

Kadar Flavonoid Total Dan Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Dari Ekstrak Metanol Daun Jeruju

Ali Rakhman Hakim^{1*}, Rina Saputri², Nur Syifa²

¹ Program Studi Pendidikan Profesi Apoteker, Universitas Sari Mulia, Banjarmasin, Indonesia

² Program Studi Sarjana Farmasi, Universitas Sari Mulia, Banjarmasin, Indonesia

*email Korespondensi: alirakhmanhakim@gmail.com

ABSTRAK. Pendahuluan: Daun jeruju (*Acanthus ilicifolius* L.) merupakan tanaman yang dapat tumbuh di lingkungan berair, termasuk area pinggiran sungai, dan diketahui mengandung metabolit sekunder, termasuk flavonoid, serta berpotensi sebagai sumber antioksidan alami. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan menentukan kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan fraksi etil asetat dari ekstrak metanol daun jeruju. **Metode:** Penetapan kadar flavonoid total dilakukan secara spektrofotometri menggunakan standar kuersetin, sedangkan aktivitas antioksidan diuji dengan metode DPPH pada panjang gelombang 515 nm. **Hasil:** Data menunjukkan kadar flavonoid total rata-rata sebesar 9,44 mg QE/g dengan simpangan baku 0,45. Fraksi etil asetat memperlihatkan peningkatan persen inhibisi seiring kenaikan konsentrasi, yaitu 30,01% pada 120 ppm hingga 58,38% pada 200 ppm, dengan nilai IC₅₀ sebesar 178,16 ppm dan dikategorikan lemah. **Simpulan:** Fraksi etil asetat dari ekstrak metanol daun jeruju mengandung flavonoid dan memiliki aktivitas antioksidan, namun kekuatannya tergolong lemah berdasarkan nilai IC₅₀.

Kata kunci: aktivitas antioksidan; daun jeruju; DPPH; fraksi etil asetat; kadar flavonoid total

ABSTRACT. Introduction: Jeruju leaves (*Acanthus ilicifolius* L.) are plant material that can grow in aquatic environments, especially riverbank areas, and are known to contain secondary metabolites, including flavonoids, with potential as a natural antioxidant source. **Objective:** This study aimed to determine the total flavonoid content and antioxidant activity of the ethyl acetate fraction from the methanol extract of jeruju leaves. **Methods:** Total flavonoid content was determined spectrophotometrically using quercetin as a standard, while antioxidant activity was evaluated using the DPPH method at 515 nm. **Results:** The mean total flavonoid content was 9.44 mg QE/g with a standard deviation of 0.45. The ethyl acetate fraction showed increased inhibition with increasing concentration, from 30.01% at 120 ppm to 58.38% at 200 ppm, with an IC₅₀ value of 178.16 ppm, categorized as weak antioxidant activity. **Conclusion:** The ethyl acetate fraction from the methanol extract of jeruju leaves contains flavonoids and exhibits antioxidant activity, although its antioxidant strength is classified as weak based on the IC₅₀ value.

Keywords: antioxidant activity; DPPH; ethyl acetate fraction; jeruju leaves; total flavonoids content



This is an open access article distributed under the terms of [CC BY-NC](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) 4.0 license.

PENDAHULUAN

Radikal bebas dan stres oksidatif merupakan masalah biologis yang banyak dikaitkan dengan kerusakan sel serta berbagai gangguan degeneratif. Antioksidan berperan penting dalam menetralkan radikal bebas, sehingga pencarian sumber antioksidan alami dari tumbuhan terus berkembang dalam penelitian farmasi dan bahan alam. Salah satu metode yang umum digunakan untuk mengevaluasi kemampuan penangkap radikal adalah metode DPPH karena sederhana, cepat, dan banyak diterapkan pada ekstrak tumbuhan (Chaves et al., 2020; Gulcin & Alwasel, 2023; Yamauchi et al., 2024).

Secara nasional, Indonesia memiliki keanekaragaman hayati yang tinggi, termasuk

ekosistem lahan basah, daerah aliran sungai, dan lingkungan berair di sekitar sungai yang menyimpan potensi besar sebagai sumber metabolit sekunder. Tumbuhan yang hidup pada lingkungan berair di pinggiran sungai telah dilaporkan mengandung senyawa fenolik, flavonoid, alkaloid, tanin, dan metabolit lain yang berkontribusi terhadap aktivitas biologis. Pemanfaatan sumber daya tumbuhan lokal dari area pinggiran sungai sebagai bahan baku antioksidan alami menjadi penting karena dapat mendukung pengembangan bahan alam lokal dan kemandirian riset farmasi (Wu et al., 2023; Xiong et al., 2026; Zakaria et al., 2024).

Pada tingkat lokal, daun jeruju (*Acanthus ilicifolius* L.) merupakan salah satu tumbuhan yang ditemukan di area pinggiran sungai dan secara empiris

dikenal sebagai tumbuhan berkhasiat. Penelitian terkini menunjukkan bahwa ekstrak daun *A. ilicifolius* mengandung metabolit sekunder, termasuk flavonoid, dan memiliki kapasitas antioksidan yang dipengaruhi oleh jenis pelarut serta kondisi ekstraksi (Islam et al., 2024; Nurcholis et al., 2024; Wu et al., 2023; Xiong et al., 2026). Namun, informasi mengenai kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan fraksi etil asetat dari ekstrak metanol daun jeruju yang berasal dari area pinggiran sungai masih perlu dilengkapi untuk memperkuat pemanfaatannya sebagai sumber antioksidan alami.

Masalah inti penelitian ini adalah belum tersedianya data yang cukup mengenai hubungan kandungan flavonoid total dengan aktivitas penangkap radikal DPPH pada fraksi etil asetat daun jeruju. Fraksi etil asetat dipilih karena pelarut ini mampu menarik senyawa semi-polar, termasuk sebagian senyawa fenolik dan flavonoid, yang berpotensi berperan sebagai antioksidan.

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk menentukan kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan fraksi etil asetat dari ekstrak metanol daun jeruju menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis dan uji DPPH.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium yang bertujuan menentukan kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan fraksi etil asetat dari ekstrak metanol daun jeruju. Penelitian dilakukan di laboratorium farmasi bahan alam. Waktu penelitian disesuaikan dengan pelaksanaan preparasi sampel, ekstraksi, fraksinasi, dan pengujian spektrofotometri.

Populasi penelitian adalah tanaman jeruju (*Acanthus ilicifolius* L.) yang tumbuh di area

pinggiran sungai. Sampel penelitian berupa daun jeruju yang telah dikeringkan, diserbukkan, diekstraksi dengan metanol, kemudian difraksinasi menggunakan etil asetat. Teknik pengambilan sampel dilakukan secara purposive sampling berdasarkan kriteria daun yang utuh, bebas kerusakan fisik, dan layak digunakan sebagai bahan simplisia.

Alat yang digunakan meliputi spektrofotometer UV-Vis, timbangan analitik, rotary evaporator, water bath, mikropipet, vortex, labu ukur, tabung reaksi, corong pisah, gelas ukur, erlenmeyer, beaker glass, dan alat gelas laboratorium lainnya. Bahan yang digunakan meliputi serbuk daun jeruju, metanol, etil asetat, kuersetin, aluminium klorida (AlCl_3), kalium asetat, akuades, metanol pro analisis, dan larutan DPPH.

Kadar flavonoid total ditentukan menggunakan metode kolorimetri AlCl_3 dengan kuersetin sebagai standar dan dinyatakan dalam mg quercetin equivalent per gram sampel (mg QE/g), sebagaimana digunakan pada penelitian penetapan flavonoid total ekstrak tumbuhan (Aryal et al., 2019; Chaves et al., 2020; Sultana et al., 2024). Aktivitas antioksidan diuji menggunakan metode DPPH pada panjang gelombang 515 nm. Persen inhibisi dihitung berdasarkan perbandingan absorbansi blanko dan absorbansi sampel, sedangkan nilai IC_{50} diperoleh dari persamaan regresi antara konsentrasi sampel dan persen inhibisi. Data disajikan dalam bentuk tabel dan dijelaskan secara deskriptif kuantitatif.

HASIL

Hasil penelitian disajikan dalam bentuk tabel untuk memperjelas data penetapan kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan fraksi etil asetat ekstrak metanol daun jeruju.

Tabel 1. Hasil penetapan kadar flavonoid total fraksi etil asetat ekstrak metanol daun jeruju

Replikasi	Absorbansi sampel	Konsentrasi ekuivalen kuersetin (ppm)	Kadar flavonoid total (mg QE/g)
1	0.053	0.9857	9.857
2	0.051	0.9500	9.500
3	0.048	0.8964	8.964
Rata – rata $\pm$ SD			9,44 $\pm$ 0,45 mg QE/g

Keterangan: QE = quercetin equivalent. Penetapan flavonoid total disajikan sebagai mg QE/g menggunakan pendekatan kolorimetri AlCl_3 .

Hasil penetapan kadar flavonoid total menunjukkan bahwa fraksi etil asetat ekstrak metanol

daun jeruju memiliki kadar flavonoid total rata-rata sebesar 9,44 $\pm$ 0,45 mg QE/g. Nilai tersebut diperoleh

dari tiga kali pengukuran dengan rentang kadar 8,964–9,857 mg QE/g, sebagaimana ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 2. Hasil uji aktivitas antioksidan fraksi etil asetat ekstrak metanol daun jeruju dengan metode DPPH

Konsentrasi Sampel (ppm)	Absorbansi sampel	Inhibisi DPPH (%)	IC ₅₀ (ppm)	Kategori aktivitas
120	1,320	30,01	178,16	Lemah
140	1,260	33,19		
160	1,039	44,91		
180	0,941	50,11		
200	0,785	58,38		

Keterangan: Absorbansi blanko DPPH = 1,886 pada panjang gelombang 515 nm. Persen inhibisi dihitung terhadap absorbansi blanko. Nilai IC₅₀ ditentukan dari persamaan regresi hubungan konsentrasi sampel terhadap persen inhibisi.

Hasil uji aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi sampel dari 120 ppm hingga 200 ppm diikuti oleh peningkatan persen inhibisi DPPH dari 30,01% menjadi 58,38%. Berdasarkan persamaan regresi, nilai IC₅₀ fraksi etil asetat ekstrak metanol daun jeruju adalah 178,16 ppm, sehingga aktivitas antioksidannya dikategorikan lemah. Data hasil uji antioksidan disajikan pada Tabel 2.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi etil asetat dari ekstrak metanol daun jeruju memiliki kadar flavonoid total sebesar $9,44 \pm 0,45$ mg QE/g. Nilai ini menegaskan bahwa senyawa flavonoid dapat terdistribusi ke dalam fraksi etil asetat, karena fraksi ini cenderung menarik senyawa semi-polar, termasuk sebagian besar flavonoid aglikon maupun glikosida dengan polaritas menengah. Secara kimia, flavonoid memiliki gugus hidroksil aromatik yang berperan dalam kemampuan menangkap radikal bebas melalui mekanisme donor hidrogen atau transfer elektron. Oleh sebab itu, keberadaan flavonoid pada fraksi etil asetat dapat menjadi dasar ilmiah awal untuk mengaitkan fraksi tersebut dengan potensi aktivitas antioksidan (Aryal et al., 2019; Nurcholis et al., 2024; Rauf et al., 2024; Sultana et al., 2024; Wu et al., 2023).

Aktivitas antioksidan pada penelitian ini menunjukkan pola peningkatan yang sejalan dengan kenaikan konsentrasi sampel. Persen inhibisi meningkat dari 30,01% pada konsentrasi 120 ppm menjadi 58,38% pada konsentrasi 200 ppm. Pola ini menunjukkan adanya hubungan konsentrasi-respons, yaitu semakin tinggi konsentrasi fraksi yang

diberikan, semakin besar kemampuan sampel dalam mereduksi radikal DPPH. Pada prinsipnya, DPPH merupakan radikal stabil berwarna ungu yang akan mengalami penurunan absorbansi ketika menerima elektron atau atom hidrogen dari senyawa antioksidan. Dengan demikian, penurunan absorbansi sampel pada penelitian ini menunjukkan adanya interaksi antara komponen aktif fraksi etil asetat daun jeruju dengan radikal DPPH (Chaves et al., 2020; Gulcin & Alwasel, 2023; Islam et al., 2024; Yamauchi et al., 2024).

Nilai IC₅₀ sebesar 178,16 ppm menunjukkan bahwa fraksi etil asetat ekstrak metanol daun jeruju memiliki aktivitas antioksidan, namun termasuk kategori lemah. Nilai IC₅₀ menggambarkan konsentrasi sampel yang diperlukan untuk menghambat 50% radikal DPPH; semakin kecil nilai IC₅₀, semakin kuat aktivitas antioksidannya. Kategori lemah pada penelitian ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor, antara lain rendahnya kadar senyawa aktif tertentu, adanya campuran senyawa non-antioksidan dalam fraksi, perbedaan kelarutan senyawa terhadap medium uji, serta kemungkinan belum optimalnya proses ekstraksi dan fraksinasi. Selain itu, aktivitas DPPH tidak hanya ditentukan oleh jumlah flavonoid total, tetapi juga oleh struktur senyawa, jumlah dan posisi gugus hidroksil, serta keberadaan senyawa fenolik lain yang dapat bekerja secara sinergis atau antagonis (Chaves et al., 2020; Rauf et al., 2024; Yamauchi et al., 2024).

Jika dibandingkan dengan penelitian terbaru mengenai *Acanthus ilicifolius*, hasil penelitian ini sejalan dengan laporan bahwa jeruju mengandung metabolit sekunder berupa flavonoid dan memiliki potensi antioksidan. Penelitian metabolomik dan

transkriptomik pada *A. ilicifolius* menunjukkan keterlibatan jalur biosintesis flavonoid dalam respons fisiologis tanaman, sedangkan studi optimasi ekstraksi menegaskan bahwa kandungan flavonoid dan kapasitas antioksidan dapat berubah bergantung pada metode ekstraksi, pelarut, dan kondisi proses. Perbedaan nilai aktivitas antioksidan antarpencapaian dapat muncul karena variasi bagian tanaman, lokasi tumbuh, umur daun, metode pengeringan, rasio pelarut, lama ekstraksi, serta metode uji yang digunakan (Islam et al., 2024; Nurcholis et al., 2024; Wu et al., 2023; Xiong et al., 2026).

Kadar flavonoid total yang tidak selalu berbanding lurus dengan aktivitas antioksidan juga perlu diperhatikan. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak tumbuhan dapat dipengaruhi oleh gabungan senyawa fenolik, flavonoid, tanin, terpenoid, dan metabolit sekunder lain, bukan hanya oleh flavonoid total. Oleh karena itu, fraksi dengan kadar flavonoid sedang tetap dapat menunjukkan aktivitas antioksidan yang rendah apabila komposisi flavonoidnya didominasi senyawa dengan kemampuan donor elektron yang lemah, atau apabila konsentrasi senyawa aktif utama belum cukup tinggi. Sebaliknya, ekstrak dengan kadar flavonoid lebih rendah dapat menunjukkan aktivitas yang kuat jika mengandung senyawa tertentu yang sangat reaktif terhadap radikal bebas (Aryal et al., 2019; Sultana et al., 2024; Utami et al., 2024).

Temuan penelitian ini memiliki implikasi ilmiah bahwa daun jeruju dari area pinggiran sungai tetap memiliki potensi sebagai sumber senyawa antioksidan alami, meskipun aktivitas fraksi etil asetatnya masih tergolong lemah. Hasil ini dapat menjadi dasar untuk penelitian lanjutan yang lebih terarah, seperti optimasi pelarut dan metode ekstraksi, pemisahan senyawa aktif menggunakan kromatografi, identifikasi metabolit dengan LC-MS/MS atau GC-MS, serta pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode lain seperti ABTS, FRAP, CUPRAC, atau ORAC. Penggunaan lebih dari satu metode penting karena masing-masing uji antioksidan memiliki prinsip reaksi dan sensitivitas yang berbeda, sehingga dapat memberikan gambaran aktivitas antioksidan yang lebih menyeluruh (Chaves et al., 2020; Gulcin & Alwasel, 2023; Utami et al., 2024).

SIMPULAN

Fraksi etil asetat dari ekstrak metanol daun jeruju (*Acanthus ilicifolius* L.) terbukti mengandung flavonoid dengan kadar flavonoid total rata-rata $9,44 \pm 0,45$ mg QE/g. Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH menunjukkan adanya peningkatan persen inhibisi seiring kenaikan konsentrasi sampel, yaitu dari 30,01% pada 120 ppm menjadi 58,38% pada 200 ppm. Nilai IC_{50} yang diperoleh sebesar 178,16 ppm, sehingga aktivitas antioksidan fraksi etil asetat dikategorikan lemah. Hasil ini menunjukkan bahwa daun jeruju memiliki potensi sebagai sumber senyawa antioksidan alami, namun diperlukan penelitian lanjutan untuk optimasi ekstraksi, pemurnian fraksi aktif, serta pengujian aktivitas antioksidan dengan metode lain agar potensi biologisnya dapat dipahami secara lebih komprehensif.

REFERENSI

- Aryal, S., Baniya, M. K., Danekhu, K., Kunwar, P., Gurung, R., & Koirala, N. (2019). Total Phenolic Content, Flavonoid Content and Antioxidant Potential of Wild Vegetables from Western Nepal. *Plants*, 8(4), 96. <https://doi.org/10.3390/plants8040096>
- Chaves, N., Santiago, A., & Alías, J. C. (2020). Quantification of the Antioxidant Activity of Plant Extracts: Analysis of Sensitivity and Hierarchization Based on the Method Used. *Antioxidants*, 9(1), 76. <https://doi.org/10.3390/antiox9010076>
- Gulcin, İ., & Alwasel, S. H. (2023). DPPH Radical Scavenging Assay. *Processes*, 11(8), 2248. <https://doi.org/10.3390/pr11082248>
- Islam, Md. S., Islam, Md. T., Washim, M. R., Haque, A. T., Haque, Md. I., Islam, H. R., Rashid, Md. H., & Mahmud, Y. (2024). Antioxidant potentials of *Acanthus ilicifolius* leaves from Southwest Coastal Region of Bangladesh. *Food Chemistry Advances*, 5, 100807. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2024.100807>
- Nurcholis, W., Septiawati, I. Z., Najmi, L., Sutandy, F. A., Febrian, L., Fitriyari, G. C., Ramdhani, A. F., Zahra, A., Aisyah, S. I., & Ambarsari, L. (2024). Optimization of Flavonoid Extraction and Antioxidant Capacity from *Acanthus ilicifolius* Using Microwave-Assisted Extraction and I-Optimal Response Surface

- Methodology. *Tropical Journal of Natural Product Research*, 8(12), 9470.
- Rauf, A., Ahmad, Z., Formanowicz, D., Ribaud, G., & Alomar, T. S. (2024). Editorial: Antioxidant potential of polyphenolic and flavonoid compounds. *Frontiers in Chemistry*, 12. <https://doi.org/10.3389/fchem.2024.1463755>
- Sultana, S., Hossain, M. L., Sostaric, T., Lim, L. Y., Foster, K. J., & Locher, C. (2024). Investigating Flavonoids by HPTLC Analysis Using Aluminium Chloride as Derivatization Reagent. *Molecules*, 29(21), 5161. <https://doi.org/10.3390/molecules29215161>
- Utami, Y. P., Yulianty, R., Djabir, Y. Y., & Alam, G. (2024). Antioxidant Activity, Total Phenolic and Total Flavonoid Contents of Etlingera elatior (Jack) RM Smith from North Luwu, Indonesia. *Tropical Journal of Natural Product Research*, 8(1), 5955.
- Wu, Z., Wang, Z., Xie, Y., Liu, G., Shang, X., & Zhan, N. (2023). Transcriptome and Metabolome Profiling Provide Insights into Flavonoid Synthesis in *Acanthus ilicifolius* Linn. *Genes*, 14(3), 752. <https://doi.org/10.3390/genes14030752>
- Xiong, Q., Sun, Z., Su, L., You, Y., & Chen, C. (2026). Impaired antioxidant defense associated with flavonoid biosynthesis reprogramming in the mangrove *Acanthus ilicifolius* under high salinity. *Frontiers in Plant Science*, 17. <https://doi.org/10.3389/fpls.2026.1853520>
- Yamauchi, M., Kitamura, Y., Nagano, H., Kawatsu, J., & Gotoh, H. (2024). DPPH Measurements and Structure—Activity Relationship Studies on the Antioxidant Capacity of Phenols. *Antioxidants*, 13(3), 309. <https://doi.org/10.3390/antiox13030309>
- Zakaria, N. H., Ibrahim, M. A., Abdul Majid, F. A., Hashim, F., Tuan Johari, S. A. T., & Mohd Hasali, N. H. (2024). Ethnobotany, Phytochemistry and Pharmacology of *Acanthus ilicifolius*: A Comprehensive Review. *Malaysian Journal of Medicine & Health Sciences*, 20(4), 333.