

PENETAPAN KADAR FLAVONOID DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN ESKTRAK ETANOL DAUN BANGKAL (*Nauclea subdita* (Korth) MENGUNAKAN SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

Annisa Ulfah^{1)*}, Kunti Nastiti²⁾, Darini Kurniawati³⁾, Ali Rakhman Hakim⁴⁾

^{1,2} Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Kesehatan, Universitas Sari Mulia, Banjarmasin, Kalimantan Selatan, Indonesia

^{3,4} Program Studi Pendidikan Profesi Apoteker, Fakultas Kesehatan, Universitas Sari Mulia, Banjarmasin, Kalimantan Selatan, Indonesia.

Info Artikel

Submitted: 09-10-2024

Revised: 29-10-2024

Accepted: 20-11-2024

*Corresponding author
Annisa Ulfah

Email:
annisaulfah27@gmail.com

DOI:10.33859/jpcs.v5i1.650

ABSTRAK

Latar belakang: Salah satu tanaman khas Kalimantan yang dapat dijadikan sebagai sumber pengobatan dan dapat dijadikan sebagai bahan herbal adalah Tanaman Bangkal. Pada bagian daunnya terdapat berbagai senyawa seperti alkaloid, steroid, tanin dan flavonoid. Senyawa yang mempunyai efek farmakologi kuat dan mempunyai peran sebagai antioksidan adalah senyawa flavonoid

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar flavonoid dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol Daun Bangkal (*Nauclea subdita* (Korth).

Metode: Penelitian ini menggunakan metode ekstraksi menggunakan pelarut etanol 70% dan dilakukan perendaman selama 3 × 24 jam, ekstrak kental yang dihasilkan dilakukan uji kualitatif dengan identifikasi senyawa metabolit dan uji kuantitatif dengan penetapan kadar flavonoid serta aktivitas antioksidan.

Hasil: Hasil identifikasi senyawa metabolit menggunakan pereaksi warna didapatkan ekstrak etanol Daun Bangkal (*Nauclea subdita* (Korth) mengandung senyawa alkaloid, steroid, tanin dan flavonoid. Kadar flavonoidnya sebesar 9,524 mgQE/g. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol Daun Bangkal (*Nauclea subdita* (Korth) menunjukkan nilai IC50 sebesar 3,424 ppm.

Kesimpulan: Ekstrak etanol Daun Bangkal (*Nauclea subdita* (Korth) mengandung senyawa alkaloid, steroid, tanin dan flavonoid. Kadar flavonoid sebesar 9,524 mgQE/g dan aktivitas antioksidannya masuk dalam kategori sangat kuat.

Kata Kunci: Antioksidan, Daun Bangkal (*Nauclea subdita* (Korth), DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), Kadar Flavonoid, Skrining Fitokimia

ABSTRACT

Background: One of the typical Kalimantan plants that can be used as a source of medicine and can be used as an herbal ingredient is the Bangkal Plant. On the leaves there are various compounds such as alkaloids, steroids, tannins and flavonoids. Compounds that have a strong pharmacological effect and have a role as an antioxidant are flavonoid compounds.

Objective: This study aims to determine the levels of flavonoids and antioxidant activity of ethanol extract of Bangkal Leaf (*Nauclea subdita* (Korth).

Methods: This study uses an extraction method using 70% ethanol solvent and is soaked for 3 × 24 hours, the viscous extract produced is carried out a qualitative test with the identification of metabolite compounds and a quantitative test with the determination of flavonoid levels and antioxidant activity.

Results: The results of the identification of metabolite compounds using color

reagents obtained ethanol extract of Bangkal Leaf (*Nauclea subdita* (Korth) containing alkaloid compounds, steroids, tannins and flavonoids. The flavonoid level is 9.524 mgQE/g. The antioxidant activity of ethanol extract of Bangkal Leaf (*Nauclea subdita* (Korth) showed an IC50 value of 3.424 ppm.

Conclusion: Based on the results of research that has been carried out, public knowledge relates to the rational use drugs for toothache. The need for information and education related to the use of drugs for toothache rationally.

Keywords: Antioxidants, Bangkal Leaf (*Nauclea subdita* (Korth), DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), Flavonoid Levels, Phytochemical Screening

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki kekayaan alam yang sangat besar dan beranekaragam yang tersebar di seluruh pulau. Salah satu kekayaan alamnya adalah terdapat banyaknya tanaman yang memiliki ciri khas dari masing-masing daerah. Sebagian besar tanaman tersebut memiliki manfaat sebagai sumber pengobatan dan kosmetik, serta dapat digunakan sebagai bahan herbal terkait penggunaannya secara empiris maupun ilmiah (Wardhani & Akhyar, 2018).

Tanaman obat merupakan jenis tanaman yang dikenal mempunyai manfaat karena mengandung senyawa aktif hasil metabolisme sekunder tanaman, seperti senyawa flavonoid, terpenoid, alkaloid, dan fenol. Senyawa metabolit sekunder dipercaya mampu mengobati penyakit dan meningkatkan daya tahan tubuh sehingga kesehatan tubuh selalu terjaga. Tanaman khas Kalimantan yang dapat dijadikan sebagai obat salah satunya adalah Daun Bangkal (*Nauclea subdita* (Korth), pada masyarakat, Daun Bangkal (*Nauclea subdita* (Korth) dioleskan pada bagian tubuh seperti bisul atau tumor, dan daunnya direbus untuk mengobati sakit gigi dan diare (Maulana *et al.*, 2020). Kandungan pada Daun Bangkal (*Nauclea subdita* (Korth) terdiri dari polifenol, alkaloid, kuinon, dan flavonoid, yang masing-masing memiliki peran sebagai antioksidan. Salah satu senyawa yang mempunyai peran besar sebagai antioksidan dan mempunyai efek farmakologi yang kuat salah satunya adalah senyawa flavonoid karena dapat digunakan sebagai pengobatan dan sebagai kosmetik. Hal ini dikarenakan karena flavonoid memiliki beragam aktivitas seperti antioksidan, antiinflamasi, dan sifat antikarsinogenik (Khoirunnisa & Sumiwi, 2019).

Sebagai antioksidan, flavonoid bekerja dengan menangkap *Reactive Oxygen Species* secara langsung, menghentikan regenerasi *Reactive Oxygen Species*, dan mampu meningkatkan fungsi enzim antioksidan seluler secara tidak langsung (Yuliana *et al.*, 2023).

Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang banyak diisolasi dari tanaman karena sifatnya sebagai antikanker, antimikroba, dan antioksidan. Sebagai antioksidan, flavonoid mampu menangkal radikal bebas yang dapat merusak tubuh. Sehingga tanaman yang memiliki flavonoid memiliki potensi antioksidan yang baik (S. Dewi *et al.*, 2018).

Senyawa antioksidan merupakan substansi yang dibutuhkan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan sel normal, protein, dan lemak. Bagian tumbuhan seperti akar, batang, daun, bunga, buah, kulit, dan biji banyak mengandung antioksidan (Pratiwi *et al.*, 2023).

Spektrofotometri UV-Vis merupakan metode analisis untuk mendeteksi zat dengan menggunakan panjang gelombang UV dan Visible sebagai area serapan, yang digunakan untuk mengidentifikasi zat tunggal. Suatu antioksidan dapat diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis dimana alat tersebut terdiri dari sel pengabsorpsi untuk larutan blanko atau sampel, monokromator, sumber spektrum yang kontinu, serta alat untuk mengukur perbedaan absorpsi antara blanko dan sampel. Kelebihan spektrofotometri UV-Vis adalah dapat digunakan untuk menganalisis banyak zat organik maupun anorganik, mempunyai ketelitian tinggi dengan rentang kesalahan relatif 1% sampai 3%, dan hasilnya cukup akurat karena angka yang dibaca langsung oleh detector akan dicatat dan tercetak dalam bentuk angka digital, serta analisis dilakukan dengan cepat dan tepat (Rohmah *et al.*, 2021).

Berdasarkan uraian diatas maka peneliti ingin melakukan penelitian tentang Penetapan Kadar Flavonoid Dan Potensinya Sebagai Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Bangkal (*Nauclea subdita* (Korth) Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis.

METODE

Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini menggunakan metode observasional kualitatif untuk mengidentifikasi senyawa metabolit. Serta metode eksperimental laboratorium untuk menetapkan kadar flavonoid dan aktivitas antioksidan.

Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak etanol Daun Bangkal (*Nauclea subdita* (Korth)).

Alat dan Bahan

a. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah Tabung reaksi, pisau stainless, blender, oven, pipet ukur, pipet volume, pipet tetes, erlenmeyer, *rotary*, labu takar, alat-alat gelas.

b. Bahan

Bahan yang digunakan yaitu Daun Bangkal (*Nauclea subdita* (Korth), Etanol, Reagen Mayer, Reagen Dragendroff, Lieberman-Bouchard, aquadest, HCl 2 N, FeCl₃, serbuk magnesium, HCl pekat, NaOH 10 %, H₂SO₄ pekat, kuersetin, DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil*), AlCl₃.

Prosedur Kerja

Prosedur kerja pada penelitian ini yaitu :

a. Ekstraksi dan Maserasi

Sebanyak 334 gr simplisia kering Daun Bangkal (*Nauclea subdita* (Korth) dimasukkan dalam botol kaca, ditambahkan pelarut etanol sampai permukaan serbuk terendam dan dimaserasi selama 3×24 jam. Pengadukan dilakukan setiap hari untuk memastikan permukaan mengenai pelarut. Hasil maserasi disaring dan filtrat dipekatkan sampai menjadi kental kemudian diuapkan menggunakan cawan porselen pada *rotary* pada suhu 50°C dengan kecepatan 50 rpm.

b. Skrining Fitokimia

1. Uji alkaloid

Uji alkaloid dilakukan dengan menggunakan 2 tabung reaksi. Pada tabung 1 tambahkan 1 ml ekstrak Daun Bangkal (*Nauclea subdita* (Korth) dan beberapa tetes Reagen Mayer, jika terbentuk endapan putih maka menunjukkan adanya alkaloid. Pada tabung 2 tambahkan 1 ml

ekstrak Daun Bangkal (*Nauclea subdita* (Korth) dan tambahkan beberapa tetes Reagen Dragendroff, jika terbentuk endapan dan terjadi perubahan warna menjadi jingga maka menunjukkan adanya alkaloid (Novriyanti *et al.*, 2022).

2. Uji Terpenoid

Uji Terpenoid dilakukan dengan menambahkan 1 ml ekstrak dalam tabung reaksi dan ditambah pereaksi Lieberman-Bouchard, jika terbentuk cincin kecoklatan atau violet maka menunjukkan adanya terpenoid (Novriyanti *et al.*, 2022).

3. Uji Steroid

Uji Terpenoid dilakukan dengan menambahkan 1 ml ekstrak dalam tabung reaksi dan ditambah pereaksi Lieberman-Bouchard, jika terbentuk cincin biru kehijauan maka menunjukkan adanya steroid (Novriyanti *et al.*, 2022).

4. Uji Saponin

Uji saponin dilakukan dengan menambahkan 1 ml ekstrak dalam tabung reaksi dan ditambah 5 ml aquadest panas lalu dinginkan, campuran dikocok kuat kuat sampai berbuih dan diamkan beberapa saat. Tambahkan beberapa tetes HCl 2 N dan kocok lagi sampai berbuih yang bertahan selama 10 menit. Terbentuknya buih tersebut menunjukkan adanya saponin (Novriyanti *et al.*, 2022).

5. Uji Tanin

Uji Tanin dilakukan dengan menambahkan 1 ml ekstrak dalam tabung reaksi dan ditambah beberapa tetes pereaksi FeCl_3 . Terjadi perubahan warna menjadi biru atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin (Novriyanti *et al.*, 2022)

6. Uji Flavonoid

Uji flavonoid dilakukan dengan menambahkan 1 ml ekstrak dalam tabung reaksi dan ditambah serbuk Mg dan 5 tetes HCl pekat, jika terjadi perubahan menjadi warna jingga, merah, atau kuning maka menunjukkan adanya flavonoid (Novriyanti *et al.*, 2022).

Uji flavonoid dilakukan dengan menambahkan 1 ml ekstrak dalam tabung reaksi dan ditambah beberapa tetes NaOH 10 %, jika terjadi perubahan menjadi warna menjadi merah hingga kecoklatan, maka menunjukkan adanya flavonoid (Aribowo *et al.*, 2021).

Uji flavonoid dilakukan dengan menambahkan 1 ml ekstrak dalam tabung reaksi dan ditambah 2-4 tetes H_2SO_4 pekat jika terjadi perubahan warna dari kuning tua menjadi coklat, maka menunjukkan adanya flavonoid (Ferdinan & Rizki, 2021).

c. Penetapan Kadar Flavonoid

1. Pembuatan Larutan Induk

Sebanyak 10 mg kuersetin dilarutkan dengan etanol 70%, dimasukkan dalam labu ukur 100 ml, sehingga diperoleh konsentrasi 100 ppm (Ermadiningtyas, 2023). Pipet 2,5 ml larutan induk dan masukkan dalam labu ukur 25 ml, encerkan menggunakan etanol 70% sampai tanda batas hingga diperoleh konsentrasi 100 ppm (Ermadiningtyas, 2023)

2. Pembuatan Larutan Blanko

Pipet 2,5 ml AlCl_3 dalam labu ukur 50 ml, kemudian tambahkan 8 ml asam asetat 5%, tambahkan etanol 70% sampai tanda batas, gojog homogen (Ermadiningtyas, 2023).

3. Penetapan Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin

Pipet 1 ml larutan baku standar kuersetin 100 ppm, tambahkan 1 ml AlCl_3 10% dan 8 ml asam asetat 5%. Panjang gelombang kuersetin dapat ditentukan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 370-450 nm (Ermadiningtyas, 2023).

4. Operating Time

Pipet 1 ml larutan baku standar kuersetin 100 ppm, tambahkan 1 ml AlCl_3 10% dan 8 ml asam asetat 5%. Absorbansi ditentukan dengan Spektrofotometri UV-Vis pada panjang

gelombang yang didapatkan. Dengan selang waktu 2 menit sampai dengan 60 menit, sampai didapatkan absorbansi yang stabil (Ermadiningtyas, 2023).

5. Kurva Standar Kuersetin

Pembuatan kurva standar dilakukan dengan mengambil larutan baku standar 100 ppm sebanyak 0,5 ml; 1 ml; 1,5 ml; 2 ml, dan 2,5 ml, diencerkan dengan etanol 70% dalam labu ukur 25 ml, sampai konsentrasi yang didapatkan berturut-turut yaitu 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm (Ermadiningtyas, 2023).

Tiap konsentrasi dari kurva standar kuersetin dipipet 1 ml, dan tambahkan 1 ml $AlCl_3$ 10% dan 8 ml asam asetat 5%, diamkan selama *operating time*. Ukur absorbansinya menggunakan Spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang yang telah didapatkan (Ermadiningtyas, 2023).

6. Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Daun Bangkal (*Nauclea subdita* (Korth)).

Timbang 100 mg ekstrak etanol dan larutkan dengan etanol 70% sampai volumenya 100 ml, dipipet 1 ml dan tambahkan 1 ml $AlCl_3$ 10% dan 8 ml asam asetat 5%, didiamkan selama *operating time*. Absorbansi ditentukan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis (Ermadiningtyas, 2023).

d. Uji Aktivitas Antioksidan

1. Pembuatan Larutan DPPH

Timbang 5 mg DPPH masukkan dalam labu ukur 100 ml kemudian larutkan dengan etanol sampai tanda batas, ukur panjang gelombang maksimum DPPH (Nisa, 2023).

2. Penentuan Panjang Gelombang DPPH

Larutan DPPH diambil sebanyak 1 ml dan tambahkan etanol 70% dalam labu ukur 5 ml. Serapan larutan diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 400-800 nm (Susiloningrum & Mugita Sari, 2021).

3. Pembuatan Larutan Kuersetin

Timbang 10 mg kuersetin dan masukkan dalam labu ukur 100 ml, larutkan dengan etanol sampai tanda batas. Dari larutan induk 100 ppm dibuat variasi konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm, dengan cara larutan induk dipipet sebanyak 0,5 ml; 1 ml; 1,5 ml; 2 ml, dan 2,5 ml kemudian cukupkan sampai tanda batas (Nisa, 2023).

4. Pembuatan Ekstrak

Timbang 10 mg ekstrak kental dan masukkan dalam labu ukur 100 ml, larutkan dengan etanol 70% sampai tanda batas. Kemudian dibuat konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm (Nisa, 2023).

5. Operating Time

Operating time dilakukan dengan mereaksikan 4 ml baku pembanding kuersetin dan 4 ml larutan DPPH, homogenkan selama 1 menit dan ukur absorbansinya tiap 2 menit sampai dengan 60 menit pada panjang maksimal yang sudah diperoleh (Nisa, 2023).

6. Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH

Tiap sampel dengan berbagai konsentrasi dipipet sebanyak 4 ml dan dimasukkan dalam tabung reaksi, tambahkan 4 ml larutan DPPH. Kocok homogen dan diamkan selama 30 menit di tempat gelap, lalu ukur serapannya menggunakan Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang yang telah ditentukan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

a. Ekstrak Etanol Daun Bangkal (*Nauclea subdita* (Korth))

Sebanyak 334 gr simplisia kering direndam menggunakan etanol 70% selama 3×24 jam dan dikentalkan menggunakan *rotary* sehingga diperoleh ekstrak kental sebanyak 66,15 gr dengan %randemen ekstrak yang dihasilkan adalah 19,80%.

b. Skrining Fitokimia

Tabel 1. Hasil Uji Skrining Fitokimia

Senyawa	Pereaksi	Hasil	Deskripsi
Alkaloid	Reagen Mayer	+	Endapan Putih
	Reagen Dragendroff	+	Terbentuk endapan dan perubahan warna menjadi jingga
Terpenoid	Lieberman-Bouchard	-	Tidak terbentuk cincin kecoklatan atau violet
Steroid	Lieberman-Bouchard	+	Terbentuk cincin biru kehijauan
Saponin	Aquadest panas + HCl 2N	+	Terbentuknya buih
Tanin	FeCl ₃	+	Perubahan warna jadi biru atau hijau kehitaman
	Serbuk Mg + HCl+ Pekat	+	Perubahan warna jadi jingga, merah, atau kuning
Flavonoid	NaOH 10%	+	Perubahan warna jadi merah hingga kecoklatan
	H ₂ SO ₄	+	Perubahan warna dari kuning tua menjadi coklat

Keterangan

- Simbol positif (+) menunjukkan hasil reaksi dari penelitian yang dilakukan sesuai dengan literatur.
- Simbol negatif (-) menunjukkan hasil reaksi dari penelitian yang dilakukan tidak sesuai dengan literatur.

c. Penetapan Kadar Flavonoid

Tabel 2. Hasil Penetapan Kadar Flavonoid

Sampel	Absorbansi	Rata-rata absorbansi	Regresi linear	Kadar Flavonoid (TFC)
Replikasi 1	0,058	0.059	$y = 0,0061x + 0,0009$	9,524 mgQE/g
Replikasi 2	0,059			
Replikasi 3	0,060		$R^2 = 0,9285$	

d. Aktivitas Antioksidan

Tabel 3. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Rata-rata absorbansi	%Inhibisi	Persamaan regresi linear	IC50
Ekstrak Daun Bangkal	2	0,128	43,85	$y = 5.176x + 32.274$ $R^2 = 0.9814$	3,424 ppm
	4	0,115	49,56		
	6	0,079	65,35		
	8	0,057	75		
	10	0,039	82,89		
Kuersetin	2	0,160	29,82	$y = 6,9515x + 23,199$ $R^2 = 0,916$	3,855 ppm
	4	0,102	55,26		
	6	0,066	71,05		
	8	0,039	82,89		
	10	0,033	85,52		

Pembahasan

Penelitian menggunakan Tanaman Bangkal dimana bagian tanaman yang digunakan adalah daunnya yang sudah dilakukan determinasi di Laboratorium FMIPA Universitas Lambung Mangkurat Banjarbaru. Simplisia adalah tumbuhan obat yang belum diolah dengan cara apapun selain proses pengeringan (Kusuma *et al.*, 2023). Daun Bangkal (*Nauclea subdita* (Korth) yang sudah dikeringkan kemudian dihaluskan dan didapatkan simplisia kering seberat 334 gram dan diekstraksi menggunakan pelarut etanol 70% menggunakan metode maserasi selama 3×24 jam. Pelarut etanol 70% digunakan dalam proses ekstraksi karena etanol 70% memiliki sifat lebih non polar dibandingkan etanol 50% dan lebih polar dibandingkan dengan etanol 96%. Hal ini membuat senyawa flavonoid yang sifatnya polar akan cenderung lebih banyak terlarut dalam etanol 70% (Riwanti *et al.*, 2020).

Hasil ekstraksi kemudian dikentalkan menggunakan *rotary* pada kecepatan putaran 50 rpm dan suhu 50°C. Tujuan pengentalan menggunakan *rotary evaporator* adalah untuk memisahkan pelarut dari ekstrak sehingga didapatkan ekstrak kental. Pada penelitian ini didapatkan hasil 66.15 gram dengan persenan rendemen sebesar 19.80%. Kandungan senyawa aktif dapat dilihat dari besarnya rendemen yang dihasilkan. Rendemen dikatakan baik jika nilainya lebih dari 10% (Farmakope Herbal Indonesia, 2017).

Pada analisis kualitatif dengan identifikasi senyawa metabolit pada Tabel 1 didapatkan hasil uji metabolit sekunder pada ekstrak Daun Bangkal (*Nauclea subdita* (Korth) dengan pelarut etanol 70% positif mengandung senyawa alkaloid, steroid, saponin, tanin, dan flavonoid.

Pada uji alkaloid, ekstrak Daun Bangkal (*Nauclea subdita* (Korth) didapatkan hasil positif alkaloid karena terbentuk endapan pada kedua pereaksi. Hasil positif kandungan alkaloid dalam ekstrak Daun Bangkal (*Nauclea subdita* (Korth) ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih pada uji mayer, hal ini disebabkan karena pereaksi mayer dan alkaloid berikatan melalui ikatan koordinasi antara atom N pada alkaloid dengan Hg dari pereaksi mayer, sehingga membentuk senyawa kompleks merkuri non polar yang mengendap berwarna putih kekuningan. Sedangkan ekstrak Daun Bangkal (*Nauclea subdita* (Korth) yang ditambahkan dengan pereaksi dragendorff menghasilkan endapan warna jingga yang menunjukkan adanya kalium alkaloid. Dalam uji alkaloid dengan pereaksi Dragendorff, nitrogen berikatan kovalen koordinasi dengan K⁺, yang merupakan ion logam (Nurjannah *et al.*, 2022).

Pada uji terpenoid steroid dengan pereaksi Lieberman-Bouchard, didapatkan hasil negatif pada uji terpenoid karena tidak terbentuknya cincin kecoklatan atau violet. Sedangkan pada uji steroid menunjukkan hasil positif karena terbentuk cincin biru kehijauan. Hal ini disebabkan karena senyawa terpenoid dan steroid akan menghasilkan warna ketika bereaksi dengan H₂SO₄ dalam pelarut asam asetat anhidrid. Perbedaan warna yang muncul pada pengujian terpenoid dan steroid disebabkan oleh perbedaan gugus yang terletak pada R₁, R₂, dan R₃ (Fadlilaturrahmah *et al.*, 2023).

Pada uji saponin didapatkan hasil positif saponin yang ditandai dengan tidak hilangnya buih setelah ditambahkan HCl 2N. Adanya busa menunjukkan bahwa glikosida memiliki kemampuan untuk membentuk buih dalam air yang kemudian terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lain. Penambahan HCl dapat meningkatkan kepolaran senyawa saponin. Busa yang terbentuk pada kondisi ini menunjukkan adanya senyawa saponin pada ekstrak (Putri & Lubis, 2020).

Pada uji tanin didapatkan hasil positif tanin. Hal ini disebabkan karena terjadinya proses pembentukan senyawa kompleks antara Fe dan tanin, dimana ion Fe³⁺ bertindak sebagai atom pusat sementara tanin yang mempunyai atom O dengan elektron bebas mengkoordinasikan ke atom pusat sebagai liganannya (Lailatul Qodri, 2023).

Pada uji flavonoid didapatkan hasil positif pada ke tiga tabung yang di ujikan dengan masing-masing pereaksi. Penambahan serbuk Mg dan HCl pekat pada uji reaksi warna untuk senyawa flavonoid bertujuan untuk mereduksi inti benzopiron pada struktur flavonoid sehingga membentuk garam flavilium. Penambahan HCl mengakibatkan terjadinya reaksi oksidasi reduksi antara logam Mg sebagai pereduksi dengan senyawa flavonoid (I. Dewi *et al.*, 2021). enambahan NaOH 10% pada uji flavonoid ini berfungsi sebagai katalis basa yang menyebabkan senyawa flavonoid terurai dan membentuk molekul astofenon berwarna merah hingga coklat (Oktaria & Marpaung, 2023). Penambahan H₂SO₄ pada uji flavonoid bertujuan untuk menghasilkan senyawa flavonoid (pembentukan garam flavilium) yang ditandai dengan warna merah pada sampel. Hal ini menunjukkan adanya reaksi oksidasi reduksi antara H₂SO₄ dan flavonoid yang menghasilkan senyawa kompleks yang ditandai dengan warna merah sampai coklat kehitaman pada sampel (Suharyanto & Prima, 2020).

Pada uji kuantitatif dilakukan dengan menetapkan kadar flavonoid pada ekstrak Daun Bangkal (*Nauclea subdita* (Korth) menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Dilakukan pengukuran panjang gelombang maksimum dengan mengukur larutan baku kuersetin 100 ppm pada panjang gelombang 370 – 450 nm dan diperoleh hasil panjang gelombang maksimumnya 411 nm. Kemudian penentuan *operating time* dilakukan menggunakan larutan baku kuerstin 100 ppm dengan interval waktu 2 menit selama 60 menit, waktu *operating time* diperoleh yaitu pada menit ke 42.

Tahapan selanjutnya adalah penentuan kurva baku standar kuersetin dengan konsentrasi 2; 4; 6; 8; dan 10 ppm, dari pengukuran peroleh persamaan linier $y = bx + a$, dengan nilai $b = 0,0061x - 0,0009$ dan nilai koefisien kolerasi (r) sebesar 0,9285. Kemudian diperoleh nilai kadar flavonoidnya sebesar 9,524 mgQE/g.

Dilakukan pengujian kuantitatif untuk mengukur aktivitas antioksidan pada ekstrak Daun Bangkal (*Nauclea subdita* (Korth). Pengukuran dilakukan pada panjang gelombang maksimum DPPH menggunakan spektrofotometri dengan rentang 400-800 nm dan diperoleh hasil panjang gelombang maksimum sebesar 512 nm. Dilanjutkan dengan dilakukan penentuan *operating time* Pengukuran dilakukan setiap selang waktu 2 menit sampai 60 menit dan didapatkan waktu yang stabil di menit ke 34.

Dilanjutkan dengan pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Metode ini adalah metode yang paling umum digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan dan juga merupakan metode yang sederhana, cepat serta, akurat untuk mengukur aktivitas antioksidan pada senyawa tertentu atau ekstrak tanaman (Hasti & Makbul, 2022).

Dilakukan penentuan nilai IC₅₀ dengan menggunakan pembanding kuersetin, penggunaan kuersetin sebagai pembanding dikarenakan kuersetin termasuk dalam golongan flavonoid yang memiliki berbagai aktivitas biologis dan kemampuannya yang kuat dalam menangkap radikal bebas (Hasanah *et al.*, 2023). Pada Tabel 3 menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi sampel yang digunakan maka persen inhibisinya juga semakin besar. Semakin besar aktivitas peredaman radikal DPPH maka konsentrasi sisa DPPH semakin kecil, sehingga nilai absorbansi yang dihasilkan semakin menurun (Fatmawati *et al.*, 2023).

Penentuan nilai IC₅₀ ekstrak Daun Bangkal (*Nauclea subdita* (Korth) diperoleh persamaan regrasi antara konsentrasi ekstrak etanol Daun Bangkal (*Nauclea subdita* (Korth) dengan persentase inhibisi pada yaitu $y = 5,176x + 32,274$ dengan nilai koefisien kolerasi (r) 0,9814. Nilai IC₅₀ yang diperoleh yaitu sebesar 3,424 ppm, sehingga dapat dikatakan masuk dalam kategori aktivitas antioksidan yang sangat kuat.

Pada hasil analisis regresi linier antar konsentrasi kuersetin dengan persentase inhibisi yang diperoleh, didapatkan persamaan $y = 6,9515x + 23,199$ dengan nilai koefisien kolerasi (r)

0,916. Nilai IC50 pembanding kuersetin diperoleh dengan memasukkan nilai 50 aktivitas inhibisi ke dalam persamaan regresi linear $y = bx + a$, dimana nilai nilai $y = 50$. Nilai IC50 yang didapatkan yaitu sebesar 3,855 ppm, sehingga dapat dikatakan masuk dalam kategori aktivitas antioksidan yang sangat kuat.

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak Daun Bangkal (*Nauclea subdita* (Korth) menggunakan pelarut etanol 70%. Hasil analisis kualitatif dengan identifikasi warna menunjukkan hasil bahwa sampel positif mengandung senyawa alkaloid, steroid, tanin dan flavonoid. Hasil analisis kuantitatif penentuan kadar flavonoid menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis didapatkan hasil kadar sebesar 9,524 mgQE/g, serta hasil aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol Daun Bangkal (*Nauclea subdita* (Korth) dengan nilai IC50 sebesar 3,424 ppm dan pada senyawa kuersetin memiliki nilai IC50 sebesar 3,855 ppm, yang mana dari kedua sampel tersebut dapat dikategorikan memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada tim penulis yang telah memberikan waktu dan tenaga dalam penyelesaian penulisan artikel ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Aribowo, A., Lubis, C., Urbaningrum, L., Rahmawati, D., & Anggraini, S. (2021). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid pada Tanaman. *Jurnal Health Sains*, 2(6).
- Dewi, I., Saptawati, T., & Rachma, F. (2021). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit dan Biji Terong Belanda (*Solanum betaceum* Cav.) Phytochemical Screening of Tamarillo Peel and Seeds Ethanol Extracts (*Solanum Betaceum* Cav.). *Prosiding Seminar Nasional UNIMUS*, 1210-1218.
- Dewi, S., Ulya, N., & Argo, B. (2018). Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak *Pleurotus ostreatus*. *Rona Teknik Pertanian*, 11(1), 1-10. <https://doi.org/10.17969/rtp.v11i1.9571>
- Ermadiningtyas, R. (2023). *Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi n-Heksan Daun Benalu (Dendrothea pentandra (L.) Miq) Dengan Metode Frap (Ferric Reducing Antioxidant Power) Serta Penetapan Kadar Flavonoid Total*. Universitas Sari Mulia Banjarmasin.
- Fadlilaturrahmah, Ramadhani, R., Normaidah, Rahmah, A., Hadiastuti, A. D., & Khairunnisa, A. (2023). Uji Skrining Fitokimia dan Aktivitas Tabir Surya Etanol Daun Bangkal (*Nauclea subdita* (Korth.) Steud.). *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 5(5), 701-707.
- Fatmawati, I. S., Haeruddin, & Mulyana, W. O. (2023). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etil Asetat Daun Belimbing Wuluh (*Aveerrhoa bilimbi* L.) dengan Metode DPPH. *SAINS: Jurnal Kimia Dan Pendidikan Kimia*, 12(1), 41-49. <http://sains.uho.ac.id/index.php/journal>
- Ferdinan, A., & Rizki, F. (2021). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol Pandan Hutan Jenis Baru *Freycinetia sessiliflora* Rizky. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 4(1), 1-6. <https://doi.org/10.36387/jifi.v4i1.642>
- Hasanah, N., Dahlia, A. A., & Handayani, V. (2023). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kedondong Laut (*Nothopanax fruticosum* (L.) Miq) Dengan Metode Peredaman Radikal <https://ejurnal.unism.ac.id/index.php/jpcs>

Bebas DPPH. *Makassar Natural Product Journal*, 1(2), 10–17.

- Hasti, S., & Makbul, R. (2022). Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Etanol Kulit Batang Sukun (*Artocarpus altilis* (Parkinson ex F.A.Zom) Fosberg. *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia*, 11(2), 23–29. <https://doi.org/10.51887/jpfi.v11i2.1739>
- Khoirunnisa, I., & Sumiwi, S. A. (2019). Review Artikel: Peran Flavonoid Pada Berbagai Aktifitas Farmakologi. *Farmaka*, 17(2), 131–142. <https://jurnal.unpad.ac.id/farmaka/article/view/21922>
- Kusuma, I. A., Nur'Aini, E., Nugraha, M. S., & Kurnia, I. (2023). Inventory of Simplisia of Medicinal Plants Traded in Bogor Traditional Market. *Jurnal Biologi Tropis*, 23(3), 155–163. <https://doi.org/10.29303/jbt.v23i3.4922>
- Lailatul Qodri, U. (2023). Analisis Fitokimia Dan Penentuan Kadar Fenolik Total Pada Ekstrak Etanol Tebu Merah Dan Tebu Hijau (*Saccharum Officinarum* L.) Phytochemical Analysis and Determination of Total Phenolic Content in Ethanol Extract of Red Sugar Cane and Green Sugar Cane (*Sac*. *Jurnal Farmasi Tinctura*, 4(2), 91–102.
- Maulana, S., Dharmawan, M. R., Pratiwi, W., & Yuwindry, I. (2020). Narrative Review: Ekstrak Daun Bangkal (*Nauclea subdita*. Merr) Terhadap Paru-Paru Hewan Uji yang Terpapar Polusi Udara Akibat Kebakaran Hutan. ... *Care and Sciences*, 1(1), 62–69. <https://ejurnal.unism.ac.id/index.php/jpcs/article/download/39/13>
- Nisa, M. (2023). *Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Batang Ciplukan (Physalis angulata) Dengan Metode DPPH*. Universitas Sari Mulia Banjarmasin.
- Novriyanti, R., Putri, N., & Rijai, L. (2022). Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Menggunakan Metode DPPH. *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 27–29.
- Nurjannah, I., Aprilia Mustariani, B. A., & Suryani, N. (2022). Skrining Fitokimia dan Uji Antibakteri Ekstrak Kombinasi Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) dan Kelor (*Moringa oleifera* L.) Sebagai Zat Aktif Pada Sabun Antibakteri. *Jurnal Kimia & Pendidikan Kimia*, 4(100), 23–36. <https://doi.org/10.20414/spin.v4i1.4801>
- Oktaria, D., & Marpaung, M. P. (2023). Penetapan Kadar Flavonoid Total Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Akar Nipah (*Nypa fruticans* Wurmb) Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Lantanida Journal*, 11(1), 36. <https://doi.org/10.22373/lj.v11i1.16087>
- Pratiwi, A. H., Yusran, Islawati, & Artati. (2023). Analisis Kadar Antioksidan Pada Ekstrak Daun Binahong Hijau *Anredera cordifolia* (Ten.). *Bioma : Jurnal Biologi Makassar*, 8 (2)(August 2022), 66–74. <https://journal.unhas.ac.id/index.php/bioma>
- Putri, D. M., & Lubis, S. S. (2020). Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Daun Kalayu (*Erioglossum rubiginosum* (Roxb.) Blum). *Amina*, 2 (3)(3), 120–125.
- Riwanti, P., Izazih, F., & Amaliyah. (2020). Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Etanol pada Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 50,70 dan 96%. *Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika*, 2(2), 82–95.
- Rohmah, S., Muadifah, A., & Martha, R. (2021). Validasi Metode Penetapan Kadar Pengawet Natrium Benzoat pada Sari Kedelai di Beberapa Kecamatan di Kabupaten Tulungagung Menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 3(2), 120–127. <https://doi.org/10.25026/jsk.v3i2.265>
- <https://ejurnal.unism.ac.id/index.php/jpcs>

- Suharyanto, S., & Prima, D. A. N. (2020). Penetapan Kadar Flavonoid Total pada Juice Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea Batatas L.*) yang Berpotensi Sebagai Hepatoprotektor dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 4(2), 110–119. <https://doi.org/10.31596/cjp.v4i2.89>
- Susiloningrum, D., & Mugita Sari, D. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan Dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Temu Mangga (*Curcuma Mangga Valetton & Zijp*) Dengan Variasi Konsentrasi Pelarut. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 5(2), 117–127. <https://doi.org/10.31596/cjp.v5i2.148>
- Wardhani, & Akhyar, O. (2018). Skrining Fitokimia, Uji Aktivitas Antioksidan Dan Antibakteri *Propionibacterium acnes* Ekstrak Etanol Kulit Batang Dan Daun Tanaman Bangkal (*Nuclea subdita*). *Journal Sains Dan Serapan Kimia*, 12, 64–75. <https://ppjp.ulm.ac.id/journal/index.php/jstk/article/view/4956>
- Yuliana, B., Hasan, T., Habar, A., & Suleman, A. W. (2023). *Formulasi Dan Uji Antioksidan Krim Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (Averrhoa bilim L.) Menggunakan Metode DPPH*. 8(3), 1229–1240.