


Pengaruh Polaritas Pelarut terhadap Profil Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kamboja Putih (*Plumeria alba* L.)

Amira Sri Wulandari ^{a, 1}, Anita Dwi Puspitasari ^{a, 2*}

^a Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim, Jl. Raya Gunungpati Nongkosawit KM. 15, Nongkosawit, Gunungpati, Semarang, 50224, Indonesia

¹ amirasriwulandani@gmail.com; ²anita@unwahas.ac.id*

*korespondensi penulis

INFO ARTIKEL	ABSTRAK
<p>Sejarah artikel: Diterima : 15-04-2026 Revisi : 1-5-2026 Disetujui : 14-5-2026</p> <p>Kata kunci: Antioksidan Fenolik Flavonoid Tanin <i>Plumeria alba</i> L.</p>	<p>Daun kamboja putih (<i>Plumeria alba</i> L.) mengandung senyawa fenolik, flavonoid, dan tanin yang berpotensi sebagai antioksidan. Kadar senyawa tersebut dipengaruhi oleh jenis pelarut ekstraksi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil fitokimia (kadar fenolik, flavonoid, dan tanin total) serta aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol 70%, etanol 96%, metanol, dan etil asetat daun kamboja putih. Serbuk daun diekstraksi dengan metode maserasi. Kadar senyawa fenolik, flavonoid, dan tanin total diukur secara spektrofotometri, sedangkan aktivitas antioksidan ditentukan dengan metode ABTS. Data dianalisis secara statistik. Profil fitokimia menunjukkan kadar fenolik total berturut-turut sebesar 72,56; 89,30; 220,48; dan 108,65 mgGAE/gram ekstrak untuk etanol 70%, etanol 96%, metanol, dan etil asetat. Kadar flavonoid total berturut-turut 1,62; 3,89; 10,51; dan 7,64 mgQE/gram ekstrak, sedangkan kadar tanin total 37,71; 42,14; 43,25; dan 99,02 mgTAE/gram ekstrak. Aktivitas antioksidan (IC₅₀) ekstrak etanol 70%, etanol 96%, metanol, dan etil asetat berturut-turut 95,37; 85,31; 58,87; dan 73,59 µg/mL. Dapat disimpulkan bahwa perbedaan pelarut mempengaruhi profil fitokimia dan aktivitas antioksidan. Ekstrak metanol memberikan kadar fenolik (220,48 mgGAE/gram ekstrak) dan flavonoid total (10,51 mgQE/gram ekstrak) tertinggi yang berkorelasi dengan aktivitas antioksidan terbaik (IC₅₀ 58,87 µg/mL). Pelarut etil asetat paling optimal untuk mengekstrak tanin (99,02 mgTAE/gram ekstrak) dari daun kamboja putih.</p>
<p>Key word: Antioxidants Phenolics Flavonoids Tannins <i>Plumeria alba</i> L.</p>	<p>ABSTRACT</p> <p>White frangipani leaves (<i>Plumeria alba</i> L.) contain phenolic, flavonoid, and tannin compounds with potential antioxidant activity. The extraction solvent influences the levels of these compounds. This study aimed to determine the phytochemical profiles (total phenolic, flavonoid, and tannin contents) and antioxidant activity of extracts prepared from white frangipani leaves using 70% ethanol, 96% ethanol, methanol, and ethyl acetate. Leaf powder was extracted using maceration. Total phenolic, flavonoid, and tannin contents were measured spectrophotometrically, while antioxidant activity was assessed via the ABTS method. Data were analyzed statistically. The phytochemical profile showed total phenolic contents of 72.56, 89.30, 220.48, and 108.65 mg GAE/g extract for 70% ethanol, 96% ethanol, methanol, and ethyl acetate, respectively. Total flavonoid contents were 1.62, 3.89, 10.51, and 7.64 mgQE/g extract, while total tannin contents were 37.71, 42.14, 43.25, and 99.02 mgTAE/g extract. Antioxidant activities (IC₅₀) were 95.37, 85.31, 58.87, and 73.59 µg/mL, respectively. In conclusion, extraction solvents significantly affect the phytochemical profile and antioxidant activity. Methanol extract yielded the highest total phenolic (220.48 mgGAE/g extract) and flavonoid (10.51 mgQE/g extract) contents, correlating with the best antioxidant activity (IC₅₀ 58.87 µg/mL). Ethyl acetate was most effective for tannin extraction (99.02 mgTAE/g extract).</p> <p>This is an open access article under the CC-BY-SA license.</p> 

Pendahuluan

Radikal bebas merupakan spesies kimia berupa molekul, atom, atau gugus yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya, sehingga bersifat sangat reaktif dan tidak stabil (Martemucci *et al.*, 2022). Kondisi dimana jumlah radikal bebas melebihi kapasitas tubuh untuk menetralkannya dikenal sebagai stres oksidatif, yang dapat memicu kerusakan seluler dan berbagai penyakit degeneratif (Manful *et al.*, 2025). Untuk menanggulangi dampak negatif tersebut, tubuh memerlukan asupan antioksidan eksogen yang berfungsi sebagai pendonor elektron untuk menstabilkan radikal bebas dan menghambat reaksi oksidasi berantai (Chaudhary *et al.*, 2023). Meskipun antioksidan sintetik seperti Butil Hidroksi Anisol (BHA), Butil Hidroksi Toluena (BHT), dan Tert-Butil Hidroksi Quinon (TBHQ) efektif dan tersedia secara luas, penggunaannya kini mulai dibatasi karena potensi efek samping karsinogenik dan toksisitas pada penggunaan jangka panjang (Esazadeh *et al.*, 2024). Hal ini mendorong urgensi eksplorasi sumber antioksidan alami dari tanaman yang dinilai lebih aman dan kompatibel bagi tubuh (Maury *et al.*, 2020).

Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai sumber antioksidan alami adalah kamboja putih (*Plumeria alba* L.) (Apriana *et al.*, 2025; Kaur *et al.*, 2022). Studi terdahulu mengungkapkan bahwa daun kamboja putih mengandung metabolit sekunder seperti terpenoid, steroid, flavonoid, tanin, dan alkaloid (Chaudhuri *et al.*, 2015). Ekstrak metanol, serta fraksi n-heksan, etil asetat, dan air dari daun kamboja putih memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} yang bervariasi, dimana fraksi etil asetat menunjukkan aktivitas terkuat (IC_{50} 94,43 ppm) menggunakan metode DPPH (Anggoro *et al.*, 2022). Meskipun potensi antioksidannya telah diketahui, profil fitokimia dan aktivitas antioksidan suatu ekstrak sangat dipengaruhi oleh proses ekstraksi, khususnya pemilihan jenis pelarut (Lee *et al.*, 2024).

Meskipun studi sebelumnya pada *Plumeria alba* L. telah mengeksplorasi fraksi ekstrak dengan metode DPPH (Anggoro *et al.*, 2022), belum ada penelitian yang secara sistematis mengkaji pengaruh gradasi polaritas pelarut (n-heksan, etil asetat, etanol 70%, dan metanol) terhadap profil fitokimia kuantitatif (kadar fenolik total, flavonoid total, dan tanin total) sekaligus aktivitas antioksidan menggunakan metode ABTS. Pendekatan ini mengisi celah penelitian dengan mengoptimalkan ekstraksi berbasis polaritas untuk spektrum senyawa yang lebih luas, memanfaatkan keunggulan ABTS

dalam mendeteksi antioksidan hidrofilik dan lipofilik, yang belum diterapkan pada spesies ini.

Efisiensi ekstraksi senyawa bioaktif sangat bergantung pada prinsip *like dissolves like*, dimana senyawa akan terlarut optimal pada pelarut dengan tingkat kepolaran yang sesuai (Nair *et al.*, 2026). Variasi kepolaran pelarut akan menghasilkan profil fitokimia yang berbeda, yang secara langsung berkorelasi dengan aktivitas antioksidannya (Akullo *et al.*, 2023). Berbagai studi pada tanaman lain telah membuktikan fenomena ini, misalnya pada berbagai sayuran diantaranya bawang merah, lobak putih, lobak merah, wortel, dan bit (Mohammed *et al.*, 2022), pada daun zodia, Ramadhani *et al.* (2022) pada *Limnophila aromatica* sejenis rempah-rempah (Do *et al.*, 2014) serta bunga *Syzygium Aromaticum* L. (Temesgen *et al.*, 2022) secara konsisten melaporkan bahwa perbedaan pelarut (n-heksan, etil asetat, etanol, metanol) memberikan pengaruh signifikan terhadap rendemen, kadar fenolik, flavonoid, tanin, dan kekuatan antioksidan yang dihasilkan. Oleh karena itu, optimasi pelarut sangat krusial untuk mengeksplorasi potensi maksimal dari *Plumeria alba* L. yang belum sepenuhnya terpetakan dalam berbagai tingkat kepolaran.

Selain faktor pelarut, pemilihan metode pengujian juga menentukan akurasi penentuan aktivitas antioksidan. Sebagian besar penelitian sebelumnya pada *Plumeria alba* L. menggunakan metode DPPH. Namun, metode 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) atau ABTS menawarkan keunggulan tersendiri karena radikal kation ABTS dapat larut dalam pelarut organik maupun air (hidrofilik dan lipofilik) (Ilyasov *et al.*, 2020). Karakteristik ini memungkinkan metode ABTS untuk mendeteksi spektrum senyawa antioksidan yang lebih luas dibandingkan metode lain, sehingga sangat relevan digunakan dalam penelitian yang melibatkan variasi pelarut dengan kepolaran berbeda (Shahidi & Samarasinghe, 2025).

Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh variasi polaritas pelarut (n-heksan, etil asetat, etanol 70%, dan metanol) terhadap profil fitokimia (kadar fenolik, flavonoid, dan tanin total) serta aktivitas antioksidan ekstrak daun kamboja putih (*Plumeria alba* L.) menggunakan metode ABTS. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi komprehensif mengenai pelarut terbaik untuk mengekstraksi senyawa antioksidan spesifik dari daun kamboja putih.

Metode

Penelitian ini menggunakan metode ekstraksi maserasi untuk mendapatkan ekstrak dari serbuk daun kamboja putih (*Plumeria alba* L.) dengan empat jenis pelarut, yaitu etanol 70%, etanol 96%, metanol, dan etil asetat. Aktivitas antioksidan dievaluasi melalui metode ABTS dengan Trolox sebagai pembanding standar, di mana nilai IC_{50} diukur untuk menilai potensi penghambatan radikal bebas. Kadar senyawa fenolik total ditentukan secara spektrofotometri menggunakan standar asam galat (mg GAE/gram ekstrak), kadar flavonoid total dengan standar quercetin (mg QE/gram ekstrak), serta kadar tanin total dengan standar asam tanat (mg TAE/gram ekstrak). Analisis data dilakukan secara statistik dengan uji normalitas, uji homogenitas, serta uji beda parametrik atau nonparametrik untuk membandingkan perbedaan antar-ekstrak. Pendekatan ini memungkinkan penilaian komprehensif pengaruh pelarut terhadap aktivitas antioksidan dan kandungan metabolit sekunder.

I. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan meliputi spektrofotometer UV-Vis (*Shimadzu*), rotary evaporator, moisture balance, neraca analitik, *magnetic stirrer*, oven, ayakan mesh 40, dan alat-alat gelas laboratorium.

Bahan utama yang digunakan adalah daun kamboja putih (*Plumeria alba* L.) yang diperoleh dari Kecamatan Bluluk, Kabupaten Colomadu, Jawa Tengah dan telah dideterminasi di Laboratorium Lingkungan, Fakultas Biologi, Universitas Jenderal Soedirman. Bahan kimia meliputi pelarut (etil asetat, metanol, etanol 70%, etanol 96%), aquadest, asam galat (Sigma), Na_2CO_3 , reagen Folin-Ciocalteu, kuersetin (Sigma), $AlCl_3$, kalium asetat, reagen Folin-Denis, asam tanat, ABTS, kalium persulfat ($K_2S_2O_8$), trolox, HCl pekat, serbuk Mg, dan $FeCl_3$.

2. Jalannya Penelitian

a. Preparasi Sampel dan Ekstraksi

Simplisia daun kamboja putih dibuat dengan mencuci bersih 3 kg daun segar, dirajang, dan dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C. Simplisia kering dihaluskan dan diayak dengan mesh No. 40 hingga diperoleh serbuk dengan kadar air <10%. Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi dengan variasi pelarut (etil asetat, metanol, etanol 70%, dan etanol 96%). Sebanyak 100 g serbuk dimaserasi dengan 750 mL pelarut (rasio awal 1:7,5) dalam wadah terlindung cahaya selama 3 hari

dengan pengadukan 3 kali sehari (pagi, siang dan sore). Filtrat disaring (maserat 1), dan ampas diremaserasi dengan 250 mL pelarut selama 2 hari (maserat 2). Seluruh maserat digabungkan dan diuapkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental (Priyadi *et al.*, 2025).

b. Skrining Fitokimia

Uji kualitatif dilakukan pada semua jenis ekstrak. Uji kualitatif fenolik menggunakan reagen $FeCl_3$ 10%. Hasil positif ditandai dengan perubahan warna menjadi hijau ungu, biru, atau hitam pekat (Widiawati dan Qodri, 2023). Uji kualitatif flavonoid menggunakan uji Wilstatter (Mg + HCl pekat). Hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna kuning atau jingga (Inayah *et al.*, 2024). Uji kualitatif tanin menggunakan larutan NaCl 2% dan $FeCl_3$ 15%. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya endapan putih (Wirman *et al.*, 2025).

c. Penetapan Kadar Senyawa Total

Pengukuran dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan penentuan operating time (OT) dan panjang gelombang maksimum untuk masing-masing pengujian. Penetapan kadar fenolik total menggunakan metode Folin-Ciocalteu dengan pembanding asam galat (seri konsentrasi 50–300 ppm). Sampel/standar ditambahkan reagen Folin-Ciocalteu, didiamkan 8 menit, lalu ditambahkan Na_2CO_3 7%. Absorbansi diukur pada panjang gelombang (rentang visibel). Penetapan kadar flavonoid total menggunakan metode kolorimetri $AlCl_3$ dengan pembanding kuersetin (seri konsentrasi 2–12 ppm). Sampel/standar direaksikan dengan $AlCl_3$ 10% dan kalium asetat 1 M. Absorbansi diukur pada rentang 400-500 nm. Penetapan kadar tanin total menggunakan metode Folin-Denis dengan pembanding asam tanat (seri konsentrasi 20–100 ppm). Sampel/standar ditambahkan reagen Folin-Denis dan Na_2CO_3 jenuh. Absorbansi diukur pada rentang 400-800 nm (Pratama *et al.*, 2019).

d. Uji Aktivitas Antioksidan metode ABTS

Larutan stok ABTS dibuat dengan mereaksikan ABTS 7,4 mM dengan kalium persulfat 2,46 mM, diinkubasi dalam gelap selama 12-16 jam. Larutan stok sampel ekstrak dibuat dengan konsentrasi 1000 ppm dan diencerkan menjadi seri konsentrasi 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm. Sebagai pembanding positif digunakan Trolox dengan seri konsentrasi 5–25 ppm. Pengujian dilakukan dengan mencampurkan 1 mL larutan uji (sampel/Trolox) dengan 1 mL larutan ABTS. Campuran diinkubasi selama operating time

yang ditentukan, kemudian absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum (600-800 nm). Aktivitas antioksidan dihitung berdasarkan kemampuan scavenging radikal ABTS (Tangkau *et al.*, 2023).

e. Analisis statistik

Kadar fenolik total, flavonoid total, tanin total dan aktivitas antioksidan dari berbagai pelarut diuji normalitasnya menggunakan uji Shapiro-Wilk atau Kolmogorov-Smirnov pada taraf signifikansi 5% ($\alpha = 0,05$), serta homogenitas varians menggunakan uji Levene (Usmadi, 2020). Hasil uji menunjukkan data berdistribusi normal ($p > 0,05$) dan varians homogen ($p > 0,05$), sehingga dilanjutkan dengan uji parametrik one-way ANOVA untuk menguji perbedaan antar kelompok (Arif *et al.*, 2023). Apabila terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$), dilakukan uji lanjut Tukey HSD untuk menentukan kelompok yang berbeda.

Hasil dan Pembahasan

Sampel tanaman yang digunakan dalam penelitian ini telah dideterminasi di Laboratorium Lingkungan, Fakultas Biologi, Universitas Jenderal Soedirman dengan nomer surat B/432/UN23.6.10/TA.00.01/2024 dan dikonfirmasi sebagai Kamboja Putih dengan identitas Famili Apocynaceae, Genus *Plumeria*, dan Spesies *Plumeria alba* L. Proses preparasi simplisia daun kamboja putih dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50°C hingga mencapai kadar $\leq 10\%$ dengan tujuan untuk meminimalisir pertumbuhan bakteri, sehingga simplisia dapat disimpan lebih lama (Kissinger *et al.*, 2024). Sebanyak 3 kg daun kamboja putih segar setelah pengeringan menghasilkan 0,6 kg simplisia kering dengan rendemen simplisia 24,31%, yaitu persentase perbandingan bobot simplisia kering terhadap bobot bahan awal yang menunjukkan efisiensi hasil pengolahan. Kadar air serbuk 7%, masih memenuhi syarat $\leq 10\%$ sehingga cukup stabil untuk penyimpanan.

Skrining fitokimia kandungan fenolik dengan reagen $FeCl_3$ menunjukkan ekstrak etanol 70%, etanol 96%, metanol, dan etil asetat daun kamboja putih positif mengandung senyawa fenolik yang ditandai dengan perubahan warna menjadi cokelat atau hijau kehitaman. Uji flavonoid (reaksi Mg-HCl dalam amil alkohol) memberikan hasil positif pada keempat ekstrak, yang ditandai dengan perubahan warna menjadi jingga pada fase atas. Uji tanin (NaCl-gelatin) menunjukkan bahwa keempat ekstrak negatif mengandung tanin yang ditandai dengan tidak terbentuknya endapan putih,

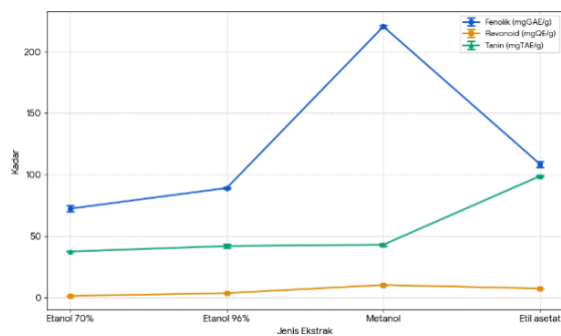
meskipun analisis kuantitatif kemudian membuktikan keberadaan tanin dalam keempat ekstrak. Perbedaan antara uji kualitatif dan kuantitatif ini umum terjadi karena uji tabung memiliki sensitivitas terbatas dan sangat bergantung pada jenis tanin/flavonoid yang dominan, sedangkan metode spektrofotometri merespons total gugus fenolik dalam sistem. Hal ini menegaskan pentingnya tidak hanya mengandalkan skrining kualitatif ketika mengevaluasi potensi antioksidan bahan alam (Sankhalkar & Vernekar, 2016).

Penetapan kadar fenolik, flavonoid dan tanin total pada keempat ekstrak daun kamboja putih dilakukan secara spektrofotometri (Rebaya *et al.*, 2015). Rincian hasil penetapan kadar fenolik, flavonoid dan tanin total keempat ekstrak daun kamboja putih disajikan pada Tabel 1 dan Grafik 1.

Tabel 1. Kadar fenolik, flavonoid dan tanin total

Ekstrak	Kadar \pm SD		
	Fenolik (mgGAE/g)	Flavonoid (mgQE/g)	Tanin (mgTAE/g)
Etanol 70%	72,56 \pm 2,54	1,62 \pm 0,05	37,71 \pm 0,26
Etanol 96%	89,30 \pm 0,80	3,89 \pm 0,02	42,14 \pm 1,66
Metanol	220,48 \pm 1,19	10,51 \pm 0,07	43,25 \pm 0,79
Etil asetat	108,654 \pm 2,30	7,64 \pm 0,15	99,02 \pm 0,81

Replikasi: 3 kali



Grafik 1. Kadar fenolik, flavonoid dan tanin total

Kadar fenolik total ditetapkan dengan reagen *Folin-Ciocalteu* menggunakan asam galat sebagai standar (kurva baku $y = 0,00217x + 0,11122$; $r = 0,997$; λ_{maks} 748,30 nm). Hasil yang diperoleh dari kadar tertinggi ke yang terendah berturut-turut adalah metanol > etil asetat > etanol 96% > etanol 70%, yang konsisten dengan kemampuan pelarut polar-semipolar mengekstraksi polifenol (Kaczorová *et al.*, 2021).

Kadar flavonoid total diukur menggunakan metode kompleksasi $AlCl_3$ dengan kuersetin sebagai standar ($y = 0,04914x + 0,11902$; $r =$

0,999; λ_{maks} 430,20 nm). Seperti fenolik, urutan ekstraksi flavonoid juga menunjukkan dominasi metanol, diikuti oleh etil asetat dan etanol 96%, sementara etanol 70% menghasilkan kadar flavonoid paling rendah. Data ini mengindikasikan bahwa flavonoid daun kamboja putih sebagian besar larut dalam pelarut polar (metanol) dan semipolar (etil asetat), kemungkinan berupa flavon/flavonol yang mudah membentuk kompleks dengan AlCl_3 (Widyawati *et al.*, 2014).

Kadar tanin total ditetapkan dengan asam tanat sebagai standar dan reagen Folin–Denis– Na_2CO_3 jenuh ($y = 0,00496x + 0,13668$; $r = 0,999$; λ_{maks} 747,00 nm). Menariknya, etil asetat menghasilkan tanin tertinggi, berbeda dengan pola fenolik dan flavonoid yang didominasi oleh metanol (Amalia *et al.*, 2025). Fenomena ini disebabkan oleh sifat kelarutan senyawa bioaktif yang berbeda pada setiap jenis pelarut ekstraksi. Ekstrak etil asetat cenderung mengekstrak tanin total dalam kadar tertinggi dari daun kamboja putih karena etil asetat bersifat semi-polar, sehingga efektif melarutkan tanin yang bersifat polimerik dan kurang polar dibandingkan senyawa fenolik atau flavonoid sederhana. Sebaliknya, ekstrak metanol sebagai pelarut polar tinggi lebih unggul dalam mengekstrak fenolik dan flavonoid total, yang umumnya bersifat lebih hidrofilik dan larut baik dalam alkohol polar seperti metanol.

Aktivitas antioksidan dinilai menggunakan metode ABTS dengan Trolox sebagai pembanding yang menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 20,09 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dan tergolong sangat kuat menurut kriteria Molyneux ($<50 \mu\text{g}/\text{mL}$). Keempat ekstrak daun kamboja putih menunjukkan aktivitas antioksidan kategori kuat (50–100 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Rincian nilai IC_{50} keempat ekstrak daun kamboja putih disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Aktivitas Antioksidan

Ekstrak	Nilai $\text{IC}_{50} \pm \text{SD}$ ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
Etanol 70%	95,37 \pm 0,23
Etanol 96%	85,31 \pm 0,11
Metanol	58,87 \pm 0,05
Etil asetat	73,59 \pm 0,19

Replikasi: 3 kali

Ekstrak metanol memiliki nilai IC_{50} paling kecil sehingga merupakan ekstrak dengan kemampuan peredaman ABTS^+ - tertinggi, diikuti etil asetat, etanol 96%, dan terakhir etanol 70%. Ekstrak metanol memiliki IC_{50} paling kecil (peredaman ABTS^+ tertinggi) karena sifat polar protiknya yang kuat sesuai prinsip *like dissolves like*, sehingga efektif melarutkan senyawa fenolik dan flavonoid polar tinggi yang mendonorkan

hidrogen untuk menetralkan radikal ABTS^+ secara efisien, menghasilkan konsentrasi minimal untuk inhibisi 50%. Sebaliknya, etanol 70% memiliki IC_{50} tertinggi karena polaritasnya lebih rendah (campuran air), kurang optimal mengekstrak metabolit antioksidan kuat seperti tanin semi-polar, dibandingkan dengan etil asetat (semi-polar) atau etanol 96% yang lebih murni.

Uji normalitas (*Shapiro–Wilk/Kolmogorov–Smirnov*) dan homogenitas (Levene) menunjukkan bahwa data IC_{50} terdistribusi normal dan homogen, sehingga dapat dianalisis dengan *One-Way ANOVA*. Hasil ANOVA dan uji lanjut *Tukey* menunjukkan perbedaan yang bermakna antara beberapa kelompok pelarut, menegaskan bahwa polaritas pelarut secara signifikan mempengaruhi aktivitas antioksidan ekstrak.

Secara konseptual, metode ABTS relevan karena dapat digunakan dalam medium berair maupun organik dan dapat mendeteksi baik senyawa hidrofilik maupun lipofilik, sehingga cocok untuk menilai sistem ekstrak kompleks seperti daun kamboja putih (Bibi *et al.*, 2020). Semakin kecil nilai IC_{50} , semakin kuat kemampuan ekstrak menyumbang elektron/hidrogen untuk menetralkan radikal kation ABTS^+ yang berwarna biru–hijau, yang secara langsung tercermin sebagai penurunan absorbansi.

Bila dibandingkan antara kadar fenolik total dan nilai IC_{50} , tampak korelasi yang jelas, di mana ekstrak metanol dengan kadar fenolik tertinggi memiliki nilai IC_{50} terendah, sedangkan etanol 70% dengan kadar fenolik terendah memiliki IC_{50} tertinggi di antara keempat ekstrak. Pola ini memperkuat peran fenolik sebagai kontributor utama aktivitas antioksidan daun kamboja putih, sebagaimana juga dilaporkan pada tanaman lain di mana peningkatan total fenolik berkaitan dengan peningkatan kapasitas penangkapan radikal. Analisis statistik (ANOVA dan uji lanjut) menunjukkan perbedaan kadar fenolik antarpelarut dengan signifikansi $< 0,05$ sehingga efek polaritas terhadap kandungan fenolik dapat dinyatakan bermakna secara statistik.

Berdasarkan data kadar flavonoid total keempat ekstrak daun kamboja putih, flavonoid sebagian besar larut dalam pelarut polar (metanol) dan semipolar (etil asetat), kemungkinan berupa flavon/flavonol yang mudah membentuk kompleks dengan AlCl_3 . Hubungan antara flavonoid dan aktivitas antioksidan terlihat dari data IC_{50} pada Tabel 2 bahwa dua ekstrak dengan flavonoid paling tinggi (metanol dan etil asetat) juga memiliki IC_{50} yang lebih rendah daripada dua ekstrak lainnya.

Ekstrak etil asetat memiliki flavonoid lebih rendah daripada ekstrak etanol 96%, tetapi aktivitas antioksidannya lebih tinggi daripada etanol 96%. Rendahnya kadar flavonoid total pada ekstrak etil asetat dibandingkan dengan ekstrak etanol 96% disebabkan oleh sifat pelarut semipolar etil asetat yang hanya mengekstrak sebagian flavonoid spesifik dengan kelarutan optimal pada polaritas tersebut, sementara etanol 96% melarutkan spektrum flavonoid yang lebih luas sehingga kadar totalnya lebih tinggi. Namun, aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat justru lebih baik karena fraksi tersebut kaya akan flavonoid dengan struktur kimia yang lebih efektif dalam mendonorkan hidrogen atau elektron untuk menangkap radikal bebas dibandingkan dengan ekstrak etanol 96% yang mengandung campuran senyawa flavonoid heterogen dengan kontribusi antioksidan yang lebih rendah secara keseluruhan (Putri *et al.*, 2025).

Tanin, sebagai polifenol dengan berat molekul besar, berpotensi memberikan kontribusi berarti terhadap aktivitas antioksidan melalui mekanisme donor elektron/hidrogen maupun pengkelatan logam transisi. Hal ini tercermin pada ekstrak etil asetat yang memiliki kombinasi tanin tinggi dan flavonoid sedang, sehingga aktivitas antioksidannya (IC_{50} 73,587 $\mu\text{g}/\text{mL}$) lebih baik daripada ekstrak etanol 70% dan 96%, meskipun kadar fenolik totalnya tidak setinggi metanol. Namun, karena metanol tetap menghasilkan IC_{50} paling rendah meski taninnya tidak tertinggi, dapat disimpulkan bahwa aktivitas antioksidan daun kamboja putih lebih banyak ditentukan oleh fenolik dan flavonoid non-tanin yang kaya di ekstrak metanol, sedangkan tanin memperkuat aktivitas pada ekstrak etil asetat. Senyawa fenolik dan flavonoid non-tanin, terutama flavonoid polihidroksi seperti kuersetin dan derivatnya, diketahui menjadi penentu utama aktivitas antioksidan pada ekstrak metanol karena banyaknya gugus hidroksil fenolik yang dapat mendonorkan hidrogen kepada radikal ABTS sehingga menghasilkan IC_{50} rendah (Seran *et al.*, 2025).

Simpulan dan Saran

Berdasarkan aktivitas antioksidan (IC_{50} ABTS) dan kadar fenolik-flavonoid total, metanol merupakan pelarut paling optimal untuk mengekstraksi komponen aktif daun kamboja putih. Kombinasi kadar fenolik tertinggi (220,12 mg GAE/g) dan flavonoid total tertinggi (10,51 mg QE/g) dengan IC_{50} sebesar 58,87 $\mu\text{g}/\text{mL}$ menunjukkan bahwa ekstrak polar daun kamboja putih sangat kaya senyawa antioksidan kuat.

Mengingat toksisitas metanol untuk aplikasi oral, etanol 96% dan etil asetat menjadi pilihan yang lebih realistis. Kedua pelarut ini lebih sesuai untuk pengembangan sediaan fitofarmaka atau suplemen. Meskipun demikian, penggunaannya memerlukan kompromi berupa penurunan potensi.

Daftar Pustaka

- Akullo, J. O., Kiage-Mokua, B. N., Nakimbugwe, D., Ng'ang'a, J., & Kinyuru, J. (2023). Phytochemical profile and antioxidant activity of various solvent extracts of two varieties of ginger and garlic. *Heliyon*, 9(8), e18806.
- Amalia, S., Jannah, F., Afriani, I. I., Dewi, D. C., & Fasya, A. G. (2025). Exploration of Total Flavonoid Content, Toxicity, and Antibacterial Activity of *Acorus calamus* L. Rhizome Isolates. *Journal of Pure and Applied Chemistry Research*, 14(April), 73–85.
- Anggoro, A. B., Wijaya, E. L., & Elisa, N. (2022). Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi dari Daun Kamboja Putih (*Plumeria alba* L.) terhadap 1,1-Difenilpicrilhidrazin (DPPH) Antioxidant Activity of Extracts and Fractions of White Cambodian Leaves (*Plumeria alba* L.) against 1,1-Diphenylpicrylhydrazyl. *Jurnal Ilmiah Sains*, 22(105), 111–117.
- Apriana, S., Maharani, F., & Riwayati, I. (2025). Effect of Extraction Variables on Phenolic Content and Antibacterial Activity of Frangipani (*Plumeria alba*) Leaf Extract by Microwave-Assisted Extraction (MAE). *Journal of Chemical Process and Material Technology*, 4, 25–35.
- Arif, Alfarez, D. A., & Ramadhan, M. R. (2023). Anova dan Tukey HSD Perbandingan Produksi Padi Antara Tiga Kabupaten di Provinsi Jambi. *Multi Proximity: Jurnal Statistika Universitas Jambi*. 2(1), 23-31.
- Bibi S, Montesano, D., Albrizio, S., Zengin, G., & Mahomoodally, M. F. (2020). The Versatility of Antioxidant Assays in Food Science and Safety-Chemistry, Applications, Strengths, and Limitations. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 9(8).
- Chaudhary, P., Janmeda, P., Docea, A. O., Yeskaliyeva, B., Abdull Razis, A. F., Modu, B., Calina, D., & Sharifi-Rad, J. (2023). Oxidative stress, free radicals and antioxidants: potential crosstalk in the pathophysiology of human diseases. *Frontiers in Chemistry*, 11, 1158198.

- Chaudhuri, Samyak; Sudeshna, Bakshi; J. N., Pande; Moulisha, B. (2015). Screening of in-vitro Antioxidant Profile of Different Extracts of the Leaves of *Plumeria alba* Linn. *Journal of Advanced Pharmacy Education & Research*, 5(2), 98–102.
- Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., & Ju, Y.-H. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22(3), 296–302.
- Esazadeh, K., Ezzati Nazhad Dolatabadi, J., Andishmand, H., Mohammadzadeh-Aghdash, H., Mahmoudpour, M., Naemi Kermanshahi, M., & Roosta, Y. (2024). Cytotoxic and genotoxic effects of tert-butylhydroquinone, butylated hydroxyanisole and propyl gallate as synthetic food antioxidants. *Food Science & Nutrition*, 12(10), 7004–7016.
- Ilyasov, I. R., Beloborodov, V. L., Selivanova, I. A., & Terekhov, R. P. (2020). ABTS/PP Decolorization Assay of Antioxidant Capacity Reaction Pathways. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 21, Issue 3, p. 1131).
- Inayah, I., Saepudin, S., & Ramdhani, H. M. (2024). Identifikasi Struktur Senyawa Flavonoid dari Daun Kesum (*Polygonum minus* Huds.) menggunakan Metode Pereaksi Geser. *Jifi (Jurnal Ilmiah Farmasi Imelda)*, 8(1), 57-68.
- Kaczorová, D., Karalija, E., Dahija, S., Bešta-Gajević, R., Parić, A., & Čavar Zeljković, S. (2021). Influence of Extraction Solvent on the Phenolic Profile and Bioactivity of Two *Achillea* Species. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 26(6).
- Kaur, J., Sanghavi, A. D., Chopra, A., Lobo, R., & Saha, S. (2022). Antimicrobial and cytotoxicity properties of *Plumeria alba* flower extract against oral and periodontal pathogens: A comparative in vitro study. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 26(4), 334–341.
- Kissinger, Huldani, H., & Nasrulloh, A. V. (2024). Improving Simplicitas of Kerangas Forest by Minimizing Microbial Content Under Ultraviolet Radiation Treatment. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 94(1), 101–106.
- Lee, J.-E., Jayakody, J. T. M., Kim, J.-I., Jeong, J.-W., Choi, K.-M., Kim, T.-S., Seo, C., Azimi, I., Hyun, J.-M., & Ryu, B.-M. (2024). The Influence of Solvent Choice on the Extraction of Bioactive Compounds from Asteraceae: A Comparative Review. *Foods (Basel, Switzerland)*, 13(19).
- Manful, C. F., Fordjour, E., Subramaniam, D., Sey, A. A., Abbey, Lord, & Thomas, R. (2025). Antioxidants and Reactive Oxygen Species: Shaping Human Health and Disease Outcomes. In *International Journal of Molecular Sciences*, 26, (15), 7520.
- Martemucci, G., Costagliola, C., Mariano, M., D'andrea, L., Napolitano, P., & D'Alessandro, A. G. (2022). Free Radical Properties, Source and Targets, Antioxidant Consumption and Health. In *Oxygen*, 2(2), 48–78.
- Maurry, G. L., Rodríguez, D. M., Hendrix, S., Arranz, J. C. E., Boix, Y. F., Pacheco, A. O., Díaz, J. G., Morris-Quevedo, H. J., Dubois, A. F., Aleman, E. I., Beenaerts, N., Méndez-Santos, I. E., Ratón, T. O., Cos, P., & Cuyper, A. (2020). Antioxidants in Plants: A Valorization Potential Emphasizing the Need for the Conservation of Plant Biodiversity in Cuba. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 9(11).
- Mohammed, E. A., Abdalla, I. G., Alfawaz, M. A., Mohammed, M. A., Al Maiman, S. A., Osman, M. A., Yagoub, A. E. A., & Hassan, A. B. (2022). Effects of Extraction Solvents on the Total Phenolic Content, Total Flavonoid Content, and Antioxidant Activity in the Aerial Part of Root Vegetables. In *Agriculture*, 12(11), 1820
- Nair, A., Maity, S., & Pai, V. (2026). Sustainable extraction: a comprehensive review of advancements beyond conventional methods. *Microchemical Journal*, 220, 116360.
- Pratama, M., Razak, R., & Rosalina, V. S. (2019). Analisis Kadar Tanin Total Ekstrak Etanol Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) menggunakan Metode Spektrofotometri UV-VIS. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 6(2), 368-373.
- Priyadi, A., Harun, F. R., Dauli, A. S., & Ridwanto. (2025). Comparison of Maceration and Soxhlet Extraction on The Total Phenolic Content of Ethanol Extract of Betel Leaves (*Piper betle* L.) using Visible Spectrophotometry. *Journal of Pharmaceutical and Sciences*. 8(1), 550-563.
- Putri, I. O., Luthfiyanti, N., & Raharjo, D. (2025). Analisis kadar Flavonoid Total dan Aktivitas

- Antioksidan dari Ekstrak Etanol serta Fraksi dari Gagang Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.). *Jurnal Kesehatan Amanah*. 9(2), 442-451.
- Rebaya, A., Belghith, S. I., Baghdikian, B., Leddet, V. M., & Mabrouki, F. (2015). Total Phenolic , Total Flavonoid , Tannin Content , and Antioxidant Capacity of *Halimium halimifolium* (Cistaceae). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5(01), 52–57.
- Sankhalkar, S., & Vernekar, V. (2016). Quantitative and Qualitative Analysis of Phenolic and Flavonoid Content in *Moringa oleifera* Lam and *Ocimum tenuiflorum* L. *Pharmacognosy Research*, 8(1), 16–21.
- Seran, A. G. R., Kamu, V. S., Katja, D. G., Hutagalung, F, & Bonaventura, R. (2025). Uji Kandungan total Fenolik, Flavonoid, Tanin, dan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak dan Fraksi Daun *Macleania rupestris*. *Chem prog*. 18(2), 67-75.
- Shahidi, F., & Samarasinghe, A. (2025). How to assess antioxidant activity? Advances, limitations, and applications of in vitro, in vivo, and ex vivo approaches. *Food Production, Processing and Nutrition*, 7(1), 50.
- Tangkau, M. I., Fatimawali, & Suoth, E. J. (2023). Antioxidant Activity of Extract White Galangal Stem (*Alpinia galanga*) with ABTS Method. *Pharmacon*. 12(3), 358-366.
- Temesgen, S., Sasikumar, J. M., & Egigu, M. C. (2022). Effect of Extraction Solvents on Total Polyphenolic Content and Antioxidant Capacity of *Syzygium Aromaticum* L. Flower Bud from Ethiopia. *BioMed Research International*, 2022, 4568944.
- Usmadi. (2020). Pengujian Persyaratan Analisis (Uji Homogenitas dan Uji Normalitas). *Inovasi Pendidikan*. 7(1), 50-62.
- Widiawati, Qodri, U. L. (2023). Analisis Fitokimia dan Penentuan Kadar Fenolik total Ekstrak etanol Tebu Merah dan Tebu Hijau (*Saccharum Officinarum* L.). *Jurnal Farmasi Tinctura*, 4(2),91-102.
- Widyawati, P. S., Dwi, T., Budianta, W., & Kusuma, F. A. (2014). Difference of Solvent Polarity To Phytochemical Content and Antioxidant Activity of *Pluchea indicia* Less Leaves Extracts. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 6(4).
- Wirman, A. P., Rahmayani, D., & Yeni. (2025). Aktivitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Tanin Total Ekstrak Etanol 70% Daun Pletekan (*Ruellia tuberosa* L.), J. Kedokteran Mulawarman. 12(2), 63-74.