



Aktivitas antioksidan ekstrak daun katuk (*Breynia androgyna* L.) dengan metode DPPH serta penetapan kadar fenolat dan flavonoid

Antioxidant activity of katuk (Breynia androgyna L.) leaves extract with DPPH method and determination of phenolate and flavonoid levels

Wempi Budiana^{1*}, Ela Fitri Nuryana¹, Aris Suhardiman¹, Herni Kusriani¹

¹Prodi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Bhakti Kencana, Indonesia

*corresponding author: wempi.budiana@bku.ac.id

Received: 06th September, 2022 | accepted: 31st October, 2022

ABSTRAK

Kekhawatiran akan pengaruh efek samping yang dihasilkan dari penggunaan antioksidan sintetik menjadikan pencarian sumber antioksidan alami gencar dilakukan. Dimana, antioksidan alami paling banyak terdapat pada tanaman dalam bentuk senyawaan fenol, terutama fenolat sederhana dan flavonoid. Tujuan penelitian ini adalah mengukur aktivitas antioksidan dan kadar fenol total serta flavonoid total pada ekstrak daun katuk (*Breynia androgyna* L.). Tahapan penelitian ini meliputi ekstraksi menggunakan beberapa jenis pelarut, identifikasi metabolit menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT), pengujian aktivitas antioksidan menggunakan DPPH, penetapan kadar fenolat total menggunakan reagen Folin-Ciocalteu, dan penetapan kadar flavonoid total menggunakan metode Chang. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai IC₅₀ ekstrak n-heksan, etil asetat, dan etanol daun katuk asal Bandung berturut-turut sebesar 107,52; 67,61; dan 39,04 µg/mL, sedangkan untuk daun katuk asal Sukabumi berturut-turut sebesar 102,39; 67,26; dan 27,07 µg/mL. Kadar fenolat total ekstrak n-heksan, etil asetat, dan etanol daun katuk asal Bandung berturut-turut sebesar 12,68; 14,40; dan 15,99 mg GAE/g sampel, sedangkan untuk daun katuk asal Sukabumi berturut-turut sebesar 13,14; 14,10; dan 16,06 mg GAE/g sampel. Adapun kadar flavonoid total untuk ekstrak n-heksan, etil asetat, dan etanol daun katuk asal Bandung berturut-turut sebesar 6,23; 8,65; dan 10,73 mg QE/g sampel, sedangkan untuk daun katuk asal Sukabumi berturut-turut sebesar 6,20; 8,55; dan 10,81 mg QE/g sampel. Kesimpulannya, ekstrak etanol menunjukkan aktivitas antioksidan tertinggi dengan intensitas sangat kuat. Dimana, simplisia asal Sukabumi lebih tinggi aktivitas antioksidannya daripada simplisia asal Bandung.

Kata Kunci: Aktivitas antioksidan; *Breynia androgyna*; uji DPPH; uji Folin-Ciocalteu; uji Chang

ABSTRACT

Concerns about the side effects of synthetic antioxidants consumption have intrigued many researchers to find potential natural antioxidant resources. Most natural antioxidants can be found in plants in the form of phenolic compounds, especially simple phenolics and flavonoids. The aim of this research is to measure antioxidant activity, total phenol and total flavonoid content in katuk leaf extract (*Breynia androgyna* (L.)). The stages of this research are including extraction using several types of solvents, identification of metabolites using thin layer chromatography (TLC), antioxidant activity assay using DPPH, determination of total phenolic content using Folin-Ciocalteu reagent, and determination of total flavonoid content using Chang's method. The results showed that the IC_{50} values of *n*-hexane, ethyl acetate, and ethanol extract of katuk leaves from Bandung were 107.52; 67.61; and 39.04 g/mL respectively, whilst for katuk leaves from Sukabumi were 102.39; 67.26; and 27.07 g/mL. Moreover, total phenolic content of *n*-hexane, ethyl acetate, and ethanol extracts of katuk leaves from Bandung were 12.68; 14.40; and 15.99 mg GAE/g sample respectively, meanwhile for katuk leaves from Sukabumi were 13.14; 14.10; and 16.06 mg GAE/g sample. Furthermore, total flavonoid content for *n*-hexane, ethyl acetate, and ethanol extract of katuk leaves from Bandung was 6.23; 8.65; and 10.73 mg QE/g sample respectively, while for katuk leaves from Sukabumi it was 6.20; 8.55; and 10.81 mg QE/g sample. In conclusion, the ethanol extract showed the highest antioxidant activity with very strong intensity. Furthermore, *simplicia* from Sukabumi had higher antioxidant activity than *simplicia* from Bandung.

Keywords: Antioxidant activity; *Breynia androgyna*; Chang assay; DPPH assay; Folin-Ciocalteu assay

PENDAHULUAN/INTRODUCTION

Radikal bebas adalah molekul dengan elektron yang tidak berpasangan serta tidak stabil, dihasilkan dari polusi lingkungan serta gaya hidup yang tidak baik, dan akan mempengaruhi kualitas hidup. Radikal bebas adalah senyawa yang mampu merusak struktur seluler di dalam tubuh, termasuk DNA, lipid, dan protein. Keberadaan radikal bebas merupakan penyebab dari berbagai degeneratif di dalam tubuh. Maka dari itu tubuh manusia memerlukan senyawa antioksidan yang dapat menstabilkan dan menetralkan stres oksidatif yang diakibatkan oleh radikal bebas sehingga mengurangi risiko kerusakan sel-sel tubuh (Arnanda & Nuwarda, 2019).

Sumber radikal bebas yang berasal dari luar tubuh dapat berupa makanan yang mengandung pewarna, pengawet, maupun senyawa kimia

lainnya, bisa juga dari polusi udara seperti asap rokok dan debu, serta sinar ultraviolet yang berkontribusi besar dalam menghasilkan radikal bebas. Meskipun di dalam tubuh antioksidan juga diproduksi sebagai bentuk perlindungan terhadap radikal bebas, namun paparan radikal bebas yang berlebih mengharuskan tubuh mengkonsumsi antioksidan tambahan dari makanan (Budiana et al., 2018).

Antioksidan tersedia dalam bentuk sintetis maupun alami. Namun karena kekhawatiran akan pengaruh efek samping yang dihasilkan dari antioksidan sintetis membuat antioksidan alami dapat digunakan sebagai alternatif. Contoh efek samping dari antioksidan sintetis (kasus BHT) antara lain dapat menyebabkan kegagalan reparasi DNA, genotoksitas, stres oksidatif, karsinogenisitas, toksisitas

reproduktif, dan gangguan endokrin (Tortosa et al., 2020). Antioksidan alami dapat melindungi tubuh dari oksigen reaktif tanpa efek samping, menghambat penyakit degeneratif, serta merusak peroksidasi lipid pada makanan.

Tanaman adalah sumber dari antioksidan alami, biasanya berupa senyawa fenol seperti fenolat sederhana serta flavonoid yang tersebar luas di beberapa bagian tanaman seperti daun, batang, kulit, bunga, buah, biji, serta akar (Anggorowati et al., 2016). Salah satu tanaman yang memiliki aktivitas tinggi adalah katuk (Hikmawanti et al., 2021).

Tanaman katuk atau yang memiliki nama latin *Breynia androgyna* (L.) merupakan tanaman yang tersebar di kawasan Asia Tenggara dan salah satunya merupakan Indonesia. Katuk dapat ditemui hampir diseluruh pulau Indonesia yaitu Jawa, Kalimantan, Sumatera, Maluku dan kepulauan sumba. Didaerah Jawa katuk telah banyak dikembangkan secara komersial meskipun masih menggunakan cara yang sederhana, dan didaerah lainnya ditanam sebagai pembatas kebun, tanaman sela dan tanaman pagar (Santoso, 2013).

Katuk dikenal akan manfaatnya dalam pengobatan tradisional sebagai pelancar air susu ibu (ASI), dan dikonsumsi sebagai sayuran (Hayati et al., 2016). Katuk juga dilaporkan memiliki aktivitas farmakologi seperti antidiabetes, antioksidan, anti obesitas, antiinflamasi, induksi laktasi dan antimikroba (Bunawan et al., 2015).

Aktivitas farmakologi yang dimiliki tanaman katuk berkaitan dengan senyawa metabolit sekunder yang dimilikinya seperti alkaloid, triterpenoid, tanin, polifenol, flavonoid, glikosida, dan saponin (Susanti et al., 2014).

Beberapa penelitian melaporkan bahwa tanaman katuk positif memiliki aktivitas antioksidan (Hartanto & Sutriningsih, 2018; Hayati et al., 2016). Studi terbaru menunjukkan bahwa katuk sebagai tanaman obat tradisional yang dapat memperlancar ASI, terbukti bermanfaat sebagai antioksidan karena kandungan senyawa fenolat serta flavonoidnya yang terdapat pada daunnya, dengan nilai aktivitas antioksidan IC_{50} sebesar $81,43 \pm 2,63$ ppm (Hikmawanti et al., 2021). Percobaan lain yang dilakukan oleh Nurdianti (Nurdianti & Tuslinah, 2017), menemukan bahwa ekstrak etanol dari daun katuk memiliki daya antioksidan yang sangat kuat karena mempunyai nilai IC_{50} sebesar 32,04 ppm menggunakan metode DPPH. Namun, data ini belum dilengkapi dengan data terkait fenolat total dan flavonoid total dari katuk yang bisa menjelaskan aktivitas antioksidan yang tinggi tsb. Oleh karena itu, penelitian ini melakukan penetapan kadar total fenolat dan kadar total flavonoid untuk melihat hubungan aktivitas antioksidan dengan kadar fenolat dan flavonoid yang terdapat di dalam daun katuk, yang merupakan dua senyawaan fenol yang memiliki aktivitas antioksidan tinggi. Selain itu, penelitian ini menggunakan beberapa jenis pelarut saat ekstraksi untuk melihat kecenderungan molekul fenol dengan kepolaran seperti apa yang memiliki aktivitas lebih kuat.

METODOLOGI/METHODOLOGY

Metode penelitian yang digunakan terdiri dari beberapa tahap, yaitu preparasi bahan, karakterisasi simplisia, ekstraksi, skrining fitokimia, pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH serta penetapan kadar total fenol, dan flavonoid.

1. Preparasi sampel

Preparasi bahan yang dilakukan meliputi pengumpulan bahan, determinasi tanaman, dan pengolahan bahan. Karakterisasi pada simplisia meliputi penetapan kadar abu total, penetapan kadar abu tidak larut asam, penetapan kadar abu tidak larut air, penetapan kadar sari larut etanol, penetapan kadar sari larut air, penetapan kadar air dan susut pengeringan.

2. Ekstraksi

Ekstrak dibuat menggunakan metode refluks bertingkat dengan pelarut n-heksana, etil asetat, dan etanol. Ekstrak cair selanjutnya dipekatkan menggunakan rotary evaporator untuk mendapatkan ekstrak kental.

3. Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia meliputi pemeriksaan terhadap golongan senyawa alkaloid, saponin, flavonoid, kuinon, tannin, polifenol dan steroid/triterpenoid. Pereaksi yang digunakan dalam penapisan fitokimia adalah pereaksi Mayer, Dragendorff, Liebermann Burchard, NaOH 1 N, FeCl 1%, Gelatin 1 %, Stiasny, Serbuk Mg, HCl, Amil alkohol.

4. Uji Kualitatif Antioksidan

Pengujian antioksidan secara kualitatif dilakukan dengan menggunakan KLT dimana digunakan vitamin C sebagai pembanding, dan penampak bercak DPPH 0,2 % dalam metanol. Adanya aktivitas antioksidan ditunjukkan secara visual oleh bercak berwarna kuning dengan latar belakang ungu yang stabil selama 30 menit pada lempeng plat KLT.

Pemantauan ekstrak dilakukan menggunakan plat silika Gel 60 F₂₅₄ dengan fase gerak n-heksana-etil asetat (7:3), kloroform-metanol (9:1) dan BAW butanol-asam asetat-air (4:1:5). Sampel yang dipantau diantaranya adalah sampel ekstrak daun katuk yang berasal dari daerah Bandung dan Sukabumi dengan perbedaan tingkat kepolaran yaitu ekstrak n-heksana, ekstrak etil asetat dan ekstrak etanol.

5. Uji Kuantitatif Antioksidan

Pengujian adanya aktivitas antioksidan secara kuantitatif dengan metode peredaman radikal bebas yaitu DPPH. Pengukuran dilakukan menggunakan spektrofotometri UV-sinar tampak, larutan DPPH di campur dengan larutan uji dengan perbandingan 1:1, diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruangan kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 516 nm, Vitamin C digunakan sebagai kontrol positif

(Budiana et al., 2018). Perhitungan nilai IC_{50} pada sampel uji dengan menggunakan persamaan regresi linier ($y = bx + a$). Y merupakan nilai peredaman 50% atau disebut juga variabel tak bebas. X merupakan nilai IC_{50} sampel uji. Nilai IC_{50} ini menunjukkan nilai konsentrasi efektif yang dapat menurunkan 50% radikal bebas DPPH. Semakin kecil IC_{50} berarti aktivitas antioksidannya semakin tinggi (Fadillah et al., 2017).

6. Penetapan kadar Fenolat & Flavonoid

Kadar fenolat total ekstrak ditentukan dengan metode Folin-Ciocalteu, dan asam galat digunakan sebagai standar. Hasil dinyatakan sebagai mg GAE (ekuivalensi asam galat) dalam gram ekstrak (Budiana et al., 2018). Penetapan kadar Flavonoid total dilakukan menggunakan metode Chang Teknik penetapan metode ini menggunakan $AlCl_3$ dalam etanol yang diinkubasi bersama sampel, dengan kuersetin digunakan sebagai standar hasilnya dinyatakan sebagai mg QE/ g (Chang et al., 2002).

HASIL DAN PEMBAHASAN/RESULTS AND DISCUSSION

Tujuan penelitian ini adalah mengukur aktivitas antioksidan ekstrak daun katuk terhadap DPPH dan penetapan kadar fenolat dan flavonoid total dari ekstrak tsb. Tahapan penelitian ini meliputi preparasi sampel, ekstraksi, penapisan fitokimia, uji kualitatif dan kuantitatif antioksidan, serta penentuan kadar fenolat dan flavonoid total. Data

karakterisasi simplisia daun katuk dari Bandung dan Sukabumi dapat dilihat pada **Tabel 1**. Dari hasil pemeriksaan karakteristik simplisia terhadap kadar air, susut pengeringan, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, kadar abu total, dan kadar abu tidak larut asam, diketahui bahwa sampel uji memenuhi semua persyaratan yang ditetapkan oleh Kemenkes.

Tabel 1.

Karakteristik simplisia daun katuk Bandung dan daun katuk Sukabumi

Parameter	Hasil Percobaan		Kemenkes, 2017
	(% b/b)		
	Bandung	Sukabumi	
Kadar air*	5	7,5	$\leq 10\%$
Susut pengeringan	5,29	7,8	$\leq 10\%$
Kadar sari larut air	40	28	$\geq 4,8\%$
Kadar sari larut etanol	23	22	$\geq 6,2\%$
Kadar abu total	7,3	6,7	$\leq 8,3\%$
Kadar abu tidak larut asam	0,67	0,33	$\leq 0,9\%$

Keterangan: * = % (v/b)

1. Ekstraksi dan penapisan fitokimia

Simplisia diekstrak menggunakan tiga jenis pelarut dengan kepolaran berbeda, yaitu n-heksan (non-polar), etil asetat (sem-polar), dan etanol. Dimana, simplisia diekstrak terlebih dahulu menggunakan n-heksan, selanjutnya etil asetat, lalu etanol untuk mendapatkan semua komponen pada daun katuk. Setelah itu dilakukan penapisan fitokimia untuk mengetahui golongan senyawa apa saja yang terkandung

pada masing-masing ekstrak tsb (Harborne, 1996). Golongan senyawa yang ditapis adalah alkaloid, saponin, tannin, flavonoid, steroid/triterpenoid dan kuinon. Hasil penapisan fitokimia dapat dilihat pada **Tabel 2**. Dari hasil penapisan diketahui bahwa semua ekstrak tidak mengandung alkaloid, namun semuanya positif mengandung tanin dan flavonoid. Hampir semua ekstrak mengandung saponin kecuali ekstrak n-heksan simplisia dari Bandung. Selain itu, ekstrak etanol tidak mengandung senyawaan steroid, sedangkan ekstrak n-heksan tidak mengandung kuinon.

Tabel 2.

Hasil pengujian skrining fitokimia ekstrak

Pemeriksaan	Hasil Skrining ekstrak					
	Daun Katuk Bandung			Daun Katuk Sukabumi		
	N-Heksan	Etil Asetat	Etanol 96%	N-Heksan	Etil Asetat	Etanol 96%
Alkaloid	-	-	-	-	-	-
Saponin	-	+	+	+	+	+
Fenolat/Tanin	+	+	+	+	+	+
Flavonoid	+	+	+	+	+	+
Steroid/triterpenoid	+	+	-	+	+	-
Kuinon	-	+	+	-	+	+

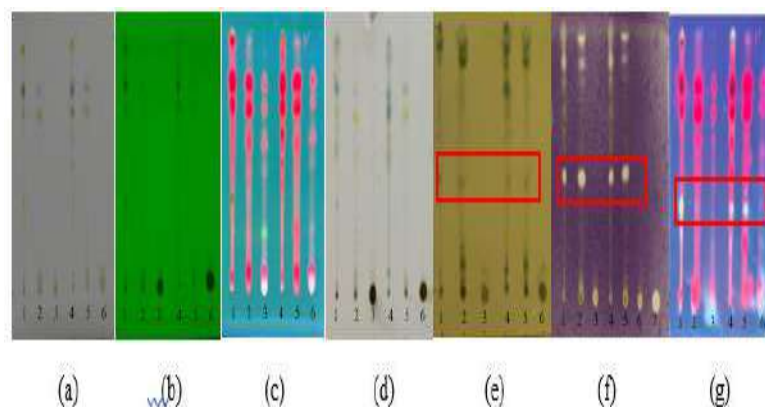
Keterangan: + = mengandung golongan senyawa yang diuji
- = tidak mengandung golongan senyawa yang diuji

Hasil skrining fitokimia saponin negatif pada ekstrak n-heksan karena saponin biasanya berada dalam bentuk glikosida yang bersifat polar dan aktif membentuk busa ketika dikocok di dalam air. Berbusa dalam pengujian ini

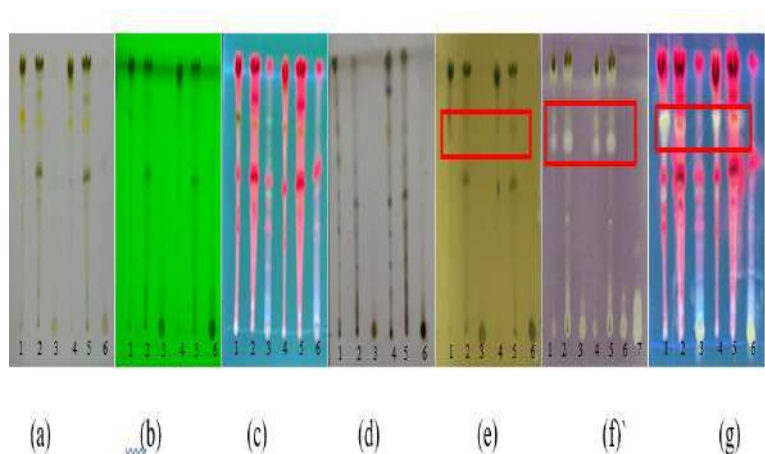
karena saponin memiliki gugus polar dan non polar yang membentuk misel. Misel memiliki kelompok kutub yang menghadap ke luar dan kelompok non-polar menghadap ke dalam, yang terlihat seperti busa (Harborne, 1987).

2. Uji kualitatif aktivitas antioksidan

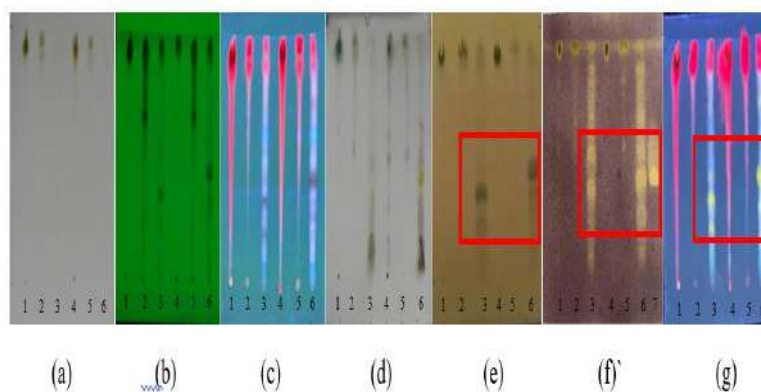
Uji ini bertujuan untuk menganalisis secara kualitatif menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) keberadaan senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan dengan penampak bercak DPPH 0,2% dalam metanol, menganalisis adanya senyawa fenol dengan penampak bercak FeCl_3 10%, menganalisa senyawa flavonoid menggunakan penampak bercak AlCl_3 , dan melihat senyawa organik dengan penampak bercak H_2SO_4 10%. Fase diam yang digunakan adalah silika gel F₂₅₄. Adapun fase gerak (pengembang) yang digunakan terdiri dari 3 kombinasi pelarut: n-heksan:etil asetat (**Gambar 1**), kloroform:etanol (**Gambar 2**), dan butanol:asam asetat:air (**Gambar 3**).



Gambar 1. Kromatogram ekstrak daun katuk dengan pengembang non-polar (n-heksana: etil asetat = 7:3). Ket: (1) ekstrak n-heksana Sukabumi, (2) ekstrak etil asetat Sukabumi, (3) ekstrak etanol Sukabumi, (4) ekstrak n-heksana Bandung, (5) ekstrak etil asetat Bandung, (6) ekstrak etanol Bandung, (7) vitamin C, (a) visual (b) di bawah sinar UV λ 254 nm (c) di bawah sinar UV λ 366 nm, (d) setelah penambahan H_2SO_4 10%, (e) setelah penambahan $FeCl_3$ 10%, (f) penampak bercak DPPH 0,2% dalam MeOH, (g) setelah penambahan $AlCl_3$ 5% di bawah sinar UV λ 366



Gambar 2. Kromatogram ekstrak daun katuk dengan pengembang semi polar (kloroform:metanol = 9:1). Ket: (1) ekstrak n-heksana Sukabumi, (2) ekstrak etil asetat Sukabumi, (3) ekstrak etanol Sukabumi, (4) ekstrak n-heksana Bandung, (5) ekstrak etil asetat Bandung, (6) ekstrak etanol Bandung, (7) vit. C, (a) visual (b) di bawah sinar UV λ 254 nm (c) di bawah sinar UV λ 366 nm, (d) setelah penambahan H_2SO_4 10%, (e) setelah penambahan $FeCl_3$ 10%, (f) penampak bercak DPPH 0,2% dalam MeOH, (g) setelah penambahan $AlCl_3$ 5% di bawah sinar UV λ 366



Gambar 3. Kromatogram ekstrak daun katuk dengan pengembang pengembang polar (butanol:asam asetat:air = 4:1:5). Ket: (1) ekstrak n-heksana Sukabumi, (2) ekstrak etil asetat Sukabumi, (3) ekstrak etanol Sukabumi, (4) ekstrak n-heksana Bandung, (5) ekstrak etil asetat Bandung, (6) ekstrak etanol Bandung, (7) vit. C, (a) visual (b) di bawah sinar UV λ 254 nm (c) di bawah sinar UV λ 366 nm, (d) setelah penambahan H_2SO_4 10%, (e) setelah penambahan $FeCl_3$ 10%, (f) penampak bercak DPPH 0,2% dalam MeOH, (g) setelah penambahan $AlCl_3$ 5% di bawah sinar UV λ 366

Hasil KLT (kromatogram) dengan non-polar menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan yang dihasilkan penampak bercak DPPH memiliki bercak yang sejajar dengan bercak fenolat, namun tidak sejajar dengan bercak flavonoid. Maka ada kemungkinan antioksidan tersebut berasal dari golongan fenol dan bukan berasal dari golongan flavonoid. adapun pada fase gerak semi polar dan polar terlihat bahwa hasil dari bercak antioksidan hasil tersebut memiliki bercak sejajar dengan bercak fenolat dan flavonoid. Artinya ada kemungkinan senyawa antioksidan tersebut termasuk senyawa fenol dan flavonoid.

3. Uji Kuantitatif Aktivitas Antioksidan

Potensi antioksidan ekstrak daun katuk diuji secara in vitro terhadap 1,1 -difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) sebagai radikal bebas. Metode ini memanfaatkan pengukuran serapan DPPH yang teroksidasi oleh larutan uji pada saat

inkubasi sehingga diperoleh nilai absorbansi yang lebih rendah dibandingkan nilai absorbansi kontrol (larutan stok DPPH – Metanol 1:1). Daya antioksidan sampel ditunjukkan dengan kemampuannya memudahkan warna ungu dari senyawa radikal bebas DPPH dan kemudian diukur pada panjang gelombang serapan maksimum DPPH. Daya antioksidan ini disebabkan karena DPPH memiliki satu atom N yang elektronnya tidak berpasangan yang apabila bereaksi dengan senyawa yang dapat meredam radikal bebas (senyawa antioksidan) maka akan terjadi pengikatan satu elektron dengan atom yang dapat mendonorkan elektronnya (atom H) membentuk diphenylpicrylhydrazin yang stabil (Molyneux, 2004).

Pembanding yang digunakan sebagai kontrol positif adalah vitamin C karena kemampuannya yang dapat meredam radikal bebas dengan sangat baik. Vitamin C memiliki efektivitas

antioksidan yang sangat tinggi dikarenakan bersifat sangat polar dikarenakan banyaknya gugus hidroksil yang dimilikinya. Selain itu, vitamin C memiliki nilai potensial reduksi yang kecil sehingga lebih mudah mereduksi radikal bebas.

Inhibition concentration (IC_{50}) merupakan satuan yang digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan dari suatu sampel uji. Dimana, nilai IC_{50} akan berbanding terbalik dengan kekuatan dari suatu molekul antioksidan. Dengan kata lain, semakin rendah nilai IC_{50} dari suatu sampel, maka akan semakin tinggi aktivitasnya (Putri et al., 2018).

Berdasarkan hasil perhitungan IC_{50} didapatkan bahwa keseluruhan ekstrak mampu meredam radikal bebas DPPH meskipun memiliki intensitas yang berbeda-beda pada tiap sampelnya (**Tabel 3**). Dimana, ekstrak n-heksan (non-polar) memiliki intensitas antioksidan dengan kategori sedang, ekstrak etil asetat (semi polar) memiliki intensitas antioksidan level kuat, sedangkan ekstrak etanol memiliki aktivitas yang paling kuat (lihat **Tabel 4**) (Molyneux, 2004). Aktivitas antioksidan ekstrak etanol memiliki intensitas yang paling tinggi dengan nilai IC_{50} sebesar 27,07 $\mu\text{g/mL}$, namun kekuatannya masih lebih rendah 3x daripada vitamin C.

Tabel 3.

Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak daun katuk asli Bandung dan Sukabumi

Ekstrak	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)		Intensitas
	Daun Katuk Bandung	Daun Katuk Sukabumi	
	n-Heksana	107,52 \pm 0,77	
Etil Asetat	67,61 \pm 0,15	67,26 \pm 0,17	Kuat
Etanol 96%	39,04 \pm 0,51	27,07 \pm 0,23	Sangat Kuat
Vitamin C		7,91 \pm 0,01	Sangat Kuat

Tabel 4.

Kategori Aktivitas Antioksidan Berdasarkan Nilai IC_{50} (Molyneux, 2004)

Kategori	Nilai IC_{50} (ppm)
Sangat kuat	<50
Kuat	50-100
Sedang	100-150
Lemah	150-200
Sangat lemah	>200

4. Penetapan Kadar Fenolat Total

Penetapan kadar fenolat total dilakukan untuk mengetahui jumlah fenolat yang terdapat pada masing-masing ekstrak. Uji kandungan fenolat total dilakukan secara kolorimetri dan dianalisis menggunakan reagen Folin Ciocalteu. Reaksi yang terjadi adalah reaksi reduksi-oksidasi. Senyawa fenolik mereduksi fosfomolibdat fosfotungstat dalam Folin-Ciocalteu membentuk molybdenum yang berwarna biru (Blainski et al., 2013). Asam galat digunakan sebagai standar karena memiliki struktur yang mewakili hampir seluruh senyawa-senyawa fenolik yang terdapat dalam tanaman pada umumnya. Struktur asam galat terdiri

dari cincin karbon aromatik yang tersubstitusi oleh gugus hidroksil dan gugus karboksilat. senyawa fenolik dan flavonoid dapat bertindak sebagai antioksidan (Fidrianny et al., 2015).

Dari hasil penetapan kadar fenolat total diketahui bahwa ekstrak etanol memiliki kadar fenolat total yang paling tinggi dibandingkan dengan ekstrak n-heksan maupun etil asetat. Dimana, ekstrak etanol daun katuk dari Sukabumi memiliki kadar fenolat tertinggi sebesar 16,06 mg GAE/g Sampel (lihat **Tabel 5**).

Tabel 5.

Hasil penetapan kadar fenolat total		
Ekstrak	Kadar Fenolat Total (mg GAE/g Sampel)	
	Daun Katuk Bandung	Daun Katuk Sukabumi
n-Heksana	12,68 ± 0,03	13,14 ± 0,07
Etil Asetat	14,40 ± 0,03	14,10 ± 0,49
Etanol 96%	15,99 ± 0,21	16,06 ± 0,04

5. Penetapan Kadar Flavonoid Total

Penetapan kadar flavonoid total pada ekstrak dilakukan secara kolorimetri menggunakan metode Chang. Pada prinsipnya kolorimetri menggunakan aluminium klorida yang akan membentuk kompleks stabil dengan gugus keto hidroksi maupun gugus ortodihidroksi. Oleh karena itu, aluminium klorida dapat digunakan untuk mendeteksi kedua gugus tersebut dalam molekul flavonoid. Kurva kalibrasi kuersetin digunakan untuk menunjukkan hubungan linieritas antara respon absorbansi larutan dengan konsentrasi larutan kuersetin yang terekam pada instrumen. Penggunaan kuersetin

sebagai standar karena kuersetin merupakan senyawa yang paling luas penyebarannya dan melimpah di dalam tanaman.

Hasil pengujian penetapan kadar flavonoid total menunjukkan bahwa ekstrak etanol baik yang berasal dari Bandung maupun Sukabumi memiliki kadar flavonoid total yang paling tinggi dibandingkan dengan ekstrak lainnya. Dimana, ekstrak etanol daun katuk Sukabumi memiliki kadar flavonoid total tertinggi, yaitu sebesar 10,81 ± 0,05 mg QE/g Sampel (lihat **Tabel 6**).

Tabel 2.

Hasil penetapan kadar flavonoid total		
Ekstrak	Kadar Flavonoid Total (mg QE/g Sampel)	
	Daun Katuk Bandung	Daun Katuk Sukabumi
n-Heksana	6,23 ± 0,03	6,20 ± 0,05
Etil Asetat	8,65 ± 0,03	8,55 ± 0,06
Etanol 96%	10,73 ± 0,03	10,81 ± 0,05

Berdasarkan hasil penentuan fenolat dan flavonoid total diketahui bahwa tingginya aktivitas antioksidan pada sampel dipengaruhi oleh kedua golongan senyawa tersebut. Hal ini dikarenakan kedua golongan senyawa tersebut memiliki banyak gugus hidroksi yang dapat berperan sebagai peredam radikal bebas dengan cara mendonorkan senyawa protonnya.

SIMPULAN/CONCLUSION

Aktivitas antioksidan terkuat ditunjukkan oleh ekstrak etanol daun katuk asal Sukabumi dengan nilai IC₅₀ sebesar 27,07 ± 0,23 µg/mL, kadar fenolat total sebesar 16,06 ± 0,04 mg GAE/g, dan



kadar flavonoid total sebesar $10,81 \pm 0,05$ mg QE/g.

UCAPAN TERIMA KASIH/ACKNOWLEDGEMENT

Ucapan terimakasih kepada LPPM Universitas Bhakti Kencana karena telah mendanai penelitian ini melalui skema hibah internal Riset Dasar

DAFTAR PUSTAKA/REFERENCES

- Anggorowati, D. A., Priandini, G., & Thufai. (2016). Potensi Daun Alpukat (*Persea americana*, Mill.) Sebagai Minuman Teh Herbal Yang Kaya Antioksidan. *Jurnal Industri Inovatif*, 6(1), 1–7.
- Arnanda, Q. P., & Nuwarda, R. F. (2019). Review Article: Penggunaan Radiofarmaka Teknesium-99M dari Senyawa Glutathion dan Senyawa Flavonoid Sebagai Deteksi Dini Radikal Bebas Pemicu Kanker. *Farmaka*, 17(2), 236–243. <https://doi.org/https://doi.org/10.24198/jf.v17i2.22071>
- Blainski, A., Lopes, G. C., & de Mello, J. C. P. (2013). Application and analysis of the folin ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from *limonium brasiliense* L. *Molecules*, 18(6), 6852–6865. <https://doi.org/10.3390/molecules18066852>
- Budiana, W., Suhardiman, A., & Kirana, O. (2018). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Kacang Kratok (*Phaseolus lunatus*) dan Kulit Buah Kacang Gude (*Cajanus cajan*) dengan Metode DPPH serta Penetapan Kadar Total Flavonoid dan Fenol. *Journal of Pharmacopolium*, 1(3), 162–169.
- Bunawan, H., Bunawan, S. N., Baharum, S. N., & Noor, N. M. (2015). *Sauropus androgynus* (L.) Merr. Induced Bronchiolitis Obliterans: From Botanical Studies to Toxicology. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2015/714158>
- Chang, C.-C., Yang, M.-H., Wen, H.-M., & Chen, J.-C. (2002). Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3), 178–182.
- Fidrianny, I., Budiana, W., & Ruslan, K. (2015). Antioxidant Activities of Various Extracts from *Ardisia SP* Leaves Using DPPH and CUPRAC Assays and Correlation with Total. 7(4), 859–865.
- Fadillah, A., Rahmadani, A., & Rijai, L. (2017). Analisis Kadar Total Flavonoid dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kelubut (*Passiflora foetida*L.). 23–24. <https://doi.org/10.25026/mpc.v5i1.21>
- Harborne, J. (1996). *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Cetakan kedua (K. dan I. S. Penerjemah: Padmawinata, Ed.). Penerbit ITB.
- Hartanto, H., & Sutriningsih. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH Ekstrak Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr) serta Uji Stabilitas Pengaruh Konsentrasi Emulgator Asam Stearat dan Trietanolamin Terhadap Formulasi Krim. *Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal*, 3(1), 2502–8421.
- Hayati, A., Arumingtyas, E. L., Indriyani, S., & Hakim, L. (2016). Local Knowledge of Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr) in East Java, Indonesia. Available Online on *International Journal of Current Pharmaceutical Review and Research*, 7(4), 210–215. www.ijcpr.com



- Hikmawanti, N. P. E., Fatmawati, S., Arifin, Z., & Vindianita. (2021). Pengaruh Variasi Metode Ekstraksi Terhadap Perolehan Senyawa Antioksidan Pada Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr). *Jurnal Farmasi Udayana*, 10(1), 1–12. <https://doi.org/10.24843/jfu.2021.v10.i01.p01>
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakar J. Sci. Technol.*, 26(2), 211–219.
- Nurdianti, L., & Tuslinah, L. (2017). Uji Efektivitas Antioksidan Krim Ekstrak Etanol Daun Katuk (*Sautopus Androgynus* (L) Merr) Terhadap DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil). *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*, 17(1), 87–96.
- Putri, D. S., Muti'ah, M., & Anwar, Y. A. S. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Etanol Daun Jambu Mete (*Anacardium occidentale* L.). *Jurnal Agrotek UMMat*, 5(1), 47–53.
- Santoso, U. (2013). *Katuk, Tumbuhan Multi Khasiat*. Badan Penerbit Fakultas Pertanian (BPPF) Unib.
- Susanti, N. M. P., Budiman, I. N. A., & Warditiani, N. K. (2014). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 90% Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr) Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 90% Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.). *Jurnal Farmasi Udayana, [S.l.]*, 83–86.
- Tortosa, V., Pietropaolo, V., Brandi, V., Macari, G., Pasquadibisceglie, A., & Polticelli, F. (2020). Computational methods for the identification of molecular targets of toxic food additives. Butylated hydroxytoluene as a case study. *Molecules*, 25(9). <https://doi.org/10.3390/molecules25092229>.