

Phytochemical Analysis Based on GC-MS and Evaluation of DPPH Antioxidant Activity of Ethanol and N-Hexane Extracts from Bidara Leaves (*Ziziphus mauritiana* Lam.)

Analisis Fitokimia Berbasis GC-MS dan Evaluasi Aktivitas Antioksidan Metode DPPH dari Ekstrak Etanol dan N-Heksan Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam.)

Maharani Zahra ^{a*}, Rahma Yulia ^a, Syarifah Nadia ^a, Bunga Rimta Barus ^a

^a Department of pharmacy, Faculty of pharmacy and health, University of Tjut Nyak Dhien, Medan, Indonesia

*Corresponding Authors: maharani2101.mz@gmail.com

Abstract

Background: The increasing public interest in herbal medicine which is safer and rarely causes side effects has made people use more natural ingredients as a source of bioactive compounds. One promising plant is the bidara leaf (*Ziziphus mauritiana* Lam.), known for its rich supply of secondary metabolites, including alkaloids, flavonoids, glycosides, and terpenoids, which boast pharmacological benefits, especially in their role as antioxidants. **Objective:** This research is conducted to determine the phytochemical compounds and examine the antioxidant potential of bidara leaf extracts prepared with ethanol and n-hexane, using experimental method. **Methods:** The extraction was done through maceration using 96% ethanol and n-hexane as solvents, and then we analyzed the phytochemicals via phytochemical screening and GC-MS. For checking antioxidant activity, we used the DPPH method, which involved figuring out the maximum wavelength, the operating time, measuring absorbance, and calculating the IC₅₀ value. **Results:** From the phytochemical analysis, it turned out that ethanol extracts of bidara leaves feature a richer array of bioactive compounds, including alkaloids, flavonoids, glycosides, and terpenoids or steroids, in contrast to the n-hexane extracts, which only include alkaloids, glycosides, and terpenoids or steroids. Analysis using GC-MS identified that the ethanol extract was dominated by fatty acid ester compounds, including methyl palmitate and methyl oleate, while the n-hexane extract contained non-polar compounds such as squalene and tetratetracontane. Through the DPPH approach, the antioxidant activity of ethanol and n-hexane extracts was demonstrated by IC₅₀ values of 4.488 µg/mL and 7.54 µg/mL, respectively, both of which are classified as very strong, although still lower than vitamin C, which has an IC₅₀ of 2.47 µg/mL. **Conclusion:** The analysis indicates that the ethanol extract exhibits stronger antioxidant activity compared to the n-hexane extract.

Keywords: Bidara leaves (*Ziziphus mauritiana* Lam.), Ethanol extract, N-hexane, GC-MS, Phytochemistry, Antioxidants, DPPH.

Abstrak

Latar belakang: Meningkatnya minat masyarakat terhadap pengobatan herbal yang dianggap lebih aman dan memiliki efek samping yang minimal, mendorong pemanfaatan bahan alam sebagai sumber senyawa bioaktif. Salah satu tanaman yang menjanjikan adalah daun bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam.), yang diketahui mengandung berbagai metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, glikosida, dan terpenoid dengan aktivitas farmakologis, terutama sebagai antioksidan. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi kandungan fitokimia dan mengevaluasi aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol dan n-heksan daun bidara melalui pendekatan eksperimental. **Metode:** Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% dan n-heksan, diikuti dengan analisis fitokimia menggunakan skrining fitokimia dan GC-MS. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH, meliputi penentuan panjang gelombang maksimum, waktu operasi, pengukuran absorbansi, dan perhitungan nilai IC₅₀. **Hasil:** Melalui pemeriksaan fitokimia, ditemukan ekstrak etanol daun bidara mempunyai komposisi senyawa bioaktif yang lebih kompleks, seperti alkaloid, flavonoid, glikosida, dan terpenoid/steroid, dibandingkan ekstrak n-heksan yang hanya mengandung alkaloid, glikosida, dan terpenoid/steroid. Analisis menggunakan GC-MS mengidentifikasi bahwa ekstrak etanol didominasi oleh senyawa ester asam lemak, termasuk methyl palmitate dan methyl oleate, sementara ekstrak n-heksan mengandung senyawa yang apolar seperti squalene dan tetratetracontane. Melalui pendekatan DPPH, ekstrak etanol menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih kuat dibandingkan ekstrak n-heksan, dengan nilai IC₅₀ masing-masing sebesar 4,488 µg/mL dan 7,54 µg/mL, meskipun masih di bawah vitamin C yang mempunyai IC₅₀ 2,47 µg/mL. **Kesimpulan:** Berdasarkan hasil analisis, ekstrak etanol memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak n-heksan.

Kata Kunci: Daun bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam.), Ekstrak Etanol, N-heksan, GC-MS, Fitokimia, Antioksidan, DPPH.



Copyright © 2020 The author(s). You are free to : **Share** (copy and redistribute the material in any medium or format) and **Adapt** (remix, transform, and build upon the material) under the following terms: **Attribution** – You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; **NonCommercial** – You may not use the material for commercial purposes; **ShareAlike** – If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original. Content from this work may be used under the terms of the [Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International \(CC BY-NC-SA 4.0\) License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

<https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v9i2.1146>

Article History:

Received: 23/10/2026,
Revised: 18/12/2026,
Accepted: 30/12/2026,
Available Online : 03/06/2026.

QR access this Article



Pendahuluan

Pemanfaatan bahan alam sebagai alternatif pengobatan di Indonesia semakin berkembang dan telah diproduksi secara massal, seiring dengan persepsi masyarakat bahwa penggunaan obat alami sering kali dikaitkan dengan tingkat efek samping yang lebih rendah daripada terapi farmasi modern [1]. Keanekaragaman senyawa bioaktif dalam tumbuhan, baik spesifik maupun non-spesifik, menjadikan setiap tanaman memiliki potensi farmakologis yang luas serta dapat digunakan sebagai obat tradisional yang berkhasiat. Salah satu contoh tanaman yang memiliki potensi tersebut adalah bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam.), yang dikenal tahan terhadap kondisi panas dan kering, serta banyak ditemukan di wilayah Asia Barat dan Afrika Timur [2][3].

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa *Ziziphus mauritiana* Lam. atau daun bidara diketahui memiliki sejumlah senyawa bioaktif, termasuk saponin, flavonoid, tanin, alkaloid, dan antrakuinon, yang berhasil diidentifikasi menggunakan uji tabung serta pereaksi khusus [4]. Studi lain mengungkapkan bahwa bagian daun dari tanaman ini memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi dibandingkan buah matang dan buah mentah, berdasarkan uji DPPH [5]. Senyawa antioksidan sendiri berperan penting dalam menjaga kesehatan, hal ini dikarenakan oleh kekuatan senyawa tersebut untuk menetralkan radikal bebas, yaitu partikel reaktif yang tidak stabil dan berpotensi merusak struktur sel, sehingga dapat memicu berbagai penyakit degeneratif seperti kanker dan gangguan kardiovaskular. [6].

Ekstraksi merupakan teknik untuk memisahkan komponen bioaktif yang berasal dari tumbuhan kering (simplicia) dengan bantuan pelarut yang sesuai, salah satu metode yang umum digunakan adalah maserasi. Ekstraksi ini dilakukan dengan merendam bahan dalam pelarut pada suhu rendah atau tanpa pemanasan, sehingga kandungan senyawa aktif tetap terjaga. Keberhasilan ekstraksi dipengaruhi oleh sejumlah faktor, seperti lama perendaman, suhu, jenis pelarut, perbandingan antara bahan dan pelarut, serta ukuran partikel simplicia. Ketika proses perendaman berlangsung, terjadi perbedaan tekanan osmotik antara bagian luar dan dalam sel yang memicu kerusakan pada struktur dinding serta membran sel. Proses ekstraksi menyebabkan disrupsi membran sel, sehingga memungkinkan pelepasan senyawa metabolit sekunder dari sitoplasma dan pelarutannya secara efisien ke dalam medium organik yang digunakan [7][8]. Sementara itu, metode GC-MS (*Gas Chromatography - Mass Spectrometry*) dilakukan untuk memisahkan senyawa volatil melalui kromatografi gas dan menganalisisnya secara kualitatif maupun kuantitatif berdasarkan rasio massa terhadap muatan (m/z) menggunakan spektrofotometri massa [9]. Pemilihan pelarut etanol (polar) dan n-heksan (non-polar) diharapkan dapat mengekstrak kelompok senyawa bioaktif yang berbeda, sehingga memungkinkan perbandingan efektivitasnya sebagai sumber antioksidan.

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kandungan fitokimia dan mengevaluasi aktivitas antioksidan ekstrak daun bidara menggunakan pelarut etanol dan n-heksan. Hipotesis penelitian adalah bahwa terdapat perbedaan signifikan dalam profil senyawa bioaktif dan aktivitas antioksidan antara kedua ekstrak, dengan ekstrak etanol diduga memiliki aktivitas yang lebih kuat karena kemampuannya mengekstrak senyawa antioksidan polar seperti flavonoid. Analisis dilakukan menggunakan GC-MS untuk identifikasi senyawa dan metode DPPH untuk uji aktivitas antioksidan

Metode Penelitian

Alat dan Bahan

Beberapa instrumen laboratorium digunakan pada pelaksanaan penelitian ini seperti blender, lemari pengering, alat maserasi, corong pisah, gelas ukur, batang pengaduk, gelas beaker, *Rotary Evaporator*, cawan

porselin, waterbath, timbangan, serta spektrofotometer UV-Vis dan GC-MS untuk mendukung proses ekstraksi dan analisis. Daun bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam.) digunakan sebagai komponen utama dalam penelitian ini berasal dari daerah Hamparan Perak, Deli Serdang, dengan tambahan bahan kimia seperti etanol 96%, n-heksan, serbuk DPPH, dan vitamin C sebagai reagen pendukung. Dalam penelitian ini, Sampel daun diambil secara purposif dari pucuk tanaman sehat yang berumur sekitar 6 bulan, dengan kriteria daun utuh, tidak berlubang, dan berwarna hijau tua.

Pembuatan Simplisia

Daun bidara segar sebanyak 4 kg dikumpulkan langsung dari Hamparan Perak, Deli Serdang, sebagai bahan utama. Tahapan awal dalam pembuatan simplisia mencakup sortasi basah guna memisahkan komponen yang tidak dibutuhkan, dilanjutkan dengan pencucian menggunakan air mengalir untuk membersihkan kotoran. Proses ini kemudian diikuti oleh pengeringan dalam lemari khusus pada suhu antara 30 hingga 45°C. Setelah pengeringan, dilakukan penyortiran kering untuk membuang daun-daun yang tidak memenuhi kriteria standar kelayakan, penggilingan untuk memperkecil ukuran bahan, dan penyimpanan dalam wadah berwarna coklat guna melindungi dari paparan cahaya langsung serta kontaminasi.

Pembuatan Pereaksi

Berbagai pereaksi disiapkan dalam penelitian ini untuk mendukung analisis senyawa, masing-masing dengan prosedur spesifik. Larutan asam klorida 2N disiapkan melalui pengenceran 16,67 mL HCl pekat dengan penambahan aquadest hingga volume akhir mencapai 100 mL. Reagen Bouchardat diperoleh melalui pelarutan 4 gram kalium iodida dan 2 gram iodium ke dalam aquadest. Dragendorff dibuat dari campuran larutan KI dan bismut nitrat dalam asam asetat yang kemudian diencerkan. Reagen Mayer disiapkan dengan mencampurkan larutan HgCl₂ (merkuri(II) klorida) dan KI (kalium iodida), lalu diencerkan hingga mencapai volume 100 mL. Reagen Lieberman-Burchard diperoleh melalui pencampuran asam asetat anhidrat, asam sulfat pekat, dan senyawa kloroform. Reagen Wagner diperoleh melalui pencampuran iodium dengan kalium iodida, yang kemudian diencerkan dan disimpan di dalam wadah gelap untuk menjaga stabilitasnya. Selanjutnya, larutan besi(III) klorida 1% disiapkan dengan melarutkan 1 gram FeCl₃ dalam air hingga volume akhirnya mencapai 100 mL [10][11].

Peembuatan Ekstrak Daun Bidara

Daun bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam.) diekstraksi menggunakan teknik maserasi dengan pelarut etanol 96% dan n-heksan. Tahapan awal meliputi sortasi basah dan pengeringan daun menggunakan lemari pengering, diikuti sortasi kering. Waktu maserasi ditentukan berdasarkan optimisasi pendahuluan untuk mendapatkan rendemen ekstrak maksimal, ekstraksi maserasi dilakukan dengan rasio simplisia dan pelarut 1:10 (b/v) [12] untuk memaksimalkan yield ekstraksi. Sebanyak 100 gram simplisia diekstraksi dalam 1000 mL pelarut. Untuk ekstrak etanol, maserasi dilakukan selama lima hari, kemudian diulang dua kali masing-masing selama dua hari, sehingga total waktu maserasi adalah 9 hari. Durasi ini dipilih berdasarkan metode standar untuk ekstraksi metabolit sekunder polar hingga semipolar guna memastikan kelarutan senyawa bioaktif maksimal. Filtrat hasil ekstraksi diuapkan dengan rotary evaporator, kemudian dipanaskan dalam water bath sampai terbentuk ekstrak kental. Ekstrak tersebut selanjutnya ditimbang untuk menentukan rendemen. Ekstraksi dengan n-heksan dilakukan dengan prosedur serupa, menggunakan 100 gram serbuk daun dan pelarut sebanyak 1000 mL, dengan durasi dan pengulangan yang sama, lalu hasil ekstrak diuapkan hingga diperoleh bentuk kental [12]. Rendemen ekstrak dihitung menggunakan rumus: Rendemen (%) = (Berat ekstrak kering / Berat simplisia awal) x 100% dengan nilai rendemen yang diperoleh sebesar 32,5%.

Pemeriksaan Skrining Fitokimia

Ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam.) dianalisis secara fitokimia untuk mendeteksi keberadaan metabolit sekunder, meliputi alkaloid, flavonoid, saponin, triterpenoid, steroid, tanin, dan glikosida. Uji alkaloid dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam metanol, diikuti dengan pemeriksaan menggunakan empat reagen berbeda yaitu Bouchardat, Dragendorff, Mayer, dan Wagner di mana masing-masing reagen memberikan indikasi positif berupa perubahan warna atau pembentukan endapan. Pengujian flavonoid dilakukan dengan cara merebus serbuk menggunakan air panas, lalu ditambahkan magnesium dan asam klorida pekat, yang menghasilkan perubahan warna kuning kemerahan sebagai indikasi positif. Saponin diuji melalui pembentukan busa stabil setelah pengocokan sampel dalam air panas. Untuk triterpenoid dan steroid, ekstraksi dilakukan dengan n-heksan dan diuji menggunakan pereaksi

Salkowsky dan Lieberman-Burchard, yang menunjukkan perubahan warna spesifik. Tanin diuji dengan etanol dan larutan FeCl₃, ditandai dengan warna biru kehitaman atau hijau kecoklatan. Sementara itu, glikosida diuji melalui pelarutan dalam etanol dan asam asetat anhidrat, diikuti penambahan asam sulfat, yang menghasilkan cincin ungu sebagai tanda positif [13][14].

Pemeriksaan Skrining Fitokimia menggunakan Metode GC-MS

Metode *Gas Chromatography–Mass Spectrometry* (GC-MS) digunakan dalam skrining fitokimia ekstrak etanol dan n-heksan daun bidara, sebagai teknik analisis yang efektif dalam mengidentifikasi berbagai senyawa kimia, terutama yang bersifat volatil dan semi-volatil [15][16]. Sampel dilarutkan dan diinjeksi ke dalam inlet GC, lalu dibawa oleh gas helium sebagai fase gerak menuju kolom Rtx-5MS, tempat pemisahan senyawa terjadi berdasarkan interaksi dengan fase diam. Senyawa dengan volatilitas tinggi akan terelusi lebih awal, sedangkan yang lebih berat keluar belakangan [15]. Setelah pemisahan, senyawa diarahkan ke detektor dan dianalisis melalui spektroskopi massa menggunakan proses ionisasi *Electron Impact* (EI) dengan energi 70 eV. Spektrum massa yang dihasilkan menunjukkan rasio massa terhadap muatan (m/z) dalam rentang 50–550, memungkinkan identifikasi senyawa berdasarkan waktu retensi dan pencocokan dengan pustaka data seperti NIST. Kolom kromatografi yang digunakan umumnya berbahan silika kapiler sepanjang 30 meter dengan diameter 0,25 mm [17][18], dan pemanasan bertahap dari 50°C hingga 280°C membantu memisahkan senyawa berdasarkan titik didihnya [19]. Teknik ini sangat sensitif dan mampu mendeteksi senyawa dalam konsentrasi sangat rendah, meskipun terbatas pada senyawa volatil dan memerlukan perawatan serta biaya tinggi.

Uji Antioksidan menggunakan Metode DPPH

Pengujian aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol dan n-heksan dari daun bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam.) dilakukan melalui metode DPPH dengan modifikasi [21]. Sebelum pengujian, dilakukan validasi metode dengan memastikan stabilitas larutan DPPH (absorbansi kontrol negatif tidak berubah signifikan selama waktu inkubasi) dan linearitas respon pada rentang konsentrasi yang digunakan. Larutan stok DPPH 200 ppm dibuat dengan melarutkan serbuk DPPH dalam etanol absolut. Panjang gelombang maksimum ditentukan melalui scanning larutan DPPH 40 ppm pada rentang 400-800 nm, yang menghasilkan absorbansi maksimum pada 515 nm. Rentang konsentrasi uji (1-5 ppm) ditentukan berdasarkan hasil uji pendahuluan untuk mendapatkan persen inhibisi antara 20% hingga 80%, yang diperlukan untuk perhitungan IC₅₀ yang linier. Sebanyak 1 mL larutan sampel pada berbagai konsentrasi (1, 2, 3, 4, dan 5 ppm) dicampur dengan 2 mL larutan DPPH 40 ppm dalam tabung reaksi. Campuran dihomogenkan dan diinkubasi di tempat gelap selama 30 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 515 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Kontrol negatif dibuat dengan mencampurkan 1 mL pelarut (etanol) dengan 2 mL larutan DPPH. Sebagai kontrol positif, digunakan larutan vitamin C pada rentang konsentrasi yang sama. Persentase aktivitas antioksidan dihitung menggunakan rumus: % Aktivitas = [(Absorbansi Kontrol – Absorbansi Sampel) / Absorbansi Kontrol] × 100%. Kurva regresi linier antara persentase inhibisi dan konsentrasi sampel dibuat untuk menghitung nilai IC₅₀, yaitu konsentrasi ekstrak yang diperlukan untuk menghambat 50% radikal DPPH [21].

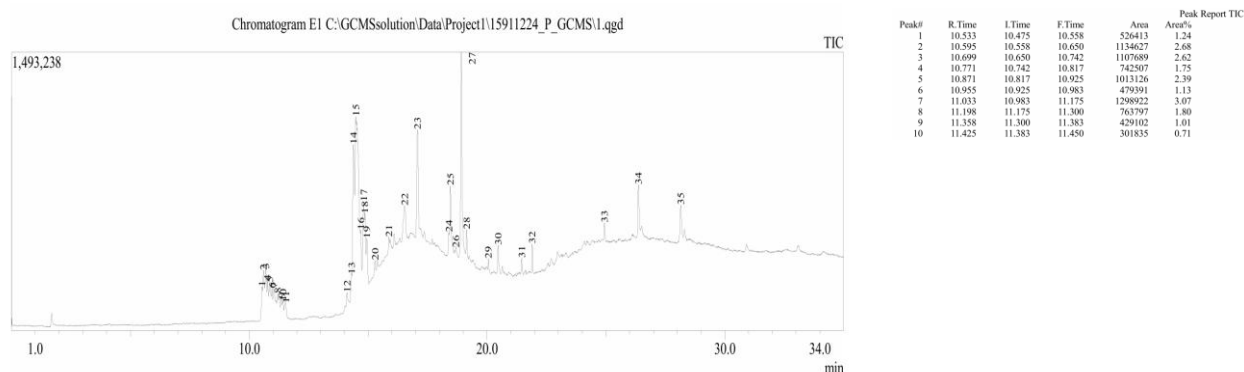
Hasil Dan Pembahasan

Hasil Skrining Fitokimia

Sebanyak 4 kg daun bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam.) dikeringkan pada suhu 30–45°C hingga menghasilkan 1.100 gram serbuk simplisia, yang kemudian diekstraksi dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% dan n-heksana. Dari 100 gram serbuk, diperoleh ekstrak etanol sebanyak 18,1 gram dan ekstrak n-heksana sebanyak 3,2 gram. Perbedaan hasil ini dipengaruhi oleh sifat kepolaran pelarut, etanol yang memiliki sifat polar lebih efisien dalam mengekstraksi senyawa polar, seperti flavonoid dan alkaloid, sedangkan n-heksana yang apolar lebih cocok untuk senyawa apolar seperti lipid. Selain itu, titik didih yang lebih rendah pada n-heksana menyebabkan penguapan lebih cepat, sehingga volume ekstrak yang dihasilkan lebih kecil. Skrining fitokimia menunjukkan ekstrak etanol dari daun bidara mengandung alkaloid, flavonoid, terpenoid atau steroid, serta glikosida, sementara ekstrak n-heksana hanya menunjukkan keberadaan alkaloid, terpenoid atau steroid, dan glikosida [22]. Terdeteksinya glikosida dalam ekstrak n-heksana yang notabene non-polar merupakan temuan yang tidak biasa. Hal ini dapat disebabkan oleh adanya glikosida

dengan aglikon yang sangat non-polar, atau adanya emulsi/partikel halus yang terbawa selama proses partisi. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengonfirmasi keberadaan dan identitas glikosida dalam fraksi n-heksan ini [22].

Hasil Analisis GC-MS EEDB



Gambar 1. Kromatogram GC-MS Ekstrak Etanol Daun Bidara (EEDB)

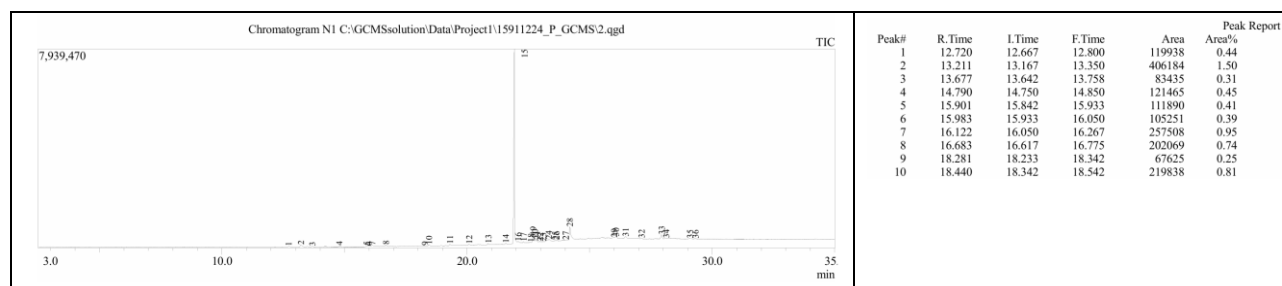
Analisis GC-MS terhadap ekstrak etanol daun bidara mengungkapkan keberadaan 35 senyawa volatil dan semi-volatil yang terdeteksi sebagai puncak-puncak kromatogram, dengan puncak dominan pada waktu retensi 14,482 menit menunjukkan konsentrasi tertinggi (23,82%). Senyawa utama yang teridentifikasi adalah methyl palmitate, ester dari asam palmitat, yang dikenal memiliki aktivitas antibakteri dan antioksidan [23][24]. Selain itu, senyawa lain seperti Pentadecanoic acid, methyl ester dan Methyl 12-acetoxy-9-octadecenoate memperkaya profil kimia ekstrak dengan variasi struktur dan kejenuhan lipid [25]. Ekstrak ini juga mengandung metabolit sekunder seperti terpenoid dan triterpenoid, serta metabolit primer berupa ester dan alkohol rantai panjang yang berperan dalam metabolisme lipid dan struktur membran sel [26]. Kandungan senyawa lipofilik dan semi-polar ini menunjukkan bahwa etanol merupakan pelarut yang efektif untuk ekstraksi senyawa bioaktif dari daun bidara, mendukung potensi penggunaannya dalam bidang farmasi, kosmetik, dan pengobatan herbal [27].

Berdasarkan hasil analisis GC-MS, ekstrak etanol daun bidara didominasi oleh senyawa methyl palmitate, methyl oleate, serta ester asam lemak tak jenuh lainnya. Senyawa-senyawa ini memiliki struktur dengan ikatan rangkap yang berperan penting dalam mekanisme penangkapan radikal bebas. Ikatan rangkap pada ester tak jenuh memungkinkan stabilisasi radikal melalui delokalisasi elektron sehingga mampu mendonorkan atom hidrogen secara lebih efektif dalam reaksi peredaman radikal DPPH. Hal ini sejalan dengan hasil uji antioksidan yang menunjukkan bahwa ekstrak etanol memiliki nilai IC_{50} lebih rendah (4,488 $\mu\text{g/mL}$), menandakan aktivitas antioksidan lebih kuat.

Sebaliknya, ekstrak n-heksan didominasi oleh senyawa tetratetracontane, hidrokarbon jenuh rantai sangat panjang yang secara kimia tidak memiliki gugus fungsional reaktif ataupun ikatan rangkap yang memudahkan reaksi penangkapan radikal. Meskipun ekstrak n-heksan juga mengandung squalene, senyawa triterpenoid yang dikenal memiliki aktivitas antioksidan, mekanisme kerja squalene lebih efektif pada sistem biologis berbasis lipid dan membran, bukan pada sistem radikal larut etanol seperti DPPH. Dengan demikian, meskipun squalene memiliki potensi antioksidan, efektivitasnya dalam metode DPPH relatif lebih rendah dibanding ester tak jenuh pada ekstrak etanol. Hal ini menjelaskan mengapa ekstrak n-heksan memiliki IC_{50} lebih tinggi (7,54 $\mu\text{g/mL}$) dibanding ekstrak etanol.

Dengan demikian, perbedaan aktivitas antioksidan antara kedua ekstrak secara langsung berkaitan dengan profil senyawa yang teridentifikasi melalui GC-MS, di mana kandungan ester tidak jenuh pada ekstrak etanol lebih sesuai terhadap mekanisme reaksi DPPH dibanding dominasi hidrokarbon jenuh pada ekstrak n-heksan.

Hasil Analisis GC-MS ENDB



Gambar 2. Kromatogram GC-MS Ekstrak N-heksan Daun Bidara (ENDB)

Analisis GC-MS terhadap ekstrak daun bidara dengan pelarut n-heksan mengidentifikasi 36 senyawa volatil dan semi-volatil yang terpisah dalam kromatogram, dengan komponen utama berupa tetratetracontane yang muncul pada waktu retensi 21,923 menit dan menyumbang 63,61% dari total area, menunjukkan dominasi senyawa hidrokarbon jenuh rantai panjang [28][29]. Senyawa lain seperti methyl oleate, phytol, dan neophytadiene juga terdeteksi, mencerminkan keberadaan ester asam lemak dan alkohol berantai panjang yang umum dalam ekstrak minyak nabati [25][30]. Selain metabolit primer seperti elaidic acid dan nonacosane, ditemukan pula metabolit sekunder seperti squalene, lupeol acetate, dan turunan vitamin E yang berperan dalam aktivitas biologis tanaman [26]. Senyawa-senyawa ini menunjukkan bahwa n-heksan secara selektif mengekstrak komponen non-polar dengan berat molekul tinggi, seperti lipid dan hidrokarbon, yang umumnya berfungsi sebagai pelindung alami dalam kutikula tanaman [31]. Temuan ini menegaskan efektivitas n-heksan dalam memperoleh fraksi kimia apolar dari bahan alam, yang relevan untuk studi fitokimia dan pengembangan produk berbasis ekstrak tumbuhan. Aktivitas antioksidan yang lebih rendah pada ekstrak n-heksan, meskipun mengandung squalene, diduga kuat disebabkan oleh dua faktor: (1) Squalene lebih efektif sebagai antioksidan dalam sistem lipid (lipophilic antioxidant), sedangkan uji DPPH berlangsung dalam medium etanol; (2) Komposisi yang didominasi oleh hidrokarbon jenuh panjang seperti tetratetracontane yang secara inheren tidak memiliki gugus fungsional yang dapat meredam radikal bebas. Hasil ini menunjukkan bahwa efektivitas suatu ekstrak sebagai antioksidan tidak hanya bergantung pada ada tidaknya senyawa aktif tertentu, tetapi juga pada kesesuaian metode uji dengan sifat kelarutan senyawa tersebut [26].

Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol dan n-heksan dari daun bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam.) dilakukan dengan metode DPPH, dimulai dengan persiapan larutan induk serta penentuan panjang gelombang maksimum. Setelah itu, waktu reaksi (*operating time*) diukur untuk mengetahui durasi optimal pembentukan produk stabil antara DPPH dan senyawa antioksidan. Absorbansi larutan DPPH yang telah bereaksi dengan ekstrak kemudian diukur, dan nilai IC₅₀ ditentukan sebagai indikator kekuatan aktivitas antioksidan. Penurunan nilai absorbansi menunjukkan kemampuan ekstrak tersebut dalam menangkap radikal bebas, di mana semakin besar penurunan tersebut, semakin tinggi potensi antioksidan dari sampel uji.

Hasil Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Larutan DPPH pada konsentrasi 40ppm yang dilarutkan dalam etanol dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-VIS untuk mengetahui titik serapan tertingginya. Hasil pengukuran menunjukkan bahwa nilai absorbansi maksimum tercapai panjang gelombang 515nm dengan angka absorbansi sebesar 0,449. Panjang gelombang tersebut masih berada dalam kisaran operasional alat UV-VIS, yaitu antara 400 hingga 800nm, sehingga sesuai untuk digunakan dalam analisis aktivitas antioksidan.

Hasil Pengukuran *Operating Time*

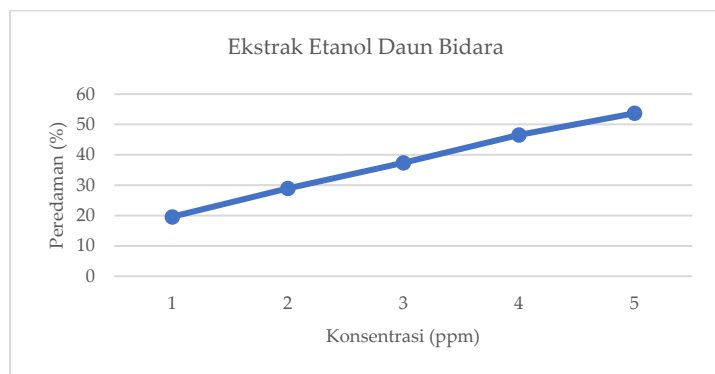
Penetapan waktu reaksi bertujuan untuk mengidentifikasi durasi paling efektif yang diperlukan agar proses interaksi antar senyawa berlangsung secara maksimal dan menghasilkan produk yang stabil, yang ditandai dengan tidak adanya penurunan absorbansi. Hasil pengukuran menunjukkan bahwa nilai *operating*

time untuk larutan DPPH stabil pada rentang waktu antara menit ke-6 hingga menit ke-7 dan menit ke-20 hingga menit ke-21.

Hasil Analisis Nilai IC₅₀

Tabel 1. Data Hasil Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Bidara

Sampel	Konsentrasi (µg/mL)	Absorbansi	% Peredaman	IC ₅₀
Ekstrak Etanol Daun Bidara	1	0,361	19,59	4,488 µg/mL
	2	0,319	28,95	
	3	0,281	37,41	
	4	0,240	46,54	
	5	0,208	53,57	

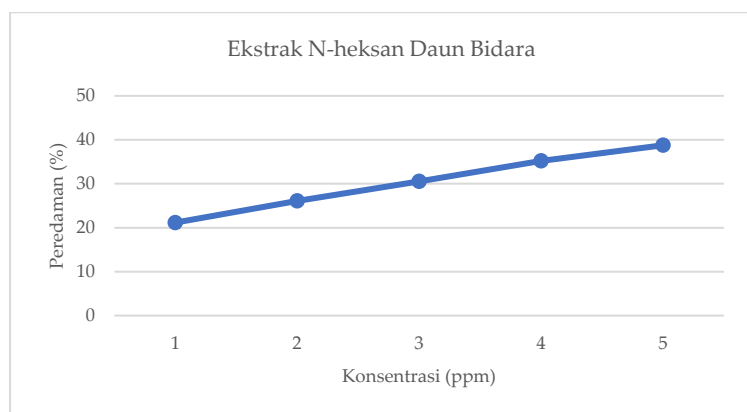


Grafik 1. Kurva Hubungan Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Bidara dengan Persentase Aktivitas Antioksidan

Berdasarkan tabel 1 hasil diatas menunjukkan terjadinya penurunan Pada konsentrasi 1 ppm hingga 5 ppm, penurunan nilai absorbansi pada larutan ekstrak etanol daun bidara mengindikasikan aktivitas antioksidan, di mana semakin rendah tingkat absorbansi yang terukur, semakin tinggi kemampuan ekstrak tersebut dalam menetralsir radikal bebas. Efek ini mencerminkan efektivitas senyawa antioksidan yang terkandung dalam sampel. Hasil perhitungan IC₅₀ sebesar 4,488 µg/ml (IC₅₀ < 50 µg/ml) [8] mengindikasikan bahwa ekstrak etanol daun bidara termasuk dalam kategori antioksidan sangat kuat.

Tabel 2. Hasil Data Aktivitas Antiosidan Ekstrak N-Heksan Daun Bidara

Sampel	Konsentrasi (µg/mL)	Absorbansi	% Peredaman	IC ₅₀
Ekstrak N-heksan Daun Bidara	1	0,354	21,158	7,54 µg/mL
	2	0,332	26,057	
	3	0,312	30,51	
	4	0,291	35,189	
	5	0,275	38,75	

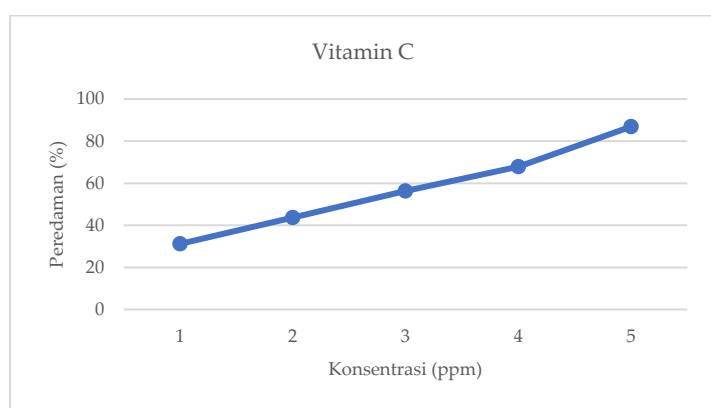


Grafik 2. Kurva Hubungan Konsentrasi Ekstrak N-Heksan Daun Bidara dengan Persentase Aktivitas Antioksidan

Berdasarkan tabel 2 diatas menunjukkan terjadinya penurunan pada nilai absorbansi pada konsentrasi 1 ppm hingga 5 ppm, penurunan nilai absorbansi pada larutan ekstrak n-heksan daun bidara mengindikasikan aktivitas antioksidan, di mana semakin rendah tingkat absorbansi yang terukur, semakin tinggi kemampuan ekstrak tersebut dalam menetralsir radikal bebas. Efek ini mencerminkan efektivitas senyawa antioksidan yang terkandung dalam sampel. Hasil perhitungan IC_{50} sebesar 7,54 $\mu\text{g/ml}$ ($IC_{50} < 50 \mu\text{g/ml}$) [8], mengindikasikan bahwa ekstrak etanol daun bidara termasuk dalam kategori antioksidan sangat kuat.

Tabel 3. Data Hasil Aktivitas Antioksidan Vitamin C

Sampel	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi	% Peredaman	IC_{50}
	1	0,309	31,18	
	2	0,253	43,65	
Vitamin C	3	0,196	56,34	2,47 $\mu\text{g/mL}$
	4	0,144	67,92	
	5	0,059	86,85	



Grafik 3. Kurva Hubungan Konsentrasi Ekstrak Vitamin C Daun Bidara dengan Persentase Aktivitas Antioksidan

Berdasarkan tabel 3 diatas menunjukkan terjadinya penurunan Pada konsentrasi 1 ppm hingga 5 ppm, penurunan nilai absorbansi pada larutan vitamin c daun bidara mengindikasikan aktivitas antioksidan, di mana semakin rendah tingkat absorbansi yang terukur, semakin tinggi kemampuan ekstrak tersebut dalam menetralsir radikal bebas. Efek ini mencerminkan efektivitas senyawa antioksidan yang terkandung dalam sampel. 2,47 $\mu\text{g/ml}$ ($IC_{50} < 50 \mu\text{g/ml}$) [8].

Kesimpulan

Hasil penelitian mengungkapkan bahwa ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam.) yang diperoleh dengan pelarut etanol dan n-heksan mengandung metabolit sekunder seperti alkaloid, glikosida, dan terpenoid/steroid, namun flavonoid hanya ditemukan pada ekstrak etanol. Analisis GC-MS menunjukkan bahwa ekstrak etanol didominasi oleh ester asam lemak seperti methyl palmitate dan methyl oleate, sedangkan ekstrak n-heksan mengandung senyawa non-polar seperti squalene dan tetratetracontane. Uji aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa kedua ekstrak memiliki potensi sangat kuat, dengan ekstrak etanol menunjukkan efektivitas lebih tinggi ($IC_{50} = 4,488 \mu\text{g/mL}$) dibandingkan ekstrak n-heksan ($IC_{50} = 7,54 \mu\text{g/mL}$), meskipun keduanya masih di bawah efektivitas vitamin C sebagai kontrol ($IC_{50} = 2,47 \mu\text{g/mL}$). Temuan ini menegaskan bahwa jenis pelarut sangat memengaruhi efisiensi ekstraksi senyawa aktif, di mana etanol lebih optimal dalam mengekstrak komponen antioksidan. Temuan ini secara empiris membuktikan bahwa polaritas pelarut sangat menentukan profil senyawa dan aktivitas biologis yang diekstraksi, dengan etanol 96% menunjukkan kinerja yang lebih optimal untuk mengisolasi senyawa antioksidan dari daun bidara. Hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa ekstrak etanol daun bidara memiliki potensi untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai sumber antioksidan alami dalam formulasi sediaan fitofarmaka, suplemen kesehatan, atau bahan aktif dalam industri pangan fungsional. Oleh karena itu, ekstrak etanol daun bidara berpotensi untuk

dikembangkan lebih lanjut sebagai sumber antioksidan alami, dengan ekstraksi menggunakan etanol 96% sebagai metode pilihan.

Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan tidak memiliki konflik kepentingan yang dapat memengaruhi pelaksanaan, analisis, maupun penulisan artikel jurnal ini.

Referensi

- [1] Bialangi, N., Sahami, U., Musa, W. J. A., Kunusa, W. R., & Aman, L. O. (2023). Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etil Asetat Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana*). *Jamb.J.Chem.*, 5(1), 19–30.
- [2] Ulfa, A. M., & Suriyadin, A. (2024). Profil Senyawa Fitokimia Daun Bidara Arab (*Ziziphus mauritiana* L.) Dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). 2(1), 106–110.
- [3] Shinta Cania Maiza, Trie Yuni Elfasyari, & Ghalib Syukrillah Syahputra. (2022). Penetapan Kadar Total Flavonoid dan Tanin Ekstrak Daun Bidara Arab (*Ziziphus Spina-christi* Lam). *Journal Pharma Saintika*, 5(2), 30–39. <https://doi.org/10.51225/jps.v5i2.13>
- [4] Maria Ulfa, A., & Junaida, R. (2023). Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia Dan Analisis Proksimat Terhadap Ekstrak Etanol Daun Bidara Arab (*Ziziphus Mauritiana* L). *Journal of Health Educational Science and Technology*, 6(2), 125–132. <https://doi.org/10.25139/htc.v6i2.6775>
- [5] Nia, P., Santoso, C., Fiano, F., Kerans, A., Luh, N., & Kartika, P. (2023). Koparasi Kandungan Fitokimia Serta Aktivitas Antioksidan Ekstrak. *Jurnal Medika Udayana*, 12(6), 12–18.
- [6] Mardhiyani, S., Pratiwi, R. D., & Nugroho, A. (2023). Peran senyawa antioksidan dalam pencegahan penyakit degeneratif. *Jurnal Biomedika*, 16(2), 89–97.
- [7] Aisyah, N., Harahap, M. R., & Arfi, F. (2020). Analisis Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana* L.) TERHADAP *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus*. *Amina*, 2(3), 106–113.
- [8] Nofita, N., Rosidah, D. N. U., & Yusuf, M. (2022). Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) Menggunakan Pelarut Etanol Dan N-Heksana. *Jurnal Ilmu Kedokteran Dan Kesehatan*, 9(3), 924–933. <https://doi.org/10.33024/jikk.v9i3.5562>
- [9] Diva Candraningrat, I. D. A. A., Santika, A. A. G. J., Dharmayanti, I. A. M. S., & Prayascita, P. W. (2021). Review Kemampuan Metode GC-MS Dalam Identifikasi Flunitrazepam Terkait Dengan Aspek Forensik Dan Klinik. *Jurnal Kimia*. <https://doi.org/10.24843/jchem.2021.v15.i01.p03>
- [10] Kurniati, M. (2022). Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH Ekstrak Benalu Pohon Mahoni (*Loranthus swietenia macrophylla*) di Aceh Besar. *Skripsi, Universitas Islam Negeri Ar-Raniry Darussalam*, 42.
- [11] Nugraha, R., Batubara, R., & Ginting, H. (2015). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk) Berdasarkan Umur Pohon. *Peronema Forestry Science Journal*, 4(1), 32–40.
- [12] Shinta Cania Maiza, Trie Yuni Elfasyari, & Ghalib Syukrillah Syahputra. (2022). Penetapan Kadar Total Flavonoid dan Tanin Ekstrak Daun Bidara Arab (*Ziziphus Spina-christi* Lam). *Journal Pharma Saintika*, 5(2), 30–39. <https://doi.org/10.51225/jps.v5i2.13>
- [13] Yanti, S., & Vera, Y. (2019). Skrining fitokimia ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*). *Jurnal Kesehatan Ilmiah Indonesia (Indonesian Health Scientific Journal)*, 4(2), 41–46.
- [14] Darmanto, Y. S., Sari, R. P., & Nugroho, A. (2014). Identifikasi senyawa glikosida dalam ekstrak tanaman obat. *Jurnal Ilmu Farmasi Indonesia*, 12(1), 45–52.
- [15] Agie novilda, C., Tutik, T., & Marcellia, S. (2022). Analisis Senyawa Metabolit Sekunder Menggunakan Gc-Ms Ekstrak Metanol Kulit Bawang Merah (*Allium cepa* L.) Dengan Metode Refluks Dan Perkolasi. *Jurnal Sains Dan Teknologi Farmasi Indonesia*, 11(2). <https://doi.org/10.58327/jstfi.v11i2.199>
- [16] Koilybayeva, M., Shynykul, Z., Ustenova, G., Waleron, K., Jořica, J., Mustafina, K., Amirkhanova, A., Koloskova, Y., Bayaliyeva, R., Akhayeva, T., Alimzhanova, M., Turgumbayeva, A., Kurmangaliyeva, G., Kantureyeva, A., Batyrbayeva, D., & Alibayeva, Z. (2023). Gas Chromatography–Mass Spectrometry Profiling of Volatile Metabolites Produced by Some *Bacillus* spp. and Evaluation of Their Antibacterial and Antibiotic Activities. *Molecules*, 28(22), 1–27. <https://doi.org/10.3390/molecules28227556>
- [17] Fishman, V. N., Martin, G. D., & Lamparski, L. L. (2004). Comparison of Series 5 gas chromatography column performances from a variety of manufacturers for separation of chlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans using high-resolution mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1057(1–2), 151–161. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.09.034>
- [18] Putra, I. G. A. M., Wrasiasi, L. P., & Yuarini, D. A. A. (2022). Identifikasi Senyawa Penyusun Minuman Herbal Serai-Gula Lontar Menggunakan Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan*, 11(4), 593–600.
- [19] Epa, U. S. (2016). Analytical Protocol for VX Using Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS). September.

- [20] Caboni, P., Murgia, A., Porcu, A., Demuru, M., Pulina, G., & Nudda, A. (2016). Gas chromatography-mass spectrometry metabolomics of goat milk with different polymorphism at the α S1-casein genotype locus. *Journal of Dairy Science*, 99(8), 6046–6051. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10537>
- [21] Mustarichie, R., Ramdani, D., & Wulandari, A. (2017). Penentuan aktivitas antioksidan ekstrak tanaman menggunakan metode DPPH. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 15(2), 123–130.
- [22] Nawaz, H., Shad, M. A., Rehman, N., Andaleeb, H., & Ullah, N. (2020). Effect of solvent polarity on extraction yield and antioxidant properties of phytochemicals from bean (*Phaseolus vulgaris*) seeds. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 56. <https://doi.org/10.1590/s2175-97902019000417129>
- [23] Hameed, I. H., Al-Rubaye, A. F., & Kadhim, M. J. (2017). Uses of Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy Technique in Pharmaceutical Analysis: A Review. *International Journal of Current Pharmaceutical Review and Research*, 8(02). <https://doi.org/10.25258/ijcpr.v8i02.9189>
- [24] Feng, L., Xu, F., Qiu, S., Sun, C., & Lai, P. (2024). Chemical Composition and Antibacterial, Antioxidant, and Cytotoxic Activities of Essential Oils from Leaves and Stems of *Aeschynomene indica* L. *Molecules*, 29(15). <https://doi.org/10.3390/molecules29153552>
- [25] Pauloi, L., Salim, R. M., Chiang, L. K., Sundang, M., Rusdi, N. A., Maid, M., Bakansing, S. M., & Moktar, J. (2024). GC-MS analysis of bioactive compounds in ethanolic extract on different parts of *Ziziphus mauritiana*. *Biodiversitas*, 25(10), 3442–3453. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d251006>
- [26] Julianto, T. S. (2019). *Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining fitokimia*. In Jakarta penerbit buku kedokteran EGC (Vol. 53, Issue 9).
- [27] Shufyani, F., & Dominica, D. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *Journal of Pharmaceutical And Sciences*, 5(1), 128–135. <https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v5i1.108>
- [28] Chutulo, E. C., Chalannavar, R. K., & Pramod Kumar, P. (2020). Chemical compositions, cytotoxicity and antioxidant activity of the endophytic fungus *fusarium napiforme* isolated from *psidium guajava*. *Studies in Fungi*, 5(1), 332–352. <https://doi.org/10.5943/sif/5/1/15>
- [29] Ukwubile, C. A., Ahmed, A., Katsayal, U. A., Ya'u, J., & Mejida, S. (2019). GC–MS analysis of bioactive compounds from *Melastomastrum capitatum* (Vahl) Fern. leaf methanol extract: An anticancer plant. *Scientific African*, 3(April). <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2019.e00059>
- [30] Shah, M., Murad, W., Rehman, N. U., Mubin, S., Al-Sabahi, J. N., Ahmad, M., Zahoor, M., Ullah, O., Waqas, M., Ullah, S., Kamal, Z., Almeer, R., Bungau, S. G., & Al-Harrasi, A. (2021). GC-MS analysis and biomedical therapy of oil from n-hexane fraction of *scutellaria edelbergii* rech. F.: In vitro, in vivo, and in silico approach. *Molecules*, 26(24), 12–15. <https://doi.org/10.3390/molecules26247676>
- [31] Ningsih, M. S., Susilo, E., Rahmadina, Qolby, F. H., Tanjung, D. D., Anis, U., N, E. S., Panggabean, N. H., Priyadi, S., Nasution, J., Sari, N. Y., Baharuddin, R., & Wisnubroto, M. P. (2016). *Dasar-Dasar Fisiologi Tumbuhan*.