

doi DOI : 10.35311/jmpi.v10i2.554

Uji Aktivitas Antioksidan, Kadar Flavonoid, dan Fenolik Total Ekstrak dan Fraksi Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.)

Rully Mukti Nainggolan, Mamik Ponco Rahayu, Endang Sri Rejeki*

Universitas Setia Budi Surakarta

Sitasi: Nainggolan, R. M., Rahayu, M. P., & Rejeki, E. S. (2024). Uji Aktivitas Antioksidan, Kadar Flavonoid, dan Fenolik Total Ekstrak dan Fraksi Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.). *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 10(2), 397-410.
<https://doi.org/10.35311/jmpi.v10i2.554>

Submitted: 20 Juli 2024

Accepted: 12 Oktober 2024

Published: 21 Desember 2024

*Penulis Korespondensi:

Endang Sri Rejeki

Email:

endangsrirejeki78@gmail.com



Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

ABSTRAK

Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.) merupakan suatu tanaman yang mengandung senyawa metabolit sekunder berupa fenolik dan flavonoid. Senyawa tersebut berpotensi sebagai antioksidan alami untuk mencegah terjadinya penyakit degeneratif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan, kadar flavonoid, dan fenolik total pada ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air daun Asam Jawa. Daun Asam Jawa diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%, kemudian difraksinasi. Ekstrak dan fraksi daun Asam Jawa diuji kandungan kimianya dengan metode reaksi tabung, diuji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH, ditetapkan kadar flavonoid totalnya dengan $AlCl_3$ menggunakan baku kuersetin, dan ditetapkan kadar fenolik totalnya menggunakan baku asam galat dengan alat instrumen spektrofotometri UV-Vis. Hasil menunjukkan bahwa fraksi etil asetat, ekstrak, fraksi air, dan *n*-heksan daun Asam Jawa memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} berturut-turut sebesar $27,27 \pm 1,02$; $44,53 \pm 0,8$; $47,04 \pm 1,30$; dan $306,61 \pm 2,23$ ppm, sedangkan baku kuersetin memiliki nilai IC_{50} sebesar $2,83 \pm 0,04$ ppm. Fraksi etil asetat, air, ekstrak etanol, dan fraksi *n*-heksan daun Asam Jawa memiliki kandungan flavonoid total berturut-turut sebesar $24,43 \pm 1,97$; $14,52 \pm 0,20$; $8,52 \pm 0,29$; dan $4,61 \pm 0,14$ QE mg/g, sedangkan fenolik totalnya sebesar $93,31 \pm 0,62$; $44,67 \pm 1,23$; $57,21 \pm 0,44$; dan $42,55 \pm 0,32$ GAE mg/g. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memiliki aktivitas antioksidan terkuat dengan kategori sangat kuat, serta memiliki kadar flavonoid dan fenolik total tertinggi dibandingkan dengan ekstrak dan fraksi lainnya.

Kata Kunci : Asam Jawa, Antioksidan, Flavonoid, Fenolik

ABSTRACT

Tamarind leaf (*Tamarindus indica* L.) is a plant that contains secondary metabolite compounds in the form of phenolics and flavonoids. These compounds have the potential as natural antioxidants to prevent degenerative diseases. This study aims to determine the antioxidant activity, flavonoid levels, and total phenolics in extracts, *n*-hexane, ethyl acetate and water fractions of tamarind leaves. Tamarind leaves were extracted using maceration method with 96% ethanol solvent, then fractionated. Extracts and fractions of tamarind leaves were tested for chemical content using the tube reaction method, tested for antioxidant activity using the DPPH method, determined the total flavonoid content with $AlCl_3$ using quercetin standard, and determined the total phenolic content using gallic acid standard with UV-Vis spectrophotometric instrument. The results showed that the extract, *n*-hexane fraction, ethyl acetate, and water of tamarind leaves had antioxidant activity with IC_{50} values of 44.53 ± 0.8 ; 306.61 ± 2.23 ; 27.27 ± 1.02 ; and 47.04 ± 1.30 ppm, respectively, while the standard quercetin had an IC_{50} value of 2.83 ± 0.04 ppm. The ethanol extract, *n*-hexane, ethyl acetate and water fractions of tamarind leaves have a total flavonoid content of 8.52 ± 0.29 ; 4.61 ± 0.14 ; 24.43 ± 1.97 and 14.52 ± 0.20 QE mg/g, respectively, while the total phenolic content is 57.21 ± 0.44 ; 42.55 ± 0.32 ; 93.31 ± 0.62 ; and 44.67 ± 1.23 GAE mg/g. The results of this study indicate that the ethyl acetate fraction has the strongest antioxidant activity with a very strong category, and has the highest flavonoid and total phenolic levels compared to other extracts and fractions.

Keywords : Tamarind, Antioxidant, Flavonoid, Phenolic

PENDAHULUAN

Belakangan ini banyak terjadi pergeseran pola penyakit, yaitu adanya peningkatan kematian

akibat penyakit degeneratif. Penyakit degeneratif merupakan suatu penyakit bersifat tidak menular yang timbul akibat terjadinya penurunan fungsi

organ tubuh atau proses lainnya (Dwisatyadini, 2017). Radikal bebas berperan penting sebagai penyebab munculnya penyakit degeneratif seperti hipertensi, gangguan syaraf, dan penyakit degeneratif lainnya (Salamah & Widayari, 2015).

Radikal bebas merupakan molekul atau senyawa yang tidak stabil karena molekul tersebut tidak memiliki pasangan elektron. Oleh karena itu, radikal bebas sangat reaktif dalam mencari pasangan elektron untuk mencapai reaksi yang stabil. Senyawa ini dapat menyerang molekul terdekat dan mengambil elektronnya, salah satu bagian tubuh manusia yang diserang yaitu jaringan tubuh seperti DNA dan protein sehingga dapat memicu suatu fenomena stres oksidatif yang dapat menyebabkan beragam penyakit degeneratif muncul (Yuslianti, 2018). Penyakit degeneratif termasuk penuaan dapat dicegah dengan konsumsi makanan yang banyak mengandung antioksidan (P. Ramadhan, 2015).

Antioksidan merupakan suatu senyawa yang dapat menangkal radikal bebas. Senyawa ini memiliki kemampuan untuk memberikan elektronnya kepada radikal bebas yang tidak stabil, sehingga memungkinkan radikal bebas untuk dinetralkan tanpa mengganggu proses metabolisme tubuh dan akhirnya reaksi radikal bebas dapat terhambat (Rahmi, 2017). Beberapa bahan alami asal Indonesia banyak mengandung antioksidan dengan bahan aktif yang berbeda-beda. Pemanfaatan bahan alami asal Indonesia sebagai antioksidan diperlukan untuk meningkatkan kualitas kesehatan masyarakat dengan biaya yang relatif lebih mudah didapatkan, murah dan terjangkau (Werdhasari, 2014).

Salah satu tanaman tradisional yang dapat digunakan sebagai antioksidan alami terdapat pada tanaman Asam Jawa. Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.) merupakan salah satu tumbuhan jenis tanaman tropis yang banyak tumbuh di Indonesia. Tanaman ini memiliki potensi sebagai antioksidan alami. Daun Asam Jawa dilaporkan memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder berupa fenolik, flavonoid, terpenoid, dan steroid (Husain *et al.*, 2022). Senyawa flavonoid dan fenol merupakan komponen yang memiliki aktivitas antioksidan dengan kemampuan meregenerasi oksigen aktif, karena pada cincin aromatik mengandung gugus hidroksil yang berperan sebagai donor elektron untuk menstabilkan dan meredam radikal bebas (Senet *et al.*, 2018).

Menurut hasil penelitian yang dilakukan oleh (Akmarina, 2018) terhadap ekstrak etanol daging buah, biji buah, dan daun asam jawa yang diuji aktivitas antioksidannya menggunakan metode DPPH menunjukkan nilai aktivitas antioksidan (IC₅₀) daun asam jawa sebesar 27,11 µg/ml. Hasil ini

menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun asam jawa memiliki aktivitas antioksidan kategori sangat kuat. Menurut Escalona-Arranz *et al.*, (2016) ekstrak daun asam jawa diklasifikasikan sebagai zat tidak beracun sehingga aman digunakan dan memiliki potensi untuk diteliti lebih lanjut.

Pada penelitian sebelumnya masih belum ada perkembangan lebih lanjut mengenai uji aktivitas antioksidan, penetapan kadar flavonoid dan fenolik total terhadap fraksi dari ekstrak daun Asam Jawa, serta pengamatan korelasi kedua senyawa tersebut terhadap aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh daun asam jawa tersebut. Hal inilah yang mendasari penulis untuk melakukan penelitian mengenai aktivitas antioksidan, kadar flavonoid, dan fenolik total terhadap fraksi daun Asam Jawa dengan menggunakan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%.

Maserasi merupakan metode ekstraksi yang banyak digunakan untuk menarik zat aktif dari sebuah bahan tanaman. Maserasi dipilih karena metode maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan yang dapat mengekstrak senyawa metabolit sekunder dengan baik dan dapat mencegah dekomposisi senyawa yang tidak stabil terhadap pemanasan (Budilaksono *et al.*, 2014). Etanol adalah pelarut yang digunakan dalam penelitian ini karena etanol merupakan pelarut universal yang dapat mengekstraksi dengan baik senyawa polar maupun nonpolar yang terkandung di dalam sampel tanaman yang diuji. Sifat etanol yang tidak toksik dan mudah menguap sehingga etanol cukup aman dan baik untuk digunakan sebagai pelarut dalam proses ekstraksi (G. A. R. Saputri *et al.*, 2022).

Menurut uraian di atas, maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian tentang uji aktivitas antioksidan terhadap fraksi *n*-heksana, etil asetat, air, dari ekstrak etanol 96% daun Asam Jawa dengan menggunakan metode DPPH dan melakukan penetapan kadar flavonoid dan fenolik total pada daun tanaman tersebut. Fraksinasi dilakukan dengan tujuan untuk mendapatkan senyawa aktif dengan menggunakan tingkat kepolaran pelarut yang berbeda, memisahkan komponen-komponen kimia yang mengganggu, serta mendapatkan fraksi ekstrak yang lebih murni dan memiliki aktivitas tertinggi.

Metode DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhidrazil) merupakan metode yang banyak dipilih sebagai metode pengujian aktivitas antioksidan karena penggunaannya yang sederhana, mudah, cepat, peka dan memerlukan sedikit sampel untuk mendeteksi aktivitas antioksidan bahan yang dianalisis (Masrifah; Nurdin Rahman; Paulus H Abram, 2017).

Pada pengujian kadar flavonoid total dilakukan dengan metode kolorimetri menggunakan pereaksi $AlCl_3$, sedangkan fenolik total ditetapkan dengan metode kolorimetri menggunakan pereaksi Folin Ciocalteu, dan baku standar berupa kuersetin dan asam galat yang diuji dengan alat spektrofotometri UV-Vis untuk mengukur serapan atau nilai absorbansinya. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui fraksi teraktif yang bertindak sebagai antioksidan daun Asam Jawa dan mengetahui kadar flavonoid dan fenolik total pada fraksi daun Asam Jawa tersebut.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah bejana maserasi, corong *buchner* dan *rotary evaporator*, oven, spektrofotometri UV-Vis, timbangan analitik, kuvet, labu ukur, *waterbath*, pipet volume, pipet ukur, kain flanel, alat penggiling, ayakan ukuran 40 mesh, kertas saring, spatula, aluminium foil, timbangan analitik gelas beaker, batang pengaduk, corong pisah, gelas ukur, dan alat gelas lainnya.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun asam jawa, *n*-heksana, etil asetat, etanol 96% teknis, etanol pro analisa, metanol pro analisa, kuersetin, aquades, HCl pekat, amil alkohol, larutan besi (III) klorida 10%, larutan besi (III) klorida 1%, $AlCl_3$ 10%, natrium asetat 1M, asam asetat anhidrat, asam sulfat pekat, serbuk magnesium, pereaksi mayer, pereaksi bouchardat, pereaksi dragendorf, dan DPPH dari Sigma.

Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman Asam Jawa atau Asam Jawa ini dilakukan di UPT Laboratorium Universitas Setia Budi. Hasil determinasi menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman Asam Jawa spesies *Tamarindus indica* L.

Pembuatan Ekstrak Daun Asam Jawa

Sebanyak 3,0 kg daun Asam Jawa dibuat² serbuk. Serbuk tamarin seberat 1000 gram dimaserasi menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 10 liter dikendam selama 6 jam pertama dengan sesekali diaduk, kemudian didiamkan selama 18 jam. Saring filtrat menggunakan kain flanel.

Ampas dilakukan remaserasi dengan menggunakan etanol 96% sebanyak 5 liter dengan perlakuan yang sama pada saat maserasi pertama. Maserat disaring kembali dengan kain flanel, lalu dikumpulkan dan uapkan pelarutnya dengan

menggunakan *vacuum rotary* evaporator suhu 40°C, dilanjutkan dengan *waterbath* suhu 60°C hingga diperoleh ekstrak kental (Depkes, 1989). Adapun % rendemen ekstrak dihitung berdasarkan persamaan berikut:

$$\frac{\text{Bobot ekstrak kental (gram)}}{\text{Bobot serbuk simplisia daun senggugu (gram)}} \times 100\%$$

Fraksinasi Daun Asam Jawa

Fraksinasi ekstrak daun Asam Jawa menggunakan ekstraksi cair-cair menggunakan alat corong pisah. Sebanyak 5 gram ekstrak daun Asam Jawa dilarutkan dalam 5 mL larutan etanol 96% sampai larut. Dimasukkan ke dalam corong pisah, ditambahkan 35 mL air yang kemudian difraksinasi dengan pelarut *n*-heksana 45 mL sebanyak 3 kali kemudian didapatkan fraksi *n*-heksana lalu dikumpulkan.

Fase air kemudian difraksinasi dengan pelarut etil asetat 45 mL sebanyak 3 kali, sehingga didapatkan fraksi etil asetat dan fraksi air kemudian dikumpulkan masing-masing fraksi ke dalam wadah kaca. Ketiga fraksi yang didapatkan kemudian dipekatkan dengan menggunakan *waterbath* pada suhu 60°C. Kemudian fraksi kental ditimbang dan disimpan dalam wadah yang tertutup pada suhu 4°C (Monica Sandy *et al.*, 2021).

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia terhadap ekstrak dan fraksi daun Asam Jawa meliputi pemeriksaan flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, dan steroid.

1. Pemeriksaan flavonoid

Ekstrak dan fraksi kental dari daun Asam Jawa masing-masing ditimbang sebanyak 50 mg dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian dilarutkan ke dalam 1 mL etanol 96% dikocok sampai larut, kemudian ditambah dengan sedikit serbuk Mg, ditambah 1 ml HCl pekat ke dalam campuran dan ditambah amil alkohol sebanyak 2 ml. Amati perubahan warna yang terbentuk. Reaksi dikatakan positif jika terbentuk warna kuning/jingga/merah pada campuran (Febriani *et al.*, 2022).

2. Pemeriksaan fenolik

Ekstrak dan fraksi dari daun Asam Jawa masing-masing ditimbang sebanyak 50 mg dan dilarutkan dalam etanol dan kemudian ekstrak tersebut dididihkan dengan air menggunakan penangas air. Selanjutnya, larutan tersebut disaring untuk memisahkan filtrat dan residu. Filtrat yang diperoleh kemudian ditambahkan tiga tetes $FeCl_3$ 1% ke dalam tabung reaksi berisi filtrat. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru tua atau hitam kehijauan yang terbentuk setelah penambahan $FeCl_3$ (Jati *et al.*, 2019).

Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH

Dibuat DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) 0,4 mM dengan etanol p.a dalam labu ukur 100 mL. Diencerkan DPPH 0,4 mM menjadi 0,2 mM dalam 50 ml larutan etanol p.a. Dibuat baku induk kuersetin dengan cara sebanyak 10 mg dan 80 mg sampel masing-masing dengan etanol p.a dalam labu ukur 10 ml. Didapatkan konsentrasi baku kuersetin sebesar 1000 ppm dan baku induk sampel dengan konsentrasi 8000 ppm, kemudian diencerkan untuk mendapatkan konsentrasi 1,2,3,4, dan 5 ppm untuk kuersetin dan 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm untuk ekstrak dan fraksi daun Asam Jawa, namun fraksi *n*-heksan menggunakan konsentrasi 100, 200, 300, 400, dan 500 ppm. Sebanyak 2,0 mL masing-masing kuersetin dan sampel, dimasukkan vial, ditambahkan 2,0 mL DPPH 0,2 mM.

Larutan kontrol yang digunakan adalah 2,0 ml DPPH ditambahkan 2,0 ml etanol p.a Campuran diinkubasi dalam ruang gelap selama *operating time*, kemudian absorbansinya diukur pada panjang gelombang 518,5 nm menggunakan spektrofotometer (Amalia *et al.*, 2023). Persentase aktivitas antoksidan dihitung menggunakan rumus % inhibisi DPPH :

$$\frac{\text{Absorbansi Kontrol}-\text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Kontrol}} \times 100\%$$

Penentuan nilai IC₅₀ didasarkan pada nilai persentase inhibisi yang diperoleh dari hasil serapan (larutan DPPH) sebelum dan setelah penambahan sampel, sehingga didapatkan nilai persamaan regresi linier dari kedua variabel tersebut (Sari *et al.*, 2021).

Metode Penetapan Kadar Flavonoid Total

Penetapan kadar flavonoid total dilakukan dengan menggunakan metode kolorimetri dengan pereaksi AlCl₃. Penentuan menggunakan kurva baku kuersetin dengan seri konsentrasi 25, 50, 75, 100, dan 125 ppm sehingga didapat persamaan regresi linear. Sampel dibuat pada konsentrasi 8000 ppm dengan pelarut etanol *pro analysis*. Sebanyak 0,5 ml, dimasukkan ke dalam wadah vial, ditambahkan 1,5 mL etanol p.a, 0,1 ml AlCl₃ 10%, 0,1 ml natrium asetat 1M, dan 2,8 ml akuades (Kemenkes RI, 2017).

Didiamkan larutan selama *operating time*. Larutan dimasukkan ke dalam kuvet kemudian dibaca serapannya pada panjang gelombang maksimum dengan spektrofotometer UV-Vis. Kadar flavonoid total dihitung menggunakan persamaan regresi linear dari kurva kalibrasi asam galat tersebut (Puspitasari & Sari, 2023).

Metode Penetapan Kadar Fenolik Total

Penetapan Kadar fenolik total dilakukan dengan menggunakan metode kolorimetri dengan reagen Folin-Ciocalteu. Penentuan menggunakan kurva baku dari asam galat dengan seri konsentrasi 30, 40, 50, 60, 70, dan 80 ppm sehingga didapat persamaan regresi linear ($y=ax+b$). Sampel dibuat pada konsentrasi 800 ppm dengan pelarut metanol *pro analysis*. Sebanyak 0,5 ml, ditambahkan 2,5 ml larutan Folin-Ciocalteu 7,5%, didiamkan selama 8 menit dalam vial. Larutan kemudian ditambahkan 2,0 ml NaOH 1%, diinkubasi selama *operating time* dan diukur pada panjang gelombang 400-800 nm (Kemenkes RI, 2017). Kadar Fenolik Ttotal dihitung menggunakan persamaan regresi linear dari kurva kalibrasi asam galat tersebut.

Analisis Data

Perhitungan nilai IC₅₀, kadar flavonoid, dan fenolic total menggunakan analisis regresi linear: $y=a+bx$ yang didapatkan dari hasil perhitungan menggunakan *Microsoft Excel*. Dimana sebagai absorbansi (y) dan konsentrasi dalam µg/ml (x). Korelasi kadar flavonoid dan fenolik total ekstrak dan fraksi daun Asam Jawa terhadap aktivitas antioksidan menggunakan metode *Pearson Correlation* dengan distribusi nilai r signifikansi 5% dan 1%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Daun Asam Jawa

Maserasi merupakan teknik ekstraksi dengan cara perendaman dimana zat yang sudah dihaluskan menjadi partikel kecil direndam dengan pelarut yang cocok serta dilakukan beberapa kali pengadukan atau penggojokan pada suhu ruang (Ditjen POM, 2000). Tujuan dilakukan pengadukan untuk meningkatkan kecepatan ekstraksi. Maserasi memiliki kelemahan yaitu itu membutuhkan waktu yang cukup lama. Ekstraksi secara menyeluruh juga dapat menyebabkan kehilangan banyak pelarut, serta mengakibatkan hilangnya metabolit berpotensi aktif.

Ekstraksi secara maserasi dilakukan pada suhu kamar (27°C), sehingga tidak merusak metabolit sekunder aktif yang tidak tahan terhadap panas (Nugroho, 2017). Hasil penetapan rendemen ekstrak daun Asam Jawa menunjukkan bahwa ekstrak yang diperoleh dari proses maserasi 1000 gram serbuk daun Asam Jawa yaitu sebesar 277 gram. Hasil perhitungan persentase kadar rendemen yang didapatkan sebesar 27,70%. Persentase rendemen tersebut telah memenuhi syarat ketentuan yang telah tertera pada Farmakope Herbal Indonesia (2017) yaitu tidak kurang dari 7,5%.

Fraksinasi Ekstrak Daun Asam Jawa

Fraksinasi adalah metode pemisahan suatu senyawa dengan golongan senyawa yang lain berdasarkan perbedaan kepolarannya. Senyawa-senyawa yang bersifat polar akan terlarut dalam pelarut polar dan senyawa-senyawa non polar akan terlarut dalam pelarut non polar.

Metode ini dilakukan dengan menggunakan tiga jenis pelarut yaitu *n*-heksana, etil asetat, dan air

yang tujuannya untuk memisahkan komponen-komponen senyawa aktif dari ekstrak yang telah dihasilkan dan mendapatkan senyawa yang diinginkan dalam jumlah besar dengan kemurnian yang lebih tinggi sehingga dapat menghasilkan senyawa aktif dengan aktivitas tertinggi. Pelarut *n*-heksana bersifat nonpolar, etil asetat bersifat semi polar, dan air bersifat polar.

Tabel 1. Perhitungan Rendemen Pembuatan Fraksi Daun Asam Jawa

No.	Fraksi	Bobot fraksi (gram)	% Rendemen
1	<i>n</i> -heksana	1,290	8,60%
2	etil asetat	3,072	20,48%
3	air	9,514	63,43%

Hasil fraksinasi menunjukkan bahwa jumlah rendemen fraksi air memiliki jumlah yang lebih besar yaitu sebesar 63,43% disusul oleh etil asetat dan *n*-heksana yang terkecil. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan Febrina *et al.*, (2016) terhadap jumlah rendemen fraksi *n*-heksan, etil asetat, air dari ekstrak etanol buah pandan laut yang menyatakan bahwa jumlah rendemen tertinggi terdapat pada fraksi air dengan persentase rendemen sebesar rendemen 86,69%.

Air termasuk jenis pelarut yang bersifat polar sehingga dapat diketahui bahwa senyawa yang terkandung dalam daun Asam Jawa mengandung lebih banyak senyawa bersifat polar. Senyawa yang

dapat tersari pada pelarut air kemungkinan berupa senyawa polifenol, glikosida flavonoid, saponin, gula, pati, zat warna, dan asam organik (Depkes RI, 1986) dan (Pratiwi & Pasca Siampa, 2023).

Identifikasi Senyawa Kimia

Identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak dan fraksi daun dilakukan dengan menggunakan reaksi warna pada tabung reaksi. Identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui senyawa kimia yang terkandung di dalam daun Asam Jawa yang diteliti. Uji yang dilakukan meliputi uji kandungan flavonoid dan fenolik.

Tabel 2. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak dan fraksi daun Asam Jawa

No.	Kandungan senyawa	Pereaksi	Hasil Pengamatan			
			Ekstrak	F. <i>n</i> -Heksana	F. Etil asetat	F. Air
1	Fenol	FeCl ₃	Terbentuk warna hitam	Warna hijau gelap (+)	Warna kehitaman (+)	Warna kehitaman (+)
2	Flavonoid	Serbuk Mg+HCl 2N+amil alcohol (Pereaksi Shinoda/Shibata/Wilstater)	Terbentuk warna jingga	Warna kuning kecoklatan (+)	Warna jingga pada lapisan amil (+)	Warna jingga pada lapisan amil (+)

Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia dari ekstrak daun Asam Jawa menunjukkan hasil positif mengandung senyawa fenol dan flavonoid, Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Febriani *et al.*, (2022) yang menunjukkan hasil positif bahwa ekstrak etanol 96% daun Asam Jawa mengandung senyawa flavonoid dan fenol pada pengujian menggunakan pereaksi FeCl₃ pada hasil skrining fenol dan pereaksi Pereaksi Shinoda/Shibata/Wilstater pada hasil skrining senyawa flavonoid.. Penelitian lain yang dilakukan oleh Husain *et al.*, (2022) yang menyatakan bahwa

ekstrak etanol daun Asam Jawa muda maupun daun asam jawa tua juga mengandung senyawa metabolit sekunder berupa fenolik dan flavonoid.

Hasil identifikasi fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air daun Asam Jawa menunjukkan hasil yang hampir sama dengan ekstrak yaitu mengandung senyawa flavonoid dan fenol. Kedua senyawa tersebut merupakan komponen utama yang berperan penting dalam menentukan tinggi rendahnya aktivitas antioksidan dalam suatu sampel. Flavonoid merupakan senyawa alami yang mengandung gugus hidroksil di dalam strukturnya

yang termasuk kedalam salah satu golongan senyawa polifenol.

Gugus hidroksi ini bertanggung jawab dalam khelasi unsur logam dan kapasitasnya mengikat radikal bebas. Senyawa tersebut dapat bereaksi dengan gugus O dan H-O, serta mampu mengkelat ion logam, sehingga dapat mengatur kestabilan unsur besi dan keadaan redoks dalam tubuh. Hal inilah yang mengakibatkan senyawa flavonoid mampu menstabilkan dan menurunkan reaktivitas senyawa radikal bebas. Senyawa flavonoid yang teridentifikasi berada dalam daun Asam Jawa dapat berupa senyawa *apigenin*, *orientin*, *vitexin*, *quercetin*, *isorhamnetin*, *catechin*, *epicatechin*, *luteolin* dan turunannya (Sookying *et al.*, 2022).

Uji fenol menggunakan pereaksi FeCl_3 yang menunjukkan hasil positif bila terbentuk perubahan warna menjadi kehitaman. Hal ini disebabkan oleh senyawa fenol yang mengandung gugus hidroksi dalam sampel bereaksi dengan FeCl_3 , dimana ion Fe^{3+} bereaksi dengan gugus keto pada senyawa fenolik akan membentuk senyawa kompleks berwarna kehitaman. Uji flavonoid dilakukan menggunakan serbuk Mg dan larutan HCl pekat.

Penambahan Mg dan HCl dilakukan pada ekstrak dan masing-masing fraksi daun Asam Jawa. Hasil menunjukkan terbentuknya warna kuning sampai jingga, hal ini menunjukkan bahwa sampel tersebut mengandung flavonoid. Penambahan Mg dan HCl pekat dapat mereduksi senyawa flavonoid

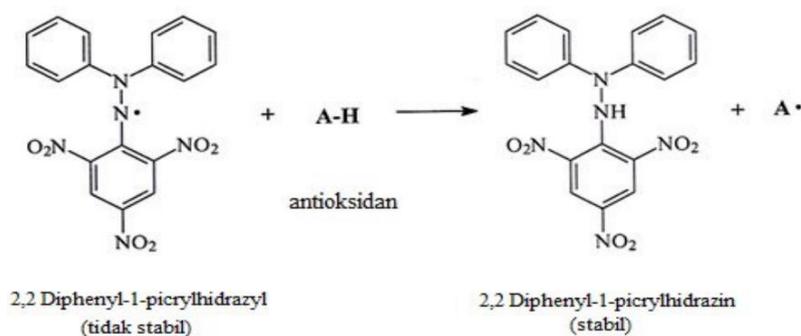
sehingga membentuk warna merah, kuning, atau jingga (Sulistyarini, Sari, dan Wicaksono, 2019).

Pengukuran Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode yang mudah, akurat, dan cepat yaitu menggunakan metode penangkapan radikal bebas DPPH. DPPH merupakan senyawa radikal bebas berbentuk serbuk berwarna ungu kehitaman yang apabila digunakan sebagai pereaksi dalam uji penangkapan radikal bebas, cukup dilarutkan, dan bila disimpan dalam keadaan kering dan dengan penyimpanan yang baik maka dapat stabil disimpan selama bertahun-tahun (Tristantini *et al.*, 2016).

Aktivitas antioksidan terjadi ketika DPPH tereduksi oleh atom hidrogen yang terkandung dalam senyawa antioksidan menyebabkan pereaksi DPPH berubah warna dari ungu menjadi kuning (Yodmanee *et al.*, 2011). Perubahan warna ungu menjadi kuning ini dapat diukur dengan spektrofotometri dan dapat dihitung aktivitas antioksidannya dengan persentase inhibisi.

Pengukuran aktivitas antioksidan spektrofotometri ini didapat dalam bentuk absorbansi peredaman radikal bebas yang dibuat dalam bentuk seri konsentrasi pada sampel uji lalu direaksikan dengan DPPH untuk setiap konsentrasinya (Masrifah; Nurdin Rahman; Paulus H Abram, 2017). Reaksi pada penghambatan metode DPPH dengan antioksidan dapat diamati pada Gambar 1.



Gambar 1. Reaksi DPPH Dengan Antioksidan (P. Ramadhan, 2015)

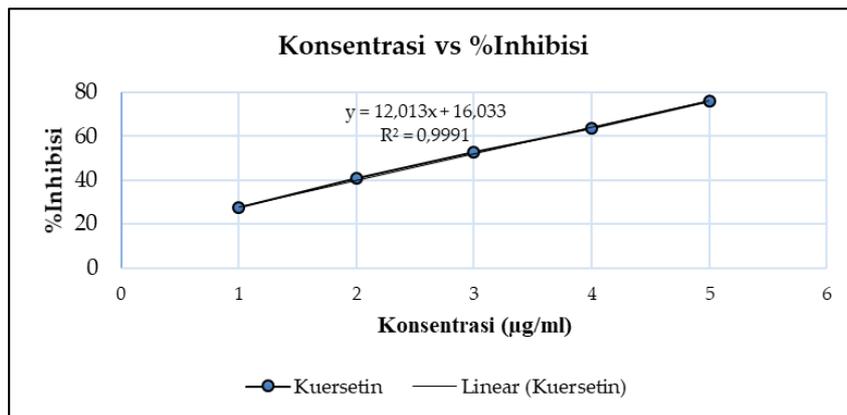
Pengujian antioksidan didasarkan pada sampel yang diukur serapan cahayanya dengan spektrofotometri dan aktivitas antioksidan dihitung menggunakan persentase inhibisi. Persentase inhibisi menunjukkan banyaknya aktivitas senyawa antioksidan yang dapat menangkal radikal bebas DPPH (Molyneux, 2004).

Aktivitas antioksidan dapat dinyatakan dalam IC_{50} (*inhibitory concentration*) yaitu bilangan

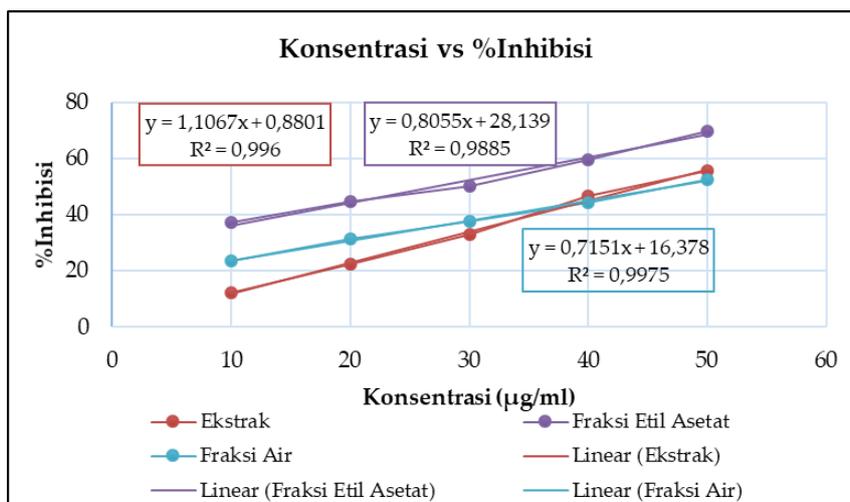
yang menunjukkan konsentrasi sampel yang mampu menghambat aktivitas suatu radikal sebesar 50%. IC_{50} . Penentuan nilai IC_{50} didasarkan pada nilai persentase inhibisi yang diperoleh dari hasil serapan (larutan DPPH) sebelum dan setelah penambahan sampel, sehingga didapatkan nilai persamaan regresi linier dari kedua variabel tersebut. Hasil pengukuran aktivitas antioksidan pada masing-masing baku, ekstrak dan fraksi dapat diamati pada Tabel 3.

Tabel 3. Aktivitas Antioksidan Kuersetin, Sampel Ekstrak, Fraksi *n*-Heksana, Etil Asetat, dan Air Daun Asam Jawa

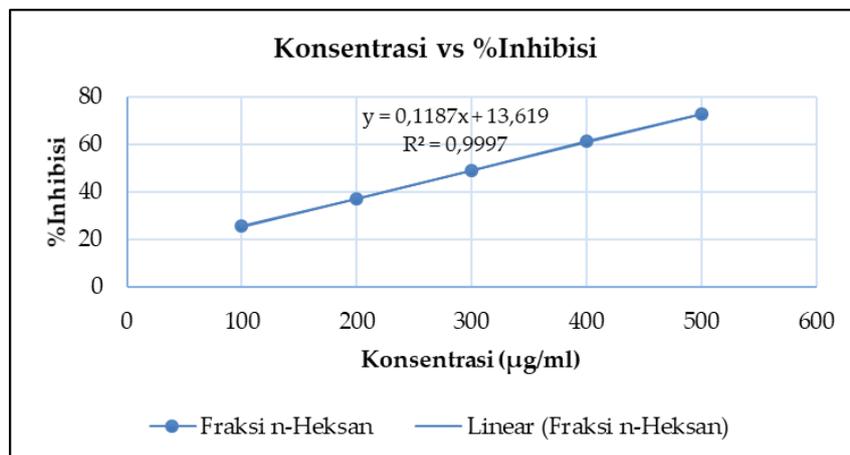
No.	Sampel	Aktivitas Antioksidan IC50 (ppm)	Kategori
1	Kuersetin	2,83± 0,04	Sangat kiat
2	Ekstrak	44,53 ± 0,80	Sangat Kuat
3	Fraksi <i>n</i> -Heksan	306,61± 2,23	Lemah
4	Fraksi Etil Asetat	27,27 ± 1,02	Sangat Kuat
5	Fraksi Air	47,04 ± 1,30	Sangat Kuat



Gambar 2. Nilai Regresi Linier Kuersetin



Gambar 3. Nilai Regresi Linier Ekstrak, Fraksi Etil Asetat, Dan Fraksi Air

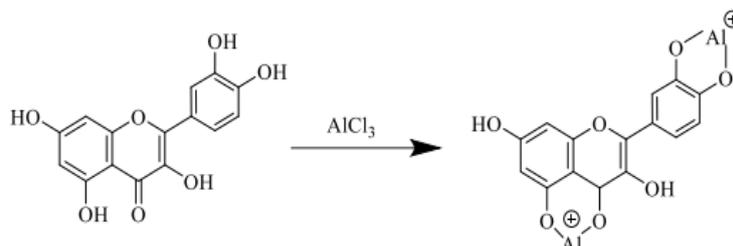


Gambar 4. Nilai Regresi Linier Fraksi n-Heksan

Hasil uji aktivitas antioksidan secara spektrofotometri menunjukkan bahwa nilai absorbansi DPPH akan semakin turun seiring dengan naiknya konsentrasi seri sampel yang direaksikan. Hal ini menunjukkan besarnya kemampuan dari sampel tersebut dalam meredam radikal bebas DPPH sehingga konsentrasi DPPH akan turun seiring dengan penurunan absorbansi tersebut. Data persentase inhibisi kemudian digunakan untuk menentukan nilai IC_{50} (*inhibitory concentration*) dari sampel ekstrak dan masing-masing fraksi daun Asam Jawa yang diuji aktivitas antioksidannya. Aktivitas antioksidan dapat dinyatakan dalam IC_{50} yaitu bilangan yang menunjukkan konsentrasi sampel yang mampu menghambat sebesar 50% aktivitas dari radikal bebas DPPH. Penentuan nilai IC_{50} ini didasarkan pada nilai persentase inhibisi yang diperoleh dari absorbansi larutan DPPH sebelum dan setelah penambahan masing-masing seri konsentrasi sampel sehingga didapatkan nilai persamaan regresi linier $y=a+bx$.

Nilai IC_{50} sampel menunjukkan tingkat aktivitas antioksidan senyawa. Nilai IC_{50} di bawah 50 ppm menunjukkan aktivitas antioksidan sangat kuat; nilai IC_{50} di antara 50 dan 100 ppm menunjukkan aktivitas antioksidan sedang; nilai IC_{50} di antara 100 dan 150 ppm menunjukkan aktivitas antioksidan sedang; dan nilai IC_{50} di atas 150 ppm menunjukkan aktivitas antioksidan lemah (Molyneux, 2004).

Berdasarkan nilai IC_{50} masing-masing sampel menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memiliki aktivitas yang paling kuat dibandingkan dengan ekstrak, fraksi air, dan fraksi *n*-heksana, namun masih lebih lemah dibandingkan dengan baku pembanding kuersetin. Kuersetin merupakan aglikon dari senyawa flavonoid yang dapat ditemukan pada tanaman dan sudah terbukti aktivitasnya sebagai peredam radikal bebas, sehingga aktivitas antioksidan terkuat ada pada baku kuersetin dengan nilai IC_{50} sebesar $2,83 \pm 0,04$ ppm dengan kategori sangat kuat.



Gambar 5. Reaksi kuersetin dengan reagen $AlCl_3$ (Ramadhan *et al.*, 2021)

Kuersetin merupakan senyawa yang paling banyak ditemukan pada tanaman, sehingga kuersetin dipilih sebagai standar dalam penetapan

Fraksi etil asetat daun Asam Jawa memiliki IC_{50} sebesar $27,27 \pm 1,02$ ppm yang termasuk dalam kategori sangat kuat. Fraksi etil asetat daun merupakan fraksi yang memiliki aktivitas antioksidan terkuat dibandingkan dengan fraksi lainnya. Hal ini terjadi karena pelarut etil asetat bersifat semi polar sehingga mampu menarik senyawa aglikon flavonoid, serta polifenol yang terkandung di dalam ekstrak (Harborne, 1987) dan (Febriyanti *et al.*, 2013).

Senyawa fenol merupakan senyawa yang memiliki komponen sebagai antioksidan dengan kemampuan meregenerasi oksigen aktif, karena pada cincin aromatiknya mengandung gugus hidroksil yang berperan sebagai donor elektron untuk menstabilkan dan meredam radikal bebas (Indra *et al.*, 2019). Sedangkan senyawa flavonoid merupakan turunan dari senyawa polifenol tersebut, sehingga kedua senyawa ini berperan penting dalam menentukan aktivitas antioksidan suatu sampel.

Hasil Penetapan Kadar Flavonoid Total

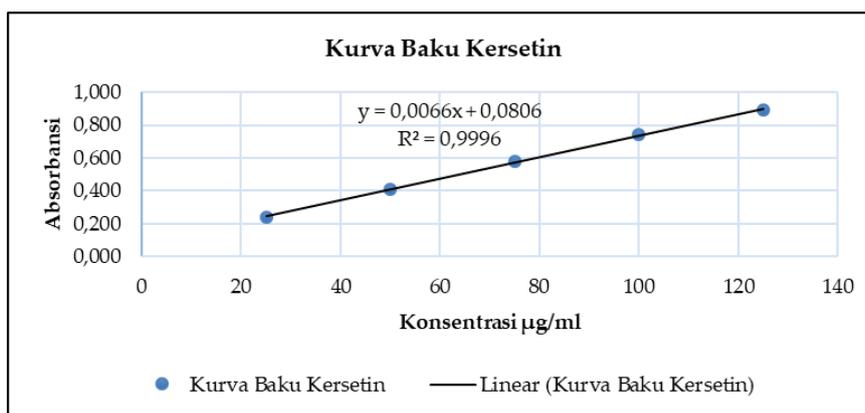
Penetapan kadar flavonoid total diukur dengan metode kolorimetri menggunakan $AlCl_3$ menggunakan instrumen spektrofotometri. Prinsip penentuan kadar flavonoid dengan metode $AlCl_3$ adalah terbentuknya kompleks antara $AlCl_3$ dengan gugus keton pada atom C-4 dan gugus hidroksida pada atom C-3 atau C-5 yang terkandung pada flavonoid golongan flavon dan flavonol yang berwarna kuning sehingga dapat diukur serapannya dengan spektrofotometri.

Semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka warna kuningnya semakin kuat. Senyawa standar yang digunakan untuk menentukan kadar flavonoid total adalah kuersetin, karena kuersetin merupakan flavonoid golongan flavonol sehingga dapat membentuk senyawa kompleks berwarna dengan pereaksi $AlCl_3$. Reaksi kolorimetri senyawa flavonoid terhadap pereaksi $AlCl_3$ dapat diamati pada Gambar 5.

kadar flavonoid total. Selain itu, kuersetin adalah salah satu senyawa flavonoid yang paling efektif dalam menangkal radikal bebas, seperti radikal

hidroksil, superoksida, dan peroksid, serta dapat mencegah berbagai reaksi oksidasi, karena dapat menghasilkan radikal fenolik yang dapat menstabilkan reaktivitas radikal bebas oleh efek resonansi dari cincin aromatik yang terkandung didalamnya (P. Ramadhan, 2015). Penetapan kadar flavonoid total ekstrak dan fraksi daun Asam Jawa diukur menggunakan persamaan regresi linier dengan baku pembanding kuersetin yang dibaca

pada panjang gelombang maksimum 434,90 nm dengan *operating time* berkisar antara menit ke 26-38 menit. Persamaan regresi linier didapat melalui pembuatan kurva baku. Kurva baku kuersetin dibuat melalui seri konsentrasi kuersetin 25, 50, 75, 100, dan 125 ppm sehingga didapatkan persamaan regresi linier yang dapat digunakan untuk menghitung besarnya kadar flavonoid total pada sampel tersebut. Hasil perhitungan kadar dapat dilihat pada Tabel 4.



Gambar 6. Grafik Kurva Baku Kuersetin

Tabel 4. Hasil Penetapan Kadar Flavonoid Total Sampel Ekstrak, Fraksi *N*-Heksana, Etil Asetat dan Air daun Asam Jawa

No.	Sampel	Flavonoid Total (QE mg/g Sampel)
1	Ekstrak	8,52±0,29
2	Fraksi <i>n</i> -Heksan	4,61±0,14
3	Fraksi Etil Asetat	24,43±1,97
4	Fraksi Air	14,52±0,20

Hasil pada tabel di atas menunjukkan bahwa kadar flavonoid terbesarnya berada pada fraksi etil asetat disusul oleh fraksi air, ekstrak dan yang terakhir *n*-heksana. Hasil tersebut dikarenakan pelarut etil asetat merupakan pelarut yang bersifat semi polar yang dapat menarik senyawa-senyawa yang bersifat semi polar seperti golongan senyawa flavonoid (Harborne, 1987).

Hal ini didukung dengan hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan Saputri and Sa'ad, (2023) pada sampel daun Insulin menunjukkan kadar total flavonoid tertinggi didapatkan pada fraksi etil asetat 4,21 mgQE/ml, yang menunjukkan sampel fraksi etil asetat yang paling tinggi dibanding dengan sampel *n*-heksan dan air. Kadar flavonoid total berperan penting dalam meredam radikal bebas sehingga semakin tinggi kadar flavonoid total maka aktivitas antioksidan yang terdapat pada suatu tanaman akan semakin kuat.

Beberapa kandungan senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak daun asam jawa

seperti *vitexin*, *apigenin*, *orientin*, *quercetin*, *isorhamnetin*, *catechin*, *epicatechin*, *luteolin* dan turunannya (Sookying *et al.*, 2022). Aktivitas senyawa flavonoid ini dibuktikan dengan kadar flavonoid yang tinggi pada fraksi etil asetat sehingga dapat memberikan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak, fraksi air dan fraksi *n*-heksana yang telah diuji aktivitasnya.

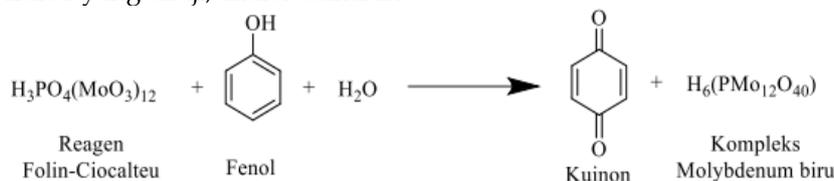
Hasil Penetapan Kadar Fenolik Total

Penentuan kadar fenolik total secara kolorimetri menggunakan pereaksi Folin-Ciocalteu dan baku standar asam galat. Asam galat dipilih sebagai standar baku karena asam galat termasuk dalam turunan dari asam hidrobenzoat yang tergolong ke dalam asam fenol sederhana (Kupina *et al.*, 2019). Prinsip reaksi pada metode kolorimetri Folin-Ciocalteu terjadi ketika senyawa fenolik direaksikan dalam suasana basa dengan penambahan NaOH akan terjadi disosiasi proton menjadi ion fenolat.

Ion fenolat ini selanjutnya bertindak sebagai reduktor dan bereaksi dengan asam fosfomolibdat-fosfotungstat membentuk senyawa kompleks molybdenum-tungsten sehingga menghasilkan warna biru (Andarina & Djauhari, 2017).

Warna biru yang dihasilkan menggambarkan jumlah kompleks yang terbentuk, sehingga semakin tinggi kandungan fenolik dalam suatu ekstrak dan fraksi yang diuji, maka semakin

banyak ion fenolat yang terbentuk dalam kondisi basa dan semakin banyak asam fosfomolibdat-fosfotungstat tereduksi membentuk senyawa kompleks molybdenum-tungsten, maka akan semakin pekat warna biru yang dihasilkan (Singleton & Rossi, 1965). Reaksi yang terjadi antara senyawa fenol terhadap reagen Folin-Ciocalteu dapat diamati pada Gambar 7.



Gambar 7. Reaksi Fenol Dengan Reagen Folin-Ciocalteu (Ramadhan *et al.*, 2021)

Senyawa fenolik memiliki potensi antioksidan disebabkan oleh keberadaan gugus hidroksil dalam senyawa fenol. Gugus hidroksil berfungsi sebagai penyumbang atom hidrogen ketika bereaksi dengan senyawa radikal bebas melalui mekanisme transfer elektron sehingga proses oksidasi dapat terhambat (San Miguel-Chávez, 2017). Penetapan kadar fenolik total ekstrak dan fraksi daun Asam Jawa diukur menggunakan persamaan regresi linier dengan baku pembanding asam galat.

Asam galat digunakan sebagai standar kurva baku karena asam galat merupakan turunan dari asam hidrobenzoat yang tergolong asam fenol sederhana. Persamaan regresi linier didapat melalui pembuatan kurva baku (Tahir *et al.*, 2017). Kurva baku asam galat dibuat melalui seri konsentrasi kuersetin 30, 40, 50, 60, 70 dan 80 ppm yang dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 730 nm dengan *operating time* sekitar menit ke 58-60 menit, sehingga didapatkan persamaan regresi liniernya. Panjang gelombang tersebut sesuai dengan literatur yang menyatakan serapan maksimum penetapan kadar fenolik total dibaca pada lebih kurang 730 nm (Kemenkes RI, 2017).

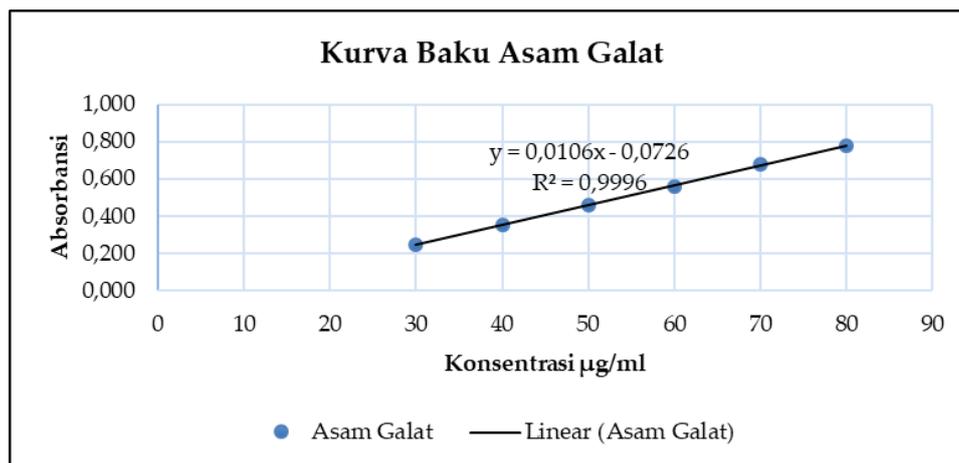
Adapun hasil pada penetapan kadar fenolik total pada setiap sampel ekstrak dan masing-masing

fraksi dapat dilihat pada Tabel 5. Hasil pada tabel menunjukkan bahwa kadar fenolik total terbesar berada pada fraksi etil asetat disusul oleh ekstrak, fraksi air, dan yang terakhir *n*-heksana. Tingginya kadar fenolik total pada fraksi dengan pelarut etil asetat diduga adanya golongan polifenol yang mempunyai berat molekul yang sama besar dengan pelarut etil asetat yaitu flavonoid, sehingga didapati nilai kadar flavonoid yang tinggi pada fraksi etil asetat dapat menggambarkan kadar yang tinggi pula pada kadar fenolik total fraksi tersebut. Hasil penelitian ini juga sejalan dengan yang diteliti oleh Aprilianti *et al.*, (2023) yang menyatakan bahwa kandungan fenolik total yang dihasilkan dari fraksi etil herba pegagan lebih tinggi dibandingkan fraksi air dan fraksi *n*-heksan. Hasil ini menunjukkan bahwa kadar fenol total berperan penting dalam meredam radikal bebas sehingga semakin tinggi kadar fenol yang terkandung di dalam sampel maka aktivitas antioksidan yang terdapat pada suatu tanaman akan semakin kuat.

Hal ini dapat dibuktikan dengan kadar fenolik yang tinggi pada fraksi etil asetat sehingga dapat memberikan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak, fraksi air dan fraksi *n*-heksana yang telah diuji aktivitasnya.

Tabel 5. Hasil Penetapan Kadar Fenolik Total Sampel Ekstrak, Fraksi N-Heksana, Etil Asetat dan Air Daun Asam Jawa

No.	Sampel	Fenolik Total (GAE mg/g Sampel)
1	Ekstrak	57,21±0,44
2	Fraksi n-Heksan	42,55±0,32
3	Fraksi Etil Asetat	93,31±0,62
4	Fraksi Air	44,67±1,23



Gambar 8. Grafik Kurva Baku Kuersetin

Analisis Hasil Korelasi Data

Uji korelasi data dalam penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan keterikatan antara kadar flavonoid dan fenolik total terhadap aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi daun asam jawa. Hasil pengambilan keputusan uji korelasi tersebut didasarkan pada nilai signifikansi yang didapat. Nilai signifikansi < 0,05 maka data memiliki korelasi, sedangkan nilai signifikansi > 0,05 maka data tidak memiliki korelasi yang signifikan antar variabel, atau dapat juga didasarkan pada perbandingan nilai r hitung dengan r tabel. Hasil data r hitung > r tabel maka ada korelasi antar variabel, sedangkan nilai r hitung < r tabel artinya tidak terdapat korelasi antar variabel. Penilaian kategori *Pearson Correlations*. Pedoman kategori hubungan uji korelasi dapat dilihat pada Tabel 6.

Hasil nilai Sig (2-tailed) antara kadar flavonoid total dengan aktivitas antioksidan sebesar 0,013 (Sig.<0,05). Hasil ini menunjukkan bahwa adanya korelasi yang signifikan antara kadar flavonoid total terhadap aktivitas antioksidan. Hasil diperkuat dengan nilai r hitung (*Pearson Correlations*) sebesar -0,688 > nilai r tabel -0,576 sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat korelasi atau hubungan antara kadar flavonoid total dengan aktivitas antioksidan. Nilai *Pearson Correlation* sebesar -0,668 berdasarkan pedoman derajat hubungan korelasi nilai tersebut termasuk ke dalam korelasi kuat.

Nilai r hitung atau *Pearson Correlation* dalam analisis bernilai negatif dengan kata lain hubungan antara kadar flavonoid total dengan antioksidan bersifat negatif mengartikan semakin tinggi kadar flavonoid total akan menurunkan nilai IC₅₀ pada aktivitas antioksidan dimana nilai IC₅₀ yang semakin kecil menunjukkan aktivitas antioksidan yang semakin kuat. Flavonoid merupakan senyawa alami yang mengandung gugus hidroksil di dalam strukturnya. Gugus hidroksi ini bertanggung jawab dalam khelasi unsur logam dan kapasitasnya mengikat radikal bebas. Senyawa tersebut dapat bereaksi dengan gugus O dan H-O, serta mampu mengkelat ion logam, sehingga dapat mengatur kestabilan unsur besi dan keadaan redoks dalam tubuh. Hal inilah yang mengakibatkan senyawa flavonoid mampu menstabilkan dan menurunkan reaktivitas senyawa radikal bebas.

Senyawa flavonoid yang teridentifikasi berada dalam daun asam jawa dapat berupa senyawa *vitexin, apigenin, orientin, quercetin, isorhamnetin, catechin, epicatechin, luteolin* dan turunannya (Sookying et al., 2022). Aktivitas yang tinggi ini juga tidak hanya disumbangkan oleh senyawa flavonoid saja, namun kemungkinan besar terdapat senyawa-senyawa lain yang berpotensi menyumbangkan perannya sebagai antioksidan tersebut.

Tabel 6. Pedoman kategori hubungan uji korelasi berdasarkan nilai *Pearson Correlations*

No.	Nilai <i>Pearson Correlation</i>	Kategori
1	0,00-0,20	Tidak ada korelasi
2	0,21-0,40	Korelasi lemah
3	0,41-0,60	Korelasi sedang
4	0,61-0,80	Korelasi kuat
5	0,81-1,00	Korelasi sempurna

Sumber : (Dahlan, 2018)

Tabel 7. Korelasi kadar flavonoid dan fenolik total terhadap aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi daun Asam Jawa

No.		Antioksidan	Flavonoid Total	Fenolik Total
1	Antioksidan	Pearson Correlation	1	-,688*
		Sig. (2-tailed)		0,013
		N	12	12
2	Flavonoid Total	Pearson Correlation	-,535	,843**
		Sig. (2-tailed)	0,073	0,001
		N	12	12
3	Fenolik Total	Pearson Correlation	-,688*	,843**
		Sig. (2-tailed)	0,013	0,001
		N	12	12

Hasil nilai Sig (2-tailed) antara kadar fenolik total dengan aktivitas antioksidan sebesar 0,073 (Sig.>0,05). Hasil ini menunjukkan bahwa terdapat korelasi tidak signifikan antara kadar fenolik total terhadap aktivitas antioksidan. Hasil diperkuat dengan nilai r hitung (*Pearson Correlations*) sebesar -0,535 < nilai r tabel -0,576 sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat korelasi atau hubungan kurang signifikan antara kadar fenolik total terhadap aktivitas antioksidan.

Nilai r hitung atau *Pearson Correlations* sebesar -0,535 yang termasuk dalam korelasi dengan kategori sedang dan bernilai negatif dengan kata lain hubungan antara kadar fenolik total dengan antioksidan bersifat negatif artinya semakin meningkatnya kadar fenolik total akan menurunkan nilai IC₅₀ pada aktivitas antioksidan dimana nilai IC₅₀ yang semakin kecil menunjukkan aktivitas antioksidan yang semakin kuat.

Hasil penelitian ini menunjukkan tidak selalu tinggi atau rendahnya kadar fenolik total mempengaruhi aktivitas antioksidan. Umumnya hal tersebut dikarenakan adanya senyawa antioksidan lain selain fenolik dan flavonoid yang keberadaannya lebih besar dan aktif sebagai antioksidan ada pada daun asam jawa. Selain senyawa polifenol terdapat juga senyawa lain seperti vitamin dan unsur lain yang terdapat pada daun asam jawa juga dilaporkan berperan penting dalam menentukan potensinya sebagai antioksidan.

Daun asam jawa diketahui mengandung senyawa asam askorbat, asam oksalat, asam tartrat, asam malat dan beberapa unsur yang memiliki efek antioksidan, misalnya selenium, tembaga, seng, dan mangan. Konstituen ini mungkin menunjukkan efek antioksidan melalui mekanisme yang berbeda, dan kemampuannya sebagai antioksidan secara keseluruhan komponen tersebut mungkin disebabkan oleh efek antagonis, sinergis, atau efek

campuran dari senyawa dan unsur-unsur tersebut (Sookying *et al.*, 2022)

KESIMPULAN

Fraksi etil asetat, air, dan ekstrak etanol daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.) memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ kategori sangat kuat, sedangkan fraksi *n*-heksan memiliki aktivitas lemah. Aktivitas antioksidan yang paling baik ditunjukkan oleh fraksi etil asetat dengan kategori aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai IC₅₀ 27,27 ± 1,02 ppm.

Aktivitas terbaik dari fraksi etil asetat didukung dengan kadar flavonoid dan fenolik totalnya yang tertinggi yaitu masing-masing sebesar 24,43±1,97 QE mg/g dan 93,31±0,62 GAE mg/g. Kadar flavonoid dan fenolik total memiliki korelasi masing-masing signifikan dan kurang signifikan terhadap aktivitas antioksidan daun Asam Jawa. Potensial senyawa lain yang berperan sebagai antioksidan berupa vitamin adan dan asam organik lain yang terkandung di dalam daun Asam Jawa yang berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih peneliti sampai kepada semua pihak yang telah berperan dan membantu dalam penelitian ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Universitas Setia Budi yang telah memberikan kesempatan kepada peneliti untuk melakukan penelitian di laboratorium Farmasi USB.

DAFTAR PUSTAKA

- Akmarina, I. (2018). Uji Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daging Buah, Biji Buah, dan Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* Linn) dengan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazil). *Prodi Farmasi STIKES Muhammadiyah Pekajangan Pekalongan*, 1–12.

- Amalia, B. R., Muliastari, H., & Hidayati, A. R. (2023). Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Kulit Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* L.) dan Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose) dengan Metode DPPH. *Jurnal Pharmascience*, 10(1), 69. <https://doi.org/10.20527/jps.v10i1.14863>
- Andarina, R., & Djauhari, T. (2017). *Antioksidan dalam dermatologi*. 4(1), 39–48.
- Budilaksono, W., Wahdaningsih, S., & Fahrurroji, A. (2014). Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi N-Heksana Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus lemairei* Britton dan Rose) Menggunakan Metode DPPH (1,1-DIFENIL-2-pikrilhidrazil) Antioxidant Activity Assay Of N-Hexane Fraction Of Red Dragon Fruit (*Hylocereus lemairei* Britton). *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*, 1(1), 1–11.
- Dahlan, S. N. (2018). *Regresi Linear* (Agus Komik (ed.); Edisi 2). Epidemiologi Indonesia.
- Depkes, R. (1989). *Materia Medika Indonesia* (Jilid V). Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan.
- Depkes RI. (1986). Sediaan Galenik. In *Sediaan Galenik*.
- Ditjen POM, D. R. (2000). Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat, Jakarta: Departement Kesehatan Republik Indonesia. *Edisi IV*.
- Dwisatyadini, M. (2017). Pemanfaatan Tanaman Obat Untuk Kesehatan Keluarga. *Optimalisasi Peran Sains Dan Teknologi Untuk Mewujudkan Smart City*, 2, 237–270.
- Escalona-Arranz, J. C., Perez-Rosés, R., Rodríguez-Amado, J., Morris-Quevedo, H. J., Mwasi, L. B., Cabrera-Sotomayor, O., Machado-García, R., Fong-Lórez, O., Alfonso-Castillo, A., & Puente-Zapata, E. (2016). Antioxidant and toxicological evaluation of a *Tamarindus indica* L. leaf fluid extract. *Natural Product Research*, 30(4). <https://doi.org/10.1080/14786419.2015.1019350>
- Febriani, F., Yuniarti, R., Indrayani, G., Dalimunthe, & Lubis, M. S. (2022). Penentuan SPF(Sun Protection Factor) Ekstrak Etanol Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.). *Farmasainkes: Jurnal Farmasi, Sains, dan Kesehatan*, 2(1). <https://doi.org/10.32696/fjfsk.v2i1.1373>
- Febrina, E., Subarnas, A., Destiani, D., & Nasrullah, D. (2016). Aktivitas Analgesik Ekstrak, Fraksi N-Heksan, Etil Asetat, dan Air Buah Pandan Laut (*Pandanus tectorius*) pada Mencit dengan Metode Geliat. *Farmaka*, 14(2).
- Febriyanti, M., Sanjaya, B. W. S. D., & Ajeng Subarnas, A. (2013). *Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Dan Fraksi-Fraksi Daun Ekor Kucing (Acalypha hispida Burm. F) Dengan Metode Penghambatan Reduksi Water Soluble Tetrazolium SALT-1 (WST-1)*. 1(April).
- Harborne, J. B. (1987). *Metode Fitokimia: Penuntun cara modern menganalisis tumbuhan* (D. S. Mansoor (ed.); Kedua). ITB Bandung.
- Husain, P., Risfianty, D. K., Ihwan, K., Atika, B. N. D., Dewi, I. R., & Ihsan, M. S. (2022). Identifikasi Kandungan Senyawa Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Asam Jawa (*Tamarindus Indica* L.). *Jurnal inovasi pendidikan dan sains*, 3(2). <https://doi.org/10.51673/jips.v3i2.1068>
- Indra, I., Nurmalasari, N., & Kusmiati, M. (2019). Fenolik Total, Kandungan Flavonoid, dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Mareme (*Glochidion arborescense* Blume.). *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 6(3). <https://doi.org/10.25077/jfsk.6.3.206-212.2019>
- Jati, N. K., Prasetya, A. T., & Mursiti, S. (2019). Isolasi, Identifikasi, dan Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Alkaloid pada Daun Pepaya Info Artikel. *Jurnal MIPA*, 42(1), 1–6.
- Kemenkes RI. (2017). *Formakope Herbal Indonesia. Pills and the Public Purse*.
- Kupina, S., Fields, C., Roman, M. C., & Brunelle, S. L. (2019). Determination of total phenolic content using the Folin-C assay: Single-laboratory validation, first action 2017.13. In *Journal of AOAC International* (Vol. 102, Issue 1). <https://doi.org/10.1093/jaoac/102.1.320>
- Masrifah; Nurdin Rahman; Paulus H Abram. (2017). 9240-30201-2-Pb. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun dan Kulit Labu Air (*Lagenaria Siceraria (Molina) Standl.*), 6(May), 98–106.
- Molyneux, P. (2004). The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26(December 2003). <https://doi.org/10.1287/isre.6.2.144>
- Monica Sandy, Siska Wardani, T., & Dwi Septiarini, A. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak, Fraksi N-Heksan, Fraksi Etil Asetat, Fraksi Air Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) Terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922. *Media Farmasi Indonesia*, 16(2), 1683–1692. <https://doi.org/10.53359/mfi.v16i2.184>
- Nugroho, A. (2017). *Buku Ajar: Teknologi Bahan Alam*. In *Lambung Mangkurat University Press* (Issue January 2017).
- Pratiwi, D., & Pasca Siampa, J. (2023). Analisis Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.) dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil). *Jurnal Lentera Farma*, 8(1).

- Puspitasari, A. D., & Sari, W. N. (2023). Perbandingan Kadar Fenolik Dan Flavonoid Total Ekstrak Metanol Umbi Wortel (*Daucus carota* L.) pada Berbagai Metode Ekstraksi. *Jurnal Ilmu Farmasi Dan Farmasi Klinik*, 1, 28. <https://doi.org/10.31942/jiffk.v0i1.9372>
- Rahmi, H. (2017). Aktivitas Antioksidan Berbagai Buah-buahan. *Agrotek Indonesia*, 2(1), 34–38.
- Ramadhan, H., Rezky, D. P., & Susiani, E. F. (2021). Penetapan Kandungan Total Fenolik-Flavonoid pada Fraksi Etil Asetat Kulit Batang Kasturi (*Mangifera casturi* Kosterman). *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 8(1). <https://doi.org/10.20473/jfiki.v8i12021.58-67>
- Ramadhan, P. (2015). *Mengenal Antioksidan* (P. Ramadhan (ed.)). Graha Ilmu.
- Salamah, N., & Widyasari, E. (2015). Aktivitas antioksidan ekstrak metanol Daun Kelengkeng (*Euphoria Longan* (L) Steud.) dengan Metode Penangkapan Radikal 2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil. *Pharmaciana*, 5(1). <https://doi.org/10.12928/pharmaciana.v5i1.2283>
- San Miguel-Chávez, R. (2017). Phenolic Antioxidant Capacity: A Review of the State of the Art. In *Phenolic Compounds - Biological Activity*. <https://doi.org/10.5772/66897>
- Saputri, A. D. S., & Sa'ad, M. (2023). Penetapan Kadar Fenolik dan Flavonoid Fraksi Daun Insulin (*Smallanthus sonchifolius*) Secara Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Farmasi Medica/Pharmacy Medical Journal (PMJ)*, 6(1), 51–58. <https://doi.org/10.35799/pmj.v6i1.48197>
- Saputri, G. A. R., Marcellia, S., & Eldianta, D. O. (2022). Uji Larvasida Ekstrak Etanol Batang Pepaya (*Carica Papaya* L.) Terhadap Larva *Aedes Aegypti*. *Jurnal Ilmu Kedokteran Dan Kesehatan*, 8(4). <https://doi.org/10.33024/jikk.v8i4.5264>
- Sari, M., Ulfa, R. N., Marpaung, M. P., & Purnama. (2021). Penentuan Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Flavonoid Total Ekstrak Daun Papasan (*Coccinia grandis* L.) Berdasarkan Perbedaan Pelarut Polar. *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*, 7(1), 30–41. <https://doi.org/10.22487/kovalen.2021.v7.i1.15437>
- Senet, M. R. M., Raharja, I. G. M. A. P., Darma, I. K. T., Prastakarini, K. T., Dewi, N. M. A., & Parwata, I. M. O. A. (2018). Penentuan Kandungan Total Flavonoid dan Total Fenol Dari Akar Kersen (*Muntingia calabura*) serta Aktivasnya sebagai Antioksidan. *Jurnal Kimia*. <https://doi.org/10.24843/jchem.2018.v12.i01.p03>
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3). <https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144>
- Sookying, S., Duangjai, A., Saokaew, S., & Phisalprapa, P. (2022). Botanical aspects, phytochemicals, and toxicity of *Tamarindus indica* leaf and a systematic review of antioxidant capacities of *T. indica* leaf extracts. In *Frontiers in Nutrition* (Vol. 9). <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.977015>
- Sulistyarini, I., Sari, D. A., & Wicaksono, T. A. (2019). Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Batang Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*). *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*, 56–62.
- Tahir, M., Muflihunna, A., & Syafrianti, S. (2017). Penentuan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Daun Nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) Dengan Metode Spektrofotometri UV-VIS. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 4(1). <https://doi.org/10.33096/jffi.v4i1.231>
- Tristantini, D., Ismawati, A., Pradana, B. T., & Gabriel, J. (2016). Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (*Mimusops elengi* L.). *Universitas Indonesia*, 2.
- Werdhasari, A. (2014). Asri Wedhasari. *Peran Antioksidan Bagi Kesehatan*, 03(Jurnal Biotek Medisiana Indonesia), 59–68.
- Yodmanee, S., Karrila, T. T., & Pakdeechanuan, P. (2011). Physical, chemical and antioxidant properties of pigmented rice grown in Southern Thailand. *International Food Research Journal*, 18(3), 901–906.
- Yuslianti, E. R. (2018). Pengantar Radikal Bebas dan Antioksidan. In *Penerbit Deepublish*.