

Aktivitas Antioksidan dan Kadar Flavonoid Total Fraksi Etil Asetat dari Ekstrak Etanol 70% Daun Jeruju

Rina Saputri^{1*}, Ali Rakhman Hakim², Nur Syifa¹

¹ Program Studi Sarjana Farmasi, Universitas Sari Mulia, Banjarmasin, Indonesia

² Program Studi Pendidikan Profesi Apoteker, Universitas Sari Mulia, Banjarmasin, Indonesia

*email Korespondensi: apt.rinasaputri@gmail.com

ABSTRAK. Pendahuluan: Daun jeruju (*Acanthus ilicifolius* L.) merupakan tumbuhan mangrove yang diketahui mengandung metabolit sekunder seperti flavonoid, fenolik, dan alkaloid, sehingga berpotensi dikembangkan sebagai sumber antioksidan alami. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kadar flavonoid total dan mengevaluasi aktivitas antioksidan fraksi etil asetat dari ekstrak etanol 70% daun jeruju. **Metode:** Penetapan kadar flavonoid total dilakukan menggunakan metode kolorimetri aluminium klorida dengan kuersetin sebagai standar, sedangkan aktivitas antioksidan diuji menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH pada panjang gelombang 515 nm. **Hasil:** Hasil menunjukkan kadar flavonoid total sampel sebesar 8,071; 4,679; dan 4,679 mg QE/g dengan rerata $5,810 \pm 1,959$ mg QE/g. Uji aktivitas antioksidan menunjukkan peningkatan persen inhibisi seiring kenaikan konsentrasi, yaitu 32,874%; 50,689%; 66,543%; dan 78,950% pada konsentrasi 60, 80, 100, dan 120 ppm. Nilai IC₅₀ yang diperoleh sebesar 80,572 ppm dan termasuk dalam kategori antioksidan kuat. **Simpulan:** Hasil ini menunjukkan bahwa fraksi etil asetat dari ekstrak etanol 70% daun jeruju memiliki kandungan flavonoid dan aktivitas antioksidan yang potensial untuk diteliti lebih lanjut sebagai bahan alam fungsional.

Kata kunci: *Acanthus ilicifolius* L.; daun jeruju; DPPH; flavonoid total; fraksi etil asetat

ABSTRACT. Introduction: Jeruju leaves (*Acanthus ilicifolius* L.) are mangrove plant materials known to contain secondary metabolites, including flavonoids and phenolic compounds, which may contribute to antioxidant activity. **Objectives:** This study aimed to determine the total flavonoid content and antioxidant activity of the ethyl acetate fraction from the 70% ethanol extract of jeruju leaves. **Methods:** Total flavonoid content was determined using the aluminium chloride colorimetric method with quercetin as the standard, while antioxidant activity was evaluated using the DPPH radical scavenging method at 515 nm. **Results:** The total flavonoid contents obtained from three measurements were 8.071, 4.679, and 4.679 mg QE/g, with a mean value of 5.810 ± 1.959 mg QE/g. The antioxidant assay showed increasing DPPH inhibition with increasing sample concentration, namely 32.874%, 50.689%, 66.543%, and 78.950% at 60, 80, 100, and 120 ppm, respectively. The IC₅₀ value was 80.572 ppm, indicating strong antioxidant activity. **Conclusions:** These findings suggest that the ethyl acetate fraction from the 70% ethanol extract of jeruju leaves contains flavonoids and has potential as a natural antioxidant source.

Keywords: *Acanthus ilicifolius* L.; antioxidant activity; DPPH; ethyl acetate fraction; total flavonoids



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

Secara global, radikal bebas dan stres oksidatif menjadi perhatian dalam bidang kesehatan karena berhubungan dengan kerusakan sel serta peningkatan risiko penyakit degeneratif. Antioksidan diperlukan untuk menetralkan radikal bebas melalui mekanisme donor elektron atau atom hidrogen, sehingga eksplorasi sumber antioksidan alami dari tanaman terus berkembang. Metode DPPH banyak digunakan dalam skrining awal aktivitas antioksidan karena sederhana, cepat, dan mampu menggambarkan kemampuan sampel dalam meredam radikal bebas stabil (Chang et al., 2020; Gulcin & Alwasel, 2023).

Pada tingkat nasional, Indonesia memiliki keanekaragaman hayati yang tinggi, termasuk tumbuhan mangrove yang berpotensi sebagai sumber metabolit sekunder. Salah satu tumbuhan mangrove yang banyak ditemukan di wilayah perairan dan pesisir adalah jeruju (*Acanthus ilicifolius* L.). Daun jeruju dilaporkan mengandung senyawa flavonoid, fenolik, alkaloid, dan tanin yang berpotensi mendukung aktivitas biologis, termasuk aktivitas antioksidan (Handayani et al., 2018; Islam et al., 2024; Nurcholis et al., 2024; Zakaria et al., 2024). Pemanfaatan tanaman lokal seperti jeruju penting dilakukan untuk memperkuat pengembangan bahan

alam Indonesia sebagai kandidat sumber antioksidan alami.

Pada tingkat lokal, daun jeruju yang tumbuh di lingkungan berair masih perlu dikaji lebih lanjut, khususnya terkait kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan pada fraksi tertentu. Pelarut etanol 70% dipilih karena mampu menarik senyawa polar hingga semipolar, sedangkan fraksi etil asetat berpotensi memperkaya senyawa semipolar seperti sebagian flavonoid dan fenolik. Masalah inti penelitian ini adalah belum tersedianya data yang cukup mengenai kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan fraksi etil asetat dari ekstrak etanol 70% daun jeruju dengan metode DPPH.

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk menentukan kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan fraksi etil asetat dari ekstrak etanol 70% daun jeruju menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis dan uji peredaman radikal bebas DPPH.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium yang bertujuan menentukan kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan fraksi etil asetat dari ekstrak etanol 70% daun jeruju. Penelitian dilakukan di laboratorium farmasi bahan alam. Waktu penelitian disesuaikan dengan tahapan preparasi sampel, ekstraksi, fraksinasi, penetapan kadar flavonoid total, dan pengujian aktivitas antioksidan.

Populasi penelitian adalah tanaman jeruju (*Acanthus ilicifolius* L.) yang tumbuh di lingkungan berair atau kawasan pesisir. Sampel penelitian berupa daun jeruju yang telah dikeringkan, diserbukkan, diekstraksi dengan etanol 70%, kemudian difraksinasi menggunakan etil asetat. Teknik pengambilan sampel dilakukan secara purposive sampling berdasarkan kriteria daun yang utuh, tidak busuk, tidak mengalami kerusakan fisik berat, dan layak digunakan sebagai bahan simplisia.

Alat yang digunakan meliputi spektrofotometer UV-Vis, timbangan analitik, rotary evaporator, water bath, vortex, mikropipet, labu ukur, tabung reaksi, corong pisah, gelas ukur, erlenmeyer, beaker glass, dan alat gelas laboratorium lainnya. Bahan yang digunakan meliputi serbuk daun jeruju, etanol 70%, etil asetat, kuersetin, aluminium klorida, kalium asetat, akuades, dan larutan DPPH.

Kadar flavonoid total ditetapkan menggunakan metode kolorimetri aluminium klorida dengan kuersetin sebagai standar (Chang et al., 2020). Kurva baku kuersetin dibuat pada konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm dengan nilai absorbansi berturut-turut 0,114; 0,220; 0,319; 0,464; dan 0,552, sehingga diperoleh persamaan regresi $y = 0,056x + 0,0022$. Aktivitas antioksidan diuji menggunakan metode DPPH pada panjang gelombang 515 nm (Gulcin & Alwasel, 2023; Shraim et al., 2021). Sampel fraksi etil asetat diuji pada konsentrasi 60, 80, 100, dan 120 ppm, sedangkan absorbansi blanko DPPH adalah 1,886.

Kadar flavonoid total dihitung berdasarkan persamaan regresi kurva baku kuersetin dan dinyatakan sebagai mg quercetin equivalent per gram sampel (mg QE/g). Persen inhibisi DPPH dihitung berdasarkan perbandingan absorbansi blanko dan absorbansi sampel, sedangkan nilai IC₅₀ ditentukan dari persamaan regresi antara konsentrasi sampel dan persen inhibisi. Data hasil penelitian disajikan dalam bentuk tabel dan dijelaskan secara deskriptif kuantitatif.

HASIL

Kurva baku kuersetin menunjukkan hubungan linier antara konsentrasi dan absorbansi, sehingga dapat digunakan untuk menghitung kadar flavonoid total sampel. Berdasarkan hasil pengukuran, kadar flavonoid total pada tiga kali replikasi adalah 8,071 mg QE/g, 4,679 mg QE/g, dan 4,679 mg QE/g. Rerata kadar flavonoid total yang diperoleh adalah $5,810 \pm 1,959$ mg QE/g sebagaimana disajikan pada Tabel 1.

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

Replikasi	Absorbansi sampel	Konsentrasi ekuivalen kuersetin (ppm)	Kadar flavonoid total (mg QE/g)
1	0,043	0,807	8,071
2	0,024	0,468	4,679
3	0,024	0,468	4,679
Rata-rata $\pm$ SD			$5,810 \pm 1,959$ mg QE/g

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

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
60	1,266	32,874	80,572	Kuat
80	0,930	50,689		
100	0,631	66,543		
120	0,397	78,950		

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.

Berdasarkan Tabel 2, peningkatan konsentrasi sampel dari 60 ppm hingga 120 ppm diikuti oleh peningkatan persen inhibisi DPPH dari 32,874% menjadi 78,950%. Nilai IC₅₀ fraksi etil asetat ekstrak metanol daun jeruju adalah 80,572 ppm, sehingga aktivitas antioksidannya termasuk dalam kategori kuat.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan dua temuan penting, yaitu fraksi etil asetat dari ekstrak etanol 70% daun jeruju mengandung flavonoid total sebesar $5,810 \pm 1,959$ mg QE/g dan memiliki aktivitas antioksidan kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 80,572 ppm. Temuan ini menunjukkan bahwa senyawa bioaktif yang terdistribusi dalam fraksi etil asetat mampu berperan sebagai peredam radikal bebas. Nilai IC₅₀ yang lebih kecil menggambarkan kebutuhan konsentrasi sampel yang lebih rendah untuk menghambat 50% radikal DPPH, sehingga hasil penelitian ini mendukung potensi daun jeruju sebagai sumber antioksidan alami (Chang et al., 2020; Gulcin & Alwasel, 2023; Miličević, 2024; Shraim et al., 2021).

Penggunaan etanol 70% sebagai pelarut ekstraksi berperan penting karena pelarut hidroalkohol memiliki kemampuan menarik senyawa polar hingga semipolar. Senyawa seperti flavonoid, fenolik, dan tanin umumnya dapat terekstraksi dengan baik dalam sistem pelarut tersebut. Setelah ekstraksi, fraksinasi menggunakan etil asetat bertujuan memperkaya senyawa semipolar yang diduga berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan. Studi pada *Acanthus ilicifolius* menunjukkan bahwa jenis pelarut dan kondisi ekstraksi dapat memengaruhi kadar flavonoid serta kapasitas antioksidan yang diperoleh (Islam et al., 2024; Nurcholis et al., 2024).

Kadar flavonoid total pada penelitian ini menunjukkan bahwa fraksi etil asetat mengandung

flavonoid dalam jumlah terukur, meskipun variasi antarreplikasi masih terlihat dari nilai simpangan baku. Variasi tersebut dapat disebabkan oleh homogenitas larutan, ketelitian pemipetan, waktu inkubasi, kestabilan kompleks aluminium klorida-flavonoid, dan sensitivitas pembacaan spektrofotometri. Metode aluminium klorida banyak digunakan untuk memperkirakan kandungan flavonoid total, namun hasilnya tetap dipengaruhi oleh jenis flavonoid dominan dan gugus fungsi yang mampu membentuk kompleks dengan ion aluminium (Aryal et al., 2019; Chang et al., 2020).

Peningkatan persen inhibisi DPPH dari 32,874% pada 60 ppm menjadi 78,950% pada 120 ppm memperlihatkan adanya hubungan konsentrasi-respons. Pola ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi fraksi, semakin besar kemampuan sampel dalam mereduksi radikal DPPH. Secara teoritis, DPPH merupakan radikal stabil berwarna ungu yang akan mengalami penurunan absorbansi ketika menerima elektron atau atom hidrogen dari senyawa antioksidan (Gulcin & Alwasel, 2023; Shraim et al., 2021). Oleh sebab itu, peningkatan inhibisi dalam penelitian ini mengindikasikan keterlibatan senyawa aktif fraksi etil asetat dalam mekanisme donor elektron atau donor hidrogen.

Aktivitas antioksidan fraksi etil asetat tidak hanya ditentukan oleh jumlah flavonoid total, tetapi juga oleh struktur kimia senyawa yang terkandung di dalamnya. Flavonoid memiliki gugus hidroksil fenolik yang dapat mendonorkan hidrogen dan menstabilkan radikal bebas. Kajian mengenai mekanisme antioksidan flavonoid menjelaskan bahwa kemampuan tersebut berkaitan dengan proses transfer atom hidrogen, transfer elektron, serta stabilisasi radikal melalui sistem aromatik (Hassanpour & Doroudi, 2023; Miličević, 2024). Dengan demikian, fraksi yang mengandung flavonoid tertentu dapat

menunjukkan aktivitas kuat meskipun kadar flavonoid totalnya tidak terlalu tinggi.

Jika dibandingkan dengan penelitian serupa, hasil ini sejalan dengan laporan bahwa daun *Acanthus ilicifolius* mengandung metabolit sekunder seperti flavonoid, fenolik, alkaloid, dan glikosida, serta memiliki aktivitas antioksidan (Handayani et al., 2018; Islam et al., 2024; Nurcholis et al., 2024; Zakaria et al., 2024). Penelitian pada daun *A. ilicifolius* dari habitat perairan menunjukkan bahwa ekstrak etanol memiliki aktivitas peredaman DPPH yang tinggi dibanding beberapa pelarut lain (Islam et al., 2024). Selain itu, studi optimasi ekstraksi flavonoid *A. ilicifolius* menegaskan bahwa metode ekstraksi dan jenis pelarut menentukan kandungan flavonoid serta kapasitas antioksidan yang dihasilkan (Nurcholis et al., 2024).

Perbedaan hasil antarpelitian dapat dipengaruhi oleh lokasi tumbuh, salinitas, umur daun, waktu panen, metode pengeringan, ukuran serbuk, rasio pelarut terhadap sampel, lama ekstraksi, dan teknik fraksinasi. Tumbuhan mangrove seperti jeruju hidup pada kondisi lingkungan yang khas, sehingga tekanan lingkungan dapat memengaruhi biosintesis metabolit sekunder. Hal ini menjelaskan mengapa hasil kadar flavonoid maupun nilai IC₅₀ dapat berbeda meskipun menggunakan spesies tanaman yang sama (Islam et al., 2024; Nurcholis et al., 2024; Zakaria et al., 2024).

Kontribusi penelitian ini terletak pada penyediaan data mengenai kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan fraksi etil asetat dari ekstrak etanol 70% daun jeruju. Data ini dapat memperkaya informasi ilmiah tentang pemanfaatan tanaman mangrove lokal sebagai sumber bahan alam fungsional. Bagi masyarakat, hasil penelitian ini dapat menjadi dasar awal pengembangan jeruju sebagai kandidat bahan baku antioksidan alami, meskipun pengembangan lebih lanjut tetap memerlukan standardisasi ekstrak, identifikasi senyawa aktif, pengujian keamanan, dan pembuktian aktivitas biologis pada sistem yang lebih kompleks.

Keterbatasan penelitian ini adalah belum dilakukannya identifikasi senyawa aktif secara spesifik, belum adanya pembanding antioksidan standar dalam penyajian hasil utama, serta belum dilakukan pengujian terhadap fraksi lain. Selain itu, uji DPPH merupakan uji *in vitro* berbasis sistem

kimia sederhana, sehingga belum dapat menggambarkan langsung aktivitas biologis di dalam tubuh. Penelitian lanjutan disarankan menggunakan metode antioksidan lain seperti ABTS, FRAP, CUPRAC, atau ORAC, disertai pemisahan senyawa dengan kromatografi dan identifikasi menggunakan HPLC atau LC-MS/MS (Gulcin & Alwasel, 2023; Shraim et al., 2021).

SIMPULAN

Fraksi etil asetat dari ekstrak etanol 70% daun jeruju (*Acanthus ilicifolius* L.) terbukti mengandung flavonoid total dengan rerata $5,810 \pm 1,959$ mg QE/g. Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH menunjukkan peningkatan persen inhibisi seiring kenaikan konsentrasi sampel, dengan nilai IC₅₀ sebesar 80,572 ppm. Berdasarkan nilai tersebut, fraksi etil asetat dari ekstrak etanol 70% daun jeruju termasuk kategori antioksidan kuat. Temuan ini menunjukkan bahwa daun jeruju berpotensi sebagai sumber antioksidan alami dan dapat dikembangkan sebagai bahan alam fungsional. Penelitian lanjutan diperlukan untuk mengidentifikasi senyawa aktif, membandingkan aktivitas antarfraksi, melakukan standardisasi ekstrak, serta menguji keamanan dan aktivitas biologis menggunakan metode antioksidan lain atau model pengujian yang 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>
- Chang, C.-C., Yang, M.-H., Wen, H.-M., & Chern, J.-C. (2020). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colometric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3). <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748>
- Gulcin, İ., & Alwasel, S. H. (2023). DPPH Radical Scavenging Assay. *Processes*, 11(8), 2248. <https://doi.org/10.3390/pr11082248>
- Handayani, S., Najib, A., & Wati, N. P. (2018). UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN DARUJU (*Acanthus ilicifolius* L.) DENGAN METODE PEREDAMAN

- RADIKAL BEBAS 1,1-DIPHENYIL-2-PICRYLHIDRAZIL (DPPH). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 5(2), 299–308. <https://doi.org/10.33096/jffi.v5i2.414>
- Hassanpour, S. H., & Doroudi, A. (2023). Review of the antioxidant potential of flavonoids as a subgroup of polyphenols and partial substitute for synthetic antioxidants. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 13(4), 354–376. <https://doi.org/10.22038/AJP.2023.21774>
- 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>
- Miličević, A. (2024). Flavonoid Oxidation Potentials and Antioxidant Activities-Theoretical Models Based on Oxidation Mechanisms and Related Changes in Electronic Structure. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(9), 5011. <https://doi.org/10.3390/ijms25095011>
- Nurcholis, W., Septiawati, I. Z., Najmi, L., Sutandy, F. A., Febrian, L., Fitriarsi, 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.
- Shraim, A. M., Ahmed, T. A., Rahman, M. M., & Hijji, Y. M. (2021). Determination of total flavonoid content by aluminum chloride assay: A critical evaluation. *LWT*, 150, 111932. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111932>
- 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.