

**PENETAPAN KADAR FLAVONOID DAN UJI AKTIVIAS ANTIOKSIDAN
EKSTRAK ETANOL DAUN KETAPANG (*TERMINALIA CATAPPA L.*)
DENGAN METODE ABTS**

***DETERMINATION OF FLAVONOID LEVELS AND ANTIOXIDANT
ACTIVITY TEST OF ETHANOL ETRACT KETAPANG LEAF (*TERMINALIA
CATAPPA L.*) USING ABTS METHOD***

Wahyuni Ningsih*¹, Anita Dwi Septiarini², Weri Veranita³

^{1,2}Universitas Duta Bangsa Surakarta

Universitas Indonesia Maju

e-mail: *dekwah919@gmail.com.

Article Info

Article history:

Accepted 20/06/2023

Publish 16/26/2023

Abstrak

Daun ketapang (*Terminalia catappa L.*) merupakan tanaman yang mengandung senyawa kimia seperti flavonoid, alkaloid, tanin, triterpenoid atau steroid dan saponin. Senyawa ini memiliki potensi sebagai antioksidan dalam penyerapan dan penetralan radikal bebas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar senyawa flavonoid, untuk mengetahui apakah ekstrak etanol daun ketapang memiliki aktivitas antioksidan yang dinyatakan dengan nilai IC_{50} dan untuk mengetahui daya antioksidan dari ekstrak etanol daun ketapang. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Penetapan kadar flavonoid dan aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Aktivitas antioksidan didasarkan pada kemampuan peredaman radikal bebas senyawa ABTS diukur pada panjang gelombang 740 nm pada menit ke-17. Hasil penetapan kadar flavonoid ekstrak etanol daun ketapang sebesar 17,710 QE. Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam nilai Inhibitory Concentration 50% (IC_{50}) dengan hasil pada ekstrak etanol sebesar 23,531 ppm. Ekstrak etanol daun ketapang memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat.

Kata kunci-daun ketapang (*Terminalia catappa L.*), ekstrak etanol, flavonoid, ABTS, IC_{50}

Abstract

*Ketapang leaves (*Terminalia catappa L.*) is a plant that contains chemical compounds such as flavonoids, alkaloids, tannins, triterpenoids or steroids, resins, and saponins. This compound has potential as an antioxidant in absorbing and neutralizing free radicals. This study aims to determine the levels of flavonoid compounds, to determine whether the ethanol extract of ketapang leaves has antioxidant activity as expressed by the IC_{50} value and to determine the antioxidant power of the ethanol extract of ketapang leaves. The extract was prepared by maceration method using 96% ethanol. Determination of flavonoid levels and antioxidant activity was carried out using a UV-Vis spectrophotometer. Antioxidant activity based on the free radical scavenging ability of the compound ABTS was measured at a wavelength of 740 nm at 17 minutes. The results of determining the levels of flavonoids in the ethanol extract of ketapang leaves were 17,710 QE. Antioxidant activity is expressed in the value of 50% Inhibitory Concentration (IC_{50}) with a yield of 23.531 ppm in ethanol extract. Ketapang leaf ethanol extract has a very strong antioxidant*

activity.

Keyword–*ketapang leaves (Terminalia catappa L.), ethanol extract, flavonoids, ABTS, IC₅₀*

Alamat korespondensi:
Gedung Hz Kampus 1 UIMA
Jl. Harapan No.50 Lenteng Agung – Jakarta Selatan
DKI Jakarta 12610 Telp. (021) 78894043
www.uima.ac.id

p-ISSN: 0000-0000
e-ISSN: 0000-0000

A. Pendahuluan

Indonesia merupakan negara yang memiliki kekayaan alam dengan berbagai jenis tanaman yang dapat berkhasiat sebagai obat tradisional. Obat tradisional semakin banyak diminati oleh masyarakat karena bahan nabatinya mudah didapat, mudah diracik dan harganya terjangkau, sehingga bahan yang digunakan harus ditingkatkan mutu dan kualitasnya sesuai dengan kebutuhan masyarakat. Penggunaan obat tradisional adalah bahan bakunya mudah diperoleh dan harganya relatif murah Roslizawaty dkk., 2013).

Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat adalah ketapang (*Terminalia catappa L.*) berasal dari famili *Combretaceae* yang merupakan tanaman yang dapat berkhasiat sebagai obat (Hidayat dan Napitupulu, 2015).

Ketapang (*Terminalia catappa L.*) mengandung flavonoid, alkaloid, tanin, triterpenoid atau steroid, resin, dan saponin (Tjitrosoepomo, 2002). Berdasarkan hasil *sreening phytochemical* di dalam ekstrak etanol daun ketapang terdapat alkaloid, flavonoid, resin, saponin, steroid dan tanin dengan total kandungan senyawa flavonoid (51,67 mg/g ekstrak) (Pandya dkk., 2013). Senyawa fenolik pada daun ketapang memiliki potensi sebagai antioksidan (Kumar dkk., 2017). Senyawa antioksidan merupakan suatu inhibitor yang digunakan untuk menghambat autooksidasi (Panovska dkk., 2005). Aktivitas antioksidan senyawa fenolik berperan penting dalam penyerapan dan penetralan radikal bebas atau menguraikan peroksida (Margaretta dkk., 2011).

Salah satu metode yang sering digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan yaitu *2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin sulfonat)* (ABTS) (Floegel dkk., 2011). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Sami (2016) mengenai pengukuran aktivitas antioksidan suatu ekstrak

dengan menggunakan metode DPPH dan ABTS mendapatkan hasil bahwa metode ABTS lebih baik dan waktu pengerjaan lebih cepat daripada metode DPPH. Hasil pembacaan di spektrofotometer UV-Vis diinterpretasikan ke dalam *inhibitory concentration of 50%* (IC₅₀) dimana hasil ini menunjukkan konsentrasi substrat yang mampu meredam 50% aktivitas dari radikal bebas ABTS (Molyneux, 2004).

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan, maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian mengenai aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun ketapang (*Terminalia catappa L.*).

B. Metode

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan terdiri dari spektrofotometer UV-Vis (*B one UV Vis 100 DA-X*), timbangan analitik (*Ohaus, EP 214*), *rotary evaporator* (*IKA HB 10 basic*), bejana maserasi, batang pengaduk, gelas ukur (*pyrex*), gelas beker (*pyrex*), corong kaca (*pyrex*), cawan porselin, labu ukur 50 ml (*pyrex*), labu ukur 25 ml (*pyrex*), labu ukur 10 ml (*pyrex*), labu ukur 5 ml (*pyrex*), pipet volume 5 ml (*pyrex*), pipet volume 1 ml (*pyrex*), blender *miyako*, UV-cabinet, spatel, oven, kuvet.

Bahan yang digunakan adalah daun ketapang, standar kuersetin (*Aldrich Chemistry*), metanol *pro analisis* (*E. Merck*), etanol 96% (*Medika*), AlCl_3 *pro analisis* (*E. Merck*), kuersetin (*Sigma Aldrich*), serbuk magnesium, akuades, serbuk ABTS (*Sigma Aldrich*[®]), PBS (*Phosfat Buffer Saline*), $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ (kalium persulfat), natrium asetat.

Pengambilan dan Pengolahan Sampel

Pengambilan sampel daun ketapang (*Terminalia catappa L.*) dilakukan pada pagi hari di Desa Watusambang, Kecamatan Tawangmangu, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah. Kemudian disortasi basah untuk menghilangkan tanah dan pengotor lainnya yang masih menempel pada sampel. Daun ketapang

yang telah dibersihkan dilakukan perubahan bentuk dengan cara dipotong-potong kecil, selanjutnya dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selama beberapa hari pada udara terbuka dengan tidak terkena sinar matahari langsung (Winangsih dan Parman, 2013). Setelah kering sampel ditimbang dan dicatat berat keringnya kemudian diserbukkan setelah itu ditimbang kembali berat sampel serbuk yang diperoleh (Dahlia dan Ahmad, 2016).

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.)

Sebanyak 200 g dan direndam ke dalam 2 liter pelarut etanol 96%. Simplisia direndam di dalam wadah kaca selama 3x24 jam dengan sesekali diaduk. Maserat dipisahkan dengan cara disaring. Maserat diremaserasi dengan jenis pelarut yang sama sebanyak 2x remaserasi. Selanjutnya filtrat yang diperoleh diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40-50°C hingga diperoleh ekstrak yang kental. Hasil ekstrak berwarna hitam kehijauan. Setelah didapat jumlah ekstrak kental maka, dilakukan perhitungan persen rendemen ekstrak dengan rumus :

$$= \frac{\text{bobot ekstrak yang diperoleh}}{\text{bobot serbuk simplisia yang di ekstraksi}} \times 100\%$$

Analisis Kualitatif Kandungan Kimia Ekstrak Etanol Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.)

Analisis kualitatif kandungan kimia dilakukan dengan metode uji tabung. Senyawa yang diamati yaitu senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan steroid atau triterpenoid. Identifikasi alkaloid dilakukan dengan cara 2 ml larutan ekstrak ditambahkan dengan reagen *Dragendroff*. Jika masing-masing larutan terbentuk endapan jingga maka positif mengandung alkaloid. Selanjutnya untuk pengujian alkaloid dengan menggunakan reagen *Mayer* dilakukan dengan cara mengambil

masing-masing sebanyak 2 ml sampel daun ketapang yang telah diekstraksi. Setelah itu ekstrak ditambah 3 tetes asam klorida pekat dan 5 tetes reagen *Mayer*. Jika masing-masing larutan terbentuk endapan putih maka sampel positif mengandung alkaloid (Mustikasari dan Ariyani, 2010). Identifikasi flavonoid dilakukan dengan cara menambahkan serbuk magnesium dan ditambahkan HCl. Terbentuk larutan berwarna merah jingga menunjukkan adanya flavonoid.

Identifikasi saponin dilakukan dengan menambahkan sampel dengan aquades, dan dikocok dalam tabung reaksi hingga terbentuk busa stabil (busa setinggi 1 cm dan stabil selama 10 menit). Identifikasi tanin dilakukan dengan cara sebanyak 2 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambah 3 tetes larutan FeCl_3 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau kehitaman (Hanani, 2015). Identifikasi steroid atau triterpenoid dilakukan dengan cara sebanyak 0,5 gram ditambah dengan 5 ml etanol panas selama 1 jam, disaring dan residunya ditambahkan eter. Ekstrak ditambahkan 3 tetes anhidrida asam asetat dan 1 tetes asam sulfat pekat. Uji positif adanya steroid ditandai dengan terbentuknya warna biru atau hijau, sedangkan bila terbentuk warna merah menandakan adanya triterpenoid.

Analisis Kuantitatif Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.)

1. Penentuan panjang gelombang maksimum (λ maks) kuersetin

Penentuan panjang gelombang maksimum kuersetin dilakukan dengan *running* larutan kuersetin pada range panjang gelombang 400-450 nm. Hasil *running* menunjukkan panjang gelombang maksimum standar baku kuersetin berada pada panjang gelombang 435 nm. Panjang gelombang maksimum tersebut yang digunakan untuk mengukur serapan dari sampel ekstrak etanol daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) (Aminah dkk., 2017).

2. Pembuatan kurva standar kuersetin

Ditimbang sebanyak 10 mg baku standar kuersetin dan dilarutkan dalam 10 ml etanol. Larutan stok dipipet 1 ml dan dicukupkan volumenya sampai 10 ml dengan etanol sehingga diperoleh konsentrasi 100 ppm. Dari larutan standar kuersetin 100 ppm, kemudian dibuat beberapa konsentrasi yaitu 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, dan 25 ppm. Dari masing-masing konsentrasi larutan standar kuersetin diambil 0,1 ml ditambahkan 0,2 ml metanol pro analisis, 0,2 AlCl₃ 10%, 0,2 ml natrium asetat 1 M, dan aquades hingga 10 ml (Chang dkk., 2002). Inkubasi selama 22 menit pada suhu kamar dan diukur absorbansinya pada spektrofotometri UV-Vis (Kisuma, 2012).

3. Penetapan kadar flavonoid total ekstrak etanol daun ketapang (*Terminalia catappa* L.)

Sebanyak 10 mg ekstrak ditimbang dan dilarutkan dalam 10 ml etanol, sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm. Dari larutan tersebut dipipet 1 ml kemudian ditambahkan 1 ml larutan AlCl₃ 10% dan 1 ml natrium asetat 1 M. Sampel diinkubasi selama 25 menit dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 435 nm. Sampel dibuat dalam tiga replikasi untuk setiap analisis dan diperoleh nilai rata-rata absorbansi (Aminah dkk., 2017).

Analisis Kuantitatif Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.)

1. Penentuan panjang gelombang maksimum (λ maks) ABTS

Penentuan panjang gelombang maksimum ABTS dilakukan dengan *running* larutan ABTS pada range panjang gelombang 700-750 nm. Hasil *running* menunjukkan panjang gelombang maksimum ABTS berada pada panjang gelombang 440 nm. Panjang gelombang maksimum tersebut

yang digunakan untuk mengukur serapan dari sampel ekstrak etanol daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) (Pulungan, 2008).

2. Pengukuran aktivitas antioksidan kuersetin

Ditimbang sebanyak 10 mg baku standar kuersetin dan dilarutkan dalam 10 ml metanol *pro analisis*. Larutan stok dipipet sebanyak 1 ml dan dicukupkan volumenya sampai 10 ml dengan metanol *pro analisis* sehingga diperoleh konsentrasi 100 ppm. Dari larutan standar kuersetin 100 ppm, kemudian dibuat beberapa konsentrasi yaitu 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, dan 25 ppm. Dari masing-masing konsentrasi larutan standar kuersetin diambil 0,1 ml ditambahkan 2 ml larutan radikal ABTS, larutan diinkubasi selama 17 menit pada suhu kamar dan diukur absorbansinya pada spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (Faisal, 2019).

3. Pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun ketapang (*Terminalia catappa* L.)

Ditimbang sebanyak 10 mg ekstrak etanol daun ketapang dan dilarutkan dalam 10 ml metanol *pro analisis*. Larutan stok dipipet sebanyak 1 ml dan dicukupkan volumenya sampai 10 ml dengan metanol *pro analisis* sehingga diperoleh konsentrasi 100 ppm. Dari larutan etanol daun ketapang 100 ppm, kemudian dibuat beberapa konsentrasi yaitu 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, dan 25 ppm. Dari masing-masing konsentrasi larutan etanol daun ketapang diambil 0,1 ml ditambahkan 2 ml larutan radikal ABTS, larutan diinkubasi selama 17 menit pada suhu kamar dan diukur absorbansinya pada spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (Faisal, 2019).

C. Hasil dan Pembahasan

Tanaman ketapang (*Terminalia catappa* L.) yang digunakan dalam penelitian ini yaitu hanya pada bagian daunnya. Menurut Harborne (1987),

ekstrak daun ketapang berkhasiat untuk mengobati sakit pinggang, terkilir, diare, dan menurunkan tekanan darah tinggi. Ekstrak etanol daun ketapang terdapat alkaloid, flavonoid, resin, saponin, steroid dan tanin dengan total kandungan senyawa flavonoid (51,67 mg/g ekstrak) (Pandya dkk., 2013). Abdulkadir (2013) melaporkan bahwa ekstrak etanol daun *Terminalia catappa* L. mampu menangkal radikal bebas DPPH dengan nilai IC_{50} 43.34 ppm. Ekstrak etanol daun ketapang memiliki aktivitas antioksidan yang lebih baik dibanding buahnya. Senyawa fenolik pada daun ketapang memiliki potensi sebagai antioksidan (Kumar dkk., 2017).

Flavonoid merupakan senyawa alam yang berpotensi sebagai antioksidan yang dapat menangkal radikal bebas yang berperan pada timbulnya penyakit degeneratif melalui mekanisme perusakan sistem imunitas tubuh, oksidasi lipid dan protein (Rais, I.R., 2015).

Senyawa antioksidan merupakan suatu inhibitor yang digunakan untuk menghambat autooksidasi. Efek antioksidan senyawa fenolik dikarenakan sifat oksidasi yang berperan dalam menetralkan radikal bebas (Panovska dkk., 2005). Aktivitas antioksidan senyawa fenolik berperan penting dalam penyerapan dan penetralan radikal bebas atau menguraikan peroksida (Margaretta dkk., 2011). Senyawa fenolik seperti flavonoid menunjukkan aktivitas sebagai antioksidan penangkap radikal (Winarsi, 2007).

Pada penelitian ini daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) yang digunakan diperoleh dari Desa Watusambang, Kecamatan Tawangmangu, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah. Daun ketapang yang diperoleh dilakukan pengubahan bentuk dengan cara dipotong-potong kecil untuk mempercepat proses pengeringan. Proses pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air yang terdapat pada sampel,

sehingga dapat mencegah pembusukan.

Proses ekstraksi dilakukan bertujuan untuk mengambil senyawa kimia yang terkandung dalam sampel. Pelarut yang digunakan pada penelitian ini adalah etanol 96% sebagai pelarut polar. Dalam hal penyarian, etanol memiliki kelebihan dibandingkan dengan air dan metanol. Senyawa kimia yang mampu disari dengan etanol lebih banyak dari pada penyari metanol dan air (Azizah dan Salamah, 2013).

Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah maserasi, karena metode ini lebih sederhana, mudah dan tanpa pemanasan. Apabila menggunakan pemanasan dapat membuat kadar flavonoid berkurang. Proses maserasi menggunakan 2 replikasi dengan etanol 96%. Penambahan pelarut etanol dilakukan sampai 2 kali proses ekstraksi. Ekstrak yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak kental yang berwarna hijau kehitaman. Kemudian dilakukan perhitungan rendemen, sehingga diperoleh persen rendemen yaitu 14,005%. Penentuan rendemen ini berfungsi untuk mengetahui kadar metabolit sekunder yang terbawa oleh pelarut namun tidak dapat menentukan jenis senyawa yang terbawa oleh pelarut (Ahmad, Juwita dan Malik, 2016). Hasil pembuatan ekstrak kental daun ketapang dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pembuatan Ekstrak Kental Daun Ketapang

| Berat Serbuk (g) | Berat Ekstrak (g) | Rendemen (%) |
|------------------|-------------------|--------------|
| 200 | 28,010 | 14,005 |

Pembuatan ekstrak etanol daun ketapang dilakukan dengan menimbang 200 gram serbuk simplisia kemudian dilakukan penyarian pertama menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 1000 ml selama 3x24 jam,

dilanjutkan dengan remaserasi 2 kali menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 500 ml, kemudian disaring menggunakan kertas saring sehingga diperoleh maserat. Hasil maserasi diuapkan menggunakan *rotary evaporator* selama 3 jam, dilanjutkan penguapan menggunakan waterbath selama 5 jam untuk mendapatkan ekstrak kental.

Analisis kualitatif kandungan kimia dilakukan dengan melihat perubahan warna yang terjadi pada ekstrak ketika ditambahkan dengan peraksi yang sesuai. Analisis kualitatif kandungan kimia bertujuan untuk memberikan gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun ketapang. Hasil Analisis kualitatif kandungan kimia dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Analisis Kualitatif Kandungan Kimia Ekstrak Etanol Daun Ketapang (*Terminalia catappa*)

| Senyawa | Pereaksi | Hasil Pengamatan | Ket |
|--------------|--------------------------|---------------------------------------|-----|
| Alkaloid | <i>Dragendorff</i> | adanya endapan jingga | (+) |
| | <i>Mayer</i> | adanya endapan putih | |
| Tanin | FeCl ₃ 5% | warna hijau kehitaman | (+) |
| Flavonoid | Serbuk Mg + HCL pekat | warna merah | (+) |
| Saponin | Akuades | busa stabil 10 menit | (+) |
| Steroid | <i>Lieberman Buchard</i> | warna biru kehijauan | (+) |
| Triterpenoid | <i>Lieberman Buchard</i> | tidak terbentuk warna merah atau ungu | (-) |

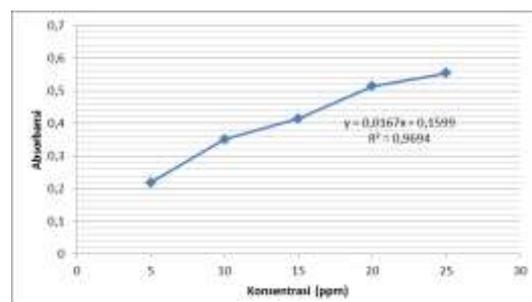
Analisis kuantitatif senyawa flavonoid dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dilakukan untuk mengetahui seberapa besar kadar flavonoid total yang terkandung pada ekstrak etanol kulit daun ketapang (*Terminalia catappa* L.). Analisis flavonoid dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis karena flavonoid mengandung sistem aromatik yang terkonjugasi sehingga menunjukkan pita serapan kuat pada

daerah spektrum sinar ultraviolet dan spektrum sinar tampak (Harborne, J.B, 1987).

Pada penelitian ini untuk menentukan kadar flavonoid pada sampel digunakan kuersetin sebagai larutan standar dengan deret konsentrasi 5, 10, 15, 20 dan 25 ppm. Digunakan deret konsentrasi karena metode yang di pakai dalam menentukan kadar adalah metode yang menggunakan persamaan kurva baku. Digunakan kuarsetin sebagai larutan standar karena kuarsetin merupakan flavonoid golongan flavonol yang mempunyai gugus keto pada C-4 dan memiliki gugus hidroksil pada atom C-3 atau C-5 yang bertetangga dari flavon dan flavonol (Azizah dan Faramayuda, 2014). Pengukuran serapan panjang gelombang maksimum dilakukan *running* dari panjang gelombang 400 ± 450 nm. Hasil *running* menunjukkan panjang gelombang maksimum standar baku kuarsetin berada pada panjang gelombang 435 nm. Panjang gelombang maksimum tersebut yang digunakan untuk mengukur serapan dari sampel ekstrak etanol daun ketapang (*Terminalia catappa* L.). Dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil pengukuran absorbansi larutan standar kuersetin pada panjang gelombang maksimum

| Konsentrasi (ppm) | Absorbansi (y) |
|-------------------|----------------|
| 5 | 0,281 |
| 10 | 0,351 |
| 15 | 0,415 |
| 20 | 0,514 |
| 25 | 0,554 |



Gambar 1. Kurva kalibrasi kuersetin pada panjang gelombang maksimum

Dari pengukuran tersebut, dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka semakin tinggi pula absorbansi yang diperoleh. Hasil penentuan kurva baku kuersetin yang diperoleh kemudian diplotkan antara kadar dan absorbansinya, sehingga diperoleh persamaan regresi linear $y = 0,0167x + 0,1599$ dengan nilai R^2 yang diperoleh sebesar 0,9694. Persamaan kurva kalibrasi kuersetin dapat digunakan sebagai pembanding untuk menentukan konsentrasi senyawa flavonoid total pada ekstrak sampel. Pengujian analisis kuantitatif dengan spektrofotometri UV-Vis digunakan larutan blanko sebagai kontrol yang berfungsi sebagai pemblank (mengkalikan nol) senyawa yang tidak perlu dianalisis (Aminah dkk., 2017).

Pada pengukuran senyawa flavonoid total, larutan sampel ditambahkan $AlCl_3$ yang dapat membentuk kompleks, sehingga terjadi pergeseran panjang gelombang ke arah visible (tampak) yang ditandai dengan larutan menghasilkan warna yang lebih kuning. Dan penambahan kalium asetat bertujuan untuk mempertahankan panjang gelombang pada daerah visible (tampak) (Aminah dkk., 2017). Perlakuan inkubasi selama 1 jam sebelum pengukuran dimaksudkan agar reaksi berjalan sempurna, sehingga intensitas warna yang dihasilkan lebih maksimal (Aminah dkk., 2017). Sehingga dari hasil penelitian ini diperoleh kadar flavonoid ekstrak etanol daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) sebesar 17,710 QE yang dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Kadar flavonoid ekstrak etanol daun ketapang

| Replikasi | Abs (y) | Kandungan total flavonoid (QE) | Rata-rata (QE) |
|-----------|---------|--------------------------------|----------------|
| 1 | 0,441 | 16,832 | |
| 2 | 0,482 | 19,287 | 17,710 |
| 3 | 0,444 | 17,011 | |

Kadar flavonoid didalam suatu tanaman berbeda-beda diantara setiap bagian, jaringan dan umur tanaman, serta dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Faktor-faktor ini adalah temperatur, sinar ultraviolet dan tampak, nutrisi, ketersediaan air, dan kadar CO_2 pada atmosfer (Satria dkk., 2022).

Penentuan panjang gelombang (λ) maksimum dilakukan untuk mengukur absorbansi senyawa pada daerah visible, sehingga diperoleh serapan yang maksimum. Panjang gelombang (λ) maksimum yang diperoleh pada penelitian ini adalah 740 nm. Penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh (Vifta dkk., 2019) didapatkan panjang gelombang maksimal ABTS sebesar 740,20 nm sehingga tidak berbeda jauh dengan hasil panjang gelombang yang telah didapatkan.

Penentuan *operating time* atau waktu operasional dilakukan untuk menentukan waktu sempurna reaksi yang ditunjukkan dengan tidak adanya lagi penurunan absorbansi. Hasil pengukuran *operating time* didapatkan absorbansi stabil mulai menit ke-17, sehingga pada penelitian ini menggunakan *operating time* selama 17 menit. Pemilihan *operating time* pada menit ke-17 karena waktu tersebut menunjukkan waktu pertama mulai stabilnya absorbansi (Vifta dkk., 2019).

Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun ketapang dengan menggunakan metode ABTS. Pengujian dilakukan berdasarkan kemampuan dalam mereduksi atau meredam radikal bebas ABTS yang ditandai dengan berkurangnya intensitas warna biru dari larutan ABTS yang telah ditambahkan dalam sampel (Imrawati dkk., 2018). Hasil aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun ketapang dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 5. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun ketapang dengan metode ABTS

| Sampel | Konsentrasi | Penghambatan | IC ₅₀ |
|-----------|-------------|--------------|------------------|
| Ekstrak | 5 ppm | 33,471 | 23,531 |
| | 10 ppm | 36,514 | |
| | 15 ppm | 41,078 | |
| | 20 ppm | 45,643 | |
| | 25 ppm | 52,697 | |
| Kuersetin | 5 ppm | 51,728 | 3,259 |
| | 10 ppm | 60,442 | |
| | 15 ppm | 63,623 | |
| | 20 ppm | 72,890 | |
| | 25 ppm | 78,284 | |

Aktivitas penangkapan radikal bebas ABTS dinyatakan dengan nilai IC₅₀. Nilai IC₅₀ merupakan konsentrasi larutan atau sampel yang mampu mereduksi radikal ABTS sebesar 50% atau merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak (ppm) yang mampu menghambat suatu proses oksidasi 50% (Fitriana dkk., 2016; Lestari dkk., 2015). Semakin kecil nilai IC₅₀ maka semakin besar aktivitas penangkapan radikal ABTS, sebaliknya nilai IC₅₀ yang tinggi maka aktivitas penangkapan radikal ABTS semakin kecil.

Berdasarkan hasil aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun ketapang menunjukkan hasil pengujian aktivitas antioksidan dengan metode ABTS dimana ekstrak etanol daun ketapang diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 23,531 ppm, sedangkan kuersetin menunjukkan nilai IC₅₀ sebesar 3,259 ppm. Hasil penelitian menunjukan bahwa uji aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun ketapang termasuk kategori sangat kuat dengan nilai IC₅₀ 23,531 ppm (≤ 50 ppm).

D. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa kadar flavonoid total dari ekstrak etanol daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) yaitu 17,710 QE. Hasil aktivitas

antioksidan pada ekstrak etanol daun ketapang dengan metode ABTS menunjukkan aktivitas antioksidan sangat kuat, dengan nilai *Inhibitory Concentration* 50% (IC₅₀) ekstrak etanol 23,531 ppm.

E. Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Program Studi Farmasi Universitas Duta Bangsa Surakarta yang telah memberikan kesempatan dalam penelitian ini sehingga terlaksana dengan baik dan lancar.

Daftar Pustaka

- Abdulkadir, A.R. 2013. *In Vitro* Antioxidant Activity of Ethanolic Extract from *Terminalia catappa* L. Leaves and Fruits: Effect of Fruit Ripening. *International Journal of Science and Research*. 1(8): 1244-1249.
- Ahmad, A.R., Juwita, J., Ratulangi, S.A.D. dan Malik, A. (2016). Penetapan Kadar Fenolik Dan Flavonoid Total Ekstrak Metanol Buah Dan Daun Patikala (*Etilingera Elatior* (Jack) Rm Sm) Menggunakan Spektrofotometri Uv- Vis. *Pharmaceutical Sciences And Research (Psr)*, 2(1), Pp.1-10.
- Aminah, Nurhayati Tomayahu dan Zainal Abidin. (2017). Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Kulit Buah Alpukat (*Persea Americana* Mill.) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia* 4 (2): 226–30.
- Azizah, B. dan Salamah, N. (2013). Standarisasi Parameter Non Spesifik dan Perbandingan Kadar Kurkumin Ekstrak Etanol dan Ekstrak Terpurifikasi Rimpang Kunyit. *Pharmaciana*, 3(1).
- Azizah, N.D., Endang, K., dan Fahrauk, F. (2014). Penetapan Kadar Flavonoid Metode AlCl₃ Pada Ekstrak Metanol Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.). *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi*. 2 (2).
- Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M., & Chern, J.C. 2002. Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. *Journal of Food and Drug Analysis*.

- Vol. 10: 178-182.
- Dahlia, A.A. dan Ahmad, A.R. (2016). Penetapan Kadar Flavonoid Total Dari Ekstrak Etanolik Daun Benalu Mangga (*Dendrophthoe Pentandra* L. Miq). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 1(1). pp.14-17.
- Faisal, H. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Okra (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) Dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dan Metode ABTS (2,2-azinobis-(3-Ethylbenzothiazoline 6-Sulfonic Acid), Regional Development Industry and Health Science, Technology and Art of Life.
- Fitriana, W.D., Fatmawati, S., & Ersam, T. (2015). Uji Aktivitas Antioksidan terhadap DPPH dan ABTS dari Fraksi-Fraksi Daun Kelor (*Moringa oleifera*). *Simposium Nasional Inovasi dan Pembelajaran Sains*. Bandung. 657-60.
- Floegel, A., Kim, D-O., Chung, S-J., Koo, S. I., Chun, O. K. (2011). Comparison of ABTS or DPPH Assays to Measure Antioxidant Capacity in Popular Antioxidant-rich US Foods. *Journal of Food Composition and Analysis*. (24):1043-1048.
- Hanani, Endang. (2015). *Analisis Fitokimia*. Jakarta: Buku kedokteran EGC.
- Harborne, J.B. (1987). *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Terbitan Kedua, Terjemahan Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro ITB: Bandung.
- Hidayat, R.S. dan Napitupulu, R.M. (2015). *Kitab Tumbuhan Obat*. Jakarta: Agriflo.
- Kisuma, P. 2012. Penetapan Kadar Flavonoid Total dan Daya Antioksidan dari Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia* L.). *Skripsi*. Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Aludin: Makassar.
- Imrawati, I., Mus, S., Gani, S.A., & Bubua, K.I. (2018). Antioxidant Activity of *Muntingia calabura* L. Leaves Ethyl Acetate Fraction. *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*, 2(2).
- Kumar, V., Sharma, N., Sourirajan, A., Khosla, P.K. dan Dev, K. (2017). Comparative Evaluation Antimicrobial and Antioxidant Potential of Ethanolic Extract and Its Fractions of Bark and Leaves of *Terminalia Arjuna* from North-Western Himalayas, India. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*. xxx: 1-7.
- Lestari, A.B.S., Fudholi, A., Nugroho, A.K., and Setyowati, E.P. (2015). The effect of Simplex Powder n-Hexane Purification on Asiaticoside Content, Free Radical Scavenging and Total Phenolic Content of Gotu Kola (*Centella asiatica* (L.) Urban) Ethanolic Extract. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*.
- Margaretta, S., Handayani, S.D., Indraswati, N., Hindarso, H. (2011). Ekstraksi Senyawa Phenolic *Pandanus Amaryllifolius* roxb. Sebagai Antioksidan Alami. *Jurnal Teknik Vol. 10*, No. 1, (21-30).
- Molyneux, Philip. (2004). The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant. *Songklanakarinn J. Sci. Technol.* 26 (2): 211 – 219.
- Mustikasari, K., dan Ariyani, D. (2010). Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Biji Kalangkala (*Litsea Angulata*). *Jurnal Sains Dan Terapan Kimia*, 4(2), 131–136.
- Pandya, B.N., Tigari, P., Dupadahali, K., Kamurthy, H., dan Nadendla. (2013). Antitumor and Antioxidant Statu of *Terminalia catappa* L. against Ehrlich Ascites Carcinoma in Swiss Albino Mice. *Indian Journal of Pharmacology*, 45(5):464-469.
- Panovska, T.K., Kulevanova, S., Stefova. (2005). In Vitro Antioxidant Activity of Some Teucrium Spesies (*Lamiaceae*). *Acta Pharm.* 55 hal 207-214.
- Pulungan, dan Widad, U. (2018). Aktivitas Antioksidan Ekstrak N-Heksan, Etil Asetat dan Etanol Daun Mobe (*Artocarpus lacucha* Buch-Ham.) dengan Metode Pemerangkapan ABTS, *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas

Sumatera Utara: Medan.

- Rais, I. R. (2015). Isolasi dan penentuan kadar flavonoid ekstrak etanolik herba sambiloto (*andrographis paniculata* (burm. F.) Ness). *Pharmaciana*, pp 100:106.
- Roslizawaty, N.Y. Ramadani., Fakhurrrazi, dan Herrialfian. (2013). *Jurnal Medika Veterinaria*. ISSN: 0083-1943. Vol 7 No. 2.
- Sami, F.J dan Rahimah, S. (2016). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bunga Brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *Italica*) dengan Metode DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl) dan Metode ABTS (2,2-Azinobis (3 Etilbenzotiazolin)-6-Asam Sulfonat). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. Vol. 2 No.2.
- Satria, Romi, Ali Rakhman Hakim, and Putri Vidiasari Darsono. (2022). "Penetapan Kadar Flavonoid Total Dari Fraksi N-Heksana Ekstrak Daun Gelinggang Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis." *Journal of Engineering, Technology, and Applied Science* 4 (1): 33–46.
- Tjitrosoepomo, G. (2002). *Morfologi Tumbuhan*. Yogyakarta: Gadjah Mada Press.
- Vifta, R.L., Rahayu, R.T., dan Fania, P.L. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) dan Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale* Roscoe var *Rubrum*) dengan Metode ABTS (2,2-Azinobis (3-Etilbenzotiazolin)-6-Asam Sulfonat). *Indo. J. Chem. Sci.* 8(3). Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Ngudi Waluyo: Semarang.
- Winangsih, Prihastanti, E., Parman, S. (2013). Pengaruh Metode Pengeringan Terhadap Kualitas Simplisia Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum* L.). *Jurnal Anatomi dan Fisiologi* 21(1): 19-25.
- Winarsi, Hery. (2007). *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Penerbit Kanisius: Yogyakarta.