat tereksitasi yang spesifik untuk tiap-tiap bahan/senyawa menyebabkan frekuensi yang diserap juga berbeda-beda (Sastrohamidjojo., 2001).

Spektrofotometer adalah alat yang terdiri dari spektrometer dan fotometer. Spektrometer menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang

tertentu dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan, direfleksikan atau diemisikan sebagai fungsi dari panjang gelombang. Suatu spektrofotometer tersusun dari sumber spektrum tampak yang kontinu, monokromator, sel pengabsorpsi untuk larutan sampel atau blanko dan suatu alat untuk mengukur perbedaan absorpsi antara sampel dan blanko ataupun pembandingan (Khopkar., 2007).

Jika sinar monokromatik melewati suatu senyawa maka sebagian sinar akan diabsorpsi, sebagian dipantulkan dan sebagian lagi akan dipancarkan. Hubungan antara absorbansi terhadap konsentrasi akan linier ($A \approx C$) apabila nilai absorbansi larutan antara 0,2-0,8 ($0,2 \leq A < 0,8$) atau sering disebut sebagai daerah berlakunya hukum Lambert-Beer. Nilai regresi yang lebih dari 0,9 menunjukkan adanya hubungan yang sangat baik antara kedua parameter, yaitu konsentrasi dan absorban, sehingga rentang konsentrasi tersebut dapat dijadikan acuan untuk penetapan konsentrasi masing-masing analit pada uji validasi yang lain. Jika suatu larutan uji melewati rentang maka perlu diencerkan kembali hingga dapat memberikan absorbansi antara 0,2-0,8. (Schober & Schwarte, 2018). Semakin banyak sinar diabsorpsi oleh sampel organik pada panjang gelombang tertentu, semakin tinggi absorban, yang dinyatakan dalam hukum Lambert-Beer (Suhartati, 2017).

$$A = \log I_0/I = a \cdot b \cdot c = \epsilon \cdot b \cdot c$$

Keterangan:

A = absorban a = absorptivitas ($\text{g}^{-1} \text{cm}^{-1}$)

b = lebar sel yang dilalui sinar (cm)

c = konsentrasi (mol/L)

ε = ekstinsi (absorptivitas) molar ($M^{-1}cm^{-1}$)

I_0 = intensitas sinar sebelum melalui sampel

I = intensitas sinar setelah melalui sampel

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain alat gelas beker, timbangan analitik, batang pengaduk, aluminium foil, labu takar, kuvet, *Rotary vacuum evaporator*, corong pisah, kain, corong kaca, bejana maserasi, pipet tetes, pipet mekanik, Spektrofotometer UV-Vis, dan gelas ukur 100 ml.

3.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah daun kratom, etanol 96%, etil asetat, n-Heksan, pereaksi Mayer (*kalium tetraiodomerkurat* (II)), pereaksi Wagner (*iodin* dalam *kalium*), pereaksi Dragendroff (*nitrat* dalam *kalium*), NAOH, *Aquadest*, dan DDPH (2,2 *diphenyl-1-picrylhydrazyl*).

3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Kimia Akademi Farmasi YARSI Pontianak. Waktu penelitian dilakukan pada bulan Februari 2025 - Juni 2025.

3.4 Prosedur Kerja

3.4.1 Pengambilan Sampel Daun Kratom (*Mitragyna speciosa*)

Bahan penelitian berupa daun kratom tua namun belum menguning yang diambil di daerah Kapuas hulu, Kalimantan Barat.

3.4.2 Determinasi

Determinasi dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kebenaran spesies tanaman yang akan diteliti dan menghindari terjadinya kesalahan

dalam pengumpulan bahan serta menghindari kemungkinan tercampurnya tanaman yang akan diteliti dengan tanaman lain. Determinasi dilakukan di Laboratorium Biologi Jurusan Biologi FMIPA Universitas Tanjungpura.

3.4.3 Pengolahan Simplisia Daun Kratom (*Mitragyna speciosa*)

Daun kratom disortasi basah lalu dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel, lalu ditiriskan, selanjutnya dirajang atau dipotong kecil-kecil. Kemudian dikeringkan dibawah matahari selama 3 hari selanjutnya dilakukan sortasi kering (Kursia., 2016).

$$\% \text{ Susut Pengerinan} = \frac{\text{Bobot Simplisia Basah} \times \text{Bobot Simplisia Kering}}{\text{Bobot Simplisia Basah}} \times 100\%$$

(Materia Medika Indonesia., 1995).

3.5 Maserasi

Serbuk simplisia kering daun kratom (*Mitragyna speciosa*) ditimbang sebanyak 500 gram lalu dimasukan ke dalam wadah maserasi, tambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 500 ml hingga serbuk simplisia terendam, lalu didiamkan selama 3 hari dalam wadah tertutup dan dilindungi dari sinar matahari langsung sambil diaduk setiap 24 jam sekali selama 5 menit. Maserasi yang telah selesai selanjutnya disaring dengan menggunakan kain fanel dengan tujuan agar ampas terpisah dari ekstrakny. Ekstrak hasil maserasi kemudian dikentalkan (Muis, 2017).

$$\% \text{ Rendemen Ekstrak} = \frac{\text{Ekstrak Kental}}{\text{Simplisia Basah}} \times 100\%$$

(Materia Medika Indonesia., 1995).

3.6 Pembuatan Fraksi

Ekstrak kental daun kratom (*Mitragyna speciosa*) sebanyak 10 gram dilarutkan dengan etanol (polar) sebanyak 100 ml dan ditambahkan dengan n-heksan (nonpolar) 100 ml ke dalam corong pisah lalu dikocok dan didiamkan hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan bawah (lapisan etanol) dan lapisan atas (lapisan n-Heksan), lapisan atas diambil yaitu fraksi n-heksan. Selanjutnya lapisan etanol ditambahkan pelarut etil asetat (semi polar) 100 ml kemudian masukkan ke dalam corong pisah lalu dikocok dan diamkan hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan bawah (etanol) dan atas (lapisan etil asetat). Proses tersebut dilakukan berulang ulang hingga menjadi jernih. Setelah itu ketiga fraksi tersebut diuapkan dengan menggunakan *waterbath* sampai diperoleh fraksi kental (Noviyanty *et al.*, 2020).

3.7 Uji Aktivitas Antioksidan

3.7.1 Penentuan Larutan DPPH

Larutan DPPH dibuat menimbang serbuk DPPH sebanyak 10 mg, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 100 ml. dan ditambahkan etanol 96% hingga tanda batas dan diperoleh konsentrasi 100 ppm. (Susilowati & Wulandari, 2019).

3.7.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan DPPH diambil sebanyak 4 ml dan dimasukkan ke dalam kuvet, kemudian diukur panjang gelombang menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Susiloningrum & Erliana, 2021).

3.7.3 Pembuatan Larutan Blanko

Larutan DPPH diambil sebanyak 2 ml, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan etanol sebanyak 2 ml, diukur absorbansi larutan blanko (Susiloningrum & Erliana, 2021).

3.7.4 Pengujian Aktivitas Antioksidan daun Kratom (*Mitragyna speciosa*)

Larutan induk ekstrak kental etanol dan ketiga fraksi dari daun Kratom dibuat dengan menimbang masing-masing sebanyak 10 mg, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml dan ditambahkan etanol 96% sampai tanda batas sehingga menghasilkan konsentrasi 100 ppm, dan diencerkan kembali menjadi 50 ppm. Diambil 2 ml dari larutan tersebut dan masing-masing ditambahkan 2 ml larutan DPPH, diletakkan di *vortex* selama 2 menit lalu diinkubasikan selama 30 menit. Setelah itu, dari masing-masing larutan diukur pada panjang gelombang maksimum dan kemudian dilakukan replikasi sebanyak 3 kali (Husnani & Nadia., 2023).

Dari hasil tersebut akan dilakukan uji penentuan IC_{50} pada sampel dengan nilai parameter persen inhibisi paling optimal. Larutan induk 100 ppm diencerkan menjadi 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm, kemudian dilakukan tahapan kerja yang sama hingga diukur nilai absorbansinya pada panjang gelombang maksimum dengan replikasi sebanyak 3 kali.

3.8 Analisis Data

3.8.1 Penentuan Aktivitas Antioksidan daun Kratom (*Mitragyna speciosa*)

Data hasil penelitian ini akan dilakukan analisis data berupa analisis penentuan aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol, fraksi etanol, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan daun kratom dengan metode DPPH. Penelitian dilakukan dengan 3 kali replikasi untuk mengoptimalkan terjadinya kesalahan dalam analisa sampel dan pengukuran aktivitas antioksidan. Parameter yang digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan adalah persen inhibisi. Persen inhibisi merupakan selisih dari absorbansi blanko dikurang dengan absorbansi sampel lalu dibagi absorbansi blanko kemudian dikali 100%. Persen inhibisi (% aktivitas antioksidan) merupakan salah satu parameter yang menunjukkan kemampuan suatu antioksidan dalam menghambat radikal bebas. Persen penghambatan dapat dihitung dengan rumus:

$$\%Inhibisi = \frac{Absorbansi\ blanko - Absorbansi\ sampel}{Absorbansi\ blanko} \times 100\%$$

(Sukweenadhi *et al.*, 2020)

Kemudian dibuat kurva dari nilai persen penghambatan yang diperoleh terhadap konsentrasi larutan uji, selanjutnya dari kurva dibuat regresi linear sehingga diperoleh persamaan:

$$y = ax + b$$

Keterangan :

y = Absorbansi

x = konsentrasi sampel

b = *intercept* (perpotongan garis)

a = *slope* (kemiringan)

Penentuan nilai IC₅₀ dapat dihitung dengan menggunakan rumus:

$$IC_{50} = \frac{(50-b)}{a}$$

Dimana b sebagai nilai konstanta dan a sebagai nilai koefisien.

Menurut Kamoda *et al* (2021) suatu senyawa dikatakan memiliki antioksidan sangat kuat bila nilai IC₅₀-nya <50 ppm, kuat bila nilai IC₅₀-nya antara 50-100 ppm, sedang jika nilai IC₅₀-nya 101-250 ppm, lemah bila nilai IC₅₀-nya 250-500 ppm, dan sangat lemah bila nilai IC₅₀-nya >500 ppm.

3.8.2 Uji ANOVA

Uji ANOVA digunakan untuk menentukan apakah nilai rata-rata ekstrak kental etanol dan ketiga fraksi dari daun kratom sebanding atau berbeda.

H₀ : Jika nilai signifikansi (Sig) > 0,05 artinya rata-rata nilainya sama atau tidak ada perbedaan yang signifikan.

H₁ : Jika nilai signifikansi (Sig) > 0,05 artinya rata-rata nilainya berbeda atau ada perbedaan yang signifikan.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Sampel uji yang terdiri dari ekstrak etanol, fraksi etanol, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksan dari daun kratom menunjukkan aktivitas sebagai antioksidan berdasarkan metode DPPH, yang ditunjukkan oleh nilai persen inhibisi (% inhibisi). Aktivitas antioksidan tertinggi diperoleh dari ekstrak etanol dengan nilai rata-rata % inhibisi sebesar 59,081%, diikuti oleh fraksi etil asetat sebesar 51,922%, fraksi etanol sebesar 28,678%, dan terendah pada fraksi n-heksan sebesar 9,219%. Hasil uji ANOVA menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar perlakuan, kecuali antara ekstrak etanol dan fraksi etil asetat yang tidak menunjukkan perbedaan signifikan secara statistik terhadap aktivitas antioksidan.
2. Ekstrak etanol dipilih untuk dilakukan uji lanjutan berupa penentuan nilai IC_{50} karena menunjukkan aktivitas antioksidan terbaik berdasarkan nilai % inhibisi tertinggi. Nilai IC_{50} yang diperoleh sebesar rata-rata 36,195 ppm, yang termasuk dalam kategori antioksidan sangat kuat ($IC_{50} < 50$ ppm). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol dari daun kratom memiliki potensi besar sebagai sumber antioksidan alami.

5.2 Saran

1. Berdasarkan hasil yang diperoleh, disarankan untuk mengembangkan pembuatan sediaan farmasi dari ekstrak etanol daun kratom, yang mana ekstrak ini menunjukkan aktivitas antioksidan terbaik dengan nilai % inhibisi tertinggi dan IC_{50} dalam kategori sangat kuat.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa aktif yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antioksidan, terutama dari golongan alkaloid, flavonoid, dan fenol, yang terdeteksi pada ekstrak etanol.

DAFTAR PUSTAKA

- Ansel, H.C. (1989). *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi. Edisi IV*. diterjemahkan oleh Ibrahim. F.. 390-393. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Ansel, H.C, Allen, L.V, & Popovich. N.G. (2011). *Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems. 9th Ed..* Lippincott Williams and Wilkins. Philadelphia. 294-303.
- Arifin, B., & Ibrahim, S. (2018). Struktur, Bioaktivitas Dan Antioksidan Flavonoid. *Jurnal Zarah*, 6(1), 21–29. <https://doi.org/10.31629/zarah.v6i1.313>
- Arifin, M. F., Noviani, Y., Budiati, A., & Hidayanti, I. (2022). Formulasi nanosuspensi ekstrak kering rimpang temulawak (*curcuma xanthorrhiza* roxb.) Dengan metode gelasi ionik dan uji aktivitas antioksidan. *Jurnal Farmamedika (Pharmamedica Journal)*, 7(2), 126–135. <https://doi.org/10.47219/ath.v7i2.163>
- Arwangga A F, Raka Astiti Asih A, & Sudiarta. L. W. (2016). Analisis Kandungan Kafein Pada Kopi Di Desa Sesaot Narmada Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Kimia*.
- Cahyani, D. R., Tamrin, & Faradilla, R. H. F. (2020). Evaluasi metode *in vitro* pada analisis aktivitas antioksidan beberapa buah tropis: Studi kepustakaan [Evaluation *in vitro* method analysis in antioxidant activities of some tropical fruits: A review]. *Jurnal Sains dan Teknologi Pangan (JSTP)*, 5(6), 3465–3480.
- Cairns D. (2009). *Essentials of Pharmaceutical Chemistry Second Edition (Intisari Kimia Farmasi Edisi Kedua)*. Penerjemah : Puspita Rini. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Departemen Kesehatan RI. (1985). *Cara Pembuatan Simplisia*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta
- Departemen Kesehatan RI. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Cetakan Pertama*. Dikjen POM. Direktorat Pengawasan Obat Tradisional.
- Departemen Kesehatan RI. 1995. *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta.
- Ditjen POM. (1995). *Materia Medika Indonesia. Jilid VI*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Evitasari. D. Susanti E. (2021). Kadar Polifenol Total Teh Hijau (*Camellia sinensis*) Hasil Maserasi dengan Perbandingan Pelarut Etanol – Air. *Pharmademica: Jurnal Kefarmasian dan Gizi Vol.1 (1)*: 16 - 23.

- Fatmawati, I., Haeruddin, & Mulyana, W. O. (2023). Uji aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dengan metode DPPH. *SAINS: Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia*, 12(1), [halaman jika tersedia]. <http://sains.uho.ac.id/index.php/journal>
- Fatwami, E. F., & Royani, S. (2023). Skrining fitokimia dan uji antioksidan ekstrak daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.). *Journal Syifa Sciences and Clinical Research (JSSCR)*, 5(2), 253–[253-260]. <https://doi.org/10.37311/jsscr.v5i2.20896>
- Febriani. S. (2022). Analisis Deskriptif Standar Deviasi. *Junal Pendidikan Tambusai*. Vol. 6. No. 1. Hal. 910-913.
- Gogineni. V, Leon. F, Avery. B. A, Mccurdy. C, & Cutler. S. J. (2014): Phytochemistry of *Mitragyna speciosa*. (diperoleh melalui situs internet: <https://doi.org/10.1201/b17666-7>).
- Griffin. O. (2018). *Examining the Therapeutic Potential of Kratom Within the American Drug Regulatory System.. Plant Medicines. Healing and Psychedelic Science*. 71–85. Cham: Springer International Publishing. (diperoleh melalui situs internet: https://doi.org/10.1007/978-3-319-76720-8_5).
- H. Nur Khoiri. (2021). *Buku Statistika Konseptual dan Aplikatif Perspektif Manajemen*. SeAP (Southeast Asian Publishing) ISBN 978-623-96405-9-0
- Hadinata. S. (2018). Tingkat Pengembalian (Return). Risiko. dan Koefisien Variasi pada Saham Syariah dan Saham Nonsyariah. *AKTSAR: Jurnal Akuntansi Syariah*. 1(2). 171. <https://doi.org/10.21043/aktsar.v1i2.5089>
- Halliwell, B. & Gutteridge, J.M.C. (1999). *Free Radicals in Biology and Medicine*. In: Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C., Eds., *Free Radicals in Biology and Medicine, 3rd Edition*. Oxford University Press. Oxford, 1-25.
- Harborne. J. B. (1987). *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soedira. Edisi kedua. 5. 69-76. ITB Press. Bandung.
- Hardjono Sastrohamidjojo. (2007). *Spektroskopi*. Yogyakarta: Liberty.
- Husnani. & Nadia. (2023). Aktivitas antioksidan pada serbuk instan dari campuran buah dan sayur (mangga. semangka. mentimun. wortel. brokoli). *Jurnal Komunitas Farmasi Nasional*. 3(2). Desember 2023. ISSN 2798-8740
- Jha, A. K., & Sit, N. (2022). Extraction of bioactive compounds from plant materials using combination of various novel methods: A review. *Trends in*

Food Science & Technology, 119, 579–591.
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.11.019>

- Kamoda. A. P. M. D, Maria Nindatu, Indrawanti Kusadhiani, Eka Astuty, Halidah Rahawarin, & Elpira Asmin. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan Alga Cokelat *Saragassum* Sp. Dengan Metode 1.1- Difenil-2-Pikrihidrasil (DPPH). *PAMERI: Pattimura Medical Review*. 3(1).60–62.
<https://ojs3.unpatti.ac.id/index.php/pameri/article/view/3742/2902>
- Karadag. A., Ozcelik. B., & Saner. S. (2009). *Review of methods to determine antioxidant capacities. Food analytical methods*. 2(1). 41-60.
- Khopkar. (2007). *Konsep Dasar Kimia Analitik*. UI Press. Jakarta.
- Kursia. S., Lebang. J. S., & Nursamsiar. N. (2016). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etilasetat daun sirih Hijau (*Piper betle* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*. 3(2). 72-77.
- Linda, R., Lestari, I., Gayatri, S. W., Bamahry, A., & Matto, R. F. (2020). Pengaruh Ekstrak Daun Salam (*Eugenia polyantha*) terhadap Kadar Glukosa Darah pada Mencit (*Mus Musculus*). *UMI Medical Journal*, 5(2), 8–19.
<https://doi.org/10.33096/umj.v5i2.116>
- Lung. J. K. S., & Destiani. D. P. (2017). Uji aktivitas antioksidan vitamin A. C. E dengan metode DPPH. *Farmaka*. 15(1). 53-62.
- Melania. P., Masriani., Muharini. R., Alimuddin. A.H., & Sartika. R.P. (2024). Total phenolic and flavonoids content. and antioxidant activity of kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.) leaf ethanol extract. *Jurnal Natural*. 24(1). 16-21.
- Mery. (2019). *Kratom: Prospek Kesehatan dan Sosial Ekonomi*. (Jakarta: Lembaga Penerbit Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan).
- Muis. D. U. (2017). Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Etanol Buah Delima (*Punica granatum* L.) Dengan Metode Uji Warna. *XIII*(2). 1-14.
- Muktisari. R.D., & Hartati. F.K. (2018). Analisis aktivitas antioksidan pada beras hitam dan tepung beras hitam (*Oryza sativa L.indica*). *Food Sci. Technol. J*. 1(1) 20- 27.DOI: 10.25139/fst.v1i1.1002.
- Noviyanty. Y., et.al (2020). Skrining Fitokimia Metabolit Sekunder Daun Ketepeng Cina *Senna alata* (L.) Roxb Dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). *Jurnal Ilmiah Farsmacy*.

- Olszowy-Tomczyk, M. (2021). How to express the antioxidant properties of substances properly?. *Chemical Papers (Vol. 75, Issue 12, pp. 6157–6167)*. Springer Science and Business Media LLC. <https://doi.org/10.1007/s11696-021-01799-1>
- Packer, L, Traber, MG, Kraemer, K, Frei, B. (2002) The antioxidant vitamins C and E: vitamins C and E for health. *J. Am Oil Chem Soc.*
- Palimbong, S., Mangalik, G., & Mikasari, A. L. (2020). Pengaruh lama perebusan terhadap daya hambat radikal bebas, viskositas dan sensori sirup secang (*Caesalpinia sappan* L.). *Teknologi Pangan: Media Informasi dan Komunikasi Ilmiah Teknologi Pertanian*, 11(1), 7–15. <https://doi.org/10.35891/tp.v11i1.1786>
- Puspitasari, S., Soemarie, Y. B., & Fadillah, A. (2025). Uji aktivitas antioksidan dari kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*). *Journal Scientific of Mandalika (JSM)*, 6(4). <http://ojs.cahayamandalika.com/index.php/jomla>
- Putri, F. E., Diharmi, A., & Karnila, R. (2023). Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Pada Rumpun Laut Coklat (*Sargassum plagyophyllum*) Dengan Metode Fraksinasi. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pertanian Indonesia*, 15(1), 40–46.
- Ramadhan, F. (2025). Literature Review Artikel: Potensi *Mitragyna speciosa* (Kratom) sebagai Aktivitas Antioksidan, Antidiabetes, Antiinflamasi, dan Antimikroba. *Jurnal Lmu Farmasi Dan Kesehatan*, 3(1), 114–126. <https://doi.org/10.59841/an-najat.v3i1.2349>
- Saerang, M. F., Edy, H. J., & Siampa, J. P. (2023). Formulasi Sediaan Krim Dengan Ekstrak Etanol Daun Gedi Hijau (*Abelmoschus Manihot* L.) Terhadap *Propionibacterium Acnes*. *PHARMACON*, 12(3), 350–357. <https://doi.org/10.35799/pha.12.2023.49075>
- Sastrohamidjojo. H.. (2001). *Spektroskopi*. 39. Liberty. Yogyakarta.
- Sastrohamidjojo. H.. (2007). *Spektroskopi*. Liberty. Yogyakarta.
- Schober. P. & Schwarte. L. A. (2018). Correlation coefficients: Appropriate use and interpretation. *Anesthesia and Analgesia*. 126 (5). 1763–1768
- Seran, I. C., Yulianti, D. R., & Ningsih, A. W. (2023). Pengaruh Perbedaan Pelarut Ekstrak Daun Mangga (*Mangifera Indica* L. Var. *Arumanis*) Terhadap Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH (1,1 dyphenyl 2-pikrilhidrazil). *Jurnal Kesehatan Hesti Wira Sakti*, 11(01), 55–62. <https://doi.org/10.47794/jkhws.v11i0.1.477>

- Setyawati. H. (2020). Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun kratom (*Mitragyna speciosa*) dengan metode 1. 1 difenil-2-pikrihidrazil (DPPH). *J. Farmasi Udayana*. [S.l.] Dec. 2020 213-220. DOI: 10.24843/jfu.2020.v09.i03.p09.
- Shellard. E., & Lees. M. D. (1965). *Part V - The Anatomy of leaves of Mitragyna speciosa Korth.. The Mitragyna Species of Asia*.; 280–290. School of Pharmacy. Chelsea College of Science and Technology. London.
- Singh. D., Narayanan. S. & Vicknasingam. B. (2016) Traditional and non-traditional uses of *Mitragynine* (Kratom): *A survey of the literature. Brain Research Bulletin*.; 126(Pt1):41–46. (diperoleh melalui situs internet: <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2016.05.004>).
- Suharyanto, & Prima, D. A. N. (2020). Penetapan Kadar Flavonoid Total Pada Juice Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea Batatas* L.) Yang Berpotensi Sebagai Hepatoprotektor Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 4(2), <http://cjp.jurnal.stikescendekiautamakudus.ac.id>
- Sumardjo. D. (2009). *Pengantar Kimia: Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran dan Program Strata I Fakultas Bioeksata. 1st edition. Edited by A. Hanif. J. Marunung. and J. Simanjuntak*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Supriatnini, A., Farhan, Z., & Hasyim, D. M. (2024). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak N-Heksana, Etil Asetat, Dan Etanol Bonggol Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* L.) Dengan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). *Jurnal Medika Farmaka*, 2(1), 176–185. <https://doi.org/10.33482/jmedfarm.v2i1.32>
- Susiloningrum. D., & Sari. D. E. M. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan Dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Temu Mangga (*Curcuma mangga* Valetton & Zijp) Dengan Variasi Konsentrasi Pelarut. *Cendekia Journal of Pharmacy STIKES Cendekia Utama Kudus P-ISSN*. 5(2). 117–127.
- Susilowati., & Wulandari. Sari. (2019). Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat dan Fraksi Air Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.) dengan Metode DPPH (1.1 Difenil- 2 pikrilhidrazil). *Indonesian Journal On Medical Science*. 2019. 6 (2). 39-44
- Tati Suhartati. (2017). *Dasar-Dasar Spektrofotometri Uv-Vis Dan Spektrometri Massa Untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik*. AURA Anugrah Utama Raharja Anggota IKAPI No.003/LPU/2013
- Tullah, M. H., Marlina, E., & Erwin. (2023). Uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol kulit buah pisang Ambon (*Musa paradisiaca* var. *sapientum* (L.)

- Kunt.) dengan metode DPPH [Antioxidant activity test of Ambon banana peel (*Musa paradisiaca* var. *sapientum* (L.) Kunt.) methanol extract with DPPH method]. *Jurnal Atomik*, 8(2), 54–59.
- Veltri. C., & Grundmann. O. (2019). *Current perspectives on the impact of Kratom use.. Substance abuse and rehabilitation.*; 10:23–31. (diperoleh melalui situs internet: <https://doi.org/10.2147/SAR.S164261>).
- Voight. R. (1994). *Buku Pengantar Teknologi Farmasi*. 572-574. diterjemahkan oleh Soedani. N.. Edisi V. Yogyakarta. Universitas Gadjah Mada Press.
- Wahdaningsih, S., Wahyuono, S., Riyanto, S., & Murwanti, R. (2020). Terpenoid-lupeol of red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) and its immunomodulatory activity. *J. Pharm. Sci*, 33(2), 505–510.
- Wahyono. S., Widowati . L., Handayani. L., Sampurno. O. .D., Haryanti. S., Fauzi., Ratnawati. G., & Budiarti. S. M. (2019). *Kratom : Prospek Kesehatan dan Sosial Ekonomi*. Jakarta. Lembaga Penerbit Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. ISBN 978-602-373-162-6
- Wijaya, A., & Noviana, N. (2022). Penetapan kadar air simplisia daun kemangi (*ocimum basilicum* l.) berdasarkan perbedaan metode pengeringan. *jurnalfarmasi.or.id*. <https://doi.org/10.33759/jrki.v4i2.246>
- Yuniarti. R., & Nadia. S. (2020). Karakterisasi. penyaringan fitokimia dan aktivitas antioksidan uji ekstrak etanol daun kratom (*Mitragyna speciosa* Korth) menggunakan metode DPPH karakterisasi. penyaringan fitokimia dan antioksidan uji aktivitas ekstrak. *J. Phys. Conf. Ser.*1462(1) 012026. DOI: 10.1088/1742-6596/1462/1/012026.